

ÉTUDE PRELIMINAIRE I

DECHETS SOLIDES

3.1 Introduction

3.1.1 Contexte

“*Recyclage*”, “*Reuse*”, “*Alternative*”¹, ..., tous ces mots sont socialement, politiquement mais aussi économiquement et scientifiquement à la mode. Sans entrer dans des considérations politico-écologistes, ces recyclages et réutilisation de produits et substances sont parfois un unique moyen de survie : l’utilisation de rejets municipaux ou industriels est parfois le seul moyen d’irriguer et d’amender les champs quand l’eau potable est une denrée rare (*e.g.* Vazquez-Montiel *et al.*, 1996 ; Mapanda *et al.*, 2005). Hors ces eaux, ces boues ne sont pas exemptes de produits polluants (ETMs, PAHs, *etc...*). Les études concernant les risques de l’utilisation de ces déchets anthropiques sont de plus en plus fréquentes, d’autant plus fréquentes qu’elles touchent la santé humaine (Bahri & Brissaud, 1996 ; Renoux *et al.*, 2001 ; Mohsen & Jaber, 2003 ; Lubello *et al.*, 2004 ; Lopez *et al.*, 2006 ; Salgot *et al.*, 2006 ; Huertas *et al.*, 2008 ; Fatta-Kassinos *et al.*, 2011...). C’est dans ce contexte de réutilisation des déchets d’activités humaines que j’ai été amenée à expérimenter le test de germination “laitue” sur un produit solide (des cendres), lors de mon stage à l’Ecole de Technologie Supérieure de Montréal au Québec. Classiquement, ce sont plutôt des tests de croissance qui sont utilisés pour tester les polluants solides. Néanmoins, leur durée (28 jours) était dans ce contexte particulier un handicap plutôt qu’un net avantage. Il a donc été convenu d’adapter le test de *germination* à la contrainte solide du matériau évalué. Les résultats présentés ne sont que des résultats préliminaires, qui ne traitent que de l’éventuelle toxicité des cendres et non des lixiviats. Ayant signé une clause de confidentialité, le nom et les détails des procédés d’incinération seront tus.

¹ Tout comme “*Phytoremediation*” ou “*Phytoextraction*” (*e.g.* Cloutier-Hurteau *et al.*, 2014).

3.1.2 Cendres & Procédés d'incinération

Les résidus solides (cendres ; [Figure II.4](#)) sont obtenus après gazéification (incinération à haute température) de déchets domestiques comme les plastiques, papiers, carton, résidus alimentaires...

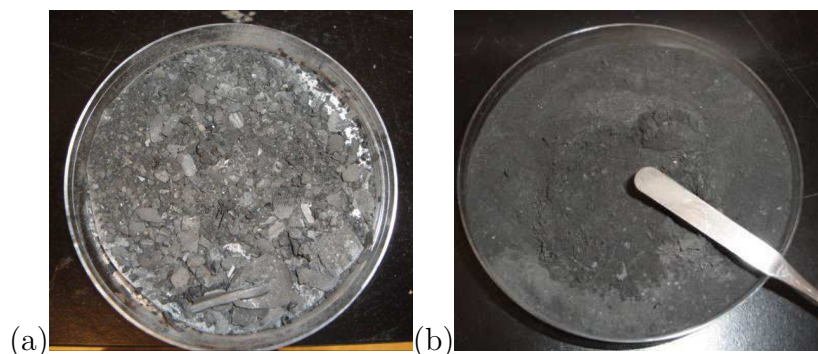


Figure II.4. Cendres brutes (a) et broyées (b) disposées dans une boîte de Pétri.

On note que ce système laisse intacts les métaux et le verre, la température étant insuffisante pour générer la fusion de ces déchets (mais évite ainsi l'émission de dioxines dans l'atmosphère). Le système en lui-même est un système en circuit fermé alors dimensionné pour de petites structures (hôpital, hôtel, navires...). Un des arguments de vente de l'appareil (notamment pour les hôtels) est la possible utilisation des résidus comme amendement des jardins voire des potagers. Des tests internes avaient été réalisés auparavant sur du radis *Raphanus sativus*, mais avec adjonction de terre et/ou compost (test de croissance) pouvant biaiser les résultats. J'ai donc réalisé un pool de tests "préliminaires", dans la mesure où le protocole du test de germination devait être adapté à la nature solide du rejet testé.

3.2 Matériel & Méthodes

3.2.1 Cendres

A l'instar des RITS, la composition (“recette”) des cendres dépend de l'activité journalière de l'industriel. Ici les cendres étaient composées comme suit (Figure II.5) :

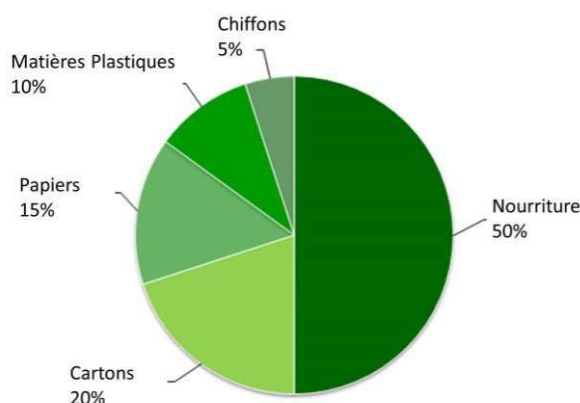


Figure II.5. Recette des cendres utilisées lors de cette étude préliminaire.

Des cendres “brutes” ont été récupérées. On entendra par “brutes”, les cendres non modifiées après incinération (broyage, mouillage...). Le broyage des cendres a été réalisé à la main à l'aide d'un mortier et d'un pilon en agate.

3.2.2 Semences

Les semences utilisées lors de ces expériences étaient de la variété « Regina d'estate », ou Reine de mai en français, qui est une laitue dite Pommée, tout comme la Batavia dorée de printemps, la Kinemontepas, la Grosse Blonde Paresseuse ou l'Appia. Les semences ont classiquement été conservées à l'abri de la chaleur, de l'humidité et de la lumière.

3.2.3 Protocoles

Les différents protocoles sont présentés et résumés dans le [Tableau II.15](#) suivant. Etant donnée la texture très hydrophobe des cendres, il m'a été impossible de réaliser une solution mère, puis des solutions filles à distribuer dans chaque boîte. C'est la raison pour laquelle une masse identique de cendres par triplicat a été déposée et répartie uniformément dans le fond de chaque boîte. Ce qui explique également

pourquoi le **Tableau II.15** présente bien des masses boîte⁻¹ et non des g L⁻¹. Un tableau de conversion est consultable en Annexes (**Tableau V.3**).

Tableau II.15. Synthèse des 4 expérimentations préliminaires concernant l'évaluation de l'écotoxicologie de résidus d'incinération solides *via* des tests de germination sur *L. sativa* var Regina d'estate.

Protocole	Cendres	Gamme de masses testées [g boîte ⁻¹]	Contact semences/cendres	Nomenclature
I1	broyées	condition 1 : 0,2	direct	C1
		condition 2 : 0,4		C2
I2	brutes	A recouvrement du fond de la boîte	direct	direct
			indirect*	indirect
II1 (figure V.4)	broyées	0,004 ; 0,02 ; 0,04 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1	direct	A à I
II2	broyées	0,025 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,25	indirect*	A à D
	brutes			A' à D'

* cendres disposées entre 2 et 1 filtres (en sandwich) (volume ajusté au nombre de disques à 6 mL)

3.2.4 Statistiques

Les tests de germination ont été comparés *via* des tests de Chi² et les longueurs (racinaires et totales) *via* des tests de Tukey (*p* value < 0,05). Tous ces tests ont été réalisés avec le logiciel R (2.15.1) (R Development Core Team, 2013, www.r-project.org). Les courbes dose-réponses et les CE₅₀ ont été calculées selon le modèle de Hill *via* la macro Excel Regtox (EV 7.0.6).

3.3 Résultats

3.3.1 Germination

Les figures **Figure II.6** et **II.7** présentent les taux de germination des protocoles I1 et I2 (*cf.* **Tableau II.15**). Les GR des conditions 1 et 2 du premier protocole sont significativement différents du témoin (*p* values respectivement égales à 0,0058 et 0,002) mais pas différents entre eux (*p* = 0,86) : il n'y a pas de différence d'effet de germination entre. La conclusion est identique concernant le protocole I2. En effet, bien qu'inférieurs au témoin (GR= 93 % ; *p*< 0,005), les GR des semences mises en contact direct (53 %) ou indirect (52 ± 1,7 %), avec des cendres brutes ne sont pas différents (*p*

= 1). La quantité, faible, et le mode de contact ne modifient donc pas l'effet, significatif, des cendres sur la germination des laitues.

La compilation des résultats des tests du protocole III1 et leur modélisation sous forme de courbe dose réponse (Figure II.8) permettent l'estimation de la CE_{50} de cendres broyées, en contact direct avec les semences. Le plateau de tolérance est très large : effets des cendres ne sont significatifs qu'à partir de masses supérieures à $0,6 \text{ boîte}^{-1}$ (soit 100 g L^{-1} ; traitements H et I ; $p < 0,001$). A nouveau, que les cendres soient brutes ou broyées, en contact indirect, les taux de germination des traitements ne sont pas différents du témoin (Figure II.9 ; $p > 0,05$), sauf le traitement D', à la fois différent du témoin ($p = 5,49.10^{-7}$) de de son traitement "miroir" D ($p = 0,00012$). On note qu'en contact indirect, les effets des cendres *broyées* s'observent plus tôt ($0,25 \text{ g}$ par boîte, équivalent à $62,5 \text{ g L}^{-1}$) qu'en contact direct (à des quantités de cendres inférieures ($0,6 \text{ boîte}^{-1}$, soit 100 g L^{-1}), il semble donc néanmoins avoir un effet du contact sur l'écotoxicité des cendres sur les semences de laitue.

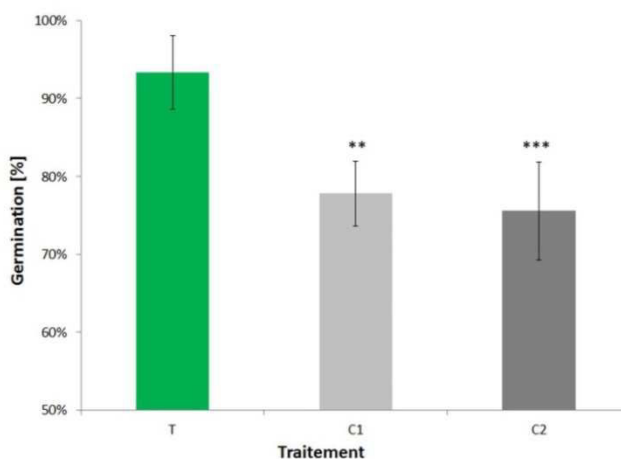


Figure II.6. Germination [%] de semences de laitue selon le traitement attribué : T, les témoins, C1 et C2, les conditions 1 et 2 ($0,2$ et $0,4 \text{ g}$ par boîte).

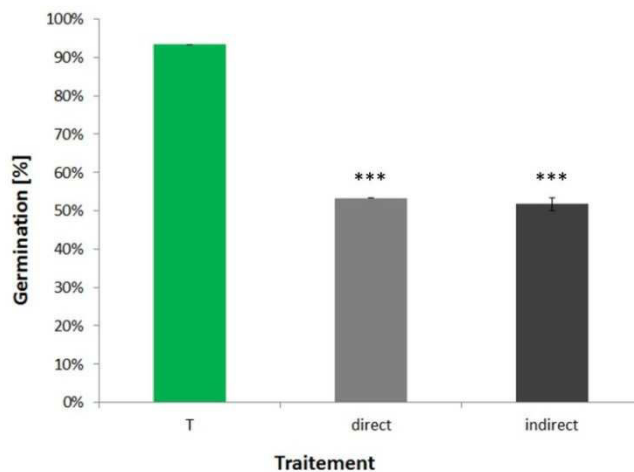


Figure II.7. Germination [%] de semences de laitue selon le traitement subi : T, les témoins, contacts direct et indirect des semences avec les cendres broyées.

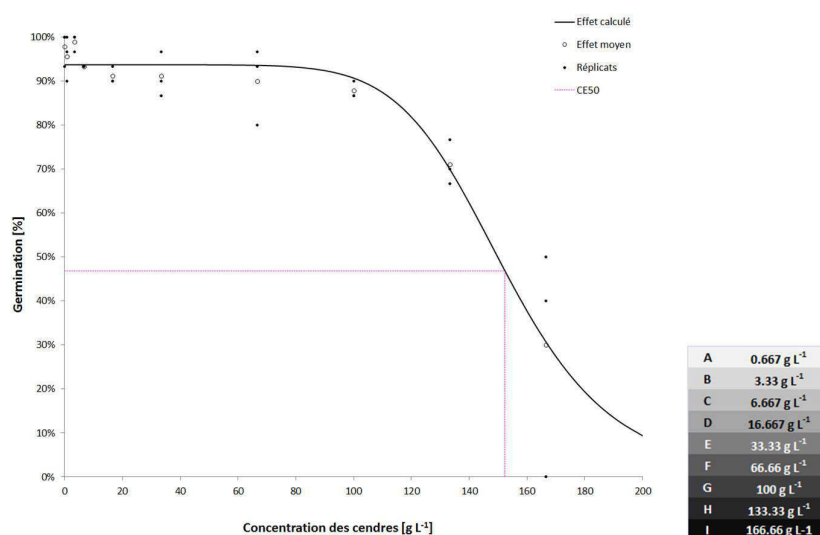


Figure II.8. Courbe dose réponse et CE_{50} ($152,38 \text{ g L}^{-1}$) des semences en contact direct avec les cendres.

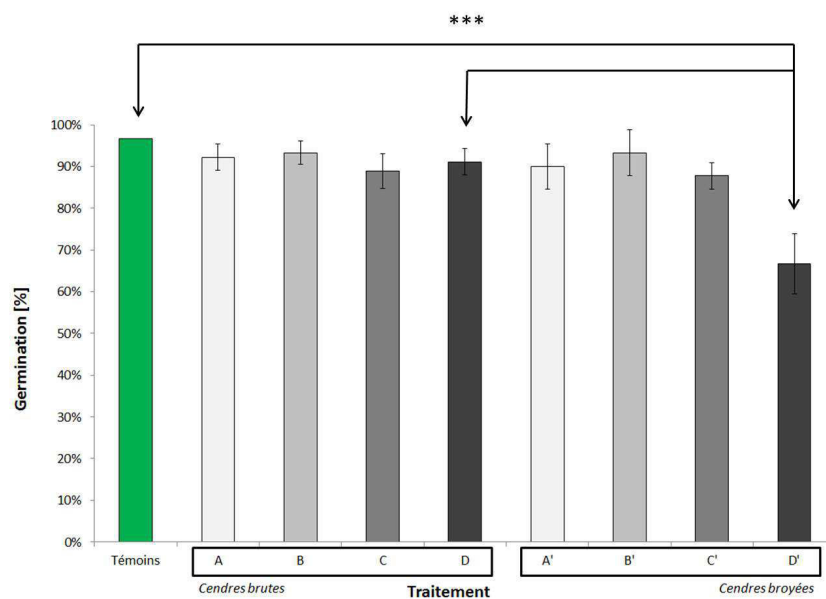


Figure II.9. Germination [%] de semences en contact indirect avec des cendres brutes ou broyées à certaines concentrations.

3.3.2 Elongation

Si l'on considère le ratio de la longueur racinaire RL avec la longueur totale TL (RL/TL), on remarque qu'il diminue, par rapport au témoin, significativement de la même façon que le GR pour les protocoles I1 et I2 (Figures II.10 et II.11 ; $RL/TL = 0,21$ et $0,22$ pour respectivement C1 et C2, $p < 2 \cdot 10^{-16}$; $RL/TL = 0,17$ et $0,22$ pour respectivement le contact direct et indirect, $p < 2 \cdot 10^{-16}$). Cette diminution reflète une diminution des longueurs racinaires.

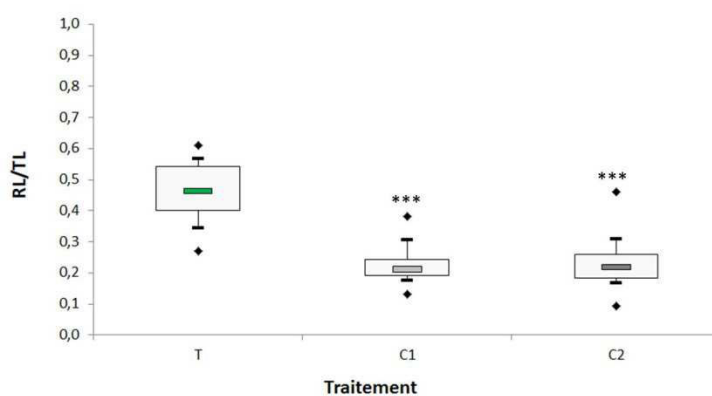


Figure II.10. Variations du rapport RL/RT selon le traitement subi par les semences : T, les témoins, C1 et C2, les conditions 1 et 2.

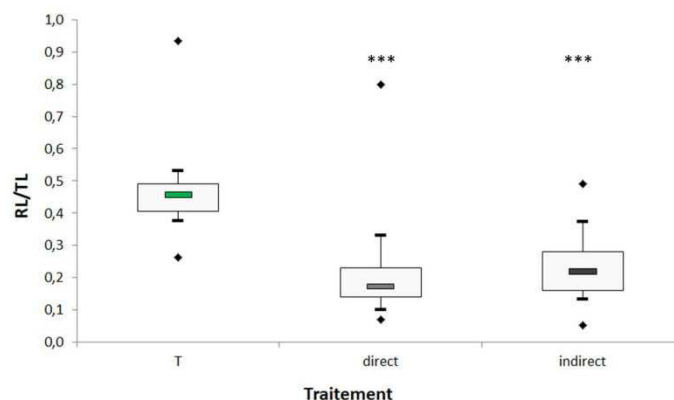


Figure II.11. Variations du rapport RL/RT selon le traitement subi par les semences : T, les témoins, direct et indirect le type de contact avec les cendres.

L'élongation, qu'elle soit racinaire ou totale, est une information subletale. C'est la raison pour laquelle, elle est plus fine et plus complexe à analyser : un polluant, un contaminant sans être mortel peut avoir des effets ! Si les taux de germination des différents traitements n'étaient pas différents du témoin avant les traitements H et I, il n'en est pas de même pour le ratio RL/RT (Figure II.11 et Tableau II.16). Il semble en effet que le traitement A, d'un point de vue germination et élongation, ne soit pas différent du témoin ($p = 0,44$). En revanche, le ratio de A (0,41) est différent de tous les autres traitements ($p < 10^{-5}$ voire 10^{-16}). A partir du traitement D, il semble que les effets des cendres sur l'élongation ne soient plus significativement différents *entre eux* : ils restent toujours différents du témoin.

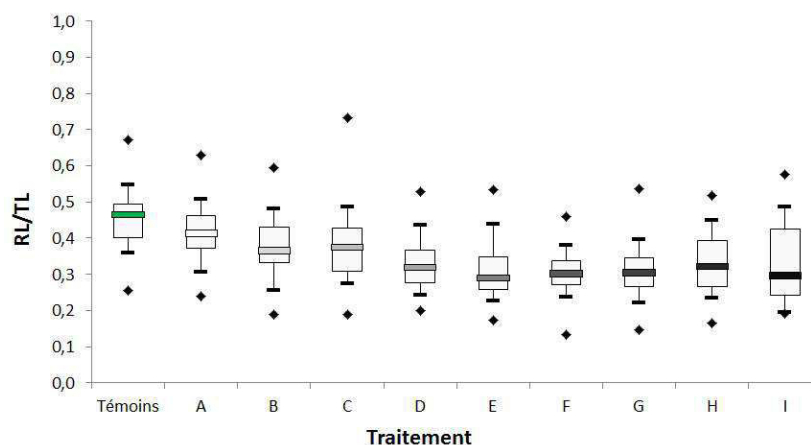


Figure II.12. Variations du rapport RL/RT selon le traitement subi par les semences : T, les témoins, A à I, les concentrations croissantes de cendres (cf. Tableau II.15).

Tableau II.16. Résultats des comparaisons des ratios des différents traitements du protocole III1 (Test de Tukey).

<i>p value</i>	Témoins	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Témoins		0,44				< 2.10 ⁻¹⁶				
A			8,7.10 ⁻⁵	1,57.10 ⁻⁵			< 2.10 ⁻¹⁶			
B				0,99	3,96.10 ⁻³	6,8.10 ⁻⁶	3.10 ⁻⁷	6,2.10 ⁻⁶	0,19	0,105
C					0,0138	3,8.10 ⁻⁵	2.10 ⁻⁶	3,53.10 ⁻⁵	0,053	0,188
D						0,945	0,673	0,934	1	1
E							0,999	1	0,898	0,999
F								0,999	0,588	0,979
G									0,881	0,999
H										0,99
I										

Pour la dernière série de tests, les rapports RL/RT de tous les traitements sont statistiquement différents du rapport témoin (pour le traitement A $p = 0,00267$; pour tous les autres traitements $p < 2.10^{-16}$). On remarque également que si RL/RT décroît au sein d'un type de traitement (cendres brutes ou broyées), les indices des traitements "miroir" ne sont pas différents (A/A' : $p = 0,05$; B/B' : $p = 0,97$; C/C' : $p = 0,36$; D/D' : $p = 0,53$).

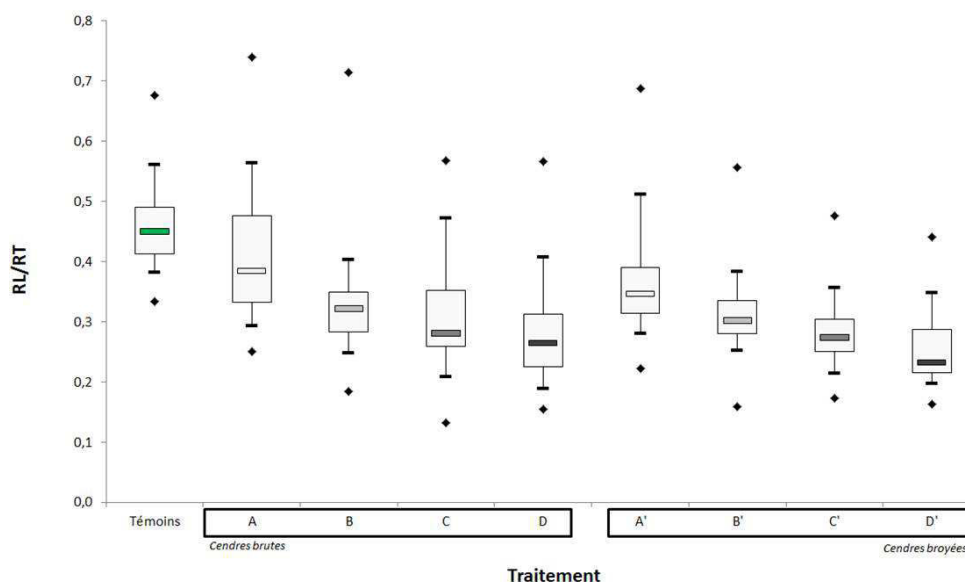


Figure II.13. Variations du rapport RL/RT selon le traitement subi par les semences.

3.3.3 Récapitulatif

Tableau II.17. Synthèse des résultats des tests préliminaires de germination opérés sur des cendres.

Protocole	I1	II1	I2	II2
<i>Etat cendres</i>	broyées	broyées	brutes	broyées/brutes
Traitement <i>contact</i>	direct	direct	direct/indirect	indirect
<i>concentrations</i>	2	gamme	à recouvrement	gamme
Germination	↘ 20 %	CE50 ~150 g L ⁻¹	↘ 40 %	↘ 10 à 20 %
RL/TL	↘ 50 %	↘ 30 %	↘ 45 %	↘ 45 %

3.4 Discussion & Conclusion

Particulièrement envisagé dans le domaine agricole (*cf.* Section II, Chapitre 2), l'amendement de substances polluées, quelle que soit leur nature (solide, liquide) ou leur degré de pollution, est un sérieux problème écologique, économique mais aussi sanitaire. Les conclusions des études menées à ce sujet sont d'ailleurs très souvent mesurées, les enjeux concernant la santé humaine étant trop importants, à court, moyen et long terme (*e.g.* Bahri & Brissaud, 1996 ; Al-Laham *et al.*, 2003 ; Chen *et al.*, 2005 ; Bixio *et al.*, 2006 ; Barbagallo *et al.*, 2011 ; Fatta-Kassinou *et al.*, 2011 ; Kalavrouziotis *et al.*, 2011 ; Jung *et al.*, 2014 ; Barbosa *et al.*, 2014).

En l'état actuel des expériences préliminaires menées ici, on peut dire que si l'état (broyé ou brut) des cendres importe peu, ces résidus ont néanmoins un effet sur non seulement la germination, mais aussi sur l'élongation des plantules, en particulier sur la longueur racinaire. Il paraît en revanche essentiel de souligner de possibles biais à ces tests exploratoires :

- L'hydrophobicité des cendres, broyées comme brutes, a rendu la mise en contact direct très compliqué à partir des concentrations les plus fortes ;
- Le principe du contact indirect ressemble plus au principe des tests d'évaluation de la toxicité de lixiviats.