



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

THESE

présentée le 17 Mai 1994 pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université de METZ

Mention : Toxicologie de l'Environnement

ETUDE DES RELATIONS MOBILITE-BIODISPONIBILITE-TOXICITE DES MICROPOLLUANTS PRESENTS DANS LES DECHETS INDUSTRIELS. APPLICATION A LA GESTION DES CENTRES D'ENFOUISSEMENT TECHNIQUE DE CLASSE I

Lucie LAMBOLEZ
Maître ès-Sciences

Membres du jury :

P. BEGASSAT, ADEME, Angers
H. BILLARD, France Déchets, Gargenville,
F. COPIGNEAUX, Ministère de l'Environnement, Paris
J.F. FERARD, Université de Metz
P. LEHR, URA CNRS 1293, Université de Nancy I
A. NAVARRO, INSA de Lyon (Rapporteur)
P. VASSEUR, Université de Metz (Directeur de thèse)
D. ZMIROU, Université de Grenoble (Rapporteur)

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE DE METZ



022 181033 2

480642

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE - METZ	
N° inv.	1994087S
Cote	SI/M3 94/29
Loc	Magasin

Photo de déchets industriels ultimes reçus sur les centres de stockage de classe I

(carte de vœux 1994 de France Déchets, photo : Y. Soulabaille)

- REMERCIEMENTS -

Ce travail de recherche a fait l'objet d'un contrat CIFRE avec la société FRANCE DECHETS (Gargenville) qui a financé la totalité des travaux. L'ensemble des expérimentations a été effectué au Centre des Sciences de l'Environnement (Metz) dirigé par le Professeur Paule VASSEUR.

Je tiens à remercier du fond du coeur toutes les personnes qui ont, de près ou de loin, participé à la réalisation de cette thèse.

Je remercie tout d'abord les instigateurs de ce travail : Madame Paule VASSEUR, Responsable du Laboratoire de Toxicologie, et Monsieur Jean Marie LAURET, ex-Directeur Technique à France Déchets, de m'avoir confié cette passionnante étude.

C'est le moment d'exprimer toute ma profonde reconnaissance et mon admiration à Paule VASSEUR. Vous m'avez toujours accordé votre soutien et votre confiance, vous m'avez fait profiter de vos connaissances et avez guidé efficacement l'orientation de mes recherches. Votre investissement pour le bon fonctionnement du laboratoire et la promotion de l'écotoxicologie est total.

J'adresse mes sincères remerciements au Professeur Alain NAVARRO et au Docteur Denis ZMIROU qui ont accepté de donner un peu de leur temps pour juger ce travail. C'est un grand honneur pour moi qu'ils aient accepté d'en être les rapporteurs.

Je désire également remercier Messieurs Philippe BEGASSAT de l'ADEME et François COPIGNEAUX du Ministère de l'Environnement d'avoir bien voulu participer à ce jury et apporter leur expertise à cette étude.

Un grand merci à Jean François FERARD, Professeur à l'Université de Metz, pour avoir partagé avec moi pendant 3 ans, son bureau, ses "références" et sa bonne humeur. C'est avec grand plaisir que je t'invite encore une fois à discuter de mon travail.

Je suis reconnaissante à Monsieur Paul LEHR d'avoir accepté de participer à ce jury. Je lui sais gré d'avoir dépensé un peu de son temps pour juger ce travail.

Je remercie vivement Thierry GISBERT, Chargé de la Recherche-Développement à France Déchets, qui a toujours suivi avec intérêt et enthousiasme l'évolution de mes travaux. Je te remercie pour tes encouragements et pour ton amitié.

J'en profite pour remercier tout le personnel du Service Technique : son Directeur, Monsieur Hervé BILLARD qui me fait l'honneur de participer à mon jury, Monsieur Pierre RAFFIN, Mademoiselle Carole BLOCQUET, Christine, Martine.

Je remercie également Madame Isabelle MARTIN et Monsieur Pascal PREVOST du Service Chimie pour avoir toujours répondu à mes questions avec une grande amabilité.

Je tiens à rendre hommage à Monsieur Michel VAILLANT avec qui j'ai abordé divers problèmes de traitement des données et qui m'a prodigué, avec bienveillance, de nombreux conseils.

Je souhaite remercier l'ensemble des personnes qui, sur le terrain, m'ont aidée pour la préparation des échantillons.

Je remercie pour leur "assistance technique" mais aussi pour leur amitié, Anne-Marie VEBER, Claudine RAST, Chantal BOUZENDORFFER, Christine MEFFRE, Halima BESSI et Fabrice GODET.

J'associe à cette liste tous les copains du C.S.E. : Ali, Benoît, Carole, Dominique, Jacques, Jean-Christophe, Gérald, Marie-Cécile, Marie-José, Maryline, Nathalie, Pascale, Sylvie, Véronique. Par votre bonne humeur, vous contribuez à créer une ambiance de travail bien sympathique. Trouvez ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon amitié.

Je tiens, à ce moment important de mon parcours, à témoigner toute mon affection et ma reconnaissance :

- à mes parents pour leur amour et leur confiance sans faille,
- à Yves et Antoinette pour leur accueil et leur soutien,
- à Laurent à qui je dédie ce travail. Il a assisté avec amour, patience et bonne humeur, à tous les épisodes de cette thèse.

-SOMMAIRE-

AVANT PROPOS

INTRODUCTION GENERALE 1

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE 3

CHAPITRE I : L'ELIMINATION DES DECHETS EN CENTRE D'ENFOUISSEMENT TECHNIQUE (C.E.T.)

1 Généralités	3
1.1 Quantités de déchets produits en France et en Europe	3
1.2 La gestion des déchets	4
1.2.1 Cadre législatif initial	4
1.2.2 Les filières d'élimination	4
1.2.3 La loi du 13 juillet 1992 (J.O. du 14 juillet 1992)	5
2 La mise en décharge	6
2.1 Le transfert des micropolluants	6
2.1.1 Les propriétés des micropolluants	7
2.1.2 Les caractéristiques de la phase liquide	7
a) Influence du pH	7
b) Influence du potentiel d'oxydo-réduction	8
c) Influence de la charge minérale du milieu	8
d) Influence de la charge organique du milieu	8
2.1.3 Les caractéristiques de la matrice	9
a) Influence de la porosité sur les capacités de rétention de la matrice	9
- La perméabilité	
- Les capacités d'adsorption et d'échange	
b) Capacité de rétention des sols	10
- Propriétés des argiles	
- Propriétés des oxydes et hydroxydes	
- Propriétés de la matière organique	
- Capacité d'échange d'un sol	

- Atténuation de la charge polluante des lixiviats par les sols argileux	
2.2 La qualité des percolats de décharge	13
3 Conception et aménagement des centres d'enfouissement technique de classe I	14
3.1 Le choix du site	15
3.2 Les aménagements	15
4 La qualité des déchets enfouis	16
4.1 Les déchets acceptés en centre d'enfouissement technique de classe I ...	16
4.2 La solidification/stabilisation des résidus ultimes	17
4.3 Procédures d'acceptation et de contrôle des déchets	18
4.4 La lixiviation au laboratoire	19
4.4.1 Les différentes procédures de lixiviation	19
4.4.2 La norme française (X31.210)	20
4.4.3 Influence de la procédure de lixiviation	21
4.4.4 Conclusion	22

CHAPITRE II : ANALYSES TOXICOLOGIQUES ET PERCOLATS

1 Evaluation de la toxicité	23
1.1 Généralités	23
1.2 Principe de l'évaluation de l'écotoxicité	24
1.2.1 Tests mono-espèce et pluri-espèces	25
1.2.2 Critères de toxicité	25
a) Effets globaux	26
b) Effets spécifiques	26
1.2.3 Organismes testés	28
1.3 Expression de la toxicité	29
1.3.1 Détermination de la CE50	30
1.3.2 Limites de la CE50	31
1.3.3 NOEC, LOEC	31
1.3.4 Les unités toxiques ou équitox/m ³	31
2 Evaluation de la toxicité des effluents industriels	32
2.1 Complémentarité de l'approche physico-chimique et toxicologique	32

2.2 Evaluation toxicologique et réglementation	33
3 La toxicité des percolats et lixiviats	33
3.1 Toxicité des percolats de décharge	34
3.2.1 Tests mis en oeuvre	34
3.1.2 Bilan des études	35
3.2 Toxicité des lixiviats de déchets	36
3.2.1 Etude de l'IRH	36
3.2.2 Influence de la procédure de lixiviation sur la toxicité	37
3.2.3 Conclusion	37
 <u>RESULTATS EXPERIMENTAUX</u>	 38
 CHAPITRE III : PRESENTATION DE L'ETUDE ET METHODOLOGIE	
 1 Le site	 38
1.1 Géologie du site	38
1.2 Aménagements	38
 2 Echantillons testés	 40
2.1 Les déchets	40
2.1.1 Déchets non stabilisés	40
a) Origine des déchets	40
b) Préparation des lixiviats	40
2.1.2 Déchets solidifiés/stabilisés	41
a) Origine	41
b) Préparation des lixiviats	41
2.2 Les percolats de décharge	41
2.3 Les eaux de surface	42
 3 Analyses toxicologiques	 42
3.1 Présentation de la batterie de tests	42
3.2 Test Microtox	43
a) Principe	43
b) Intérêts et limites	43
c) Méthodologie	44

3.3 Test algue	45
a) Principe	45
b) Intérêts	45
c) Méthodologie	45
d) Avantages et limites du test algue réalisé en microplaque	46
3.4 Tests daphnie	47
a) Principe	47
b) Intérêts et limites	47
c) Méthodologie	48
3.5 Test de mutagénicité selon Ames	50
a) Principe	50
b) Intérêts et limites	51
c) Méthodologie	52
3.6 Expression des résultats	54
a) Test Microtox, test d'immobilisation de <i>Daphnia magna</i> , test algue	54
b) Test de reproduction de <i>Daphnia magna</i>	54
c) Test d'Ames	55
 4 Analyses chimiques	 55
 5 Conservation des échantillons	 56
5.1 Généralités	56
5.2 Conservation des lixiviats et des percolats	56
 6 Analyse multivariée des données	 57
6.1 L'analyse en Composantes Principales (ACP)	57
6.2 L'Analyse Factorielle des Correspondances Multiples (AFCM)	58

CHAPITRE IV : TOXICITE DES LIXIVIATS DE DECHETS ET DES PERCOLATS DE DECHARGE. QUALITE DES EAUX DE SURFACE.

1 Toxicité des lixiviats de déchets	60
1.1 Déchets non stabilisés	60
1.1.1 Résidus de la dépollution de l'eau	60
a) Analyses toxicologiques	60

b) Analyses chimiques	61
1.1.2 Résidus de peinture	62
a) Analyses toxicologiques	62
b) Analyses chimiques	63
1.1.3 Résidus de la métallurgie	64
a) Analyses toxicologiques	64
b) Analyses chimiques	64
1.1.4 Résidus d'incinération	65
a) Analyses toxicologiques	65
b) Analyses chimiques	65
1.1.5 Matériaux contaminés (terres souillées par des PCBs)	66
a) Analyses toxicologiques	66
b) Analyses chimiques	66
1.1.6 Variation de la qualité des lixiviats en fonction des arrivages ..	66
1.1.7 Conclusion sur la toxicité des déchets non stabilisés	67
1.2 Déchets solidifiés/stabilisés	68
1.2.1 Analyses toxicologiques	68
1.2.2 Analyses chimiques	68
1.2.3 Conclusion	69
2 Toxicité des percolats de décharge	70
2.1 Analyses toxicologiques	70
2.2 Analyses chimiques	71
2.3 Conclusion	72
3 Qualité des eaux de surface	73
3.1 Analyses toxicologiques	73
3.2 Analyses chimiques	75
3.3 Conclusion	75
<u>DISCUSSION</u>	77
1 Bilan des études. Relations entre les analyses toxicologiques et physico-chimiques	77

2 Mise en oeuvre et interprétation des analyses toxicologiques 81

3 Application du contrôle toxicologique à la gestion des déchets 84

CONCLUSION GENERALE 87

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 91

ANNEXES

- AVANT-PROPOS -

Dans cette étude, la toxicité des micropolluants présents dans les déchets industriels n'a été testée que vis à vis d'organismes aquatiques. L'utilisation du terme "TOXIQUE" ne s'adresse par conséquent qu'aux espèces aquatiques bien définies de cette étude -et non à l'homme-.

Le terme "ÉCOTOXIQUE" qualifie tout élément capable de perturber l'équilibre d'un écosystème donné. A la différence de la toxicologie qui ne s'intéresse qu'à une seule espèce, l'écotoxicologie cherche à évaluer les impacts sur l'ensemble des populations et prend en compte, pour un écosystème donné, les nombreuses interactions susceptibles de se produire entre ses différents composants. Dans le cadre de cette étude, le terme "écotoxique" s'adresse au seul environnement aquatique.

INTRODUCTION GENERALE

biodisponibilité des substances toxiques et la sensibilité des organismes. Celle-ci pourra également être influencée par les conditions d'élevage, l'âge, la taille, le sexe, etc. des individus. C'est pourquoi, il est nécessaire de préciser les conditions dans lesquelles les essais ont été réalisés. L'utilisation de conditions standardisées répond à cette nécessité et permet la comparaison des données de toxicité. Les réglementations reposent sur des procédures normalisées qui précisent l'ensemble du mode opératoire.

Remarque : il existe peu d'essais dont la méthode soit normalisée au niveau international.

1.3.1 Détermination de la CE50

La toxicité est le plus souvent exprimée par la concentration entraînant la réponse de 50% des organismes exposés ou entraînant 50% d'effet. Elle est appelée CE50 (Concentration Effective) ou CI50 (Concentration Inhibitrice). Elle devient CL50 (Concentration Létale) dans le cas de l'évaluation de la mortalité. Il a été montré que cette mesure de 50% de réponse ou d'effet est celle qui peut être évaluée avec la plus grande sensibilité.

La détermination de cette valeur peut s'effectuer par représentation graphique de la relation dose-effet. Cette représentation peut être réalisée :

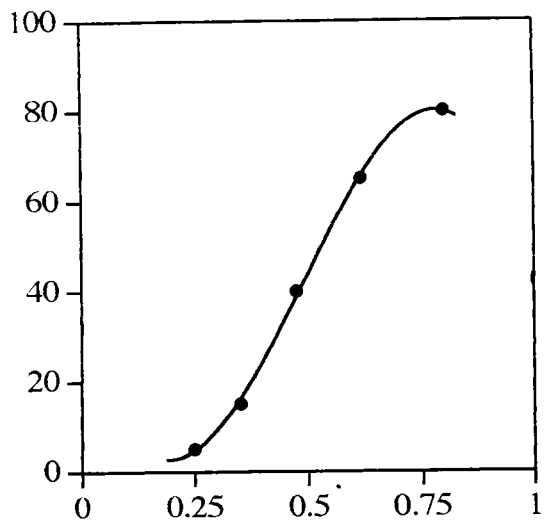
- sur du papier semi-logarithmique. L'expression de la concentration par son logarithme décimal permet de rendre symétrique la sigmoïde précédemment observée (figure 10),
- sur du papier log-probit. Chaque pourcentage de réponse est remplacé par son probit obtenu à l'aide d'une table transformant les pourcentages de réponse en terme de probabilité. Cette méthode permet de "linéariser" une courbe sigmoïde (figure 11).

La droite s'ajustant le mieux aux points expérimentaux dans la partie médiane de la courbe est tracée.

Divers programmes de calcul de la CE50 ont été développés notamment à partir de la méthode des probits ou de la modélisation de la courbe concentration-réponse. Certains permettent, à la différence de la méthode graphique, d'attribuer un intervalle de confiance au résultat.

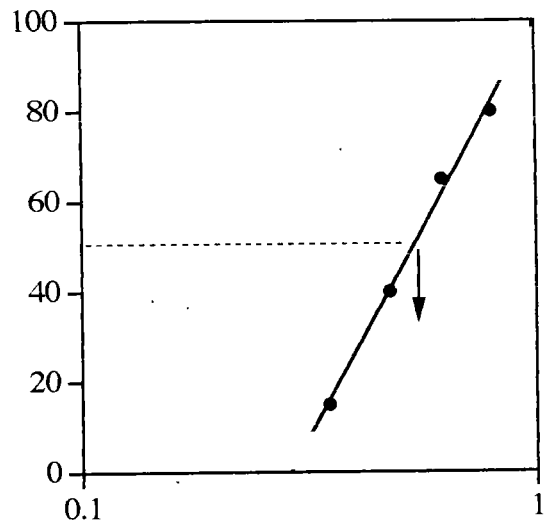
Quelle que soit la méthode utilisée, la justesse du résultat sera fonction de la qualité des données expérimentales et de la précision avec laquelle est élaborée la courbe dose-réponse. Elle dépend du choix et du nombre des concentrations testées. La réalisation d'un essai préliminaire est recommandée afin de bien cerner les concentrations entraînant des effets.

% d'effet ou de réponse



Conc.

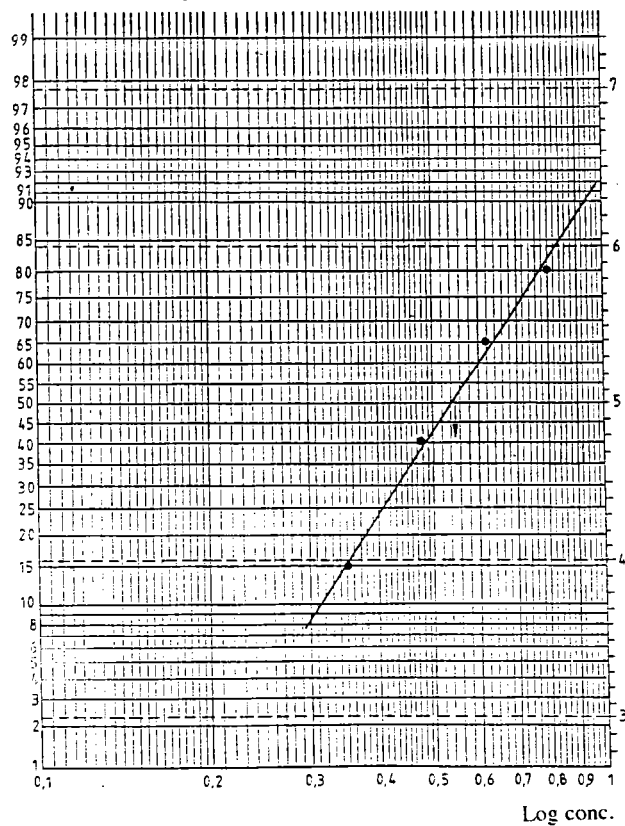
% d'effet ou de réponse



Log conc.

Figure 10 : Représentation de la relation dose-effet ou dose réponse sur du papier semi-logarithmique

% d'effet ou de réponse



Log conc.

Figure 11 : Représentation de la relation dose-effet ou dose réponse sur du papier log-probit

Les végétaux, par la photosynthèse, assurent la production d'oxygène et de matières organiques permettant la vie animale et constituent en cela un élément essentiel des chaînes trophiques aquatiques et terrestres. Les essais sur les organismes photosynthétiques sont de ce fait indispensables.

Dans le cadre de l'évaluation de la toxicité des effluents hydriques, les espèces aquatiques sont principalement concernées par les rejets. Elles seront donc prioritairement testées.

1.3 Expression de la toxicité

L'objectif des essais de toxicité réalisés au laboratoire est de définir les concentrations de l'échantillon susceptibles de provoquer des effets toxiques.

Le principe général des tests consiste à établir les relations concentration-effets-temps pour un système biologique donné. Le taux de réponse au sein de la population est déterminé pour chacune des concentrations testées et après un temps d'exposition défini. Les données obtenues permettent de calculer la fonction mathématique décrivant cette relation. Leur représentation graphique donne une courbe dont l'allure est en général une sigmoïde plus ou moins symétrique (figure 9).

Dans tous les cas, la toxicité s'exprime pour une durée d'exposition donnée et par comparaison à une population témoin étudiée simultanément. Selon la nature de l'effet recherché, les résultats obtenus avec les témoins interviennent ou non dans l'expression de la réponse.

Lors d'effets discontinus, c'est à dire "est observé" ou "n'est pas observé" comme la mortalité, la population témoin permet de contrôler l'absence d'effet en dehors de toute exposition.

$\% \text{ effet} = (\text{nombre d'individus répondant au critère} / \text{nombre total d'individus testés}) \times 100$

Par contre, lors d'effets continus comme la croissance, les relations dose-effet-temps exprimant la toxicité ne pourront être établies que par référence aux effets observés chez les témoins.

$\% \text{ effet} = (\text{réponse des individus témoins} - \text{réponse des individus exposés} / \text{réponse des individus témoins}) \times 100$

Cette relation dose-effet-temps sera fonction des conditions expérimentales. La température, le pH, la composition du milieu d'exposition sont susceptibles d'affecter la

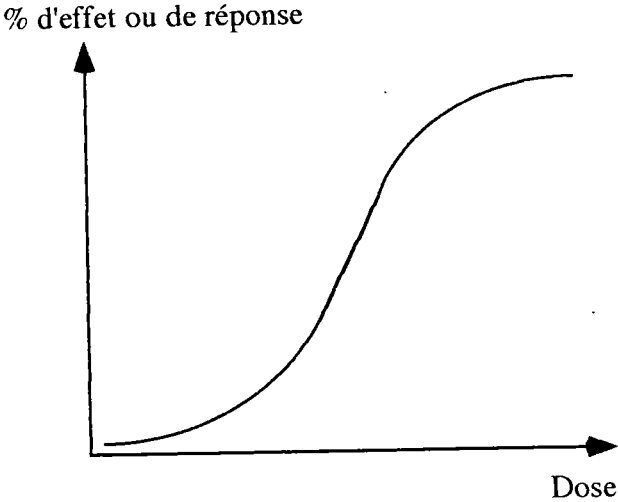


Figure 9 : Relation dose-effet ou dose-réponse

1.2.3 Organismes testés

De nombreux organismes appartenant à différents niveaux d'organisation au sein des écosystèmes aquatiques et terrestres sont proposés pour tester la toxicité des substances chimiques ou des effluents, industriels et domestiques. Quelques exemples d'organismes pouvant être utilisés dans les essais sont donnés dans le tableau 4.

Bien que certaines espèces peuplant les écosystèmes aquatiques et terrestres soient proches phylogénétiquement, l'impact des toxiques peut être très différent compte tenu des divers modes d'exposition. En milieu aquatique, les organismes évoluent dans le milieu pollué ; une double contamination par ingestion et par contact pourra se produire. En milieu terrestre, les voies de contamination sont la nourriture et l'air. D'autre part, le mode d'action des toxiques peut varier avec le niveau d'organisation de l'individu. C'est pourquoi, les espèces utilisées doivent être représentatives des milieux exposés et couvrir différents niveaux trophiques. Leur sensibilité doit être suffisante de façon à pouvoir protéger les autres espèces du milieu.

A ces critères de représentativité et de sensibilité, s'ajoutent des contraintes techniques. Les organismes doivent pouvoir se maintenir au laboratoire. L'approvisionnement, leur élevage ou leur culture doivent être aisés et leur prix de revient abordable. Faciles à manipuler, ils doivent conduire à des résultats reproductibles. Pour l'évaluation d'effets chroniques, il est préférable que leur développement soit rapide afin de limiter la durée des essais.

En écotoxicologie, les tests en milieu terrestre sont relativement peu développés en dehors des essais sur mammifères -rat, souris, cobaye-, qui servent de modèles pour évaluer la toxicité pour l'homme. Des essais sur oiseaux, insectes, vers de terre sont mis en oeuvre pour l'étude de la toxicité des produits phytosanitaires. Les tests sur plantes sont utilisés pour évaluer l'impact des substances toxiques sur la germination ou la croissance des végétaux. Ils peuvent également servir à l'évaluation d'effets génotoxiques.

Pour les milieux aquatiques, les principaux organismes testés seront les bactéries, les microalgues, les microcrustacés, les poissons.

Les bactéries sont impliquées dans le cycle de transfert des minéraux et leurs capacités de métabolisation des polluants organiques sont essentielles pour l'épuration des écosystèmes. Les systèmes bactériens se prêtent bien aux essais de toxicité. Leur maintenance aisée et peu coûteuse fait des tests bactériens des outils très utiles pour détecter rapidement une pollution (BITTON et DUTKA, 1986).

Tableau 4 : Exemples d'organismes utilisés dans les essais de toxicité

Aquatiques	Organismes	Espèces	Effets
Organismes photo-synthétiques	Bactéries	<i>Photobacterium phosphoreum</i> * <i>Pseudomonas putida</i> <i>E. coli</i>	Luminescence) Croissance)
	Levures	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Croissance Génotoxicité
	Protozoaires	<i>Colpidium campylum</i>	Croissssance
	Algues	<i>Raphidocelis subcapitata</i> <i>Scenedesmus subspicatus</i> <i>Chlorella vulgaris</i>	) Croissance) ATP) Bioaccumulation
	Bryophytes		Bioaccumulation
	Macrophytes	<i>Lemna minor</i>	Croissance
Invertébrés	Rotifères		Croissance
	Mollusques	<i>Dressena polymorpha</i>	Mortalité Bioaccumulation
	Crustacés	<i>Daphnia magna</i> <i>Ceriodaphnia dubia</i> <i>Artemia saline</i> * <i>Gammarus pulex</i>	) Mortalité) Reproduction Mortalité Croissance
Vertébrés	Amphibiens	<i>Pleurodeles waltl</i>	Génotoxicité
	Poissons	<i>Brachydanio rerio</i> (poisson zèbre) <i>Cyprinus carpio</i> (carpe) <i>Salmo gairdneri</i> (truite arc-en-ciel) <i>Pimephales promelas</i> (épinoche)	) Mortalité) Survie des larves) Croissance) Bioaccumulation

Terrestres	Organismes	Espèces	Effets
Organismes photo-synthétiques	Plantes	<i>Lactuca sativa</i> (laitue) <i>Lens culinaris</i> (lentille) <i>Hordeum vulgare</i> (orge)	) Croissance) Germination)
Invertébrés	Nématodes	<i>Eisenia foetida</i>	Mortalité Reproduction
	Insectes	<i>Apis mellifica</i> (abeille)	Mortalité Comportement
Vertébrés	Oiseaux	<i>Coturnix coturnix japonica</i> (caille) <i>Anas platyrhynchos</i> (canard) <i>Alectoris rufa</i> (perdrix)	) Mortalité) Reproduction)
	Mammifères	Rat, souris, cobaye	Mortalité Comportement Reproduction Cancérogénicité

* : Espèces marines

les modifier avant d'interpréter toute inhibition ou toute induction comme l'expression d'une exposition à ces micropolluants.

D'autres biomarqueurs peuvent être étudiés comme ceux qui révèlent un dommage à l'ADN, principal constituant des chromosomes portant l'information génétique. Ce sont la formation d'adduits, l'apparition d'aberrations chromosomiques, l'apparition de micronoyaux suite à des cassures de chromosomes ou à l'altération du fuseau mitotique. Ces effets seront significatifs d'une exposition à des agents génotoxiques ou mutagènes qui se caractérisent par leur réactivité avec l'ADN. Si ces dommages à l'ADN ne sont pas réparés avant la division cellulaire, ils seront transmis aux générations cellulaires ultérieures. Ces mutations peuvent être à l'origine du processus de cancérisation. C'est pourquoi, toute substance génotoxique est considérée comme cancérogène potentiel.

Les agents génotoxiques pourront être détectés par les altérations de structure de l'ADN dont certaines sont visibles au microscope mais aussi par les modifications métaboliques consécutives aux mutations.

L'ADN est "universel" car il est présent dans les cellules de tout être vivant. En conséquence, le caractère génotoxique d'une substance pourra s'exprimer sur tout une variété d'espèces, qu'elle qu'en soit le type. Le caractère mutagène peut donc être détecté avec des organismes supérieurs comme avec des microorganismes plus aisément manipulables expérimentalement.

Les tests peuvent porter sur les organismes entiers (essais *in vivo*) ou sur des cellules isolées animales, végétales ou bactériennes (essais *in vitro*). C'est le cas du test d'Ames qui consiste à étudier la capacité d'un échantillon à induire des mutations sur le génome d'une bactérie *Salmonella typhimurium* (AMES *et al.*, 1975).

Outre la génotoxicité, la toxicité au niveau cellulaire peut se manifester de façon variée. Il existe un ensemble de tests mettant en jeu des organismes unicellulaires (bactéries, levures, algues unicellulaires) permettant de détecter les effets toxiques. Ces effets pourront se traduire par une inhibition de la division cellulaire, de la consommation d'oxygène, de la métabolisation d'un substrat, etc.. Parmi ces tests se trouve le test Microtox qui est basé sur la sensibilité du mécanisme de bioluminescence de la bactérie marine *Photobacterium phosphoreum* aux substances toxiques. Ce mécanisme biochimique conduisant à l'émission de lumière est relié aux voies de la glycolyse et de la phosphorylation oxydative c'est à dire aux mécanismes de respiration cellulaire (FERARD *et al.*, 1983).

a) Effets globaux

La survie est le critère de toxicité le plus souvent évalué. C'est un paramètre facilement mesurable en général et donnant, dans des conditions expérimentales identiques, des résultats reproductibles. Cet effet conditionne directement le maintien et le développement d'une espèce. Il peut être évalué à différents stades du développement : larves, juvéniles, adultes. Les adultes s'avèrent souvent plus résistants que les juvéniles.

La reproduction conditionne également le développement d'une population. Ce critère est plus difficilement mis en évidence car il nécessite des essais de longue durée, durée qui varie selon l'espèce considérée. D'autre part, la variabilité des résultats peut être importante du fait de variations naturelles. La complexité du processus de reproduction dont tous les paramètres sont loin d'être connus et maîtrisés explique les difficultés à maintenir au laboratoire, les conditions optimales assurant la reproduction.

La croissance sera évaluée par la mesure du poids et/ou de la taille des organismes exposés. Sur le plan écologique, la croissance conditionne la capacité à survivre (relations prédateur/proie) et à se reproduire. Il s'agit, comme la reproduction, d'un critère subléthal.

b) Effets spécifiques

Les effets physiologiques précédemment mentionnés sont le résultat d'une altération du métabolisme des organismes exposés. Il est intéressant de mesurer ces perturbations des mécanismes biochimiques.

Parmi les critères biochimiques mesurés, certains reflètent un stress global comme le dosage de l'ATP, réserve énergétique des cellules. D'autres sont par contre plus spécifiques de l'action d'un type de polluants. C'est le cas des métallothionéines, protéines participant aux mécanismes de fixation des métaux, qui sont induites lors d'une exposition à des composés métalliques. Il en est de même des enzymes mono-oxygénases à cytochrome P450. Ces enzymes, impliquées dans la biotransformation des composés organiques, sont induites en présence de substrats lipophiles et notamment en présence des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) ou des dérivés organochlorés tels que les polychlorobiphényles (PCB) et les dioxines. D'autres activités enzymatiques peuvent au contraire être inhibées. C'est le cas de l'activité acétylcholinestérasique qui est inhibée à la suite d'une exposition à des substances organophosphorées ou à des carbamates.

Ces critères de toxicité sont des marqueurs précoces d'exposition. Ils peuvent être dosés au niveau de différents organes (foie, muscle, etc.) des poissons, mammifères, oiseaux. Ils peuvent être exploités lors d'essais en laboratoire ou d'études *in situ*. Leur utilisation nécessite cependant de bien connaître les facteurs physiologiques susceptibles de

1.2.1 Tests mono-espèce et pluri-espèces

La plupart des tests de toxicité réalisés au laboratoire sont des tests monospécifiques. Ces tests ne mettant en jeu qu'une espèce sont préférentiellement retenus car ils constituent des outils standardisables, faciles à mettre en oeuvre, rapides et conduisant à des résultats reproductibles. Leur représentativité d'un point de vue écologique reste limitée dans la mesure où les conditions expérimentales ne reflètent que de loin la réalité environnementale qui se caractérise par de multiples interactions entre les différentes espèces et les différents facteurs environnementaux.

C'est pourquoi, d'autres protocoles d'essais impliquant plusieurs espèces ont été développés : chaînes trophiques expérimentales, microcosmes. Ces essais permettent notamment l'étude des relations entre différents organismes et l'étude des flux de matière et d'énergie. Plus complexes et plus longs à réaliser, ils sont difficiles à utiliser en routine. D'un point de vue pratique, il y a une relation inverse entre le réalisme écologique et la simplicité des essais (CALAMARI *et al.*, 1985 ; PERSOONE et GILLETT, 1990).

Si les essais réalisés au laboratoire sur des espèces "types" sensibles ne permettent pas de prédire un impact au niveau environnemental, ils sont des outils indispensables pour évaluer la toxicité intrinsèque d'un échantillon, ou son potentiel toxique.

1.2.2 Critères de toxicité

Différents critères de toxicité peuvent être utilisés pour évaluer la toxicité d'un échantillon. Ces critères peuvent mesurer des effets globaux comme la mortalité, la reproduction, la croissance mais aussi des effets plus spécifiques d'un impact au niveau cellulaire (cytotoxicité) ou moléculaire (altération des réactions biochimiques).

Les tests de toxicité aiguë se caractérisent par des temps d'exposition courts de quelques heures à quelques jours.

Les tests de toxicité chronique exigent un temps d'exposition plus long, de quelques jours à quelques mois selon l'organisme testé. Le temps d'exposition doit correspondre à environ 10% de la vie de l'organisme et intégrer plusieurs stades de vie (FERARD *et al.*, 1992). Les effets génotoxiques seront évalués à l'aide de tests spécifiques.

rencontre lors de rejets permanents ou ponctuels de polluants suffisamment dilués pour ne pas entraîner de mortalité "spectaculaire" mais qui seront toxiques à plus long terme.

Les effets toxiques pourront se traduire par une altération de la viabilité, de la croissance, du comportement, de la reproduction des organismes exposés suite à la perturbation des mécanismes biochimiques.

Les notions de dose et de temps sont primordiales en toxicologie. La prévision des effets en fonction de ces deux paramètres est à la base de l'évaluation du risque environnemental. En effet, le risque est la résultante de la toxicité potentielle des micropolluants et des niveaux de concentration auxquels les organismes sont exposés.

1.2 Principe de l'évaluation de l'écotoxicité

Pour déterminer la toxicité d'une substance ou d'un effluent et estimer les risques liés à leur rejet, il est nécessaire d'évaluer les effets de toxicité à court et à long terme et cela, sur divers organismes représentatifs des milieux naturels exposés. C'est pourquoi, la mise en place d'une batterie de tests s'impose.

Compte tenu de la multiplicité des espèces au sein de la biosphère, il n'est pas possible de tester la toxicité d'un échantillon sur l'ensemble des organismes vivants. Seules, seront testées quelques espèces "types" représentatives (i) des écosystèmes aquatiques ou terrestres selon le compartiment - eau, air, sol - concerné par la pollution, et (ii) des différents niveaux trophiques constituant l'écosystème considéré.

Compte tenu aussi des contraintes expérimentales de faisabilité et notamment de coût, le choix des tests doit se faire de façon à obtenir, avec un minimum d'essais, le maximum d'informations quant au potentiel toxique de l'échantillon. Il est donc nécessaire de choisir des essais non redondants, qui permettront d'évaluer à la fois la toxicité aiguë et chronique sans négliger la génotoxicité. Différents organismes appartenant à divers niveaux d'organisation doivent être testés : bactéries, invertébrés, vertébrés, végétaux. En plus de leur complémentarité, les tests doivent être sensibles et faciles à mettre en oeuvre.

Il existe une multitude de tests de toxicité permettant d'évaluer la toxicité aiguë ou chronique sur de nombreux organismes appartenant à différents niveaux trophiques. Ces tests peuvent être plus ou moins complexes selon qu'ils mettent en jeu une ou plusieurs espèces, selon la ou les espèces sélectionnées et selon le critère de toxicité retenu.

CHAPITRE II : ANALYSES TOXICOLOGIQUES ET PERCOLATS

1 Evaluation de la toxicité

1.1 Généralités

La toxicité d'un agent chimique ou physique se réfère à sa capacité à entraîner des effets délétères sur un organisme vivant. La présence d'un agent toxique dans l'environnement peut mettre en péril à plus ou moins long terme la survie d'une espèce mais aussi fragiliser l'équilibre de l'ensemble d'un écosystème. C'est pourquoi, il apparaît primordial d'évaluer la toxicité potentielle des effluents contaminés afin de prévenir, en cas de risque, leur rejet dans l'environnement.

L'évaluation des effets toxiques passe nécessairement par l'utilisation d'essais biologiques. Dans le cadre d'une stratégie de prévention, l'approche expérimentale avec la mise en oeuvre de différents tests de toxicité est la seule possible car elle permet d'évaluer la qualité d'un échantillon contaminé avant qu'il ne soit rejeté dans le milieu naturel. Cette approche se distingue des études *in situ* qui consistent à évaluer *a posteriori* l'impact toxicologique sur les écosystèmes, de l'ensemble des polluants présents dans l'environnement.

Les effets toxiques dépendent de la nature des micropolluants et de la sensibilité des organismes exposés mais également des modalités de leur exposition. Selon la fréquence, la durée de l'exposition et les niveaux de concentration, la toxicité peut prendre plusieurs formes qui se différencient par l'intensité, la nature et le délai d'apparition des effets.

La toxicité aiguë ou toxicité à court terme se manifeste peu de temps après l'exposition à une dose suffisamment importante en toxiques pour entraîner rapidement la mort ou de graves troubles physiologiques des organismes exposés. Elle se rencontre lors de pollutions dites "accidentelles" qui sont de courte durée mais dont les conséquences sont souvent intenses.

La toxicité chronique ou toxicité à long terme se traduit par des effets retardés par rapport au début de l'exposition. Elle peut résulter d'une exposition continue ou répétée à de faibles concentrations en substances toxiques mais aussi d'une exposition unique qui, à terme, pourra entraîner des troubles physiologiques irréversibles, voire la mort. Ces effets de toxicité à long terme sont notamment observés avec les substances capables de s'accumuler dans les tissus des organismes et les substances susceptibles d'induire un cancer comme les substances génotoxiques. Dans le milieu naturel, cette situation se

heures. La réalisation d'extractions successives est un moyen d'approcher le comportement à "long terme" des résidus. Dans le cas d'une lixiviation aqueuse de déchets basiques, l'alcalinité du milieu initial peut masquer des phénomènes de dissolution qui prendront place par la suite, après le lessivage des éléments alcalins (REVIN, 1984). Il faut noter qu'une agitation prolongée avec un système ouvert est susceptible d'entraîner une légère acidification du milieu suite à l'absorption de CO_2 de l'air.

- le système d'extraction. La taille de la colonne et le débit du solvant lors d'un test sur colonne, la taille et le degré de remplissage du récipient ainsi que le dispositif d'agitation lors d'une extraction mécanique (agitateur à plateau, agitateur à rouleaux, barreau magnétique, agitateur à hélices) peuvent modifier le relargage des micropolluants.

4.4.4 Conclusion

Compte tenu de la complexité des phénomènes susceptibles de se produire au sein de la décharge, il sera difficile de modéliser au laboratoire le comportement des déchets au sein du centre d'enfouissement. Les tests de lixiviation ne mettent notamment en jeu qu'un seul déchet à la fois, alors que de multiples interactions vont s'établir au sein du site et modifier la mobilité des polluants (VAN DER SLOOT et CÔTE, 1989). Le maintien d'un pH acide durant l'extraction ou le fractionnement des résidus sont susceptibles de faciliter le relargage des polluants, plus particulièrement la solubilisation des métaux lourds, et de biaiser les résultats.

Les tests de lixiviation sont des outils conçus pour identifier un résidu de manière rapide et relativement peu coûteuse et pour évaluer sa fraction solubilisable. Si les conditions expérimentales ne reflètent pas précisément les conditions de la décharge, elles ne sont cependant pas trop éloignées d'une réalité environnementale.

Trois extractions successives de 16 heures sont réalisées dans le cadre de la procédure d'acceptation. Lors de la procédure de contrôle qui doit être rapide, le temps de lixiviation est ramené à 10 minutes.

4.4.3 Influence de la procédure de lixiviation

Des laboratoires ont testé l'influence du protocole de lixiviation sur le comportement du déchet. Ils ont appliqué, pour un déchet donné, diverses procédures et comparé les résultats des analyses chimiques des lixiviats obtenus.

Les principaux paramètres susceptibles de modifier les résultats sont :

- le solvant. Il va conditionner le pH et la charge en agents complexants du milieu. Un pH acide favorisera notamment le relargage des métaux. SAWHNEY et FRINK (1991) ont comparé l'efficacité d'extraction de divers solvants -eau déminéralisée (H_2O), eau déminéralisée plus bullage de CO_2 durant l'extraction (H_2CO_3), acétate de sodium 0,1M ($NaOAc$), acide diéthylènetriaminépentaacétique (DTPA)- dans des conditions identiques soit pour un même rapport liquide/solide égal à 5:10 et un même temps d'extraction. Six échantillons de cendres volantes mélangées à des mâchefers de six incinérateurs différents ont été testés. Pour cela, les auteurs ont rapporté la fraction extraite, au contenu total en métaux préalablement estimé à l'aide d'une digestion dans un mélange d'acide nitrique et d'eau oxygénée (1:1). Dans l'ordre croissant d'efficacité, on trouve $NaOAc$, DTPA, H_2CO_3 , H_2O . La fraction extraite de chrome, cuivre, plomb, reste avec l'eau, inférieure à 1% de la charge totale ; elle peut atteindre 50% dans le cas du plomb avec le tampon acétate, les acétates de plomb étant solubles. Pour un métal et un solvant donnés, les proportions extraites varient de façon importante d'un échantillon à l'autre. Les métaux au sein de chacun des échantillons se trouveraient sous des formes chimiques différentes. D'autres études réalisées sur des cendres volantes confirment le faible pouvoir extractant de l'eau déminéralisée par rapport à d'autres solvants comme une eau acidifiée à l'acide acétique (CERNUSCHI *et al.*, 1990 ; TEIXEIRA *et al.*, 1992), une solution de citrate de sodium (FRANCIS et WHITE, 1987), des lixiviats prélevés sur le site (FRANCIS et WHITE, 1987 ; CERNUSCHI *et al.*, 1990),

- le rapport solide/liquide. Pour un temps d'extraction donné, un faible rapport solide/liquide permettra le plus souvent une meilleure efficacité d'extraction (Agence Rhône-Méditerranée-Corse, 1987). L'extraction sera d'autant améliorée par l'utilisation d'importants volumes de solvant d'extraction que la solubilité des éléments sera faible, l'équilibre étant plus lentement atteint.

- la durée de l'extraction. A l'exception des tests sur colonne qui peuvent durer de quelques jours à plusieurs mois, les temps d'extraction sont relativement courts, inférieurs à 24

- le régime statique ou dynamique de l'extraction selon que les essais sont réalisés dans des systèmes clos sans circulation du solvant d'extraction, ou ouverts où le solvant d'extraction est continuellement renouvelé comme c'est le cas des tests sur colonnes,
- le temps d'extraction,
- la nature du solvant utilisé pour l'extraction.

Parmi les solvants utilisés, on trouve :

- l'eau déminéralisée. Sa saturation préalable en CO_2 permet d'approcher l'agressivité naturelle d'une eau de pluie,
- l'eau acidifiée (acide acétique, acide nitrique, acide citrique),
- l'eau de pluie,
- des lixiviats naturels prélevés sur le site ou artificiels.

Les tests par extraction mécanique sont plus simples et plus rapides à mettre en place que les tests sur colonne qui sont actuellement principalement utilisés par les laboratoires de recherche afin d'approfondir le comportement à la lixiviation d'un déchet donné. De même, les deux derniers solvants cités dont la composition n'est pas standardisable, sont peu employés.

Différentes procédures de lixiviation standardisées sont résumées dans le tableau 3.

4.4.2 La norme française (X31.210)

Cette norme, élaborée en 1992, fait suite à la norme expérimentale de même indice de septembre 1988.

Les conditions générales de mise en contact correspondent à la mise sous agitation permanente de 100 ± 5 grammes de l'échantillon (préalablement fractionné, si nécessaire, en morceaux de granulométrie inférieure à 4 mm) avec 1 litre d'eau déminéralisée de résistivité supérieure à $0,2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ pendant 24 ± 1 heures, la fréquence d'agitation étant de 60 ± 2 cycles/minute. L'appareillage recommandé est un flacon cylindrique hermétiquement bouché de volume 2 litres et de diamètre intérieur égal à 100 mm avec comme dispositif d'agitation un agitateur à plateau d'amplitude $3 \pm 0,5$ cm. Cependant, tous dispositifs démontrés d'efficacité équivalente peuvent être utilisés. Le lixiviat est séparé du déchet résiduel par une filtration sous vide sur un filtre de diamètre $0,45 \mu\text{m}$ (pression relative de $10^5 \pm 0,2 \text{ Pa}$) précédée éventuellement d'une centrifugation entre 3000 et 4000g pendant une durée maximale de 30 minutes.

La durée de lixiviation a été ramenée à 16 ± 1 heures lors d'extractions successives (temps d'extraction définit dans la norme expérimentale quel que soit le nombre d'extraction). La durée séparant 2 mises en contact successives ne doit pas excéder 8 heures.

Tableau 3 : Procédures de lixiviation standardisées utilisées dans différents pays

Nom du test	Préparation de l'échantillon	Masse de l'échantillon	Solution de lixiviation	Rapport liq./sol.	Agitation et durée	Séparation du lixiviat
ETATS UNIS TCLP	Moins de 0,5% de solide : analyse du filtrat Sinon broyage < 9,5 mm	100 g (brut)	Deux tampons acétate (dans la limite de 4ml/g de solide) : pH = 3 pH = 5	20/1	Culbutage 30tr/min 18 h	Filtre borosilicate 0,6-0,8 μ m sous 2,5 bars
QUEBEC MENVIQ	idem	100 g (brut)	Eau distillée additionnée de tampon acétate pH = 4,5 (dans la limite de 1 ml/g de solide)	10/1	Rotative 5 à 30 tr/min 24 h	Décanner 30 min Filtre 0,45 μ m
PAYS BAS Availability test	Broyer pour que 95% des particules < 125 μ m	8 g (sec)	Eau déminéralisée additionnée de HNO ₃ 1M, pH = 4	100/1	Barreau magnétique 6 h	Filtre 0,45 μ m
PAYS BAS Tank leaching test	Bloc monolithique (présentant une intégrité de structure) L mini = 40 mm ϕ mini = 10 $\sqrt{2 \times D_{ext}}$ m De:diffusion(m ² /s), t:temps(s)	Fixée par la taille du bloc	Eau déminéralisée additionnée de HNO ₃ 1M, pH = 4	10/1	Aucune 64 jours	Filtre 0,45 μ m
SUISSE OTD	Solides supportant une pression > 1N/m ² : prélever 150 g Sinon tester en l'état 100 g	100 g (sec) ou 150 g (brut) pour les solides	Eau déminéralisée saturée en CO ₂	10/1	Courant de CO ₂ (100ml/min) 48 h	Filtre 0,45 μ m
ALLEMAGNE DIN 34 414 S-4	Lixiviation en l'état Broyage des particules de $\phi > 10$ mm	100 g (sec)	Eau distillée	10/1	Douce de bas en haut 24 ou 48 h	Filtre 0,45 μ m
FRANCE X 31-210	Solides : broyer < 4 mm Boues fluides : centrifuger, homogénéiser Déchets pâteux : fragmenter	100 g (brut)	Eau déminéralisée de résistivité > à 0,2 M Ω .cm	10/1	A rouleau ou plateau 60 tr/min 16 h	Filtre 0,45 μ m ou centrifugation à 2000 g
FRANCE Test de lessivage	Bloc compact : éprouvette de 4x4x8 cm Sinon fraction granulométrique < à 20 mm	Fixée par la densité du bloc	Eau déminéralisée de résistivité > à 0,2 M Ω .cm	10/1	A plateau 60 tr/min 16 h	Filtre 0,45 μ m

d'acceptation est délivré. Un exemplaire est donné en annexe 2. Il sera à présenter lors de la livraison du déchet. Les concentrations maximales acceptées sur le site de l'étude sont rassemblées dans le tableau 2.

Récemment, un nouvel arrêté concernant les critères d'admission en stockage des déchets reconsidère les teneurs maximales des polluants dans la fraction lixiviable. La plupart des concentrations ont été revues à la baisse. Cet arrêté du 18 février 1994, non encore paru au journal officiel, remplacera les arrêtés préfectoraux.

- la procédure de contrôle : effectuée sur le site, lors de chacune des livraisons du déchet, elle permet de vérifier la bonne identité du déchet par rapport au certificat d'acceptation. Cette procédure, qui doit être rapide, repose sur l'analyse visuelle du déchet ainsi que sur l'analyse de quelques paramètres physico-chimiques de la fraction soluble.

4.4 La lixiviation au laboratoire

Les tests de lixiviation au laboratoire visent à définir la charge polluante potentiellement extractible des déchets. Après une mise en contact du déchet avec le solvant, le soluté est filtré et analysé. Les résultats de l'analyse serviront à décider :

- du choix du site d'enfouissement selon que le déchet se qualifie de "dangereux" ou de "non dangereux". Cette dénomination repose sur un ensemble de valeurs limites pour différents paramètres physico-chimiques établis. Elle est à la base du projet de norme européenne pour l'enfouissement des déchets (1991),

- du refus du déchet si un ou plusieurs paramètres dépassent les seuils autorisés par la législation en vigueur. Le déchet devra alors subir des traitements complémentaires afin de devenir acceptable à l'enfouissement.

Les principaux paramètres contrôlés sont des paramètres généraux (conductivité, pH,...), la charge en sels (chlorures, sulfates,...), la charge en métaux (plomb, zinc,...), la charge en organiques. Ce dernier paramètre est le plus souvent évalué par un indice global comme la demande chimique en oxygène (DCO) ou le carbone organique total (COT).

4.4.1 Les différentes procédures de lixiviation

De nombreuses procédures de lixiviation ont été développées. Elles se différencient par :

- la valeur du rapport masse de solvant utilisée pour l'extraction / masse de déchet brut soumise à l'extraction,

Tableau 2 : Arrêté fixant les concentrations maximales dans la fraction lixiviable des déchets acceptés sur le site. Les seuils sont exprimés en mg par kg de déchets bruts.

Siccité > 20%

Hydrocarbures < 12 %

Solvants organiques < 5%

Fraction soluble sur déchets secs < 10% (20% pour les scories, mâchefers de chaufferie ou de résidus urbains)

DCO	150000	Co	5000
Phénols	500	V	5000
F-	5000	Ba	5000
CN-	100	Ti	5000
Fe	10000	Bo	5000
Cu	1000	Sn	5000
Cr VI	100	Ta	10000
Cr total	1000	Te	10000
Cd	500	Be	10000
Ni	1000	Br	10000
Zn	5000	Nb	10000
Pb total	100	Mo	10000
Hg total	10	W	10000
As	100	Al	10000
Tl	100	Sulfures	5000
Se	100	PCB	100
Sb	1000	PCT	100
Ag	1000	Pesticides	100
Mn	5000	organochlorés	
		Cl organique total	200

La solidification est obtenue par l'utilisation de liants hydrauliques comme le ciment ou de composés polymérisables comme les résines.

La migration des polluants sera d'autant plus ralentie que :

- la perméabilité à l'eau sera faible. Elle dépendra de la porosité de la matrice ainsi formée,
- la solubilité des micropolluants sera réduite. Le choix des réactifs est déterminant. Le maintien d'un pH élevé assurera notamment l'immobilisation des métaux sous forme d'hydroxydes.

Lors du malaxage, de nombreuses espèces chimiques provenant du déchet vont se dissoudre dans l'eau de gâchage. Par leur effet retardateur ou accélérateur, elles sont susceptibles de modifier le comportement normal des liants (BOUCHELAGHEM *et al.*, 1992). Pour chaque déchet, il sera nécessaire de mettre au point la formulation la mieux adaptée.

Cependant, il reste difficile d'évaluer le comportement à long terme du résidu solidifié. Son comportement sera lié :

- aux phénomènes de diffusion des micropolluants à travers la matrice (VAN DER SLOOT *et al.*, 1989 ; BATCHELOR, 1992). Dans le cas des métaux, l'alcalinité, un rapport surface/volume important constitueront des facteurs de retard chimiques suite à des réactions de précipitation et de sorption. Une structure tortueuse de la matrice constituera un facteur de retard physique,
- à la solubilité de la matrice.

La présence de composés organiques dans le déchet peut affecter l'efficacité des processus de solidification/stabilisation en fragilisant la matrice (MONTGOMERY *et al.*, 1992).

4.3 Procédures d'acceptation et de contrôle des déchets

L'élimination d'un déchet industriel dans un centre d'enfouissement comporte deux étapes complémentaires :

- la procédure d'acceptation initiale : elle permet d'identifier le résidu. L'origine du déchet, le processus qui l'a engendré et son conditionnement sont relevés. Dans le cadre de la nouvelle loi de juillet 1992, "l'ultimité" du déchet sera vérifiée. Sur un échantillon, une analyse chimique de la fraction soluble est alors réalisée (la procédure d'obtention de cette fraction soluble sera détaillée dans le prochain paragraphe). Si l'ensemble des paramètres sont conformes à l'arrêté préfectoral fixant les seuils limites acceptables pour le site, un certificat

- les résidus d'incinération : ce sont les mâchefers, les cendres volantes et les poussières d'électrofiltres. Sur la figure 8 sont schématisés une usine d'incinération ainsi que les différents traitements d'épuration des fumées appliqués. Ces résidus sont riches en métaux lourds,
- les résidus de peinture : ils proviennent de leur fabrication et de leur utilisation. Ils renferment des micropolluants métalliques (pigments) et organiques (solvants),
- les résidus de la métallurgie : ils résultent de la fusion des métaux non ferreux,
- les matériaux souillés : leur origine est diverse. Ce sont des chiffons, des terres contaminées, des loupés de fabrication, etc..

La plupart de ces déchets correspondent effectivement à des résidus ultimes, c'est à dire pour lesquels il n'existe pas d'autres filières d'élimination que l'enfouissement.

Les déchets exclus des centres d'enfouissement sont :

- les produits liquides car générateurs de lixiviats,
- les acides ou les bases forts car agressifs vis à vis des déchets enfouis et de la barrière géologique,
- les produits explosifs, inflammables, radioactifs, volatils,
- les biocides, les PCBs,
- tous les déchets dont la qualité de la fraction lixiviable ne respecte pas les normes fixées par la législation (§ 4.3).

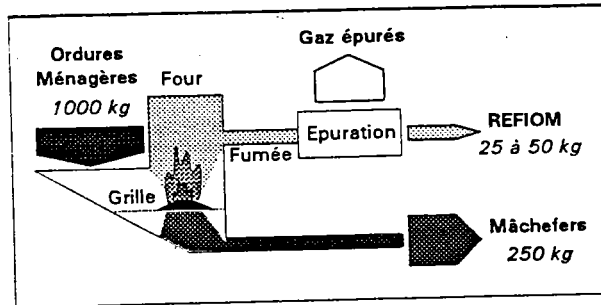
4.2 La solidification/stabilisation des résidus ultimes

Le principal problème lié au stockage des déchets en décharge provient de la formation de percolats. Cette procédure de solidification/stabilisation doit permettre :

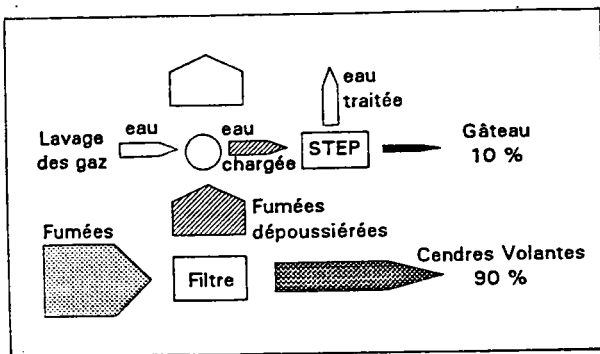
- de limiter le relargage des polluants en réduisant la perméabilité des déchets à l'eau, mais également en fixant les micropolluants sous forme insoluble,
- d'assurer une meilleure tenue mécanique facilitant le transport et le stockage.

Un arrêté ministériel relatif au stockage de certains déchets industriels spéciaux ultimes et stabilisés est paru en décembre 1992. Il définit trois catégories de résidus :

- ceux qui devront être stabilisés dans un délai de 2 ans. C'est le cas des résidus de l'épuration des fumées d'incinération des ordures ménagères (REFIOM),
- ceux qui devront être stabilisés dans un délai de 5 ans. C'est le cas des boues d'hydroxydes métalliques,
- ceux qui seront admis au cas par cas.



Procédé humide



Procédé sec, semi-sec, semi-humide

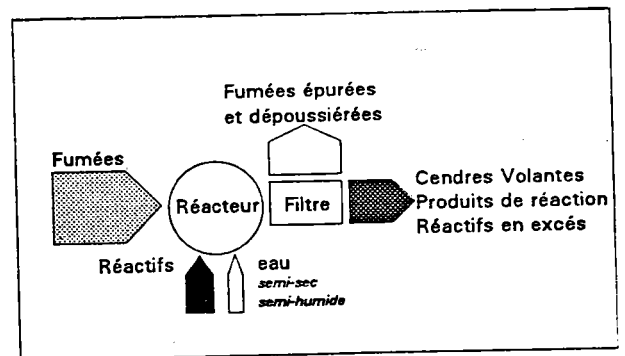


Figure 8 : Principe d'une usine d'incinération d'ordures ménagères et procédés d'épuration des fumées

- couverture étanche lors de l'aménagement du site après exploitation,
- drainage des eaux de ruissellement des terrains avoisinants.

La présence de puits de prélèvement (piézomètres) permettant le contrôle de la qualité des eaux souterraines en amont et en aval du site est obligatoire. Les piézomètres ne seront utiles que s'ils accèdent réellement à la nappe d'eau où le flux n'est pas nul. Ces puits de contrôle ne reçoivent pas toujours une attention suffisante.

Le contrôle de la qualité des eaux de surface à proximité du site se fera en parallèle.

L'utilisation des géomembranes pour assurer l'étanchéité des sites est en pleine expansion. Leur couplage à un système de drainage performant doit permettre d'empêcher le contact des lixiviats avec le sol. La barrière géologique n'étant plus sollicitée, elle représenterait alors un niveau de sécurité passive (CASAGRANDE *et al.*, 1992).

Il existe différentes catégories de géomembranes (GISBERT, 1992) : "bitumeuses" (liant bitumeux sur une armature synthétique), "élastomères" (Ethylène-Propylène-Diène-Monomère, Polyéthylène Chlorosulfoné, etc.), "plastomères" (Polychlorure de Vinyl, Polyéthylène Haute Densité, etc.). Les critères retenus seront leur résistance au vieillissement, leur compatibilité avec les substances chimiques, leur résistance aux déformations. Différents matériaux géosynthétiques de drainage sont également proposés. Ils se présentent sous la forme d'un entrelacement de fibres polymères, encadré ou non de géotextiles filtrants afin d'éviter un colmatage par les fines particules. De nombreuses recherches sont en cours sur les complexes d'étanchéité-drainage notamment sur leur évolution dans le temps. Ils apparaissent complémentaires mais ne remplacent pas la barrière étanche naturelle (SOYEZ, 1993).

4 La qualité des déchets enfouis

4.1 Les déchets acceptés en C.E.T de classe I

La Nomenclature Nationale des déchets liste 83 types de déchets industriels spéciaux (annexe 1). Cependant, la plupart ne sont pas aptes à être éliminés par enfouissement en l'état et devront subir un prétraitement. Cinq grandes familles de résidus ont été définies par CASAGRANDE et LAURET (1990) (France Déchets) :

- les résidus de la dépollution de l'eau : ils correspondent aux boues issues du traitement physico-chimique des effluents industriels (industries chimiques, ateliers de traitement de surfaces). Les métaux sont le plus souvent stabilisés sous forme d'hydroxydes,

3.1 Le choix du site

La circulaire du 22 janvier 1980 définit trois types de sites en fonction de la perméabilité du terrain sous-jacent.

Les sites de classe III, ne présentant pas de propriétés d'imperméabilité particulières, ne peuvent être utilisés que pour des dépôts de matériaux inertes.

Les sites de classe II correspondent à des sites semi-imperméables. Leur coefficient de perméabilité K_s (coefficient de Darcy à saturation) doit être inférieur à 10^{-6} mètres/seconde. Ils peuvent recevoir les ordures ménagères et les déchets industriels banals.

Les sites de classe I, seuls aptes à recevoir les déchets industriels spéciaux, doivent présenter un coefficient d'imperméabilité inférieur à 10^{-9} mètres/seconde et ce, sur une épaisseur minimale de 5 mètres.

Le choix de sites argileux pour assurer le confinement des déchets industriels permet de répondre aux conditions d'imperméabilité. Outre l'imperméabilité des argiles, la forte capacité de rétention des micropolluants liée à leur surface spécifique élevée et à leur propriété électrochimique, fait de ces argiles une barrière à la pollution. Le confinement ne sera effectif que si la continuité du substratum est assurée sur l'ensemble du site. Les risques de pollution seront d'autant diminués que la distance du site au système hydrique sera grande. La présence de nappes d'eau souterraines à proximité du site sera néfaste car ces nappes représentent une source potentielle d'alimentation en eau. Elles constituent un vecteur de pollution dans la mesure où le transport de la pollution au sein de la nappe sera accéléré. Le risque sera d'autant plus élevé que ces nappes seront situées à une faible profondeur car le sol, sur de faibles distances, n'aura pas le temps de jouer son rôle "atténuateur".

3.2 Les aménagements

Le drainage des percolats présents en fond d'alvéole évite la macération des déchets, les risques de débordement et une trop grande sollicitation de la barrière géologique. Les percolats ainsi drainés pourront, après un traitement, être rejetés dans l'environnement. De nombreuses techniques de traitement des eaux pourront être appliquées à l'épuration de ces percolats (MILLOT, 1986).

La protection contre la source d'eau passe par un contrôle de la qualité des déchets enfouis dont la teneur en eau devra être minimale, mais également par les aménagements suivants :

- couverture temporaire des alvéoles pendant l'exploitation évitant l'introduction des eaux météoriques,

La composition des percolats sera influencée par (CAMERON, 1978) :

- la qualité et la quantité des déchets enfouis,
- les conditions climatiques,
- le mode d'exploitation de la décharge,
- l'âge de la décharge.

Les nombreux phénomènes chimiques, physiques et biologiques susceptibles de se produire au sein de la décharge rendent difficile voire impossible toute prévision quant à la composition des percolats générés.

La présence de matières organiques favorisant les processus biologiques est en partie responsable de la complexité du problème. En effet, l'évolution des fractions fermentescibles suite à l'action des microorganismes va conduire à la production d'un ensemble de métabolites (acides aminés, acides gras volatils, aldéhydes, carbonates, nitrates, ammonium, sulfures, etc.) qui pourront réagir avec les autres déchets pour induire des phénomènes comme (MILLOT et GRANET, 1989) :

- une dissolution des métaux par suite d'une diminution du pH,
- la stabilisation d'ions métalliques à l'état dissous par complexation,
- une précipitation des sulfures, des carbonates, etc.

Afin de limiter les phénomènes d'interactions entre les différents déchets et plus particulièrement la mobilisation de micropolluants, il est recommandé de stocker séparément les déchets minéraux et les déchets organiques. Seuls les pays anglo-saxons continuent à défendre le "co-disposal" c'est à dire l'association d'ordures ménagères et de déchets industriels spéciaux.

Un meilleur contrôle des processus de lixiviation passe par le stockage en alvéole monospécifique de chaque type de déchets (déchets basiques, déchets acides, etc.).

3 Conception et aménagement des Centres d'Enfouissement Technique de classe I

La production de percolats plus ou moins contaminés et en plus ou moins grandes quantités étant "inéluçtable", il est nécessaire de prévenir tous risques de pollution des eaux et des sols extérieurs au site d'enfouissement. La prévention de la pollution va passer par :

- le choix du site qui devra présenter des propriétés d'imperméabilité,
- les aménagements,
- la réduction de la fraction extractible des micropolluants présents dans les déchets à enfouir.

- Atténuation de la charge polluante des lixiviats par les sols argileux

Des auteurs ont étudié la capacité des sols argileux à réduire la charge polluante des percolats. WARIGH et YONG (1991) ont suivi, sur des colonnes d'un sol argileux préalablement compacté, la migration de divers micropolluants présents dans un percolat d'un centre d'enfouissement d'ordures ménagères. Il apparaît une rétention effective en haut de la colonne des métaux lourds zinc, plomb, cuivre et fer. Cette rétention résulterait d'un phénomène d'échange cationique et/ou de précipitation suite à une alcalinisation du milieu. Les argiles provoquent en effet la précipitation des métaux à des pH plus faibles que ceux définis par les produits de solubilité suite à la concentration d'ions hydroxydes à l'interface argile-solution (PICKERING, 1980). L'analyse de l'eau interstitielle révèle une forte concentration en sodium suite à leur déplacement par les ions calcium et magnésium. La rétention des chlorures est faible, de la même façon que celle des substances organiques évaluée par une mesure globale du carbone.

La présence dans les percolats de substances organiques (acides, bases, alcools, cétones, hydrocarbures aliphatiques et aromatiques, etc.) apportées par les déchets ou issues des processus de dégradation des matières fermentescibles, est susceptible de modifier les capacités de rétention des argiles :

- en entraînant, au cours de temps, leur solubilisation (dissolution de la silice, des oxydes de fer et d'aluminium),
- en changeant la géométrie interne des pores (gonflement des particules argileuses).

De même, la forte salinité des percolats peut conduire à une augmentation de la perméabilité suite à la floculation des particules argileuses (BRIGHENTI et MACINI, 1993).

2.2 La qualité des percolats de décharge

Il existe de nombreuses données sur la composition des percolats de décharge. Dans le tableau 1 ont été relevées par CLEMENT *et al.* (1993), les concentrations minimales et maximales de divers polluants observées dans la littérature. Les percolats considérés sont issus pour la plupart de décharges d'ordures ménagères ou de décharges mixtes (ordures ménagères et déchets industriels spéciaux).

Les gammes de concentrations sont très étendues indiquant :

- une spécificité des sites,
- une charge polluante très importante de certains percolats.

Tableau 1 : Analyses physico-chimiques de percolats de décharge. Revue bibliographique établie par CLEMENT *et al.* (1993) à partir de 105 percolats issus de décharges d'ordures ménagères et/ou de déchets industriels.

Paramètre (mg/l)	Valeur minimale	Valeur maximale	Moyenne géométrique	Nombre d'échant.
pH	4,9	8,9	6,9	105
DCO (a)	10	86000	1231	99
DBO ₅ (a)	0	73000	388*	63
COT ou COD	3	22500	218	65
Azote Kjeldahl	6	2750	138	47
NH ₄ ⁺	0,9	2154	47	76
N organique	0	1000	22*	42
NO ₃ ⁻	0	85	1,2*	74
P total	0,1	14	1,55	25
Alcalinité (b)	80	26000	964	45
Dureté (b)	127	11267	1083	70
Conductivité (c)	295	38000	6303	70
Ca ²⁺	50	3650	253	57
Mg ²⁺	0,6	526	77	57
K ⁺	20	1600	228	51
Na ⁺	35	9500	424	44
Cl ⁻	7	8800	523	79
SO ₄ ²⁻	3	3239	121	52
Acide acétique	1	17000	154	40
Acide propionique	2,7	5800	177	31
Acides gras totaux	1	40000	232	36
Fer	0,05	1995	11,5	68
Zinc	0	326	0,36*	63
Nickel	0	79	0,12*	49
Chrome	0	23	0,07*	54
Cuivre	0	16	0,04*	51
Plomb	0	46	0,05*	49

(a) : mgO₂/l

(b) : mgCaCO₃/l

(c) : µS/cm

* : à l'exception des concentrations nulles

En plus de leur capacité d'échange, les argiles confèrent au sol des propriétés de plasticité et de cohésion. Les sols dits "argileux" sont des sols renfermant suffisamment de particules argileuses pour en affecter le comportement (BERNHARD *et al.*, 1993).

- Propriétés des oxydes et hydroxydes

Ils se trouvent sous forme libre ou associée aux argiles. Par leur sensibilité aux conditions d'oxydo-réduction, les oxydes de fer, de manganèse et d'aluminium influencent de façon importante la distribution des métaux lourds dans les systèmes aquatiques naturels ; une baisse du potentiel rédox entraînera la dissolution d'une partie de ces oxydes ou hydroxydes libérant le cation adsorbé (FÖRSTNER et WITTMANN, 1981).

- Propriétés de la matière organique

Les composés organiques présents dans le sol ont également la capacité d'adsorber les cations notamment par la présence de groupement hydroxyles ou carboxyles. Selon leur solubilité, ils faciliteront ou retarderont le relargage des métaux lourds.

- Capacité d'échange d'un sol

La capacité d'échange d'un sol est donnée par la valeur de CEC (Capacité d'Echange Cationique) qui correspond à la quantité maximale de cations qu'un sol peut absorber. L'unité utilisée est le milliéquivalent exprimé pour 100 grammes de matière sèche. La capacité d'échange augmente avec la surface d'échange et la densité de charges négatives. Elle sera donc supérieure pour les sols renfermant des argiles (montmorillonite et illite) et des matières humiques. Le pH influence directement les propriétés d'échange qui seront réduites en milieu acide. A égale concentration en solution, les différents cations ne seront cependant pas adsorbés de façon équivalente. L'affinité augmente avec la valence ($C^+ < C^{2+} < C^{3+}$) et à valence égale, les ions les moins hydratés seront adsorbés de façon préférentielle ($K^+ > Na^+$).

- de réduire la porosité structurale et par là même sa perméabilité,
- de favoriser les réactions d'échange et d'adsorption en multipliant les sites de fixation.

La fraction fine est communément appelée "argile", ce qui est impropre, car cette fraction contient en fait un mélange d'argiles minéralogiques et d'autres minéraux (quartz, calcaire, oxyhydroxydes). Tous les minéraux ont des capacités d'adsorption mais les argiles, de par leurs propriétés structurales et électrochimiques, favoriseront les échanges. De la matière organique sous forme d'acides humiques et d'acides fulviques est également associée à cette fraction fine.

- Propriétés des argiles

L'argile se compose de l'assemblage en feuillets d'unités de base tétraédriques (silicate) et octaédriques (aluminate). Ce sont respectivement des atomes d'oxygène entourant un atome de silice et des atomes d'oxygène ou des radicaux hydroxyles entourant un atome d'aluminium (figure 6). Il existe de nombreux types d'argile qui diffèrent par l'arrangement des feuillets. Les plus courants dans la constitution des sols sont les kaolinites, les illites, les montmorillonites.

Les argiles présentent une charge globale négative ce qui leur confère une capacité à retenir les cations. Cette charge négative peut provenir de la rupture de liaisons ioniques aux angles des particules ou de la substitution d'un cation du réseau par un cation de valence moindre. Pour compenser les valences des oxygènes qui ne sont plus saturées et maintenir une neutralité électrique, des cations métalliques occuperont les espaces interlamellaires. Ces cations resteront échangeables. L'échange sera d'autant plus aisé que la fixation du cation sera faible. La substitution dans les couches tétraédriques externes de Si^{4+} par un cation trivalent provoquera une fixation énergique du contre-ion assurant une certaine fixité des feuillets. Les échanges seront moins rapides et excluront les plus gros cations. C'est le cas avec les illites. Par contre, la substitution dans les couches octaédriques internes de Al^{3+} par des cations divalents engendre des charges négatives moins élevées qui ne provoquent qu'une fixation temporaire du cation qui sera facilement échangé ; le resserrement des feuillets est faible. C'est le cas des montmorillonites qui présentent une capacité d'échange cationique élevée et un fort pouvoir de gonflement en présence d'eau. Le phénomène est schématisé sur la figure 7.

Les argiles ont également la possibilité d'adsorber et d'échanger des anions. Ce caractère amphotère se traduit surtout en milieu acide.

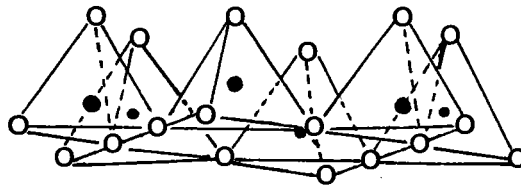


Figure 6 : Représentation d'un feuillet de type tétraédrique (O = oxygène, ● = silicium)

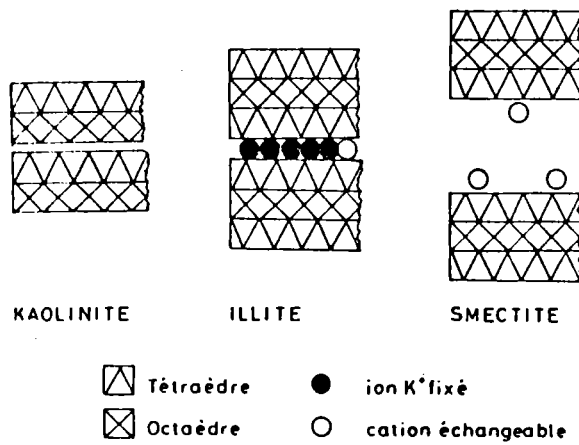


Figure 7 : Schéma de la structure des feuillets de trois types d'argile

l'eau sera seulement autorisé dans les pores inter-agrégats de dimensions plus grandes. Les matériaux les plus perméables seront ceux ayant une porosité structurale suffisante.

Les opérations de compactage des sols ont pour but d'homogénéiser et de réduire la porosité structurale afin d'augmenter l'étanchéité (BERNHARD *et al.*, 1993). Les matières en suspension et les micropolluants qui y sont associés pourront de plus être retenus au niveau de ces pores par un phénomène de filtration.

- Les capacités d'adsorption et d'échange

Plus la porosité est grande, plus les surfaces spécifiques seront élevées, multipliant ainsi les sites d'adsorption. Ces réactions de sorption sont importantes car elles définiront les temps de résidence des micropolluants au sein de la décharge et dans le sol (ÖMAN, 1993). Différents modèles sont proposés pour décrire la fixation des polluants sur un support solide : linéaire, Freundlich, Langmuir, Gibbs, etc.. Les quantités fixées dépendent des concentrations en solution du soluté et du nombre de sites de fixation du support.

Les réactions d'adsorption mettent en jeu des liaisons plus ou moins fortes selon qu'elles sont électrostatiques (physisorption) ou covalentes (chimisorption) (VOICE et WEBER, 1983). Les principaux mécanismes d'action des surfaces adsorbantes sont représentés sur la figure 5. Le pH est une variable importante car il détermine la charge des solides. Les phénomènes d'adsorption sont difficilement dissociables des réactions d'échange (HUANG *et al.*, 1977).

Les risques de pollution des eaux souterraines seront d'autant diminués que les capacités de rétention du sol seront grandes. Le rôle des argiles dans les sols comme barrière à la pollution sera développé.

b) Capacité de rétention des sols

L'analyse granulométrique d'un sol permet de séparer différentes classes de constituants que sont la fraction fine (elle comprend les particules de dimension inférieure à 2 μm), les limons (0,002-0,02 mm), les sables fins (0,02-0,2 mm) et grossiers (0,2-2 mm), les graviers (2-20 mm) et les cailloux.

Les propriétés de rétention d'un sol résulteront directement de la nature et de la proportion de ses différents constituants. La présence d'une importante fraction de fines particules est susceptible :

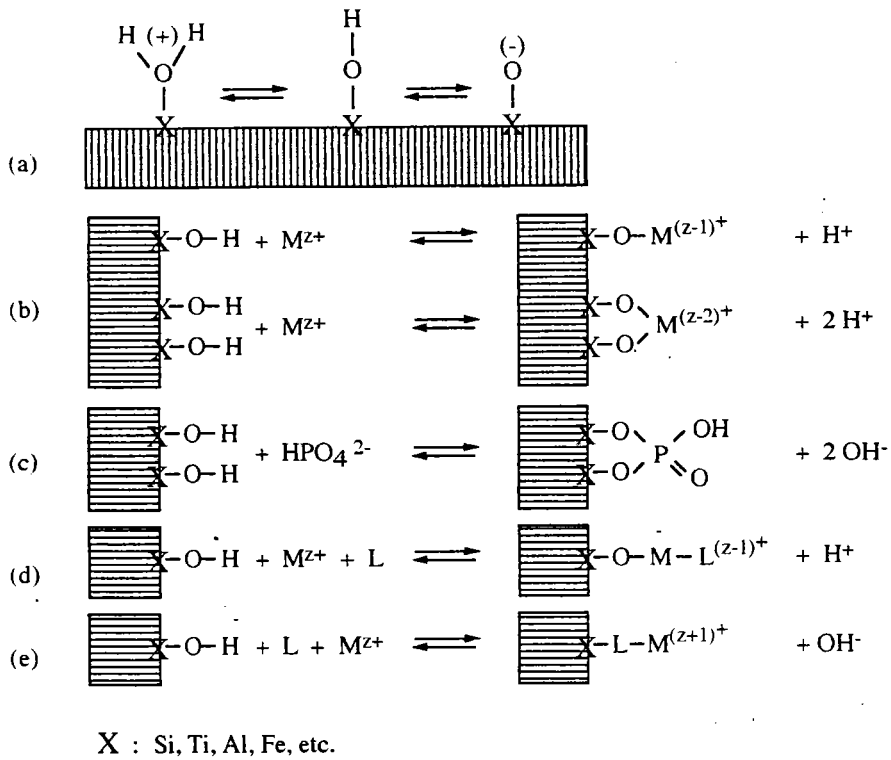


Figure 5 : Les mécanismes d'action des surfaces adsorbantes (d'après SCHINDLER, 1981 cité par SALOMONS et FÖRSTNER, 1984).

- (a) réaction acide-base au niveau des groupements hydroxyles de surface
- (b) coordination des métaux sur les sites déprotonés
- (c) remplacement des groupements hydroxyles par des ligands
- (d) coordination d'un métal avec un site de surface et un ligand
- (e) coordination d'un ligand avec un site de surface et un métal

2.1.3 Les caractéristiques de la matrice

Les vitesses de transfert des micropolluants dépendront :

- de leur état dissous (libre ou complexé) ou lié aux fractions solides. Leur association avec les matières en suspension, les déchets ou les composants du sol ralentira leur progression,
- de la vitesse d'écoulement de la phase liquide.

Les capacités de rétention de la matrice seront directement fonction de sa nature et plus particulièrement de sa porosité.

a) Influence de la porosité sur les capacités de rétention de la matrice

La porosité de la matrice va déterminer d'une part sa perméabilité et d'autre part, ses capacités d'adsorption.

- La perméabilité

Pour les éléments en solution, les déplacements au sein de la décharge et dans le sol comme dans tous les milieux poreux sont liés aux phénomènes de convection et de diffusion moléculaire.

Le transport par convection correspond à un écoulement de l'eau par gravité. La quantité transportée pour un micropolluant donné sera directement proportionnelle à la vitesse d'écoulement.

Lors d'un transport par diffusion, l'eau n'est pas en mouvement. Seul le gradient de concentration est responsable du déplacement. La quantité transportée sera exprimée par la formule :

$$J = - D \cdot \overrightarrow{\text{grad.C}}$$

J : flux pour un micropolluant donné (quantité/unité de surface et de temps)

D : coefficient de diffusion (unité de surface/unité de temps)

$\overrightarrow{\text{grad.C}}$: gradient de concentration (variation de concentration par unité de longueur).

Ce phénomène de diffusion est très lent par rapport au transport par convection.

La taille et la continuité des pores de la matrice seront des facteurs importants. Les pores de très petites dimensions, caractéristiques de la texture du matériau, ne permettront pas l'écoulement de l'eau. Le transport se fera uniquement par diffusion. L'écoulement de

b) Influence du potentiel d'oxydo-réduction

Avec le pH, le potentiel d'oxydo-réduction influence la stabilité des différentes formes solides et dissoutes des métaux. Dans les systèmes naturels, les cations restent stables en solution jusqu'à un pH égal à 7-8 en présence d'oxygène. Au delà se forment préférentiellement les carbonates et les hydroxydes. Dans des conditions réductrices, les complexes soufrés sont les plus stables (HEM, 1972 ; cité par FÖRSTNER et WITTMANN, 1981) (figure 4).

La biodégradation des composés organiques est affectée par les conditions d'oxygénation du milieu. Certaines molécules seront difficilement dégradées en milieu anaérobie et inversement.

c) Influence de la charge minérale du milieu

La présence de sels va conduire à la complexation des métaux sous forme de complexes plus ou moins solubles. Il y a précipitation quand le produit de solubilité K_s est dépassé. K_s est égal au produit $[M^{n+}] [X^{-}]^n$ où M représente le métal et X, le sel associé. Il apparaît en règle générale que les sulfures sont moins solubles que les carbonates et les hydroxydes. Les valeurs de K_s pour un sel donné sont spécifiques à chaque métal.

Les sels peuvent modifier les équilibres d'adsorption de la fraction métallique. SALOMONS (1980) met en évidence une baisse nette de l'adsorption du cadmium en présence de concentrations croissantes en chlorures. Cet effet sera d'autant plus important que les chlorocomplexes formés seront stables. D'autre part, suite à une compétition avec les métaux lourds, les cations alcalins et alcalino-terreux en concentrations élevées déplaceront la fraction métallique adsorbée.

d) Influence de la charge organique du milieu

De même, la formation d'organo-complexes peut augmenter la solubilité des métaux. C'est le cas de l'EDTA, complexant industriel, qui par exemple, maintient en solution tout le cuivre qu'il peut complexer en présence d'un support naturel comme la silice et ce quel que soit le pH (BOURG, 1983). Pour les complexes moins forts, une compétition s'opérera entre les sites d'adsorption de la matrice et le complexant. Certains complexes, présentant une forte affinité pour la matrice, accentueront au contraire la fixation du métal. Dans les milieux naturels, la présence d'acides humiques amplifie les phénomènes d'adsorption des métaux sur les argiles.

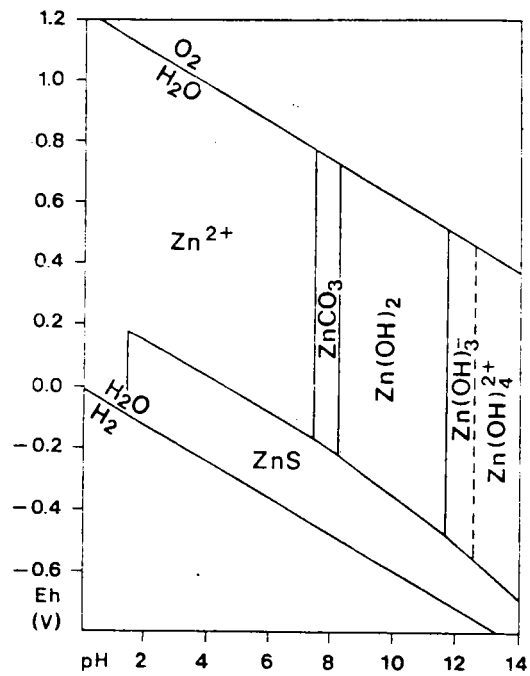


Figure 4 : Stabilité des différentes formes du zinc en fonction du potentiel redox E_h et du pH dans le système $Zn + CO_2 + S + H_2O$ à $25^\circ C$ sous 1 atm., $[Zn] = 10^{-5} M$, $[CO_2] = [S] = 10^{-3} M$ (d'après HEM, 1972 ; cité par FÖRSTNER et WITTMANN, 1981).

2.1.1 Les propriétés des micropolluants

Le devenir des métaux dans l'environnement est directement lié à la forme sous laquelle se trouve l'élément. Tous les facteurs susceptibles de modifier leur spéciation influenceront leur mobilité, leur biodisponibilité et par là même leur toxicité.

A la différence des métaux, les molécules organiques pourront être dégradées. Cependant, ces processus de dégradation chimiques ou biologiques peuvent conduire à des métabolites plus toxiques et/ou plus mobiles. C'est le cas de la production de chlorure de vinyl suite à la transformation, dans des conditions anaérobies, de solvants comme le tétrachloroéthène (VOGEL et McCARTHY, 1985).

2.1.2 Les caractéristiques de la phase liquide

La qualité de l'eau de percolation est déterminante. Les principaux paramètres responsables du passage en solution des micropolluants inorganiques mais aussi organiques seront le pH, les conditions d'oxydo-réduction, la salinité, la présence ou non de matières organiques autorisant l'activité bactérienne mais également les phénomènes de complexation (FÖRSTNER et WITTMANN, 1981 ; FÖRSTNER *et al.*, 1988).

a) Influence du pH

Une baisse de pH va entraîner la dissolution des carbonates, des hydroxydes, des sulfates et des sulfures avec la libération du métal sous sa forme cationique soluble. Inversement, la propriété des métaux à précipiter en milieu basique est très utilisée pour le traitement des effluents contaminés (GROSSE, 1989). Les composés organiques sont moins sensibles que les métaux aux variations de pH. Ce facteur peut cependant influencer leur solubilité et leur vitesse de dégradation en modulant l'activité bactérienne.

Le pH joue un rôle important dans les processus d'adsorption et de désorption (BOURG, 1983). Les protons entrent en compétition avec les métaux pour les sites de surface. Les profils d'adsorption en fonction du pH dépendent de la nature du métal mais également de la matrice (figure 3).

ADSORPTION
micromol/g

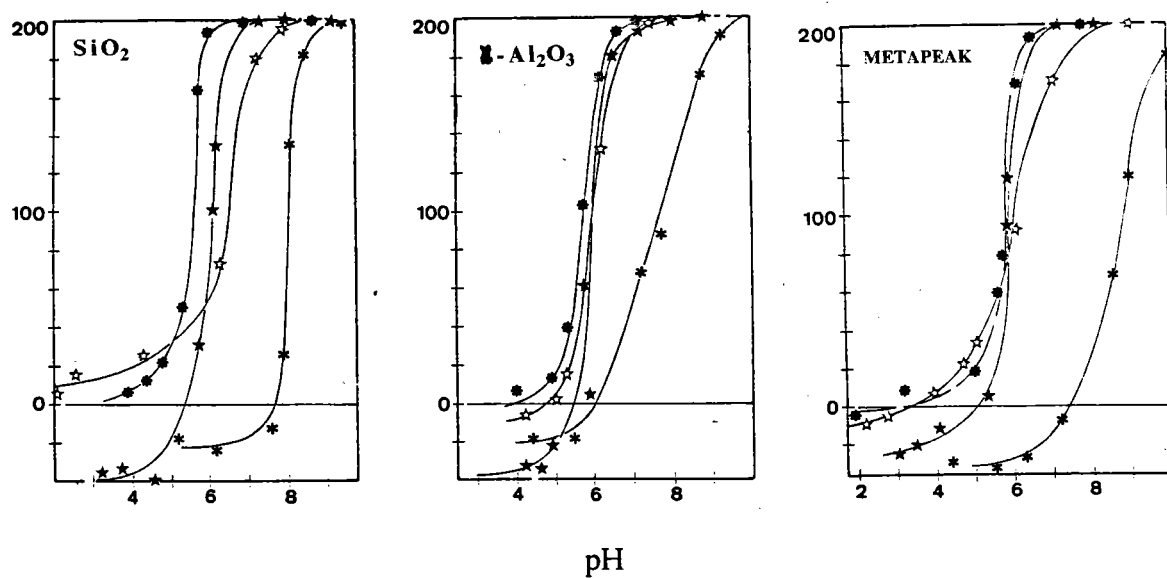


Figure 3 : Influence du pH sur l'adsorption des métaux sur différentes surfaces solides (d'après HUANG *et al.*, 1977). [solide] = 5 g/l, [métaux] = 10^{-3} M (sous forme de chlorures à l'exception du zinc qui est sous forme de sulfates), force ionique = 10^{-1} M (NaCl), * : Cu, ★ : Pb, ☆ : Zn, * : Cd.

2 La mise en décharge

Le principal risque de contamination de l'environnement lié à la mise en décharge des déchets est la formation de lixiviats. En effet, l'eau en percolant à travers la masse de déchets, est susceptible de solubiliser et d'entraîner les nombreuses substances minérales et organiques plus ou moins polluantes.

La principale source d'eau provient des précipitations, à laquelle s'ajoute l'eau contenue dans les déchets avant leur enfouissement. Les risques de pollution sont :

- une pollution des eaux superficielles due au relargage direct des eaux de percolation dans l'environnement,
- une pollution des sols et des eaux souterraines suite à leur infiltration.

Remarque : Les termes de lixiviat, percolat, lessivat et plus familièrement "jus de décharge" sont indifféremment utilisés pour désigner les eaux ayant percolé à travers la masse de déchets au niveau de la décharge. Pour des raisons de clarté, nous emploierons spécifiquement le terme de percolat pour les eaux issues de la décharge et réserverons le terme de lixiviat pour les eaux obtenues expérimentalement par la mise en contact de déchets avec un solvant.

L'impact sur l'environnement étant directement lié à ce processus de percolation, il apparaît primordial de connaître les mécanismes qui, au sein de la décharge et dans le sol, vont régir le passage dans la phase aqueuse des éléments potentiellement toxiques. Ces mécanismes sont complexes. Nous tenterons cependant de décrire les différents paramètres qui influenceront le relargage et le transfert des micropolluants.

2.1 Le transfert des micropolluants

Le transfert des micropolluants au sein du déchet dans un premier temps, puis au sein de la décharge et dans le sol, est gouverné par trois facteurs qui sont liés :

- à la nature minérale ou organique du polluant et à ses propriétés intrinsèques,
- aux caractéristiques physico-chimiques et biologiques de la phase liquide,
- à la nature de la matrice solide.

Les principaux phénomènes mis en jeu seront des réactions d'adsorption et de désorption, de complexation, de précipitation, de dégradation.

- du nombre et de la capacité limités des sites présentant les caractéristiques géologiques requises pour l'enfouissement,
- du refus quasi systématique du public de toute nouvelle installation "à risques", qu'elle soit destinée à l'incinération ou au stockage des déchets. Ceci fait suite à la prise de conscience d'une altération de la qualité des eaux, des sols ou du paysage liée à une mauvaise gestion de certaines installations.

1.2.3 La loi du 13 juillet 1992 (J.O. du 14 juillet 1992)

Cette nouvelle loi complète et modernise le précédent dispositif législatif. Elle met l'accent sur la nécessité :

- de réduire la production et la nocivité des déchets en développant des technologies propres,
- d'organiser leur transport en limitant les distances et les volumes,
- d'assurer la valorisation, le recyclage, le réemploi,
- d'informer le public sur les effets pour l'environnement et la santé publique des opérations de production et d'élimination des déchets.

Cette loi vise surtout à interdire la mise en décharge, à compter du 1er juillet 2002, de tous déchets non ultimes. Les déchets ultimes sont définis comme "résultant ou non du traitement d'un déchet qui n'est plus susceptible d'être traité dans les conditions techniques et économiques du moment, notamment par extraction de la part valorisable ou par réduction de leur caractère polluant ou dangereux". Cette réglementation est évolutive car un déchet considéré comme ultime aujourd'hui peut ne plus l'être demain si de nouvelles technologies permettent de le valoriser ou si un traitement, actuellement trop cher, devient économiquement supportable.

En ce qui concerne les déchets industriels, une liste des déchets dangereux ne devant pas être mélangés lors de leur stockage avec d'autres types de déchets sera prochainement établie. Et d'ici trois ans, des plans régionaux et inter-régionaux d'élimination devront être élaborés.

L'origine des déchets désormais acceptés en centre de stockage est schématisée sur la figure 2. Ce processus de stockage des résidus ultimes est déjà plus ou moins appliqué aux déchets industriels spéciaux.

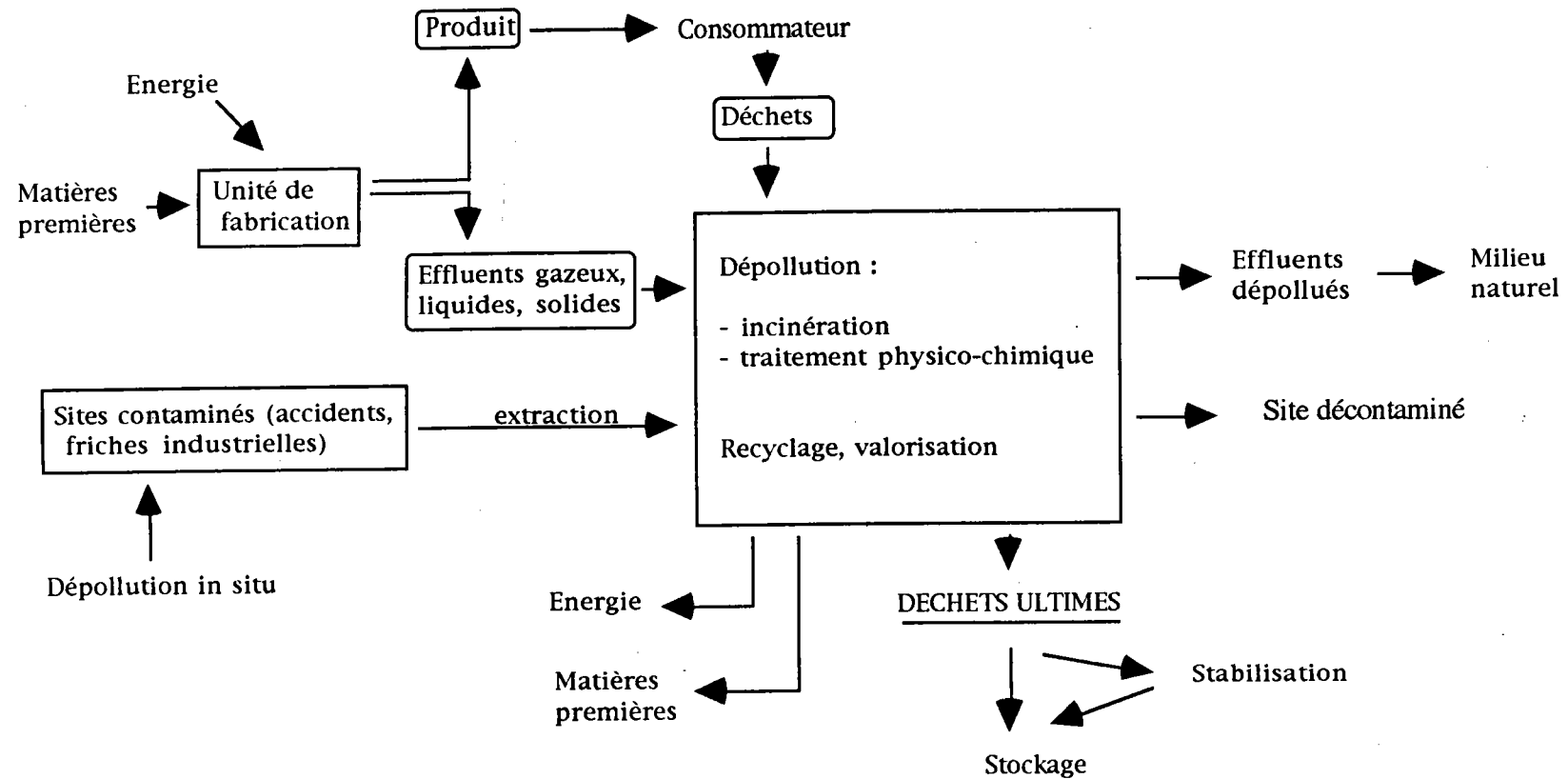


Figure 2 : Origine des déchets acceptés en centre de stockage

provenant de l'industrie est estimée à 20 millions de tonnes (METTELET, 1989). Cependant, l'ensemble de ces chiffres est à prendre avec précaution compte tenu que :

- peu d'états produisent de véritables bilans annuels globaux,
- la notion de déchets dangereux n'est pas clairement définie et varie selon les pays.

1.2 La gestion des déchets

1.2.1 Cadre législatif initial

La gestion des déchets est légiférée depuis 1975, avec la mise en place de la loi du 15 juillet (J.O. du 16 juillet 1975) relative à l'élimination des déchets et à la récupération des matériaux. Cette loi concerne tous les types de déchets qu'elle définit comme "tout résidu d'un processus de production, de transformation ou d'utilisation, toute substance, matériau, produit ou plus généralement tout bien meuble abandonné ou que son détenteur destine à l'abandon". Elle rend le producteur et/ou le détenteur de déchets responsable de leur élimination et précise que celle-ci devra se faire sans porter atteinte à la santé de l'homme ou de l'environnement. La loi du 16 juillet 1976 (J.O. du 20 juillet 1976) relative aux installations classées lui est complémentaire, son principal objectif étant de protéger l'environnement. Cette loi prévoit notamment la délivrance d'autorisations préalables d'exploitation pour toute unité de traitement des déchets.

1.2.2 Les filières d'élimination

Selon la nature du déchet, il existe différentes filières "d'élimination" :

- le recyclage, la valorisation et la réutilisation. Les déchets peuvent constituer une source d'énergie et de matières premières,
- les traitements physico-chimiques et biologiques pour les déchets "liquides",
- l'incinération. Ces deux traitements permettent une détoxification des déchets. Ils conduisent cependant à des résidus qui devront le plus souvent être éliminés en décharge,
- la mise en décharge.

D'un point de vue simpliste, la mise en décharge consiste en l'enfouissement des déchets dans le sol. Cette méthode d'élimination a été pendant longtemps privilégiée au détriment des autres filières pour son "avantage économique". Cependant, le problème de la gestion des déchets a dû récemment être reposé compte tenu :

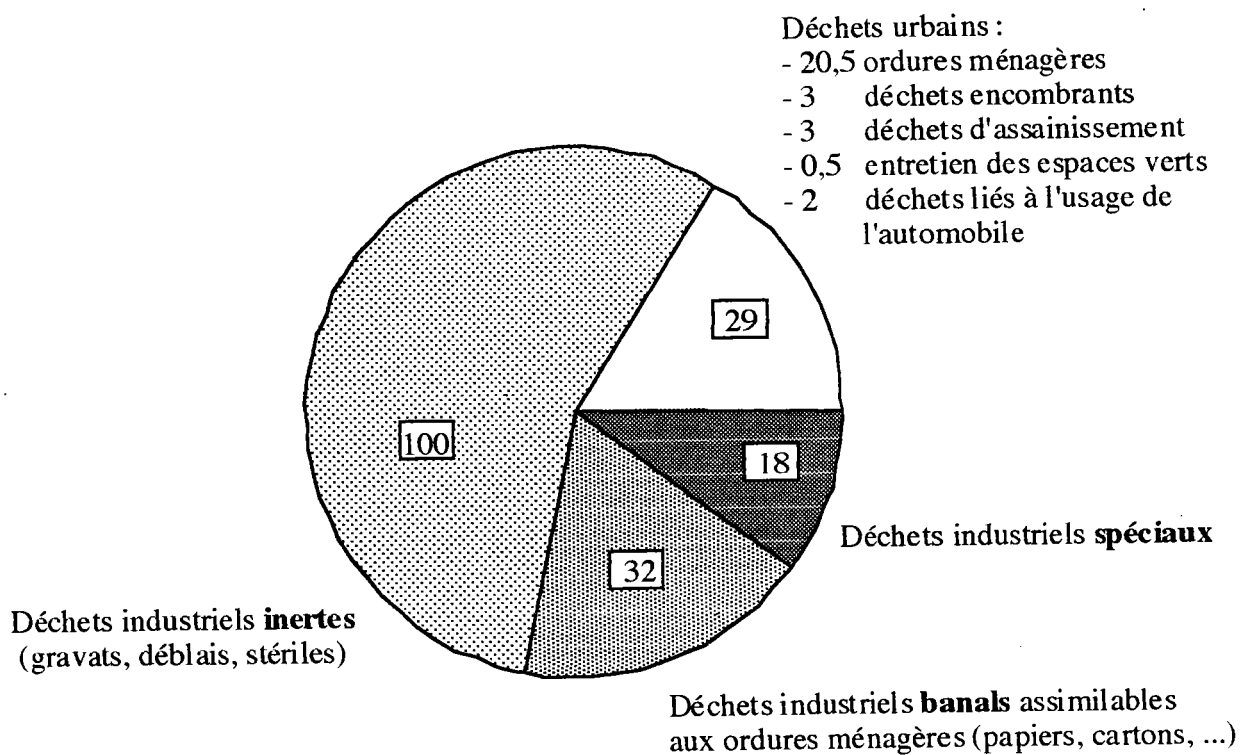


Figure 1 : Répartition des quantités annuelles de déchets industriels et urbains produits (en millions de tonnes) (ANRED, 1991)

CHAPITRE I : L'ELIMINATION DES DECHETS EN CENTRE D'ENFOUISSEMENT TECHNIQUE (C.E.T.)

1 Généralités

Les déchets, reliefs des activités humaines, ont de tous temps existé. Cependant, leur production ne cesse de croître en quantité, en complexité et en nocivité. Cette augmentation est liée au développement industriel et au changement de notre mode de consommation. La durée de vie limitée des produits, l'inflation des emballages, l'utilisation de matières premières difficiles à éliminer contribuent notamment au "problème déchets". D'autre part, une sensibilisation accrue pour la protection de l'environnement a conduit au développement des équipements de dépollution, à la réhabilitation de friches industrielles, à la reconnaissance de la toxicité d'un plus grand nombre de déchets qui seront à traiter.

1.1 Quantités de déchets produits en France et en Europe

Les quantités annuelles de déchets ménagers et industriels produits en France sont estimées à 179 millions de tonnes (ANRED, 1991). Leur répartition est donnée sur la figure 1. L'industrie est le plus important générateur de déchets et produit par an :

- 100 millions de tonnes de déchets dits inertes principalement constitués de déblais, de gravats, de stériles des activités extractives,
- 32 millions de tonnes de déchets dits banals de qualité assimilable aux ordures ménagères,
- 18 millions de tonnes de déchets dits spéciaux c'est à dire demandant un traitement particulier dont 10% sont qualifiés de dangereux.

Les quantités d'ordures ménagères produites par an représentent 20,5 millions de tonnes. En 30 ans, cette production a augmenté de 60% (POITEVIN, 1992). La présence de composés complexes (mélange par exemple de carton-aluminium-polyéthylène), de produits chimiques de synthèse, de métaux lourds (piles, batteries) rendent les ordures ménagères potentiellement polluantes. Aux ordures ménagères s'ajoutent les déchets encombrants, les déchets liés à l'usage de l'automobile, les déchets d'assainissement et d'entretien des espaces verts.

Les déchets de l'agriculture (déjections d'élevages, déchets des cultures) et des industries agro-alimentaires représentent 400 millions de tonnes.

En Europe, la production globale de déchets à l'exception des déchets agricoles serait de 1500 millions de tonnes par an. La part de déchets dangereux ("hazardous waste")

Compte tenu des nombreuses causes de variation liées à l'utilisation d'organismes vivants, les réponses seront toujours déterminées pour un groupe d'individus. Dans la mesure du possible, il est souhaitable de réaliser plusieurs essais afin de définir une valeur moyenne de la CE50.

1.3.2 Limites de la CE50

La seule détermination de la CE50 apparaît insuffisante pour traduire de la toxicité d'un produit ou d'un effluent. L'allure de la courbe est importante. La pente de la droite sera d'autant plus élevée que de faibles variations de concentrations entraîneront de grandes modifications de la réponse. C'est pourquoi, il est intéressant d'accompagner la CE50 des concentrations CE10 ou CE20, concentrations entraînant la réponse de 10% ou 20% des organismes exposés. Ces concentrations peuvent être considérées comme proches de la concentration sans effet qui, en fait, ne devrait pas être dépassée pour garantir le bon équilibre des écosystèmes.

1.3.3 NOEC, LOEC

D'autres paramètres déterminés également à partir des relations dose-effet, sont utilisés actuellement pour exprimer la toxicité : ce sont la NOEC (No Observable Effect Concentration) et la LOEC (Lowest Observable Effect Concentration). La LOEC est la plus faible concentration testée entraînant un effet statistiquement significatif par rapport au témoin. La NOEC est la concentration testée immédiatement inférieure à la LOEC ; elle correspond à la concentration la plus élevée pour laquelle la différence avec le groupe témoin n'est pas statistiquement significative. Ces deux paramètres, à la différence des concentrations effectives, dépendent beaucoup du niveau des concentrations testées (HOEKSTRA et VAN EWIJK, 1993).

1.3.4 Les unités toxiques ou équitox/m³

La toxicité sera d'autant plus importante qu'un effet d'intensité donnée sera obtenu pour de faibles concentrations de l'échantillon. Dans le cas de l'évaluation de l'impact d'un effluent où les concentrations sont exprimées en % en volume d'échantillon dans le milieu d'essai, les résultats peuvent être transformés en unités toxiques ou équitox/m³. Egales au

rapport 100/CE50 ou 100/NOEC, elles correspondent au taux de dilution de l'effluent. La réponse en équitox devient directement proportionnelle à la toxicité.

2 Evaluation de la toxicité des effluents industriels

2.1 Complémentarité de l'approche physico-chimique et toxicologique

Le contrôle analytique des effluents industriels repose sur le dosage de micropolluants spécifiques (métaux lourds, sels, composés organiques) et la détermination de paramètres globaux comme la charge totale en carbone organique, la conductivité, la charge en hydrocarbures (indice CH₂), etc. La liste des éléments à analyser peut varier en fonction des activités à l'origine du rejet.

Pour une substance donnée dont la concentration est connue, il serait possible à partir des relations dose-effet-temps établies lors de l'analyse toxicologique de "prévoir" les effets toxiques. Les effets pourront cependant être modulés en fonction des conditions environnementales car de nombreux facteurs, comme nous l'avons vu, sont susceptibles d'influencer la toxicité.

La prédiction des effets par l'analyse physico-chimique est par contre plus difficile pour des mélanges complexes de micropolluants, qui vont pouvoir interagir, comme dans les effluents industriels. Ces interactions sont susceptibles de modifier de façon importante la toxicité de chacun des composants en l'augmentant ou en la diminuant. Ces phénomènes de synergie ou d'antagonisme ne peuvent être prédits par l'analyse.

D'autres éléments expliquent que l'analyse physico-chimique seule présente des limites pour juger de la toxicité des milieux complexes (CAIRNS et NIEDERLEHNER, 1990 ; VASSEUR et FERARD, 1992) :

- les analyses ne sont pas exhaustives. Seuls les éléments recherchés sont dosés. Pour des raisons techniques et économiques, l'identification et le dosage des composés organiques sont rarement demandés dans les analyses standards,
- les analyses sont globales et ne définissent pas la forme chimique sous laquelle se trouvent les éléments. Or la biodisponibilité, et par conséquent la toxicité, dépendent de la spéciation des éléments, c'est à dire de la forme libre, ionisée ou liée sous laquelle se trouvent les substances toxiques organiques et inorganiques,
- des effets toxiques peuvent se produire pour des concentrations inférieures aux seuils de détection des appareils d'analyse.

Pour une évaluation des risques environnementaux liés au rejet des effluents industriels, le contrôle toxicologique est indispensable et complémentaire au contrôle analytique. Il n'existe que quelques cas où l'analyse physico-chimique peut s'avérer suffisante pour prévoir une toxicité :

- lors du rejet de substances pures ou de mélanges bien définis dont la toxicité a préalablement été étudiée,
- lors de rejets très contaminés avec des teneurs en micropolluants dépassant largement les seuils réglementaires et où les concentrations des éléments identifiés seront à même d'entraîner des effets toxiques à court terme.

2.2 Evaluation toxicologique et réglementation

Au plan réglementaire en France, le contrôle toxicologique des effluents générés par les activités reconnues polluantes se résume à l'évaluation de la toxicité aiguë sur un seul organisme : la daphnie. Ce contrôle s'inscrit dans le cadre de la loi sur les Installations Classées où est défini le principe de "pollueur-payeur". La réponse exprimée par la concentration inhibant la mobilité de 50% des organismes à l'issue d'une exposition de 24 heures est utilisée par les Agences de Bassin pour fixer la redevance, qui devra être payée par le pollueur pour sa contribution à la contamination des eaux.

Les essais toxicologiques entrent de plus en plus dans les procédures de contrôle de la qualité des effluents rejetés par les industries. Aux Etats Unis, l'EPA (Environmental Protection Agency) recommande pour la délivrance des permis autorisant les industries à rejeter leurs effluents, le contrôle de la toxicité aiguë et de la toxicité chronique sur au moins trois organismes appartenant à trois niveaux trophiques différents (EPA, 1991).

3 La toxicité des percolats et lixiviats

Comme nous l'avons vu dans la partie bibliographique, le principal risque de pollution lié au stockage des déchets est une contamination des eaux suite au passage en phase aqueuse des micropolluants présents dans les déchets.

Les percolats ainsi formés ont donné lieu à de nombreuses analyses chimiques. Cependant, quelques auteurs se sont intéressés à l'évaluation de leur impact potentiel sur les communautés peuplant les écosystèmes aquatiques et terrestres et ont testé sur différents organismes cibles la toxicité de percolats prélevés *in situ*.

Une autre approche des risques de contamination peut se faire via l'examen de la fraction lixiviable des déchets entrant sur le site. Quelques études sur la toxicité de la fraction

lixiviable de déchets industriels ont été réalisées. La principale étude mise en place en France a été effectuée par l'IRH de Nancy entre 1985 et 1989 où 72 déchets différents ont été soumis à une analyse toxicologique.

3.1 Toxicité des percolats de décharge

3.1.1 Tests mis en oeuvre

Les tests de toxicité aiguë sont ceux le plus souvent utilisés. Les organismes testés sont les bactéries, les daphnies, les poissons, les macroinvertébrés. Des essais de croissance sur des organismes végétaux ont également été mis en oeuvre. Plus récemment, des auteurs se sont intéressés au potentiel mutagène des percolats.

Les premières études de toxicité sur les percolats ont été réalisées à l'aide du test de létalité sur poissons (VIGERS et ELLIS, 1977 ; McBRIDE *et al.*, 1979 ; CAMERON et KOCH, 1980 ; WONG, 1989). Ces études concernent des décharges d'ordures ménagères. Mc BRIDE *et al.* (1979) ont associé un essai histopathologique avec observation de la variation du diamètre des noyaux des cellules interrénales des poissons exposés. Des différences significatives sont obtenues pour des expositions de 7 jours à des concentrations en percolat supérieures à 0,5%. Les concentrations létales 50% se situaient à des niveaux de concentrations compris entre 5,8 et 7,5%.

CLEMENT et BOUVET (1993) ont étudié l'influence de 10 percolats sur la croissance de la lentille d'eau *Lemna minor*. Ils obtiennent des CL50-5 jours comprises entre 3 et 67%. Les percolats issus des 2 décharges de déchets industriels se trouvaient parmi les échantillons les moins toxiques sur les 10 décharges testées.

OMURA *et al.* (1991, 1992) se sont intéressés au potentiel mutagène d'un percolat d'une décharge d'ordures ménagères qui recevait des cendres d'incinération. Plusieurs prélèvements ont été réalisés. Les échantillons ont été testés à l'aide du test d'Ames après une phase de concentration des micropolluants sur résine XAD-2/8. Les lixiviats les plus chargés en matières organiques se sont révélés être les plus mutagènes. Jusqu'à 16000 révertants/l de lixiviat ont été observés avec la souche TA98 (extrapolation faite par les auteurs).

ATWATER *et al.* (1983) ont analysé 28 percolats issus de 7 sites au Canada à l'aide des deux essais de létalité sur poissons et sur daphnies. Les CL50-96 heures se situaient respectivement entre 3%-100% pour le test truite et entre 4%-86% pour le test daphnie selon les échantillons. Les auteurs montrent une corrélation significative entre les deux tests et

proposent l'utilisation du test daphnie, plus facile à réaliser et moins coûteux, à la place du test poisson pour le contrôle de la toxicité.

La toxicité aiguë vis à vis de la daphnie et la mutagénicité de percolats issus de 3 décharges d'ordures ménagères ont été testées par MEZZANOTTE *et al.* (1988). Les échantillons les plus chargés en métaux n'apparaissaient pas les plus toxiques. Les auteurs suggèrent d'inclure ces deux tests complémentaires, au contrôle analytique réglementaire demandé par la législation italienne pour la surveillance de la qualité des eaux de surface et souterraines ainsi que pour la classification des déchets selon leur danger potentiel.

PLOTKIN et RAM (1984), DENEUVY (1987), JEAN (1991) ont testé la toxicité d'un ensemble de percolats sur plusieurs espèces situées à des niveaux trophiques différents et comparé la sensibilité de chacun des tests. Les batteries de tests sont respectivement représentées par bactéries-daphnies-algues-poissons, bactéries-daphnies-algues et bactéries-daphnies-macroinvertébrés-poissons. Le test Microtox et le test d'immobilisation de *Daphnia magna*, faciles à mettre en oeuvre, sont fréquemment utilisés pour l'évaluation de la toxicité des effluents complexes. Le test sur macroinvertébrés développé par PERRODIN (1988) et utilisé par JEAN (1991) apporte peu d'informations supplémentaires par rapport aux tests classiques dans la mesure où les espèces testées ne se révèlent pas plus sensibles. Si la sensibilité des différents organismes testés apparaît proche pour certains échantillons, les réponses diffèrent de façon importante pour d'autres. Ces variations confirment la nécessité de tester plusieurs organismes appartenant à différents niveaux trophiques pour évaluer l'impact potentiel d'un rejet dans l'environnement (LAMBOLEZ *et al.*, 1994). DENEUVY (1987) et JEAN (1991) ont utilisé leur batterie de tests constituée respectivement de bactéries-daphnies-algues et de bactéries-daphnies-macroinvertébrés-poissons pour évaluer l'efficacité de divers traitements des percolats.

3.1.2 Bilan des études

Il apparaît que les réponses de toxicité des percolats varient de façon importante entre les décharges. Cette importante variation se retrouve au niveau des analyses physico-chimiques sans que l'on puisse établir une corrélation entre les deux types d'analyses, physico-chimiques et toxicologiques.

L'évaluation de la toxicité se limite le plus souvent à l'évaluation de la toxicité aiguë, avec pour seul critère de toxicité, la mortalité.

3.2 Toxicité des lixiviats de déchets

3.2.1 Etude de l'IRH

Cette étude effectuée en collaboration avec un ensemble de laboratoires de toxicologie avait pour objectifs de :

- caractériser en terme de toxicité un grand nombre de déchets et de montrer les limites d'une seule approche analytique dans l'évaluation de leur impact potentiel,
- définir une méthodologie d'évaluation de la toxicité applicable au contrôle toxicologique des déchets à l'aide d'un ou de plusieurs tests parmi les divers essais mis en oeuvre.

La toxicité aiguë de la fraction lixiviable de 72 déchets de différentes origines a été testée sur - bactérie, protozoaire, artémie, daphnie, algue, lentille, souris. Le potentiel génotoxique de 12 déchets a également été recherché. Les lixiviats ont été préparés par trois mises en contact successives de 16 heures de 100 grammes de déchets avec 1 litre d'eau. Après centrifugation, les lixiviats obtenus ont été mélangés. Le pH de l'échantillon a été ramené entre 5,5 et 8,5 lorsque nécessaire. Une analyse chimique a été réalisée en parallèle : celle-ci comprenait une mesure du pH, de la conductivité, du résidu sec, de la DCO ainsi qu'une évaluation de la concentration de quelques polluants minéraux fonction de l'origine du déchet considéré.

Les résultats obtenus ont montré que la toxicité pouvait varier de façon importante en fonction des résidus. Certains tests comme les tests artémie et souris se sont montrés peu sensibles. L'ajustement du pH a entraîné une réduction de la toxicité moyenne des échantillons, ce qui était attendu.

Les réponses des tests daphnie, Microtox, artémie sont apparues corrélées. Les tests sur protozoaires et sur algues se sont révélés complémentaires. Le test lentille apportait peu d'informations supplémentaires. C'est pourquoi, les auteurs ont proposé de retenir pour la caractérisation écotoxicologique des déchets, les essais sur les organismes suivants, dans l'ordre d'importance décroissante : daphnie ou Microtox, algue, protozoaire, lentille. Compte tenu des différentes sensibilités des organismes, deux tests minimum seraient à utiliser.

Les essais de mutagénicité réalisés sur les lixiviats bruts n'ont pas donné de réponse positive. Par contre, les fractions concentrées de deux résidus issus de l'industrie chimique se sont révélées être mutagènes. Un des deux déchets, totalement dépourvu de toxicité aiguë, soulignait bien que toxicité aiguë et mutagénicité sont deux caractères indépendants.

Les auteurs n'ont pas mis en évidence de relation entre l'origine des déchets et leur toxicité.

L'analyse chimique s'est révélée insuffisante pour expliquer les réponses de toxicité.

3.2.2 Influence de la procédure de lixiviation sur la toxicité

La procédure de lixiviation est susceptible de modifier la toxicité des lixiviats. NEUFELD et WALLACH (1984) ont testé vis à vis de la daphnie la toxicité de la fraction lixiviable de résidus issus de la conversion du charbon. A l'exception d'un résidu, les extractions aqueuses simples ont conduit à des lixiviats non toxiques. L'acidification du milieu à l'aide d'acide acétique a entraîné des toxicités plus importantes des lixiviats ($0,12\% < LC50\ 24h < 11,2\%$). Ces toxicités supérieures peuvent s'expliquer d'une part par une meilleure extraction des métaux et d'autre part par une toxicité de l'acide acétique lui-même.

Le rapport solide-liquide peut aussi influencer la toxicité (Agence Rhône-Méditerranée-Corse, 1987).

BESSI *et al.* (1992) et SILKOWSKI *et al.* (1992) ont étudié la mutagénicité d'extraits aqueux de cendres d'incinération à l'aide du test d'Ames et n'ont pas obtenu de réponses positives. Par contre, l'extraction directe des cendres avec un solvant organique comme le chlorure de méthylène a révélé la présence possible de composés mutagènes dans les cendres d'incinération échantillonnées (SHANE *et al.*, 1990 ; DE MARINI *et al.*, 1992 ; SHANE *et al.*, 1993).

3.2.3 Conclusion

Dans tous les cas, la toxicité des eaux de lixiviation de chacun des déchets pris séparément ne préjugera que faiblement de la toxicité des percolats compte tenu de la multiplicité et de la complexité des réactions susceptibles de se produire au sein de la décharge.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

CHAPITRE III : PRESENTATION DE L'ETUDE ET METHODOLOGIE

- 1 Le site
- 2 Echantillons testés
- 3 Analyses toxicologiques
- 4 Analyses chimiques
- 5 Conservation des échantillons
- 6 Analyse multivariée des données

CHAPITRE IV : TOXICITE DES LIXIVIATS DE DECHETS ET DES PERCOLATS DE DECHARGE. QUALITE DES EAUX DE SURFACE

- 1 Toxicité des lixiviats de déchets
- 2 Toxicité des percolats de décharge
- 3 Qualité des eaux de surface aux alentours du site

CHAPITRE III : PRESENTATION DE L'ETUDE ET METHODOLOGIE

1 Le site

1.1 Géologie du site

Le centre de stockage correspond à l'emplacement d'une ancienne carrière se situant dans le niveau supérieur des argiles à Amalthéus. Les conditions géologiques et hydrogéologiques du site sont données sur la figure 12. Une couche de plus de 100 mètres d'argile sépare le site de la nappe aquifère qui se trouve au niveau des calcaires à gryphées. Ces argiles sont très peu perméables : le coefficient d'imperméabilité mesuré sur les 5 premiers mètres est inférieur à 10^{-10} mètres/seconde. Le site présente donc des caractéristiques géologiques nettement supérieures à celles imposées par la législation pour les C.E.T. de classe I (coefficient d'imperméabilité inférieur à 10^{-9} mètres/seconde sur une épaisseur minimale de 5 mètres). Du fait de l'absence de nappe phréatique sous-jacente, les risques de pollution seront principalement liés au transfert de micropolluants dans les eaux de surface.

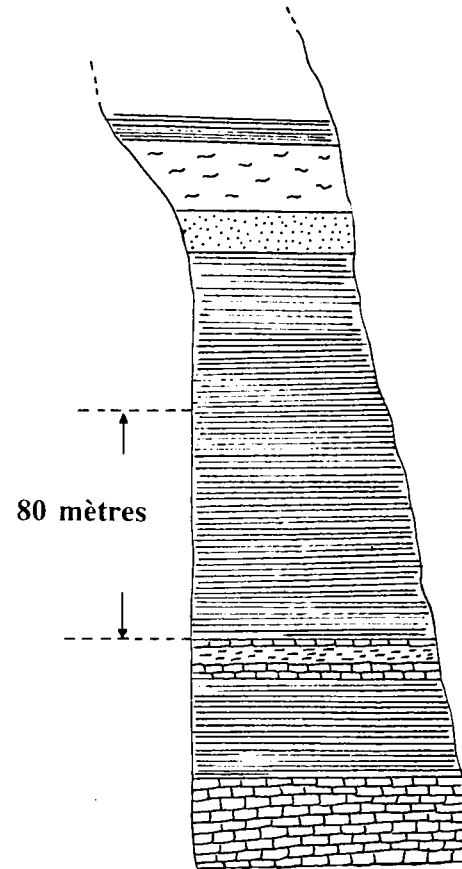
1.2 Aménagements

L'ensemble des aménagements est schématisé sur la figure 13.

Quatre piézomètres (P4 à P7), profonds d'une dizaine de mètres, ont été creusés en aval du site. N'étant reliés à aucun aquifère, ils renferment une eau plus ou moins stagnante. Aucun prélèvement n'y a été effectué dans le cadre de cette étude.

L'ensemble des percolats de la décharge est drainé vers un bassin (B1). Quatre tuyaux (T1 à T4) provenant de différents endroits du site y débouchent. Les percolats de T4 sont issus exclusivement de nouvelles alvéoles où seuls ont été stockés des déchets industriels. Les tuyaux T1 à T3 drainent des percolats d'alvéoles plus anciennes renfermant notamment des déchets domestiques car ces déchets étaient acceptés au début de l'exploitation du site. Les eaux du bassin B1 sont régulièrement transférées à l'aide d'une pompe dans un second bassin (B2) où elles subissent une aération. Hormis cette aération, aucun traitement des percolats n'est mis en oeuvre, la totalité des eaux du bassin étant utilisée ensuite pour la mise en sacs (big-bags) des cendres d'incinération.

CONTEXTE GEOLOGIQUE



COUPE DE LA CARRIERE

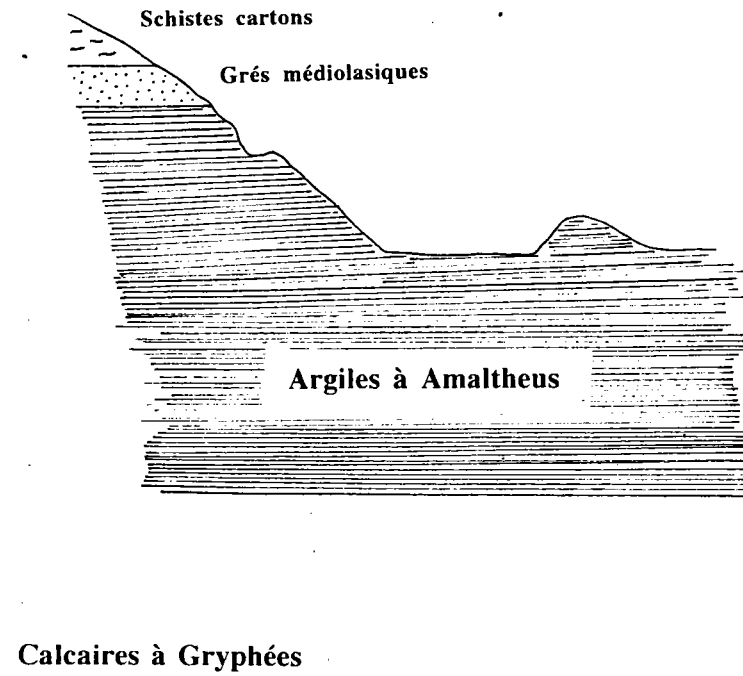


Figure 12 : Conditions géologiques du site

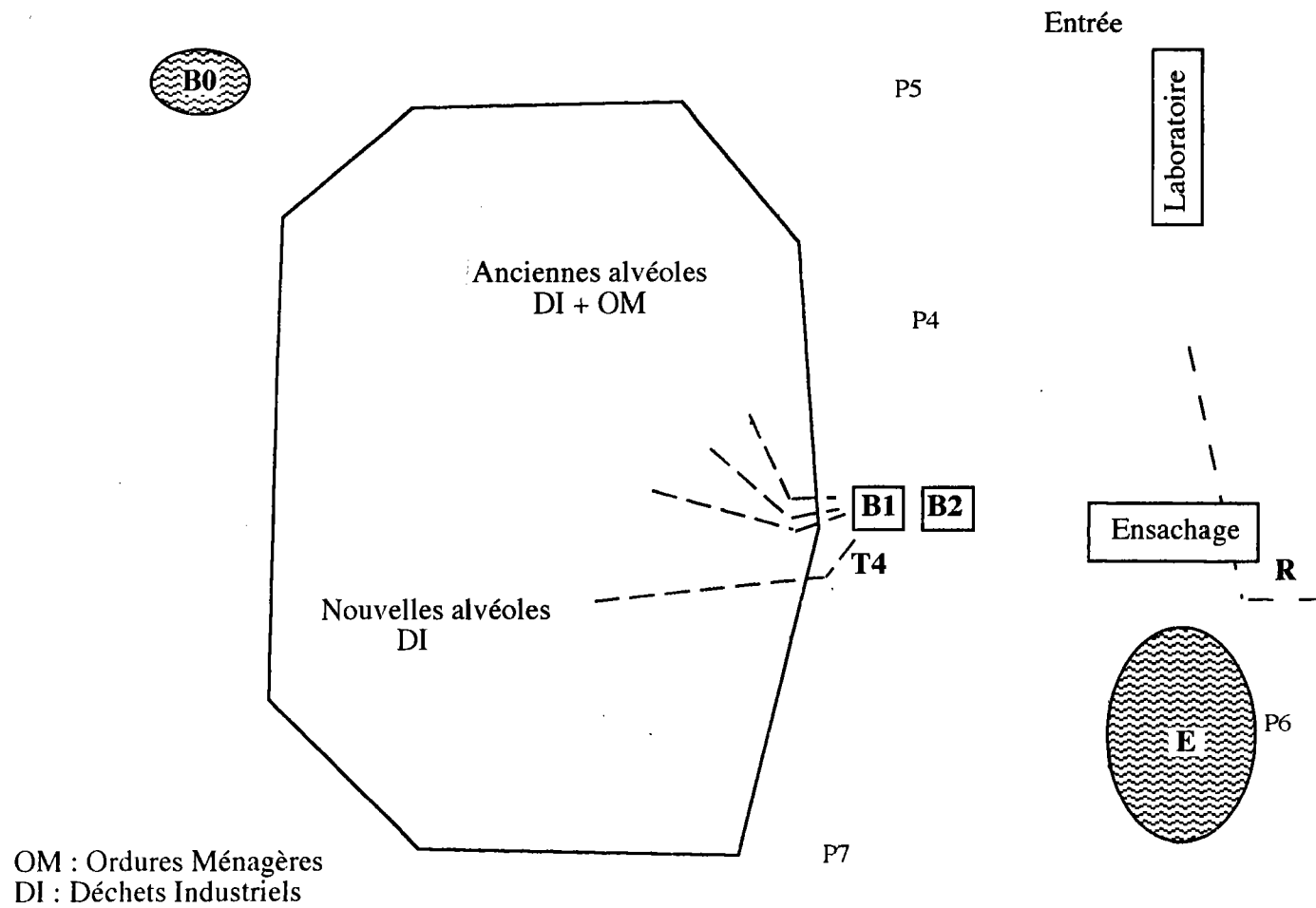


Figure 13 : Schéma du site

Le centre dispose d'une unité d'ensachage des cendres d'incinération. Le système est présenté sur la figure 14. Les cendres d'incinération possèdent une certaine réactivité hydraulique ce qui entraîne, en présence d'eau, la formation d'un "ciment".. Elles perdent ainsi leur caractère pulvérulent ce qui facilite leur stockage. Les percolats utilisés pour la "solidification" des cendres retournent ainsi sur le site évitant la mise en place d'une unité de traitement des percolats et tout rejet dans le milieu naturel.

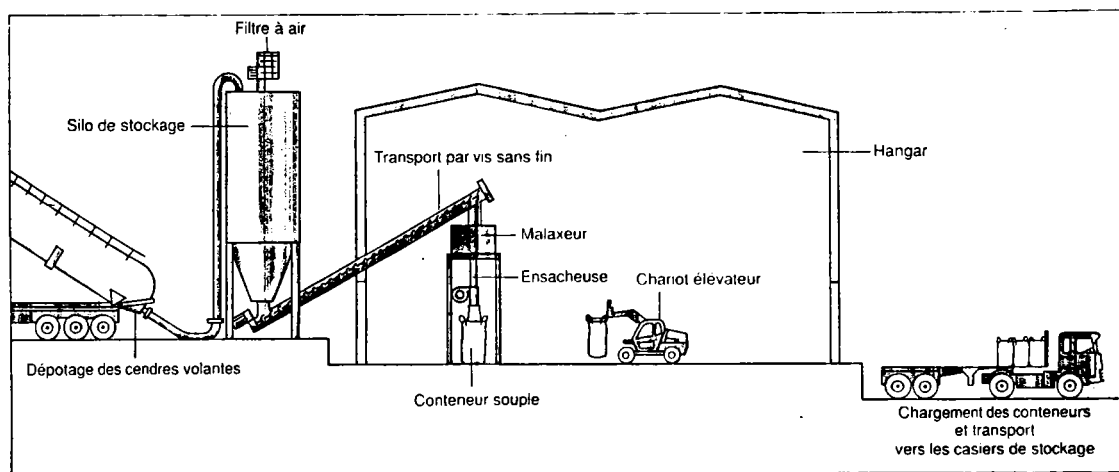


Figure 14 : Chaîne d'ensachage des cendres d'incinération

Les eaux de ruissellement du bassin versant, en amont du site, sont récupérées dans un bassin (B0) puis déviées de façon à ce qu'elles n'entrent pas sur le site. Elles constituent un point de prélèvement référence en terme de qualité.

Les eaux de pluie transitant sur le site sont drainées d'une part vers un étang (E), aménagé par France Déchets en bassin piscicole et d'autre part, vers une rigole (R) qui débouche sur un fossé en bordure de route à l'extérieur du site. R reçoit également une partie du trop plein de l'étang E selon son niveau de remplissage.

Le laboratoire se trouve à l'entrée du site. Il permet d'effectuer l'ensemble des analyses de contrôle (vérification du bordereau d'acceptation, échantillonnage, analyses physico-chimiques) et la pesée des déchets.

Tableau 5 : Origine des déchets sélectionnés, code échantillon et date de prélèvement

Résidus de la dépollution de l'eau		
C282 A213	Boue de filtre presse (Boue d'hydroxydes métalliques) Traitement des aciers	A - nov. 90 A' - fév. 93
C284 A932	Résidus de décantation filtration de la station finale Industrie chimique	B1 - jan. 91 B2 - oct. 91 B' - fév. 93
C281 A243	Boue de filtre presse (Boue d'hydroxydes métalliques + boues de phosphates) Construction automobile	C1 - juin 91 C2 - oct. 91
Résidus de peinture		
C163 A240	Déchet de peinture sans phase liquide Construction mécanique	D - juin 91
C163 A244	Déchet de peinture sans phase liquide Construction mécanique	E1 - juin 91 E2 - oct. 91
Résidus de la métallurgie		
C203 A232	Crasses Fonderie des métaux non ferreux	F - juin 91
C203 A246	Laitiers, scories Traitement des batteries au plomb usagées	G - mars 91
Résidus d'incinération		
C201 A931	Mâchefers Incinération de déchets industriels	H - mars 91 H' - fév. 93
C202 A921	Poussières fines, cendres volantes Incinération d'ordures ménagères	I - jan. 91 I' - fév. 93
C202 A921	Poussières fines, cendres volantes Incinération d'ordures ménagères	J1 - nov. 90 J2 - nov. 92 J' - fév. 93
C202 A921	Poussières de déchloruration (voie semi-sèche) Incinération d'ordures ménagères	K1 - mars 91 K2 - nov. 92
Matériaux souillés		
C306 A999	Terres souillées par des PCBs	L - juil. 91

2 Echantillons testés

Les échantillons testés sont de trois "natures" différentes. Nous nous sommes intéressés au potentiel toxique :

- de la fraction lixiviable d'un ensemble de déchets industriels admissibles en C.E.T.. Une approche de l'efficacité des traitements de solidification/stabilisation a été réalisée,
- des percolats de décharge,
- des eaux de surface ayant transité par le site.

L'origine exacte des échantillons ainsi que les procédures de préparation sont détaillées ci-dessous.

2.1 Les déchets

2.1.1 Déchets non stabilisés

a) Origine des déchets testés

Douze résidus ont été sélectionnés et sont présentés dans le tableau 5. Ces résidus se répartissent entre les cinq grandes familles de résidus acceptés en C.E.T. de classe I. Ils ont été choisis parmi les résidus représentant des tonnages élevés et arrivant régulièrement sur le site.

La plupart des résidus a fait l'objet d'un second échantillonnage à plusieurs mois d'intervalle en vue :

- d'étudier la variabilité de la composition des déchets générés en fonction du temps, pour une unité de production donnée (B, C et E - octobre 91),
- de vérifier l'efficacité des traitements de solidification/stabilisation (J et K - novembre 92)
- de compléter les résultats de toxicité des premiers résidus prélevés (A, B, H, I et J - février 93).

b) Préparation des lixiviats

Pour un échantillonnage aussi représentatif que possible, plusieurs prélèvements correspondant à un même arrivage du déchet ont été réalisés.

Les lixiviats résultent de la mise en contact pendant 16 heures de trois fractions de 175 grammes de déchets avec 1,75 litre d'eau déminéralisée. Un système d'agitation à

hélices (60 tours/minute) a été utilisé. Les trois lixiviats ainsi obtenus sont rassemblés avant la réalisation de l'ensemble des analyses.

2.1.2 Déchets solidifiés/stabilisés

a) Origine

Deux résidus issus de l'épuration des fumées d'incinération des ordures ménagères, stabilisés à l'aide de ciment comme liant hydraulique, ont été testés. Il s'agit des échantillons JS et KS. Un échantillon des cendres brutes, correspondant respectivement à J2 et K2, a été conservé.

La stabilisation des cendres a été réalisée par la société Inertec (filiale de France Déchets). Les proportions cendres/ciment/eau pour les résidus JS et KS sont égales respectivement à 1000/693/750 et 1000/743/680 (rapport massique). Trois "éprouvettes" de chacun des résidus ont été tronçonnées aux dimensions 4x4x8 cm en vue du test de lixiviation.

b) Préparation des lixiviats

Les éprouvettes ont été suspendues à l'aide d'un morceau de gaze de façon à être immergées. Le rapport massique eau/échantillon de 10 a été respecté. Une agitation douce avec un barreau magnétique a été maintenue pendant la durée du test. Trois lixiviations successives de 16 heures ont été réalisées, chaque lixiviat étant conservé séparément. Entre chaque lixiviation, les blocs ont été stockés à température ambiante. Aucune altération des blocs n'a été constatée en fin de test.

Seuls JS et KS, lixiviats issus de la première lixiviation, ont été soumis à l'ensemble des tests de toxicité. Les lixiviats JSII, KSII et JSIII, KSIII, issus respectivement de la 2ème et de la 3ème lixiviation, ont fait l'objet d'une procédure d'analyse toxicologique réduite.

2.2 Les percolats de décharge

Trois échantillons ont été prélevés en février 1992 : en sortie du tuyau T4 (T), dans le bassin B1 (BA) et dans le bassin B2 (BB).

Ces eaux étaient de couleur brun foncé et dégageaient une forte odeur d'hydrocarbures.

2.3 Les eaux de surface

Les eaux de surface prélevées correspondaient :

- aux eaux des étangs BO (BO) et E (ET) qui se situent respectivement en amont et en aval du site de stockage. BO qui recueille les eaux de ruissellement du bassin versant sera notre point référence en terme de qualité des eaux. Les prélèvements ont eu lieu en juillet 1992,
- aux eaux de ruissellement du site R. Ces eaux ont été recueillies à l'émergence, avant leur écoulement dans le fossé. Deux échantillonnages à 7 mois d'intervalle ont été réalisés : en juillet 1992 (R1) et en février 1993 (R2).

3 Analyses toxicologiques

3.1 Présentation de la batterie de tests

Afin de prendre en compte les différentes formes de toxicité susceptibles de se manifester soit la toxicité à court terme et à long terme incluant la génotoxicité, cinq tests ont été mis en oeuvre dans cette étude. Trois organismes, représentant trois importants maillons trophiques des écosystèmes aquatiques, ont été utilisés.

Les effets de toxicité aiguë ont été mis en évidence sur :

- une bactérie, inhibition de la luminescence de *Photobacterium phosphoreum* : test Microtox,
- un microcrustacé, inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* : test daphnie 24h.

Les effets de toxicité chronique concernent la croissance, la reproduction, les effets sur le génome. Ils ont été mis en évidence sur :

- une algue, inhibition de la croissance de *Raphidocelis subcapitata* : test algue,
- un microcrustacé, inhibition de la reproduction de *Daphnia magna* : test daphnie 28j,
- une bactérie, induction de mutations reverses chez *Salmonella typhimurium* : test d'Ames.

L'utilisation de microorganismes -bactéries, algues, daphnies- pour l'évaluation de l'écotoxicité présente de nombreux avantages dont leur sensibilité aux toxiques, des temps de réponse rapides liés à leur court cycle de vie, une maintenance aisée. Ils conduisent à des essais relativement simples à mettre en oeuvre et dont le coût reste modéré, ce qui permet de les répéter. Ils nécessitent de faibles volumes d'échantillon. A l'exception du test de

reproduction de *Daphnia magna* dont la durée est importante, ces tests se classent parmi les "microbiotests" (BLAISE, 1991). Ils sont intéressants dans le cadre de séries d'essais.

Tous ces tests font l'objet d'une norme et sont reconnus pour leur pertinence. Ils sont couramment utilisés dans de nombreux laboratoires pour l'évaluation de la toxicité des milieux hydriques pollués : effluents, eaux de rivières, etc.

Une brève revue de leurs intérêts et limites est présentée avant de décrire la méthodologie employée.

3.2 Test Microtox

a) Principe

Ce test proposé par BULICH (1979) repose sur la mesure de l'inhibition de la luminescence de la bactérie marine *Vibrio fischeri*, apparentée et assimilée jusque récemment à *Photobacterium phosphoreum*. La luminescence est produite par un enchaînement de réactions biochimiques liées à la respiration cellulaire. Une diminution de la production de lumière sera le résultat d'une altération des activités métaboliques de la cellule. La baisse est proportionnelle à la toxicité.

b) Intérêts et limites

La réponse apparaît rapidement, après 5 à 30 minutes de contact bactéries-toxique selon que la substance est de nature organique ou minérale (FERARD *et al.*, 1983 ; VASSEUR *et al.*, 1986a).

Le test est facile à réaliser et peu coûteux. Les bactéries, fournies sous forme lyophilisée, se conservent aisément. Ce test s'applique à l'étude de la toxicité des substances chimiques comme au contrôle de la pollution des eaux.

Sa sensibilité pour un grand nombre de substances chimiques pures et de mélanges complexes est comparable à d'autres tests de toxicité aiguë, notamment sur daphnies et poissons (BULICH, 1982 ; KAISER et PALABRICA, 1991).

Les limites de ce test sont liées à l'origine marine des bactéries qui nécessite l'ajout de chlorure de sodium (NaCl) dans le milieu de culture. Les ions chlorures peuvent notamment

interférer avec les métaux pour former des complexes moins toxiques (VASSEUR *et al.* 1986b ; HINWOOD et McCORMICK, 1987).

c) Méthodologie

Ce test a été réalisé selon la méthode décrite par BULICH (1979). Elle fait depuis peu l'objet d'une norme française (AFNOR, 1991). Les échantillons de pH supérieur à 8,0 ont été neutralisés avant l'essai à l'aide d'acide chlorhydrique (HCl) (pH ajusté à $8,0 \pm 0,1$). La toxicité a été évaluée après 15 et 30 minutes de contact bactéries-échantillon. Le pourcentage d'inhibition de la luminescence a été calculé pour chaque concentration à l'aide de la formule suivante :

$$\Delta(\%) = (I_0 \cdot BR) - I_t / (I_0 \cdot BR)$$

BR = intensité lumineuse de la suspension témoin au temps t / intensité lumineuse de la suspension témoin au temps 0

I_0 = intensité lumineuse de la suspension au temps 0 (avant ajout du toxique)

I_t = intensité lumineuse dans le même tube au temps t.

Les essais ont été réalisés en duplicat, dans des délais de 24 à 72 heures après la préparation des échantillons.

La sensibilité du réactif a régulièrement été testée à l'aide de substances de référence. Les CE50 étaient comprises entre 0,5 et 1,1 mg équivalent Zn^{2+}/l pour le sulfate de zinc et entre 16,2 et 23,4 mg/l pour le phénol.

Ce test simple et rapide a été utilisé pour évaluer :

- l'évolution de la toxicité des lixiviats au cours du temps. Les essais ont ainsi été renouvelés après 4 à 6 semaines de stockage des échantillons à 4°C,
- l'influence sur la toxicité de la congélation des lixiviats.

Remarque quant à l'ajustement du pH : Les pH extrêmes peuvent à eux seuls être responsables d'atteintes physiologiques sur la flore et la faune. C'est pourquoi RIBO et KAISER (1987) recommandent de ne pas ajuster le pH des effluents avant de tester leur toxicité. L'ajustement du pH est, de plus, susceptible de modifier la biodisponibilité des substances chimiques et par là même leur toxicité (BABICH et STOTZKY, 1983). Cependant, certains lixiviats de déchets présentent un pH très élevé notamment dû à la

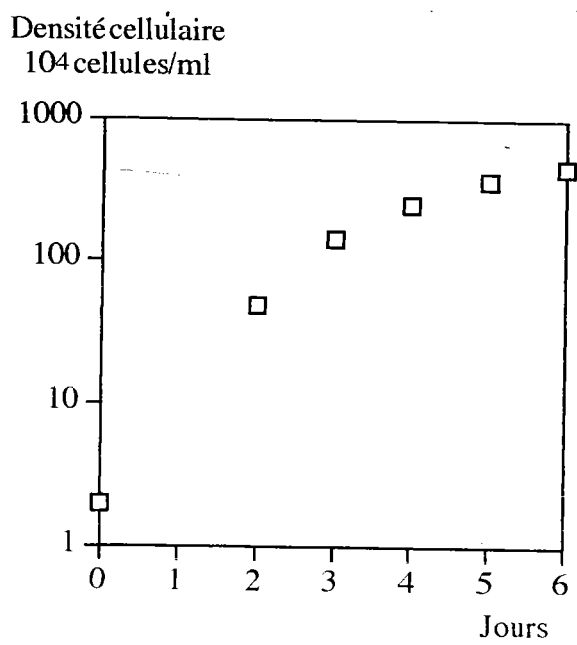


Figure 15 : Courbe de croissance de l'algue *Raphidocelis subcapitata*

présence de chaux utilisée pour neutraliser les échantillons et immobiliser les métaux sous forme d'hydroxydes. Pour un même échantillon, selon la quantité de chaux utilisée, la dilution nécessaire pour permettre la luminescence des bactéries sera plus ou moins importante. L'ajustement du pH permet de s'affranchir de l'influence de la charge en chaux de l'échantillon.

3.3 Test algue

a) Principe

La croissance de l'algue unicellulaire d'eau douce *Raphidocelis subcapitata*, précédemment appelée *Selenastrum capricornutum* (NYGAARD *et al.*, 1986), cultivée en présence de l'échantillon, est comparée à la croissance d'une culture témoin. La croissance peut être évaluée par une numération cellulaire des suspensions algales, par la mesure de l'activité photosynthétique ou de la réserve en énergie des cellules.

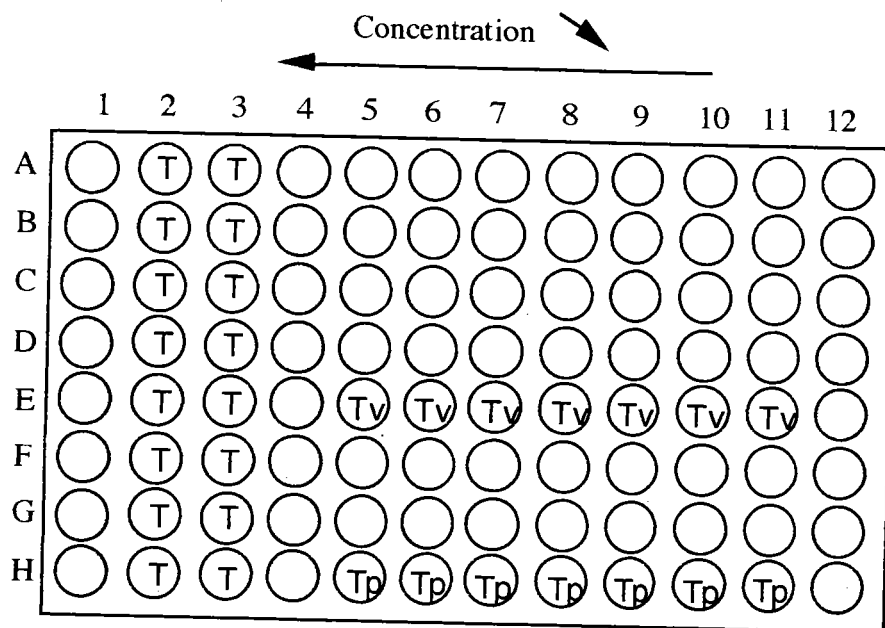
b) Intérêts

Les algues unicellulaires constituent le premier maillon des chaînes trophiques aquatiques et leur présence est importante pour le maintien des écosystèmes. Ce sont des organismes photosynthétiques ; ils permettront de détecter une toxicité qui se manifesterait spécifiquement au niveau des chloroplastes et sur la photosynthèse.

c) Méthodologie

Les essais ont été réalisés en microplaques, selon la technique décrite par BLAISE *et al.* (1986). Le milieu de culture utilisé est celui de la norme OCDE (1984). Na₂EDTA a été omis. Cet agent, capable de complexer les métaux a un double rôle : il accroît la croissance algale en permettant une meilleure assimilation des microéléments essentiels (MILLER *et al.*, 1978) mais il diminue la toxicité des métaux en les complexant. La concentration de l'inoculum était de 2.10^4 cellules/ml.

La croissance, suivie par une numération cellulaire des suspensions à l'aide d'un compteur de particules (Coulter Counter) a été mesurée après 3 et 5 jours d'exposition. Lors de cette dernière mesure, les algues se trouvent en fin de phase exponentielle de croissance ou au début de la phase stationnaire (figure 15). Une diminution de la toxicité entre le 3ème



- Ⓣ_v Témoin "volatilisation" (inoculum + milieu OCDE)
- Ⓣ Témoin "référence" (inoculum + milieu OCDE)
- Ⓣ_p Témoin "particule" (milieu OCDE + échantillon)
- Eau

Figure 16 : Test algue en microplaque : schéma expérimental

et le 5ème jour du test sera le reflet d'une certaine capacité des algues à "récupérer" après le choc toxique. L'inhibition de la croissance est calculée pour chaque concentration à partir de la formule :

$$I_x(\%) = (N_t - N_x) \cdot 100 / N_t$$

N_t = densité cellulaire de la culture témoin

N_x = densité cellulaire de la culture intoxiquée à la concentration x

Le schéma expérimental est représenté sur la figure 16. Différents témoins sont réalisés :

- des témoins de référence,
- des contrôles "volatilisation" ; ce sont en fait des témoins disposés parmi les puits tests. La présence de substances volatiles, susceptibles de contaminer et d'inhiber la croissance dans les puits avoisinants, se traduira par une réduction de la densité cellulaire de ces témoins par rapport aux témoins de référence,
- des contrôles "particules" ; constitués de l'échantillon et du milieu OCDE, ils sont utilisés comme blancs pour le compteur de particules lors de la numération algale.

L'évaporation est limitée par le recouvrement des microplaques avec une feuille de cellophane.

Les lixiviats de déchets ont été testés sans filtration préalable. La toxicité des percolats ainsi que des eaux de surface a été évaluée sans et avec filtration sur $0,2 \mu m$ afin d'éliminer les bactéries et/ou les cellules algales exogènes.

Les échantillons les plus basiques ont été neutralisés de façon à ce que le pH du milieu d'essai, à la plus forte concentration testée de l'échantillon, soit inférieur à 9. La plupart des échantillons ont été testés à leur pH original, compte tenu :

- de la forte toxicité des échantillons nécessitant une dilution importante,
- du pouvoir tampon du milieu OCDE qui renferme des bicarbonates.

d) Avantages et limites du test algue réalisé en microplaque

L'utilisation des microplaques présente de nombreux avantages par rapport au test classique effectué en erlens : faible volume d'échantillon nécessaire, gain de place, automatisation possible, augmentation du nombre de répliquats, gamme de concentration

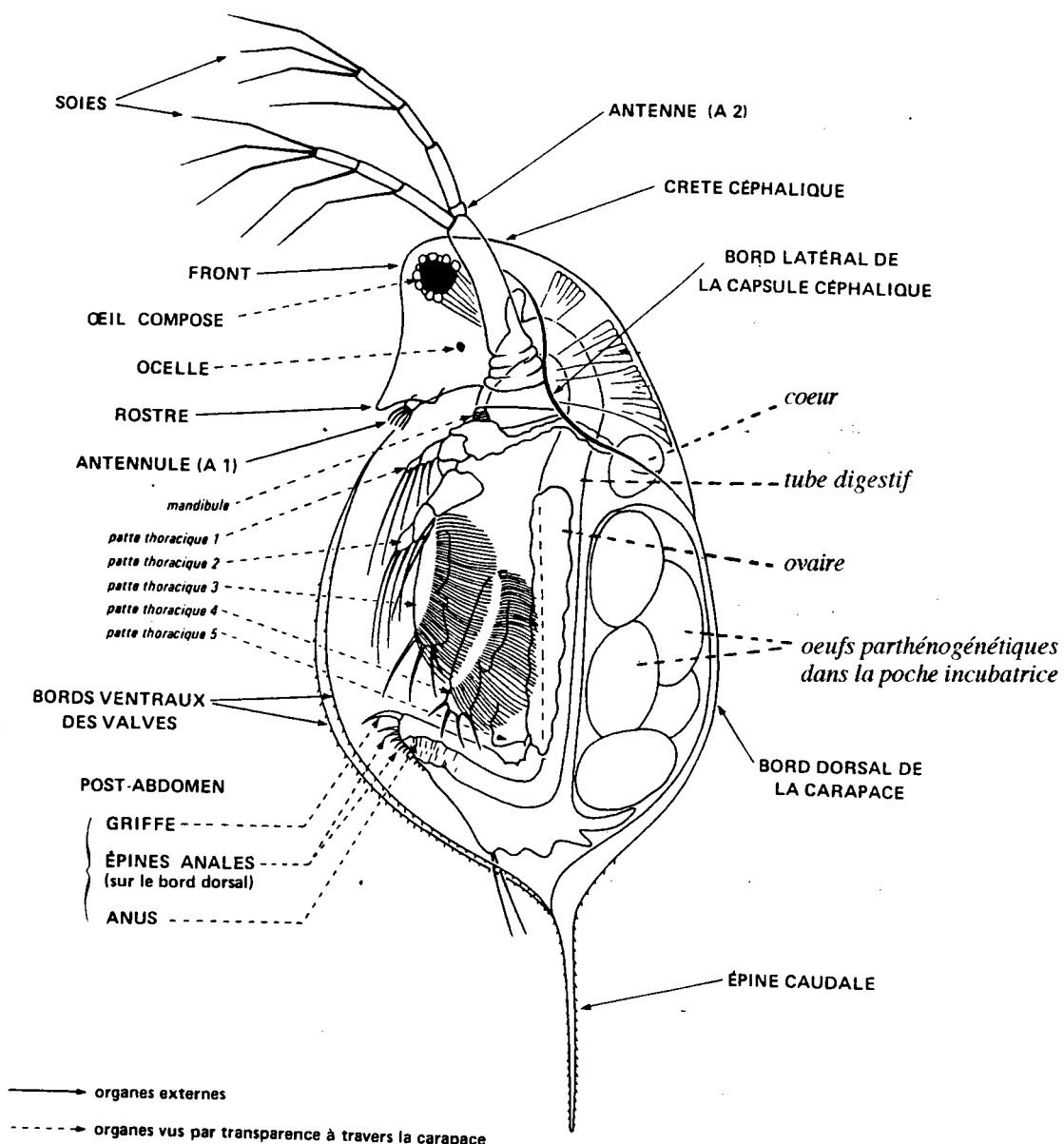


Figure 17 : Représentation de *Daphnia magna*

plus large, risques réduits de contamination liés à une verrerie mal lavée, les microplaques étant jetables.

La sensibilité des essais en microplaque apparaît comparable à celle des essais en erlens (COSSU, 1991 ; SAINT LAURENT *et al.*, 1991).

Les essais de reproductibilité montrent que les coefficients de variation des résultats sont inférieurs à 30% (THELLEN *et al.*, 1989 ; COSSU, 1991).

Cette méthode ne peut être appliquée aux substances volatiles d'où la nécessité de réaliser des contrôles "volatilisation". Pour quelques lixiviats renfermant des composés volatils, une modification du protocole a permis de s'affranchir de ce phénomène de diffusion des micropolluants dans les différents puits :

- des colonnes d'eau ont été intercalées entre les fortes concentrations,
- les concentrations en lixiviats ont été diminuées.

3.4 Tests daphnie

a) Principe

Le test daphnie 24h repose sur l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna*, microcrustacé d'eau douce. Ce microcrustacé nage en permanence, son immobilisation est indicateur d'un stress. Cette étape précède la mort de l'organisme.

Lors du test daphnie 28j, le nombre de petits pondus par les daphnies mères intoxiquées est comparé à celui d'organismes témoins.

b) Intérêts et limites

Cet organisme constitue une partie de l'alimentation des poissons. Il se reproduit par parthénogenèse. Sa reproduction est continue et abondante ce qui permet une disponibilité journalière d'individus pour les tests. Son élevage est relativement facile. La daphnie est représentée sur la figure 17.

La daphnie est cependant sensible à la qualité du milieu et de la nourriture qui influenceront de façon importante sa productivité (COWGILL *et al.*, 1985 ; BAIRD *et al.*, 1989 ; ELENDET et BIAS, 1990 ; ENSERINK *et al.*, 1990 ; NAYLOR *et al.*, 1992 ; COTELLE, 1993 ; FERRARI, 1993). De grandes variations interlaboratoires et intralaboratoires peuvent être observées.

c) Méthodologie

-Test daphnie 24h

Le test a été réalisé selon la norme ISO 6341 (1989) avec des daphnies âgées entre 48 et 72 h au début du test. Le pH des échantillons n'a pas été ajusté.

Le pourcentage d'inhibition de la mobilité est calculé après 24 h de contact daphnies-échantillon selon la formule :

$$Ix (\%) = Nx .100 / No$$

Nx = nombre de daphnies immobilisées à la concentration x

No = nombre de daphnies testées

Aucune mortalité n'a été relevée dans les tubes témoins. La sensibilité des daphnies, testée à chaque série d'essais à l'aide de dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$), s'est révélée satisfaisante avec des CI50 comprises entre 0,8 et 1,2 mg/l.

Remarque : Ce test de toxicité aiguë sur *Daphnia magna* est réalisé préalablement au test de reproduction. Il permet de définir les concentrations à tester. En effet, la productivité des daphnies mères ne pourra être contrôlée que si les concentrations en toxique dans le milieu autorisent leur survie.

-Test daphnie 28j

Deux protocoles d'inhibition de la reproduction des daphnies ont été utilisés. Ils correspondent à deux modes d'intoxication différents liés à des phénomènes de :

- bioaccumulation indirecte, le transfert des polluants se faisant via la nourriture algale,
- bioaccumulation directe, le transfert des polluants se faisant via le milieu d'élevage.

La mortalité qui peut survenir durant la période d'essai a été évaluée simultanément. Cet essai figure parmi les lignes directrices de l'OCDE mais ne fait pas encore l'objet d'un protocole normalisé.

• Conditions générales de réalisation des tests

Les daphnies sont élevées dans un milieu synthétique constitué en volume par 80% d'eau de Volvic et 20% de milieu Lefevre Czarda, ce dernier apportant les éléments minéraux nécessaires à la croissance. La dureté est ajustée en complétant le milieu en magnésium (56 mg/l $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) et en calcium (415 mg/l $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$).

La nourriture des élevages est constituée d'un mélange d'algues : *Raphidocelis subcapitata* ($0,2 \cdot 10^7$ cellules/jour/daphnie) et *Chlorella vulgaris* ($1,2 \cdot 10^7$ cellules/jour/daphnie). Lors des intoxications via la chaîne alimentaire, seule l'algue *Raphidocelis subcapitata*, préalablement intoxiquée ($1,4 \cdot 10^7$ cellules/jour/daphnie) a servi de nourriture aux daphnies.

Les petits, âgés entre 0 et 24 h au début du test, sont issus de mères âgées de 2 à 5 semaines. 8 petits sont placés par cristalliseur de 1 litre contenant 400 ml de milieu (deux cristalliseurs par concentration). La nourriture et les milieux sont renouvelés deux fois par semaine. Les petits sont numérotés puis éliminés ainsi que les daphnies mères mortes. Le pH et la concentration en oxygène dans le milieu ont régulièrement été vérifiés.

• Intoxication via la nourriture (test de 21 jours)

La contamination des algues résulte de l'ajout des lixiviats au milieu de culture. Cet ajout a été effectué 5 jours après l'ensemencement, sur une biomasse déjà partiellement constituée. Afin de permettre la croissance algale, la concentration testée correspondait à 1/10ème de la CI50-J3, déterminée au préalable. Après 48 h d'exposition, les algues sont récupérées après élimination du surnageant par centrifugation et stockées à 4°C jusqu'à leur utilisation.

Cette méthode a été utilisée pour évaluer la toxicité des lixiviats A, B1, H, I et J1. Nous l'avons abandonnée par la suite pour des raisons techniques, la toxicité de certains lixiviats ne permettant pas d'obtenir assez de biomasse pour nourrir les daphnies sur l'ensemble du test. L'analyse des algues a montré des facteurs de concentration (F), pour les métaux zinc, plomb, cuivre, cadmium, chrome, inférieurs ou égaux à 60 ($F = \text{concentration dans les algues (en mg/g de matière sèche)} / \text{concentration dans le milieu (en mg/l)}$)).

Tableau 6 : Test de reproduction de *Daphniamagna* : récapitulatif des concentrations testées

Toxicité aiguë de l'échantillon vis à vis de <i>Daphniamagna</i>	CI50 24h > 90% (échantillon non toxique)	CI50 24h = X%
Concentrations en lixiviats testées (%)	1/5 et 1/20	X/10 et X/2,5 voire pour les échantillons les plus toxiques à long terme X/25 et X/100
Concentrations en percolats ou eaux de surface testées (%)	1/2 et 1/10	

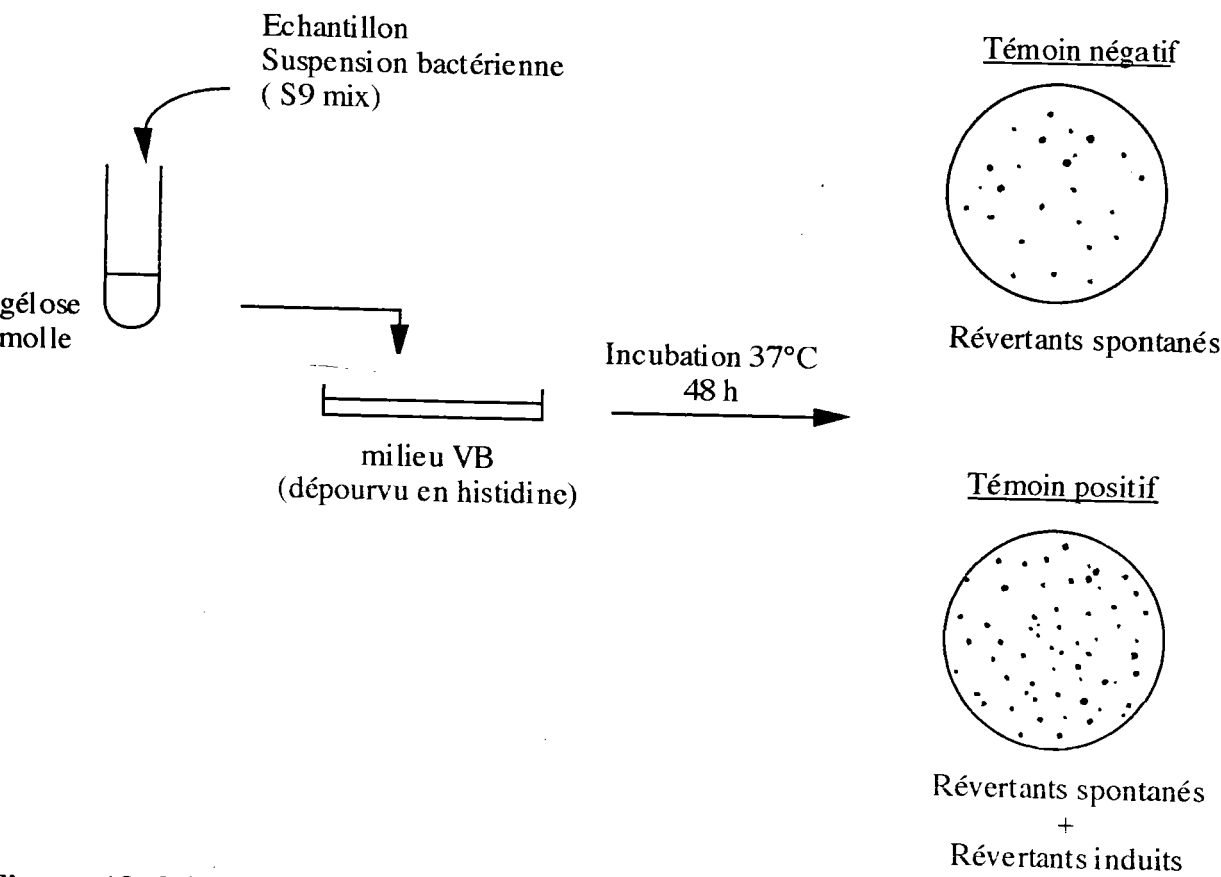


Figure 18 : Principe du test d'Ames

• Intoxication via le milieu d'élevage (test de 28 jours)

L'échantillon a été ajouté directement dans le milieu d'élevage, remplaçant en partie l'eau de Volvic. Deux concentrations ont été testées. Elles correspondent respectivement à 1/10ème et à 4/10ème de la concentration entraînant 50% d'immobilisation des daphnies après 24 h de contact (CI50). En absence de toxicité aiguë, la concentration maximale testée a été fixée à 20% en volume d'échantillon pour les lixiviats de déchets, à 50% pour les autres effluents dont le volume disponible n'était pas limité. Pour les échantillons les plus toxiques, entraînant à terme des effets sur la survie, les concentrations de 1/100ème et de 4/100ème de la CI50-24 h ont été testées en supplément. Les différentes concentrations testées sont récapitulées dans le tableau 6.

Au cours de la première semaine de test, l'échantillon est ajouté en concentrations progressives égales à 1/3 et 2/3 de la concentration finale, de façon à assurer une acclimatation des daphnies au "nouveau" milieu d'élevage.

3.5 Test de mutagénicité selon Ames

a) Principe

Ce test développé par AMES *et al.* (1975) est un test de mutation reverse réalisé sur bactéries. Les souches de *Salmonella typhimurium* his⁻ utilisées dans ce test sont toutes porteuses d'une mutation au niveau de l'opéron codant pour la synthèse de l'histidine. Cet acide aminé étant essentiel pour leur croissance, ces mutants sont incapables de se développer sur un milieu déficient en histidine. Avec une fréquence faible propre à chaque souche, ces mutants "his-" peuvent réverter spontanément, c'est à dire revenir à leur état sauvage en récupérant leur capacité de synthèse de l'histidine : elles sont alors capables de pousser sur un milieu non supplémenté en cet acide aminé. L'exposition à des agents mutagènes augmente considérablement la fréquence de réversion. Le pouvoir mutagène est donc évalué en mesurant l'augmentation du taux de mutants reverses.

Le test consiste à mettre en contact les bactéries avec différentes concentrations de l'échantillon. Après 48 heures d'exposition à 37°C, le nombre de révertants induits est compté et comparé au nombre de révertants spontanés apparus sur les milieux témoins (figure 18).

Une substance peut ne pas être mutagène sous sa forme primitive mais agir par l'intermédiaire d'un ou de plusieurs de ses métabolites. Les bactéries, à la différence des mammifères, ne possèdent pas de systèmes enzymatiques permettant d'assurer la métabolisation des composés promutagènes ou mutagènes indirects. C'est pourquoi, le

milieu de culture devra être supplémenté par une fraction constituée de cellules de foie de mammifères ou de poissons, renfermant les enzymes et co-enzymes nécessaires à la métabolisation (S9 mix).

b) Intérêts et limites

Ce test bactérien est le plus utilisé pour la détection des propriétés génotoxiques des produits chimiques et des échantillons environnementaux. Il est rapide et relativement facile à réaliser par comparaison à d'autres tests de génotoxicité *in vitro*, notamment sur cellules eucaryotes, ou *in vivo* sur des organismes supérieurs. Cependant, si sa sensibilité est équivalente aux autres essais *in vitro*, il serait par contre moins sensible que des essais *in vivo* sur poissons (PREIN *et al.*, 1978), sur batraciens (GODET, 1993) ou sur maïs (DE MARINI *et al.*, 1982) et ce notamment pour détecter la mutagénicité d'échantillons non concentrés (VAN DER GAAG *et al.*, 1990 ; GODET *et al.*, 1993).

ZEIGER *et al.* (1990) ont cherché à évaluer la capacité du test d'Ames à prédire des effets carcinogènes chez le rat. Leur étude a porté sur 114 composés dont 60% étaient carcinogènes. Ils montrent :

- une faible sensibilité du test d'Ames à détecter de telles substances ; seulement 48% des composés carcinogènes ont été identifiés par le test d'Ames,
- une bonne valeur prédictive du test d'Ames ; 89% des composés qui se sont révélés mutagènes étaient également carcinogènes.

Comme tous les tests de génotoxicité, le test d'Ames ne permet pas de détecter les substances "inertes" vis à vis de l'ADN, c'est-à-dire exerçant leur cancérogénicité par d'autres mécanismes que par l'induction de mutations.

Les niveaux de concentration des contaminants dans l'environnement sont le plus souvent insuffisants pour entraîner des effets détectables dans un court laps de temps. La concentration des micropolluants permet de compenser ce manque de sensibilité. L'étude des fractions concentrées peut être aisément réalisée avec le test d'Ames car il requiert de faibles volumes d'échantillon.

Les limites du test d'Ames sont liées au fait qu'il s'agit d'un test sur bactéries. Les bactéries sont dépourvues des systèmes de métabolisation des organismes supérieurs ; il est nécessaire de suppléer à cette déficience en ajoutant du S9 mix. Cette fraction riche en protéines présentant de nombreux sites d'adsorption, est susceptible de masquer une génotoxicité. La stérilisation préalable des échantillons aqueux par une filtration sur 0,2 μm est indispensable afin d'éliminer toutes bactéries exogènes. Cette filtration constitue une

autre limite du test car elle peut entraîner une réduction de la toxicité suite à l'élimination de particules sur lesquelles peuvent être adsorbés nombre de polluants organiques et minéraux.

c) Méthodologie

- Le test d'Ames

Le test a été réalisé selon la méthode décrite par MARON et AMES (1983). Quatre souches de *Salmonella typhimurium*, présentant des spécificités différentes, ont été testées : TA97 et TA98 (détection de mutation par décalage du cadre de lecture), TA100 et TA102 (détection de mutation par substitution de paires de bases).

Chaque essai a été effectué avec et sans activation métabolique. Les enzymes microsomiales, S9, sont issues de la fraction 9000g d'homogénat de foie de rats ; elles ont été induites par l'Aroclor 1254 (injection péritonéale). L'activité enzymatique de la fraction S9 a été évaluée préalablement aux essais afin de définir la quantité optimale à apporter dans le milieu. Pour cela, différentes concentrations en S9 ont été testées sur la souche TA 98, en présence d'un agent mutagène indirect connu, le benzo(a)pyrène. Le meilleur taux de réversion fut obtenu avec 2,5% de S9, concentration alors retenue pour l'ensemble des essais.

Pour chaque souche et lors de chaque essai ont été testés :

- le taux de réversion spontané,
- le taux de réversion induit par des substances mutagènes témoins à savoir pour les *mutagènes indirects*, le benzo(a)pyrène (1 mg/bte, TA97, TA98, TA100) et la 1,8-dihydroxyanthraquinone (50 mg/bte, TA102), et pour les *mutagènes directs*, l'azide de sodium (2,5 mg/bte, TA 100), la 9-aminoacridine (40 mg/bte, TA97), le 2-nitrofluorène (0,5 mg/bte, TA98) et l'hydroxyde de cumène (75 mg/bte, TA102),
- le taux de réversion induit par les solvants utilisés (eau ou diméthylsulfoxyde (DMSO)).

Une réponse est positive lorsqu'une concentration au moins entraîne un nombre de révertants induits égal ou supérieur à deux fois le nombre de révertants spontanés, sur une ou plusieurs souches, avec ou sans S9 mix. Une réponse positive avec les substances de référence atteste de la validité de l'essai.

Les essais ont été effectués sur l'échantillon brut ainsi que sur les fractions concentrées obtenues par extraction liquide-liquide et par lyophilisation.

Le pH des échantillons bruts et des lyophilisats a été ajusté à $7,0 \pm 0,2$ avant leur stérilisation par filtration sur une membrane de $0,2 \mu\text{m}$. Chaque concentration a été testée en

testées des fractions concentrées ont été exprimées en *volume équivalent échantillon brut (ml)*.

- Préparation des fractions concentrées

Il existe différentes méthodes de concentration des échantillons. Le choix dépendra principalement du facteur de concentration recherché et de la nature des micropolluants. Dans le cas des mélanges complexes, il apparaît judicieux d'utiliser plusieurs méthodes complémentaires afin qu'aucune catégorie de micropolluants n'échappe à la concentration. Pour notre part, nous avons utilisé la lyophilisation et l'extraction organique au dichlorométhane.

La lyophilisation consiste à éliminer l'eau par sublimation. Elle s'applique à de petits volumes. Seuls les composés non volatils sont retenus.

Les sels présents dans l'échantillon, une fois concentrés, peuvent poser des problèmes de toxicité (JOLLEY et SUFFET, 1987). Nous avons rencontré ce problème avec quelques lixiviats très minéralisés.

L'extraction liquide/liquide à l'aide de dichlorométhane est une méthode classique. Elle retient les dérivés organiques non polaires. L'acidification ou l'alcalinisation de l'échantillon avant l'extraction permet de moduler la polarité des micropolluants organiques ionisables et donc de les extraire en totalité. L'extraction liquide/liquide réalisée en continu permet d'atteindre des facteurs de concentration excessivement élevés. LIPPINCOTT *et al.* (1990) ont pu concentrer 45000 fois des eaux de surface et des eaux souterraines avant de tester leur mutagénicité.

Les extraits organiques comme les lyophilisats ont été préparés dans les quatre jours qui ont suivi l'arrivée des échantillons au laboratoire.

Lyophilisation

750 ml d'échantillon ont été lyophilisés à l'aide d'un lyophilisateur Hetosicc CD52. Le jour précédant le test, le résidu a été repris par un volume d'eau distillée tel que le facteur de concentration soit de 40. Cette valeur est théorique dans la mesure où une partie du lyophilisat est restée insoluble. Ce résidu insoluble a été éliminé par centrifugation, à l'issue de huit heures de mise en contact avec l'eau sous agitation.

Extraction organique

L'extraction liquide/liquide avec du dichlorométhane (rapport en volume 1/10) a été effectuée sur 750 ml d'échantillon, par agitation manuelle à trois pH différents, neutre basique et acide, le premier pH étant celui d'origine c'est à dire neutre ou basique. L'extraction a été répétée deux fois à chaque pH. Les différentes fractions sont séchées sur du sulfate de sodium anhydre avant d'être réunies. Après élimination du solvant à température ambiante à l'aide d'un rotavapor, le résidu est repris dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) et conservé à 4°C jusqu'à son utilisation. Le facteur de concentration obtenu est égal à 80.

3.6 Expression des résultats

a) Test Microtox, test d'immobilisation de *Daphnia magna* , test algue

Les concentrations entraînant 50% d'effet (CI50) et 20% d'effet (CI20) ont été obtenues graphiquement en reportant sur un papier semi-logarithmique le pourcentage d'inhibition calculé pour chacune des concentrations testées. Les concentrations sont exprimées en pourcentage en volume d'échantillon dans le milieu d'essai. Les résultats ont ensuite été transformés en unités toxiques (équitox/m³).

b) Test de reproduction de *Daphnia magna*

Deux critères de toxicité ont été retenus qui sont :

- le nombre total de petits pondus par mère au cours du test ; ce nombre correspond à la somme du nombre des petits pondus par mère établi à chaque changement. Sa valeur est obtenue en divisant le nombre total de petits présents dans le cristalliseur avant le changement du milieu par le nombre de mères survivantes au précédent changement,
- le nombre total de petits pondus par cristalliseur. Ce critère permet d'intégrer la productivité de chaque mère ainsi que la mortalité. Il donne un indice global de la capacité des daphnies à se maintenir dans le milieu contaminé.

Deux concentrations en toxique ne permettent pas de définir une relation dose-effet. C'est pourquoi, seule la présence ou l'absence d'effets par rapport au témoin a été considérée. Ceci revient à définir la LOEC, soit la plus faible concentration entraînant un effet. Après avoir vérifié l'homogénéité des variances à l'aide d'un test de Bartlett, les

données ont été soumises à une analyse de variance (ANOVA). Ce test permet de révéler la présence ou non de différences significatives entre les différents traitements, sans toutefois définir les traitements présentant des différences. Pour cela, nous avons utilisé le test de Bonferroni. Ce test est intéressant car il accepte les duplicats. Moins puissant que le test de Dunnett, ce test est recommandé par l'EPA (1989) lorsque le nombre de répliquats par concentration diffère. L'ensemble de ces tests a été mené sur le logiciel TOXSTAT 3.0.

En l'absence d'effets significatifs sur la reproduction aux concentrations testées, les effets à long terme ont été déduits de la valeur de la CI50-24 h. Même si à cette concentration la productivité des daphnies n'est pas directement altérée, le développement de la population sera compromis, à terme, à cause de la mortalité.

c) Test d'Ames

La concentration minimale, exprimée par le volume de lixiviat par boîte, entraînant le doublement du nombre de colonies révertantes par rapport au témoin est considérée. La génotoxicité sera d'autant plus importante que ce volume sera faible.

4 Analyses chimiques

Les paramètres chimiques mesurés sont les suivants : DCO (NFT 90101), chlorures (NFT 90014), sulfates (90040), calcium (NFT 90005), cyanures totaux (NFT 90107), phénols (NFT 90109), hydrocarbures -indice CH₂- (NFT 90114), mercure (NFT 90113), arsenic (SAA hydrures), zinc, cuivre, plomb, chrome et cadmium (NFT 90112).

Selon la nature de l'échantillon, des paramètres supplémentaires ont été demandés :

- lixiviats des résidus de la métallurgie : sulfures (iodométrie) et étain (NFT 90112),
- lixiviats des résidus d'incinération solidifiés : étain, aluminium et fer (NFT 90112),
- percolats de décharge : phosphates (NFT 90023), azote Kjeldahl (90110), azote ammoniacal (NFT 90015), sulfures et étain,
- eaux de surface : COD (NFT 90102), azote Kjeldahl, azote ammoniacal, sulfures et étain.

Pour des raisons de coût, les autres paramètres exigés par la réglementation n'ont pas été analysés.

Les analyses ont été effectuées par l'Institut de Recherches Hydrologiques de Nancy selon les méthodes recommandées par l'AFNOR (1990).

Une analyse complémentaire des composés organiques présents dans les eaux de surface a été demandée au Laboratoire d'Hygiène et de Recherches en Santé Publique de

Nancy. Il s'agit des : AOX (organohalogénés adsorbables sur charbon actif), BTX (benzène-toluène-xylène), pesticides organochlorés, organophosphorés-soufrés et organoazotés, chlorophénols, HPA (hydrocarbures polycycliques aromatiques).

5 Conservation des échantillons

5.1 Généralités

Le problème de la conservation des effluents durant les essais de toxicité à long terme n'est pas résolu. Le stockage à 4°C permet de limiter les phénomènes de volatilisation et de biodégradation mais la toxicité des effluents peut diminuer au cours du temps (GARRIC *et al.*, 1987). La congélation à - 18°C est également susceptible d'altérer la toxicité. Les changements de concentration ionique, de teneur en gaz dissous (O₂, CO₂) liés à la congélation-décongélation provoquent souvent la formation d'un précipité indissoluble qui peut entraîner la disparition d'un grand nombre de substances. La seule étude à notre connaissance de comparaison de ces deux méthodes de stockage a été réalisée par NAUDIN (1992) à l'aide d'une batterie de 6 essais incluant des tests de toxicité aiguë et chronique. Aucune différence significative entre les résultats de toxicité n'a été relevée selon le protocole de conservation. La congélation nous semble toutefois préférable lors de la conservation sur de longues périodes d'un effluent. L'EPA préconise dans le cadre des essais long terme de prélever un échantillon toutes les 48 heures. Cette méthode, plus réaliste pour évaluer l'impact à long terme des effluents, n'est pas toujours applicable.

5.2 Conservation des lixiviats et des percolats

Dans notre étude, l'ensemble des échantillons a été stocké à 4°C pendant la durée des essais. Afin de limiter les problèmes d'évolution de la toxicité, nous avons entrepris les essais Microtox, algue et daphnie dès l'arrivée des échantillons au laboratoire. De même, la préparation des fractions concentrées pour les essais de mutagénicité a été effectuée rapidement.

Pour la plupart des échantillons, nous avons vérifié l'évolution de la toxicité aiguë à l'aide du test Microtox, après 4 à 6 semaines de stockage. Les résultats sont présentés sur la figure 19. Il apparaît que la majorité des échantillons perd une partie de sa toxicité avec le temps, perte qui reste relativement faible à l'exception de 2 échantillons pour lesquels la toxicité diminue d'un facteur 10. L'Agence de bassin Rhône-Méditerranée-Corse (1987)

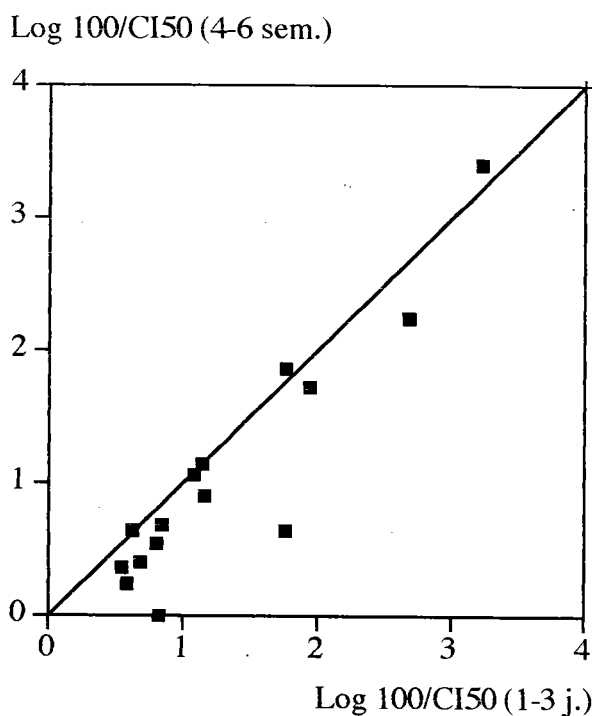


Figure 19 : Evolution de la toxicité aiguë des échantillons après 4 à 6 semaines de stockage à 4°C : réponse Microtox

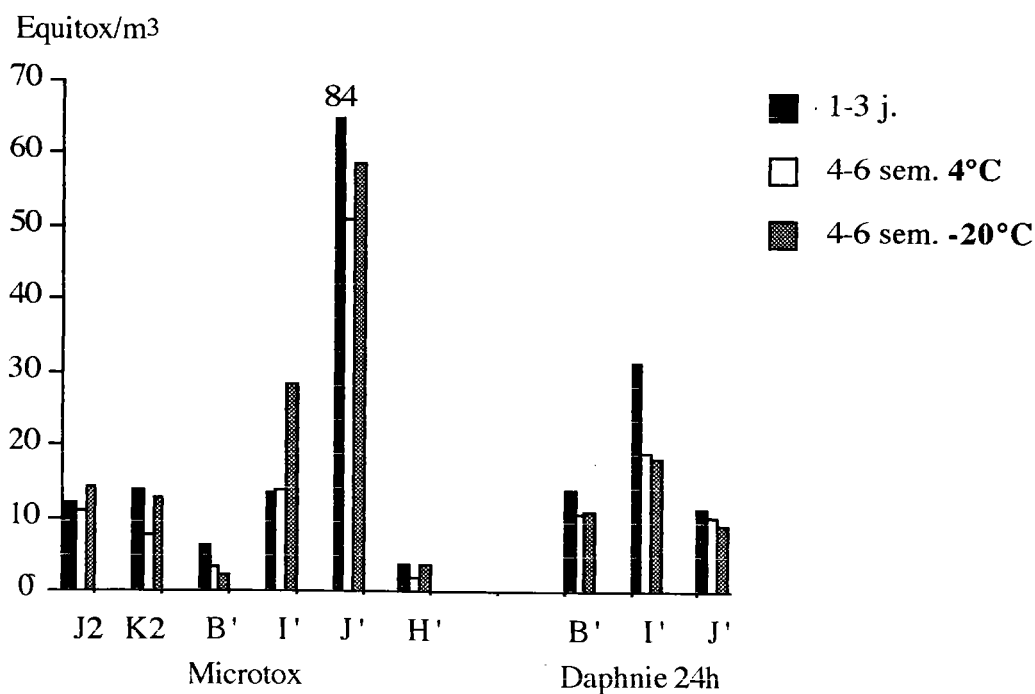


Figure 20 : Influence des modes de stockage +4°C et -20°C sur l'évolution de la toxicité aiguë des échantillons après 4 à 6 semaines de stockage

constate également une réduction faible et non systématique de la toxicité aiguë des lixiviats, même à l'issue d'un mois de stockage à 4°C.

Quelques lixiviats ont été conservés à -20°C. De même, leur toxicité aiguë a été réévaluée à l'issue de 4 à 6 semaines de stockage à l'aide du test Microtox ainsi que du test daphnie 24h pour 3 de ces échantillons. Au vu des résultats, il est impossible de conclure quant au meilleur mode de stockage, les variations de toxicité mise en évidence étant du même ordre de grandeur que celles observées avec les échantillons conservés à 4°C (figure 20).

6 Analyse multivariée des données

6.1 L'analyse en Composantes Principales (ACP)

Cet outil statistique est le plus simple de ceux utilisés en analyse descriptive multivariée (ROBERT, 1989). Il permet de ressortir l'information contenue dans un tableau de données résultant de l'observation de différentes variables sur une population d'individus. Ses deux principaux objectifs sont :

- étudier comment se structurent les différentes variables,
- représenter les individus sur un graphe permettant de les classer.

Des variables de synthèse, combinaisons linéaires des variables initiales permettant de décrire au mieux le nuage des individus, sont déterminées. Ces nouvelles variables, appelées composantes principales ou facteurs, ont pour propriété de ne pas être corrélées entre elles. Seuls les plans dans lesquels les individus et les variables sont bien représentés, sont intéressants.

L'ACP donne la possibilité d'étudier les relations entre un groupe de variables et une ou plusieurs autres variables dites "variables à expliquer". Seules les premières variables appelées "variables explicatives" sont utilisées pour définir les différents facteurs représentant le nuage des individus. Les variables à expliquer sont introduites dans l'analyse en tant que variables supplémentaires, elles n'interviennent pas dans la construction des axes mais se positionneront plus ou moins à proximité de ces axes en fonction de leur corrélation avec les variables explicatives représentant les facteurs.

Nous avons utilisé cette particularité pour étudier les relations entre l'ensemble des paramètres chimiques et les résultats des analyses toxicologiques qui ont été introduits en tant que variables supplémentaires.

Les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel STATITCF. Nous nous sommes aidés du manuel édité par ITCF et rédigé par PHILIPPEAU (1986) pour l'examen des résultats.

L'ACP exige des tableaux de données complets. Les tests de toxicité aiguë et chronique sur daphnies n'ayant pas été réalisés pour tous les résidus, seuls les tests de toxicité sur bactéries (MIC), sur algues (ALG) et le test de génotoxicité (GEN) ont été considérés.

L'analyse a été effectuée sur les données logarithmiques. Cette transformation permet de limiter l'importance des valeurs extrêmes.

6.2 L'Analyse Factorielle des Correspondances Multiples (AFCM)

L'AFCM est une extension de l'AFC. Comme l'ACP, cette méthode a pour but de décrire les informations contenues dans un tableau de données. L'AFC peut être appréhendée comme une double ACP. Les lignes et les colonnes du tableau sont successivement considérées comme les individus d'une ACP. Les deux ensembles de caractères (variables et individus) sont mis en correspondance. Ils apparaissent sur le même graphique.

L'AFCM permet l'analyse des tableaux logiques, composés de données codées 1 ou 0 correspondant à l'observation ou non d'un caractère. Le codage est utile pour analyser des fichiers de données de différentes natures. Les variables peuvent être qualitatives alors que l'ACP nécessite des données quantitatives. Dans cette analyse, les modalités des variables (exemple : concentration faible-moyenne-forte) apparaissent explicitement ce qui facilite l'interprétation. A la différence de l'ACP qui ne décrit bien que les liaisons linéaires, l'AFCM permet la description de liaisons de nature quelconque entre les variables.

Le choix des classes est déterminant dans l'analyse. Deux règles de codage des données sont à respecter :

- le nombre de modalités de chaque variable doit être voisin,
- les différentes modalités doivent avoir des effectifs proches.

Deux individus sont d'autant plus proches qu'ils possèdent un grand nombre de modalités en commun.

Nous avons utilisé le logiciel STATITCF. Ce logiciel dispose d'un programme de codage permettant de transformer en classes, un tableau de données. Ce programme est d'autant plus intéressant que le nombre d'observations est important. Nous nous sommes

aidés, pour l'examen des résultats, du manuel édité par ITCF et rédigé par DERVIN (1988) ainsi que de l'ouvrage d'ESCOFIER et PAGES (1990).

Alors que l'ACP exige des tableaux de données complets, l'AFCM résout le problème des données manquantes en intégrant une modalité "donnée indéterminée" pour les variables pour lesquelles des observations sont incomplètes. Cependant, cette modalité peut gêner l'analyse. C'est pourquoi, seuls les tests de toxicité sur bactéries (MIC), sur algues (ALG) et le test de génotoxicité (GEN), pour lesquels nous disposons de données pour toutes les observations, ont été considérés.

CHAPITRE IV : TOXICITE DES LIXIVIATS DE DECHETS ET DES PERCOLATS DE DECHARGE. QUALITE DES EAUX DE SURFACE.

La qualité des échantillons sera reflétée par le degré de toxicité enregistrée qui sera fonction :

- des taux moyens de dilution de l'échantillon immobilisant 50% des daphnies et inhibant 50% de la luminescence bactérienne et de la croissance algale,
- du taux de dilution à partir duquel est observée une modification de la reproduction des daphnies,
- du volume d'échantillon nécessaire pour induire une réponse positive du test d'Ames.

La toxicité vis à vis des bactéries, des daphnies et des algues sera d'autant plus importante que ces taux de dilution seront élevés. La génotoxicité sera d'autant plus marquée que les volumes d'échantillon seront faibles.

Les résultats des tests de toxicité sont détaillés séparément pour chaque catégorie d'échantillons. Les résultats des analyses chimiques sont présentés en parallèle.

1 Toxicité des LIXIVIATS de déchets

1.1 Déchets non stabilisés

1.1.1 Résidus de la dépollution de l'eau

a) Analyses toxicologiques

Les résultats sont reportés dans le tableau 7. Les lixiviats apparaissent peu toxiques vis à vis des bactéries du Microtox avec des toxicités inférieures à 10 équitox/m³. Les lixiviats A et C présentent également une faible toxicité à court terme vis à vis de *Daphnia magna*.

Alors qu'aucun effet des lixiviats B sur la reproduction des daphnies n'a été mis en évidence, les lixiviats C altèrent la survie et la productivité des daphnies mères. Pour le lixiviat C1, seules 3 mères subsistent au delà du 20ème jour de test à la concentration de 1,7%. La productivité est restée quasiment nulle (6 ± 4 petits/mère). Pour le lixiviat C2, 80% des mères sont décédées après 15 jours de test à la concentration de 5%. La productivité moyenne des mères survivantes est de 22 ± 1 petits/mère (figure 21).

Tableau 7 : Toxicité et génotoxicité des lixiviats issus des résidus de la dépollution de l'eau

Echantillon	MICROTOX	DAPHNIE Immobilisation	DAPHNIE Reproduction	ALGUE	MUTAGENICITE (équivalent ml lixiviat/boîte)		
	100/CI50 30min.	100/CI50 24h.	100/LOEC - 100/NOEC	100/CI50 72h.	EB	EO	LYO
A	NT*	ND	NT(n)	5,1 ± 3,6	-	-	-
A'	NT	NT					
B1	3,4 ± 1,0	ND	NT(n)	14 ± 8	-	0,6	15
B2	4,1 ± 0,5	35 ± 6	35 - 83	56 ± 0	-	12,5	15
B'	6,3 ± 1,9	14 ± 2					
C1	8,7 ± 0,3	5,9 ± 0,3	59 - 147	149 ± 3	-	6	7,5
C2	4,8 ± 1,1	1,9	20 - 100	47 ± 9	-	12,5	7,5

NT : non toxique

ND : non déterminé

* : 100/CI50 15min.

NT (n) : non toxique suite à une intoxication via la nourriture

- : test négatif

EB : lixiviat brut

EO : extrait organique

LYO : lyophilisat

Petits pondus/mère

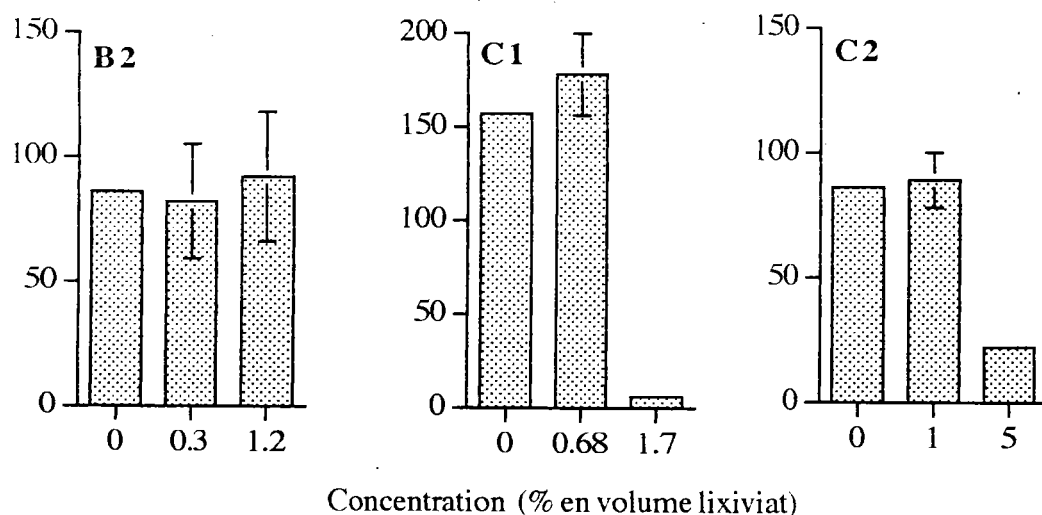


Figure 21 : Effets des lixiviats issus des résidus de la dépollution de l'eau sur la reproduction de *Daphnia magna*

Les trois résidus conduisent à des lixiviats toxiques pour les algues. La toxicité, faible avec le lixiviat A, est plus élevée avec les lixiviats B et C. L'observation microscopique des cellules intoxiquées par ces 2 lixiviats montre des cellules plus grosses laissant supposer un blocage de la division cellulaire. Ce phénomène s'accompagne, pour les lixiviats B, d'une déformation importante des cellules. Ce changement de taille et de morphologie des cellules algales est fréquemment observé lors de leur exposition aux métaux lourds et aux pollutions industrielles (WALSH et MERRILL, 1984) ou à des herbicides de type triazines (VASSEUR, communication personnelle).

Les résidus B et C renferment des substances mutagènes. Elles sont présentes dans les deux fractions concentrées, organique et minérale. La génotoxicité du résidu B a été confirmée au cours d'essais de cancérogenèse *in vitro* sur cellules embryonnaires de hamster. Ces essais, réalisés au laboratoire par H. Bessi, soulignent le rôle initiateur des micropolluants de cet échantillon dans le processus de transformation cellulaire.

b) Analyses chimiques

Les résultats sont hétérogènes (tableau 8). Les paramètres montrant les plus grandes fluctuations sont :

Tableau 8 : Résultats des analyses chimiques des lixiviats des résidus issus de la dépollution de l'eau.

Conc. en mg/l	A	B 1	B 2	C1	C 2
pH	7,3	12,4	10,2	12,2	11,3
DCO	26	1094	355	32	264
Chlorure	194	72	96	63	54
Sulfate	384	63	249	90	140
Calcium	132	498	150	300	23
Hydrocarbures	<0,1	<0,1	<0,1	0,83	1,3
Phénols	<0,1	1,1	<0,1	<0,1	<0,1
Mercure	0,0006	0,0002	0,0006	<0,0001	0,0006
Arsenic	0,0001	0,0007	0,0036	0,0029	0,0007
Cyanure	<0,01	0,015	<0,01	<0,01	<0,01
Zinc	<0,05	0,05	0,05	1,5	0,19
Cuivre	<0,05	<0,05	1,09	0,27	0,11
Plomb	<0,05	<0,05	0,08	0,38	<0,05
Chrome	<0,05	<0,05	<0,05	0,05	0,34
Cadmium	<0,05	<0,05	<0,05	0,08	<0,05

Tableau 9 : Toxicité et génotoxicité des lixiviats issus des résidus de peinture

Echantillon	MICROTOX 100/CI50 30min.	DAPHNIE Immobilisation 100/CI50 24h.	DAPHNIE Reproduction 100/LOEC - 100/NOEC	ALGUE 100/CI50 72h.	MUTAGENICITE (équivalent ml lixiviat/boîte)		
					EB	EO	LYO
D	5,5 ± 0,1	2,5 ± 0,1	2,5 - 5,5	23 ± 11	-	-	-
E1	58 ± 7	ND	NT(n)	1818	-	2,5	>15
E2	6,7 ± 0,2	NT	5 - 20	21 ± 3	-	6	9

NT : non toxique

ND : non déterminé

NT (n) : non toxique suite à une intoxication via la nourriture

- : test négatif

EB : lixiviat brut

EO : extrait organique

LYO : lyophilisat

- le pH, neutre pour le résidu A, basique pour les résidus B et C. Le pH basique serait lié à la présence de soude, de potasse ou de chaux qui sont ajoutées lors du traitement des effluents pour immobiliser les métaux sous forme d'hydroxydes,
- la DCO. Elle est comprise entre 26 mg O₂/l (résidu A) et 1094 mg O₂/l (résidu B1). La charge organique élevée de B1 pourrait expliquer sa mutagénicité. Cependant, de faibles valeurs de DCO ne garantissent pas l'absence de mutagénicité. Le lixiviat C1 dont la DCO ne dépasse pas 30 mg O₂/l présente un potentiel mutagène,
- les hydrocarbures. Seul, le résidu C en contient,
- les métaux. Aucun métal n'est détecté dans les lixiviats A et B1. Les métaux détectés dans les autres échantillons sont du cuivre (résidus B2, C1 et C2), du zinc (résidus C1 et C2), du plomb (résidu C1). Les concentrations restent inférieures à 1,5 mg/l. Les concentrations en mercure et arsenic ne dépassent pas respectivement 1 et 4 µg/l.

Une tentative d'identification des micropolluants organiques responsables de la mutagénicité des lixiviats B a été entreprise. Suite à une nouvelle lixiviation du résidu B, les extraits organiques ont été envoyés au laboratoire d'hydrologie de Strasbourg pour y être analysés. Une partie a été conservée au laboratoire afin de confirmer le pouvoir mutagène. Les résultats de l'analyse sont présentés en annexe 3. Parmi les micropolluants identifiés, le benzène présente des propriétés cancérogènes mais sa présence ne justifie pas une réponse positive au test d'Ames. Cette analyse ne nous permet pas d'expliquer le risque génotoxique.

1.1.2 Résidus de peinture

a) Analyses toxicologiques

Les résultats sont présentés dans le tableau 9. Le lixiviat D, peu toxique vis à vis des bactéries du Microtox, est également faiblement toxique vis à vis des daphnies. Il inhibe de façon modérée la croissance algale et ne présente pas de potentiel mutagène.

Les bactéries et les algues sont par contre très affectées par les micropolluants du lixiviat E1. La concentration inhibant 50% de la croissance algale est égale à 0,055%. Les cellules apparaissent, au microscope, très abîmées. Le second échantillon, E2, est beaucoup moins toxique d'une part vis à vis des bactéries du Microtox avec une réponse 8 fois moins élevée et d'autre part vis à vis des algues. Ce lixiviat n'altère pas la viabilité des daphnies mais perturbe leur reproduction aux fortes concentrations. Ajouté au milieu d'élevage à la concentration de 20%, 70% de la reproduction de *Daphnia magna* est inhibée à l'issue des 28 jours de test. A la concentration de 5%, il favorise son développement (figure 22).

Tableau 10 : Résultats des analyses chimiques des lixiviats issus des résidus de peinture

Conc. en mg/l	D	E1	E2
pH	7,6	7,1	7,5
DCO	670	990	624
Chlorure	5	17	18
Sulfate	78	1	38
Calcium	5	35	7
Hydrocarbures	1,1	<0,1	3,9
Phénols	0,2	1	<0,1
Mercure	0,0001	0,0001	0,0005
Arsenic	0,0006	0,0003	0,0005
Cyanure	<0,01	<0,01	<0,01
Zinc	0,14	22	1,05
Cuivre	<0,05	<0,05	<0,05
Plomb	0,12	0,05	0,63
Chrome	0,26	<0,05	0,08
Cadmium	<0,05	<0,05	<0,05

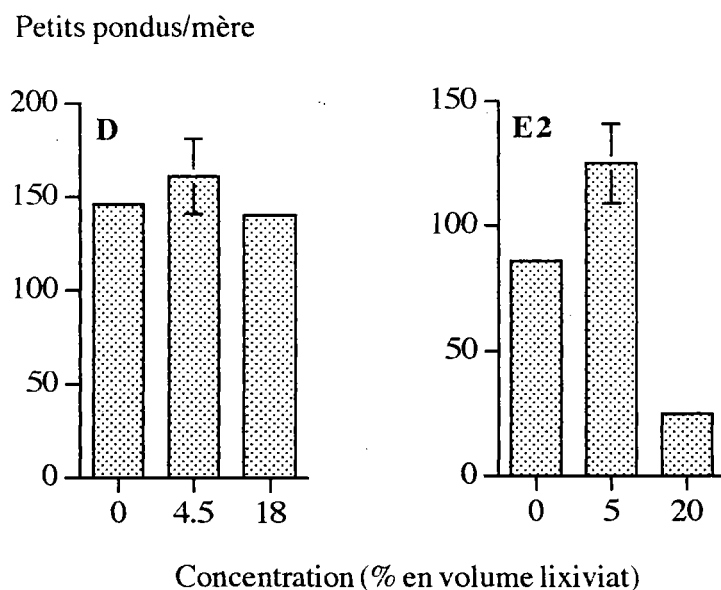


Figure 22 : Effets des lixiviats issus des résidus de peinture sur la reproduction de *Daphnia magna*

Le déchet E renferme des composés mutagènes. Ces composés seraient principalement d'origine organique car seules les fractions concentrées des micropolluants organiques conduisent à une réponse positive du test d'Ames ; les lyophilisats aux plus fortes concentrations n'induisent pas ou peu le nombre de révertants. Une moindre positivité est observée en présence de S9 mix (annexe 4) ce qui peut signifier que :

- la réponse positive est due à des agents mutagènes non métabolisés,
- l'activité des mutagènes indirects est plus faible que celle des mutagènes directs.

La souche TA102 répond positivement à l'extrait organique E2. La réponse de cette souche traduirait la présence de composés oxydants (LEVIN *et al.*, 1982).

b) Analyses chimiques

Les lixiviats des deux résidus de peinture D et E présentent (tableau 10) :

- un pH proche de la neutralité et une faible minéralisation,
- une charge organique moyenne avec des valeurs de DCO comprises entre 620 et 990 mgO₂/l,
- des phénols (résidu E1) ou des hydrocarbures (résidus D et E2),
- des métaux en plus ou moins grandes quantités. Les trois résidus D, E1 et E2 contiennent du zinc et du plomb. La charge en zinc de 22 mg/l du lixiviat E1 expliquerait en partie sa toxicité vis à vis des algues et des bactéries du Microtox. Du chrome est détecté à la

Tableau 11 : Toxicité et génotoxicité des lixiviats issus des résidus de la métallurgie

Echantillon	MICROTOX 100/CI50 30min.	DAPHNIE Immobilisation 100/CI50 24h.	DAPHNIE Reproduction 100/LOEC - 100/NOEC	ALGUE 100/CI50 72h.	MUTAGENICITE (équivalent ml lixiviat/boîte)		
					EB	EO	LYO
F	6,7 ± 0,7	40 ± 6	40 - 83	110 ± 22	-	-	-
G	1639	167	500 - 2000	183333 ± 23569	-	6	ND

- : test négatif

EB : lixiviat brut

EO : extrait organique

LYO : lyophilisat

Tableau 12 : Résultats des analyses chimiques des lixiviats issus des résidus de la métallurgie

Conc. en mg/l	F	G
pH	10,2	12,3
DCO	236	6317
Chlorure	1222	370
Sulfate	80	38050
Calcium	8,3	5,4
Hydrocarbures	<0,1	0,75
Phénols	<0,1	<0,1
Mercure	0,0004	<0,0001
Arsenic	0,0004	-
Cyanure	<0,01	<0,01
Zinc	0,06	0,18
Cuivre	0,16	<0,05
Plomb	<0,05	<0,05
Chrome	<0,05	<0,05
Cadmium	<0,05	<0,05
Etain	<0,05	1330
Sulfure	0,06	4560

concentration de 0,26 mg/l dans le lixiviat D. Les dérivés de ces trois métaux zinc, plomb et chrome sont utilisés en tant que pigments dans de nombreux procédés industriels, et en particulier dans la fabrication des peintures.

Comme pour le résidu B, nous avons tenté de déterminer les micropolluants organiques responsables de la mutagénicité de E (annexe 3) : les essais d'identification sont restés infructueux.

1.1.3 Résidus de la métallurgie

a) Analyses toxicologiques

Les deux déchets testés F et G se révèlent toxiques (tableau 11). La toxicité du lixiviat F reste modérée vis à vis des trois organismes cibles. Les algues sont les plus sensibles avec une CI50 inférieure à 1%. Une légère baisse, non significative, de la reproduction des daphnies à la concentration de 1,2% est observée. Ce lixiviat ne présente pas de potentiel mutagène.

Le résidu G donne un lixiviat excessivement toxique vis à vis des bactéries et des algues. Les dégâts sur les cellules algales sont importants. Il est nécessaire de diluer le lixiviat de plus de 100000 fois pour que leur croissance soit possible. Un potentiel mutagène est mis en évidence dans la fraction organique pour 6 ml équivalent lixiviat. Au delà de ce volume, une toxicité apparaît qui se traduit par la formation d'un tapis bactérien puis par l'absence de colonies lorsque la concentration d'exposition augmente.

b) Analyses chimiques

Les résultats sont présentés dans le tableau 12. Les lixiviats sont basiques. Au pH très élevé du lixiviat G s'ajoute un fort pouvoir tampon. Ce lixiviat renferme :

- une charge importante en sulfates. Suite à un examen cristallographique du lyophilisat, ces sulfates se trouveraient principalement sous forme de Na_2SO_4 ,
- une charge élevée en étain égale à 1,3 g/l,
- des sulfures.

Ces éléments doivent participer à la toxicité très élevée du lixiviat vis à vis de l'ensemble des organismes testés.

A l'inverse, le lixiviat F, qui n'est cependant pas dépourvu de toute toxicité, présente des teneurs en polluants relativement faibles.

Tableau 13 : Toxicité et génotoxicité des lixiviats issus des résidus de l'incinération

Echantillon	MICROTOX 100/CI50 30min.	DAPHNIE Immobilisation 100/CI50 24h.	DAPHNIE Reproduction 100/LOEC - 100/NOEC	ALGUE 100/CI50 72h.	MUTAGENICITE (équivalent ml lixiviat/boîte)		
					EB	EO	LYO
H	1,7 ± 0,8	ND	NT(n)	8,8 ± 1,0	-	-	-
H'	3,7 ± 0,8	NT					
I	6,4 ± 1,5	ND	NT(n)	18 ± 1	-	-	-
I'	13 ± 10	31,5 ± 14,4					
J1	56* ± 26	ND	NT(n)	667	-	-	-
J2	12 ± 1	27 ± 10	27 - 62	1362 ± 512	-	-	-
J'	84 ± 77	11 ± 1					
K1	474 ± 214	24 ± 6	24 - 100	6093 ± 1015	-	-	-
K2	14 ± 4	18 ± 3	18 - 42	1075 ± 202	-	-	-

NT : non toxique

ND : non déterminé

* : 100/CI50 15min.

NT (n) : non toxique suite à une intoxication via la nourriture

- : test négatif

EB : lixiviat brut

EO : extrait organique

LYO : lyophilisat

1.1.4 Résidus d'incinération

a) Analyses toxicologiques

L'échantillon de **mâchefers** (H) issus de l'incinération de déchets industriels apparaît très peu toxique. Comme tous les autres résidus d'incinération qui ont été testés, il ne présente pas de potentiel mutagène (tableau 13).

La toxicité des **poussières** (I, J, K) issues de l'incinération d'ordures ménagères varie de façon importante selon le système d'épuration utilisé par l'unité de traitement et selon l'échantillonnage. Les algues sont particulièrement sensibles à ce type de lixiviat. Trois résidus sur les cinq testés présentent une CI50 inférieure à 0,1% soit une réponse supérieure à 1000 équitox/m³. Pour les échantillons les plus toxiques, une inhibition de la division cellulaire est mise en évidence à laquelle s'ajoute une décoloration des cellules.

Les toxicités des différents échantillons vis à vis de *Daphnia magna* sont proches, sensiblement égales à 20 équitox/m³. Aucune inhibition de la reproduction des daphnies ne s'est produite aux concentrations testées. Au contraire, l'apport de lixiviat en petite quantité favorise leur productivité (annexe 4).

b) Analyses chimiques

Le lixiviat issu des mâchefers est très peu minéralisé. Aucun métal n'est détecté. La charge organique est très faible (tableau 14).

Les lixiviats issus des poussières d'incinération se caractérisent par :

- une importante charge en sels notamment en chlorures et en calcium dont les concentrations sont respectivement comprises entre 6,1 et 21 g/l et 1,2 et 10,4 g/l. Les chlorures proviennent notamment de la combustion des matières plastiques qui représentent un volume important des ordures ménagères. Le calcium résulte de l'injection de chaux afin de neutraliser la formation de gaz acides (HCl essentiellement),
- la présence de plomb et de zinc en grandes quantités. Ces éléments sont volatils et ont en effet tendance, avec le cadmium et le mercure, à se concentrer dans les cendres volantes et les fumées (BRUNNER et MÖNCH, 1986). Le résidu K1 conduit au lixiviat le plus chargé en ces deux éléments avec des concentrations égales respectivement à 97 mg/l et 3,5 mg/l.

Compte tenu de leur importante fraction soluble et de leur pulvérulence, l'élimination des poussières d'incinération nécessitent une attention particulière.

Tableau 14 : Résultats des analyses chimiques des lixiviats issus des résidus d'incinération.

Conc. en mg/l	H	I	J1	J2	K1	K2
pH	8,0	11,7	11,3	12,3	12,3	12,3
DCO	94	266	-	534	284	920
Chlorure	10	6100	13850	21000	16400	17500
Sulfate	324	1779	852	515	2154	425
Calcium	19	1180	6470	10400	7875	7900
Hydrocarbures	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Phénols	0,1	<0,1	-	<0,1	<0,1	<0,1
Mercure	<0,0001	0,0003	0,0119	0,0090	0,0170	0,0880
Arsenic	0,0021	<0,0001	0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0090
Cyanure	<0,01	0,04	-	<0,01	<0,01	<0,01
Zinc	<0,05	0,6	1,16	<0,05	3,5	0,47
Cuivre	<0,05	<0,05	<0,05	0,14	<0,05	0,06
Plomb	<0,05	1,3	21,7	7,49	97	5,18
Chrome	<0,05	0,09	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Cadmium	<0,05	<0,05	<0,05	0,17	<0,05	0,13

Tableau 15 : Toxicité et génotoxicité des lixiviats issus des terres souillées par les PCBs

Echantillon	MICROTOX 100/CI50 30min.	DAPHNIE Immobilisation 100/CI50 24h.	DAPHNIE Reproduction 100/LOEC - 100/NOEC	ALGUE 100/CI50 72h.	MUTAGENICITE (équivalent ml lixiviat/boîte)		
L	2,3 ± 0,4	NT	<5	1,4 ± 0	EB	EO	LYO
					-	-	-

NT : non toxique
- : test négatif
EB : lixiviat brut
EO : extrait organique
LYO : lyophilisat

Tableau 16 : Résultats de l'analyse chimique du lixiviat issu du résidu de terres souillées par les PCBs

Conc. en mg/l	L
pH	7,5
DCO	43
Chlorure	10
Sulfate	<1
Calcium	14
Hydrocarbures	<0,1
Phénols	0,25
Mercur	0,0005
Arsenic	0,0016
Cyanure	0,03
Zinc	0,11
Cuivre	<0,05
Plomb	<0,05
Chrome	<0,05
Cadmium	<0,05

1.1.5 Matériaux contaminés (terres souillées par des PCBs)

a) Analyses toxicologiques

Ce lixiviat est très peu toxique vis à vis des trois organismes testés (tableau 15). Les toxicités restent inférieures à 3 équitox/m³. La plus forte concentration ajoutée au milieu d'élevage des daphnies, soit 20% en volume, ne modifie pas leur reproduction. Ce déchet ne présente pas de génotoxicité sur *Salmonella typhimurium* his⁻.

b) Analyses chimiques

La concentration en PCBs dans la phase aqueuse, dosée par le laboratoire départemental de la Moselle, ne dépasse pas 1 µg/l. L'analyse des autres paramètres montre un faible niveau de pollution de cet échantillon (tableau 16).

1.1.6 Variation de la qualité des lixiviats en fonction des arrivages

Plusieurs facteurs sont susceptibles d'entraîner, au cours des arrivages, une modification de la qualité d'un résidu par rapport au bordereau d'acceptation initialement établi, par exemple un mauvais fonctionnement des installations de traitement du déchet ou un changement, au sein de l'usine, du procédé industriel générateur du déchet. Ceci justifie la procédure de contrôle, visuel et analytique, mise en place à l'entrée du site afin de vérifier la bonne identité du déchet.

Les résidus B, C, E, J et K ont fait l'objet de deux échantillonnages. Nous avons comparé la toxicité des lixiviats générés par chacun des couples d'échantillons.

Pour cela, nous avons, sur le modèle de BULICH (1982), établi des grilles de "qualité" permettant de classer, en terme de (géo)toxicité, l'ensemble des échantillons. Les différentes classes, arbitrairement définies, sont présentées sur la figure 23. Pour l'échelle "toxicité", les limites des classes correspondent à un découpage des concentrations en intervalle de 0,5 lorsqu'elles sont exprimées en données logarithmiques. Les différentes classes de l'échelle de "génotoxicité" sont fonction des volumes équivalent échantillon brut induisant une réponse positive. Ces classes de toxicité permettent une visualisation du profil toxicologique des échantillons.

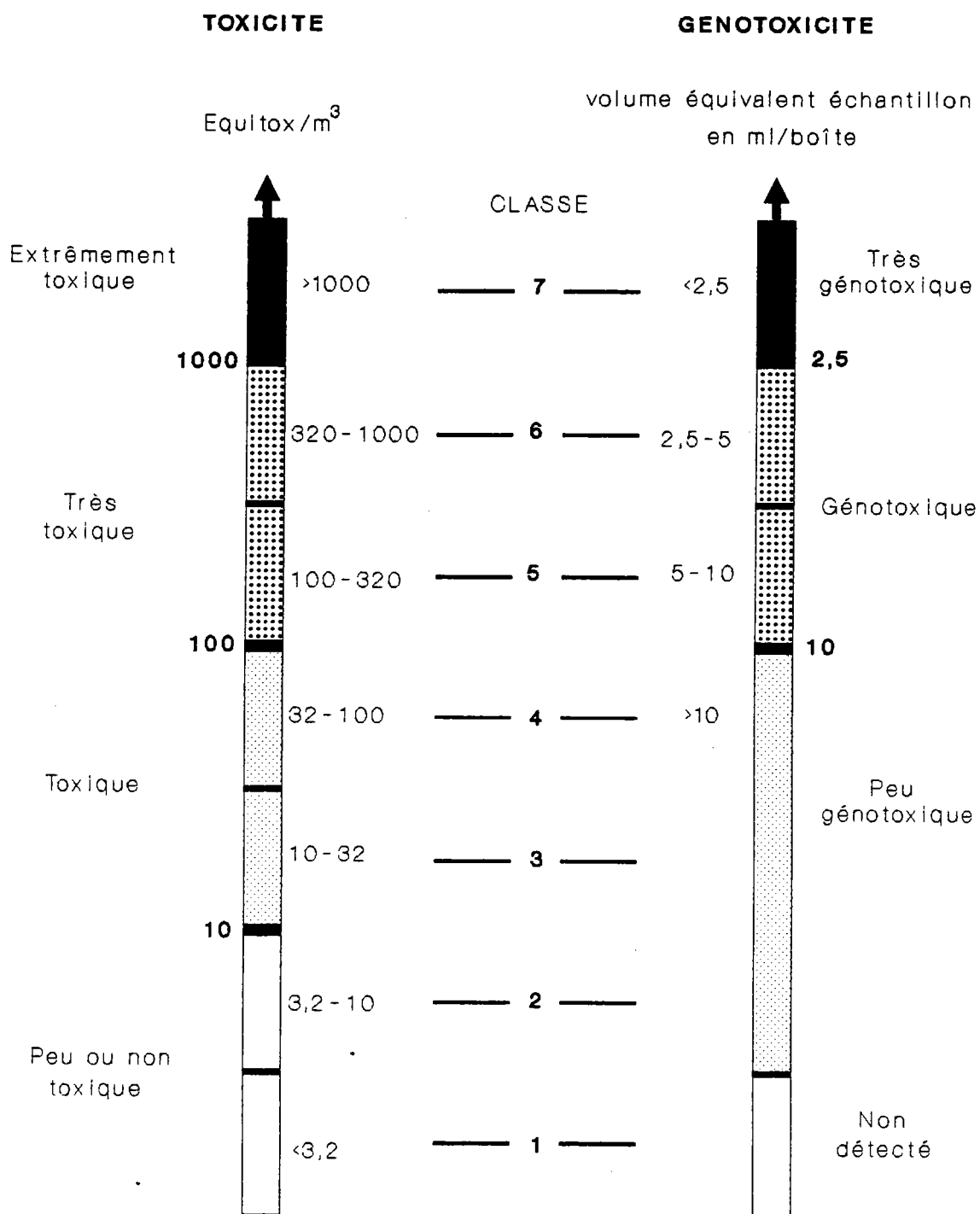


Figure 23 : Echelles de toxicité et de génotoxicité

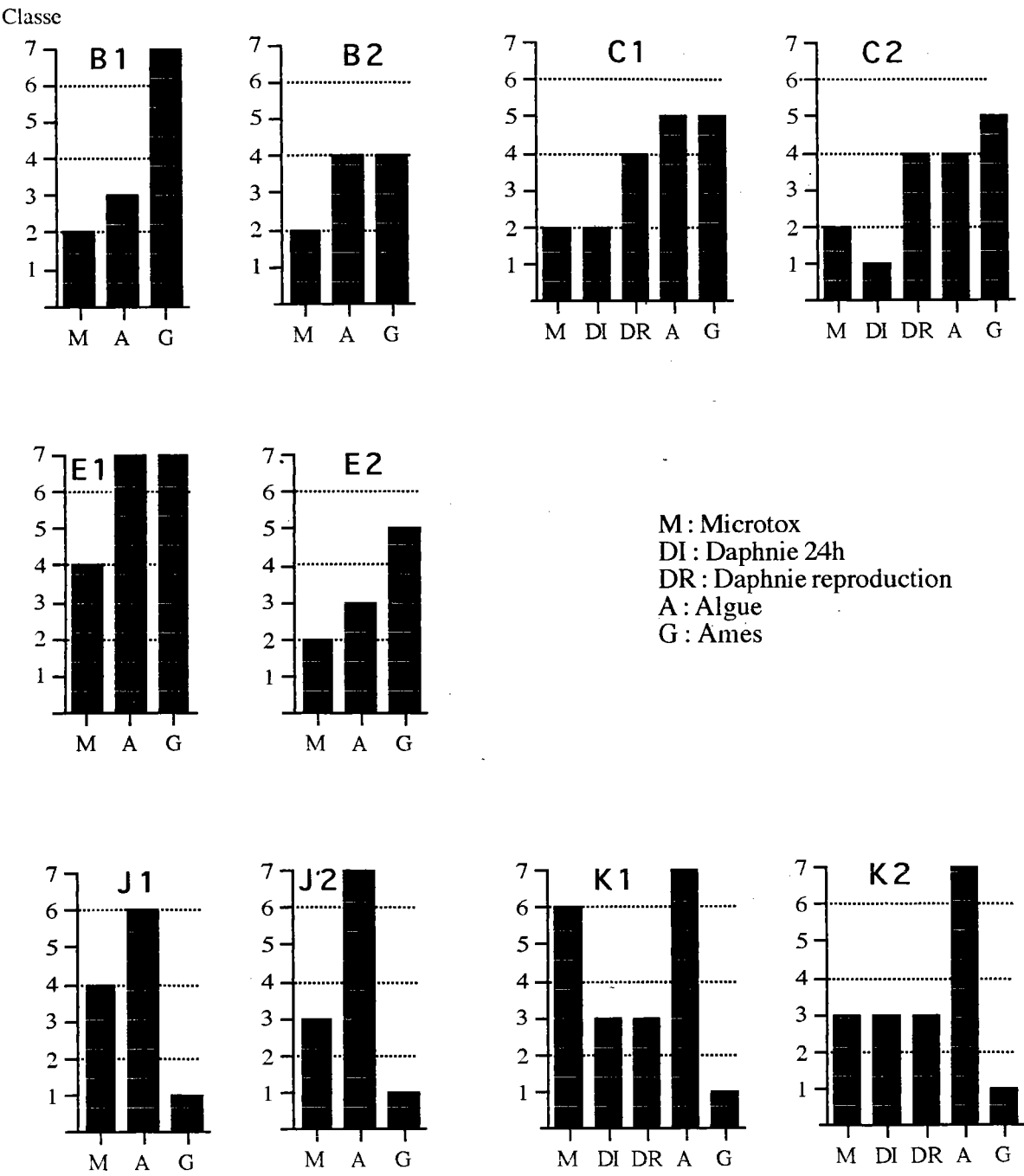


Figure 24 : Influence de l'échantillonnage sur la toxicité des lixiviats des déchets B, C, E, J et K : profils toxicologiques des lixiviats générés par chacun des couples

Les profils toxicologiques de chacun des déchets sont reportés sur la figure 24.

Les plus faibles variations apparaissent entre les résidus C1 / C2 et J1 / J2 où les réponses, à une classe près, sont conservées pour l'ensemble des tests. Le lixiviat B2 présente une toxicité vis à vis des bactéries et des algues proche de celle de B1 mais sa mutagénicité est réduite. Pour le lixiviat E2, l'ensemble des réponses est diminué. Ce phénomène pourrait être le résultat d'une dilution des micropolluants notamment due à une charge en eau du résidu plus importante soit un taux de siccité inférieur. Une grande variation de la réponse Microtox est observée avec la cendre d'incinération K, trois classes de toxicité séparant les réponses de K1 et K2. D'autres essais Microtox, réalisés par DUVAL (1992) sur des lixiviats de différents arrivages de cette cendre, montraient également une grande fluctuation de la qualité de ce déchet. Ces variations n'étaient pas observées pour différents échantillonnages d'un même arrivage (variation intra-camion). Pour les résidus B1, E1 et J1, nous ne disposons pas de données "daphnie".

Le caractère mutagène des résidus B, C et E se confirme lors du second échantillonnage.

Les analyses chimiques ne permettent pas d'expliquer les différences de toxicité observées.

1.1.7 Conclusion sur la toxicité des déchets non stabilisés

Les résultats confirment la présence, dans les déchets destinés à l'enfouissement, de substances extractibles par l'eau potentiellement toxiques pour l'environnement. Cependant, la toxicité des lixiviats se révèle plus ou moins importante selon l'origine du déchet ; si certains déchets renferment une fraction soluble excessivement toxique, d'autres sont dépourvus de toute toxicité.

Les algues apparaissent relativement sensibles aux lixiviats par comparaison aux bactéries ou aux daphnies. Un facteur 100 peut être observé entre les concentrations inhibant la croissance des cellules algales et celles affectant *Photobacterium phosphoreum* et *Daphnia magna*. WALSH *et al.* (1982), FERARD *et al.* (1992), COSTAN *et al.* (1993), qui ont testé la toxicité de divers effluents complexes, avaient également noté, pour leurs échantillons, une sensibilité supérieure des algues par rapport à ces deux organismes.

Aucun des essais d'intoxication de *Daphnia magna* via la nourriture n'a influencé sa reproduction. Par contre, les lixiviats ajoutés directement au milieu d'élevage, sont susceptibles d'agir au niveau de la productivité des daphnies en réduisant le nombre de petits pondus. On peut observer que quelques lixiviats apportés en faibles quantités, favorisent au

Tableau 17 : Toxicité et génotoxicité des lixiviats issus des résidus de l'incinération J et K avant et après stabilisation

Echantillon	MICROTOX	DAPHNIE Immobilisation	DAPHNIE Reproduction	ALGUE	MUTAGENICITE (équivalent ml lixiviat/boîte)		
	100/CI50 30min.	100/CI50 24h.	100/LOEC - 100/NOEC	100/CI50 72h.	EB	EO	LYO
J2	12 ± 1	27 ± 10	27 - 62	1362 ± 512	-	-	-
JS	NT	NT	NT	5,2 ± 0,3	-	-	-
JSII	NT	ND	ND	3,1 ± 0,7	-	-	-
JSIII	NT	ND	ND	4,1 ± 0,2	-	-	-
K2	14 ± 4	18 ± 3	18 - 42	1075 ± 202	-	-	-
KS	NT	NT	NT	10 ± 1	-	-	-
KSII	NT	ND	ND	2,0 ± 1,2	-	-	-
KSIII	NT	ND	ND	3,1 ± 0	-	-	-

NT : non toxique

ND : non déterminé

- : test négatif

EB : lixiviat brut

EO : extrait organique

LYO : lyophilisat

contraire la reproduction des daphnies. Cette amélioration pourrait résulter d'un apport, via les lixiviats, de microéléments favorables au développement des microcrustacés.

L'ensemble des essais de génotoxicité réalisés avec les lixiviats bruts est resté négatif. Par contre, la concentration des micropolluants avant la réalisation des essais révèle la présence de substances mutagènes dans 4 résidus : 2 boues d'hydroxydes métalliques (B et C), 1 boue de peinture (E) et 1 résidu de la métallurgie (G). Aucun des résidus d'incinération n'a montré de potentiel génotoxique. Il faut rappeler cependant que la composition des cendres d'incinération peut varier en fonction de la nature des résidus incinérés et des modalités de combustion qui peuvent influencer la production de composés mutagènes comme des hydrocarbures polycycliques aromatiques (RAMDAHL et BECHER, 1982) ou des dioxines (OLIE *et al.*, 1982). Des substances mutagènes ont notamment été mises en évidence par SHANE *et al.* (1990) et SILKOWSKI *et al.* (1992) dans des lixiviats issus d'une extraction directe de cendres d'incinération à l'aide de solvants organiques.

Si la toxicité varie de façon importante entre les différents déchets testés, elle peut également varier pour un même résidu en fonction de la date d'échantillonnage.

1.2 Déchets solidifiés/stabilisés

Afin d'évaluer l'efficacité des procédés de solidification/stabilisation à piéger les micropolluants toxiques présents dans les résidus de l'épuration des fumées d'incinération des ordures ménagères (REFIOM), nous avons évalué la qualité de la fraction lixiviable des deux résidus J2 et K2 avant et après solidification/stabilisation. Les résultats obtenus avec les cendres brutes ont déjà été présentés et seront rappelés. Les résidus solidifiés ont été soumis à trois lixiviations successives afin d'évaluer l'évolution de la qualité des lixiviats en fonction du temps. Il en résulte 6 lixiviats : JS, JSII, JSIII et KS, KSII, KSIII. Seuls les lixiviats JS et KS, issus de la première lixiviation, ont fait l'objet d'une analyse toxicologique complète.

1.2.1 Analyses toxicologiques

Les cendres d'incinération brutes se montrent toxiques vis à vis des trois organismes testés (tableau 17). La solidification/stabilisation entraîne une nette diminution de la charge toxique lixiviable. Les lixiviats produits sont dépourvus de toxicité vis à vis des bactéries et des daphnies. Comme avec les cendres brutes, ils ne présentent pas de potentiel mutagène.

Tableau 18 : Résultats des analyses chimiques des lixiviats issus des résidus d'incinération avant (J2 et K2) et après (JS et KS) solidification/stabilisation. JSII, KSII et JSIII, KSIII résultent respectivement de la seconde et de la troisième lixiviation des résidus solidifiés.

Conc. en mg/l	J2	JS	JSII	JSIII	J2/JS
pH	12,3	10,4	10,0	10,1	1,2
DCO	534	46	45	18	12
Chlorure	21000	1320	664	464	16
Sulfate	515	3	3	2	172
Calcium	10400	448	227	165	23
Hydrocarbures	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	=
Phénols	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	=
Mercure	0,0090	0,0006	0,0004	0,0003	15
Arsenic	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	=
Cyanure	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	=
Zinc	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	=
Cuivre	0,14	<0,05	<0,05	<0,05	>3
Plomb	7,49	<0,05	<0,05	<0,05	>150
Chrome	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	=
Cadmium	0,17	<0,05	<0,05	<0,05	>3
Etain	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	=
Aluminium	<0,05	0,97	0,70	0,65	<0,05*
Fer	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	=
Fraction soluble (%)	40,0	2,5	1,0	1,0	16

Conc. en mg/l	K 2	KS	KSII	KSIII	K2/KS
pH	12,3	10,7	10,5	10,3	1,1
DCO	920	30	24	<5	31
Chlorure	17500	1170	529	419	15
Sulfate	425	8	8	4	53
Calcium	7900	362	185	151	22
Hydrocarbures	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	=
Phénols	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	=
Mercure	0,0880	0,0002	<0,0001	<0,0001	440
Arsenic	0,0090	<0,0001	<0,0001	<0,0001	>90
Cyanure	<0,01	0,05	<0,01	<0,01	<0,2*
Zinc	0,47	0,18	<0,05	<0,05	2,6
Cuivre	0,06	<0,05	<0,05	<0,05	>1
Plomb	5,18	<0,05	<0,05	<0,05	>104
Chrome	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	=
Cadmium	0,13	<0,05	<0,05	<0,05	>3
Etain	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	=
Aluminium	<0,05	0,67	0,56	0,63	<0,07*
Fer	<0,05	0,25	<0,05	<0,05	<0,2*
Fraction soluble (%)	38,3	1,8	1,0	0,7	21

* : relargage supérieur du résidu solidifié/stabilisé

Ils conservent une faible toxicité sur les algues, inférieure ou égale à 10 équitox/m³. Cette toxicité diminue à l'issue de la 2ème et 3ème lixiviation.

1.2.2 Analyses chimiques

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 18. Le pH ainsi que le pouvoir tampon des lixiviats des cendres solidifiées sont plus faibles. Alors que la fraction soluble des cendres brutes est de l'ordre de 40%, elle ne dépasse pas 5% à l'issue des trois lixiviations pour les résidus solidifiés. Les concentrations en chlorures, sulfates, calcium relargués sont considérablement diminuées. Il en est de même des métaux dont les concentrations sont inférieures ou proches du seuil de détection. Seules, quelque traces de zinc persistent dans le lixiviat KS (0,18 mg/l). L'aluminium, en quantité non négligeable, serait apporté par les liants utilisés dans le procédé de solidification/stabilisation. Les concentrations détectées restent inférieures à 1 mg/l. Pour l'ensemble des éléments dosés, les concentrations décroissent au fur et à mesure du nombre de lixiviations effectuées.

1.2.3 Conclusion

Les résidus d'incinération solidifiés conduisent à des lixiviats peu toxiques. Cette importante réduction de leur toxicité résulte de la capacité du procédé de solidification/stabilisation à l'aide du ciment à diminuer efficacement la fraction soluble des REFIOM. Les métaux restent piégés au sein de la matrice solide. La solidification/stabilisation des REFIOM avant leur stockage permettra de diminuer les risques de pollution liés à l'élimination de ces déchets.

Jusqu'à ce que l'on dispose de données sur le comportement des résidus solidifiés sur le long terme, c'est à dire à l'issue de plusieurs dizaines d'années, ces déchets doivent être considérés comme représentant une charge toxique potentielle importante, et sont à éliminer avec toutes les précautions nécessaires au stockage des déchets spéciaux. Dans tous les cas, la solidification des cendres d'incinération facilitera leur transport de l'unité de traitement au site de stockage. Les percolats formés, moins chargés en sels et en métaux, devraient être plus aisément traités avant leur rejet dans l'environnement.

La solution idéale serait de pouvoir garantir, par des processus d'inertage, un rejet écoresponsable c'est à dire sans aucune nuisance pour l'environnement, de l'ensemble des

Tableau 19 : Toxicité et génotoxicité des percolats prélevés sur le site

Echantillon	MICROTOX 100/CI50 30min.	DAPHNIE Immobilisation 100/CI50 24h.	DAPHNIE Reproduction 100/LOEC - 100/NOEC	ALGUE 100/CI50 72h.	MUTAGENICITE (équivalent ml lixiviat/boîte)		
					EB	EO	LYO
T	357 ± 18	56 ± 9	125-500	265 ± 146	Tox	1,2	ID
BA	31 ± 9	47 ± 20	47-100	178 ± 64	Tox	2,5	ID
BB	8,4 ± 0,7	23 ± 4	23-83	163 ± 9	Tox	1,2	ID

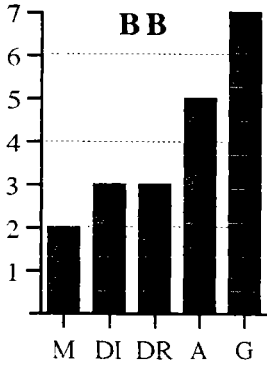
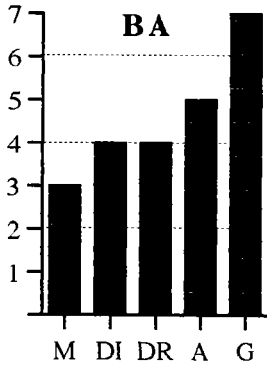
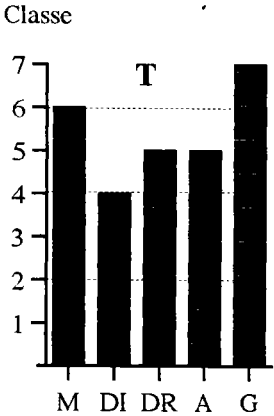
Tox : toxique vis à vis de *Salmonella typhimurium*

ID : indéterminable

EB : percolat brut

EO : extrait organique

LYO : lyophilisat



percolats formés par les déchets destinés à l'enfouissement, et ce même après de nombreuses années.

2 Toxicité des PERCOLATS

L'analyse toxicologique des eaux de percolation a été réalisée afin d'étudier le transfert au niveau du site des micropolluants présents dans les déchets stockés et quelles en sont les modalités. Trois échantillons ont été prélevés. L'échantillon T, issu exclusivement d'une alvéole récemment mise en service, est représentatif d'un jeune percolat de déchets industriels. Les échantillons BA et BB sont des mélanges de percolats issus de déchets plus ou moins âgés, industriels et ménagers, quelques alvéoles renfermant des ordures ménagères.

2.1 Analyses toxicologiques

Les résultats de l'ensemble des tests sont rassemblés dans le tableau 19. En parallèle, sont présentés les profils toxicologiques de chacun des percolats établis à partir des grilles de toxicité définie au paragraphe 1.1.6. La toxicité sur les organismes bactéries-daphnies-algues diminue de T à BA et de BA à BB. Cette réduction de toxicité est importante avec le test Microtox, elle l'est beaucoup moins avec les algues qui réagissent de façon similaire aux trois percolats. La génotoxicité des extraits organiques des trois percolats est élevée.

L'échantillon T à la concentration de 0,8-% altère la productivité des daphnies. Aucune modification de la productivité des mères n'est observée avec les percolats BA et BB (figure 26). Cependant, les trois échantillons, à la plus forte concentration testée, entraînent une mortalité des mères au cours du test. Les taux de mortalité à la fin du test atteignent pour les percolats T, BA, BB respectivement 56%, 69% et 31%. Le nombre total de petits pondus par cristalliseur avec le lixiviat BA s'en trouve diminué (figure 26). Ce phénomène n'est pas observé avec le percolat BB, ce dernier favorisant la productivité des daphnies survivantes.

La forte toxicité des percolats vis à vis de *Salmonella typhimurium* his⁻ n'a pas permis de tester la génotoxicité des lyophilisats. Les trois extraits organiques se sont révélés être mutagènes. Cette activité mutagène s'ajoute à une cytotoxicité qui s'est traduite par l'apparition de microcolonies formant un tapis bactérien.

Tableau 20 : Résultats des analyses chimiques des percolats.

Conc. en mg/l	T	BA	BB
pH	8,7	8,5	8,5
DCO	9638	7075	5242
Ammonium	1207	1198	980
Azote Kejdahl	2013	1626	1235
Chlorure	6800	7280	6840
Sulfate	1164	692	1390
Calcium	64	217	44
Hydrocarbures	12,2	25,4	3,25
Cyanure	0,100	0,054	0,075
Phénols	4,2	3,25	0,9
Mercure	0,0011	0,0056	0,0052
Arsenic	0,271	0,123	0,112
Zinc	1,23	11,85	13,20
Cuivre	0,09	0,17	0,36
Plomb	0,72	0,76	0,76
Chrome	0,97	0,53	0,56
Cadmium	0,064	0,076	0,065
Etain	1,07	0,87	1,31

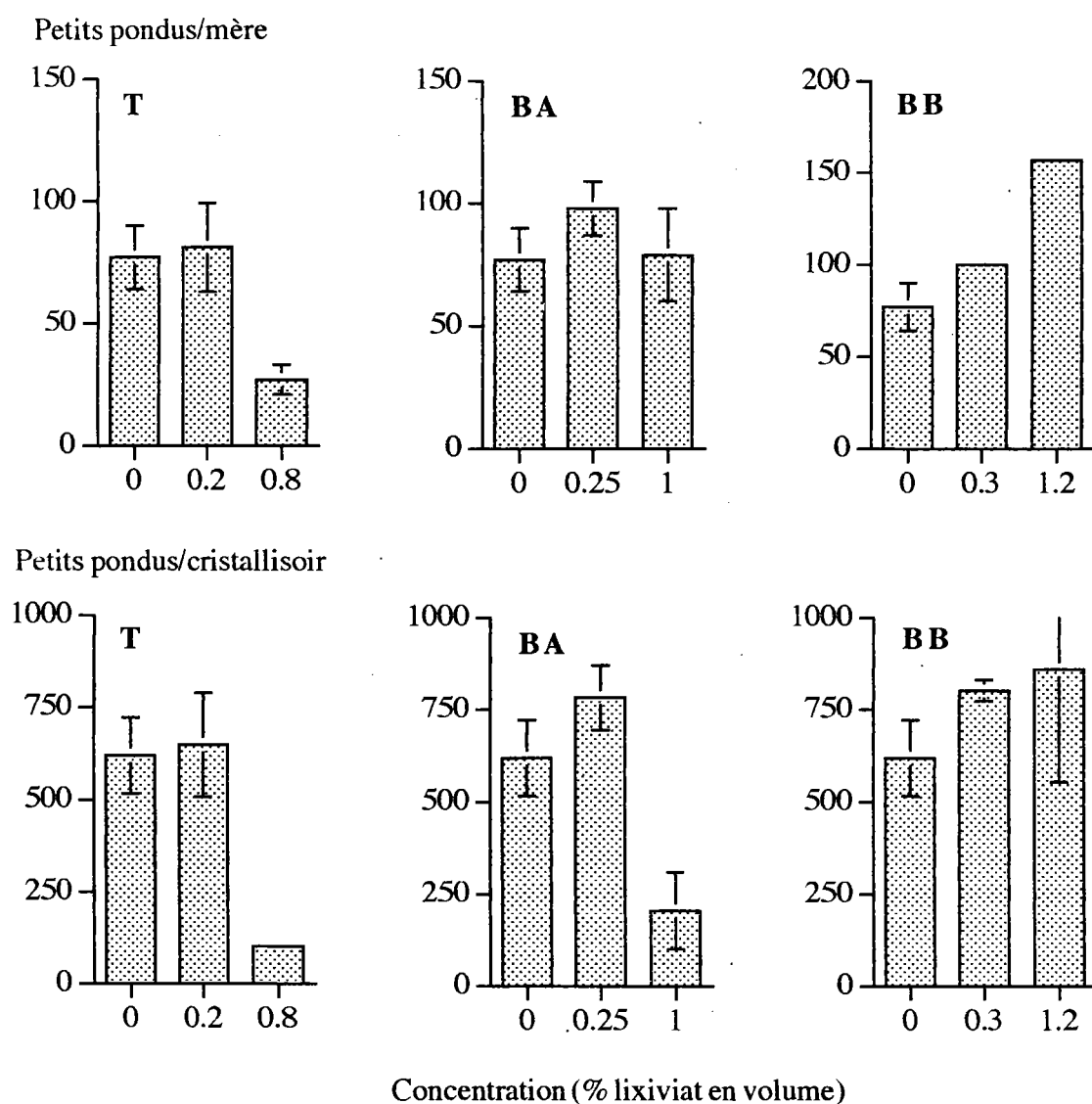


Figure 26 : Effets des percolats sur la reproduction de *Daphnia magna*

2.2 Analyses chimiques

Les concentrations des différents éléments dosés sont, en règle générale, supérieures à celles rencontrées dans les lixiviats de déchets (tableau 20). Elles sont également supérieures aux concentrations moyennes relevées par CLEMENT *et al.* (1993) au niveau des percolats, sans toutefois atteindre les valeurs maximales observées par les auteurs.

La DCO, égale à 9638 mg O₂/l en sortie du tuyau T4 (échantillon T), décroît dans les bassins B1 (échantillon BA) et B2 (échantillon BB). L'aération mise en place dans le second

bassin pourrait en partie expliquer cette diminution de la charge organique. La charge en chlorures, sulfates et métaux lourds n'est pas ou peu réduite.

Par comparaison avec le percolat T, les concentrations en hydrocarbures, sulfures calcium, chlorures, zinc, mercure sont plus importantes dans le premier bassin. Ces éléments seraient principalement apportés par les drains provenant des autres alvéoles. Dans le cas des hydrocarbures, leur accumulation à la surface du bassin a pu influencer l'échantillonnage.

2.3 Conclusion

Malgré leur forte charge polluante notamment en hydrocarbures et en métaux, la toxicité des percolats n'atteint pas les niveaux de toxicité observés avec certains résidus. L'examen des teneurs respectives de ces polluants ne permet pas d'expliquer le comportement toxicologique différent des trois percolats. L'échantillon T, moins chargé en hydrocarbures et en métaux que le percolat BA, présente une plus forte toxicité.

Les algues qui se sont toujours révélées plus sensibles que les bactéries du Microtox aux lixiviats de déchets, donnent avec le percolat T, une réponse légèrement inférieure. Ceci confirme la nécessité de ne pas baser l'évaluation toxicologique sur un seul organisme ; la sensibilité d'une espèce pour un composé donné ou un type d'effluent peut ne pas se retrouver avec des composés ou des effluents de nature différente. CAIRNS (1986) parle du mythe de l'espèce la plus sensible.

Il nous est difficile de discuter du transfert au niveau du site des micropolluants présents dans les déchets car le dépôt de plusieurs tonnes de goudrons deux mois avant le prélèvement a perturbé la qualité des percolats générés habituellement sur le site. Ces goudrons seraient en partie responsables de la forte charge en hydrocarbures.

Tableau 21 : Toxicité et génotoxicité des eaux de surface

Echantillon	MICROTOX 100/CI50 30min.	DAPHNIE Immobilisation 100/CI50 24h.	DAPHNIE Reproduction 100/LOEC - 100/NOEC	ALGUE 100/CI50 72h.	MUTAGENICITE (équivalent ml lixiviat/boîte)		
					EB	EO	LYO
BO	NT	NT	NT-2	NT	-	-	-
ET	NT	NT	NT-2	NT	-	-	-
R1	NT	NT	NT-2	3,6 ± 0,6	-	10	-
R1'	NT			5,4		+	
R2	2,1 ± 0,3	4,0 ± 3,5	10-50	5,4 ± 0,6	-	12,5	-

NT : non toxique

- : test négatif

+: induction du nombre de révertants

EB : lixiviat brut

EO : extrait organique

LYO : lyophilisat

3 Qualité des EAUX DE SURFACE aux alentours du site

BO, qui correspond aux eaux de l'étang situé en amont du site sera notre point référence en terme de qualité. ET et R se partagent les eaux ayant ruisselé sur le site. R a fait l'objet de trois échantillonnages (R1 et R1'-été- et R2-printemps-).

Pour le test algue, les échantillons ont été filtrés de façon à éliminer les bactéries et les cellules algales présentes à l'origine dans ces eaux.

3.1 Analyses toxicologiques

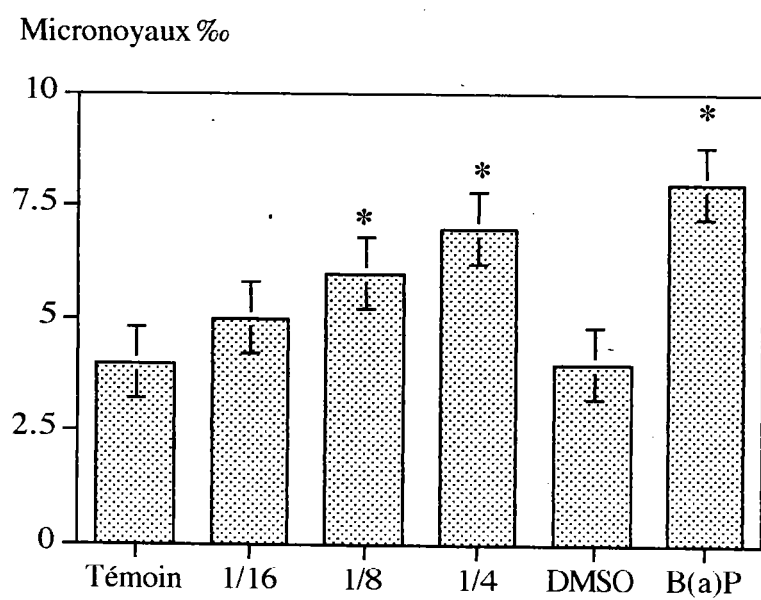
BO et ET sont dépourvus de toute toxicité, aiguë et chronique (tableau 21). A la concentration de 50% dans le milieu d'élevage des daphnies, ils entraînent une productivité légèrement supérieure des mères par rapport au témoin (annexe 4).

Le premier échantillon R prélevé (R1) ne présente pas de toxicité à court terme mais se révèle légèrement toxique pour les algues.

Un potentiel mutagène est mis en évidence avec les extraits organiques qui donnent une réponse positive au test d'Ames. Un second échantillonnage (R1'), réalisé peu de temps après ces essais, a confirmé les résultats. La réponse de la souche *Salmonella typhimurium* TA98 est reportée sur la figure 27. La métabolisation augmente le taux de mutants reverses, ce qui traduit la présence de composés promutagènes.

Les eaux R prélevées au printemps (R2) présentent toujours une toxicité vis à vis des algues et un potentiel mutagène. De plus, elles sont toxiques à court terme vis à vis des bactéries du Microtox et des daphnies. Les concentrations de 2% et 10% ont été testées lors de l'essai de reproduction de *Daphnia magna*. Les effets sur la mortalité et la productivité des daphnies sont importants à la concentration de 10% (annexe 4), ils disparaissent à la concentration de 2%.

Un essai de génotoxicité sur amphibiens, utilisant les eaux brutes, a été réalisé au laboratoire par F. Godet. Ce test permet de mettre en évidence des altérations de l'ADN ou du fuseau mitotique. Elles se traduisent par l'exclusion de fragments de chromosomes ou de chromosomes entiers dans le cytoplasme lors de la division cellulaire. L'utilisation de colorants spécifiques de l'ADN permet de visualiser ces masses de chromatine ou micronoyaux.



* : résultat positif

Figure 28 : Induction du taux de cellules sanguines à micronoyaux des larves de triton exposées à l'échantillon R2

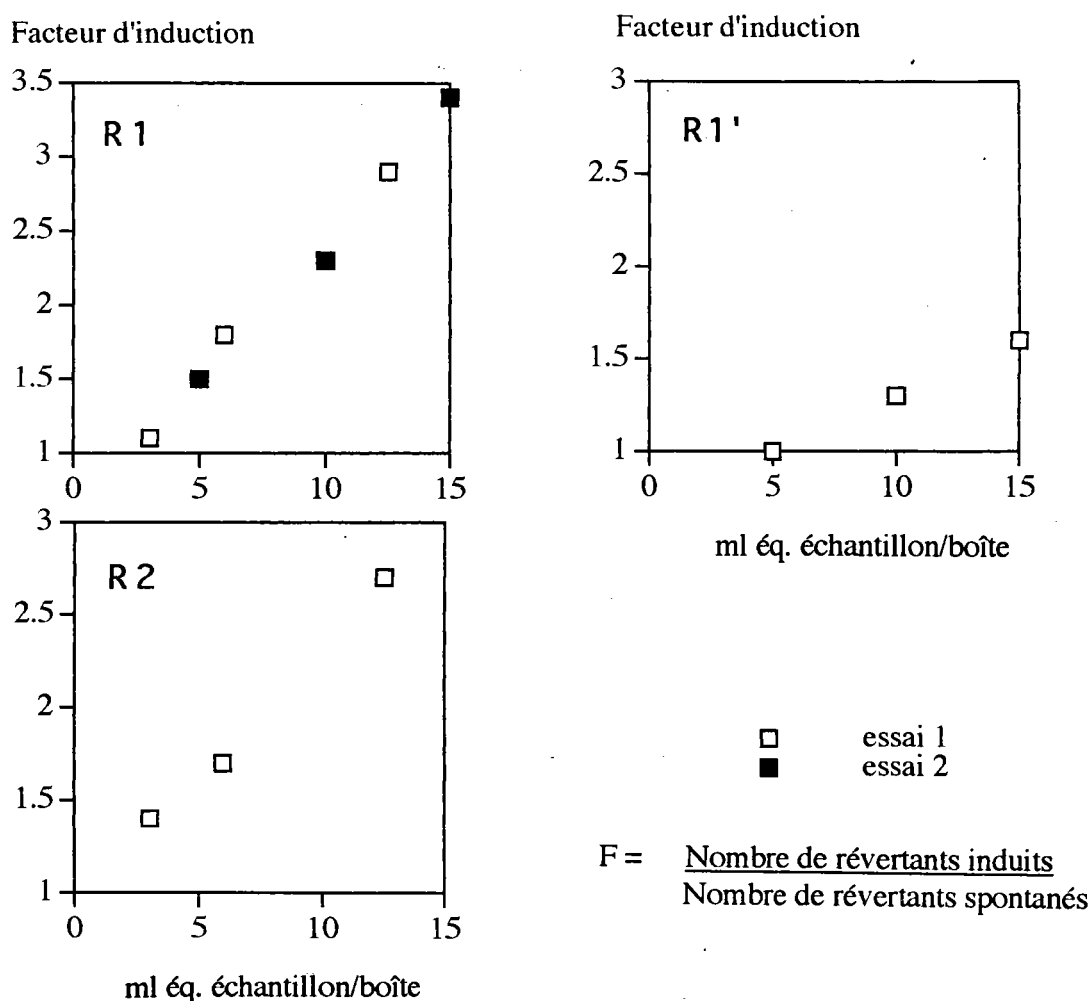


Figure 27 : Induction par les eaux de ruissellement R du nombre de révertants de la souche *Salmonella typhimurium* TA98 en présence d'activation métabolique

Le test consiste donc à rechercher la présence de micronoyaux dans les cellules sanguines de larves de *Pleurodeles waltl* exposées à différentes concentrations en effluent. Le test dure 12 jours. Quatre prélèvements de R ont été effectués, 1 tous les 3 jours, pour renouveler les milieux d'essai. Le protocole ainsi que les résultats sont détaillés en annexe 5. Trois concentrations ont été testées : 6,25%, 12,5% et 25%. Les résultats ont montré que le taux de cellules à micronoyaux augmente avec les concentrations. Pour les concentrations de 12,5% et 25%, le taux de micronoyaux induits est significativement différent de celui des témoins (figure 28). Ce test confirme que le rejet R renferme des composés génotoxiques ; ces composés sont actifs vis à vis des bactéries et des vertébrés aquatiques.

Tableau 22 : Résultats des analyses chimiques des eaux de surface.

Conc. en mg/l	BO	ET	R1	R2	Norme rejet
pH	8,0	7,7	7,7	7,5	5,5-8,5
DCO	32	24	62	278	150
Ammonium	0,25	0,4	0,15	58	10
Nitrites	<0,02	<0,02	0,46	0,05	15
Nitrates	<0,25	<0,25	2,5	2,4	15
Chlorure	7	22	250	974	250
Sulfate	227	221	1396	1030	250
Calcium	-	-	-	372	-
Hydrocarbures	<0,1	<0,1	17,8	31,6	5
Cyanure	<0,01	<0,01	<0,01	0,1	0,1
Phénols	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,5
Mercure	0,0011	0,0006	0,0008	0,0004	0,05
Arsenic	0,0007	0,0012	0,0080	0,0041	0,5
Zinc	<0,05	<0,05	0,4	0,05	1
Cuivre	<0,05	<0,05	0,08	<0,05	1
Plomb	0,05	0,05	0,69	<0,05	1
Chrome	<0,05	<0,05	0,18	<0,05	1
Cadmium	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	0,1*
AOX (1) (µg/l)	34	36	71	1819	-
BTX (2) (µg/l)	ND	ND	ND	-	-
Pesticides (µg/l)					
- organochlorés	ND	ND	ND	-	-
- organophosphorés-soufrés	ND	ND	ND	-	-
- organoazotés	0,022	ND	ND	-	-
Chlorophénols (µg/l)	ND	ND	ND	-	-
HPA (3) (µg/l)	0,023	0,021	0,310	254	-

* : total des métaux inférieur à 15 mg/l

ND : non détecté

(1) : organohalogénés

(2) : Benzène-Toluène-Xylène

(3) : Fluoranthène, benzo(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(a)pyrène, benzo(ghi)pérylène, indéno(1,2,3)pyrène

3.2 Analyses chimiques

Les résultats des analyses sont présentés dans le tableau 22 ainsi que les normes de rejet fixées par l'arrêté préfectoral pour le site.

Les eaux des étangs, BO et ET, sont de bonne qualité avec de faibles teneurs en sels, composés organiques et métaux. Les quelques traces d'atrazine présentes dans BO proviennent des champs situés en amont de l'étang. Aucun autre pesticide n'a été détecté.

Une concentration importante d'hydrocarbures est relevée dans R1. La concentration des hydrocarbures polycycliques aromatiques (HPA), qui ont été dosés spécifiquement, est faible (0,31 $\mu\text{g/l}$). Comparativement à BO et ET, R1 contient plus de sels (chlorures, sulfates, calcium). Il est également plus chargé en métaux. Du zinc (0,4 mg/l) et du plomb (0,69 mg/l) sont détectés.

L'indice hydrocarbures de l'échantillon R2, égal à 31,6 mg/l, est supérieur à celui du premier échantillon. Il pourrait expliquer sa toxicité élevée, notamment sa toxicité aiguë. Le dosage des HPA révèle la présence de fluoranthène à la concentration de 254 $\mu\text{g/l}$. Ce composé, reconnu mutagène, n'explique cependant pas à lui seul la réponse positive du test d'Ames. Ces eaux restent chargées en chlorures avec une concentration de 974 mg/l. Les métaux zinc et plomb ne sont plus détectés. La concentration en cyanures atteint le seuil limite de 0,1 mg/l admis pour le rejet des eaux.

3.3 Conclusion

La toxicité des eaux R est élevée pour un effluent rejeté directement dans l'environnement, sans traitement préalable. Les concentrations en micropolluants dans l'échantillon R2 sont suffisantes pour entraîner des effets à court terme. Leur charge élevée en hydrocarbures est très probablement responsable de la toxicité observée.

Au vu des essais réalisés au laboratoire, ce rejet est susceptible d'avoir des effets à long terme sur la flore et la faune à proximité du site.

Les hydrocarbures pourraient provenir de la présence sur le site d'anciennes "cuves" de stockage. Les travaux de réaménagement du site, entrepris récemment, ont pu entraîner un phénomène de fuite.

La présence des chlorures dans les deux échantillons R1 et R2 ne trouve pas d'explication. Deux hypothèses doivent être posées qui sont :

- une éventuelle fuite au niveau des bassins de rétention des percolats,
- un passage des eaux de nettoyage de l'unité d'ensachage des poussières d'incinération ; ces eaux sont normalement pompées puis déversées dans le bassin B2.

Le tracé exact des eaux de ruissellement à travers le site n'est pas connu.

Le débit de ce rejet reste relativement faible. Il est cependant nécessaire de prendre des mesures afin de définir les causes de la pollution et l'enrayer.

A ce jour, il est prévu la construction d'un bassin de rétention des eaux de ruissellement. Ces eaux seront rejetées dans le bassin B2 et utilisées pour l'ensachage des cendres d'incinération. Le bassin de rétention des percolats B2 a été étanché à l'aide de béton.

DISCUSSION

1 Bilan des études. Relations entre les analyses toxicologiques et physico-chimiques

2 Mise en oeuvre et interprétation des analyses toxicologiques

3 Application du contrôle toxicologique à la gestion des déchets

Tableau 24 : Toxicité de la fraction lixiviable des REFIOM avant et après solidification/stabilisation
 Toxicité des percolats de décharge et des eaux de surface

Echantillon	Cendres d'incinération				Percolats			Eaux de surface			
	non stabilisées		stabilisées		T	BA	BB	BO	ET	R1	R2
MICROTOX											
DAPHNIE 24H											
DAPHNIE 28J											
ALGUE											
MUTAGENICITE											

Tableau 23 : Toxicité de la fraction lixiviable des déchets non stabilisés

	Boues d'hydroxydes métalliques					Boues de peinture			Résidus de la métallurgie		Résidus d'incinération			
Echantillon	A	B1	B2	C1	C2	D	E1	E2	F	G	H	I	J1	K1
MICROTOX														
DAPHNIE 24H	ND	ND					ND				ND	ND	ND	
DAPHNIE 28J	ND	ND					ND				ND	ND	ND	
ALGUE														
MUTAGENICITE														

ND : non déterminé

DISCUSSION

1 Bilan des études - Relations entre les analyses toxicologiques et physico-chimiques

- Afin de discuter des résultats de cette étude, nous avons simplifié leur présentation et utilisé les échelles de toxicité définies au paragraphe 2.1.6 du chapitre IV. Quatre niveaux de (géo)toxicité, représentés chacun par une couleur, ont été déterminés. Cette échelle a été construite de façon à couvrir l'ensemble des réponses des échantillons testés. Les échantillons non ou peu toxiques ont été notés en blanc. Les échantillons toxiques et très toxiques apparaissent respectivement en jaune et en orange ; ceux classés extrêmement toxiques sont visualisés en rouge. Quatre niveaux de génotoxicité ont également été définis. La réponse apparaît en blanc lorsqu'aucune génotoxicité n'a été détectée, en jaune lorsque l'échantillon est peu génotoxique c'est à dire qu'il est nécessaire de concentrer les micropolluants plus de dix fois pour observer une réponse positive du test d'Ames. Les échantillons génotoxiques et très génotoxiques apparaissent respectivement en orange et en rouge.

Les résultats pour les lixiviats de déchets sont rassemblés dans le tableau 23. Ce tableau fait ressortir l'absence de relation entre les caractéristiques toxicologiques et l'appartenance à une famille de résidus. En effet, *au sein d'une même famille de résidus, les profils toxicologiques des lixiviats peuvent être très hétérogènes. Ceci souligne la difficulté de baser la "qualité" d'un déchet sur son origine.*

Les résultats pour les autres échantillons, c'est à dire les poussières d'incinération avant et après solidification/stabilisation, les percolats, les eaux de surface, se trouvent dans le tableau 24. L'efficacité du traitement d'inertage des cendres d'incinération apparaît clairement par l'absence quasi-totale de toxicité pour les échantillons JS et KS. A l'inverse, ce tableau fait bien ressortir la toxicité importante à court et à long terme des percolats.

L'examen visuel des deux tableaux confirme les points suivants :

- (1) la présence d'un caractère toxique à court terme s'accompagne systématiquement d'une toxicité à long terme. Par contre, l'absence de toxicité à court terme, ne garantit aucunement l'innocuité de l'échantillon à plus long terme : des effets sur la croissance algale et la reproduction des daphnies et/ou des effets génotoxiques peuvent être observés alors

Tableau 25 : Analyses physico-chimiques des échantillons C2 et D (a) et E2 et F (b)

	(a)		(b)	
Conc. en mg/l	C2	D	E2	F
pH	11,3	7,6	7,5	10,2
DCO	264	670	624	236
Chlorure	54	5	18	1222
Sulfate	140	78	38	80
Calcium	23	5	7	8,3
Hydrocarbures	1,3	1,1	3,9	<0,1
Phénols	<0,1	0,2	<0,1	<0,1
Mercure	0,0006	0,0001	0,0005	0,0004
Arsenic	0,0007	0,0006	0,0005	0,0004
Cyanures	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Zinc	0,19	0,14	1,05	0,06
Cuivre	0,11	<0,05	<0,05	0,16
Plomb	<0,05	0,12	0,63	<0,05
Chrome	0,34	0,26	0,08	<0,05
Cadmium	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

qu'aucun effet de toxicité aiguë n'a été enregistrée. Les lixiviats C1, C2, D, E2, KS en sont des exemples.

Ceci fait ressortir la difficulté d'extrapoler une réponse de toxicité à long terme à partir d'une donnée de toxicité à court terme. Ces problèmes d'extrapolation aigu-chronique peuvent s'expliquer par le fait que, selon le niveau de contamination, les organes ou les tissus affectés et les mécanismes de cytotoxicité peuvent être très différents. Un exemple est le cas des hydrocarbures de type solvants : à des fortes concentrations, ils seront toxiques à court terme pour le système nerveux, à doses faibles et à long terme, ils entraîneront principalement des effets au niveau des organes de détoxification (foie et hépatopancréas) ou des organes excréteurs (rein).

Dans notre étude, le calcul du rapport aigu/chronique donne des valeurs comprises entre 1,35 (T) et 0,002 (G) soit un facteur de plus de 600 entre ces valeurs extrêmes,

- (2) le caractère "génotoxicité" est indépendant des autres formes de toxicité. Des échantillons dépourvus de toute toxicité aiguë et/ou chronique sont susceptibles de présenter un caractère mutagène. C'est le cas de la boue de peinture E2 ou des eaux de ruissellement R,

- (3) il est difficile d'extrapoler une réponse de toxicité d'une espèce à une autre. Chacune des espèces est susceptible de présenter des spécificités et ce d'autant plus qu'elles n'appartiennent pas au même niveau d'organisation (CAIRNS, 1983),

- (4) le profil toxicologique est difficilement prédictible des analyses physico-chimiques. Un exemple est donné par les lixiviats C2 et D. Alors que ces échantillons présentent des degrés de pollution organique et minérale du même ordre de grandeur (tableau 25a), leur profil toxicologique diffère : l'échantillon C2 se révèle perturber de façon plus importante la reproduction de *Daphnia magna* et présente un caractère mutagène important à la différence du lixiviat D dépourvu de génotoxicité. Ils sont tous les deux toxiques vis à vis des algues avec des réponses égales respectivement à 47 ± 9 et 23 ± 11 équitox/m³.

Un autre exemple est donné par les échantillons E2 et F qui apparaissent tous les deux relativement peu contaminés (tableau 25b). Le lixiviat F entraîne cependant une inhibition importante de la croissance algale qui n'est pas obtenue avec l'échantillon E2. Ce dernier se révèle par contre génotoxique à la différence de F.

- Afin de vérifier cette absence de relation entre les données physico-chimiques et toxicologiques, nous avons à l'aide de l'analyse multivariée cherché à préciser les relations entre les concentrations des micropolluants mesurées et l'intensité des réponses de

Tableau 26 : Données brutes, physico-chimiques et toxicologiques (100/CE50), utilisées dans l'ACP

Param.	pH	DCO	Chlorure	Calcium	Sulfate	Cyanure	Indice -CH ₂	Phénols	Mercure	Arsenic	Zinc	Cuivre	Plomb	Chrome	Cadmiu m	Microt.	Algue	Ames
Unité	-	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	µg/l	mg/l	mg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	éqx/m ³	éqx/m ³	ml éq.
Code	PH	DCO	CHL	CAL	SUL	CN	HC	PHE	HG	AS	ZN	CU	PB	CR	CD	MIC	ALG	GEN
A	7,3	26	194	132	384	<10	<0,1	<0,1	0,6	0,1	<50	<50	<50	<50	<50	NT	5,1	-
B1	12,4	1094	72	498	63	15	<0,1	1,1	0,2	0,7	50	<50	<50	<50	<50	3,4	14,5	0,6
B2	10,2	355	96	150	249	<10	<0,1	<0,1	0,6	3,6	50	1090	80	<50	<50	4,1	56,0	12,5
C1	12,2	32	63	300	90	<10	0,8	<0,1	<0,1	2,9	1500	270	380	50	80	8,7	149	6
C2	11,3	264	54	23	140	<10	1,3	<0,1	0,6	0,7	190	110	<50	340	<50	4,8	47	7,5
D	7,6	670	5	5	78	<10	1,1	0,2	0,1	0,6	140	<50	120	260	<50	5,5	23,3	-
E1	7,1	990	17	35	1	<10	<0,1	1,0	0,1	0,3	22000	<50	50	<50	<50	57,6	1818	2,5
E2	7,5	624	18	7	38	<10	3,9	<0,1	0,5	0,5	1050	<50	630	80	<50	6,7	20,9	6
F	10,2	236	1222	8	80	<10	<0,1	<0,1	0,4	0,4	60	160	<50	<50	<50	6,7	110	-
(G)	12,3	6317	370	5	380500	<10	0,75	<0,1	<0,1	*	180	<50	<50	<50	<50	1639	183333	6
H	8,0	94	10	19	324	<10	<0,1	0,1	<0,1	2,1	<50	<50	<50	<50	<50	1,7	8,8	-
I	11,7	266	6100	1180	1779	40	<0,1	<0,1	0,3	<0,1	600	<50	1300	90	<50	6,4	18,3	-
(J1)	11,3	*	13850	6470	852	*	<0,1	*	11,9	0,1	1160	<50	21700	<50	<50	55,6	667	-
J2	12,3	534	21000	10400	515	<10	<0,1	<0,1	0,9	<0,1	<50	140	7490	<50	170	12,1	1362	-
K1	12,3	284	16400	7875	2154	<10	<0,1	<0,1	17	<0,1	3500	<50	97000	<50	<50	474	6093	-
K2	12,4	920	17500	7900	425	<10	<0,1	<0,1	88	9,0	470	60	5180	<50	130	14,0	1075	-
L	7,5	43	10	14	1	28	<0,1	0,25	0,5	1,6	110	<50	<50	<50	<50	2,3	1,4	-
JS	10,4	46	1320	448	3	<10	<0,1	<0,1	0,6	<0,1	<50	<50	<50	<50	<50	NT	5,4	-
KS	10,5	30	1170	362	8	50	<0,1	<0,1	0,2	<0,1	180	<50	<50	<50	<50	NT	9,8	-
T	8,7	9638	6800	64	6	100	12,2	4,2	1,1	271	1230	94	720	970	64	356	266	1,2
BA	8,5	7075	7280	217	14	54	25,4	3,25	5,6	123	11850	170	760	530	76	30,7	179	2,5
BB	8,7	5242	6840	44	5	75	3,25	0,9	5,2	112	13200	360	760	560	65	8,4	164	1,2
BO	8,0	32	7	98	227	<10	<0,1	<0,1	1,1	0,74	<50	<50	50	<50	<50	NT	NT	-
ET	7,7	24	22	92	221	<10	<0,1	<0,1	0,6	1,2	<50	<50	50	<50	<50	NT	NT	-
R1	7,7	62	250	287	1396	<10	17,8	<0,1	0,8	7,8	400	80	690	180	<50	NT	3,5	10
R2	7,6	278	974	372	1030	100	31,6	<0,1	0,4	4,1	50	<50	<50	<50	<50	2,1	5,5	12,5

() : observation non prise en compte dans l'analyse

(géo)toxicité enregistrées. Deux méthodes ont été utilisées : l'ACP (Analyse en Composantes Principales) et l'AFCM (Analyse Factorielle en Composantes Multiples).

Le principe de ces méthodes est présenté au paragraphe 6 du chapitre III. L'ensemble des données brutes est rassemblé dans le tableau 26. Les données transformées utilisées pour les analyses sont données en annexe.

Nous sommes conscients des limites de cette étude compte tenu :

- du faible nombre d'observations : nous ne disposons que de 26 échantillons,
- du caractère non exhaustif des analyses chimiques réalisées : seulement 15 paramètres ont été mesurés.

Les résultats concernant le résidu de la métallurgie G et les poussières d'incinération J1, pour lesquels des données chimiques sont manquantes, n'ont pu être intégrés dans l'analyse.

Nous avons tout d'abord réalisé une AFCM afin d'étudier les liaisons entre les classes des différentes variables chimiques et toxicologiques. Selon les paramètres chimiques, deux ou trois classes de concentrations ont été définies. Trois niveaux de réponse pour les tests Microtox et algue ont été déterminés. Seule, la présence ou l'absence de caractère mutagène, a été considérée. Les différentes classes constituées sont décrites dans le tableau 27.

Les résultats de l'analyse sont donnés en annexe 6. Nous nous intéresserons au plan principal 1-2 (figure 29a) et au plan factoriel 1-3 (figure 29b) qui contiennent respectivement 57% et 48% de l'information.

Seules les variables MIC (test Microtox), ALG (test algue), MTX (charge en métaux) et DCO (charge organique globale) sont bien représentées dans le plan principal. Les caractères GEN (caractère mutagène) et HC (charge en hydrocarbures) n'apparaissent bien représentés que sur le 3ème axe.

Trois groupes d'échantillons se dessinent effectivement sur la figure 29a :

- des échantillons faiblement contaminés dépourvus de toxicité et de génotoxicité. Ce sont les poussières d'incinération solidifiées JS et KS, la boue d'hydroxyde métallique A, les eaux des étangs en amont et en aval du site B0 et ET,
- des échantillons très contaminés en métaux et/ou en composés organiques (DCO élevée, phénols, hydrocarbures) très toxiques voire génotoxiques. Ce sont la boue de peinture E1, les poussières d'incinération J1, K1 et K2, les percolats de décharge T, BA et BB,
- des échantillons contaminés par quelques éléments, minéraux et/ou organiques, présentant une toxicité plus ou moins élevée et/ou une génotoxicité.

Tableau 27 : Les différentes classes utilisées dans l'AFCM

Paramètres	Classe	Concentrations	Min.-Max.	Echantillons concernés
DCO (mg O ₂ /l)	DC1	<100	24 - 94	ET, A, KS, BO, C1, L, JS, R1, H
	DC2	100-500	236 - 355	F, C2, I, R2, K1, B2
	DC3	>500	534 - 9638	J2, E2, D, K2, E1, B1, BB, BA, T
Hydrocarbure (mg/l)	HC1	non détecté	<0,1	A, B1, B2, E1, F, H, I, J2, K1, K2, L, JS, KS, BO, ET
	HC2	détecté	0,83 - 31,6	C1, D, C2, E2, BB, T, R1, BA, R2
Phénol (mg/l)	PH1	non détecté	<0,1	A, B2, C1, C2, E2, F, I, J2, K1, K2, JS, KS, BO, ET, R1, R2
	PH2	détecté	0,1 - 4,2	H, D, L, BB, E1, B1, BA, T
Métaux (mg/l)	MT1	<0,1	<0,05 - 0,055	A, H, JS, B1, BO, ET, R2
	MT2	0,1-3,2	0,1 - 2,3	L, KS, F, D, C2, B2, R1, E2, I, C1
	MT3	>3,2	3,3 - 100	T, K2, J2, BA, BB, E1, K1
Microtox (équitox/m3)	MI1	<2,5	NT - 2,3	A, JS, KS, BO, ET, R1, H, R2, L
	MI2	2,5-25	3,4 - 14	B1, B2, C2, D, I, E2, F, BB, C1, J2, K2
	MI3	>25	31 - 374	BA, E1, T, K1
Algue (équitox/m3)	AL1	<10	NT - 9,8	BO, ET, L, R1, A, JS, R2, H, KS
	AL2	10-100	14 - 56	B1, I, E2, D, C2, B2
	AL3	>100	110 - 6093	F, C1, BB, BA, T, K2, E1, J2, K1
Génotoxicité	GE1	non génotoxique	-	A, D, F, H, I, J2, K1, K2, L, JS, KS, BO, ET
	GE2	génotoxique	-	B1, T, BB, BA, E1, C1, E2, R1, R2, B2, C2

Remarque :

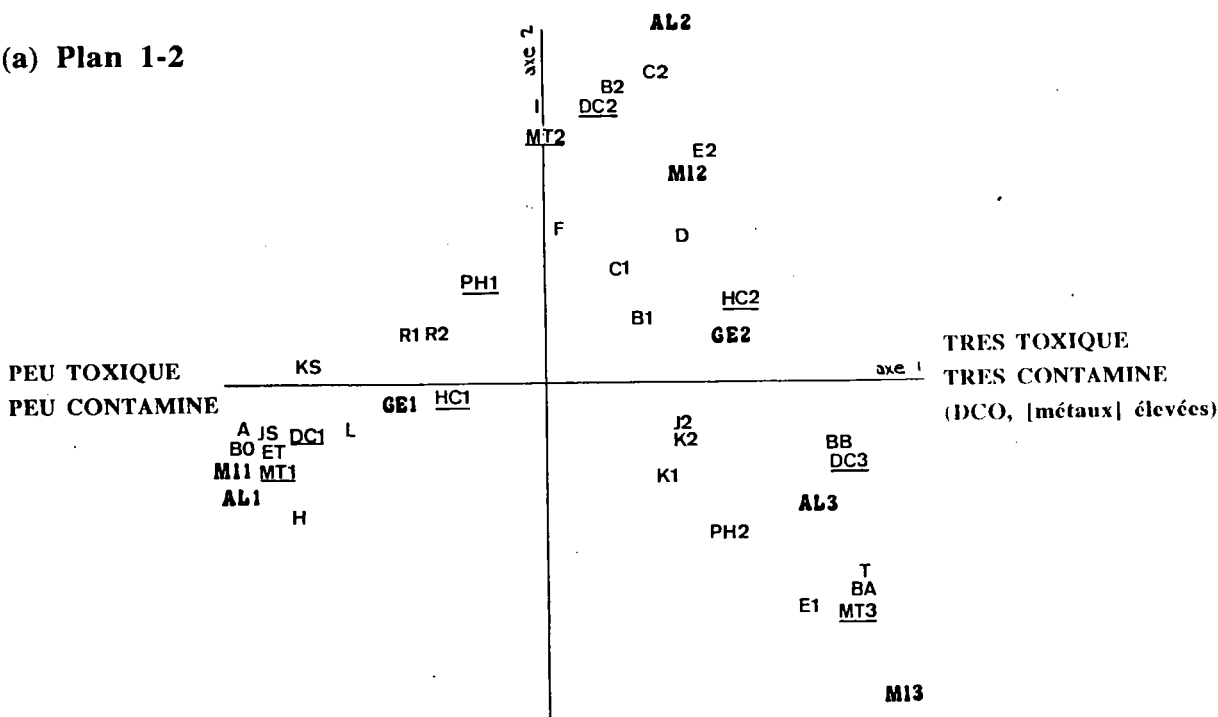
Seuls les paramètres chimiques, susceptibles d'être directement impliqués dans la réponse toxicologique, ont été pris en compte. Ce sont :

- la DCO. Ce paramètre serait un indice global d'une pollution organique,
- les hydrocarbures et les phénols,
- les métaux. Les différentes concentrations mesurées des métaux Hg, As, Zn, Cu, Cr, Cd et Pb ont été additionnées. La valeur obtenue n'est qu'un indice global d'une pollution métallique.

Les paramètres non considérés sont :

- le pH. Il est en effet ajusté dans les tests Microtox et Ames. Nous avons d'autre part vérifié que la neutralisation du pH des lixiviats basiques testés n'influençait pas les résultats de toxicité sur les algues,
- les sels chlorures, calcium et sulfates. Ils ne présentent pas, aux concentrations mesurées, d'effets toxiques directs (CHAPLIN, 1991 ; CONNOLLY, 1991),
- les cyanures. Ce paramètre est peu discriminant.

(a) Plan 1-2



(b) Plan 1-3

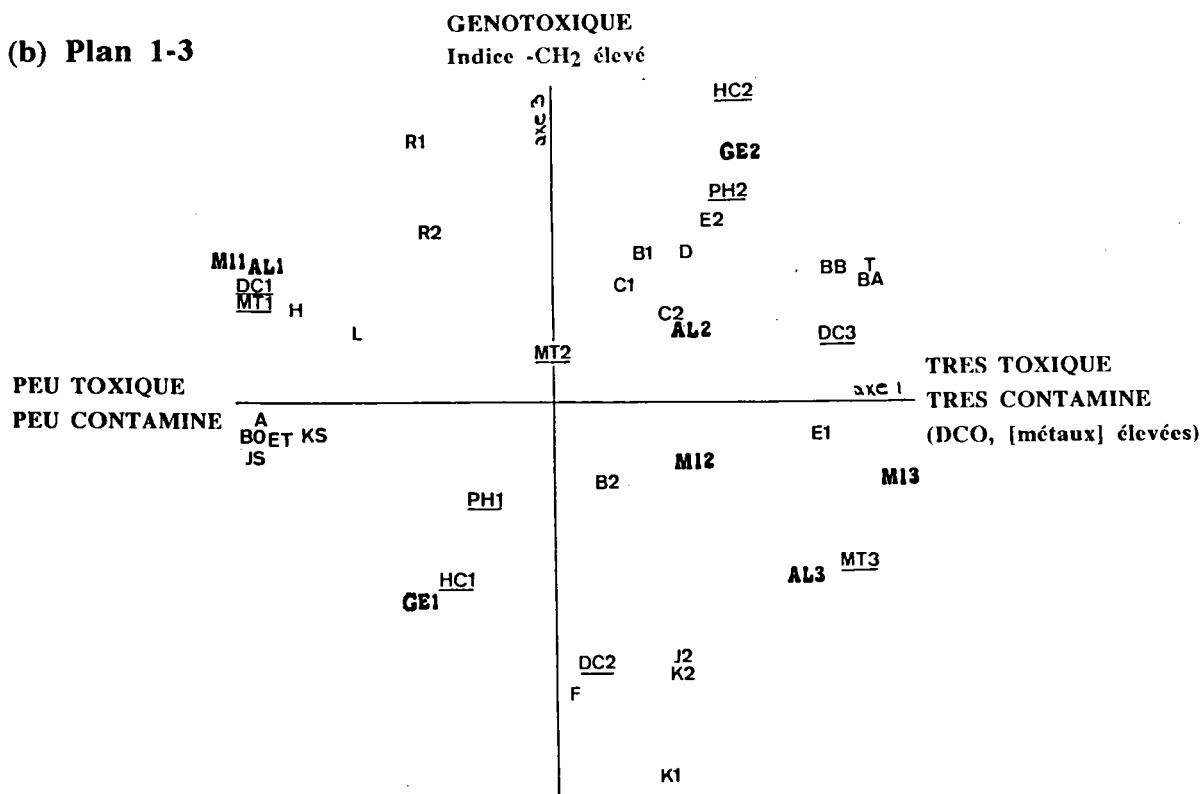
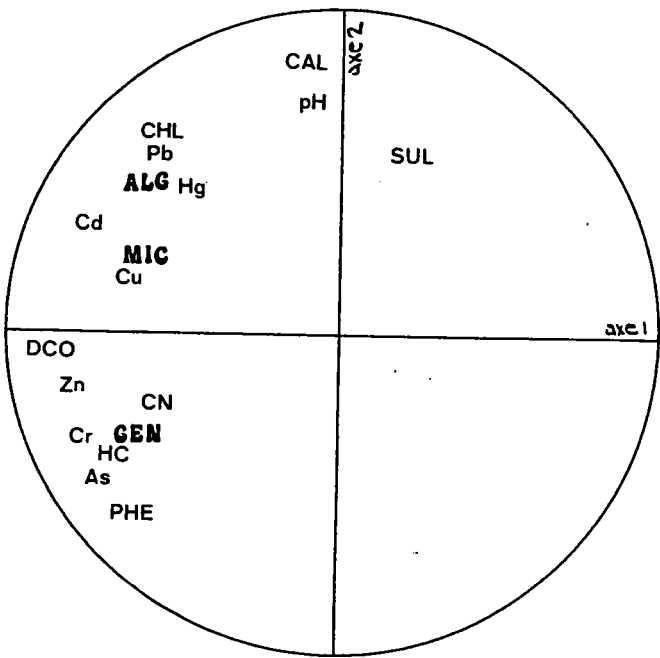


Figure 29 : Résultats de l'Analyse Factorielle des Correspondances Multiples : représentation simultanée des individus (échantillons) et des variables (paramètres physico-chimiques et toxicologiques)
DC : DCO, **MT :** métaux total, **PH :** phénols, **HC :** hydrocarbures, **MI :** Microtox, **AL :** algue, **GE :** génotoxicité

(a) Cercle de corrélation des variables



(b) Représentation des individus

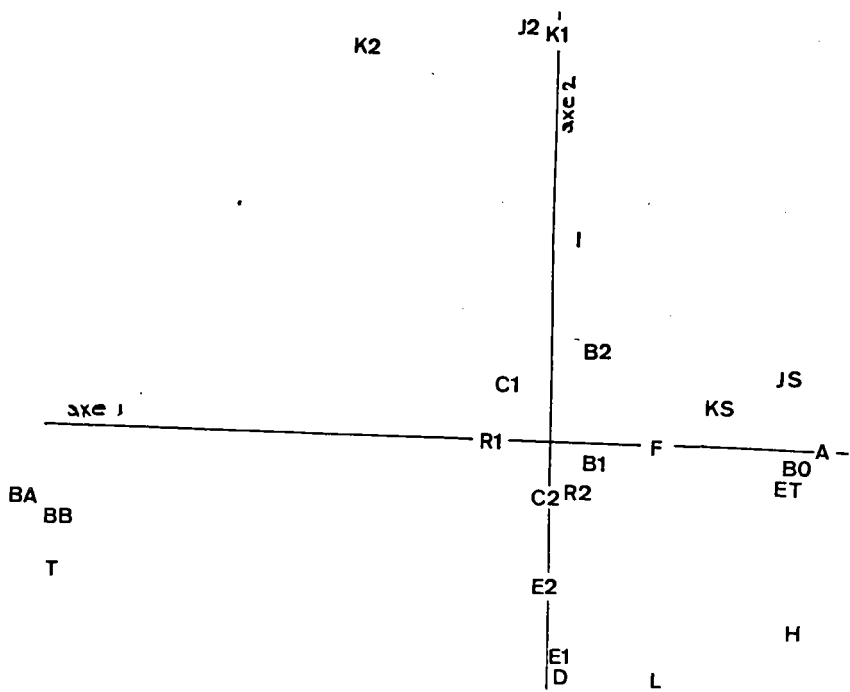


Figure 30 : Résultats de l'Analyse en Composantes Principales sur l'ensemble des échantillons, 24 observations, 15 variables chimiques, 3 variables toxicologiques supplémentaires (n'ont pas participé à la construction des axes)
MIC : Microtox, **ALG :** algue, **GEN :** génotoxicité

La figure 29b confirme l'absence de toute relation entre une réponse de toxicité aiguë et chronique et la génotoxicité des échantillons. Seule, la présence d'hydrocarbures apparaît être un paramètre associé à l'expression d'une génotoxicité.

La globalisation des résultats de l'AFCM étant susceptible de masquer des corrélations, nous avons recommencé l'analyse des résultats à l'aide de l'ACP, en considérant chacun des paramètres chimiques séparément.

Une première ACP a été réalisée en tenant compte de l'ensemble des observations soit les résultats des 24 échantillons. Les résultats sont présentés en annexe 7.

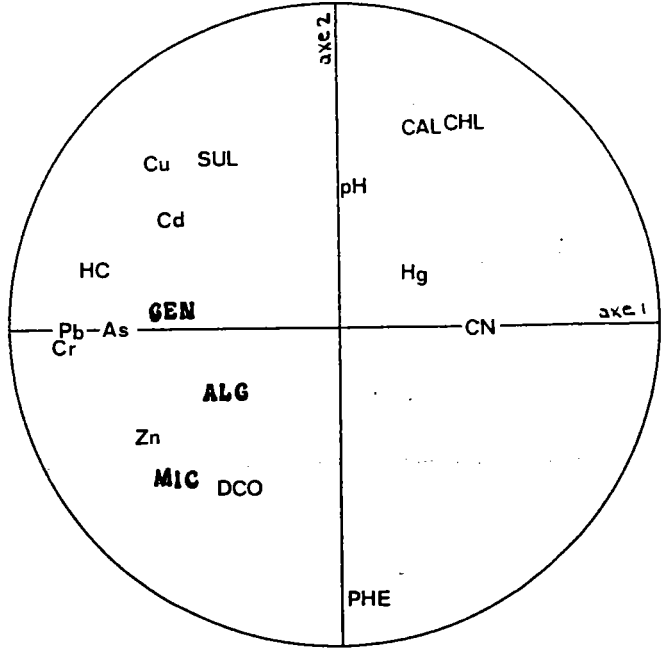
Les percolats T, BA, BB et les poussières d'incinération J2, K1, K2, qui présentent des caractères physico-chimiques et toxicologiques extrêmes par rapport aux autres échantillons, "entraînent" l'analyse (figure 30b) et expliquent pratiquement à eux seuls la formation des axes et les corrélations entre les variables toxicologiques et physico-chimiques observées sur la figure 30a. Des niveaux de contamination de l'ordre de celui de ces six échantillons seront immanquablement associés à des effets toxiques à court et à long terme vis à vis des bactéries du Microtox et des algues.

L'analyse a été réitérée en ne prenant pas en compte ces six échantillons. A la différence de la précédente analyse, les paramètres physico-chimiques se répartissent sur l'ensemble du cercle de corrélation des variables (figure 31a). Les corrélations (r) des variables toxicologiques avec les axes sont plus faibles ; elles ne dépassent pas 0,50 montrant une certaine indépendance par rapport aux axes 1 et 2 (annexe 8).

La répartition des individus dans le plan de ces deux axes (figure 30b) est très dispersée. Aucun regroupement des échantillons toxiques d'une part, et non toxiques d'autre part, n'est observé sur cette carte des individus. En d'autres termes, la répartition des échantillons est totalement indépendante de leur toxicité. Aucune corrélation ne peut être établie entre les paramètres chimiques et les variables toxicologiques.

Ces analyses confirment la difficulté de conclure, à partir d'un bilan analytique standard et par définition non exhaustif, quant à la toxicité des échantillons peu ou moyennement contaminés.

(a) Cercle de corrélation des variables



(b) Représentation des individus

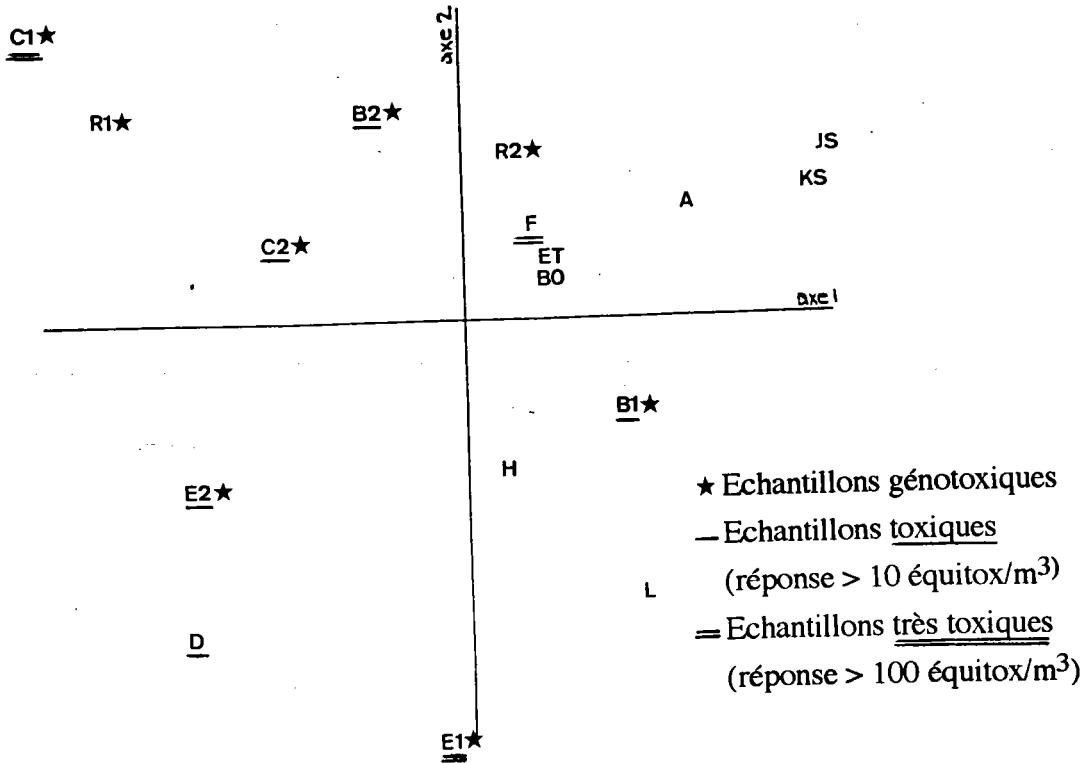


Figure 31 : Résultats de l'Analyse en Composantes Principales sur une partie des échantillons : 17 observations, 15 variables chimiques, 3 variables toxicologiques supplémentaires (n'ont pas participé à la construction des axes)
Les échantillons non considérés = poussières d'incinération (I, J2, K1, K2) et percolats (T, BA, BB)
MIC : Microtox, ALG : algue, GEN : génotoxicité

2 Mise en oeuvre et interprétation des analyses toxicologiques

- Le maintien de la qualité des écosystèmes passe par la prévention de tous rejets dans l'environnement susceptibles d'induire des effets toxiques sur les populations, à court et à long terme. Des effets à court terme ne se manifesteront qu'en présence d'une pollution élevée entraînant rapidement de graves troubles physiologiques, voire la mort des organismes exposés. Les effets à long terme pourront résulter de phénomènes de bioaccumulation ou d'un ensemble de lésions cellulaires non réparées et non compensées au plan fonctionnel. Des altérations du génome et/ou un dérèglement des mécanismes de contrôle du cycle cellulaire pourront notamment, à terme, se traduire par l'apparition d'un cancer.

La prévention des risques environnementaux doit permettre de préserver, à court et à long terme, les différents niveaux trophiques peuplant les écosystèmes. Ces risques ne peuvent être évalués qu'à l'aide d'un ensemble de tests de toxicité. Divers organismes, représentatifs de différents niveaux trophiques seront sélectionnés ; des essais de toxicité aiguë et des essais de toxicité chronique seront mis en oeuvre.

Pour des raisons économiques, le choix des tests se fera de façon à obtenir, avec un minimum d'essais, le maximum d'informations quant au potentiel toxique de l'échantillon. Pour cela, il est nécessaire de choisir des essais non redondants c'est à dire que chacun des essais devra apporter une information complémentaire sur les différentes formes de toxicité potentielle, aiguë, chronique incluant la génotoxicité.

Les cinq tests mis en oeuvre dans cette étude répondent à ces objectifs. Trois organismes appartenant à des niveaux d'organisation différents -bactéries, végétaux, invertébrés- ont été utilisés.

Tous les tests de toxicité ne présentent pas la même charge de travail ni les mêmes difficultés de mise en oeuvre. Le matériel, le facteur temps requis pour la maintenance des organismes, la préparation du test et l'obtention des résultats sont à prendre en compte dans le choix des essais. En effet, ces paramètres détermineront le coût de l'essai, lequel peut présenter un frein à la mise en place du contrôle toxicologique.

Les microbiotests, qui se caractérisent par l'utilisation de petits organismes permettent de réduire les coûts associés à l'évaluation toxicologique. Une liste de ces tests applicables à l'évaluation des effets de toxicité aiguë et chronique et des effets de génotoxicité est proposée par BLAISE (1991) ; ces essais utilisent les bactéries, protozoaires, microalgues, invertébrés. Le développement de tests rapides d'évaluation de la toxicité chronique, appelés encore par l'EPA (1989), "short-term methods for estimating

chronic toxicity", ainsi que l'automatisation des tests de toxicité vont dans le sens d'une utilisation plus facile des essais de toxicité, pour le contrôle des rejets environnementaux.

L'utilisation des organismes -bactéries, algues, daphnies- nous a permis de réduire au maximum les contraintes expérimentales.

Les conditions d'élevage, la qualité du milieu de culture et/ou de la nourriture, l'intensité lumineuse, la température, sont autant de paramètres susceptibles de modifier les réponses des organismes. Afin de minimiser ces variations et de pouvoir comparer les données de toxicité entre différents laboratoires, il est nécessaire d'utiliser des conditions standardisées. Le choix d'organismes et de critères physiologiques dont les mécanismes sont suffisamment maîtrisés pour conduire à des réponses reproductibles est également souhaitable.

Dans nos expériences, d'importantes variations du taux de reproduction des daphnies ont été observées. Les taux de reproduction sur 28 jours pour les témoins sont compris entre 54 et 182 petits/daphnie, la moyenne étant égale à 114 ± 44 . Ces variations inter-essais militent pour la répétition des essais afin de définir une réponse moyenne, à défaut de connaître la ou les causes de cette variabilité et d'être en mesure d'y remédier. L'utilisation systématique ou régulière de substances toxiques de référence peut être utile car elle permettra de contrôler la sensibilité des organismes utilisés.

Les préoccupations des responsables chargés de la gestion de la qualité de l'environnement est l'évaluation des "niveaux de toxicité acceptables" pour l'environnement et la définition des priorités d'intervention en terme de contrôle des rejets toxiques.

- Une des préoccupations des responsables chargés de la gestion de la qualité de l'environnement est l'évaluation des "niveaux de toxicité acceptables" pour l'environnement et la définition des priorités d'intervention en terme de contrôle des rejets toxiques.

L'approche canadienne mérite réflexion. Cette approche s'intègre dans une importante politique de réduction des apports toxiques au niveau du fleuve St-Laurent. Un indice, le BEEP (Barème d'Effets Ecotoxiques Potentiels) (PEEP en anglais : Potential Ecotoxic Effects Probe) a été développé afin de comparer le potentiel toxique d'un ensemble de rejets industriels (COSTAN *et al.*, 1993).

L'indice BEEP s'établit à partir de la formule : $B = \log [1 + n (\sum T / N) Q]$ avec
 B = valeur du BEEP. Cette valeur varie en théorie entre 0 et l'infini. En pratique, elle prendra des valeurs comprises entre 0 et 10, c'est pourquoi les auteurs assimilent cet indice à une "échelle de Richter de l'écotoxicité" ; cet indice est d'autant plus élevé que le nombre de réponses positives enregistrées et leur degré de positivité sont importants,

n = nombre de tests montrant une (géo)toxicité,

N = nombre total de tests effectués, avant et après biodégradation,

ΣT = somme de toutes les réponses de toxicité exprimées en unités toxiques (équitox/m³) obtenues, avant et après biodégradation,

Q = débit de l'effluent en m³/h.

Cet indice tient compte :

- des effets de toxicité à court et à long terme et des effets de génotoxicité. Les tests mis en oeuvre sont : test Microtox, test 96h d'inhibition de la croissance de l'algue *Raphidocelis subcapitata*, test 7j de survie et de reproduction du microcrustacé *Ceriodaphnia dubia*, SOS chromotest (test de génotoxicité),
- du nombre d'organismes testés affectés par l'effluent,
- de la persistance de la toxicité, une partie des tests de toxicité étant repris à l'issue d'un essai de biodégradation,
- du débit de l'effluent.

La prise en compte du débit du rejet permet de compenser une dilution des effluents, souvent pratiquée, pour réduire leur toxicité. Cependant, il n'est pas certain, d'un point de vue environnemental, qu'un petit volume d'un rejet très toxique ait le même impact qu'un effluent peu toxique dont le débit est élevé.

Dans cet indice, une même importance est donnée à tous les critères de toxicité. Le test de génotoxicité participera très peu à l'indice BEEP. D'autre part, l'intégration de l'ensemble des résultats en un seul chiffre perd l'information apportée par les essais quant aux différentes formes de toxicité de l'échantillon : toxicité aiguë, chronique et/ou génotoxicité.

Un indice BEEP élevé caractérisera à coup sûr un effluent toxique à la fois à court et à long terme qui est indiscutablement préoccupant. Par contre, un indice BEEP de niveau moindre peut caractériser aussi bien un échantillon présentant des effets de toxicité aiguë qu'un échantillon uniquement toxique à long terme et/ou génotoxique. La stratégie de contrôle et de traitement adéquate ne pourra être instaurée que suite à une connaissance précise de la situation.

Un effluent qui induit des effets de toxicité à court terme sera le reflet d'une charge en micropolluants importante : cette charge polluante pourra être assez aisément détectée par l'analyse physico-chimique standard et être en majeure partie éliminée par des procédés de traitement classiques. Les essais de toxicité aiguë seront adéquats pour le contrôle des échantillons. La situation est différente dans le cas d'un effluent qui induirait des effets de toxicité à moyen ou à long terme sans présenter de toxicité aiguë. Ce type d'échantillon renferme des contaminants à concentration modérée sinon à l'état de traces. Le contrôle de la qualité de ces échantillons impliquera la mise en oeuvre d'essais de toxicité à moyen et à long terme : les essais de toxicité aiguë sont inutiles et inappropriés.

Tableau 28 : Application de l'indice BEEP à nos échantillons

Echantillon	Indice
A	0,43
B1	1,26
B2	2,12
C1	2,35
C2	1,87
D	1,44
E1	3,30
E2	1,43
F	2,20
G	5,27
H	0,90
I	1,24
J1	2,68
J2	3,06
K1	3,72
K2	2,95
L	0,39
JS	0,31
KS	0,48
T	2,90
BA	2,48
BB	2,34
BO	0
ET	0
R1	0,39
R2	1,35

C'est la raison pour laquelle nous voulons insister sur l'intérêt du profil toxicologique pour caractériser un échantillon. Il n'est pas plus difficile de gérer en parallèle les deux notions de toxicité à court et à long terme, qui sont plus instructives, qu'une seule valeur chiffrée dont l'explication fait défaut.

L'application de cet indice BEEP à nos résultats, en faisant abstraction du terme "débit", montre des indices semblables (tableau 28) pour des échantillons dont les profils toxicologiques et chimiques sont très différents ; c'est le cas de A (0,43) et R1 (0,39), D (1,44) et R2 (1,35), T (2,90) et K2 (2,95).

3 Application du contrôle toxicologique à la gestion des déchets

- Tous les déchets reconnus dangereux doivent faire l'objet, de la part des industriels, de procédures particulières de sécurité pour leur manipulation et leur élimination. La définition des "déchets dangereux" donnée dans la nouvelle directive parue en 1991 (91/689/CEE du 12 décembre 1991) repose sur 14 critères de danger parmi lesquels figure le critère H14 «écotoxique».

En ce qui concerne les résidus industriels solides, cette étude a montré qu'une fraction toxique non négligeable pouvait, en effet, être élue de certains résidus. Toutes les formes de toxicité, de la toxicité à court terme à la génotoxicité ont été observées. L'étude confirme également la difficulté, voire l'impossibilité, de prédire une toxicité à partir des données analytiques habituellement demandées pour le contrôle de la qualité des lixiviats.

C'est pourquoi, l'étude du caractère H14 «écotoxique» doit passer par la mise en place d'une batterie de tests de toxicité ; la toxicité aiguë et chronique ainsi que la génotoxicité doivent être évaluées. Le choix de tests de toxicité non redondants, faciles à réaliser et peu coûteux, à l'image de la batterie de tests mise en place dans cette étude, permettra de dresser un profil écotoxicologique complet de la totalité des déchets.

- Ces données de toxicité seront utiles pour les responsables des centres d'enfouissement technique qui connaîtront le risque associé aux déchets qu'ils acceptent.

La prévention de la pollution de l'environnement liée au stockage des déchets passe par une réduction de la charge écotoxique mobile présente dans les déchets. Le contrôle toxicologique pourrait par conséquent être utile au choix du meilleur traitement de

stabilisation c'est à dire celui permettant une réduction maximale de la toxicité de la fraction lixiviable.

Le traitement des poussières d'incinération à l'aide de ciment s'est révélé efficace. Aucune toxicité de la fraction lixiviable n'est observée à l'issue de cette étape de solidification/stabilisation. Nous n'avons pas de données quant à l'évolution de ce solidifiat. Un suivi dans le temps de l'évolution de tout nouveau produit d'inertage serait à envisager.

Toute réduction de toxicité de la fraction lixiviable pourrait s'accompagner d'avantages financiers se répercutant sur le prix de la tonne de déchets éliminés. L'ouverture de nouveaux sites de stockage pourrait aussi s'en trouver facilitée.

- A la différence d'une analyse physico-chimique, l'analyse toxicologique intègre les effets de la totalité des micropolluants présents. Les essais de toxicité apparaissent par conséquent intéressants à inclure dans la procédure de contrôle du déchet à l'entrée du site afin d'en vérifier la conformité, au même titre que ce qui est fait actuellement au moyen de quelques mesures analytiques.

Un test Microtox, facile à réaliser, peu coûteux et surtout rapide pour répondre à la contrainte "temps" imposée par cette procédure, a été proposé pour cette opération de contrôle. Une comparaison de la valeur CI50 obtenue lors de procédure de contrôle serait comparée à la valeur obtenue lors de la procédure d'acceptation du déchet. Une importante modification de la réponse justifierait un contrôle analytique plus poussé de la qualité du déchet livré.

Cette procédure Microtox ne permettra en aucun cas de définir le potentiel toxique réel de l'échantillon et ne donne qu'une information sur la toxicité à court terme de la fraction lixiviable. D'autre part, la présence d'une toxicité ne doit pas justifier le refus du déchet mais le respect des procédures visant à empêcher tout contact avec l'environnement.

- La mise en place d'un contrôle toxicologique de la qualité des eaux de surface et souterraines aux alentours des sites d'enfouissement sera à même de garantir la bonne efficacité de l'ensemble des systèmes de prévention mis en oeuvre et l'absence de toute pollution. Il est évident qu'à ce niveau, on ne retrouvera pas une pollution de l'ordre de celle présente dans les lixiviats de déchets ou les percolats de décharge non traités. Par contre, la présence de micropolluants à l'état de traces est plausible et les effets de toxicité à long terme devront être recherchés en particulier, pour être prévenus. L'analyse chimique exigée par la réglementation apparaît encore une fois bien peu "sécuritaire" compte tenu de la difficulté d'un bilan analytique à révéler un risque de pollution effectif, et ce d'autant plus que les concentrations des micropolluants seront faibles.

Tableau 29 : Nouvel arrêté de février 1994 concernant les normes de rejet des lixiviats dans l'environnement

"Les lixiviats ne peuvent être rejetés au milieu aquatique naturel qu'après prise en compte des objectifs de qualité du milieu naturel, lorsqu'ils sont définis, et s'ils respectent au moins les valeurs suivantes :

$5,5 < \text{pH} < 8,5$; 9,5 s'il y a neutralisation chimique

Hydrocarbures $< 10 \text{ mg/l}$ (norme NFT 90.203)

DCO $< 125 \text{ mg/l}$ (sur eau brute)

Phénols $< 0,1 \text{ mg/l}$

Métaux lourds totaux $< 15 \text{ mg/l}$ dont $\text{Cr}^{6+} < 0,1 \text{ mg/l}$

$\text{Cd} < 0,2 \text{ mg/l}$

$\text{Pb} < 0,5 \text{ mg/l}$

CN libres $< 0,1 \text{ mg/l}$

$\text{Hg} < 0,05 \text{ mg/l}$

$\text{As} < 0,1 \text{ mg/l}$

Fluorures $< 50 \text{ mg/l}$

D'autre part, les concentrations en polluants acceptées pour les rejets dans l'environnement peuvent apparaître, à l'examen des résultats obtenus dans cette étude, relativement laxistes. Un exemple pourrait être donné avec l'échantillon C1. En reprenant les normes de rejet définies dans le nouvel arrêté de février 1994 et présentées dans le tableau 29, un effluent présentant les propriétés de C1 serait admis à être éliminé tel quel dans l'environnement.

Les essais de toxicité en laboratoire présentent bien sûr des limites mais l'information qu'ils apportent est primordiale pour la gestion des risques environnementaux liés aux rejets des mélanges complexes issus des activités industrielles ou non.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Les centres d'enfouissement technique constituent le "maillon" final dans la grande chaîne de l'élimination des déchets industriels et urbains et sont de ce fait indispensables. Cependant, comme le soulignaient CASAGRANDE et LAURET en 1990 (France Déchets), il y a, compte tenu des quantités mises en jeu chaque année, un important pari écologique à gagner.

Le principal risque pour l'environnement est lié à l'entraînement potentiel par l'eau des polluants présents dans les résidus stockés. Leur dissémination dans le milieu naturel est susceptible de conduire à une altération de la santé des écosystèmes et de l'homme.

Dans ce travail, nous nous sommes focalisés sur l'étude de la mobilité et de la toxicité des micropolluants présents dans les déchets industriels admis en C.E.T. de classe I et plus spécifiquement de leur impact sur les organismes aquatiques.

Une batterie de cinq tests de toxicité a été utilisée :

- le test d'inhibition de la luminescence de la bactérie *Photobacterium phosphoreum* (test Microtox),
- les tests d'immobilisation (test 24 h) et de reproduction (test 28 j) du microcrustacé *Daphnia magna*,
- le test d'inhibition de la croissance de l'algue *Raphidocelis subcapitata*,
- le test de mutagénèse sur *Salmonella typhimurium* his⁻ (test d'Ames).

Ces tests ont été choisis pour leur complémentarité. Ils permettent d'évaluer toutes les formes de toxicité des échantillons : à court et à plus long terme ainsi que la génotoxicité, et de tester des organismes représentatifs des principaux niveaux trophiques des systèmes hydriques. Ces essais sont de plus assez faciles à réaliser et leur coût est raisonnable.

Les analyses physico-chimiques exigées par la réglementation pour le contrôle de la gestion des déchets ont été réalisées en parallèle.

La toxicité de la fraction lixiviable de 12 déchets de diverses origines a été testée. Parmi ces déchets figuraient 3 boues d'hydroxydes métalliques, 4 résidus de l'incinération, 2 résidus de peinture, 2 résidus de la métallurgie, 1 échantillon de terres contaminées par des PCBs. Les résultats ont montré que :

- une fraction toxique non négligeable pouvait être éluee de certains déchets,
- la toxicité pouvait s'exprimer aussi bien à court terme qu'à long terme. 2 boues d'hydroxydes métalliques, une boue de peinture et un des résidus de la métallurgie renfermaient notamment des substances génotoxiques,

- la toxicité n'était pas prédictible des résultats de l'analyse physico-chimique réalisée conformément à la réglementation.

Récemment, d'importants travaux de recherche ont été réalisés afin de réduire la charge polluante de la fraction lixiviable des déchets enfouis, et par là même, de faciliter la gestion des risques environnementaux. Nous nous sommes intéressés dans cette étude, à l'efficacité des procédés de solidification/stabilisation à base de ciment, à limiter le relargage des métaux présents en quantités importantes dans les résidus issus de l'épuration des fumées d'incinération des ordures ménagères. Deux résidus d'incinération ont été testés, avant et après inertage. Il apparaît, après solidification/stabilisation, une nette réduction de la toxicité des lixiviats produits. L'efficacité de ce processus d'inertage est confirmée par les résultats de l'analyse physico-chimique qui montre une réduction importante des concentrations en sels et en métaux relargués. Ces processus d'inertage des résidus d'incinération devraient être mis en place à l'échelle industrielle très prochainement.

Nous avons, dans un second temps, évalué la toxicité des percolats de la décharge. Dans ces eaux se trouve l'ensemble des polluants extraits des résidus enfouis. Comme on pouvait s'y attendre, ces eaux se montrent très chargées en micropolluants organiques et minéraux et sont excessivement toxiques vis à vis des organismes testés. Une génotoxicité est également mise en évidence. Si la toxicité de ces percolats n'atteint pas les niveaux de toxicité observés avec certains résidus, le soin qui sera apporté à leur confinement et à leur traitement est tout à fait justifié.

Nous avons, dans la dernière partie de cette étude, contrôlé la qualité des eaux de surface aux alentours du site d'enfouissement. Si aucune toxicité, à court comme à long terme n'a été détectée dans les eaux des deux étangs construits en amont et en aval du site, les eaux de ruissellement, transitant à travers le site, se sont révélées potentiellement toxiques, à long terme, vis à vis de la flore et de la faune du milieu aquatique. Ces eaux présentaient un caractère génotoxique. Des hydrocarbures en quantités relativement importantes ont été détectés et pourraient en partie expliquer la (géo)toxicité de ces eaux.

La construction d'un bassin de rétention de ces eaux est envisagée afin d'éviter leur rejet dans l'environnement. Ces eaux seront utilisées, avec les percolats du site, pour le conditionnement des cendres d'incinération.

Cette étude permet de mieux préciser l'intérêt respectif du contrôle analytique et du contrôle toxicologique pour juger de la qualité des milieux hydriques.

Une charge en polluants importante, dépassant notamment les normes réglementaires concernant les rejets environnementaux, sera synonyme de toxicité aiguë et chronique. Le contrôle toxicologique, dans le cas d'échantillons très contaminés, peut être considéré comme superflu.

Par contre, lorsque les niveaux de contamination détectés apparaissent peu élevés, le contrôle toxicologique est impératif pour juger de l'impact toxique potentiel de l'échantillon à court et à long terme ; les essais de toxicité à long terme s'imposeront d'autant plus que la teneur des contaminants est faible. Il est également important de souligner à nouveau l'incapacité des essais de toxicité aiguë à prédire des effets de toxicité à long terme : résumer un contrôle toxicologique à la réalisation d'essais de toxicité aiguë est susceptible de conduire à une erreur de jugement pouvant compromettre la qualité de l'environnement.

Dans tous les cas, il est très difficile de prédire l'intensité et la nature des effets toxiques des différents échantillons testés à partir des bilans analytiques. Cette absence de corrélation entre les analyses physico-chimiques et les résultats des analyses toxicologiques peut s'expliquer par le fait que l'analyse physico-chimique, telle qu'elle est réalisée, n'est ni exhaustive, ni fine, ni spécifique. D'autre part, elle ne révèle pas les multiples interactions entre les différents polluants modifiant la toxicité intrinsèque de chacun des éléments pris séparément.

La difficulté d'évaluer un risque toxique à partir d'une simple analyse physico-chimique remet en cause la proposition européenne pour la mise en décharge des déchets (1991) qui base le choix du site d'enfouissement pour déchets dangereux et non-dangereux sur une analyse chimique de la fraction lixiviable.

Les résultats de cette étude remettent également en cause le choix des seuils fixant les concentrations maximales autorisées pour le rejet des lixiviats dans l'environnement. En effet, il apparaît qu'à ces niveaux de concentrations, une (géo)toxicité non négligeable pouvait être mise en évidence.

La protection de l'environnement suite à l'enfouissement des déchets passe par l'amélioration des technologies au niveau :

- des centres d'enfouissement avec notamment l'utilisation des complexes géosynthétiques d'étanchéité-drainage,
- du traitement des déchets afin de réduire leur charge polluante extractible,
- du contrôle de la qualité des déchets stockés comme de la qualité des eaux de surface et souterraines aux alentours du site de stockage.

L'association de critères biologiques aux critères analytiques sera à même :

- (1) d'apporter une meilleure connaissance du potentiel toxique réel représenté par chacun des déchets et d'adapter leur gestion,
- (2) de choisir pour un déchet donné entre plusieurs procédés de traitement, celui qui permet pour un moindre coût, de réduire au maximum la toxicité de la fraction lixiviable,
- (3) de s'assurer de l'absence de toute pollution hydrique susceptible de compromettre l'équilibre des écosystèmes aux alentours du site.

Ces essais de toxicité constitueront la seule garantie évidente de l'efficacité des systèmes de prévention de la pollution mis en oeuvre. Ils pourront contribuer à rassurer l'opinion publique et améliorer le climat de méfiance quelquefois passionnel qui entoure la question des déchets.

La stratégie d'évaluation du risque toxique proposée dans cette étude est applicable à diverses situations, qu'elles concernent la gestion des déchets, le contrôle de la pollution liée à des friches industrielles et à des sols contaminés ou la gestion des rejets environnementaux en général.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AFNOR**, 1990. Eaux, méthodes d'essais. ISBN 2-12-179041-1 (4ème édition).
- AFNOR T 03351**, 1982. Détermination de l'activité mutagène vis-à-vis de *Salmonella typhimurium* (Test d'Ames).
- AFNOR T 90320**, 1991. Détermination de l'inhibition de la luminescence de *Photobacterium phosphoreum*.
- AFNOR T 90325**, 1987. Détection en milieu aquatique de la génotoxicité d'une substance vis-à-vis de batraciens, *Pleurodeles waltl* et *Ambystoma mexicanum* : essai des micronoyaux.
- AFNOR X 31210**, 1992. Essai de lixiviation des résidus solides.
- Agence de bassin Rhône-Méditerranée-Corse**, 1987. Méthodes d'évaluation de la pollution contenue dans les déchets. 85 p.
- AMES B.N., McCANN J. et YAMASAKI E.**, 1975. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella* mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutation Res.*, 31, 347-364.
- ANRED**, 1991. Les déchets en France, les chiffres clés. 27 p.
- ATWATER J.W., JASPER S., MAVINIC D.S. et KOCH F.A.**, 1983. Experiments using *Daphnia* to measure landfill leachate toxicity. *Water Res.*, 12, 1855-1861.
- BABICH H. et STOTZKY G.**, 1983. Physicochemical factors of natural reservoirs affect the transformation and exchange of heavy metals toxic to microbes. *Environ. Biogeochem. Ecol. Bull.*, 35, 315-323.
- BAIRD D.J., BARBER I., BRADLEY M., CALOW P. et SOARES A.M.V.M.**, 1989. The *Daphnia* bioassay : a critique. *Hydrobiologia*, 188/189, 403-406.
- BATCHELOR B.**, 1992. A numerical leaching model for solidified/stabilized wastes. *Water Sci. Tech.*, 26, 107-115.
- BERNHARD C., GOUSSE F. et MATICHARD Y.**, 1993. Utilisation des sols argileux : propriétés, mise en oeuvre, contrôles. Dans : Actes du symposium international sur la géologie et le confinement des déchets toxiques, vol.1., 141-146. GEOCONFINE, Montpellier (France), 8-11 juin.
- BESSI H., FERARD J.F., VASSEUR P., COLIN F. et BELKHADIR E.**, 1992. Genotoxicity of hazardous leachates from solid wastes evaluated for environmental impact with the Ames test. *Environ. Toxicol. Water Qual.*, 7, 71-86.
- BITTON G. et DUTKA B.J.**, 1986. Introduction and review of microbial and biochemical toxicity screening procedures. Dans : Toxicity testing using microorganisms, vol. 2, DUTKA B.J. et BITTON G. (Eds.), CRC Press, Floride, 1-8.

- BLAISE C., LEGAULT R., BERMINGHAM N., VAN COILLIE R. et VASSEUR P.**, 1986. A simple microplate algal assay technique for aquatic toxicity assessment. *Toxicity Assess.*, 1, 261-281.
- BLAISE C.**, 1991. Microbiotests in aquatic ecotoxicology : characteristics, utility and prospects. *Environ. Toxicol. Water Qual.*, 6, 145-155.
- BOUCHELACHEM A., COJAN J.Y., EVERS G. et BOTTERO J.Y.**, 1992. Solidification/Stabilisation des déchets industriels spéciaux. Application aux REFIOM. *T.S.M.*, 87, 471-476.
- BOURG A.**, 1983. Modélisation du comportement des métaux traces à l'interface solide-liquide dans les systèmes aquatiques. Documents du B.R.G.M., n° 62, 171 p.
- BRIGHENTI G. et MACINI P.**, 1993. Effective permeability of clayey soils to liquid pollutants. Dans : Actes du symposium international sur la géologie et le confinement des déchets toxiques, vol.1., 15-20. GEOCONFINE, Montpellier (France), 8-11 juin.
- BRUNNER P.H. et MÖNCH H.**, 1986. The flux of metals through municipal solid waste incinerators. *Waste Manag. Res.*, 4, 105-119.
- BULICH A.A.**, 1979. Use of luminescent bacteria for determining toxicity. Dans : Aquatic toxicology, EATON H.G, PARISH P.R. et HENDRICKS A.C. (Eds.), American Society for Testing and Materials, Philadelphia, ASTM STP 667, 171-180.
- BULICH A.A.**, 1982. A practical and reliable method for monitoring the toxicity of aquatic samples. *Process Biochemistry*, 45-47.
- CAIRNS J.**, 1983. Are single species toxicity tests alone adequate for estimating environmental hazard ?. *Hydrobiologia*, 100, 47-57.
- CAIRNS J.**, 1986. The myth of the most sensitive species. *BioScience*, 36, 670-672.
- CAIRNS J. et NIEDERLEHNER B.R.**, 1990. Biological monitoring of hazardous waste sites. *Comments Toxicol.*, 6, 493-508.
- CALAMARI D., CHIAUDANI G. et VIGHI M.**, 1985. Methods for measuring the effects of chemicals on aquatic plants. Dans : Methods for estimating risk of chemical injury : human and non-human biota and ecosystem, Scope 26, VOUK B., BUTLER G.C., HOEL D.G. et PEACOL D.B. (Eds.), John Wiley & Sons, New York, 549-571.
- CAMERON R.D.**, 1978. The effect of solid waste landfill leachates on receiving waters. *J. Amer. Water Works Assoc.*, 173-176.
- CAMERON R.D. et KOCH F.A.**, 1980. Toxicity of landfill leachates. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 52, 760-769.
- CASAGRANDE L. et LAURET J.M.**, 1990. Une nouvelle conception de l'enfouissement des déchets industriels. Dans : 9ème Journées Information Eaux, Poitiers (France), 26-28 septembre, 8-1 - 8-14 (tome 1).

- CASAGRANDE L., LAURET J.M. et RAFFIN P.**, 1992. Nouveaux concepts de l'enfouissement sécuritaire des déchets de traitement d'effluents : les centres de stockage de déchets ultimes. Dans : 10ème Journées Information Eaux, Poitiers (France), 23-25 septembre, 30-1 - 30-11 (tome 2).
- CERNUSCHI S., GIUGLIANO M. et DE PAOLI I.**, 1990. Leaching of residues from MSW incineration. *Waste Manag. Res.*, **8**, 419-427.
- CHAPLIN D.I.**, 1991. Acute toxic and long-term reproduction effects of the inorganic salts : CaCl_2 , CaSO_4 , KCl , K_2SO_4 , Na_2SO_4 on *Daphnia magna*. Mémoire de maîtrise : Ecotoxicology and Pollution Monitoring, Luton College (Angleterre), 23 p.
- CLEMENT B. et BOUVET Y.**, 1993. Assessment of landfill leachate toxicity using the duckweed *Lemna minor*. *Sci. Total Environm.*, supplement part 2 : Proceedings of the 2nd European Conference on Ecotoxicology - Recent advances on ecotoxicology, Amsterdam (Hollande), 11-15 may, 1179-1190.
- CLEMENT B., DELOLME C., WINIARSKI T. et BOUVET Y.**, 1993. The risks associated with the contamination by landfill leachates of fresh water ecosystems - A review. Dans : Proceedings of the fourth international landfill symposium, vol. 2, 1155-1166. SARDINIA 93, S. Margherita di Pula (Italie), 11-15 octobre.
- CONNOLLY K.**, 1991. The use of the simple microplate algal bioassay technique in the aquatic toxicity assessment of chloride and sulphate anions. Mémoire de maîtrise : Ecotoxicology and Pollution Monitoring, Luton College (Angleterre), 36 p.
- COSSU C.**, 1991. Toxicité de micropolluants minéraux et organiques sur l'algue *Selenastrum capricornutum*. Mémoire de maîtrise : Mesures et Contrôles en Chimie Biochimie, Biologie, Université de Metz, 33 p.
- COSTAN G., BERMINGHAM N., BLAISE C. et FERARD J.F.**, 1993. Potential Ecotoxic Effects Probe (PEEP) : a novel index to assess and compare the toxic potential of industrial effluents. *Environ. Toxicol. Water Qual.*, **8**, 115-140.
- COTELLE S.**, 1993. Utilisation d'algues cryopréservées au sein du test *Daphnia magna*. Mémoire de D.E.A. : Toxicologie de l'Environnement, Université de Metz, 74 p.
- COWGILL U.M., HOPKINS D.L., APPEGATH S.L., TAKAHASHI I.T., BROOKS S.D. et MILAZZO D.P.**, 1985. Brood size and neonate weight of *Daphnia magna* produced by nine diets. Dans : Aquatic toxicology and hazard assessment, BAHNER R.C. et HANSEN D.J. (Eds.), 8th Symposium, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, ASTM STP 891, 233-244.
- DEMARINI D.M., PLEWA M.J. et BROCKMAN H.E.**, 1982. Use of four short-term tests to evaluate the mutagenicity of municipal water. *J. Toxicol. Environ. Health*, **9**, 127-140.

- DEMARINI D.M., WILLIAMS R.W., BROOKS L.R. et TAYLOR M.S.**, 1992. Use of cyanopropyl-bonded HPLC column for bioassay-directed fractionation of organic extracts from incinerator emissions. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **48**, 187-199.
- DENEUVY J.P.**, 1987. Les lixiviats de décharge : approche méthodologique de leur toxicité aiguë en fonction de différents modes de traitement. Thèse de doctorat, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon (Laboratoire de Chimie Physique Appliquée et Environnement) et Ecole Nationale des Travaux Publics de l'Etat de Vaulx-en-Velin, 339 p.
- DERVIN C.**, 1988. Comment interpréter les résultats d'une analyse factorielle des correspondances ? Institut Technique des Céréales et des Fourrages, Service des études statistiques, Paris, 75 p.
- DUVAL D.**, 1992. Intérêt d'un test Microtox en procédure de contrôle pour la mise en C.E.T. de classe 1 des déchets industriels solides. Mémoire de maîtrise : Mesures et Contrôles en Chimie Biochimie, Biologie, Université de Metz, 28 p.
- ELENDT B.P. et BIAS W.R.**, 1990. Trace nutrient deficiency in *Daphnia magna* cultured in standard medium for toxicity testing. Effects of the optimization of culture conditions on life history parameters of *D. magna*. *Water Res.*, **24**, 1157-1167.
- ENSERINK L., LUTTMER W. et MAAS-DIEPEVEEN H.**, 1990. Reproductive strategy of *Daphnia magna* affects the sensitivity of its progeny in acute toxicity tests. *Aquatic Toxicol.*, **17**, 15-26.
- EPA**, 1989. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms. 2nd edition, U.S. Environmental Protection Agency, Environmental monitoring systems laboratory, EPA/600/4-89/014.
- EPA**, 1991. Technical support document for water quality-based toxics control. U.S. Environmental Protection Agency, Office of water, EPA/505/2-90/001.
- ESCOFIER B. et PAGES J.**, 1990. Analyses factorielles simples et multiples : objectifs, méthodes et interprétation. 2ème édition, DUNOD-BORDAS, Paris, 269 p.
- FERARD J.F., VASSEUR P., DANOUX L. et LARBAIGT G.**, 1983. Application d'un test d'inhibition de luminescence bactérienne à l'étude toxicologique d'effluents complexes et de substances chimiques. *Rev. Franç. Sci. Eau*, **2**, 221-237.
- FERARD J.F., COSTAN G., BERMINGHAM N. et BLAISE C.**, 1992. Comparative assessment of effluents with the *Ceriodaphnia dubia* and *Selenastrum capricornutum* chronic toxicity tests. Meeting of SETAC-Europe "Bio-remediation-Toxicology-Environmental-Fate-Ecology", Postdam (Allemagne), 22-24 juin.
- FERRARI B.**, 1993. Essais de la fréquence des apports nutritionnels sur la reproduction de *Ceriodaphnia dubia*. Mémoire de D.E.A. : Toxicologie de l'Environnement, Université de Metz, 42 p.

- FÖRSTNER U. et WITTMANN G.T.W.**, 1981. Metal pollution in the aquatic environment. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2nd revised method, 486 p.
- FÖRSTNER U., KERSTEN M. et WIENBERG R.**, 1988. Geochemical processes in landfills. Dans : The landfill. Reactor and final storage. Swiss workshop on land disposal of solid wastes. Gernzensee, 14-17 mars. NR20 dans Lecture notes in Earth Sciences, BACCINI P. (Ed.), Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 39-81.
- FRANCIS C.W. et WHITE G.H.**, 1987. Leaching of toxic metals from incinerator ashes. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 59, 979-986.
- GARRIC J., VINDIMIAN E. et VOLLAT B.**, 1987. Etudes des effets létaux et sublétaux provoqués par les effluents industriels sur *Daphnia magna*. Rapport CEMAGREF, Laboratoire d'Ecotoxicologie, Lyon (France), 43 p.
- GISBERT T.**, 1992. Applications des matériaux géosynthétiques à l'aménagement des centres d'enfouissement technique de déchets industriels (C.E.T. de classe I) : utilisations à ce jour et perspectives. CEIFICI, Journées d'études n°370, 17-18 juillet.
- GODET F.**, 1993. Performances des tests d'Ames et micronoyaux triton appliqués à l'étude de la génotoxicité d'effluents complexes et des interactions entre polluants. Thèse de doctorat, Université de Metz, fascicule 1, 64 p.
- GODET F., VASSEUR P. et BABUT M.**, 1993. Essais de génotoxicité *in vitro* et *in vivo* applicables à l'environnement hydrique. *Revue Sci. Eau*, 6, 285-314.
- GROSSE D.W.**, 1989. Review of treatment for metal hazardous wastestreams. Dans : Library of Environmental Science, vol. 3, CHEREMISINOFF P.N. (Ed.), Gulf Publishers Hasbrouch Heights, New Jersey.
- HEM J.D.**, 1972. Chemistry and occurrence of cadmium and zinc in surface water and groundwater. *Water Resources Res.*, 8, 661-679.
- HINWOOD A.L. et McCORMICK M.J.**, 1987. The effect of ionic solutes on EC50 values measured using the Microtox test. *Toxicity Assess.*, 2, 449-461.
- HOEKSTRA J.A. et VAN EWIJK P.H.**, 1993. Alternatives for the No-Observed-Effect-Level. *Environ. Toxicol. Chem.*, 12, 187-194.
- HUANG C.P., ELLIOTT H.A. et ASHMEAD R.M.**, 1977. Interfacial reactions and the fate of heavy metals in soil-water systems. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 745-756.
- IRH**, 1988. Recherche écotoxicologique sur les lixiviats de déchets et percolats de décharge. Compte-rendu de fin de contrat, RH 88-65, 65 p.
- IRH**, 1989. Caractérisation écotoxicologique des déchets industriels. Etat d'avancement des travaux au bout de 12 mois, RH 89-93, 30 p.

ISO 6341, 1989. Qualité de l'eau.-Détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* Straus (*Cladocera*, *Crustacea*).

JEAN G., 1991. Evaluation de la toxicité aiguë de solutions synthétiques et d'effluents à partir d'un multi-test macroinvertébrés : le M.T.M.. Comparaison des réponses des macroinvertébrés avec celles de *P. phosphoreum*, *Daphnia magna* et *Brachydanio rerio*. Thèse de doctorat, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon (Laboratoire de Chimie Physique Appliquée et Environnement), 213 p.

JOLLEY R.L. et SUFFET I.H., 1987. Concentration techniques for isolating organic constituents in environmental water samples. Dans : Organic pollutants in water, 3-13.

KAISER K.L.E. et PALABRICA V.S., 1991. *Photobacterium phosphoreum* toxicity data index. *Water Poll. Res. J. Canada*, 26, 361-431.

LAMBOLEZ L., FERARD J.F., VASSEUR P. et GISBERT T., 1994. The environmental risks of industrial waste disposal : an experimental approach including acute and chronic toxicity studies. Acceptée pour publication dans *Ecotoxicol. Environ. Safety*.

LEVIN D.E., HOLLSTEIN M., CHRISTMAN M.F., SCHWIERS E.A. et AMES B.N., 1982. A new *Salmonella* tester strain (TA102) with A-T base pairs at the site of mutation detects oxidative mutagens. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 79, 7445-7449.

LIPPINCOTT R.L., IBRAHIM E.A., LOUIS J.B., ATHERHOLT T.B. et SUFFET I.H., 1990. Continuous liquid-liquid extraction for the preparation of chlorinated water samples for the Ames bioassay. *Water Res.*, 24, 709-716.

MARON D.M. et AMES B.N., 1983. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Res.*, 113, 173-215.

McBRIDE J.R., DONALDSON E.M. et DERKSEN G., 1979. Toxicity of landfill leachates to underyearling rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Bull. Environ. Contam.Toxicol.*, 23, 806-813.

METTELET C., 1989. Production, traitement, recyclage et transferts transfrontaliers de déchets dangereux dans la communauté européenne. STOA Workshop "Hazardous waste management beyond 1992", Bruxelles (Belgique), 25-26 avril.

MEZZANOTTE V., SORA S., VIGANO L. et VISMARA R., 1988. Using bioassays to evaluate the toxic and mutagenic properties of landfill leachate. Dans : ISWA Proceedings, vol.1, 131-136.

MILLER W.E., GREENE J.C. et SHIROYAMA T., 1978. The *Selenastrum capricornutum*, Printz, algal assay bottle test : experimental design, application and data

interpretation protocol. EPA-600/9-78-018, U.S. Environmental Protection Agency, Corvallis, 126p.

MILLOT N., 1986. Les lixiviats de décharge contrôlée. Caractérisation analytique, étude des filières de traitement. Thèse de Doctorat, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon (Laboratoire de Chimie Appliquée et Environnement), 180 p.

MILLOT N. et GRANET C., 1989. Les lixiviats de décharge contrôlée. Les cahiers techniques de France Déchets, n°1.

MONTGOMERY D.M., SOLLARS C.J., PERRY R., TARLING S.E., BARNES P. et HENDERSON E., 1992. Treatment of organic-contaminated industrial wastes using cement-based stabilization/solidification - I. Microstructural analysis of cement-organic interactions. *Waste Manag. Res.*, 9, 103-111.

NAUDIN S., 1992. Toxicité chronique d'un effluent industriel : influence du mode de conditionnement des échantillons, utilisation de trois bioessais comparatifs. Mémoire de DEA : Toxicologie de l'Environnement, Université de Metz, 62 p.

NAYLOR C., BRADLEY M.C. et CALOW P., 1992. Effect of algal ration - quality and method of quantification - on growth and reproduction of *Daphnia magna*. *Arch. Hydrobiol.*, 125, 311-321.

NEUFELD R.D. et WALLACH S., 1984. Chemical and toxicity analysis of leachates from coal conversion solid wastes. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 56, 266-273.

NYGAARD G., KOMAREK T., KRISTIANSEN J. et SKULBERG O.M., 1986. Taxonomic designation of the bioassay alga NIVA-Chl1 (*Selenastrum capricornutum*) and some related strains. *Opera Botanica*, 90, 1-46.

OCDE 201, 1984. Algues, essai d'inhibition de la croissance.

OCDE 202, 1984. *Daphnia* sp., essai d'immobilisation immédiate (partie I) et essai de reproduction sur 14 jours (partie II).

Projet de norme OCDE 202 partie II, 1993. *Daphnia*, reproduction test.

OLIE K., LUSTENHOUWER J.W.A. et HUTZINGER O., 1982. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and related compounds in incinerator effluents. Dans : Chlorinated dioxins and related compounds : impact on the environment, HUTZINGER O., FREI R.W., MERIAN E. et POCCHIARI F. (Eds.), Pergamon Press, Oxford, 227.

ÖMAN C., 1993. Sorption of organic compounds to waste : description of methodology. Dans : Proceedings of the fourth international landfill symposium, vol. 2, 1081-1086. SARDINIA 93, S. Margherita di Pula (Italie), 11-15 octobre.

OMURA M., INAMASU T. et ISHINISHI N., 1991. Mutagenicity assays of leachate from domestic waste landfills in Japan : the establishment of a protocol for measuring mutagenicity levels of leachate. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 46, 561-568.

OMURA M., INAMASU T. et ISHINISHI N., 1992. Mutagenic activity of the leachate of municipal solid waste landfill. *Mutation Res.*, 298, 125-129.

PERRODIN Y., 1988. Proposition méthodologique pour l'évaluation de l'écotoxicité des effluents aqueux : mise au point d'un Multi-Test Macroinvertébrés, application aux lixiviats de décharge et à leur composants caractéristiques. Thèse de doctorat, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon (Laboratoire de Chimie Physique Appliquée et Environnement), 131 p.

PERSOONE G. et GILLET J., 1990. Toxicological versus ecotoxicological testing. Dans : Short-term toxicity tests for non-genotoxic effects, Scope 41, BOURDEAU P., SOMERS E., RICHARDSON G.M. et HICKMAN J.R., John Wiley & Sons, New York, 287-299.

PHILIPPEAU G., 1986. Comment interpréter les résultats d'une analyse en composantes principales ? Institut Technique des Céréales et des Fourrages, Service des études statistiques, Paris, 63 p.

PICKERING W.F., 1980. Cadmium retention by clays and other soil or sediment components. Dans : Cadmium in the environment. Part I : Ecological cycling, NRIAGU J.O. (Ed.), John Wiley & Sons, New York, 365-397.

PLOTKIN S. et RAM N.M., 1984. Multiple bioassays to assess the toxicity of a sanitary landfill leachate. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 13, 197-206.

POITEVIN L., 1992. La maîtrise des déchets : le défi de la décennie. Dans : 10ème Journées Information Eaux, Poitiers (France), 23-25 septembre, 29-1 - 29-16 (tome 2).

PREIN A.E., THIE G.M., ALINK G.M. et KOEMAN J.H., 1978. Cytogenetic changes in fish exposed to water of the river Rhine. *Sci. Total Environ.*, 9, 287-291.

RAMDAHL T. et BECHER G., 1982. Characterization of polynuclear aromatic hydrocarbon derivatives in emissions from wood and cereal straw combustion. *Analytica Chimica Acta*, 144, 83-91.

REVIN P., 1984. Proposition méthodologique pour l'étude de la mise en décharge des déchets industriels. Thèse de 3ème cycle, Université de Savoie (Faculté des Sciences et Techniques de Chambéry), 314 p.

RIBO J.M. et KAISER K.L.E., 1987. *Photobacterium phosphoreum* toxicity bioassay. I. Test procedures and applications. *Toxicity Assess.*, 2, 305-323.

ROBERT C., 1989. Analyse descriptive multivariée : application à l'intelligence artificielle. Flammarion Médecine-Sciences, Paris, 209 p.

SALOMONS W., 1980. Adsorption processes and hydrodynamic conditions in estuaries. *Environ. Technol. Lett.*, 1, 356-365.

- SALOMONS W. et FÖRSTNER U.**, 1984. Metals in the hydrocycle. Springer-Verlag, Berlin, 349 p.
- SAWHNEY B.L. et FRINK C.R.**, 1991. Heavy metals and their leachability in incinerator ash. *Water Air Soil Pollut.*, 57-58, 289-296.
- SCHINDLER P.W.**, 1981. Surface complexes at oxide-water interface. Dans : Adsorption of inorganics at solid-liquid interfaces, ANDERSON M.A. et RUBIN A.J. (Eds.), Ann Arbor Science Publication, 1-49.
- SHANE B.S., HENRY C.B., HOTCHKISS J.H., KLAUSNER K.A., GUTENMANN W.H. et LISK D.J.**, 1990. Organic toxicants and mutagens in ashes from eighteen municipal refuse incinerators. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 19, 665-673.
- SHANE B.S., GUTENMANN W.H. et LISK D.J.**, 1993. Variability over time in the mutagenicity of ashes from municipal solid-waste incinerators. *Mutation Res.*, 301, 39-43.
- SILKOWSKI M.A., SMITH S.R. et PLEWA M.J.**, 1992. Analysis of the genotoxicity of municipal solid waste incinerator ash. *Sci. Total Environ.*, 111, 109-124.
- SOYEZ B.**, 1993. Amélioration du confinement par géomatériaux. Dans : Actes du symposium international sur la géologie et le confinement des déchets toxiques, vol.2., p. 727. GEOCONFINE 93, Montpellier (France), 8-11 juin.
- ST-LAURENT D., BLAISE C., McQUARRIE P., SCROGGINS R. et TROTTIER B.**, 1992. Comparative assessment of herbicide phytotoxicity to *Selenastrum capricornutum* using microplate and flask bioassay procedures. *Environ. Toxicol. Water Qual.*, 7, 35-48.
- TEIXEIRA E.C., SAMAMA J. et BRUN A.**, 1992. Study of different leaching methods of metallic elements from coal fly ash. *Environ. Technol.*, 13, 1187-1192.
- THELLEN C., BLAISE C., ROY Y. et HICKEY C.**, 1989. Round robin testing with the *Selenastrum capricornutum* microplate toxicity assay. *Hydrobiologia*, 188/189, 259-268.
- VAN DER GAAG M.A., GAUTHIER L., NOORDSIJ A., LEVY Y. et WRISBERG M.N.**, 1990. Methods to measure genotoxins in wastewater : evaluation with *in vivo* and *in vitro* tests. Dans : Genetic toxicology of complex mixtures VI, WATERS M.D. (Ed.), Plenum Press, New York.
- VAN DER SLOOT H.A. et CÔTE P.**, 1989. Modelling chemical interactions at a waste/waste interface. Rapport ECN-89-184 (Restricted distribution).

- VAN DER SLOOT H.A., DE GROOT G.J. et WIJKSTRA J., 1989. Leaching characteristics of construction materials and stabilization products containing waste materials. Dans : Environmental aspects of stabilization and solidification of hazardous and radioactive wastes, CÔTE P. et GILLIAM T.M. (Eds.), American Society for Testing and Materials, ASTM STP 1033, Philadelphia, 125-149.
- VASSEUR P., FERARD J.F., RAST C. et WEINGERTNER P., 1986(a). Le test Microtox et le contrôle de la qualité des eaux. *J. Franç. Hydrobiol.*, 17, 153-162.
- VASSEUR P., BOIS F., FERARD J.F., RAST C. et LARBAIGT G., 1986(b). Influence of physicochemical parameters on the Microtox test response. *Toxicity Assess.*, 1, 283-300.
- VASSEUR P. et FERARD J.F., 1992. Evaluation de la toxicité des effluents industriels. Dans : Devenir des effluents industriels dans l'environnement, Carrefour Scientifique et Technique, H2.O 91, 73-75.
- VIGERS G.A. et ELLIS B.M., 1977. Assessment of the toxicity of landfill leachates by the residual oxygen bioassay. Dans : Proceeding of the Third Aquatic Toxicology Workshop, Halifax (Canada), 2-3 nov., 87-106.
- VOGEL T.M. et MCCARTHY P.L., 1985. Biotransformation of tetrachloroethylene, dichloroethylene, vinyl chloride and carbon dioxide under methanogenic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49, 1080-1083.
- VOICE T.C. et WEBER W.J., 1983. Sorption of hydrophobic compounds by sediments, soils and suspended solids-I. Theory and background. *Water Res.*, 17, 1433-1441.
- WALSH G.E., DUKE K.M. et FOSTER R.B., 1982. Algae and crustaceans as indicators of biactivity of industrial wastes. *Water Res.*, 16, 879-883.
- WALSH G.E. et MERRILL R.G., 1984. Algal bioassays of industrial and energy process effluents. Dans : Algae as ecological indicators, SHUBERT L.E. (Ed.), Academic Press, Londres, 329-360.
- WARIGH M.A. et YONG R.N., 1991. Landfill leachate attenuation by clay soil. *Hazard. Waste Hazard. Mat.*, 8, 127-141.
- WONG M.H., 1989. Toxicity test of landfill leachate using *Sarotherodon mossambicus* (freshwater fish). *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 17, 149-156.
- ZEIGER E., HASEMAN J.K., SHELBY M.D., MARGOLIN B.H. et TENNANT R.W., 1990. Evaluation of four *in vitro* genetic toxicity tests for predicting rodent carcinogenicity : confirmation of earlier results with 41 additional chemicals. *Environ. Molecular Mutagen.*, 16, 1-14.

ANNEXES

ANNEXE 1

NOMENCLATURE NATIONALE DES DÉCHETS

ANNEXE 2

CERTIFICAT D'ACCEPTATION

**FICHE DE RENSEIGNEMENTS POUR L'ADMISSION DE DECHETS EN
C.E.T. DE CLASSE I**



FRANCE-DECHETS
Avenue Jean-Jaurès
B.P. 29
78440 Gargenville
Tél. (1) 30 98 11 11

FICHE D'ANALYSE N°

Laboratoire de :
Centre d'enfouissement technique de :
Date d'arrivée de l'échantillon :
Date de fin d'analyse :

Producteur :	Tonnage :
Aspect physique de l'échantillon : (couleur, odeur...)	Code du déchet : Nature du déchet :

ANALYSE PHYSICO-CHIMIQUE DU LIXIVIAT résultant de l'agitation de 100 g de déchets (aussi finement broyé que possible) dans 1 litre d'eau déminéralisée pendant 16 h - Filtration puis analyse.

	Lix. I	Lix. II	Lix. 10 mn	Anions	Lix. I (mg/kg)	Lix. II (mg/kg)	Lix. 10 mn (mg/kg)	Cations	Lix. I (mg/kg)	Lix. II (mg/kg)	Lix. 10 mn (mg/kg)
Odeur				---				---			
Couleur				---				---			
pH à 20° C				---				---			
Résistivité (Ω.cm)				---				---			
Minéralisation (mg/kg)				---				---			
DCO (mg/kg)				---				---			
Analyses sur déchet brut				---				---			
Siccité (%) 2H à 103°C				---				---			
Hydrocarbures (%)				---				---			

Traitements annexes / remarques :

Consignes d'exploitation :

Fait à , le

Le chimiste,

☐ ACCORD ☐ REFUS Date : Le Chef du service Chimie des déchets :	RÉSERVES
---	----------



France Déchets

CENTRES D'ENFOUISSEMENT TECHNIQUE . TRAITEMENTS . VALORISATION

Siège social : Avenue Jean-Jaurès - 78440 GARGENVILLE

Adresse Postale : B.P. 29 - 78440 GARGENVILLE

Tél. : 16 (1) 30.98.11.11 - Fax : (1) 34.79.65.22 - Télex : 698 106

- ☐ VILLEPARISIS (77)
☐ MENNEVILLE (62)
☐ JEANDELAINCOURT (54)
☐ PONTAILLER (21)
☐ BELLEGARDE (30)

SITE DE :

N° DOSSIER _____

(usage interne)

PRODUCTEUR DU DÉCHET

RAISON SOCIALE : _____

Usine de : _____

Adresse exacte : _____

Code postal : _____

Commune : _____

Téléphone : _____

N° SIRET (14 chiffres) : _____

Télécopie : _____

(à remplir impérativement)

Télex : _____

Nom du responsable du résidu : _____

Personne à contacter en cas de problème : _____

CLIENT FACTURE/RAISON SOCIALE : _____

(si différent du producteur)

Adresse exacte : _____

Code postal : _____

Commune : _____

Tél. : _____

IDENTIFICATION DU DÉCHET

1. Désignation du résidu : _____

2. Code nomenclature : C . . . A . . .

3. Appellation usine : _____

4. Activité principale de l'établissement : _____

5. Origine du déchet et traitement subi : _____

6. Etat physique du déchet à 30°C :

☐ SOLIDE

☐ blocs

☐ granulés

☐ pulvérulent

☐ BOUES

☐ pâteux

☐ pelletable

ODEUR :

☐ à peine

perceptible

☐ perceptible mais

supportable

☐ très forte et/ou

nauséabonde

COULEUR : _____

DENSITÉ

APPARENTE :

TENEUR EN EAU (%) :

(sur résidu monophasique)

SOLUBILITÉ (G KG) :

(dans eau froide)

7. Nature chimique du déchet

Dénomination physique des différents composants (1)	Formule chimique brute	Concentration connue (%)	
		mini	maxi
1			
2			
3			
4			
5			

(1) Pour les emballages souillés, indiquer : leur nature, leur volume, leur nombre ou leur tonnage, la nature des produits résiduels et joindre les fiches sécurité des produits. Préciser si ces emballages sont ou non compactés.

ECHANTILLONNAGE EN VUE DE L'ANALYSE

Un échantillon d'environ 1 à 1.5 kg devra être prélevé pour analyse. Il sera constitué conformément à la norme AFNOR X 31.210 et conditionné dans un flacon plastique étanche (PE). Pour les résidus à caractère organique, prévoir un bocal en pyrex. Il sera envoyé pour analyse sur le C.E.T. retenu accompagné de cette fiche de renseignements.

Date de prélèvement : _____

Prélèvement effectué sur : ☐ chaîne de production ou ☐ stock (indiquer le volume du stock) : _____

Nombre de prélèvements pour constituer l'échantillon : _____

Exemplaires à répartir à : 1) Au producteur. 2) Siège social. 3) CET. 4) SCORI.

Le déchet est-il susceptible de contenir les substances suivantes :

Substances	OUI	NON	Sous quelle forme chimique (minérale, organique, à détailler)	Concentration connue (%)	
				mini	maxi
Cyanures Mercure Arsenic Vanadium Sélénium Chrome Solvants (préciser lesquels) PCB / PCT					

HYGIÈNE - SÉCURITÉ

Les informations qui vous sont demandées ci-dessous peuvent être obtenues auprès du fournisseur de produits chimiques industriels, en vertu du décret n° 87200 du 25.03.1987, qui lui fait obligation de fournir toutes les données concernant la protection de l'environnement, notamment les fiches de sécurité ou fiches techniques.

1. Risques pour l'homme :

irritant
pour :

- ☐ voies respiratoires
☐ yeux
☐ peau

nocif et
toxique
par

- ☐ ingestion
☐ inhalation
☐ voie percutanée

2. Réactions dangereuses en présence de (souligner le cas retenu) :

eau, chaleur, air : produit pyrogénique, risque d'inflammation s'accompagnant de vapeurs nocives (préciser lesquelles) :

QUANTITÉS - STOCKAGE - CONDITIONNEMENT

1. Tonnages à traiter

- ☐ résorption d'un stock
detonnes

Rythme d'enlèvement prévu :

Date prévisible de la 1^{re} livraison :

- ☐ production annuelle de tonnes
☐ production mensuelle de tonnes
☐ production hebdomadaire de tonnes

2. Conditionnement à la livraison

- ☐ vrac benne
☐ sacs ou big-bags de litres
☐ bidons de litres

- ☐ fûts à ouverture totale
(Préciser le type de fermeture) { ☐ palettisés
☐ non palettisés

3. Stockage sur le lieu de production du déchet

Le stockage se fait-il : ☐ sans couverture
(air libre)

☐ avec couverture (hangar, couvercles, bâchage de bennes...)
(sous abri)

OBSERVATIONS DU PRODUCTEUR

Nous certifions que les déclarations ci-dessus sont exactes et nous engageons à signaler toutes modifications de process, pouvant entraîner un changement du résidu à la société France-Déchets.

Nom du responsable :
du résidu

Signature :

Tampon encreur de la société
productrice du déchet :

Date et lieu :

ANNEXE 3

Résultats des analyses des fractions organiques des lixiviats B1 et E1 par couplage chromatographique en phase gazeuse/spectrométrie de masse

Témoin dichlorométhane : méthylcyclohexane, 2-(1-méthylpropyl)-cyclopentanone, octadécène, dérivé du cyclopentane.

Fraction	Extraits organiques E1	Extraits organiques B1
Neutre	allylcyclohexane éthylborate éthylisothiocyanate 1,2,3-triméthylbenzène m-chloroaniline 1,2,3,4-tétrahydronaphtalène aldéhydecuminique 2,4,5-triméthylbenzèneméthanol chlorure de benzoyle butylbenzoate (dibutyl-n butyl-propyl) phtalates	alcool benzylique N-méthylformamide acide laurique
Acide	phtalates propylthiazole butylbenzoate myristaldéhyde acide 4-hydroxycinnamique dérivé de l'acide benzoïque	esters d'acides propénoïque, buténoïque, décanoïque, octanoïque, phénylpropanedioïque 2-éthoxyéthylbenzène 1-méthyl-4-(1-méthyléthyl)- cyclohexanol
Basique	succinimide triéthylamine dérivé de l'acide hexanoïque dérivé de l'acide benzoïque	naphtalène 2-éthylnaphtalène acénaphène 9H-fluorène 1H-indole dibenzofuran 1,2-diméthoxyéthylbenzène

Les extraits au dichlorométhane ont été concentrés jusqu'à un volume de 1 ml. Un aliquot de 1 μ l a été injecté. Appareillage : chromatographe Perkin Elmer 8500, injecteur mode splitless, détecteur Ion Trap.

ANNEXE 4

FICHES TOXICOLOGIQUES

Lixiviat A

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 15 min. graphique	CI20 15min. observée
Souche 1	NT	ND	NT	NT
Souche 2	NT	ND	NT	NT
Moyenne	NT	ND	NT	NT

DAPHNIE Reproduction (intoxication via la nourriture)

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	8	1287	161
Cristallisoir 2		8	1278	160
Cristallisoir 3		8	1237	155
Moyenne		8 ± 0	1267 ± 27	159 ± 3
Cristallisoir 1	20	8	1187	148
Cristallisoir 2		8	1330	166
Cristallisoir 3		8	1041	130
Moyenne		8 ± 0	1186 ± 144	148 ± 18

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	13,0	17,0	3,5	3,0 - 6,0
Microplaque 2	39,0	35,0	9,0	3,0
Moyenne	26,0 ± 18,4	26,0 ± 12,7	6,2 ± 3,9	ID

AMES

équiv. par	ml échant. boîte	TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
	essai 2	-	-	-	-	-	-	-	-
EO	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
	essai 2	-	-	-	-	-	-	-	-

Lixiviat B1

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	27,0	24,3	9,9	10 - 20
Souche 2	49,5	38,7	13,0	10 - 20
Moyenne	38,3 ± 15,9	31,5 ± 10,2	11,4 ± 2,2	ID

DAPHNIE Reproduction (intoxication via la nourriture)

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristalliseur	Petits pondus par mère
Cristalliseur 1	0	8	931	116
Cristalliseur 2		8	1046	131
Cristalliseur 3		8	1280	160
Moyenne		8 ± 0	1086 ± 178	136 ± 22
Cristalliseur 1	10	8	1212	151
Cristalliseur 2		8	1323	165
Cristalliseur 3		8	1570	196
Moyenne		8 ± 0	1368 ± 183	171 ± 23

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	5,0	6,2	0,38	< 1,5
Microplaque 2	11,0	6,4	4,0	< 1,5
Moyenne	8,0 ± 4,2	6,3 ± 0,1	2,2 ± 2,5	< 1,5

AMES

équiv. par	ml échant. boîte	TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	-	-	> 15	15	-	-	-	-
	essai 2	-	-	16	16	ND	ND	ND	ND
EO	essai 1	2,5	6	0,6	2,5	ND	ND	-	-
	essai 2	2,5	6	0,6	6	6	12,5	ND	ND

Lixiviat B2

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	33,3	22,5	3,9	< 10
Souche 2	36,0	27,0	6,3	< 10
Moyenne	34,7 ± 1,9	24,8 ± 3,2	5,1 ± 1,7	< 10

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	2,5	1,0	1,0
Essai 2	3,2	2,3	1,0 - 2,5
Moyenne	2,8 ± 0,5	1,6 ± 0,9	ID

DAPHNIE Reproduction

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	7	617	87
Cristallisoir 2		8	674	84
Moyenne		7,5 ± 0,7	645 ± 40	86 ± 2
Cristallisoir 1	0,3	7	454	63
Cristallisoir 2		7	767	101
Moyenne		7 ± 0	610 ± 221	82 ± 23
Cristallisoir 1	1,2	7	798	110
Cristallisoir 2		5	527	73
Moyenne		6,0 ± 1,4	662 ± 192	92 ± 26

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	< 0,80	ND	ND	ND
Microplaque 2	1,8 ± 0	0,85 ± 0,15	0,85 ± 0,21	0,6 - 1,2
Moyenne	ID	ID	ID	ID

AMES

équiv. ml échant. par boîte		TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	-	-	-	15	-	-	15	> 15
	essai 2	ND	ND	-	18	ND	ND	> 18	> 18
EO	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
	essai 2	-	-	-	12,5	ND	ND	ND	ND

Lixiviat C1

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	14,8	11,7	3,2	1 - 10
Souche 2	13,5	11,2	2,9	< 5
Moyenne	14,2 ± 0,9	11,5 ± 0,4	3,0 ± 0,2	ID

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	17,5	15,5	15 - 20
Essai 2	16,5	15,5	15 - 17,5
Moyenne	17,0 ± 0,7	15,5 ± 0,7	ID

DAPHNIE Reproduction

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	6	1065	159
Cristallisoir 2		8	1241	155
Moyenne		7,0 ± 1,4	1153 ± 124	157 ± 3
Cristallisoir 1	0,68	8	1305	163
Cristallisoir 2		8	1551	194
Moyenne		8 ± 0	1428 ± 174	178 ± 22
Cristallisoir 1	1,7	0	0	3
Cristallisoir 2		3	18	9
Moyenne		1,5 ± 2,1	9 ± 13	6 ± 4

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	< 0,8	< 0,8	ND	ND
Microplaque 2	0,67 ± 0,01	0,53 ± 0,03	0,39 ± 0,03	0,06
Moyenne	ID	ID	ID	ID

AMES

équiv. par	ml échant. boîte	TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	ND	ND	7,5	-	15	15	ND	ND
	essai 2	-	-	> 11	7,5	18	18	ND	ND
EO	essai 1	-	-	-	6	-	-	ND	ND
	essai 2	-	-	-	6	-	-	-	-

Lixiviat C2

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	28,8	25,0	8,3	10,0
Souche 2	19,8	18,0	6,3	5,0
Moyenne	24,3 ± 6,4	21,5 ± 4,9	7,3 ± 1,4	7,5 ± 3,5

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	53,0	22,0	20,0

DAPHNIE Reproduction

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	7	617	87
Cristallisoir 2		8	674	84
Moyenne		7,5 ± 0,7	645 ± 40	86 ± 2
Cristallisoir 1	1	7	616	81
Cristallisoir 2		8	771	86
Moyenne		7,5 ± 0,7	693 ± 110	89 ± 11
Cristallisoir 1	5	2	66	23
Cristallisoir 2		4	87	22
Moyenne		3,0 ± 1,4	76 ± 15	22 ± 1

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	1,8 ± 0,1	1,5 ± 0	1,3 ± 0,1	1,2 - 2,5
Microplaque 2	2,5 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,2 ± 0,1	0,80 - 1,6
Moyenne	2,1 ± 0,5	1,4 ± 0,1	1,2 ± 0,1	ID

AMES

équival. par	ml échant. boîte	TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	-	-	-	7,5	-	-	-	-
	essai 2	ND	ND	-	14,5	ND	ND	ND	ND
EO	essai 1	-	-	-	> 12,5	-	-	-	-
	essai 2	ND	ND	-	12,5	ND	ND	-	-

Lixiviat D

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	18,0	18,0	5,4	1 - 10
Souche 2	18,5	18,5	5,0	1 - 7,5
Moyenne	18,3 ± 0,4	18,3 ± 0,4	5,2 ± 0,3	ID

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	39,0	33,0	30 - 50
Essai 2	42,0	40,0	40,0
Moyenne	40,5 ± 2,1	36,5 ± 4,9	ID

DAPHNIE Reproduction

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	8	1163	145
Cristallisoir 2		8	1170	146
Moyenne		8 ± 0	1166 ± 5	146 ± 1
Cristallisoir 1	4,5	8	1403	175
Cristallisoir 2		8	1171	146
Moyenne		8 ± 0	1287 ± 164	161 ± 20
Cristallisoir 1	18	8	1118	140
Cristallisoir 2		2*	216*	49*
Moyenne		8	1118	140

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	7,5 ± 3,2	14,0 ± 0,7	1,2 ± 0,3	0,8 - 1,6
Microplaque 2	3,1 ± 0,5	5,8 ± 0,5	1,3 ± 0,7	0,8 - 1,6
Moyenne	5,3 ± 3,1	9,9 ± 5,8	1,2 ± 0,7	ID

AMES

équiv. par	ml échant. boîte	TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	ND	ND	-	-	-	-	ND	ND
EO	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-

Lixiviat E1

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	2,3	1,6	0,6	1,0
Souche 2	2,7	1,9	0,8	< 1,0
Moyenne	2,5 ± 0,3	1,7 ± 0,2	0,7 ± 0,1	ID

DAPHNIE Reproduction (intoxication via la nourriture)

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	8	931	116
Cristallisoir 2		8	1046	131
Cristallisoir 3		8	1280	160
Moyenne		8 ± 0	1086 ± 178	136 ± 22
Cristallisoir 1	0,0125	8	927	116
Cristallisoir 2		8	1143	143
Cristallisoir 3		8	1196	149
Moyenne		8 ± 0	1089 ± 142	136 ± 17

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	< 0,9	ND	ND	ND
Microplaque 2	0,055	0,11	0,013	< 0,015
Moyenne	ID	ID	ID	ID

AMES

équiv. par	ml échant. boîte	TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	> 15	-	> 15	-	> 15	-	-	-
EO	essai 1	2,5	6	-	-	ND	ND	-	-
	essai 2	2,5	10	-	-	-	-	ND	ND

Lixiviat E2

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	16,6	14,8	4,2	5,0
Souche 2	17,5	15,3	4,1	5,0
Moyenne	17,1 ± 0,6	15,1 ± 0,4	4,1 ± 0,1	5,0 ± 0

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	NT	NT	NT

DAPHNIE Reproduction

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	7	617	87
Cristallisoir 2		8	674	84
Moyenne		7,5 ± 0,7	645 ± 40	86 ± 2
Cristallisoir 1	5	8	1091	136
Cristallisoir 2		8	911	114
Moyenne		8 ± 0	1001 ± 127	125 ± 16
Cristallisoir 1	20	8	197	24
Cristallisoir 2		7	203	26
Moyenne		7,5 ± 0,7	200 ± 4	25 ± 1

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	> 1	ND	ND	ND
Microplaque 2	4,8 ± 0,8	7,3 ± 1,8	1,3 ± 0,6	0,75 - 1,5
Moyenne	ID	ID	ID	ID

AMES

équiv. par	ml échant. boîte	TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	-	-	-	-	ND	ND	-	9
EO	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	12,5
	essai 2	-	-	-	6	ND	ND	-	> 16,5

Lixiviat F

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	20,7	13,9	7,4	5 - 10
Souche 2	21,6	16,2	9,0	7,5
Moyenne	21,2 ± 0,6	15,1 ± 1,6	8,2 ± 1,1	ID

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	2,2	1,4	1 - 5
Essai 2	2,8	2,3	2 - 4
Moyenne	2,5 ± 0,4	1,8 ± 0,6	ID

DAPHNIE Reproduction

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	8	1163	145
Cristallisoir 2		8	1170	146
Moyenne		8 ± 0	1166 ± 5	146 ± 1
Cristallisoir 1	0,3	8	1208	151
Cristallisoir 2		8	1217	152
Moyenne		8 ± 0	1212 ± 6	151 ± 1
Cristallisoir 1	1,2	7	1071	134
Cristallisoir 2		8	843	105
Moyenne		7,5 ± 0,7	957 ± 161	119 ± 20

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	1,1 ± 0,3	1,4 ± 0,6	0,54 ± 0,16	< 0,8
Microplaque 2	0,82 ± 0,03	0,79 ± 0,14	0,45 ± 0,05	0,3 - 0,6
Moyenne	0,96 ± 0,20	1,1 ± 0,4	0,49 ± 0,06	ID

AMES

équiv. ml échant. par boîte		TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	ND	ND	-	-	-	-	ND	ND
EO	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-

Lixiviat G

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	0,05	0,06	0,03	0,01 - 0,05

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	0,6	0,45	0,1 - 0,5

DAPHNIE Reproduction

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	8	1428	178
Cristallisoir 2		8	1491	186
Moyenne		8 ± 0	1459 ± 44	182 ± 6
Cristallisoir 1	0,05	8	1749	219
Cristallisoir 2		8	1797	225
Moyenne		8 ± 0	1773 ± 34	222 ± 4
Cristallisoir 1	0,2	1	1278	167
Cristallisoir 2		2	1112	165
Moyenne		1,5 ± 0,7	1195 ± 117	166 ± 2

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	< 0,015 0,00051 ± 0,00006	< 0,015 0,00086 ± 0,00026	ND	ND
Microplaque 2			0,00019 ± 0,00013	< 0,0003
Moyenne	ID	ID	ID	ID

AMES

équiv. par	ml échant. boîte	TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
EO	essai 1	-	-	-	-	-	6	-	-
	essai 2	-	-	> 5	-	-	-	-	-

Lixiviat H

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	40,5	45,0	16,6	10 - 30
Souche 2	100	90,0	43,2	50,0
Moyenne	70,3 ± 42,1	67,5 ± 31,8	29,9 ± 18,8	ID

DAPHNIE Reproduction (intoxication via la nourriture)

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	8	986	123
Cristallisoir 2		8	1131	141
Cristallisoir 3		8	1093	137
Moyenne		8 ± 0	1058 ± 102	132 ± 13
Cristallisoir 1	13,5	8	1036	129
Cristallisoir 2		8	1064	133
Cristallisoir 3		8	1078	135
Moyenne		8 ± 0	1050 ± 20	131 ± 3

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	12,5 ± 0,7	22,5 ± 0,7	5,4 ± 1,3	4,6 ± 2,2
Microplaque 2	10,5 ± 0,7	15,2 ± 1,8	6,2 ± 1,4	6,2 - 12,5
Moyenne	11,5 ± 1,4	18,9 ± 5,2	5,8 ± 0,6	ID

AMES

équiv. par	ml échant. boîte	TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
EO	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-

Lixiviat I

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	45,0	13,5	1,9	< 10
Souche 2	90,0	18,9	2,1	5,0
Moyenne	67,5 ± 31,8	16,2 ± 3,8	2,0 ± 0,1	ID

DAPHNIE Reproduction (intoxication via la nourriture)

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	8	931	116
Cristallisoir 2		8	1046	131
Cristallisoir 3		8	1280	160
Moyenne		8 ± 0	1086 ± 178	136 ± 22
Cristallisoir 1	10	8	1134	142
Cristallisoir 2		8	1197	149
Cristallisoir 3		8	990	124
Moyenne		8 ± 0	1107 ± 106	138 ± 13

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	5,7	18,5	1,7	< 3
Microplaque 2	5,2	5,5	1,5	1,5
Moyenne	5,4 ± 0,4	12,0 ± 9,2	1,6 ± 0,1	ID

AMES

équiv. par	ml échant. boîte	TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
EO	essai 1	-	-	-	-	ND	ND	-	-

Lixiviat J1

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 15 min. graphique	CI20 15 min. observée
Souche 1	2,7	ND	0,77	0,7 - 1,0
Souche 2	1,4	ND	0,49	0,5 - 0,7
Moyenne	2,0 ± 0,9	ND	0,63 ± 0,20	ID

DAPHNIE Reproduction (intoxication via la nourriture)

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	8	1287	161
Cristallisoir 2		8	1278	160
Cristallisoir 3		8	1237	155
Moyenne		8 ± 0	1267 ± 27	159 ± 3
Cristallisoir 1	10	8	1236	154
Cristallisoir 2		8	1253	156
Cristallisoir 3		8	1322	165
Moyenne		8 ± 0	1270 ± 45	158 ± 6

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	< 1,6	< 1,6	ND	ND
Microplaque 2	0,15	0,38	0,068	< 0,15
Moyenne	ID	ID	ID	ID

AMES

équiv. ml échant. par boîte		TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	-	-	-	-	ND	ND	-	-
EO	essai 1	-	-	-	-	ND	ND	-	-

Lixiviat J2

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	8,6	7,7	1,5	1,0 - 3,0
Souche 2	20,7	9,0	2,3	8,0
Moyenne	14,7 ± 8,6	8,4 ± 0,9	1,9 ± 0,6	ID

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	2,9	2,0	1,6 - 4,0
Essai 2	4,9	3,6	2,0 - 4,0
Moyenne	3,9 ± 1,4	2,8 ± 1,1	ID

DAPHNIE Reproduction

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	8	442	55
Cristallisoir 2		8	431	54
Moyenne		8 ± 0	436 ± 8	54 ± 1
Cristallisoir 1	0,4	7	688	91
Cristallisoir 2		8	615	77
Moyenne		7,5 ± 0,7	651 ± 52	84 ± 10
Cristallisoir 1	1,6	5	536	88
Cristallisoir 2		8	476	59
Moyenne		6,5 ± 2,1	506 ± 42	73 ± 20

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	< 0,08	ND	ND	ND
Microplaque 2	0,077 ± 0,027	0,10 ± 0,01	0,037 ± 0,015	0,02 - 0,04
Moyenne	ID	ID	ID	ID

AMES

équiv. par	ml échant. boîte	TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
EO	essai 1	ND	ND	-	-	-	-	-	-

Lixiviat K1

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	0,47	0,31	0,11	0,1 - 0,5
Souche 2	0,26	0,16	0,10	< 0,1
Moyenne	0,36 ± 0,15	0,23 ± 0,11	0,10 ± 0,01	ID

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	5,0	3,7	2,5 - 5,0
Essai 2	3,6	2,9	2,5 - 5,0
Moyenne	4,3 ± 1,0	3,3 ± 0,6	2,5 - 5,0

DAPHNIE Reproduction

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	8	1428	178
Cristallisoir 2		8	1491	186
Moyenne		8 ± 0	1459 ± 44	182 ± 6
Cristallisoir 1	0,25	8	1518	190
Cristallisoir 2		8	1666	208
Moyenne		8 ± 0	1592 ± 105	200 ± 13
Cristallisoir 1	1	8	1508	188
Cristallisoir 2		8	1411	176
Moyenne		8 ± 0	1459 ± 68	182 ± 9

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	0,016 ± 0,003	0,030 ± 0,001	0,010 ± 0,004	0,012 - 0,025
Microplaque 2	0,018 ± 0,003	0,030 ± 0,002	0,0090 ± 0,0004	0,006 - 0,012
Moyenne	0,017 ± 0,001	0,03 ± 0,00	0,009 ± 0,001	ID

AMES

équiv. par	ml échant. boîte	TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
EO	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-

Lixiviat K2

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	17,5	5,9	0,6	1,0 - 10,0
Souche 2	19,8	9,1	1,6	< 5,0
Moyenne	18,7 ± 1,6	7,5 ± 2,3	1,1 ± 0,7	ID

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	6,3	4,8	4,0 - 10,0
Essai 2	5,1	4,4	3,0 - 4,5
Moyenne	5,7 ± 0,8	4,6 ± 0,3	ID

DAPHNIE Reproduction

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	8	442	55
Cristallisoir 2		8	431	54
Moyenne		8 ± 0	436 ± 8	54 ± 1
Cristallisoir 1	0,6	8	964	120
Cristallisoir 2		8	887	111
Moyenne		8 ± 0	925 ± 54	116 ± 7
Cristallisoir 1	2,4	5	402	80
Cristallisoir 2		6	378	63
Moyenne		5,5 ± 0,7	390 ± 17	72 ± 12

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	0,11 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,040 ± 0,019	0,032 ± 0,0
Microplaque 2	0,081 ± 0,007	ND	0,029 ± 0,003	0,016 - 0,032
Moyenne	0,095 ± 0,020	ID	0,034 ± 0,008	ID

AMES

équiv. par	ml échant. boîte	TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
EO	essai 1	ND	ND	-	-	-	-	-	-

Lixiviat L

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	59,4	50,4	12,6	10,0
Souche 2	45,0	40,5	9,9	10,0
Moyenne	52,2 ± 10,2	45,5 ± 7,0	11,2 ± 1,9	10,0 ± 0,0

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	NT	NT	NT

DAPHNIE Reproduction

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	6	1065	159
Cristallisoir 2		8	1241	155
Moyenne		7,0 ± 1,4	1153 ± 124	157 ± 3
Cristallisoir 1	5	8	1012	126
Cristallisoir 2		8	1575	197
Moyenne		8 ± 0	1293 ± 398	161 ± 50
Cristallisoir 1	20	8	1044	130
Cristallisoir 2		8	1034	129
Moyenne		8 ± 0	1039 ± 7	130 ± 1

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	> 50	> 50	ND	ND
Microplaque 2	71,0 ± 1,4	71,0 ± 4,2	57,5 ± 0,7	50 - 90
Moyenne	ID	ID	ID	ID

AMES

équiv. par	ml échant. boîte	TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
EO	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-

Lixiviat JS

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	NT	NT	NT	NT
Souche 2	NT	NT	NT	NT
Moyenne	NT	NT	NT	NT

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	NT	NT	NT

DAPHNIE Reproduction

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	8	442	55
Cristallisoir 2		8	431	54
Moyenne		8 ± 0	436 ± 8	54 ± 1
Cristallisoir 1	5	7	937	134
Cristallisoir 2		6	1091	136
Moyenne		6,5 ± 0,7	1014 ± 109	135 ± 2
Cristallisoir 1	20	6	803	127
Cristallisoir 2		7	845	116
Moyenne		6,5 ± 0,7	824 ± 30	121 ± 8

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	19,2 ± 1,1	9,6 ± 4,0	5,0 ± 3	3,1 - 6,2
Microplaque 2	18,5 ± 3,5	13,0 ± 0,0	7,6 ± 3,1	6,2 - 12,5
Moyenne	18,8 ± 0,5	11,3 ± 2,4	6,3 ± 1,8	ID

AMES

équiv. par	ml échant. boîte	TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
EO	essai 1	ND	ND	-	-	-	-	-	-

Lixiviat KS

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	NT	NT	NT	NT
Souche 2	NT	NT	NT	NT
Moyenne	NT	NT	NT	NT

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	NT	NT	NT
Essai 2	78	68	50 - 70
Moyenne	ID	ID	ID

DAPHNIE Reproduction

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	8	442	55
Cristallisoir 2		8	431	54
Moyenne		8 ± 0	436 ± 8	54 ± 1
Cristallisoir 1	5	8	651	81
Cristallisoir 2		8	727	91
Moyenne		8 ± 0	689 ± 54	86 ± 7
Cristallisoir 1	20	8	1097	137
Cristallisoir 2		7	1030	129
Moyenne		$7,5 \pm 0,7$	1063 ± 47	133 ± 6

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	$9,6 \pm 0,6$	$6,7 \pm 0,1$	$2,1 \pm 0,6$	$1,6 - 6,2$
Microplaque 2	$11,3 \pm 2,4$	ND	$3,4 \pm 0,8$	$3,1 - 6,2$
Moyenne	$10,4 \pm 1,2$	ID	$2,7 \pm 0,9$	ID

AMES

équiv. par	ml échant. boîte	TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
EO	essai 1	ND	ND	-	-	-	-	-	-

Percolat T

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	0,18	0,27	0,11	0,10 - 0,20
Souche 2	0,20	0,29	0,10	0,10
Moyenne	0,19 ± 0,01	0,28 ± 0,01	0,10 ± 0,01	ID

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	1,6	1,2	1,0 - 2,5
Essai 2	2,0	1,5	1,5
Moyenne	1,8 ± 0,3	1,3 ± 0,2	ID

DAPHNIE Reproduction

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	8	546	68
Cristallisoir 2		8	692	86
Moyenne		8 ± 0	619 ± 103	77 ± 13
Cristallisoir 1	0,2	8	549	69
Cristallisoir 2		8	749	94
Moyenne		8 ± 0	649 ± 141	81 ± 18
Cristallisoir 1	0,8	5	115	23
Cristallisoir 2		2	89	31
Moyenne		3,5 ± 2,1	102 ± 18	27 ± 6

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	0,28 ± 0,07	0,75 ± 0,15	0,031 ± 0,028	0,08 - 0,16
Microplaque 2	0,61 ± 0,03	0,51 ± 0,02	0,20 ± 0,03	0,31 - 0,62
Moyenne	0,44 ± 0,23	0,63 ± 0,17	0,11 ± 0,12	ID

AMES

équiv. par	ml échant. boîte	TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
EO	essai 1	6	-	-	-	-	-	-	-
	essai 2	-	2,5	-	1,2	-	-	-	-

Percolat BA

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	2,4	2,7	0,85	1,0
Souche 2	4,1	4,1	1,3	1,0 - 2,0
Moyenne	$3,2 \pm 1,2$	$3,4 \pm 1,0$	$1,1 \pm 0,3$	ID

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	1,6	1,2	1,0 - 2,5
Essai 2	3,0	2,3	2,0 - 2,5
Moyenne	$2,3 \pm 1,0$	$1,7 \pm 0,8$	ID

DAPHNIE Reproduction

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	8	546	68
Cristallisoir 2		8	692	86
Moyenne		8 ± 0	619 ± 103	77 ± 13
Cristallisoir 1	0,25	8	722	90
Cristallisoir 2		8	846	106
Moyenne		8 ± 0	784 ± 88	98 ± 11
Cristallisoir 1	1	3	279	93
Cristallisoir 2		2	132	66
Moyenne		$2,5 \pm 0,7$	205 ± 104	79 ± 19

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	$0,45 \pm 0,06$	$0,76 \pm 0,27$	$0,15 \pm 0,02$	$0,16 - 0,32$
Microplaque 2	$0,80 \pm 0,28$	$0,55 \pm 0,03$	$0,37 \pm 0,15$	$0,31 - 0,62$
Moyenne	$0,62 \pm 0,25$	$0,65 \pm 0,15$	$0,26 \pm 0,15$	ID

AMES

équiv. par	ml échant. boîte	TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
EO	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
	essai 2	-	6	-	2,5	-	-	-	-

Percolat BB

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	13,5	11,3	3,5	1,0 - 5,0
Souche 2	14,4	12,6	4,1	5,0
Moyenne	14,0 ± 0,6	11,9 ± 1,0	3,8 ± 0,4	ID

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	3,8	2,9	2,5 - 5,0
Essai 2	4,9	4,3	4,0 - 5,0
Moyenne	4,3 ± 0,8	3,6 ± 1,0	ID

DAPHNIE Reproduction

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	8	546	68
Cristallisoir 2		8	692	86
Moyenne		8 ± 0	619 ± 103	77 ± 13
Cristallisoir 1	0,3	8	783	98
Cristallisoir 2		8	824	103
Moyenne		8 ± 0	803 ± 29	100 ± 3
Cristallisoir 1	1,2	7	1078	154
Cristallisoir 2		4	644	160
Moyenne		5,5 ± 2,1	861 ± 307	157 ± 4

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	0,59 ± 0,09	1,2 ± 0,1	0,17 ± 0,05	0,16 - 0,32
Microplaque 2	0,65 ± 0,14	1,1 ± 0,4	0,27 ± 0,04	0,32
Moyenne	0,62 ± 0,04	1,1 ± 0,1	0,22 ± 0,07	ID

AMES

équiv. ml échant. par boîte		TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
EO	essai 1	-	-	-	6	-	-	-	-
	essai 2	-	-	-	1,2	-	-	-	-

Etang BO (aval)

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	NT	NT	NT	NT
Souche 2	NT	NT	NT	NT
Moyenne	NT	NT	NT	NT

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	NT	NT	NT

DAPHNIE Reproduction

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	8	914	114
Cristallisoir 2		8	981	123
Moyenne		8 ± 0	947 ± 47	118 ± 6
Cristallisoir 1	10	7	998	125
Cristallisoir 2		0*	387*	49*
Moyenne		7	998	125
Cristallisoir 1	50	8	1073	134
Cristallisoir 2		7	928	132
Moyenne		7,5 ± 0,7	1000 ± 102	133 ± 1

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	NT	NT	ID	> 90

AMES

équiv. par	ml échant. boîte	TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
EO	essai 1	-	-	-	-	ND	ND	-	-

Etang ET (amont)

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	NT	NT	NT	NT
Souche 2	NT	NT	NT	NT
Moyenne	NT	NT	NT	NT

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	NT	NT	NT

DAPHNIE Reproduction

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	8	914	114
Cristallisoir 2		8	981	123
Moyenne		8 ± 0	947 ± 47	118 ± 6
Cristallisoir 1	10	3*	612*	140*
Cristallisoir 2		8	958	120
Moyenne		8	958	120
Cristallisoir 1	50	6	1122	170
Cristallisoir 2		7	1258	161
Moyenne		6,5 ± 0,7	1190 ± 96	165 ± 6

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	NT	NT	ID	12,5 - 25,0

AMES

équiv. par	ml échant. boîte	TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
EO	essai 1	-	-	-	-	ND	ND	-	-

Eau de ruissellement R1

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	NT	NT	NT	NT
Souche 2	NT	NT	NT	NT
Moyenne	NT	NT	NT	NT

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	NT	NT	> 90

DAPHNIE Reproduction

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	8	914	114
Cristallisoir 2		8	981	123
Moyenne		8 ± 0	947 ± 47	118 ± 6
Cristallisoir 1	10	6	928	116
Cristallisoir 2		8	1049	131
Moyenne		7,0 ± 1,4	988 ± 85	123 ± 11
Cristallisoir 1	50	8	1219	152
Cristallisoir 2		8	1117	140
Moyenne		8 ± 0	1168 ± 72	146 ± 8

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Microplaque 1	31,0 ± 1,4 25,0	57,0 ± 32,5	11,9 ± 3,0	< 6
Erlen 1		47,0	7,8	< 25,0
Moyenne	28,0 ± 4,2	52,0 ± 7,1	9,8 ± 2,9	ID

AMES

équiv. par	ml échant. boîte	TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
EO	essai 1	-	-	-	12,5	ND	ND	-	-
	essai 2	-	-	-	10	> 15	-	ND	ND

Eau de ruissellement R2

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	39,6	52,2	8,8	< 12
Souche 2	30,6	44,1	2,9	5,0 - 9,0
Moyenne	35,1 ± 6,4	48,2 ± 5,7	5,8 ± 4,2	ID

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	15,5	2,6	5,6 - 11,2
Essai 2	68,0	56,0	37,5
Moyenne	42,0 ± 37,0	29,3 ± 37,7	ID

DAPHNIE Reproduction

% volume	Conc.	Daphnies survivantes	Petits pondus par cristallisoir	Petits pondus par mère
Cristallisoir 1	0	8	748	93
Cristallisoir 2		8	682	85
Moyenne		8 ± 0	715 ± 47	89 ± 6
Cristallisoir 1	2	8	860	107
Cristallisoir 2		8	904	113
Moyenne		8 ± 0	882 ± 31	110 ± 4
Cristallisoir 1	10	1	42	11
Cristallisoir 2		0	0	0
Moyenne		0,5 ± 0,7	21 ± 30	5 ± 8

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Erlen 1	20,0	20,0 - 50,0	11,5	8,0 - 20,0
Erlen 2	17,0	ND	9,4	< 25,0
Moyenne	18,5 ± 2,1	ID	10,4 ± 1,5	ID

AMES

équiv. par	ml échant. boîte	TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
EB	essai 1	-	-	-	-	-	-	-	-
LYO	essai 1	-	-	-	-	-	-	ND	ND
EO	essai 1	-	-	-	12,5	-	-	-	-
	essai 2	ND	ND	ND	> 15	ND	ND	ND	ND

Lixiviats JSII et JSIII

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
JSII	NT	NT	NT	NT
JSIII	NT	NT	NT	NT

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
JSII	33,5 ± 7,8	22,0 ± 2,8	12,7 ± 1,8	6,2 - 12,5
JSIII	32,0 ± 4,2	3,6	9,8 ± 3,8	12,5 - 25

Lixiviats KSII et KSIII

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
KSII	NT	NT	NT	NT
KSIII	NT	NT	NT	NT

ALGUE

% volume	CI50 J3	CI50 J5	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
KSII	58,5 ± 33,2	33,5 ± 6,4	25,5 ± 19,1	12,5 - 25,0
KSIII	32,0 ± 0,0	25,5 ± 4,9	15,5 ± 1,4	12,5 - 25,0

Lixiviat A'

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	NT	NT	ID	40,0 - 60,0
Souche 2	NT	NT	ID	40,0
Moyenne	NT	NT	ID	ID

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	NT	ID	NT
Essai 2	NT	ID	NT
Moyenne	NT	ID	NT

Lixiviat B'

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	28,8	19,8	8,5	7,9 - 11,8
Souche 2	13,0	13,0	3,6	< 7,9
Moyenne	10,9 ± 11,1	16,4 ± 4,8	6,0 ± 3,5	ID

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	6,4	4,4	2,8 - 5,6
Essai 2	8,1	6,9	6,7 - 10,1
Moyenne	7,2 ± 1,2	5,6 ± 1,8	ID

Lixiviat H'

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	26,1	23,4	7,7	7,9 - 11,8
Souche 2	34,2	31,5	8,3	7,9 - 11,8
Moyenne	30,1 ± 5,7	27,4 ± 5,7	8,0 ± 0,4	ID

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	NT	ID	45,0 - 90,0
Essai 2	NT	ID	90,0
Moyenne	NT	ID	ID

Lixiviat I'

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	7,6	4,8	0,9	1,0
Souche 2	> 32,0	15,3	ID	8,0 - 16,0
Moyenne	ID	10,0 ± 7,4	ID	ID

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	2,4	2,0	2,8
Essai 2	4,7	3,7	3,0 - 4,5
Moyenne	3,5 ± 1,6	2,8 ± 1,2	ID

Lixiviat J'

MICROTOX

% volume	CI50 15 min.	CI50 30 min.	CI20 30 min. graphique	CI20 30 min. observée
Souche 1	1,0	0,72	0,35	< 0,62
Souche 2	4,0	3,4	0,63	0,4 - 0,8
Moyenne	2,5 ± 2,1	2,1 ± 1,9	0,49 ± 0,20	ID

DAPHNIE Immobilisation

% volume	CI50 J3	CI20 J3 graphique	CI20 J3 observée
Essai 1	8,0	6,2	5,6 - 11,2
Essai 2	9,5	7,2	6,7 - 10,1
Moyenne	8,7 ± 1,1	6,7 ± 0,7	ID

ANNEXE 5

DESCRIPTION DU TEST TRITON

RESULTATS BRUTS

LE TEST MICRONOYAU SUR LARVES DE TRITON

Principe

Les micronoyaux sont des fragments de chromosome ou des chromosomes entiers qui ne sont pas intégrés au noyau lors de l'anaphase de la division cellulaire. Leur formation résulte de l'action de substances entraînant des cassures de l'ADN (substances clastogènes) ou altérant le fuseau mitotique. La présence de micronoyaux dans les cellules est le reflet d'une exposition à ces substances génotoxiques.

Le test consiste à mesurer le taux de cellules sanguines renfermant un ou des micronoyaux dans le cytoplasme chez les larves de triton *Pleurodeles waltl* exposées à différentes concentrations de la substance à tester. Après 12 jours d'intoxication, le sang de chaque larve est prélevé par ponction intracardiaque. Un frottis est réalisé et coloré (utilisation d'hémalun de Meyer, colorant spécifique de l'ADN).

Méthodologie

Les essais ont été réalisés selon la norme AFNOR T90325.

La sensibilité des larves utilisées pour le test a été contrôlée à l'aide du benzo(a)pyrène (25 $\mu\text{g/l}$). Le composé étant dissous dans le DMSO, l'absence de toxicité du solvant a été vérifiée.

Traitement des données

Les résultats ont été traités selon la méthode statistique recommandée par la norme et applicable aux eaux faiblement génotoxiques.

Pour chaque lot, les taux d'érythrocytes à micronoyaux des différents tritons sont rangés par ordre croissant (tableau A). La distribution des ces valeurs permet de déterminer (tableau B) :

- les valeurs extrêmes,
- la médiane (valeur située à mi-chemin entre les extrêmes),
- les quartiles inférieur (Q_i) et supérieur (Q_s).

Tableau A : Taux d'érythrocytes à micronoyaux (1000 cellules visualisées).

Essais	Cellules à micronoyaux 0/00	Nb de tritons (N)
Témoin	2 2 3 3 3 4 4 4 4 5 5 5 6 6 7	15
R2 1/16	1 2 4 4 4 5 5 5 6 6 6 6 7 7 8	15
R2 1/8	2 3 4 5 6 6 6 6 7 7 7 8 8 9 9	15
R2 1/4	4 4 6 6 6 6 7 7 7 7 8 8 8 9	14
DMSO	1 1 3 3 4 4 4 4 5 5 5 6 7	13
B(a)P	5 6 6 6 7 8 8 8 9 9 9 9 10 11	14

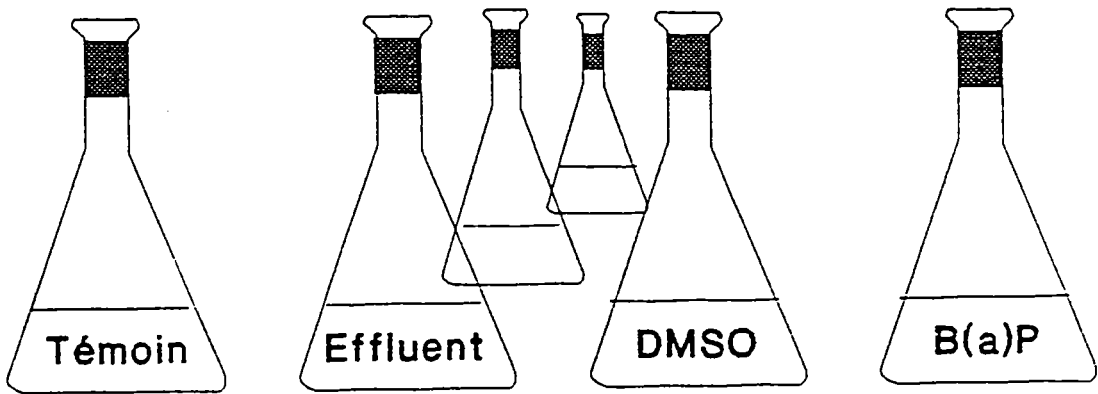
Tableau B : Résultats du test triton (- : différence non significative ; + : différence significative)

Essai	Qi	Qs	Médiane	Extrêmes	Résultat
Témoin	3	5	4	2-7	IC = 0,8
R2 1/16	4	6	5	1-8	-
R2 1/8	5,5	7,5	6	2-9	+
R2 1/4	6	8	7	4-9	+
DMSO	3	5	4	1-7	IC = 0,8
B(a)P	6	9	8	5-11	+

Une différence entre deux lots sera significative si les médianes correspondantes sont différentes au risque de 5 %. C'est à dire, si les intervalles de confiance des médianes (au seuil de sécurité de 95 %) des lots considérés n'ont pas de valeurs communes.

Un résultat ne sera considéré négatif que si une réponse positive est obtenue avec le B(a)P.

Méthodologie du test triton



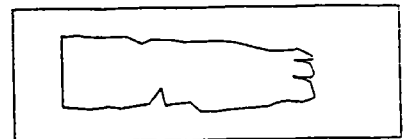
10 à 15 larves de pleurodèle au stade 53
100 ml de milieu par larve
 $T^{\circ}C = 20 \pm 1$, Photopériode naturelle

12 jours d'intoxication

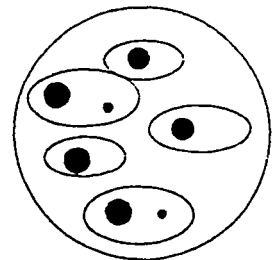
Changement journalier du milieu à tester

Prélèvement sanguin par ponction intracardiaque

1 Frottis par larve
Fixation, 3 min au méthanol
Coloration, 7 min à l'hémalun
Rincer 10 min. à l'eau courante



Compter 1000 érythrocytes par frottis
Noter le nombre de cellules à micronoyaux
Traitement statistique des données



ANNEXE 6

DONNEES ET RESULTATS DE L'AFCM

Tableau disjonctif complet utilisé dans l'AFCM

Classe	DC			HC		PH		MT			MI			AL			GE	
	1	2	3	1	2	1	2	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2
A	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
B1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1
B2	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1
C1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1
C2	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1
D	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0
E1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1
E2	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1
F	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0
H	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
I	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0
J2	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0
K1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0
K2	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0
L	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0
JS	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
KS	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0
T	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1
BA	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1
BB	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1
BO	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
ET	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
R1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1
R2	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1

Etude des liaisons entre les différentes modalités des variables toxicologiques et chimiques

Coordonnées des variables et contribution relative à l'inertie

	Axe 1		Axe 2		Axe 3	
DC1	-1,057	10,9	-0,307	1,5	0,298	2,2
DC2	0,131	0,1	0,983	10,1	-0,730	9,0
DC3	0,975	9,3	-0,349	1,9	0,189	0,9
		20,3%		13,5%		12,1%
HC1	-0,361	2,1	-0,138	0,5	-0,524	11,6
HC2	0,606	3,6	0,230	0,8	0,873	19,3
		5,7%		1,3%		30,9%
PH1	-0,290	1,5	0,316	2,8	-0,295	3,9
PH2	0,585	3,0	-0,632	5,6	0,590	7,8
		4,4%		8,4%		11,7%
MT1	-1,026	8,0	-0,375	1,7	0,296	1,7
MT2	-0,026	0,0	0,909	14,4	0,121	0,4
MT3	1,069	8,7	-0,924	10,4	-0,470	4,3
		16,7%		26,6%		6,5%
MI1	-1,158	13,1	-0,348	1,9	0,335	2,8
MI2	0,501	3,0	0,743	10,6	-0,192	1,1
MI3	1,239	6,7	-1,262	11,1	-0,228	0,6
		22,8%		23,6%		4,6%
AL1	-1,158	13,1	-0,348	1,9	0,335	2,8
AL2	0,431	1,2	1,346	19,0	0,236	0,9
AL3	0,876	7,5	-0,549	4,7	-0,493	6,2
		21,8%		25,6%		9,9%
GE2	0,618	4,6	0,160	0,5	0,651	13,1
GE1	-0,520	3,8	-0,136	0,4	-0,551	11,1
		8,4%		0,9%		24,2%

Coordonnées des individus et contribution relative à l'inertie

	Axe 1		Axe 2		Axe 3	
A	-1,074	8,8%	-0,327	1,3%	-0,033	0,0%
B1	0,332	0,8	0,185	0,4	0,387	3,0
B2	0,194	0,3	1,057	13,7	-0,227	1,0
C1	0,237	0,4	0,368	1,7	0,299	1,8
C2	0,380	1,1	1,147	16,1	0,207	0,8
D	0,492	1,8	0,517	3,3	0,394	3,1
E1	0,964	7,1	-0,904	10,0	-0,089	0,2
E2	0,543	2,2	0,821	8,2	0,492	4,8
F	0,060	0,0	0,521	3,3	-0,827	13,5
H	-0,905	6,2	-0,559	3,8	0,242	1,2
I	-0,026	0,0	0,985	11,9	-0,601	7,1
J2	0,434	1,4	-0,253	0,8	-0,725	10,4
K1	0,413	1,3	-0,418	2,1	-1,022	20,6
K2	0,434	1,4	-0,253	0,8	-0,725	10,4
L	-0,712	3,9	-0,244	0,7	0,188	0,7
JS	-1,074	8,8	-0,327	1,3	-0,033	0,0
KS	-0,881	5,9	-0,012	0,0	-0,087	0,1
T	1,151	10,1	-0,814	8,1	0,346	2,4
BA	1,151	10,1	-0,814	8,1	0,346	2,4
BB	1,009	7,7	-0,323	1,3	0,357	2,5
BO	-1,074	8,8	-0,327	1,3	-0,033	0,0
ET	-1,074	8,8	-0,327	1,3	-0,033	0,0
R1	-0,475	1,7	0,150	0,3	0,720	10,2
R2	-0,439	1,5	0,151	0,3	0,456	4,1

ANNEXE 7

DONNEES ET RESULTATS DE L'ACP - 24 OBSERVATIONS

Données physico-chimiques (log conc.) et toxicologiques (log 100/CE50) utilisées dans l'ACP (24 observations)

Param.	pH	DCO	Chloru.	Calcium	Sulfate	Cyanure	Indice -CH ₂	Phénols	Mercure	Arsenic	Zinc	Cuivre	Plomb	Chrome	Cadmiu.	Microt.	Algue	Ames
Code	PH	DCO	CHL	CAL	SUL	CN	HC	PHE	HG	AS	ZN	CU	PB	CR	CD	MIC	ALG	GEN
A	7,3	1,41	2,29	2,12	2,58	0,0	1,0	1,0	2,78	2,0	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,0	0,71	-3,18
B1	12,4	3,04	1,86	2,70	1,80	1,18	1,0	3,04	2,30	2,84	1,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,53	1,16	0,22
B2	10,2	2,55	1,98	2,17	2,40	0,0	1,0	1,0	2,78	3,56	1,70	3,04	1,90	0,70	0,70	0,61	1,75	-1,1
C1	12,2	1,50	1,80	2,48	1,95	0,0	2,92	1,0	1,0	3,46	3,18	2,43	2,58	1,70	1,90	0,94	2,17	-0,78
C2	11,3	2,42	1,73	1,36	2,15	0,0	3,11	1,0	2,78	2,84	2,28	2,04	0,70	2,53	0,70	0,68	1,67	-0,87
D	7,6	2,83	0,70	0,67	1,89	0,0	3,04	2,34	2,0	2,78	2,15	0,70	2,08	2,41	0,70	0,74	1,37	-3,18
E1	7,1	3,0	1,23	1,54	0,0	0,0	1,0	3,0	2,0	2,48	4,34	0,70	1,70	0,70	0,70	1,76	3,26	-0,40
E2	7,5	2,79	1,25	0,86	1,58	0,0	3,59	1,0	2,70	2,70	3,02	0,70	2,80	1,90	0,70	0,83	1,32	-0,78
F	10,2	2,37	3,09	0,92	1,90	0,0	1,0	1,0	2,60	2,60	1,78	2,20	0,70	0,70	0,70	0,83	2,04	-3,18
H	8,0	1,97	1,0	1,28	2,51	0,0	1,0	2,0	1,0	3,32	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,23	0,94	-3,18
I	11,7	2,42	3,78	3,07	3,25	1,60	1,0	1,0	2,48	1,0	2,78	0,70	3,11	1,95	0,70	0,81	1,26	-3,18
J2	12,3	2,73	4,32	4,02	2,71	0,0	1,0	1,0	2,95	1,0	0,70	2,15	3,87	0,70	2,23	1,08	3,13	-3,18
K1	12,3	2,45	4,21	3,90	3,33	0,0	1,0	1,0	4,23	1,0	3,54	0,70	4,99	0,70	0,70	2,67	3,78	-3,18
K2	12,4	2,96	4,24	3,90	2,63	0,0	1,0	1,0	4,94	3,95	2,67	1,78	3,71	0,70	2,11	1,15	3,03	-3,18
L	7,5	1,63	1,0	1,15	0,0	1,45	1,0	2,40	2,70	3,20	2,04	0,70	0,70	0,70	0,70	0,36	0,15	-3,18
JS	10,4	1,66	3,12	2,65	0,48	0,0	1,0	1,0	2,78	1,0	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,0	0,73	-3,18
KS	10,5	1,48	3,07	2,56	0,90	1,70	1,0	1,0	2,30	1,0	2,25	0,70	0,70	0,70	0,70	0,0	0,99	-3,18
T	8,7	3,98	3,83	1,81	0,78	2,0	4,09	3,62	3,04	5,43	3,09	1,97	2,86	2,99	1,81	2,55	2,42	-0,08
BA	8,5	3,85	3,86	2,34	1,15	1,73	4,40	3,51	3,75	5,09	4,07	2,23	2,88	2,72	1,88	1,49	2,25	-0,40
BB	8,7	3,72	3,83	1,64	0,70	1,87	3,51	2,95	3,72	5,05	4,12	2,56	2,88	2,75	1,81	0,92	2,21	-0,08
BO	8,0	1,50	0,84	1,99	2,36	0,0	1,0	1,0	3,04	2,87	0,70	0,70	1,70	0,70	0,70	0,0	0,0	-3,18
ET	7,7	1,38	1,34	1,96	2,34	0,0	1,0	1,0	2,78	3,09	0,70	0,70	1,70	0,70	0,70	0,0	0,0	-3,18
R1	7,7	1,79	2,40	2,46	3,14	0,0	4,25	1,0	2,90	3,89	2,60	1,90	2,84	2,25	0,70	0,0	0,54	-1,0
R2	7,6	2,44	2,99	2,57	3,01	2,0	4,50	1,0	2,60	3,61	1,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,32	0,74	-1,1

Résultats de l'Analyse en Composantes Principales sur l'ensemble des échantillons : 24 observations, 15 variables chimiques. Les paramètres toxicologiques ont été entrés comme variables supplémentaires.

Coordonnées des variables physico-chimiques et des individus

Variables	Axe1	Axe 2	Individus	Axe 1	Axe 2
PH	-0,0737	0,7652	A	0,7570	0,0004
DCO	-0,8462	-0,0555	B1	0,0274	0,0059
CHL	-0,5395	0,6792	B2	0,0286	0,0804
CAL	-0,0893	0,8983	C1	0,0128	0,0178
SUL	0,2221	0,5728	C2	0,0000	0,0502
CN	-0,5154	-0,2131	D	0,0023	0,5816
HC	-0,6535	-0,3552	E1	0,0020	0,3403
PHE	-0,6034	-0,5230	E2	0,0001	0,2887
HG	-0,4469	0,5018	F	0,1774	0,0013
AS	-0,6752	-0,4257	H	0,4703	0,2464
ZN	-0,7315	-0,0939	I	0,0027	0,3330
CU	-0,5841	0,1980	J2	0,0029	0,7631
PB	-0,5384	0,5883	K1	0,0000	0,6958
CR	-0,7342	-0,3044	K2	0,1433	0,6595
CD	-0,7069	0,3560	L	0,1035	0,4873
			JS	0,4806	0,0315
			KS	0,2631	0,0060
			T	0,8538	0,0842
			BA	0,9502	0,0236
			BB	0,9166	0,0378
			BO	0,6812	0,0104
			ET	0,6977	0,0147
			R1	0,0337	0,0001
			R2	0,0020	0,0289

Corrélation (r) des paramètres toxicologiques avec les axes

	Axe (contribution en % à la variabilité expliquée)				
	1 (33,2)	2 (24,5)	3 (9,7)	4 (7,1)	5 (6,0)
Microtox (MIC)	-0,633	0,218	0,173	0,059	-0,448
Algue (ALG)	-0,537	0,458	0,113	-0,186	-0,474
Génotoxicité (GEN)	-0,621	-0,352	-0,094	-0,096	0,014

ANNEXE 8

DONNEES ET RESULTATS DE L'ACP - 17 OBSERVATIONS

Données physico-chimiques (log conc.) et toxicologiques (log 100/CE50) utilisées dans l'analyse (17 observations)

Param.	pH	DCO	Chloru.	Calcium	Sulfate	Cyanure	Indice -CH ₂	Phénols	Mercure	Arsenic	Zinc	Cuivre	Plomb	Chrome	Cadmiu.	Microt.	Algue	Ames
Code	PH	DCO	CHL	CAL	SUL	CN	HC	PHE	HG	AS	ZN	CU	PB	CR	CD	MIC	ALG	GEN
A	7,3	1,41	2,29	2,12	2,58	0,0	1,0	1,0	2,78	2,0	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,0	0,71	-3,18
B1	12,4	3,04	1,86	2,70	1,80	1,18	1,0	3,04	2,30	2,84	1,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,53	1,16	0,22
B2	10,2	2,55	1,98	2,17	2,40	0,0	1,0	1,0	2,78	3,56	1,70	3,04	1,90	0,70	0,70	0,61	1,75	-1,1
C1	12,2	1,50	1,80	2,48	1,95	0,0	2,92	1,0	1,0	3,46	3,18	2,43	2,58	1,70	1,90	0,94	2,17	-0,78
C2	11,3	2,42	1,73	1,36	2,15	0,0	3,11	1,0	2,78	2,84	2,28	2,04	0,70	2,53	0,70	0,68	1,67	-0,87
D	7,6	2,83	0,70	0,67	1,89	0,0	3,04	2,34	2,0	2,78	2,15	0,70	2,08	2,41	0,70	0,74	1,37	-3,18
E1	7,1	3,0	1,23	1,54	0,0	0,0	1,0	3,0	2,0	2,48	4,34	0,70	1,70	0,70	0,70	1,76	3,26	-0,40
E2	7,5	2,79	1,25	0,86	1,58	0,0	3,59	1,0	2,70	2,70	3,02	0,70	2,80	1,90	0,70	0,83	1,32	-0,78
F	10,2	2,37	3,09	0,92	1,90	0,0	1,0	1,0	2,60	2,60	1,78	2,20	0,70	0,70	0,70	0,83	2,04	-3,18
H	8,0	1,97	1,0	1,28	2,51	0,0	1,0	2,0	1,0	3,32	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,23	0,94	-3,18
L	7,5	1,63	1,0	1,15	0,0	1,45	1,0	2,40	2,70	3,20	2,04	0,70	0,70	0,70	0,70	0,36	0,15	-3,18
JS	10,4	1,66	3,12	2,65	0,48	0,0	1,0	1,0	2,78	1,0	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,0	0,73	-3,18
KS	10,5	1,48	3,07	2,56	0,90	1,70	1,0	1,0	2,30	1,0	2,25	0,70	0,70	0,70	0,70	0,0	0,99	-3,18
BO	8,0	1,50	0,84	1,99	2,36	0,0	1,0	1,0	3,04	2,87	0,70	0,70	1,70	0,70	0,70	0,0	0,0	-3,18
ET	7,7	1,38	1,34	1,96	2,34	0,0	1,0	1,0	2,78	3,09	0,70	0,70	1,70	0,70	0,70	0,0	0,0	-3,18
R1	7,7	1,79	2,40	2,46	3,14	0,0	4,25	1,0	2,90	3,89	2,60	1,90	2,84	2,25	0,70	0,0	0,54	-1,0
R2	7,6	2,44	2,99	2,57	3,01	2,0	4,50	1,0	2,60	3,61	1,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,32	0,74	-1,1

Résultats de l'Analyse en Composantes Principales sur une partie des échantillons : 17 observations, 15 variables chimiques. Les paramètres toxicologiques ont été entrés comme variables supplémentaires.

Coordonnées des variables physico-chimiques

Variables	Axe1	Axe 2	Axe 3	Axe 4
PH	0,0216	0,4676	0,6928	0,0620
DCO	-0,3054	-0,5056	0,1514	0,5245
CHL	0,3674	0,6686	0,1582	0,4558
CAL	0,2789	0,6599	0,2413	0,1454
SUL	-0,3630	0,5219	-0,4997	-0,0205
CN	0,4355	0,0056	0,1904	0,5959
HC	-0,6892	0,1826	-0,2119	0,5234
PHE	0,0726	-0,8057	0,3568	0,0677
HG	0,2767	0,1815	-0,6149	0,3603
AS	-0,6537	0,0217	-0,2046	-0,0175
ZN	-0,5555	-0,3182	0,4736	0,3689
CU	-0,5017	0,5395	0,2290	-0,0390
PB	-0,7973	0,0075	-0,1067	-0,1301
CR	-0,7873	-0,0082	-0,1032	0,1893
CD	-0,4642	0,3563	0,6082	-0,3430

Coordonnées des individus

Individus	Axe 1	Axe 2	Axe 3	Axe 4
A	0,4053	0,0979	0,2394	0,1084
B1	0,1240	0,0422	0,2450	0,0987
B2	0,0483	0,2233	0,0001	0,0020
C1	0,3479	0,1612	0,3498	0,0825
C2	0,2135	0,0359	0,0012	0,0839
D	0,3332	0,4725	0,0273	0,0005
E1	0,0031	0,6569	0,1315	0,0047
E2	0,3986	0,1669	0,0990	0,0482
F	0,0399	0,0648	0,0054	0,0012
H	0,0080	0,1291	0,0019	0,3295
L	0,1563	0,3802	0,0026	0,0004
JS	0,5527	0,0979	0,0213	0,0026
KS	0,5009	0,0664	0,1419	0,0592
BO	0,0646	0,0057	0,4174	0,3105
ET	0,0725	0,0235	0,4273	0,3636
R1	0,4751	0,1601	0,1565	0,0607
R2	0,0106	0,0921	0,0550	0,4348

Corrélation (r) des paramètres toxicologiques avec les axes

	Axe (contribution en % à la variabilité expliquée)				
	1	2	3	4	5
	(24,3)	(19,1)	(14,2)	(10,5)	(8,6)
Microtox (MIC)	-0,454	-0,490	0,492	0,137	-0,196
Algue (ALG)	-0,369	-0,212	0,608	0,130	-0,302
Génotoxicité (GEN)	-0,505	0,008	-0,354	0,483	0,129

**THE ENVIRONMENTAL RISKS OF INDUSTRIAL WASTE DISPOSAL :
AN EXPERIMENTAL APPROACH INCLUDING ACUTE AND
CHRONIC TOXICITY STUDIES**

LAMBOLEZ L., FERARD J.F., VASSEUR P. et GISBERT T.

Accepté pour publication en décembre 1993 dans

Ecotoxicology Environmental Safety

THE ENVIRONMENTAL RISKS OF INDUSTRIAL WASTE DISPOSAL : AN EXPERIMENTAL
APPROACH INCLUDING ACUTE AND CHRONIC TOXICITY STUDIES

L. LAMBOLEZ°, P. VASSEUR°\$, J.F. FERARD° and T. GISBERT*

° *Centre des Sciences de l'Environnement*

BP 4025 57040 Metz Cedex France

* *Société France Déchets*

BP 29 78440 Gargenville France

\$ to whom correspondence should be adressed

ABSTRACT

The toxicity of 15 leachates of various solid industrial wastes accepted in an engineered landfill has been studied. A cost-effective battery of tests allowing evaluation of acute and chronic toxicity, as well as genotoxicity, and investigations on different trophic levels in the aquatic environment has been used.

Acute toxicity was tested on bacteria (Microtox assay with *Photobacterium phosphoreum*) and microcrustaceans (*Daphnia magna* immobilization assay). A growth inhibition test of microalgae was carried out on *Raphidocelis subcapitata*. A 28-day chronic test with *Daphnia magna* was used to detect effects on reproduction. Genotoxicity was evaluated by means of the Ames test conducted on the crude aqueous phase and also on the concentrated fractions of water-extractable micropollutants (liquid-liquid and freeze dried extracts). Chemical analyses of leachates were carried out simultaneously.

The toxicity varied greatly between the different wastes. Toxic effects were observed in the short and/or in the long term. Four samples were potentially genotoxic. In most cases, toxicity registered could not be correlated with results of the chemical analyses. This study demonstrates the usefulness of associating a toxicological monitoring with chemical analyses in waste management.

INTRODUCTION

Manufacturing and industrial processes generate final waste products which have to be safely eliminated in order to insure a high level of protection for the environment and public health. Hazardous solid residues are generally discharged into controlled landfills ; these sites must fulfill the requirements for the prevention of ground and surface water pollution : low coefficient of soil permeability, suitable hydrogeological characteristics of the site, landfill cover, etc. The quality of the wastes accepted on the site and the micropollutants which are potentially extractable from the bulk waste by leaching, are also controlled. At present, physico-chemical analyses are the only controls required by regulation. But this strategy suffers from some criticisms :

- analyses are not exhaustive because leachates are complex mixtures of micropollutants, whose composition is difficult to determine. Moreover, the identification of some organic micropollutants may be problematic,

- as micropollutants may interact synergistically or antagonistically, the combined effects of micropollutants cannot be predicted by chemical analyses .

Thus chemical analyses are not sufficient to predict environmental risks and ought to be complemented by toxicological studies.

The objectives of this work were to study the toxicity of leachates of solid industrial wastes accepted in an engineered landfill and to demonstrate the usefulness of including toxicity studies in industrial waste management. We used a cost effective set of tests in order to evaluate acute and chronic toxicity, as well as genotoxicity of leachates and to simultaneously investigate different trophic levels in the aquatic environment : bacteria, microcrustaceans, microalgae.

Only a few toxicity studies have been carried out in this field. Acute toxicity of landfill leachates has been investigated on different organisms : bacteria, microcrustaceans, fishes (Walsh et al., 1982, 1983 ; Atwater et al., 1983 ; Neufeld and Wallach, 1984 ; Plotkin and Ram, 1984 ; Mezzanotte et al., 1988). Chronic toxicity studies with algae have been reported by Walsh et al. (1982, 1983). Only recently authors interested in mutagenicity : Mezzanotte et al. (1988) and Silkowski et al. (1992) studied leachates of incinerator ashes, and Bessi et al. (1992) various industrial solid wastes. But toxicity profiles of leachates of solid wastes including both acute and chronic effects on different trophic levels and, at the same time, the mutagenicity have not yet been examined.

In this study, the water extractable fraction of 15 solid industrial wastes accepted in a controlled landfill were tested for their toxicity. Acute toxicity was evaluated by means of the Microtox test and the 24 hour *Daphnia magna* immobilization test. Chronic toxicity was investigated on microalgae, *Raphidocelis subcapitata*, through a growth inhibition test and on microcrustaceans, *Daphnia magna*, with a 28-day reproduction inhibition test. Genotoxicity was evaluated by means of the Ames test carried out on the crude aqueous phase and on the concentrated fractions obtained by liquid-liquid extraction and lyophilization. Physico-chemical analyses were simultaneously conducted on the leachate.

MATERIALS AND METHODS

Test samples

Sampling and leaching procedure

The 15 wastes tested were classified into five groups according to their origin : residues of industrial waste water treatment consisting of hydroxyde metallic sludges and settled sludges, paint residues, metal industry slags, fly and bottom ashes from municipal or industrial incinerators and various contaminated materials (table 1). Representative samples were taken from the bulk waste before its discharge. Wastes B,C and E were tested twice ; the second samples were taken some months after the first ones in order to estimate how the composition of the wastes generated from one production unit varied with time.

The leachates were prepared by means of a 16 hour extraction with demineralized water (AFNOR, 1988). The solid/liquid ratio was 1/10. After a paper filtration (Laurent filter, n°7), the aqueous extracts were stored at 4°C until testing.

Liquid-liquid extraction and lyophilization

This was carried out in less than four days after the preparation of the leachates.

Liquid-liquid extraction was performed with dichloromethane as the organic solvent (in a 1/10 ratio), at pH 7, 12 and 2. For each pH, extraction was repeated twice. After drying over anhydrous sodium sulphate, all the extracts were combined and the solvent removed on a rotavapor. The residue was dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO). The concentration factor was 80.

The lyophilization was performed with an Hetosicc CD52 lyophilizer. The dried residue was dissolved in distilled water, just before testing. The concentration factor was 40.

Chemical analysis

Chemical parameters required by french regulation were studied in accordance with the standardized analytical methods (AFNOR, 1990) : pH, chemical oxygen demand (NFT 90 101), chloride (NFT 90 014), sulphate and calcium (ICP), cyanide (NFT 90 107), phenols (HPLC) and hydrocarbons (NFT 90 114) as organic compounds ; mercury (AAS), arsenic, zinc, copper, lead, chromium and cadmium by FASS (NFT 90 112) as metals. Sulphite (iodometry technique) and tin (ICP) were evaluated only for the wastes produced by the metal industry (F and G).

Toxicological analysis

Bioassays were undertaken within 24 hours following the preparation of the leachates. The complete set of bioassays was conducted on every crude leachate. Only mutagenicity was tested on the organic and lyophilized concentrated extracts. Except for the *Daphnia magna* reproduction test, all assays were duplicated in separate experiments.

Microtox test

The bacterial luminescence inhibition test was carried out according to Bulich (1979) at 15°C on leachates whose pH was adjusted between 7 and 8. The lyophilized bacterial reagent was supplied by Microbics.

24-hour immobilization test on daphnids

The immobilization test was carried out according to the ISO 6341 method (1989). Daphnids were between 48 and 72 hour old at the beginning of the test. Validity criteria were fulfilled in every test.

28 day inhibition reproduction test on daphnia

Two ways of intoxication were used.

Intoxication through the culture medium. The synthetic medium (1/5 Lefevre Czarda medium and 4/5 mineral water) was supplemented with 56 mg/l $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ and 415 mg/l $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ in order to fulfill hardness requirements. The medium and the food were renewed twice a week. The food consisted of a mixture of *Chlorella vulgaris* ($1.2 \cdot 10^7$ cells/day/daphnid) and *Raphidocelis subcapitata* ($0.2 \cdot 10^7$ cells/day/daphnid). Controls and assays were conducted simultaneously on 8 randomly selected 24 hour old neonates per replicate in 1 l beakers containing 400 ml of medium. The concentrations of the leachate tested corresponded to 4/100, 1/10 and 4/10 fractions of the EC_{50} 24h value. But in all cases, maximum concentrations tested were 20% in volume of the leachate in the medium. During the first week, the concentrations of leachate were progressively increased up to the desired concentration (33%, 66%, 100%), to insure an acclimatization of the daphnids to the tested medium. Each concentration was tested in duplicate.

Intoxication through the food chain. This method was only used for leachates A, B1, H, I and J. It differed from the last one, in that the food of the daphnids and not the medium, was contaminated. Microalgae were grown during 48 hours in their culture medium supplemented with the leachate and then distributed to the microcrustaceans. This method was given up after these five experiments due to the algal toxicity of some diluted leachates : the contaminated biomass could scarcely be obtained in sufficient amounts to insure the feeding of daphnids during several weeks.

Algal growth inhibition test

This bioassay was conducted on *Raphidocelis subcapitata* previously called *Selenastrum capricornutum* (Nygaard et al., 1986) according to the OECD standard method (OECD 201, 1984) and applied with slight modifications : Na_2EDTA , which could complex the inorganic toxicants of the leachates was omitted from the test medium ; the inoculum was 2×10^4 cells/ml. The microplate method was used as described by Blaise et al. (1986).

Mutagenicity test

Mutagenicity was evaluated using *Salmonella typhimurium* his⁻, strains TA 97a, TA 98, TA 100 and TA 102, which were supplied by B.N. Ames. The bioassays were carried out according to Maron and Ames (1983). Each experiment was performed with and without enzyme activation. The crude samples and freeze-dried fractions were filtered through a 0.2- μm membrane to ensure sterility. Microsomal enzymes for the metabolic activation (S9) were obtained from rats (Sprague-Dawley) induced with Aroclor 1254. 2.5% S₉ mix were chosen in all experiments. Direct positive controls were 9-aminoacridine (40 $\mu\text{g}/\text{plate}$) for TA 97a, 2-nitrofluorene (0.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$) for TA 98, sodium azide (2.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$) for TA 100 and cumene hydroperoxyde (75 $\mu\text{g}/\text{plate}$) for TA 102. The performance of the metabolic enzyme activity of the S₉ mix was checked with benzo(a)pyrene (1 $\mu\text{g}/\text{plate}$) for TA 97a, TA 98, TA 100 and 1,8-dihydroxyanthraquinone (50 $\mu\text{g}/\text{plate}$) for TA 102. Dimethyl sulfoxide and sterilized demineralized water were used as negative controls. Results were expressed in the volume of equivalent effluent (in ml) giving a positive response.

Results analysis

EC₅₀ calculation

All EC₅₀ values were calculated by graphical interpolation. They correspond to the concentrations that would inhibit by 50% bacterial luminescence, algal growth, daphnid mobility or productivity.

Principal component analysis

The analysis was performed with the STAT-ITCF computer program on the chemical, Microtox, algae and genotoxicity results. The toxicological results were entered as supplementary variables. Sample G, which was the most toxic leachate with very high organic, salt and metal contents, and sample J, whose chemical data were incomplete, were omitted from the analysis for these reasons.

RESULTS

Toxicity of leachates

The toxicity responses obtained with the five groups of waste are presented in table 2. The highest acute and chronic toxicity responses expressed as EC₅₀ values corresponded respectively to 0.06% and 0.0005%. Except for the sample A, all the residues were toxic to Microtox. However, most of Microtox-EC₅₀ values were higher than 10%. All the wastes affected the growth of the algae : some wastes displayed very high toxicity with EC₅₀ values lower than 0.1%. Algae appeared very sensitive to leachates compared to bacteria or daphnids. Reproduction of *Daphnia magna* was not modified

when intoxication was applied through the food but obvious effects were observed when leachates were added to the culture medium. EC_{50} values vary between 0,37% and > 20%.

The 15 crude eluates tested for their mutagenicity gave negative responses, with and without metabolic activation. In contrast, mutagenicity tests performed on concentrated extracts revealed that positive responses could be obtained with 4 wastes : two residues corresponded to sludges from waste water depollution, one to slag from metallurgy and one to paint sludge (table 3). In most cases, positive responses were detected by the strain TA98.

Toxicity and origin of residues

The leachates of residues derived from waste water treatment displayed low acute toxicity ($EC_{50} > 10\%$) except for the sample B2, which was quite toxic to *Daphnia magna*. A slight chronic toxicity was recorded with sample A. In contrast, the four other samples inhibited the algal growth and/or the daphnid productivity, and appeared potentially mutagenic. Samples C1 and C2 on one side, B1 and B2 on the other side presented similar toxicity profiles but the degree of their toxicity and genotoxicity was different.

The toxicity of the three paint residues varied also with their origin and sampling. Acute toxicity of paint sludges D and E2 was low, but chronic effects could be observed on algae and daphnids. The paint sludges E1 and E2 were potentially mutagenic (table 3). Great differences were observed between E1 et E2 responses.

Every test species was affected by the leachates generated from metal industry slag. Sample G was the most toxic of the 15 leachates investigated : it induced extremely toxic effects on *Photobacterium phosphoreum*, *Daphnia magna*, *Raphidocelis subcapitata* and was mutagenic.

The sample of bottom ashes from industrial wastes incineration (sample H) was not very toxic. Fly ashes K was particularly toxic on bacteria ($EC_{50} = 0.2\%$) and daphnids (EC_{50} values of acute and chronic tests lower than 5%). None of the four incineration residues displayed mutagenic potential. No toxicity was observed with the soil contaminated with PCBs (sample L).

Chemical results

Chemical results are presented in tables 4a and 4b. Some leachates displayed very high alkalinity. Levels of organic compounds and metals were very low in most eluates. However, non negligible concentrations of metals and a lot of salts were detected in leachates of metal industry and fly ashes residues. The highest concentration in metals were found in the leachate G from metal industry with a concentration of tin of 1330 mg/l. High amounts of lead and zinc were present in leachates of fly ashes ; for instance, the eluate K contained 97 mg/l Pb and 3.5 mg/l Zn. Zinc was also detected in high quantity (22 mg/l) in the leachate of the paint residue E1.

DISCUSSION

This study clearly showed that toxic compounds may be removed from industrial wastes by water leaching. Algae appeared very sensitive to leachates compared to bacteria or daphnids, for all the wastes studied. Two orders of magnitude could be observed between the concentrations inhibiting algal growth and those affecting *Photobacterium* or *Daphnia*. The algal toxicity was probably underestimated, as N and P nutrients of the leachates

were not taken into account in the bioassay. Thus, these kinds of leachates may cause serious damage to phytoplankton.

A higher sensitivity of algae to complex effluents compared with microinvertebrate test or Microtox test was also observed by Walsh *et al.* (1982), Ferard *et al.* (1992) or Costan *et al.* (1993).

Four wastes could produce mutagenic eluates. In this study, negative responses were observed with all the leachates of the incineration residues. These negative responses do not insure the non genotoxic character of this kind of residues because (1) the content in ash residues may vary greatly depending on the composition of the material incinerated and the modalities of the combustion which could generate mutagenic compounds as polyaromatic hydrocarbons (PAHs) (Ramdahl and Becher, 1982) or dioxins (Olie *et al.*, 1982), (2) mutagens can be found in MSW incineration residues when the leaching procedure is performed with an organic solvent (Shane *et al.*, 1990 ; Silkowski *et al.*, 1992).

Except for the leachates G, J and K, whose toxicity could be explained by high concentrations of salts and metals, it appeared very difficult to predict the toxicity degree of leachates from chemical data. For example, leachates A and C1 induced quite different chronic toxicity responses and yet analytical results were similar with low concentrations of organic and metals compounds. The higher concentration of metals in leachate C1 could explain in part the toxicity on microalgae but can not explain the mutagenicity. Another example can be taken with wastes C1 and C2 to demonstrate that toxicity responses were not reflected in analytical results : leachate C2 appeared less mutagenic than extract C1, though its concentration in organic pollutants and chromium was higher than sample C1. Cairns and Niederlehner (1990) underlined that chemical analyses, which are important to document the locations or the concentrations of specific toxicants cannot alone be used to predict toxicity or environmental

effects. This absence of correlation between toxicological and chemical results can be visualized by the principal component analysis, which has been performed on the two sets of results. On figure 1, chemical and toxicological variables were plotted in a two-dimensional space associated with the first two principal components, which represent 50% of the total variability. Toxicological parameters, added as supplementary variables, could not be correlated to any chemical variables. All the correlation coefficients with the first five new factors were lower than 0.55 (table 5).

Criteria for admittance of solid waste in landfills were fixed recently in the EEC (1991) and french (1992) regulatory projects ; these criteria, shown in table 6 consider the physico-chemical parameters of the eluates, without accounting for their biological effects.

According to the french project, residues I and J from incinerators and slag G from metallurgy could be refused for disposal due to their high salt and metal content. This kind of wastes will be in a near future stabilized before landfilling. But all the other wastes, including the residues B, C, E which generate toxic and mutagenic eluates, would be accepted. These kinds of wastes would require also an improved treatment in order to decrease the leaking of potentially toxic compounds.

The criteria defined in the EEC proposal for acceptance of wastes in a landfill either for hazardous or for non hazardous wastes are also based on limit chemical values. In our study, some of the most toxic wastes such as B, C, or E satisfy the eluate requirements to be disposed in sites non specific for hazardous wastes. But such an inappropriate disposal could be harmful for the aquatic environment because security requirements and controls of these sites are not so stringent than for engineered landfills. This points out the drawbacks of a monitoring based exclusively on physico-chemical analysis ; as mentioned above, a toxicological monitoring is

required to predict toxicity and environmental risks. Mezzanotte *et al.* (1988) and Bessi *et al.* (1992) underlined also the importance of toxicological studies as a complement to analytical controls for assessing pollution risks.

CONCLUSION

This study showed that leaching of solid wastes accepted in controlled landfills could lead to the removal of toxic substances that could not be detected by an analytical control. Toxicity of leachates varied greatly between the different wastes but also between sampling and could be hardly predicted from the nature or the origin of the waste. Toxic effects were observed in the short and/or in the long term. Genotoxicity studies revealed that 4 samples contained mutagenic components. In this study, algae appeared the most sensitive organism, compared with bacteria and microcrustaceans.

The usefulness of associating a toxicological monitoring with physico-chemical analyses in waste management was demonstrated.

The cost effective set of non redundant bioassays, we propose, include short term and chronic toxicity tests on bacteria, microalgae, microcrustaceans, and the Ames test as a genotoxicity bioassay. Such an approach to the toxicity of solid industrial waste could be applied to control the efficiency of waste treatments before their discharge into landfills. The best treatment would lead to a complete immobilization of toxic micropollutants and would result in a leachate devoid of toxicity.

This approach could also be used for controlling the quality of runoff and ground waters around the disposal site in order to check the efficiency of

geological and synthetic barriers of landfill and to insure that no environmental contamination would arise from waste disposal.

REFERENCES

- AFNOR, 1988. Essai de lixiviation, norme expérimentale T 95J.
- AFNOR, 1990. Eaux, méthodes d'essais. ISBN 2-12-179041-1 (4^e édition).
- ATWATER J.W., JASPER S., MAVINIC D.S., and KOCH F.A., 1983. Experiments using *Daphnia* to measure landfill leachate toxicity. *Wat. Res.* 17, 1855-1861.
- BESSI H., FERARD J.F., VASSEUR P., COLIN F., and BELKHADIR E., 1992. Genotoxicity of hazardous leachates from solid wastes evaluated for environmental impact with the Ames test. *Environ. Toxicol. Wat. Quality* 7, 71-86.
- BLAISE C., LEGAULT R., BERMINGHAM N., VAN COILLIE R., and VASSEUR P., 1986. A simple microplate algal assay technique for aquatic toxicity assessment. *Toxic. Assess.* 1, 261-281.
- BULICH A.A., 1979. Use of luminescent bacteria for determining toxicity. In *Aquatic Toxicology* (H.G. Eaton, P.R. Parish and A.C. Hendricks, Eds.), ASTM, Philadelphia STP 667, 171-180.
- CAIRNS J. JR., AND NIEDERLEHNER B.R., 1990. Biological monitoring of hazardous waste sites. *Comments Toxicol.* 3, 493-508.

COSTAN G., BERMINGHAM N., BLAISE C., and FERARD J.F., 1993. Potential Ecotoxic Effects Probe (PEEP) : a novel index to assess and compare the toxic potential of industrial effluents. *Environ. Toxicol. Wat. Quality* 8, in press.

FERARD J.F., COSTAN G., BERMINGHAM N., and BLAISE C., 1992. Comparative assessment of effluents with the *Ceriodaphnia dubia* and *Selenastrum capricornutum* chronic toxicity tests. SETAC meeting " Bioremediation - Toxicology - Environmental fate - Ecology", 21 to 24 June 1992, Postdam, Germany.

FRANCIS C.W., and WHITE G.H., 1987. Leaching of toxic metals from incinerator ashes. *JWPCF* 59, 979-986.

ISO, 1989. Water quality - Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea). ISO 6341.

MARON D.M., and AMES B.N., 1983. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mut. Res.* 113, 173-215.

MEZZANOTTE V., SORA S., VIGANO L., and VISMARA R., 1988. Using bioassays to evaluate the toxic and mutagenic properties of landfill leachate. In *ISWA Proceedings*, volume 1, pp. 131-136.

NEUFELD R.D., and WALLACH S., 1984. Chemical and toxicity analysis of leachates from coal conversion solid wastes. *JWPCF* 56, 266-273.

NYGAARD G., KOMAREK T., KRISTIANSEN J., and SKULBERG O.M., 1986. Taxonomic designation of the bioassay alga NIVA-Chl1 (*Selenastrum capricornutum*) and some related strains. *Opera Botanica* 90, 1-46.

OECD, 1984. Inhibition assay with respect to the growth of algae. N° 201.

OLIE K., LUSTENHOUWER J.W.A., and HUTZINGER O., 1982. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and related compounds in incinerator effluents. In *Chlorinated Dioxins and Related Compounds : Impact on the Environment* (O. Hutzinger, R.W. Frei, E. Merian and F. Pocchiari, Eds). Pergamon Press, Oxford, 227.

PLOTKIN S., and RAM N.M., 1984. Multiple bioassays to assess the toxicity of a sanitary landfill leachate. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 13, 197-206.

Proposal of Council Directive 91/C 190/01 of 23 April 1991 on the landfill of waste. Official Journal of the European Communities n° C 190, July 22, 1991.

Proposal of french regulation of 25 March 1992 on the landfill of waste. Ministry of Environment, Paris.

RAMDAHL T., and BECHER G., 1982. Characterization of polynuclear aromatic hydrocarbon derivatives in emissions from wood and cereal straw combustion. *Analytica Chimica Acta* 144, 83-91.

SHANE B.S., HENRY C.B., HOTCHKISS J.H., KLAUSNER K.A., GUTENMANN W.H., and D.J. LISK, 1990. Organic toxicants and mutagens in ashes from eighteen municipal refuse incinerators. *Arch. Environ. Contam.* 19, 665-673.

SILKOWSKI M.A., SMITH S.R., and PLEWA M.J., 1992. Analysis of the genotoxicity of municipal solid waste incinerator ash. *Sci. Total Environ.* 111, 109-124.

WALSH G.E., DUKE K.M., and FOSTER R.B., 1982. Algae and crustaceans as indicators of bioactivity of industrial wastes. *Wat. Res.* 16, 879-883.

WALSH G.E., and GARNAS R.L., 1983. Determination of bioactivity of chemical fractions of liquid wastes using freshwater and saltwater algae and crustaceans. *Environ. Sci. Technol.* 17, 180-182.

Table 1 : Origin of the solid industrial wastes studied

Residues from industrial waste water treatment	
A	Hydroxyde chemical sludges from steel industry
B1 , B2	Settled sludges from chemical treatment of a chemical industry
C1 , C2	Hydroxyde chemical sludges from surface treatment
Residues from paint waste	
D	Paint sludge
E1 , E2	Paint sludge
Residues from the metal industry	
F	Slag from non ferrous metal smelting
G	Slag from battery production
Residues from incineration	
H	Bottom ashes from industrial wastes incineration
I	Fly ashes from Municipal Solid Waste (MSW) incineration
J	Fly ashes from MSW incineration
K	Fly ashes from MSW incineration
Contaminated materials	
L	Contaminated soil with PCBs

expressed as the percentage of leachate in the test medium inhibiting by 50% bacterial fluorescence, algal growth, mobility and productivity of daphnids.

Residues from	Sample	ACUTE TOXICITY		CHRONIC TOXICITY		MUTAGENICITY
		Microtox EC50-30min	Daphnia immobilization EC50-24h	Algae EC50-72h	Daphnia range of EC50-28d	
industrial waste water treatment	A	NT ^a	ND ^b	22.6 ± 13.6	NT _f ^c	- ^d
	B ₁	23.8 ± 0	ND	7.5 ± 3.5	NT _f	+ ^e
	B ₂	24.8 ± 3.0	2.9 ± 0.4	1.80 ± 0.03	1.2-2.9	+
	C ₁	11.5 ± 0.4	17.8 ± 0.5	0.70 ± 0.01	0.7-1.7	+
	C ₂	21.6 ± 4.8	55.5	2.6 ± 0	1-5	+
paint waste	D	18.5 ± 0.5	40.1 ± 2.3	3.1 ± 0.5	>18	-
	E ₁	1.7 ± 0.2	ND	0.055	NT _f	+
	E ₂	15.1 ± 0.3	NT	4.9 ± 0.8	5-20	+
metal industry	F	15.1 ± 2.3	2.5 ± 0.3	0.80 ± 0.03	1.2-2.5	-
	G	0.06	0.6	0.0005	0.2-0.6	+
incineration	H	61.6 ± 41.4	ND	12.7 ± 0.3	NT _f	-
	I	16.3 ± 4.0	ND	5.4 ± 0.3	NT _f	-
	J	2.0 ± 0.9	ND	0.145	NT _f	-
	K	0.2 ± 0.1	4.3 ± 0.9	0.015 ± 0.003	1-4.3	-
contaminated materials	L	45.0 ± 7.1	NT	74.1 ± 3.9	>20	-

a : non toxic

b : not determined

c : non toxic with an intoxication through the food chain

d : negative response with crude, organic and lyophilized extracts

e : positive response observed with organic or/and lyophilized extracts

Table 3 : Equivalent effluent in ml of the two concentrated fractions giving a positive response with the Ames test with and without metabolic activation. Strains tested : TA 97a, TA 98, TA 100, TA 102. Each assay was duplicated. Negative responses are indicated by (-).

Nature of waste		Most sensitive strain	Organic extract		Most sensitive strain	Freeze dried extract	
			-S9	+S9		-S9	+S9
B1	I	TA 98	0.6	2.5	TA 98	-	15
	II	TA 98	0.6	2.5	TA 98	-	15
B2	I	TA 97	-	7.5	TA 98	-	15
	II	TA 98	-	12.5	TA 98	-	15
C1	I	TA 98	-	6.2	TA 98	7.5	7.5
	II	TA 98	-	6.2	TA 98	-	7.5
C2	I	TA 98	-	-	TA 98	-	15
	II	TA 98	-	12.5	TA 98	-	15
E1	I	TA 97	2.5	12.5		-	-
	II	TA 97	6.2	-		-	-
E2	I	TA 98	T ^a	-		-	-
	II	TA 98	T	6.2		-	-
G	I	TA 100	T	6.2		ND ^b	ND
	II	TA 98	T	>5		ND	ND

a : toxic

b : not determined

Table 4a : Physico-chemical characteristics of leachates from waste water treatment and paint residues. The concentrations are expressed in mg/l.

Parameter	Waste water treatment residues					Paint residues		
	A	B1	B2	C1	C2	D	E1	E2
pH	7.3	12.4	10.2	12.2	11.3	7.6	7.1	7.5
COD ^a	26	1094	355	32	264	670	990	624
Chloride	194	72	96	63	54	5	17	18
Sulphate	384	63	249	90	140	78	1	38
Calcium	132	498	150	300	23	5	35	7
Hydrocarbons	<0.1	<0.1	<0.1	0.83	1.3	1.1	<0.1	3.9
Phenols	<0.1	1.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.2	1.0	<0.1
Mercury	0.0006	0.0002	0.0006	<0.0001	0.0006	0.0001	0.0001	0.0005
Arsenic	0.0001	0.0007	0.0036	0.0029	0.0007	0.0006	0.0003	0.0005
Cyanide	<0.01	0.015	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
Zinc	<0.05	0.05	0.05	1.5	0.19	0.14	22	1.05
Copper	<0.05	<0.05	1.09	0.27	0.11	<0.05	<0.05	<0.05
Lead	<0.05	<0.05	0.08	0.38	<0.05	0.12	0.05	0.63
Chromium	<0.05	<0.05	<0.05	0.05	0.34	0.26	<0.05	0.08
Cadmium	<0.05	<0.05	<0.05	0.08	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

a : expressed in mg O₂/l

Table 4b : Physico-chemical characteristics of leachates from metal industry and incineration residues and contaminated materials (CM). The concentrations are expressed in mg/l.

Parameter	Metal industry residues		Incineration residues				CM
	F	G	H	I	J	K	L
pH	10.2	12.3	8.0	11.7	11.3	12.3	7.5
COD ^a	236	6317	94	266	- ^b	284	43
Chloride	1222	370	10	6100	13850	16400	10
Sulphate	80	380500	324	1779	852	2154	<1
Calcium	8.3	5.4	19	1180	6470	7875	14
Hydrocarbons	<0.1	0.75	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
Phenols	<0.1	<0.1	0.1	<0.1	-	<0.1	0.25
Mercury	0.0004	<0.0001	<0.0001	0.0003	0.0119	0.0170	0.0005
Arsenic	0.0004	-	0.0021	<0.0001	0.0001	<0.0001	0.0016
Cyanide	<0.01	<0.01	<0.01	0.04	-	<0.01	0.03
Zinc	0.06	0.18	<0.05	0.6	1.16	3.50	0.11
Copper	0.16	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Lead	<0.05	<0.05	<0.05	1.3	21.7	97	<0.05
Chromium	<0.05	<0.05	<0.05	0.09	<0.05	<0.05	<0.05
Cadmium	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Tin	<0.05	1330	-	-	-	-	-
Sulfide	0.06	4560	-	-	-	-	-

a : expressed in mg O₂/l

b : not evaluated

Table 5 : Correlation coefficients of toxicity parameters with the first five new factors in the principal component analysis. Toxicity data were entered as supplementary variables.

Toxicological parameter	Principal component (contribution in % to the explained variability)				
	1 (29.3)	2 (20.6)	3 (14.9)	4 (10.5)	5 (7.5)
Microtox (MIC)	0.412	0.059	-0.518	-0.282	-0.402
Algae (ALG)	0.538	0.140	-0.274	-0.015	-0.419
Genotoxicity (GEN)	0.118	-0.269	0.250	0.291	0.504

Table 6 : Chemical criteria of the eluates for admittance of solid waste in landfill in the EEC and French regulatory projects on waste.

Parameter in mg/l	French project		EEC project	
	Stabilized waste	Non stabilized waste	Hazardous waste	Non hazardous waste
pH	4-13	4-13	4-13	4-13
COD	200	ND	40-200 ^b	<200
Chloride	ND ^a	ND	1200-1600	ND
Sulphate	ND	ND	200-1000	<1000
Calcium	ND	ND	ND	ND
Arsenic	0.5	1	0.2-1	0.1-0.2
Phenols	10	20	20-100	10-20
Cyanide	0.5	1	0.2-1	0.1-0.2
Mercury	0.5	1	0.02-0.1	)
Zinc	25	50	2-10	)
Copper	ND	ND	2-10	)
Lead	5	10-50	0.4-2	)
Chromium	5	10	0.1-0.6 ^c	)
Cadmium	2.5	5-10	0.1-0.5	)

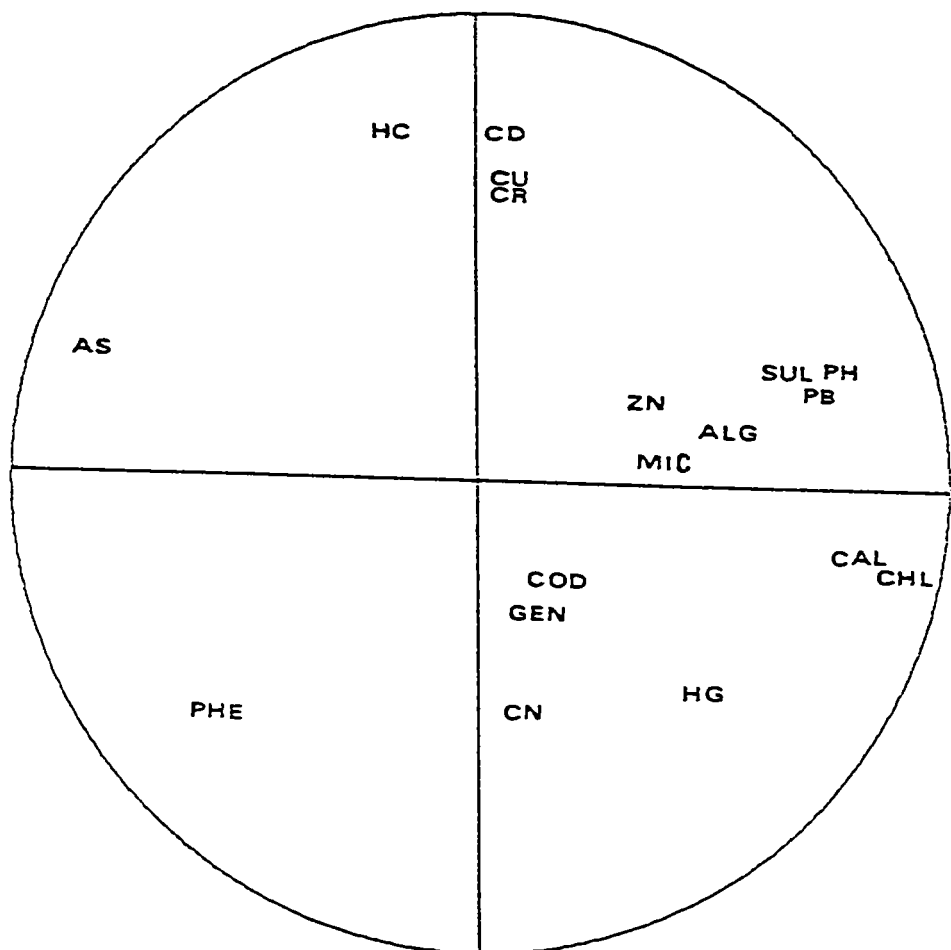
a : not determined

b : TOC

c : Cr^{VI}

Figure 1 : Representation of the chemical and toxicological variables in the two-dimensional space associated with the first two principal components. Toxicological variables were entered as supplementary variables.

PH : pH. COD, CHL : chloride, SUL : sulphate, CAL : calcium, HC : hydrocarbons, PHE : phenols, HG : mercury, AS : arsenic, CN : cyanide, ZN : zinc, CU : copper, PB : lead, CR : chromium, CD : cadmium, MIC : Microtox-EC₅₀, ALG : algae-EC₅₀, GEN : genotoxicity.



RESUME

ETUDE DES RELATIONS MOBILITE-BIODISPONIBILITE-TOXICITE DES MICROPOLLUANTS PRESENTS DANS LES DECHETS INDUSTRIELS. APPLICATION A LA GESTION DES CENTRES D'ENFOUISSEMENT TECHNIQUE (C.E.T.) DE CLASSE I.

Dans ce travail, nous nous sommes focalisés sur l'étude de la toxicité, vis à vis des organismes aquatiques, des polluants présents dans les déchets industriels admis en C.E.T. de classe I.

La toxicité de la fraction lixiviable de 12 déchets de diverses origines a été testée. De même, l'étude de la toxicité des percolats de décharge ainsi que des eaux de surface aux alentours d'un site a été entreprise.

La toxicité a été évaluée à l'aide d'une batterie de cinq tests non redondants impliquant plusieurs organismes représentatifs de différents niveaux trophiques des écosystèmes aquatiques et permettant de juger de la toxicité aiguë -test d'inhibition de la luminescence de *Photobacterium phosphoreum*, test d'immobilisation de *Daphnia magna*- et chronique -test d'inhibition de la croissance de l'algue *Raphidocelis subcapitata*, test de reproduction de *Daphnia magna*- incluant la génotoxicité -test de mutagénèse sur *Salmonella typhimurium* his⁻-. Des analyses chimiques exigées par la réglementation pour le contrôle de la gestion des déchets ont été effectuées en parallèle.

Il ressort de cette étude que :

- une fraction toxique non négligeable peut être éluee de certains déchets sans qu'une relation entre l'origine du résidu et son potentiel toxique ne puisse être mise en évidence,
- les processus de solidification/stabilisation peuvent conduire à une réduction importante de la charge toxique lixiviable : c'est le cas avec les résidus issus des fumées d'incinération des ordures ménagères stabilisés à l'aide de ciment,
- il est difficile de prévoir la toxicité à partir du bilan physico-chimique et ce d'autant plus que les niveaux de concentrations des polluants analysés sont faibles,
- les effets toxiques peuvent être observés à court et/ou à long terme ; il est dans tous les cas impossible d'évaluer les effets chroniques à partir des tests de toxicité aiguë.

L'ensemble des résultats milite en faveur de l'association de critères biologiques aux critères analytiques utilisés pour la gestion des déchets. Ces essais de toxicité constitueront la seule garantie évidente de l'efficacité des systèmes de prévention de la pollution mis en oeuvre au niveau des centres de stockage.

La stratégie d'évaluation du risque proposée dans cette étude est applicable à d'autres situations concernant le contrôle de la pollution liée à des sols contaminés ou la gestion des rejets environnementaux en général.