

**Centre d'expertise
en analyse environnementale
du Québec**

**Critère écotoxicologique pour la valorisation
des matières résiduelles fertilisantes**

Ce protocole a été préparé par le Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (CEAEQ), en collaboration avec le Service de l'assainissement agricole et des activités de compostage du Ministère de l'Environnement. Cette édition a été produite par le Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec. Les personnes qui désirent faire part de leurs commentaires sur le présent document sont priées de contacter le CEAEQ.

Responsable de la publication

Raynald Chassé, CEAEQ, division Ecotoxicologie et évaluation

Révision

Louis Martel, CEAEQ, division Ecotoxicologie et évaluation

Recherche et rédaction

Raynald Chassé, CEAEQ, division Ecotoxicologie et évaluation

Christian Bastien, CEAEQ, division Microbiologie et biologie

Sandrine Debaen, Université de Sherbrooke

Marc Hébert, Service de l'assainissement agricole et des activités de compostage

Ce protocole décrit un critère écotoxicologique utilisé pour évaluer les matières résiduelles fertilisantes en concentrations équivalentes à celles épandues en milieu agricole, conformément au guide pour la valorisation des matières résiduelles fertilisantes.

Pour information :

Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec
Service de l'analyse et de l'étude de la qualité du milieu
Division Écotoxicologie et évaluation
Complexe scientifique - 2700, rue Einstein
Sainte-Foy (Québec) G1P 3W8

Téléphone : (418) 643-8225

Télécopieur : (418) 528-1091

Courriel : ceaeq@menv.gouv.qc.ca

Internet : www.menv.gouv.qc.ca/ceaeq

Ce document doit être cité de la façon suivante :

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC, 2003, *Critère écotoxicologique pour la valorisation des matières résiduelles fertilisantes*. Ministère de l'Environnement du Québec, 13 p.

ISBN 2-550-41562-0

Dépôt légal – Bibliothèque nationale du Québec, 2003

Dépôt légal – Bibliothèque nationale du Canada, 2003

ENVIRODOQ : ENV/2003/0331

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	5
1. DOMAINE D'APPLICATION	5
2. PRINCIPE ET THÉORIE	5
3. FIABILITÉ	6
4. ÉCHANTILLONNAGE	6
4.1. Prélèvement	6
4.2. Conservation	6
5. PROTOCOLE ANALYTIQUE	6
5.1. Sol de référence	6
5.2. Préparation des échantillons	7
5.2.1. Échantillons solides	7
5.2.2. Échantillons liquides	8
5.2.3. Prélèvement de sous-échantillons	8
5.2.4. Humidification du mélange MRF-sol (tests avec le ver de terre et l'orge)	8
5.2.5. Lixiviation à l'eau (test avec la bactérie bioluminescente)	8
5.3. Tests de toxicité	9
6. COMPARAISON AVEC LES VALEURS LIMITES	9
7. BIBLIOGRAPHIE	10
ANNEXE I	11

INTRODUCTION

Les matières résiduelles fertilisantes (MRF) sont des matières ou objets périmés, rebutés ou autrement rejetés, dont l'emploi est destiné à entretenir ou à améliorer, séparément ou simultanément, la nutrition des végétaux ainsi que les propriétés physiques et chimiques de même que l'activité biologique des sols (MENV, 2002).

Malgré les avantages que procure l'épandage des MRF sur les terres agricoles, l'innocuité de ce procédé doit être assurée. Le ministère de l'Environnement du Québec a élaboré un guide pour la valorisation des matières résiduelles fertilisantes afin d'encadrer les activités d'épandage et d'entreposage et d'établir des valeurs limites en contaminants inorganiques, organiques et biologiques.

Ce protocole décrit un critère écotoxicologique mis au point en guise de complément au guide. Il constitue un outil intégrateur qui permet d'évaluer globalement les caractéristiques d'une MRF. Par conséquent, il fournit un niveau de protection additionnelle en visant à détecter la présence de contaminants chimiques inconnus ou non analysés.

Ce critère écotoxicologique s'appuie sur une étude comparative de la toxicité des MRF avec celle des matières fertilisantes dites traditionnelles (engrais de ferme) à l'aide d'une batterie de tests de toxicité en phase solide et en phase liquide (Chassé *et al.*, 2003).

1. DOMAINE D'APPLICATION

Le critère est utilisé pour évaluer les MRF en concentrations équivalentes à celles épandues en milieu agricole conformément au guide pour la valorisation des matières résiduelles fertilisantes. Il vise principalement les résidus industriels et municipaux dont la valeur agronomique comme amendement du sol ou engrais a été reconnue. Cependant, le test d'orge peut, dans certains cas, confirmer par lui-même la valeur fertilisante de certaines MRF (stimulation de la croissance).

2. PRINCIPE ET THÉORIE

Les MRF, tout comme les engrais de ferme ou les sols dans lesquels elles sont incorporées, sont des matrices complexes composées de nombreux constituants dont les propriétés physico-chimiques sont différentes et variables. Ces constituants présentent différentes capacités d'interaction avec les contaminants et régissent la répartition et la forme physico-chimique de ces derniers dans les phases du sol (gazeuse, aqueuse et solide).

Toutes ces formes sont en interrelation et l'importance de chacune dépend du type de matrice, des propriétés physico-chimiques des molécules en présence et des facteurs externes auxquels les matrices peuvent être soumises (Jauzein *et al.*, 1999). La mobilité, la biodisponibilité et, par conséquent, la toxicité des contaminants en sont dépendantes.

Un test de toxicité est une analyse qui permet de détecter et de quantifier la toxicité d'un échantillon donné par la mesure d'une réponse biologique. Ce type de test présente l'avantage d'intégrer l'effet des substances toxiques multiples aux différentes caractéristiques physico-chimiques de l'échantillon et d'exprimer le tout en termes de toxicité.

L'utilisation de trois tests de toxicité dans le contexte de ce critère permet donc d'évaluer le potentiel toxique des MRF pour les organismes terrestres et aquatiques. Ces tests de toxicité sont : inhibition de la germination et croissance de l'orge (*Hordeum vulgare*), mortalité du ver *Eisenia andrei* et

inhibition de la bioluminescence de la bactérie *Vibrio fischeri* (Microtox®). Ces tests de toxicité sont relativement simples d'application et sont en usage dans des laboratoires accrédités du ministère de l'Environnement.

3. FIABILITÉ

Par leur nature et leur origine diverse, les MRF sont des matrices complexes relativement difficiles à caractériser au plan écotoxicologique. Le critère actuel est fondé sur une étude écotoxicologique comparative réalisée avec une vingtaine d'échantillons de fumier de bovin et de lisier de porc (Chassé *et al.*, 2003). Ce critère écotoxicologique représente une mesure de protection complémentaire aux critères chimiques visant essentiellement à détecter la présence de contaminants qui ne pourraient l'être par l'entremise des analyses chimiques courantes prévues par le guide. Cette capacité à détecter les contaminants en question est dépendante de la batterie de tests de toxicité utilisée et du niveau établi pour la valeur limite de chaque paramètre d'effet.

4. ÉCHANTILLONNAGE

4.1. Prélèvement

Le mode d'échantillonnage doit être conforme aux exigences de la plus récente édition du guide pour la valorisation des matières résiduelles fertilisantes. L'échantillon doit être prélevé dans un contenant de polypropylène à haute densité ou de polypropylène lavé à l'acide nitrique. Des contenants en téflon, en verre ou en borosilicate qui ont subi un lavage approprié conviennent aussi. La quantité d'échantillon requise dépend de la siccité¹ de la MRF. Cependant, une quantité d'environ 250 g ou 250 ml est généralement suffisante. Le contenant doit être rempli à pleine capacité et fermé hermétiquement.

4.2. Conservation

Aucun agent de conservation ne doit être ajouté. Les échantillons doivent être conservés à 4 °C et à l'obscurité. Ils ne doivent pas être congelés. Le délai maximal de conservation entre le prélèvement et l'analyse est de 1 mois. Le lixiviat doit toutefois être utilisé pour analyse dans un délai de 5 jours.

5. PROTOCOLE ANALYTIQUE

5.1. Sol de référence

Le sol de référence (CEAEQ, 2003a) utilisé pour la préparation des échantillons en vue des tests de toxicité est préparé de la façon suivante.

Tamiser la terre noire à 4 mm. Déterminer son pourcentage d'humidité en pesant une fraction de 10 g, en la faisant sécher à 105 °C pendant 24 heures et en la pesant de nouveau. Calculer le pourcentage d'humidité de la façon suivante :

¹ Pourcentage de matières sèches.

$$\left[\frac{\text{poids humide} - \text{poids sec}}{\text{poids sec}} \right] \times 100$$

Tenir compte du taux d'humidité pour ajuster le poids de terre noire de façon à respecter la proportion de 3 % en poids sec dans le sol de référence.

Tamiser pendant 15 minutes du sable de silice grade 70 à l'aide d'un tamiseur automatique muni d'une séquence de tamis de 300, 250, 106, 70 et 20 µm. La fraction 106-250 µm est conservée à titre de sable et la fraction de 20 à 75 µm est conservée à titre de limon.

Dans un mélangeur rotatif muni d'une cuve en polypropylène ou en tout autre matériel non métallique adéquat, préparer des portions d'environ 25 kg de sol en mélangeant les différentes constituantes pendant 45 minutes dans les proportions suivantes (en poids) :

- 70 % de sable 106-250 µm
- 22 % de limon 20-75 µm
- 5 % de kaolin
- 3 % de terre noire (équivalent sec) tamisée à 4 mm

Mélanger le sol de nouveau pendant 15 minutes avant de l'utiliser.

Le pH du sol de référence est déterminé en mélangeant 10 g de sol à 100 ml d'eau ultra-pure. Le pH du sol doit se situer entre 5,8 et 6,2. Si le pH est inférieur à 5,7, il doit être ajusté à $6,0 \pm 0,2$ à l'aide de carbonate de calcium (CaCO_3) à une concentration d'environ 0,1 %.

5.2. Préparation des échantillons

Les mélanges MRF-sol (poids/poids; base sèche) doivent être réalisés en utilisant un taux annuel d'épandage équivalent à 1,5 fois le taux d'épandage moyen sur les sols agricoles.

La quantité (en mg) de MRF à mélanger à 250 g de sol de référence (base sèche) se détermine selon le calcul suivant :

$$\text{Taux d'application} \left(\frac{\text{kg}}{\text{ha}} \right) \div 8,96^2$$

Le taux d'application d'une MRF liquide en kg/ha est obtenu en multipliant le taux d'application en l/ha par la densité de la MRF.

5.2.1. Échantillons solides

- Étendre l'échantillon de MRF solide sur un plateau recouvert d'une membrane plastique.
- Sécher l'échantillon à la température ambiante sous une hotte fonctionnelle pendant 48 heures en retournant aux 12 heures environ.

² Un facteur 2,24 a été utilisé pour transformer en mg/kg (base sèche) le taux d'application en kg/ha (base humide) et il a été multiplié par 4 pour tenir compte du volume de sol de référence utilisé (250 g base sèche).

- Une fois l'échantillon séché, le tamiser sur un tamis à mailles de 9,5 mm.
- Mélanger l'échantillon de MRF au sol de référence. Le mélange doit être homogénéisé par brassage manuel de façon à obtenir un mélange qui soit le plus homogène possible (prendre les mesures de protection particulières pour les MRF classées P2 ou P3).

5.2.2. Échantillons liquides

- Mélanger l'échantillon de MRF liquide au sol de référence. Le mélange doit être homogénéisé par brassage manuel de façon à obtenir un mélange qui soit le plus parfait possible (prendre les mesures de protection particulières pour les MRF classées P2 ou P3).
- Placer le mélange dans un sac de plastique ouvert et sécher à la température ambiante sous une hotte fonctionnelle pendant 48 heures en retournant aux 12 heures environ.

5.2.3. Prélèvement de sous-échantillons

Bien homogénéiser le mélange MRF-sol et l'étaler sur une surface appropriée en une couche d'environ 2 cm d'épaisseur. Prélever chaque sous-échantillon sur toute l'épaisseur de la couche, car il peut s'établir un gradient granulométrique vertical lors du brassage.

5.2.4. Humidification du mélange MRF-sol (tests avec le ver de terre et l'orge)

Le pourcentage d'humidité optimal varie en fonction de la texture et de la matière organique du sol et peut représenter entre 60 et 90 % de la capacité de rétention. Avec la méthode ISO (1999), la capacité de rétention en eau pour le sol de référence a été déterminée à 40 % (base sèche). L'ajout de MRF à ce sol peut modifier le taux d'humidité optimal. Il n'est pas possible d'établir une règle fixe, mais en général un taux d'humidité entre 28 et 32 % représente entre 70 et 85 % de la capacité de rétention en eau correspondant aux besoins du test de toxicité avec les semences d'orge. Il faut porter une attention particulière lors de l'humidification du mélange MRF-sol en procédant lentement au-delà de 25 % d'humidité de façon à faire le meilleur ajustement possible et d'éviter de détremper le mélange.

5.2.5. Lixiviation à l'eau (test avec la bactérie bioluminescente)

La préparation d'un lixiviat du mélange MRF-sol est nécessaire pour la réalisation du test de toxicité avec la bactérie bioluminescente. Le lixiviat est préparé selon le protocole suivant (CEAEQ; 2003b).

- Dans un contenant de 2 litres en polypropylène ou en verre, ajouter 1 000 ml d'eau ultra-pure à 100 g de mélange MRF-sol préalablement homogénéisé.
- Fermer les bouteilles hermétiquement et les disposer sur un agitateur rotatif.
- Agiter à 20 tours/minute pendant 2 heures, à une température de $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Laisser décanter l'échantillon pendant 5 minutes.
- Retirer le surnageant et centrifuger à 2 500 g pendant 20 minutes.
- Conserver le surnageant à $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ et à l'obscurité pour une période maximale de 5 jours avant le début du test de toxicité.

5.3. Tests de toxicité

Aux fins de ce critère, les tests de toxicité suivants sont réalisés à une seule concentration de 100 % du mélange MRF-sol.

- Inhibition de la germination et de la croissance chez les semences de végétaux (CEAEQ, 2003a). L'espèce utilisée pour ce test est l'orge *Hordeum vulgare*.
- Détermination de la toxicité létale chez le ver de terre *Eisenia andrei* (CEAEQ, 2003c). La survie des individus est mesurée après 7 et 14 jours d'exposition.
- Eaux - Détermination de la toxicité – Méthode avec la bactérie bioluminescente *Photobacterium phosphoreum* (BNQ, 1987). L'inhibition de la bioluminescence est mesurée après 5 et 15 minutes d'exposition.

6. COMPARAISON AVEC LES VALEURS LIMITES

L'annexe 1 présente le schéma décisionnel basé sur le respect des valeurs limites. Pour chaque test de toxicité, une valeur limite est définie pour chaque paramètre d'effet mesuré. Le non-respect de l'une ou l'autre de ces valeurs limites conduit nécessairement à une reprise des tests de toxicité ou à la réalisation d'analyses supplémentaires afin d'en identifier les causes.

Puisque l'un des critères pour la valorisation d'une MRF sur des terres agricoles concerne son potentiel à augmenter le rendement agricole d'une culture, l'épandage de cette MRF ne doit en aucun cas affecter la germination et la croissance des plantes. Par rapport au sol de référence, le mélange MRF-sol à une concentration équivalente au taux d'épandage de la MRF ne doit donc avoir aucun effet significatif (toxique) sur le poids sec de la tige. De même, le taux de germination des graines d'orge ne doit pas être inférieur à 96 % du taux de germination des graines mesuré pour le sol de référence. Cette valeur limite de 4 % d'inhibition de la germination de plus que celui observé pour le sol de référence tient compte essentiellement du seuil de détection de la méthode.

Les vers de terre sont essentiels à la viabilité d'un sol et ils présentent un intérêt particulier, car ils peuvent être exposés aux contaminants par différentes voies (phase aqueuse et phase solide, notamment par l'ingestion). Aucun effet létal n'a été observé chez cet organisme exposé directement aux fumiers et à des lisiers à des concentrations jusqu'à 10 fois le taux d'épandage moyen. Par conséquent, la valeur limite pour ce test a été fixée à aucun effet statistiquement significatif par rapport au sol de référence.

Le test de toxicité avec la bactérie bioluminescente est un test rapide qui permet de prendre en considération la présence potentielle de contaminants dans la phase aqueuse d'un sol en présence d'une MRF. Basée sur l'estimation du 95^e centile des valeurs obtenues pour des lixiviats de fumier de bovin et de lisier de porc mélangés à un sol de référence à des concentrations équivalentes au taux d'épandage moyen de ces matières, la valeur limite d'inhibition de la bioluminescence pour le mélange MRF-sol est fixée à 30 %.

7. BIBLIOGRAPHIE

BUREAU DE NORMALISATION DU QUÉBEC. 1987. *Eaux – Détermination de la toxicité – Méthode avec la bactérie bioluminescente Photobacterium phosphoreum*. NQ 3600-205/1987.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. 2003a. *Inhibition de la germination et de la croissance chez les semences de végétaux*. MA.500-GCR 1.0. Ministère de l'Environnement du Québec. 30 p.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. 2003b. *Protocole de lixiviation applicable aux tests biologiques*. MA.500-Lix. 1.0. Ministère de l'Environnement du Québec. 21 p.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. 2003c. *Détermination de la toxicité létale chez le ver de terre (Eisenia andrei, Eisenia fetida)*. MA.500-VTL 1.0. Ministère de l'Environnement du Québec. 25 p.

CHASSÉ, R., M. HÉBERT, and S. DELBAEN. 2003. "Toxicological characterisation of fertilizing residuals for the development of quality criteria." In *Proceedings of the 2nd Canadian Organic Residuals Recycling Conference Penticton*. B.C. April 24 and 25, 2003, pp. 169-180.

JAUZEIN, M., M.-J. JOURDAIN, A. BISPO et D. SAVANE. 1999. *Écotoxicité des sols et des déchets : extraction des polluants*. Éditions ADEME, Paris, France. 138 p.

MINISTÈRE DE L'ENVIRONNEMENT DU QUÉBEC. 2002. Politique québécoise de gestion des matières résiduelles 1998-2008. La valorisation des matières résiduelles fertilisantes : des résidus mis à profit. http://www.menv.gouv.qc.ca/matieres/mat_res/fertilisantes/index.htm

ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. 1999. *Détermination de la capacité de rétention d'eau d'un sol artificiel*. Norme internationale ISO. ISO 11267 : 1999(F).

ANNEXE I

