UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉTUDE DU DEVENIR DES HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES (HAP) DANS DES BOUES D'ÉPURATEURS CONFINÉES À L'INTÉRIEUR D'UNE CELLULE ÉTANCHE

NATALIE BEAUDOIN
DÉPARTEMENT DE GÉNIE CIVIL
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE MAÎTRISE ÈS SCIENCES APPLIQUÉES
(GÉNIE CIVIL)
DÉCEMBRE 1996

© Natalie Beaudoin, 1996

National Library of Canada
Bibliothèque nationale du Canada

Acquisitions and Bibliographic Services
Acquisitions et services bibliographiques

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file Votre référence

Our file Notre référence

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

The author retains ownership of the copyright in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

0-612-26452-1

Canada

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Ce mémoire intitulé:

ÉTUDE DU DEVENIR DES HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES (HAP) DANS DES BOUES D'ÉPURATEURS CONFINÉES À L'INTÉRIEUR D'UNE CELLULE ÉTANCHE

Présenté par: BEAUDOIN Natalie
en vue de l'obtention du diplôme de : Maîtrise ès sciences appliquées
a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de :

M. BRIÈRE François, M. Eng., président
M. COMEAU Yves, Ph.D., membre et directeur de recherche
M. SAMSON Réjean, Ph.D., membre et codirecteur de recherche
M. BRISSON Cément, ing., membre externe

A Thérèse

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier sincèrement mes deux directeurs de recherche le Dr Réjean Samson et le Dr Yves Comeau pour la confiance qu'ils m'ont témoignée ainsi que pour leurs précieux conseils et leur grande disponibilité tout au long de ce projet.

J'aimerais également exprimer ma reconnaissance envers le Dr Louise Deschênes et Madame Manon Leduc pour leur intérêt et les nombreux conseils qu'elles m'ont apportés au cours de cette recherche.

Ce projet a été réalisé grâce à l'appui financier des partenaires de la Chaire industrielle CRSNG de recherche en bioprocédés d'assainissement des sites. Je les en remercie vivement. Un remerciement particulier à Monsieur Clément Brisson de la Société d'électrolyse et de chimie Alcan pour son aide et sa disponibilité tout au long de ce projet.

Il me fait également plaisir de remercier Daniel Normandin pour son soutien quotidien, sa patience, ses encouragements et son dévouement.

Enfin, comment oublier mes chers collègues de la Chaire pour leur aide technique et pour avoir agrémenté ces deux années.

RÉSUMÉ

Le procédé Söderberg à goujons horizontaux, utilisé pour 20 % de la production totale de l'aluminium au Canada, génère des quantités importantes de boues. Ces boues d'épurateurs, actuellement confinées à l'intérieur d'une cellule étanche, possèdent une concentration élevée en hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) de l'ordre de 17 580 mg/ kg. Les objectifs de ce projet étaient de déterminer le potentiel de biodégradation des HAP par la microflore indigène des boues sous conditions aérobies et anoxies, d'évaluer la biodisponibilité des HAP et de déterminer si une fuite de lixiviat de la cellule pourrait présenter un danger pour l'environnement. En somme, ce projet visait à déterminer le devenir des HAP présents dans des boues d'épurateurs à l'intérieur d'une cellule d'entreposage.

La méthodologie utilisée pour atteindre ces objectifs se présente comme suit: dans un premier temps, une caractérisation des propriétés physico-chimiques des boues d'épurateurs a été réalisée. La caractérisation des éléments présents dans les boues de procédé a permis d'orienter les recherches et d'identifier les contaminants ainsi que la présence d'une microflore adaptée aux conditions défavorables présentes dans la cellule d'entreposage. Par la suite, des expériences d'adsorption/désorption ont été réalisées afin de déterminer la biodisponibilité des contaminants dans les boues entreposées. Suite à cette expérience, une étude sur le devenir des contaminants en présence d'oxygène (aérobie), de nitrate (anoxie) et de sulfate (anaérobie) comme accepteur d'électrons a été réalisée afin d'identifier sous quelles conditions les contaminants étaient biodégradables dans les boues d'épurateurs. Enfin, une étude écotoxicologique a été réalisée afin de déterminer les risques potentiels associés à une fuite hypothétique de lixiviat de la cellule d'entreposage. Pour ce faire, des analyses approfondies du lixiviat ont été effectuées, ainsi que des bioessais écotoxicologiques, soit le SOS Chromotest et le test d'élongation radiculaire de la laitue, lesquels ont permis d'évaluer le potentiel toxique et génotoxique de la fraction lixiviat des boues d'épurateur.

La caractérisation physico-chimique des boues d'épurateurs a révélé que ces dernières étaient principalement composées de HAP de 4 anneaux et plus, ainsi que de fluorures de calcium et de poussières d'alumine.

En ce qui concerne les tests d'adsorption/désorption, les expériences ont montré que les HAP, en particulier ceux de masse molaire élevée, étaient fortement adsorbés sur l'alumine et, par conséquent, peu disponibles. Ces expériences ont également révélé que les HAP retrouvés dans la phase aqueuse étaient principalement de faible masse molaire.

Par ailleurs, les tests de minéralisation, réalisés dans le but de connaître la biodégradabilité des HAP, ont montré que le phénanthrène et le pyrène étaient biodégradables dans les boues d'épurateurs sous conditions aérobies. Au contraire, le fluoranthène et le benzo[a]pyrène se sont avérés récalcitrants à la biodégradation. En fait, la forte adsorption des HAP sur l'alumine et la faible solubilité des HAP de masse molaire élevée comme le benzo[a]pyrène réduisent le potentiel de biodégradation.

En ce qui concerne le potentiel de biodégradation des HAP sous conditions dénitrifiantes (anoxies), seul le phénanthrène, un HAP de trois anneaux, s'est révélé biodégradable dans les boues d'épurateurs.

Les essais de minéralisation sous conditions sulfato-réductrices n'ont pu être réalisés puisque le potentiel rédox des boues d'épurateurs, de l'ordre de - 60 mV, empêche d'atteindre de telles conditions réductrices. En fait, le potentiel rédox révèle que la cellule se trouve sous conditions anoxies, c'est-à-dire dans un environnement pratiquement exempt d'oxygène dissous. En conséquence, comme l'ont montré les résultats des tests de biodégradabilité, la majorité des HAP, présents en concentrations importantes dans les boues d'épurateurs, sont récalcitrants à la biodégradation. En effet, la faible solubilité et la forte adsorption des HAP sur l'alumine entraînent une réduction

du potentiel de biodégradation des HAP, et par conséquent, l'accumulation de ces contaminants à la surface des particules de boues.

Les essais de lixiviation ont montré que la concentration des HAP dans le lixiviat des boues d'épurateurs était élevée. De plus, le bioessai SOS Chromotest a révélé que le lixiviat possédait un potentiel génotoxique. Ainsi, malgré le potentiel élevé de biodégradation des HAP de faible masse molaire, lesquels contrairement aux HAP de masse molaire élevée, sont présents en concentrations importantes dans le lixiviat, la cellule doit continuer à faire l'objet d'un contrôle et d'un suivi environnemental étant donné qu'une fuite de lixiviat de la cellule pourrait présenter un danger pour l'environnement.

MOTS-CLÉS

Boues d'épurateurs, HAP, alumine, biodégradation, adsorption/désorption, aérobie, anoxie, anaérobie.

ABSTRACT

The Söderberg's aluminum production process is used for 20% of the total production of aluminum in Canada. This process generates a high amount of hazardous sludge originating from the wet scrubbing system. This sludge contains alumina and a high concentration of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) (17 580 mg/ kg). The main objective of this project was to study the fate of PAHs present in this hazardous sludge, which is presently stored in confined storage cells. The secondary objectives were to evaluate the biodegradability of the sludge's PAHs in the presence of oxygen, nitrate or sulfate as electron acceptors, to assess the bioavailability of PAHs and the potential danger of leaking storage cells. The methods used to reach these objectives were based on mineralization tests, adsorption/desorption studies and ecotoxicological studies with the leachate.

Results showed that under aerobic and anoxic conditions, the indigenous microorganisms had the capacity to degrade low molecular weight PAHs as their sole source of carbon and energy, but were unable to degrade aromatic hydrocarbons containing more than five aromatic rings. Also, under denitrifying conditions, only phenanthrene was degraded.

Adsorption/ desorption studies of an organic compound onto alumina was investigated to characterize the adsorptive capacity of alumina. Results showed that the large specific surface area and the multi-layers of adsorption of PAHs on alumina resulted in a much reduced bioavailability of PAHs. Sorbed PAHs are considered biostable since they are both non-bioavailable and non-biodegradable.

Biotoxicity assays of a leachate originating from the storage cells showed were genotoxic. In addition, studies on the sludge aqueous phase showed that the high concentration of PAHs in this phase could be a potential hazard for the environment and

consequently a periodic control and a monitoring of the storage cell should be maintained.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE IV
REMERCIEMENTS V
RÉSUMÉ VI
MOTS-CLÉS VIII
ABSTRACT IX
TABLE DES MATIÈRES XI
LISTE DES ANNEXES XV
LISTE DES TABLEAUX XVI
LISTE DES FIGURES XVII

CHAPITRE 1: INTRODUCTION 1

1.1 PROBLEMATIQUE 1
1.2 OBJECTIFS 3

CHAPITRE 2: REVUE DE LITTERATURE 5

2.1 BOUES D'EPURATEURS 5
2.1.1 Procédé de fabrication de l'aluminium 5
2.1.2 Formation des HAP et des fluorures totaux 7
2.2 CONTAMINANTS 8
2.2.1 Hydrocarbures aromatiques polycycliques 9
2.2.1.1 Propriétés physico-chimiques des HAP 9
2.2.1.2 Sources d'émission 10
2.2.1.3 Dispersion des HAP dans l'environnement 11
2.2.1.4 Toxicité et effet sur la santé 12
2.2.2 Aluminium 13
2.2.2.1 Pénétration dans l'environnement 13
2.2.2.2 Toxicité de l'aluminium 14
2.2.3 Fluorures 16
2.2.3.1 Pénétration dans l'environnement 16
2.2.3.2 Toxicité des fluorures 17
2.3 ÉVALUATION ECOTOXICOLOGIQUE 18
2.4 GESTION DES BOUES DE PROCEDE 21
2.4.1 Épaississement, déshydratation et séchage à chaud 22
2.4.3 Procédés thermiques 23
2.4.4 Disposition finale 24

2.5 BIOTRAITABILITE DES HAP 27
2.5.1 Biodégradation des HAP sous conditions aérobies 27
2.5.2 Biodégradation des HAP sous conditions anoxies 28
2.5.3 Biodégradation des HAP sous conditions anaérobies 29
2.5.3 Facteurs environnementaux influençant la biodégradation 29
2.5.4 Granulométrie 32
2.5.5 Concentration et type de polluants 33

CHAPITRE 3: MATERIEL & METHODES 35

3.1 pH 36
3.2 POURCENTAGE D'EAU 37
3.3 ANALYSE DES IONS 37
3.4 POTENTIEL D'OXYDOREDUCTION 38
3.5 ANALYSE DES HAP 38
3.6 ANALYSE DES FLUORURES 39
3.7 ANALYSE DE L'ALUMINIUM 40
3.8 DENOMBREMENT DES BACTERIES 40
3.8.1 Extraction des bactéries 40
3.8.2 Préparation des géloses et étalement sur plaques de Pétri 41
3.9 PRODUITS CHIMIQUES 42
3.10 ADSORPTION/ DESORPTION DES HAP SUR L'ALUMINE 43
3.10.1 Solution radioactive de fluoranthène 44
3.11 DESORPTION DES HAP PRESENTS DANS LES BOUES D'EPURATEURS 44
3.12 MICRO-EXTRACTION DES HAP 45
3.12.1 Préparation de la solution standard 45
3.12.2 Extraction liquide-liquide 46
3.13 POTENTIEL DE MINERALISATION DES HAP RADIOACTIFS DANS LES BOUES D'EPURATEURS 46
3.13.1 Préparation des microcosmes 47
3.13.2 Suivi de la production de $[^{14}C]CO_2$ 49
3.13.3 Conditions aérobies 49
3.13.3.1 Potentiel de biodégradation du phénanthrène dans le lixiviat des boues 50
3.13.4 Conditions anoxies 50
3.13.5 Conditions sulfato-réductrices 51
3.14 EXTRACTION DU LIXIVIAT 52
3.14.1 Pourcentage d'eau extractible 52

3.14.2 Lixiviation *53*
3.14.2.1 Préparation du mélange 53
3.14.2.2 Condition et séparation du lixiviat 54
3.15 ANALYSES ECOTOXICOLOGIQUES 54
3.15.1 Essai de toxicité: Inhibition de l'élongation radiculaire avec la laitue (Lactuva sativa) *55*
3.15.2 Essai de toxicité: Le SOS Chromotest *55*

CHAPITRE 4: CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUES DES BOUES D'EPURATEURS57

4.1 INTRODUCTION 57
4.2 RESULTATS ET DISCUSSION 57
4.2.1 pH *57*
4.2.2 Pourcentage d'humidité *58*
4.2.3 Potentiel d'oxydoréduction *58*
4.2.4 Dénombrement bactérien *59*
4.2.5 Nature et concentration des contaminants présents dans les boues *60*
4.3 CONCLUSION 63

CHAPITRE 5: ÉTUDE DU PARTAGE DES HAP DANS LES BOUES D'EPURATEURS 65

5.1 INTRODUCTION 65
5.2 RESULTATS ET DISCUSSION 65
5.2.1 Adsorption/désorption du fluoranthène sur l'alumine *65*
5.2.2 Désorption des HAP présents dans les boues d'épurateurs *70*
5.3 CONCLUSION 73

CHAPITRE 6: BIODEGRADABILITE DES HAP DANS LES BOUES D'EPURATEURS 75

6.1 INTRODUCTION 75
6.2 RESULTATS ET DISCUSSION 76
6.2.1 Minéralisation des HAP sous conditions aérobies *76*
6.2.2 Minéralisation des HAP sous conditions dénitrifiantes *84*
6.2.3 Minéralisation des HAP sous conditions sulfato-réductrices *88*
6.3 CONCLUSION 89

CHAPITRE 7: ETUDE DE LA FRACTION LIXIVIAT DES BOUES D'EPURATEURS 92

7.1 INTRODUCTION 92
7.2 RESULTATS ET DISCUSSION 93
7.2.1 Concentration des HAP dans le lixiviat *93*

7.2.2 Minéralisation des HAP *96*
7.2.3 Évaluation écotoxicologique *98*
7.3 CONCLUSION 102

CHAPITRE 8: DISCUSSION GENERALE 104

CHAPITRE 9: CONCLUSIONS GENERALES ET RECOMMANDATIONS 109

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES 111
ANNEXES 121

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 Certificats d'analyses des HAP 121
Annexe 2 Certificats d'analyses écotoxicologiques 128

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 Facteurs environnementaux influençant l'activité bactérienne 30

Tableau 2 Analyses et protocoles effectués pour la caractérisation des boues d'épurateurs 36

Tableau 3 Plan d'expérience utilisé pour déterminer le potentiel de minéralisation des HAP en microcosme sous conditions aérobies. 47

Tableau 4 Identification et concentration des HAP, des fluorures totaux et de l'alumine, en mg/ kg de matière sèche, dans les boues d'épurateurs résultant de l'électrolyse de l'aluminium. 61

Tableau 5 Concentration en mg des 16 HAP prioritaires (US EPA) désorbés par gramme de boue sèche en fonction du nombre de lavages 72

Tableau 6 Concentration des HAP dans le lixiviat des boues d'épurateurs par rapport à la concentration initiale de HAP dans les boues d'épurateurs, aux critères de contamination des eaux souterraines et par rapport au règlement sur les déchets dangereux. 94

Tableau 7 Résultats du test d'élongation radiculaire de la laitue 98

Tableau 8 Résultats du SOS Chromotest: potentiel génotoxique de l'échantillon de lixiviat 99

LISTE DES FIGURES

Figure 1 Procédé électrolytique permettant la production d'aluminium 6
Figure 2 Structure chimique de quelques HAP 9
Figure 3: Recouvrement étanche d'une cellule d'enfouissement sécuritaire 26
Figure 4 Microcosme utilisé pour les expériences de minéralisation 48
Figure 5 Potentiel d'oxydoréduction en fonction des voies métaboliques 59
Figure 6 Isotherme d'adsorption du ^{14}C-fluoranthène sur l'alumine et courbes de lavage 66
Figure 7 : Concentration en mg/g de boue sèche de HAP adsorbés en fonction de la dilution effectuée par rapport à la concentration initiale de HAP dans les boues d'épurateurs. A- Anthracène, B- Phénanthrène, C- Fluoranthène, D- Pyrène 71
Figure 8 Minéralisation du phénanthrène et du pyrène marqués au carbone-14 sous conditions aérobies par la biomasse indigène des boues d'épurateurs 77
Figure 9 Minéralisation du fluoranthène et du benzo[a]pyrène marqués au carbone-14 sous conditions aérobies par la biomasse indigène des boues d'épurateurs 78
Figure 10 Minéralisation du phénanthrène marqués au carbone-14 sous conditions dénitrifiantes par la microflore indigène des les boues d'épurateurs 85
Figure 11 Minéralisation de HAP marqués au carbone-14 sous conditions dénitrifiantes par les microorganismes indigènes présents dans les boues d'épurateurs 86
Figure 12 Minéralisation du ^{14}C-phénanthrène dans le lixiviat des boues d'épurateurs 97
Figure 13 Traitement en bioréacteur des boues d'épurateurs confinées à l'intérieur d'une cellule étanche 110

CHAPITRE 1: INTRODUCTION

1.1 Problématique

Lors de la production de l'aluminium en industrie, le procédé électrolytique nécessaire à la transformation de l'alumine en aluminium génère des boues présentant une concentration élevée d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). Des analyses chimiques effectuées sur ces boues d'épurateurs ont révélé que la concentration des HAP atteignait jusqu'à 17 580 mg/ kg (matière sèche). Ces dernières sont présentement confinées à l'intérieur d'une cellule étanche afin de prévenir toute contamination de l'environnement.

Actuellement, il n'existe pas de solution efficace pour disposer de ces boues de procédé. Bien que l'entreposage ne soit pas une solution définitive au problème que représente de tels déchets, l'entreposage dans des cellules étanches constitue pour le moment une des seules façons de disposer des boues d'épurateurs.

C'est suite à des analyses de toxicité démontrant le potentiel cancérigène de certains HAP chez les animaux et à l'augmentation de l'incidence des cancers chez les personnes exposées aux HAP dans leur milieu de travail que l'on s'est intéressé davantage au devenir des HAP dans l'environnement (Environnement Canada, 1994). La recherche s'est alors orientée vers la biodégradation et les phénomènes de transformation des HAP présents dans l'environnement (Saucier, 1988; CNRC, 1983; Environnement Canada, 1994). Des travaux ont montré que la biodégradation naturelle comptait parmi les processus majeurs de destruction des HAP dans la nature (Wilson et Jones, 1993).

Plus spécifiquement, les résultats de plusieurs études ont démontré que les HAP de faible masse molaire présents dans les sols contaminés et dans les boues de procédé étaient biodégradables lorsque les facteurs environnementaux, tels que l'oxygène, l'humidité, la température, le pH et les nutriments inorganiques (C:N:P) étaient contrôlés et favorisés pour que l'activité des microorganismes soit optimale (Fleming *et al.*, 1993; Wang *et al.*, 1990; Wild *et al.*, 1991; Wilson et Jones, 1993). Cependant, les HAP de cinq anneaux et plus (masse molaire élevée) étaient plus difficilement biodégradés. Par exemple, une étude a démontré que dans les boues de procédés, la demi-vie du naphtalène, un HAP de faible masse molaire (deux anneaux), pouvait atteindre deux ans, tandis que celle du coronène, un HAP de sept anneaux était d'environ 16 ans (Wild *et al.*, 1991).

Les boues d'épurateurs provenant de l'électrolyse de l'aluminium, avec leurs concentrations particulièrement élevées en polluants, présentent un milieu hostile à la croissance des microorganismes. En effet, en plus de posséder de grandes concentrations de HAP, on retrouve également des concentrations élevées en fluorures et en alumine qui peuvent avoir un effet inhibiteur sur la biodégradation des HAP. Par exemple, une étude effectuée en milieu liquide sur *Pseudomonas fluorescens*, a révélé qu'une concentration d'aluminium supérieure à 3 mM affectait le rendement cellulaire et, par conséquent, la croissance de la souche microbienne (Apparna *et al.*, 1995). En ce qui concerne les fluorures, une étude comparative effectuée pour connaître le degré de toxicité de divers fluorures a montré que les fluorures de calcium et d'aluminium présentaient peu de toxicité par rapport aux autres fluorures (OMS, 1985).

Malgré la concentration élevée de HAP dans les boues d'épurateurs, aucune étude sur le devenir des contaminants dans de telles boues n'a, à notre connaissance, été réalisée à ce jour. De plus, aucune recherche connue n'a été effectuée pour connaître le

potentiel toxique ou génotoxique de ces boues de procédé. L'étude de l'activité de biodégradation des HAP par les microorganismes indigènes et des éléments, tels que les fluorures et l'alumine qui pourraient influencer le taux de biodégradation dans les boues d'épurateurs, apparaît donc un sujet de recherche pertinent et original.

1.2 Objectifs

Ce projet a pour but de vérifier le potentiel de biodégradation des HAP dans les boues d'épurateurs et de déterminer dans quelles conditions les contaminants sont biodégradés (aérobies, anoxies et anaérobies) ou encore biologiquement stables.

L'hypothèse de recherche est basée sur l'effet inhibiteur possible de l'alumine (par adsorption), ainsi que sur le degré de solubilité de ces contaminants qui influenceraient à la fois la minéralisation des HAP et la toxicité inhérente des boues d'épurateurs.

Dans un premier temps, des tests d'adsorption/désorption ont été effectués afin de déterminer si les HAP, hautement hydrophobes, étaient biodisponibles. Ainsi, une caractérisation poussée des phénomènes d'adsorption/désorption des HAP, présents dans les boues d'épurateurs, a été réalisée. Ces expériences couplées à une revue de littérature sur le pouvoir adsorbant des composés présents dans ces boues de procédé à permis d'identifier les éléments responsables de l'adsorption des HAP dans les boues d'épurateurs.

Des tests de minéralisation utilisant des HAP de différentes masses molaires, tels que le phénanthrène (3 anneaux), le fluoranthène (4 anneaux), le pyrène (4 anneaux) et le benzo[a]pyrène (5 anneaux) ont également été effectués afin de déterminer le

potentiel de biodégradation des HAP dans les boues d'épurateurs. Des boues de procédés provenant d'un épurateur à voie humide ont été utilisées dans lesquelles des HAP radioactifs témoins ont été ajoutés.

Par ailleurs, les boues étant présentement confinées dans une cellule étanche, la fraction lixiviat a permis d'établir une certaine prédiction sur le devenir des HAP en cas de fuite de lixiviat de la cellule. Des tests écotoxicologiques (élongation radiculaire de la laitue et le SOS Chromotest) ont également été effectués sur le lixiviat de ces boues. Ces bioessais écotoxicologiques ont permis de déterminer si les boues, résultant de l'électrolyse de l'aluminium, avaient un potentiel toxique ou génotoxique.

CHAPITRE 2: REVUE DE LITTÉRATURE

Ce chapitre possède cinq sections; la première section discute à quel niveau il y a émission et dégagement de HAP, de fluorures et de poussières d'alumine au cours de la fabrication de l'aluminium. La seconde section présente de façon plus détaillée les contaminants présents en concentrations importantes dans les boues d'épurateurs ainsi que leur toxicité envers des organismes de différents niveaux trophiques. Une troisième section aborde le concept de l'évaluation écotoxicologique pour déterminer le potentiel toxique ou génotoxique de matrices contaminées. Enfin, les deux dernières sections traitent des différents modes de gestion des boues de procédé ainsi que de la biotraitabilité des HAP sous différentes conditions, soient sous conditions aérobies, dénitrifiantes et sulfato-réductrices.

2.1 Boues d'épurateurs

Cette partie de chapitre présente les différentes étapes nécessaires à la fabrication de l'aluminium par réaction électrolytique. Les différents points abordés sont pertinents au projet, étant donné que c'est au cours de la réaction électrolytique qu'il y a émission d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), de fluorures totaux et de poussières d'alumine.

2.1.1 Procédé de fabrication de l'aluminium

Bien que l'aluminium soit un élément des plus abondants, on ne le retrouve pas à l'état pur. En effet, l'aluminium se trouve dans plusieurs minéraux, combiné avec de l'oxygène et du silicium. Cependant, la bauxite, un minerai très répandu dans les zones tropicales et

subtropicales, reste la source la plus exploitable et la plus économique pour fabriquer l'aluminium (MASC, 1987; Alcan, 1990a).

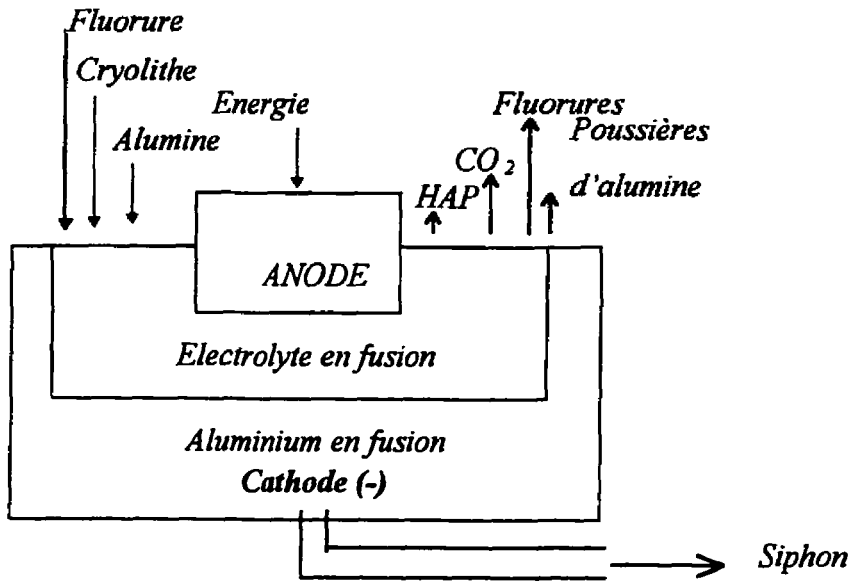


Figure 1 Procédé électrolytique permettant la production d'aluminium

Le procédé de fabrication de l'aluminium se fait en deux étapes. Tout d'abord, par un procédé chimique, l'alumine est extraite de la bauxite (minerai composé surtout d'alumine avec de l'oxyde de fer et de la silice). Ensuite, un procédé électrolytique transforme l'alumine (Al_2O_3) en aluminium. Pour retirer le métal de l'alumine, l'électrolyse reste la méthode la plus

économique (Alcan, 1990b). Cette réaction a lieu dans de grandes cuves dont le fond joue le rôle de cathode (électrode négative), tandis que des blocs de carbone, suspendus dans la cuve, servent d'anode (électrode positive). À l'intérieur de la cuve, l'alumine est dissoute par un électrolyte en fusion principalement composé de cryolithe ($NaAlF_6$) et de fluorure d'aluminium (AlF_3). Lorsque le courant électrique traverse ce mélange, l'oxygène se lie à l'anode de carbone et forme du gaz carbonique (CO_2), tandis que l'aluminium se dépose sur la cathode (le fond de la cuve), d'où il est siphonné (Alcan, 1990a,b; MENVIQ, 1986). La figure 1 résume le procédé utilisé par toute les usines du Québec.

2.1.2 Formation des HAP et des fluorures totaux

De façon plus détaillée, la fabrication de l'aluminium se fait en quatre étapes. L'extraction de l'alumine à partir de la bauxite, la fabrication de l'anode à partir de coke et de brai (résidu pâteux de la distillation du pétrole), la réduction de l'alumine dans une cellule électrolytique pour produire de l'aluminium et enfin la coulée de l'aluminium et le recyclage et la fonte du matériel recyclable (CRAC, 1987).

Le procédé Söderberg et le procédé à anode précuite, diffèrent principalement dans la fabrication de l'anode. Les anodes Söderberg sont cuites pendant la réaction, par la chaleur de la cellule, tandis que les anodes précuites le sont dans un four avant même leur utilisation (CRAC, 1987).

Les anodes "vertes" ou "crues", utilisées pour le procédé Söderberg, sont constituées, dans 80% des cas, de coke (74 à 76%) et de brai (25 à 26%). Le brai, qui est une fraction de la distillation de la houille ou du pétrole, joue le rôle d'agent liant et forme avec le coke un mélange pâteux qui est moulé en bloc (6-8 m x 2 m x 1 m) et suspendu au dessus de la cellule.

Au cours du processus de fabrication de l'aluminium, l'anode descend progressivement dans le bain en fusion et se consomme peu à peu (CRAC, 1987).

L'électrolyse s'effectue autour de 950-980°C et produit de l'aluminium et des oxydes de carbone (CO, CO_2). Tel que mentionné auparavant, des additifs fluorés, tels que le AlF_3 CaF_3 et le Na_3AlF_6 sont incorporés dans le procédé afin d'obtenir la température désirée lors de la fusion du métal (Alcan, 1990a,b). Les gaz dégagés au niveau de l'anode contiennent donc des traces de composés fluorés sous forme de particules ou de gaz ainsi que des poussières d'alumine. Les gaz, contenants des fluorures, et des poussières d'alumine, sont ensuite acheminés vers un système de lavage des gaz « wet scrubbing systems » où les fluorures, les HAP et l'alumine sont récupérés et les oxydes de carbone et de souffre (SO_2) sont relâchés à l'atmosphère (CRAC, 1987). Ceci explique la concentration importante de fluorures totaux (28 000 mg/ kg), d'alumine (27 000 mg/ kg) de HAP (17 580 mg/ kg) et d'eau dans les boues d'épurateurs. Il est possible de récupérer les fluorures contenus dans les boues de procédé. Cependant, la récupération est complexe et est souvent coûteuse pour l'industrie.

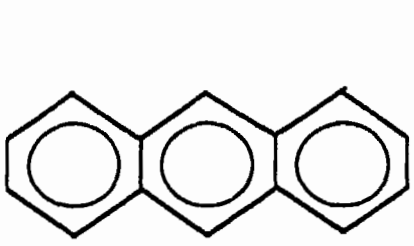
C'est au cours de la cuisson de l'anode, formée de coke et de brai, lors de procédé Söderberg, qu'il y a émission de composés indésirables: les HAP. En effet, la combustion incomplète de composés fossiles, comme le brai, entraîne la volatilisation d'hydrocarbures aromatiques polycycliques. Au cours de la réaction électrolytique, il existe un gradient thermique à l'intérieur de l'anode. Ce dernier, peut varier de 100°C à 960°C. Entre ces deux pôles de température, on observe un endroit où la pâte de coke et de brai, rendue plus liquide, atteint une température d'environ 250°C à 300°C. C'est à ce niveau de l'anode qu'il y a émission et dégagement d'une quantité significative de HAP. Les gaz contenant des HAP sont, tout comme les gaz fluorés, aspirés par le système de ventilation puis acheminés vers un système d'épuration des gaz (CRAC, 1987). Ainsi, une quantité importante de HAP se retrouve dans les boues de procédé de l'industrie de fabrication de l'aluminium.

2.2 Contaminants

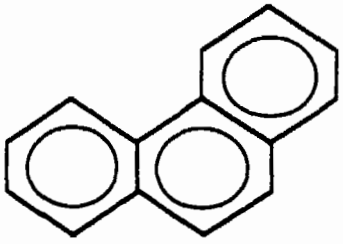
2.2.1 Hydrocarbures aromatiques polycycliques

2.2.1.1 Propriétés physico-chimiques des HAP

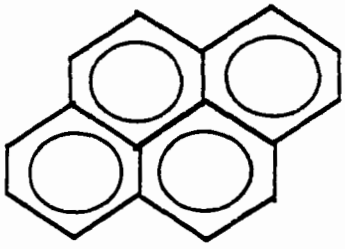
Les hydrocarbures aromatiques polycycliques sont des substances organiques constitués d'atomes de carbones et d'hydrogènes formant au moins deux anneaux aromatiques.



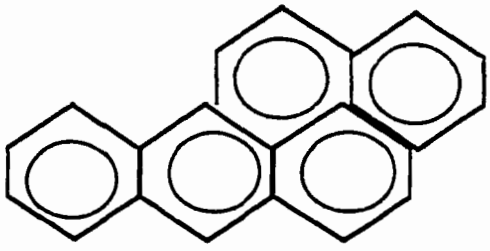
Anthracène



Phénanthène



Pyrène



Benzo[a]pyrène

Figure 2 Structure chimique de quelques HAP

Ils existent une multitude de composés organiques polycycliques. Ils se distinguent par le nombre et la position de leurs noyaux benzéniques. La figure 2 présente les HAP les plus courants. On estime à environ une centaine les composés de la classe des HAP.

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques se présentent généralement sous la forme de solides cristallins colorés à l'état pur (Saucier, 1988). Les propriétés physiques des HAP varient selon leur masse molaire et leur structure. Par exemple, la naphtalène (formé de deux anneaux) qui a une masse molaire de 128,16, est plus soluble dans l'eau que le pyrène (formé de quatre anneaux) dont la masse molaire atteint 202,26. Les HAP ont un point de fusion et un point d'ébullition élevés, une tension de vapeur faible et sont peu solubles dans l'eau. Ils sont reconnus pour leur grande capacité d'adsorption, c'est pourquoi on les retrouve généralement associés à des particules organiques et inorganiques, et ce, dans l'eau, dans l'air ou dans le sol (CNRC, 1983).

2.2.1.2 Sources d'émission

Les HAP, naturels ou anthropiques, sont surtout produits par la combustion ou la pyrolyse incomplète des matières organiques. Une infime quantité est également générée par la diagenèse ou la biosynthèse. Le type et l'importance des HAP formés dépendent du combustible, de la température de réaction, de la durée d'exposition et du taux d'oxygène présent (Wilson et Jones, 1993).

Les HAP proviennent de deux sources: diffuse ou ponctuelle. Parmi les sources diffuses, la plus importante provient des incendies de forêt. Les feux de forêt ont libéré, en 1990, plus de 2000 tonnes de HAP dans l'atmosphère, soit 47% des émissions atmosphériques recensées cette année (Environnement Canada, 1994).

Parmi les sources ponctuelles, la plus importante source de rejet de HAP dans l'environnement est imputable aux procédés industriels qui fonctionnent à des températures élevées. Les alumineries se trouvent en tête de liste avec des émissions de 925 tonnes de HAP

pour l'année 1990, soit 21% des émissions totales répertoriées (Environnement Canada, 1994).

Par ailleurs, les déversements d'hydrocarbures accidentels, le chauffage au bois, la combustion d'essence ou de carburant diesel, ainsi que l'incinération de déchets solides, rejettent des quantités non négligeables de HAP dans l'environnement. Une quantité appréciable de HAP est aussi produite par le ruissellement des matières créosotées. La créosote, employée dans l'industrie de la préservation du bois comme agent pesticide, est un mélange de composés qui compte environ 63% à 85% de HAP. Cette substance contribue donc à la contamination de l'environnement. De plus, toutes les usines qui utilisent le charbon, le pétrole et le gaz comme combustible sont également des sources ponctuelles de rejets de HAP. Néanmoins, on considère que la réduction de l'alumine, les feux de forêt et les activités industrielles sont les sources les plus importantes de HAP (Wilson et Jones, 1993; Environnement Canada , 1994; CNRC, 1983).

2.2.1.3 Dispersion des HAP dans l'environnement

Tel que mentionné, les hydrocarbures aromatiques polycycliques émis dans l'atmosphère proviennent surtout de la combustion incomplète des matières organiques. Une fois rejetés dans l'atmosphère, les HAP se lient à des particules atmosphériques puis se dispersent et retombent par le biais des précipitations sur le sol et dans les cours d'eau (Saucier, 1988).

Les sources de rejet de HAP dans le sol et dans l'eau peuvent également provenir du ruissellement des matières créosotées, des déversements accidentels et des procédés industriels, tel que l'épandage des boues. Les HAP peuvent aussi atteindre les eaux souterraines par lixiviation à travers le sol ou par diffusion à la surface (Environnement Canada, 1994). Étant donné la faible solubilité des HAP dans l'eau et leur grande affinité

d'adsorption à la surface des particules, on retrouve généralement les HAP associés aux sédiments de fond, sur les matières en suspension dans l'eau ou aux particules du sol.

2.2.1.4 Toxicité et effet sur la santé

La biotransformation des HAP mène généralement à la formation de composés cancérigènes et mutagènes (Saucier, 1988; Chakrabarty, 1982; Wang *et al.*, 1990; Environnement Canada, 1994). En effet, les HAP sont métabolisés en une grande variété de composés par l'action des bactéries. C'est suite à une époxydation par l'action de monooxygénases que les époxydes-diols peuvent se lier à des macromolécules et devenir toxiques pour les organismes vivants (Chakrabarty, 1982; CNRC, 1983; Environnement Canada, 1994).

C'est en 1983, que l'Agence Internationale pour la Recherche du Cancer a évalué la cancérogénécité chez les animaux d'au moins 14 HAP différents (Saucier, 1988).

Les HAP peuvent pénétrer dans l'organisme par l'inhalation d'air pollué, par contact dermique ou encore par ingestion d'eau ou d'aliments contaminés (Saucier, 1988; CNRC, 1983; Environnement Canada, 1994). De nombreuses études ont démontré que l'exposition des HAP par la peau est à l'origine de tumeurs cutanées, tandis que l'exposition des HAP par inhalation ou ingestion peut causer des tumeurs des voies respiratoires et stomacales (Saucier, 1988; CNRC, 1983; Environnement Canada, 1994). En effet, l'ingestion de benzo[a]pyrène (BaP) à des concentrations de 40 à 45 ppm durant 110 jours a révélé une augmentation de 10% des tumeurs stomacales chez les souris alors que l'ingestion de 50 à 250 ppm de BaP pour une période de 100 à 200 jours, a augmenté l'incidence des tumeurs de 70% et plus (Environnement Canada, 1994).

Chez l'humain, on a remarqué une augmentation de l'incidence des tumeurs respiratoires et cutanées chez les personnes exposés aux HAP dans leur milieu de travail. Cependant, le Conseil pour la Recherche sur le Cancer considère que ces données ne sont pas assez significatives pour conclure que les HAP sont cancérigènes chez l'humain (Environnement Canada, 1994).

La toxicité aiguë et sublétale a été étudiée chez plusieurs espèces aquatiques. La toxicité est généralement plus élevée lorsque les HAP contiennent quatre noyaux aromatiques et plus. Par exemple, la CL_{50}-96h, c'est-à-dire la concentration à laquelle on observe le décès de 50% de la population après 96 heures, chez Daphnia pulex est de 5 mg/l pour le BaP (HAP de cinq anneaux) et de 1 mg/l pour le naphtalène (HAP à 2 noyaux). Chez la truite arc-en-ciel Oncorhynchus mykiss, la CL_{50}-96h est de 375 mg/l pour le phénanthrène (Environnement Canada, 1994).

Chez le crapet à oreilles bleues juvénile Lepomis macrochirus, une concentration de 0,25 mg/l de fluorène peut inhiber la croissance, tandis qu'une concentration de 10 mg/l de BaP diminue le rythme cardiaque chez la moule Mytilus californianus (Environnement Canada, 1994). Chez la bactérie Escherichia coli, une concentration de 10^{-7} à 10^{-5} M de HAP inhibe la croissance bactérienne. Cependant, des études ont révélé que le pyrène stimule la croissance de l'activité bactérienne (CNRC, 1983). La croissance du maïs et du soya est aussi stimulée à des concentration de 50 mg/l mais est inhibée à des concentrations supérieures (Environnement Canada, 1994). De plus, les HAP sont peu toxiques chez les plantes terrestres et chez les algues d'eau douce, car elles peuvent dégrader ces derniers (CNRC, 1983; Environnement Canada, 1994). Néanmoins, une exposition à court ou à long terme peut être létale chez les vertébrés aquatiques.

2.2.2 Aluminium

2.2.2.1 Pénétration dans l'environnement

L'aluminium est un métal très abondant, puisqu'il constitue 8% de la croûte terrestre. Cependant, l'aluminium ne se trouve pas à l'état pur, mais plutôt combiné au silicium. Ce minerai d'aluminosilicate se trouve dans tous les types de roches et dans la plupart des couches géologiques, c'est pourquoi, on ne décèle qu'une faible quantité d'aluminium dans les eaux de surface (CCMRE, 1987).

L'aluminium est un composé qui forme des ions complexes avec d'autres substances dans l'eau. Ces complexes permettent à l'aluminium de se mobiliser dans l'environnement. Cependant, la formation de ces complexes dépend essentiellement du pH et de la nature des composés qui se trouvent dans le milieu. Par exemple, à pH neutre, ce sont surtout les complexes d'hydroxylation qui prédominent (CCMRE, 1987).

2.2.2.2 Toxicité de l'aluminium

Dans la nature, l'aluminium se trouve sous forme insoluble et non absorbable. Sous cette forme de dépôt insoluble de silicates, l'aluminium est biologiquement inactif. Cependant, l'industrialisation, ainsi que les pluies acides ont augmenté la biodisponibilité de ce métal trivalent et produit des effets indésirables sur l'environnement. La toxicité de l'aluminium semble affecter la plupart des écosystèmes (Appanna *et al.*, 1995). Néanmoins, les bactéries et microbes tendent à s'adapter à ce nouvel environnement anormal et stressant. En effet, malgré la haute insolubilité de l'aluminium dans les milieux de culture, des études ont montré la capacité de *Pseudomonas fluorescens*, une bactérie du sol, à tolérer et à résister à des

concentrations de quelques millimoles d'aluminium (Appanna *et al.*, 1995). En effet, aucune diminution du rendement cellulaire n'est observée chez cette bactérie jusqu'à une concentration de 3 mM d'aluminium. Cependant, lorsque la concentration du métal trivalent augmente, le taux de croissance, ainsi que le rendement cellulaire sont affectés. Dans un milieu contenant 50 mM d'aluminium, la croissance est retardée de plusieurs heures et le rendement cellulaire atteint uniquement 31% de la population contrôle, tandis qu'en présence de 15 et 30 mM de métal, le rendement cellulaire atteint 67% et 46% respectivement (Appanna *et al.*, 1995). En fait, *Pseudomonas fluorescens* a la capacité de synthétiser de riches lipides dans lesquelles l'aluminium se trouve emprisonné et immobilisé. De plus, des expériences ont révélé que des bactéries préconditionnées pouvaient posséder un rendement cellulaire de 10 à 15% plus élevé. En effet, les cellules préconditionnées sont capables d'immobiliser et d'éliminer l'aluminium à un taux plus rapide que les cellules non conditionnées (Appanna *et al.*, 1995).

2.2.3 Fluorures

2.2.3.1 Pénétration dans l'environnement

Le fluor constitue 0,08 % de la croûte terrestre et se présente en dix-septième position en abondance parmi les principaux éléments de la lithosphère (AFEE, 1978). Le fluor est un gaz de couleur vert-jaune pâle à la température ambiante (OMS, 1985). Particulièrement reconnu pour son électronégativité extrême, le fluor est le plus réactif de tous les éléments, c'est pourquoi il n'existe pas à l'état libre dans la nature, mais plutôt sous forme de fluorures en association avec des métaux alcalins et alcalino-terreux (Huong, 1984). Le fluor peut donc se combiner à tous les éléments à l'exception de l'oxygène et de l'azote (OMS, 1985).

Le fluor et les fluorures sont utilisés dans plusieurs domaines, notamment dans l'industrie sidérurgique, chimique, du verre et de la céramique, du ciment, des abrasifs et de l'aluminium. L'industrie de l'aluminium est la principale utilisatrice de cryolithe, un minerai fluoré. En effet, environ 85% de la production de cryolithe sert à la fabrication de l'aluminium par fusion électrolytique (AFEE, 1978).

Étant donnée son abondance dans la nature et son utilisation par l'humain, on retrouve les fluorures partout dans l'environnement, c'est-à-dire dans les roches, le sol, l'eau et dans l'air.

2.2.3.2 Toxicité des fluorures

La toxicité des fluorures est connue depuis plusieurs années. Son utilisation dans plusieurs domaines, comme par exemple, en hygiène dentaire comme agent antibactérien pour lutter contre la plaque dentaire et comme insecticide, en témoigne. En effet, à des doses sublétales, ces composés réduisent la croissances et affecte la reproduction chez de nombreuses espèces d'invertébrés (OMS, 1985). Par ailleurs, plusieurs études laissent supposer que les fluorures ont des effets indésirables sur la santé humaine. Par exemple, des chercheurs ont démontré au Japon, une corrélation entre le taux de fluorures dans le riz et l'apparition de cancers gastriques (AFEE, 1978).

Les composés fluorés n'ont pas tous la même toxicité. En effet, l'adsorption des ions fluorures, au niveau de l'estomac, de la peau ou par inhalation, dépend de la solubilité des composés. Ainsi, l'ingestion sera plus importante et plus toxique pour les composés solubles, tels que NaF, HF et H_2SiF_6, que pour les composés insolubles, tel que le fluorure de calcium (CaF_2). Par exemple, le fluor et le fluorure d'hydrogène peuvent provoquer des lésions importantes au niveau de la peau ou des voies respiratoires chez l'humain à partir de 30 ppm (21 mg/ m^3) (OMS, 1985).

D'ailleurs une étude comparative effectuée pour connaître le degré de toxicité de divers fluorures (NaF, Na_2SiF_6, CaF_2, $CaSiF_6$, MgF_2, ZnF_2, AlF_3 et CuF_2) a révélé que les fluorures de calcium et d'aluminium étaient moins toxiques que les autres fluorures (OMS, 1985).

Par ailleurs, une étude a démontré que la présence d'ions calcium et aluminium dans l'eau ou dans l'alimentation réduisait considérablement le taux de fluor absorbé (AFEE, 1978). En cas d'intoxication par des fluorures, il est donc recommandé d'administrer un sel de calcium. Si le sujet ne succombe pas suite à l'intoxication, la récupération se fait sans séquelles connues, à

l'exception d'intoxication par des fluorures gazeux, où des brûlures, ainsi qu'une nécrose irréversible peuvent subvenir (OMS, 1985).

2.3 Évaluation écotoxicologique

A ce jour, il existe plus de 50 000 polluants anthropogéniques. Plusieurs milliers d'entre eux se trouvent relargués dans l'environnement par l'activité humaine (Legault *et al.*, 1994). Une fois dans l'environnement, ces contaminants persistent ou sont biodégradés par les microorganismes indigènes du milieu.

Dans l'évaluation des processus de biodégradation et de détoxification lors de biotraitement, l'écotoxicologie, qui associe la toxicologie et l'écologie, est un outil essentiel en plus de permettre l'évaluation du risque et la gestion environnementale (Renoux *et al.*, 1995). Le rôle le plus important des microorganismes lors de la dégradation des contaminants est leur habileté à les détoxifier. La détoxification est un changement dans la structure moléculaire du contaminant qui résulte en la formation de résidus moins nuisibles pour les organismes vivants. Toutefois, l'activité microbienne peut résulter, dans certain cas, en la production de composés plus toxiques que le composé parent (Renoux *et al.*, 1995). Il est donc essentiel, lors d'un programme de contrôle et suivi, de s'assurer de l'innocuité des composés produits. La caractérisation chimique ne tenant pas compte de la toxicité résiduelle, l'évaluation écotoxicologique reste la seule façon de déterminer un risque potentiel pour un écosystème particulier lors de biotraitements.

Les biotests écotoxicologiques sont des indicateurs directs pour évaluer la toxicité lors de procédés de biorestauration. En effet, l'utilisation d'organismes de différents niveaux trophiques tels que les bactéries, les plantes, les vers, etc., intègre les impacts positifs ou

négatifs sur les organismes vivants (Keddy *et al.*, 1995). Les bioessais peuvent être réalisés par contact direct avec la matrice contaminée ou encore par contact indirect en utilisant le lixiviat (Renoux *et al.*, 1995). De plus, les tests traditionnels utilisant des animaux de laboratoire sont coûteux, laborieux et difficilement réalisables avec la pression de plus en plus forte des différents organismes de protection des animaux. Les bioessais, utilisés dans plusieurs domaines comme tests de criblage, sont donc une alternative simple, rapide, à faible coût et bien acceptés socialement pour évaluer la toxicité. Ces biotests consistent principalement à exposer un organisme vivant, comme par exemple un microorganismes, à un polluant pour une période de temps déterminée et à mesurer les effets sur l'activité cellulaire en comparaison à un échantillon témoin sans contaminant. Dans ce cas, la réduction de l'activité cellulaire est utilisée pour mesurer les effets toxiques du ou des contaminants.

Il existe une batterie de bioessais pour évaluer la toxicité d'une matrice contaminée. Ainsi, plusieurs organismes vivants, tels que les microorganismes, les invertébrés et les plantes, peuvent être utilisés pour déterminer les effets biologiques d'un polluant. Par exemple, le test de toxicité inhibition de l'élongation radiculaire utilise le macrophyte Lactuca sativa et a pour but d'établir la concentration inhibitrice (CI_{50}) à laquelle la croissance des racines est inhibée de 50% par rapport au témoin. Il est donc possible de déterminer une courbe dose-réponse pour chaque organisme étudié.

Tel que mentionné auparavant, l'activité humaine est responsable du relargage de milliers de polluants dans l'environnement. Certaines de ces substances ont la capacité de réagir avec l'acide désoxyribonucléique (ADN) et, par conséquent, d'augmenter le potentiel génotoxique chez l'humain et les populations animales (Legault *et al.*, 1994). Par exemple, plus de cent hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), produits par une combustion incomplète de la matière fossile ont montré un potentiel génotoxique (Legault *et al.*, 1994, Saucier, 1988). Ces agents, responsables d'endommager l'ADN,

augmentent le taux de mutation, de déformations et de cancers. Il est donc important de prendre des mesures préventives afin de limiter l'étendu de ces substances chimiques dans l'environnement.

Les progrès en biologie moléculaire et en génie génétique ont permis de développer des bioessais simples et rapides pour détecter les dommages causés à l'ADN par les produits toxiques générés par l'activité industrielle, de même que ceux générés par les biotraitements (Quillardet *et al.*, 1985 ; Legault *et al.*, 1994 ; Renoux *et al.*, 1995). En effet, le SOS Chromotest, un essai colorimétrique a permis de démontrer une augmentation de la génotoxicité pendant le biotraitement de sols contaminés par des hydrocarbures. Encore une fois, ces résultats démontrent l'importance de réaliser des biotests en concomitance aux caractérisations chimiques (Renoux *et al.*, 1995).

Le SOS Chromotest est un test rapide (un jour) qui exige un minimum d'espace, de matériel et dont le coût est présentement évalué entre 50 et 300 $ U.S, dépendament du nombre d'échantillons et de dilutions effectués (Legault *et al.*, 1994). Ce biotest permet de mesurer l'induction du gène SfiA, un gène contrôlé par le répresseur général du système SOS de la bactérie E. Coli. L'expression du gène SfiA est mesurée à l'aide du gène complémentaire lacZ, le gène structurant de la B-galactosidase (Quillardet *et al.*, 1985). De cette façon, le SOS Chromotest permet de déterminer le potentiel génotoxique d'une multitude de substances chimiques.

2.4 Gestion des boues de procédé

La caractéristique des boues de procédé est de constituer un déchet encore liquide ayant une valeur économique faible ou nulle (Degrémont, 1989). Leur mode de gestion diffère selon leur provenance et leur degré de toxicité. Les boues contaminées, telles que les boues de procédés, sont les plus problématiques quant à leur disposition. En effet, les contaminants se trouvent généralement très concentrés et la contamination est souvent complexe par rapport aux boues municipales (Tchobanoglous et Schroeder, 1985).

Traditionnellement, l'incinération était très utilisée pour détruire les boues de procédés classés comme déchets dangereux. Cependant, aujourd'hui, les coûts associés au traitement des boues classées comme déchets dangereux constituent une part considérable des coûts totaux d'opération d'une entreprise. Compte tenu des coûts élevés pour disposer de ce type de déchet, les coûts en capital et en opération sont examinés attentivement afin de sélectionner les technologies les plus efficaces, les plus performantes et les plus économiques (Abu-Orf *et al.*, 1995). A ce jour, il existe plusieurs technologies disponibles. Les plus utilisées visent à concentrer les composés dangereux d'une boue dans une phase (liquide ou solide) et ainsi réduire le volume de déchets à disposer (Cheremisinoff, 1987; Abu- Orf *et al.*, 1995). Dans certains cas, ces procédés font plus que réduire le volume de déchets, ils les transforment en produits valorisables (Bowen *et al.*, 1992). Ces différents procédés de traitement et de disposition des boues classées comme déchets dangereux consistent essentiellement en l'épaississement, la déshydratation, le séchage à chaud, la stabilisation, les procédés thermiques et les modes de disposition finale (Cheremisinoff, 1987).

2.4.1 Épaississement, déshydratation et séchage à chaud

Ces trois procédés résultent notamment en la réduction du volume des boues et des coûts associés à leur disposition (Bowen *et al.*, 1992; Abu- Orf *et al.*, 1995). Ces procédés peuvent, dans certains cas, avoir un rôle désinfectant et réduire les odeurs. De plus, ces différentes techniques peuvent altérer les caractéristiques physiques des solides et, dans un certaine mesure, améliorer la récupération de ces derniers. Ces technologies peuvent s'effectuer par des procédés biologiques, chimiques ou physiques (Cheremisinoff, 1987) et pourraient être envisagés pour la réduction du volume des boues d'épurateurs à entreposer.

L'épaississement consiste principalement à l'augmentation de la concentration des solides. Pour ce faire, plusieurs recours sont possibles comme, par exemple, la sédimentation, la flottation, la filtration et la centrifugation. Cependant, malgré la technique utilisée, l'épaississement produit, dans plusieurs cas, une boue encore fluide (Cheremisinoff, 1988; Abu-Orf *et al.*, 1995).

La déshydratation des boues contaminées résulte en la formation d'un matériel non-fluide, plus propice à la disposition finale. La déshydratation peut être réalisée par centrifugation ou encore par filtration. La filtration consiste a retirer les particules solides d'un liquide à l'aide d'un média poreux en exerçant une certaine force, par vacuum, par pressurisation, par gravité ou par centrifugation (Cheremisinoff, 1987). Des études ont montré que la déshydratation mécanique effectuée en utilisant des disques chauffants "heated disk dryer" s'est avérée un exploit en produisant une boue contenant entre 75 et 95% de solides. Cependant, la déshydratation ne s'avère pas toujours un succès. La pression mécanique exercée sur la matrice contaminée retire l'eau libre, ainsi que l'eau interstitielle, mais ne peut, dans tous les cas, extraire l'eau liée (Degrémont, 1989; Abu-Orf *et al.*, 1995). En effet, l'eau libre est facilement éliminée des boues. Cependant, l'eau liée qui regroupe l'eau capillaire, l'eau cellulaire, l'eau d'hydratation colloïdale et l'eau chimiquement liée ne sont pas libérées en

exerçant les mêmes forces. L'élimination de l'eau liée nécessite une énergie relativement forte tandis que la séparation de l'eau cellulaire exige des moyens thermiques puissants (Degrémont, 1989). Le succès de la déshydratation des boues de procédé est donc déterminé par la proportion d'eau libre et d'eau liée. Néanmoins, la déshydratation reste une méthode efficace pour le conditionnement des boues contaminées.

Le séchage à la chaleur "heat drying" n'est pas un procédé très populaire aux États-Unis (Cheremisinoff, 1988). En effet, la demande énergétique élevée entraîne des coûts d'opération importants. De plus, cette méthode, qui consiste principalement en la destruction des contaminants organiques, peut engendrer des vapeurs contaminées et, par conséquent, entraîner une pollution atmosphérique (Cheremisinoff, 1988). Cependant, la technique de séchage par des "freezing beds" utilisant la déshydratation naturelle des cycles de gel et de dégel s'est avérée une solution efficace. En effet, cette méthode, qui exige peu de main d'oeuvre, est très économique dans les régions froides (Bowen *et al.*, 1992).

2.4.3 Procédés thermiques

Les procédés thermiques sont de plus en plus utilisés comme mode de gestion pour disposer des boues contaminées (Bowen *et al.*,1992). En effet, les terrains disponibles pour l'enfouissement des matières dangereuses se doivent d'être conformes à la réglementation sévère de l'EPA (Environmental Protection Agency). De plus, la réglementation de l'EPA suggère de nouvelles solutions et de nouvelles stratégies de traitement pour la disposition des déchets dangereux afin de minimiser les impacts sur l'environnement (Cheremisinoff, 1987). Ces facteurs ont contribué à rendre les procédés thermiques de plus en plus populaires auprès des industriels pour disposer de leurs boues de procédé (Cheremisinoff, 1987 et 1988; Bowen *et al.*, 1992).

Par ailleurs, des recherches ont été menées afin de contrer les coûts élevés associés à l'enfouissement dans les pays où il y a peu de terrains disponibles pour ce mode de disposition (Bowen *et al.*, 1992; Abu-Orf *et al.*, 1995). Ainsi, l'incinération des boues sur lit fluidisé s'est révélée une solution efficace et bénéfique qui permet la réutilisation des cendres (Abu-Orf *et al.*, 1995). Les procédés thermiques comportent de nombreux avantages, en autres, une réduction maximum du volume et du poids, ainsi que la destruction des contaminants et des pathogènes. Cependant, ces procédés exigent des coûts d'opération élevés et requièrent des systèmes de contrôle perfectionnés pour empêcher la contamination atmosphérique (Cheremisinoff, 1987). Bien que ce type de procédé ne soit pas efficace pour la destruction des métaux, les procédés thermiques résultent en une réduction importante du volume à entreposer.

2.4.4 Disposition finale

L'épandage est un mode de traitement et de disposition finale qui consiste à appliquer directement sur le sol les boues de procédé (Cherimisinoff, 1988; Loehr *et al.*, 1992; Abu- Orf *et al.*, 1995). Une étude a révélé que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) d'une boue contaminée étaient biodégradés dans le temps en fonction de leur masse molaire (Bowen *et al.*, 1992). Cependant, cette même étude a démontré que les boues riches en nickel réduisent la dégradation des HAP. Par ailleurs, une autre étude a montré que, suite à l'épandage d'une boue huileuse, la demi vie du naphtalène, des alkanes et de certains aromatiques n'excédaient généralement pas 30 jours, à l'exception des composés récalcitrants à la biodégradation (Loehr *et al.*, 1992). Malgré certains avantages associés à l'épandage des boues, cette technique serait difficilement applicable pour le traitement des boues d'épurateurs étant donné la concentration importante de HAP de masse molaire élevée. De plus, les boues épandables dépendent de la législation en vigueur.

La fixation ou la solidification sont également des modes de disposition finale. Ces technologies consistent principalement à réduire la mobilité des contaminants par des procédés physiques ou chimiques (Cheremisinoff, 1987). Ces technologies, largement utilisées en Californie, sont surtout utilisées lorsque les boues contiennent un pourcentage élevé de solides ou pour les boues contenants des métaux précipités (Cheremisinoff, 1988). Par exemple, l'encapsulation dans l'asphalte, la résine de polyester ou le ciment, dépendamment des boues de procédé (matière organique ou inorganique), est l'une des façons disponibles pour fixer les contaminants et ainsi protéger l'environnement (Cheremisinoff, 1987). Toutefois, la quantité de boues d'épurateurs à disposer est relativement élevée pour ce type de procédé et présente l'inconvénient de condamner des surfaces au sol importantes. De plus, cette technique est applicable pour des boues contenant un pourcentage élevé de solides, l'utilisation de ce procédé exigerait donc au préalable un épaississement afin d'augmenter la concentration des solides.

L'enfouissement sécuritaire est employé depuis plusieurs années et s'est avéré une solution efficace dans plusieurs cas. Cependant, autrefois la mauvaise gestion de ces sites a contribuée à polluer l'environnement et entraînée la perte de nombreux terrains (LaGrega *et al.*, 1994). Ce mode de gestion doit donc être effectué adéquatement et dans des sites appropriés pour ce genre d'utilisation. L'enfouissement sécuritaire, qui consiste principalement à déposer dans une cellule les boues contaminée ou encore les solides récupérés, peut être effectué de plusieurs façons, en autres, des tranchées peuvent être construites sous la surface du sol ou encore, la boue peut être mélangée au sol (Cheremisinoff, 1988). En effet, il est parfois envisagée, en particulier avec les boues toxiques liquides d'incorporer des produits solidifiants pour réduire le risque de lixiviation par les eaux de ruissellement (Degrémont, 1989). Cependant, dans tout les cas, l'enfouissement sécuritaire de matières dangereuses doit être effectué dans un site approuvé par les instances gouvernementales afin de prévenir la lixiviation et la contamination des eaux souterraines (Cheremisinoff, 1988). Afin de minimiser la percolation des eaux de pluie ou de ruissellement qui génèrent une source importante de

lixiviat, le recouvrement étanche des cellules s'est avéré une solution efficace pour protéger l'environnement (LaGrega *et al.*, 1994). Le design du recouvrement doit cependant procurer un support adéquat pour la végétation, empêcher l'eau de s'infiltrer dans la cellule, résister à l'érosion et être stable pendant toute sa durée de vie (LaGrega *et al.*, 1994). La figure 3 présente une cellule de recouvrement typique.

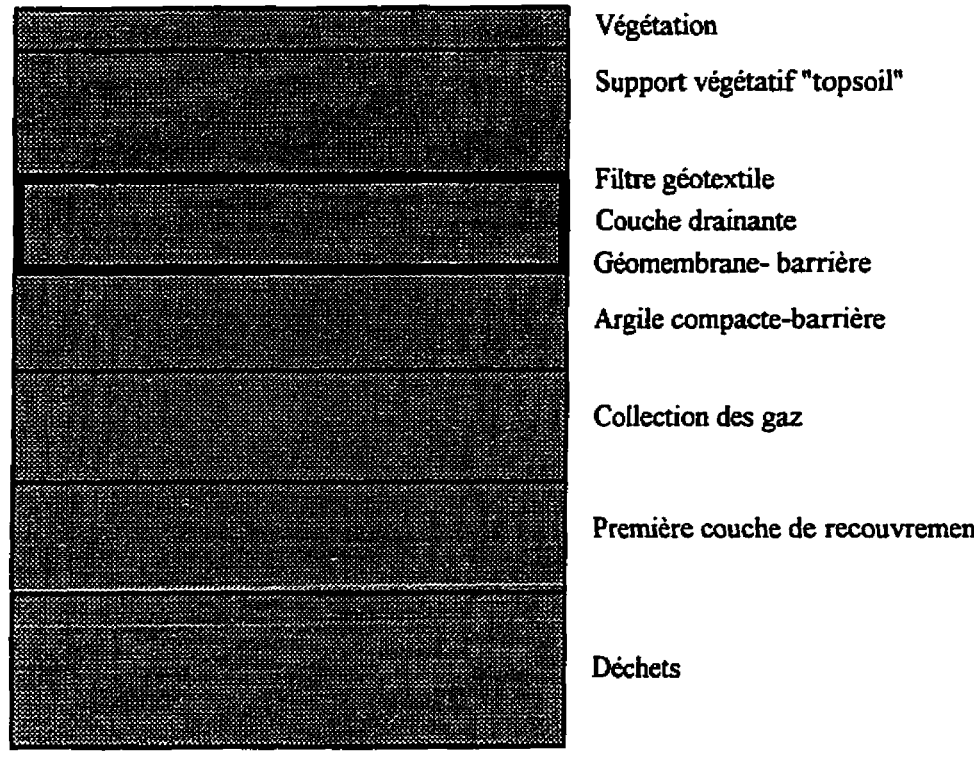


Figure 3: Recouvrement étanche d'une cellule d'enfouissement sécuritaire

2.5 Biotraitabilité des HAP

2.5.1 Biodégradation des HAP sous conditions aérobies

Les microorganismes capables de biodégrader les hydrocarbures (hydrocarbonoclastes) se retrouvent généralement en plus grande concentration dans les boues ou les sols contaminés depuis un certain temps, que dans les sols n'ayant pas d'antécédents de contamination ou dans les sites où la contamination est plus récente. De plus, les sites contaminés possèdent une plus grande variété de microorganismes adaptés (Atlas, 1988). Au début du siècle, on observa pour la première fois que les microorganismes pouvaient utiliser les HAP comme substrat pour leur croissance (Chakrabarty, 1982). Depuis des travaux ont démontré que la biodégradation était le processus majeur de destruction de ces contaminants dans la nature (Wilson et Jones, 1993). Des études ont également révélé que la masse molaire affecte le taux de biodégradation, c'est-à-dire que plus le nombre de noyaux est important, plus le HAP est récalcitrant à la biodégradation (Fleming *et al.*,1993.; Wang *et al.*,1990; Wild *et al.*, 1990; Wilson et Jones, 1993). En effet, une étude a démontré que la demi vie du naphtalène, un HAP de faible masse molaire (deux anneaux), peut atteindre deux ans, tandis que celle du coronène, un HAP de sept anneaux, est d'environ seize ans (Wild *et al.*, 1991). Par ailleurs, des études ont démontré que le cométabolisme à un rôle important dans la biodégradation des HAP de plusieurs noyaux comme le pyrène, le benzo[a]pyrène, le benzo[a]anthracène, ainsi que le fluoranthène (Laha et Luthy, 1991).

Lors de la biodégradation aérobie des HAP, une monooxygénase chez les procaryotes ou une dioxygénase chez les procaryotes exécute la première oxydation. Suite à cette étape, la présence de deux groupes hydroxyles (OH) sont responsables de l'ouverture du cycle benzénique. Le produit de ces réactions est la formation de catéchol qui mènera à la production d'acides aldéhydes et de CO_2 (Chakrabarty, 1982; Wilson et Jones, 1993).

2.5.2 Biodégradation des HAP sous conditions anoxies

En général, par l'activité des microorganismes, les systèmes en zone saturée se trouvent sous conditions anoxies (Mihelcic et al, 1988a). Dans ce cas, la biodégradation dépend principalement de la capacité des microorganismes indigènes à utiliser un accepteur d'électrons autre que l'oxygène gazeux. Par exemple, le nitrate et le sulfate peuvent servir d'accepteur d'électrons sous des conditions dénitrifiantes (HAP) et sous conditions sulfato-réductrices (BTEX) (Al-Bashir *et al.*, 1990; Samson *et al.*, 1991; Leduc *et al.*, 1992).

Ces études ont démontré que le taux de biodégradation des HAP était significativement plus élevée sous des conditions aérobies que sous des conditions dénitrifiantes ou sulfato-réductrices (Leduc *et al.*, 1992). Néanmoins, des études ont démontré clairement le potentiel de la dénitrification pour la biodégradation des HAP de faible masse molaire (Al-Bashir *et al.*, 1990). En effet, les HAP de faible masse molaire comme la naphtalène, l'anthracène, l'acénaphthylène, l'acénaphthène et le fluorène, ont été montré comme étant biodégradables sous conditions dénitrifiantes, mais récalcitrants sous conditions sulfato-réductrices et méthanogéniques (Samson *et al.*, 1991; Leduc *et al.*, 1992). Toutefois, certains hydrocarbures sont biodégradables en présence de sulfate ou de CO_2 comme accepteur d'électrons (Leduc *et al.*, 1992).

Il est essentiel que l'accepteur d'électrons soit en excès au cours de l'expérience afin qu'il ne devienne pas un facteur limitant pour la biodégradation des HAP (Mihelcic et Luthy, 1988a; Samson *et al.*, 1991; Leduc *et al.*, 1992). La demande en nitrate est associée à la minéralisation de la matière organique et, par la suite, à la minéralisation des HAP. La concentration en matière organique peut donc influencer le taux de biodégradation. En effet, l'utilisation préférentielle de la matière organique réduit la concentration en nitrate et, par conséquent, peut réduire le taux de biodégradation des HAP. La biodégradation sous

conditions dénitrifiantes dépend donc principalement de la concentration en nitrate et du ratio HAP: matière organique (Mihelic et Luthy, 1988a).

La biodégradation sous conditions dénitrifiantes comporte plusieurs avantages: moins de volatilisation des polluants, un taux de biodégradation proche de celui obtenu sous conditions aérobies et enfin, le nitrate, qui a une solubilité hautement supérieure à l'oxygène, peut faciliter les manipulations et les équipements lors de travaux de décontamination (Leduc *et al.*, 1992). En fait, la biodégradation sous conditions dénitrifiantes favorise une décontamination sécuritaire des sols, des aquifères et des sédiments contaminés par des HAP de faible masse molaire.

2.5.3 Biodégradation des HAP sous conditions anaérobies

Tel que mentionné auparavant, l'acénaphthylène, l'anthracène, l'acénaphthène et le fluorène sont récalcitrants à la biodégradation sous conditions sulfato-réductrices et méthanogéniques (Mihelcic et Luthy, 1988b; Leduc *et al.*, 1992). Toutefois, certains hydrocarbures sont biodégradables en présence de sulfate ou de CO_2 comme accepteur d'électrons. Par exemple, le naphthol est dégradé sous conditions anaérobies. En fait, le naphthol possède un groupe hydroxyl qui rend la molécule biologiquement plus réactive (Mihelcic et Luthy, 1988b). Sinon, dans tous les cas, aucun métabolite n'a été détecté par chromatographie en phase gazeuse, ce qui indique que les réactions de dégradation sont bloquées aux premières étapes de la biodégradation microbienne (Leduc *et al.*, 1992). De même, la stabilité des HAP sous conditions sulfato-réductrices a été confirmée par plusieurs études (Mihelcic et Luthy, 1992a,b; Leduc *et al.*, 1992). .

2.5.3 Facteurs environnementaux influençant la biodégradation

La biodégradation est régie par plusieurs paramètres qui peuvent limiter ou favoriser la vitesse de réaction. Le tableau 1 présente les principaux facteurs environnementaux qui contrôlent la biodégradation.

Tableau 1 Facteurs environnementaux influençant l'activité bactérienne

Paramètres	Conditions favorisant l'activité microbienne	Sources
Oxygène	10% à 40% de la saturation	Wilson et Jones, 1993
Humidité	25% à 85% de la capacité de rétention d'eau au champs Valeur optimale 50% à 70%	Dibble et Bartha, 1979
pH	6,5 à 8,5 Valeur optimale 7,5 à 7,8	Dibble et Bartha, 1979
Température	18°C à 40°C Valeur optimale 20°C à 30°C	Matte, 1991
Nutriments inorganiques	C:N:P 120:10:1 Valeur optimale C:N 60:1, C:P 800:1	Dibble et Bartha, 1992

Les facteurs environnementaux qui contrôle la biodégradation sont essentiellement: l'oxygène, l'humidité, le pH, la température et la concentration en éléments inorganiques.

a) Oxygène: il est essentiel au processus de biodégradation aérobie. En effet, la disponibilité de l'oxygène molaire est nécessaire pour la survie des microorganismes présents dans le sol, ainsi que pour l'oxydation biologique des composés de HAP (Dibble et Bartha, 1979; Matte, 1991).

b) Humidité: la biodégradation aérobie est généralement favorisée dans un sol dont la capacité de rétention d'eau est de 30% à 70%. En fait, l'eau présente dans le sol permet de solubiliser les éléments nutritifs, les contaminants et permet le transport des microorganismes (Middleton *et al.*, 1991; Matte, 1991). Cependant, un sol saturé en eau défavorise l'aération du sol, en empêchant l'oxygène de diffuser au travers des pores du sol. Au contraire, dans un sol non saturé en eau, l'activité de l'eau est faible et limite le transport des microorganismes effectuant la biodégradation (Dibble et Bartha, 1979).

Une étude a démontré que la biodégradation des HAP se faisait plus rapidement dans un réacteur à sol sous forme de boue ou la quantité d'eau est 30 à 50% plus élevée que dans un bioréacteur à sol humide (Middleton *et al.*, 1991). L'auteur conclut donc que l'eau est un paramètre de première importance dans la biodégradation. Par ailleurs, les HAP, par leur grande facilité à s'adsorber aux particules du sol, rendent les surfaces hydrophobes et par conséquent réduisent la capacité de rétention d'eau du sol (Dibble et Bartha, 1979). C'est pourquoi, on considère que la valeur optimale en pourcentage d'eau est de 50 à 70% (Dibble et Bartha, 1979).

c) pH: il est essentiel de maintenir un pH entre 5,0 et 8,5 pour favoriser la croissance des microorganismes. Des pH extrêmes inhibent les enzymes impliquées dans les réactions de biodégradation (Samson et Zaloum, 1989). Toutefois, les champignons, qui jouent un rôle dans la biodégradation des HAP de grands poids molaires, sont moins sensibles que les bactéries à un pH acide (Dibble et Bartha, 1979). Le contrôle du pH est réalisé par l'ajout de

chaux (augmente le pH) ou l'ajout de composés soufrés (abaisse le pH). De plus, une augmentation extrême du pH peut entraîner la volatilisation de l'ammoniac ("stripping") qui ne devient plus disponible pour les microorganismes (Matte, 1991). Une étude réalisée sur des boues huileuses a démontré que la biodégradation était fortement favorisée par l'ajout de $CaCO_3$ jusqu'à un pH de 7,8 Dibble et Bartha, 1979).

d) température: elle influence toutes les réactions biologiques. Ainsi, à l'intérieur d'une plage de température favorable, une augmentation de la température accélère l'activité microbienne, et une baisse de température ralentit l'activité métabolique. Par contre, une température trop élevée (>40°C) peut dénaturer les enzymes impliquées dans les réactions d'hydrolyses (Samson et Zaloum, 1989). C'est pourquoi, la biodégradation est généralement favorisée à des températures se situant autour de 20°C à 30°C (Dibble et Bartha, 1979; Matte, 1991).

e) Nutriments inorganiques: Ils sont essentiels à la croissance des microorganismes. Étant donné que les HAP sont des composés riches en carbones, les microorganismes sont capables de les utiliser comme source d'énergie. Pour ce faire, les microorganismes ont besoins de phosphore et d'azote qui sont des éléments essentiels à leur croissance (Matte, 1991). Un rapport C:N:P de 120:10:1 est suffisant pour maintenir l'activité des microorganismes. Cependant, la biodégradation des composés récalcitrants comme les HAP de grands poids molaires demande un apport supplémentaire de nutriments inorganiques (Dibble et Bartha, 1979). C'est pourquoi, on considère que les rapports C:N de 60:1 et C:P de 800:1 sont idéals pour empêcher la stagnation des processus d'oxydation biologique et pour favoriser la biodégradation des HAP (Dibble et Bartha, 1979).

2.5.4 Granulométrie

La granulométrie d'un sol ou d'une boue influencent également le taux de biodégradation (Adenuga *et al.* 1991; Middleton *et al.* 1991). Tel que mentionné auparavant, les hydrocarbures aromatiques polycycliques sont des composés hydrophobes qui se trouvent généralement adsorbés aux particules du sol. En fait, cette propriété peut réduire considérablement leur biodégradation car le contaminant se présente sous forme adsorbé, ce qui limite sa biodisponibilité aqueuse (Samson, 1994).

Lors de la biodégradation, un biofilm entoure les composantes d'une boue, c'est-à-dire les composés chimiques, les particules fines, les cendres et les NAPLs (non acqueous phase liquid). Les microorganismes présents dans la boue vont adhérer à la surface de ces particules et former un biofilm (Middleton *et al.*, 1991). Si le contenu en particules fines d'une boue est élevé, les particules adhèrent ensemble et forment une masse dont les micropores empêchent l'entrée des microorganismes à l'intérieur. C'est pourquoi, la quantité de HAP résiduelle est plus grande dans une boue contenant une concentration élevée en particules fines (Middleton *et al.*, 1991). En effet, la biodisponibilité de la source de carbone est un paramètre important et affecte le taux de biodégradation. Au contraire, dans une boue composée de plus grosses particules (sable, gravier) la quantité de HAP résiduelle varie de faible à presque inexistante. Les propriétés de ce dernier type de boue réduisent la formation d'agrégats; les microorganismes peuvent donc se déplacer dans les macropores de la boue et dégrader les composés adsorbés. Cependant, la migration des HAP dans les fissures des grains de sable rend très difficile le transport des microorganismes. Dans ce cas, les microorganismes produisent des agents tensioactifs pour favoriser la mobilisation des polluants (Samson, 1994). Ainsi, la biodégradation s'effectue plus rapidement dans ce type de boue (Middleton *et al.*, 1991).

2.5.5 Concentration et type de polluants

Comme il existe peu de littérature sur les boues de procédé d'épurateurs, certaines explications citées ci-après ont été tirées d'articles portant sur les sols contaminés. La concentration du polluant dans un sol ou dans une boue peut aussi avoir un effet sur le taux de biodégradation (Boethling et Alexander, 1978; Alexander, 1994). Étant donné que la plupart des tests impliquent une concentration relativement élevée de contaminants, il est difficile de prédire exactement le comportement des microorganismes face à une faible concentration de HAP. En effet, des expériences ont démontré que la biodégradation est limitée lorsque la concentration du contaminant est très faible. Par exemple, le taux de minéralisation est de 20 % pour une concentration de polluants de 3,0 ηg/ml, tandis que si on augmente cette concentration à 30 mg/ml, le taux de minéralisation peut atteindre jusqu'à 65% (Boethling et Alexander, 1978).

Au contraire, une concentration très élevée de contaminant peut être toxique pour la population microbienne, et inhiber l'activité bactérienne (Alexander, 1994). Par exemple, les contaminants se trouvent généralement très concentrés dans les boues de procédé et la contamination est souvent complexe (Tchobanoglous et Schroeder, 1985). Par ailleurs, la plupart des métaux sont toxiques vis-à-vis la flore microbienne (Degrémont, 1989). En effet, certains métaux tels que les cyanures et les fluorures se fixent sur les sites enzymatiques, qu'ils bloquent en altérant la perméabilité cellulaire, ou en dénaturant les enzymes bactériennes. Cependant, certaines cultures bactériennes ont montré la capacité de s'adapter à la présence de toxiques ou d'inhibiteurs et ainsi de reculer les seuils de toxicité (Degrémont, 1989).

CHAPITRE 3: MATÉRIEL & MÉTHODES

Les boues d'épurateurs, résultant de l'électrolyse de l'aluminium, utilisées pour ce projet proviennent d'une industrie de fabrication de l'aluminium de la société d'électrolyse et de chimie Alcan située à Shawinigan. Les échantillons de boues ont été prélevés à différents points sur le site d'entreposage lors du réaménagement des cellules. Les travaux de restauration par recouvrement étanche ont été réalisés entre 1994 et 1995. Auparavant, les boues d'épurateurs étaient déposées sur le site appartenant à la Société Alcan de façon continue de 1971 à 1988 et de façon sporadique de 1988 à 1991. L'entreposage date donc de plusieurs années.

Les boues d'épurateurs sont de couleur grise et possèdent une odeur nauséabonde. Suite à l'échantillonnage qui s'est effectué en plusieurs points (10) sur le site d'enfouissement, les boues récoltées ont été mélangées et entreposées à 4°C à l'obscurité jusqu'à leur utilisation.

Le procédé Söderberg, responsable de la production des boues d'épurateurs étudiées pour ce présent projet, requiert des anodes "vertes" ainsi que des additifs fluorés. Au cours de la réaction électrolytique, les gaz et les poussières générés lors de la réaction électrolytique sont aspirés par un système de ventilation et acheminés vers un système de lavage des gaz "wet scrubbing systems" où ces derniers sont récupérés. Ce qui explique la forte concentration de contaminants dans les boues d'épurateurs de l'industrie de l'aluminium.

Des analyses chimiques et microbiologique ont été effectuées sur les boues d'épurateurs afin de les caractériser, notamment l'identification des hydrocarbures aromatiques polycycliques ainsi que leur concentration, la teneur en eau, le pH, le pourcentage

d'humidité et le dénombrement cellulaire. Le tableau 2 résume les différentes analyses effectuées pour caractériser les boues d'épurateurs résultant de l'électrolyse de l'aluminium.

Tableau 2 Analyses et protocoles effectués pour la caractérisation des boues d'épurateurs

Analyses	Protocoles
HAP	EPA 8270 B
Fluorures totaux	APHA, 4500-F⁻ B, C, D, 1989
Aluminium total	APHA, 3113 B
pH	ASTM D2974-87
Dénombrement bactérien	Germida, 1993
% d'eau	ASTM D2974-87 & ASTM D2216-92

3.1 pH

Le pH des boues d'épurateurs a été mesuré selon le protocole ASTM D4972-89. La détermination du pH est réalisée en pesant 5,0 g de boue auquel est rajouté 5 ml d'eau déminéralisée (pour ne pas affecter la lecture du pH). Le mélange est brassé vigoureusement (au vortex) pendant 1 minute et centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes. Par la suite, le surnageant est transvidé dans un tube de 15 ml dans lequel le pH est mesuré. La lecture est prise dans le surnageant après 5 minutes d'agitation.

3.2 Pourcentage d'eau

Le contenu en eau de la boue a été déterminé selon les protocoles ASTM D2216-92 et ASTM D2974-87. La méthode consiste principalement à mesurer le contenu en eau par la différence de poids entre un échantillon frais et un échantillon chauffé. Pour ce faire, des cupules sont placées au dessiccateur pour la nuit. Par la suite, 5 g de sol sont déposés dans une cupule préalablement pesée à 0,0001 g près. L'échantillon est ensuite mis au four (Fisher, Isotemp Oven 100 series, modèle 126 G. Montréal, Canada) pour une période de 16 à 24 heures. À la sortie du four les cupules sont refroidies au dessiccateur quelques minutes pour empêcher qu'elles absorbent l'humidité puis repesées sur la même balance analytique . La différence de poids entre les deux valeurs permet de calculer le taux d'humidité de l'échantillon.

$$\% \text{ d'eau} = \frac{(PH - PC) - (PS - PC)}{(PH - PC)} * 100$$

PC = poids de la cupule sèche

PH = poids de la cupule + poids de l'échantillon humide

PS = poids de la cupule + poids de l'échantillon sec

3.3 Analyse des ions

L'analyse des ions a été effectuée lors des tests de minéralisation sous conditions dénitrifiantes pour s'assurer que les microorganismes réduisent le nitrate. Les ions nitrite et nitrate ont été analysés à partir d'un échantillon de boue mélangé à une solution saline. Le mélange est agité pendant une heure (agitateur Wrist Action, Burrell modèle 75) puis centrifugé à 3000 rotations par minute (rpm) (centrifugeuse IEC) pendant 10 minutes.

Le surnageant récolté (2 ml) est ensuite filtré sur une membrane en fibre de verre de 0,45 µm (Whatman, 934-AH) et analysé pour connaître la concentration des cations mentionnés auparavant à l'aide d'un chromatographe à haute performance en phase liquide (HPLC, Dionex, sunnyvale, USA). Le HPLC est muni d'un détecteur à conductivité (Dionex) et d'une colonne (Dionex, Ionpac AS4A-Sc, 250 X 4 mm) utilisant une phase mobile composée de 1,8 mM carbonate (Na2CO3)/ 1,7 mM bicarbonate (NaHCO3).

3.4 Potentiel d'oxydoréduction

Le potentiel rédox des boues d'épurateurs a été déterminé selon la méthode ASTM D 1498-93. Le potentiel d'oxydoréduction a été mesuré par un couple d'électrodes constitué d'une électrode inattaquable (platine, Platinum combination electrode, Fisher Scientific) et d'une électrode de référence, qui est une électrode de chlorure d'argent (Silver Electrode (AgCl), Fisher Scientifique). La sonde à POR est insérée dans l'échantillon, en prenant soin d'immerger la partie métallique. Fournir une légère agitation. La lecture du POR est prise lorsque sa valeur est stable.

3.5 Analyse des HAP

L'analyse des HAP dans les boues d'épurateurs a été réalisée par les laboratoires Eco-CNFS Inc. (Pointe Claire, Québec) selon la méthode de L'EPA 8270B. La méthode consiste principalement à déterminer la concentration des composés organiques semi-volatils préalablement extrait d'une matrice contaminée telle que les boues d'épurateurs. L'analyse, utilisant un système GC-MS, permet l'identification et la quantification de 24 HAP. Ce protocole est utilisé pour quantifier des composés organiques solubles dans le

chlorure de méthylène. Les HAP ont été préalablement extrait par la méthode de micro-extraction, le solvant (dichlorométhane) contenant les HAP ainsi que les standards de récupération (le fluorène-d10, le pyrène-d10 et le benzo[a]pyrène-d12) a été analysé à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse (GC-MS: Hewlett Packard, Avondale, PA, modèle 5890A), couplé à un spectromètre de masse (Hewlett Packard, modèle 5972 E).

Pour chaque analyse, des standards de HAP deutérés ont été utilisés et analysés. De cette façon, une courbe étalon a été réalisée et a permis de calculer la concentration des HAP dans les boues d'épurateurs. De plus, l'analyse des standards a permis de vérifier la constance de lecture entre les échantillons.

3.6 Analyse des fluorures

L'analyse des fluorures solubles a été réalisée par les laboratoires Eco-CNFS Inc. selon la méthode d'électrode sélective S.M 4500-F- section B, C, et D. Cette méthode est employée pour mesurer la concentration des ions fluorures simples et complexes (libérés par distillation) avec l'emploi d'une électrode sélective. Le domaine de linéarité est limité par la quantité maximale de fluorures pouvant être distillée, soit 100 ppm (mg/l). Les fluorures, distillés sous forme d'acide hydrofluorhydrique, sont mesurés potentiométriquement par électrode sélective (APHA *et al.*, 1989).

3.7 Analyse de l'aluminium

L'analyse de l'aluminium total a également été réalisée par les laboratoires Eco-CNFS Inc. En suivant la méthode ICP, S.M 3113 B (APHA, 1995). La mesure du métal a été réalisé par spectrométrie à plasma ICP. Le spectrophotomètre d'émission au plasma d'argon utilisé est de marque Jarrel- Ash, modèle Poly Scan 61 E. Il est a noté, que l'analyse d'échantillon de sols ou de sédiments requiert préalablement une digestion, pour les échantillons de lixiviat, l'analyse est effectuée sans digestion.

3.8 Dénombrement des bactéries

Le dénombrement bactérien a été effectué pour déterminer le nombre et l'importance des microorganismes dans les boues d'épurateurs. En effet, tel que mentionné auparavant, la biodégradation de composés complexes comme les HAP est favorisée en présence de plusieurs espèces de microorganismes.

3.8.1 Extraction des bactéries

Comme le dénombrement bactérien est exprimé en unité formant des colonies par gramme de boue sèche (UFC/ g de boue sèche), il est d'abord nécessaire d'effectuer un poids sec sur les échantillons utilisés pour la réalisation des comptes cellulaires (la méthode utilisée pour mesurer le poids sec se trouve à la section 3.2). Par la suite, 50 ml d'une solution saline de 0,85 % (8,5 g de NaCl/ 1000 ml d'eau distillée) sont déposés dans une bouteille de 100 ml ainsi que 20 billes de verre de 3 mm (2,5 g de billes/ 5 g de sol). Le tout est autoclavé puis refroidi à la température de la pièce.

La boue humide (5 g) est ensuite ajoutée à la solution saline puis agiter durant 3 minutes

au vortex chrono (Fisher Vortex, Génie 2, Fisher Scientifique, N.Y, USA). Le mélange est aussi agité quelques secondes durant le prélèvement afin de permettre l'homogénéisation de l'échantillon.

3.8.2 Préparation des géloses et étalement sur plaques de Pétri

Une solution d'agar 1,5 % (15 g d'agar ultra pur (Oxoide) par litre de milieu salin minéral (MSM)) est préparée pour un milieu de culture sélectif (bactéries dégradant spécifiquement les HAP) et de préparer une solution d'agar 1,5 % (15 g d'agar granulé (Difco) par litre d'eau du robinet) pour un milieu de culture servant au dénombrement des hétérotrophes totaux, dans un erlenmeyer de 2000 ml muni d'un bouchon mousse. Par la suite, le milieu de culture est autoclavé pendant 30 minutes à 121°C et 103,4 kPa, puis versé (chaud) aseptiquement (sous une hotte à flots laminaires) dans des plaques de Pétri (20 ml/plaque). Les géloses sont ensuite refroidies puis entreposées à l'envers, à 20oC, à la noirceur et dans un sac de plastique.

Pour les comptes cellulaires sélectifs, le HAP étudié est dissous dans l'acétone à une concentration de 4 ml/ml puis étalé (1 ml) sur une gélose. La boîte de Pétri n'est cependant pas fermée immédiatement pour laisser évaporer pendant quelques minutes l'acétone.

Plusieurs manipulations ont été nécessaires pour l'étalement de la suspension de bactéries sur les plaques de Pétri. Une solution saline 0,85 % (8,5g NaCl/ 1000 ml d'eau distillée) est préparée puis versée (9 ml) dans des tubes de verre à centrifugation de 16 ml. Pour chaque échantillon de boue à analyser, 7 tubes sont préparés puis stérilisés pendant 30 minutes à 121oC et 103,4 kPa. Par la suite, 1 ml de la suspension de bactéries est ajouté dans le premier tube de solution saline à l'aide d'une pipette de 1 ml (dilution 10-1), le tout est mélangé 5 secondes au vortex. De la même façon, les dilutions successives

suivantes sont préparées dans les autres tubes (toujours à partir du précédent): 10-1, 10-2, 10-3, 10-4, 10-5, 10-6. Ensuite, 0,1 ml de la solution de bactéries initiale (100) ainsi que des dilutions effectuées auparavant sont étalées sur les géloses. Chaque dilution est effectuée en triple exemplaires. Deux contrôles, sans solution de bactéries sont également préparés afin de déterminer s'il y a eu une contamination au cours de l'expérience.

Une fois terminé, les plaques de Pétri sont incubées à la noirceur et à 25oC ou à la température de la pièce. Il s'agit ensuite de faire un décompte cellulaire 7 jours après l'inoculation ou encore jusqu'à ce que le nombre de colonies reste constant (APHA *et al.*, 1992; Germida, 1993). Le nombre de colonies formées par gramme de sol sec (UFC) est déterminé par le calcul suivant:

$$\text{UFC /g sol sec} = \frac{\text{Compte cellulaire} * \text{Facteur de dilution}}{\text{Poids sol sec}}$$

3.9 Produits chimiques

Lors des tests de minéralisation et des expériences de désorption / adsorption, des polluants témoins marqués au carbone-14 ont été utilisés. Ces composés radioactifs proviennent tous de la compagnie Sigma Chemical Co. (St Louis, MO): [9-^{14}C] phénanthrène (activité spécifique: 8,3 mCi/mmol), [3-^{14}C] fluoranthène (45mCi/mmol), [4,5,9,10-^{14}C] pyrène (32,3 mCi/mmol), [7-^{14}C] benzo[a]pyrène (26,6 mCi/mmol). Tous ces composés possèdent une pureté supérieure à 98%. La préparation des solutions radioactives a été réalisée en diluant les composés marqués au carbone-14 dans un solvant. Ainsi, le pyrène et le benzo [a] pyrène ont été dilués dans le toluène (pureté supérieure ou égale à 99,5%) obtenu par la compagnie Anachemia Chemicals Inc. Le

phénanthrène et le fluoranthène ont été dilués dans le méthanol provenant de la compagnie Fisher Scientific.

L'azoture de sodium (NaN_3) utilisé pour les expériences de minéralisation contenant des témoins abiotiques provient de la compagnie Anachemia Chemicals Inc.

De plus, des HAP deutérés ont été utilisés pour la réalisation des expériences de micro-extraction. Ces composés deutérés proviennent de la compagnie CDN Isotopes (Pointe-Claire, Québec, Canada): fluorène-d_{10}, pyrène-d_{10} et le benzo[a]pyrène-d_{12}. Tous ces produits possèdent une pureté supérieure à 98,8 %. La préparation de la solution standard a été réalisée en diluant ces polluants dans le dichlorométhane (CH_2Cl_2) pour HPLC obtenu par la compagnie Anachemia Chemicals Inc.

3.10 Adsorption/ désorption des HAP sur l'alumine

Le test d'adsorption/ désorption du fluoranthène sur l'alumine vise principalement à connaître le pouvoir adsorbant de l'alumine. Pour réaliser cette expérience, l'alumine et de l'eau distillée sont déposées dans un tube à centrifugation de verre de 25 ml selon un ratio de 30 % (p/v). La concentration de fluoranthène dans ces tubes est ajustée à 0,5, 0,20, 0,10, 0,05 et 0,01 mg/l. De plus, une goutte d'acide chlorhydrique (10 N) est ajoutée dans chaque tube. Afin de déterminer la capacité d'adsorption de l'alumine, deux contrôles ont été réalisés suivant la même procédure mais cette fois, sans l'alumine. Par la suite, les tubes sont agités sur un Wrist- Action Shaker, modèle 75 (Burell Co., Pittsburg, PA) pendant 24 heures à l'abri de la lumière (la bouteille est recouverte de papier d'aluminium). Suite à la période d'agitation, l'échantillon est centrifugé pendant 10 minutes à 5000 rpm (2000 g). Afin de déterminer la concentration de ^{14}C-fluoranthène dans la phase aqueuse, 1 ml de surnageant est ajouté à 1 ml de KOH puis

mélangé à 10 ml de liquide à scintillation (10 ml) (Optiphase Hi- Safe 3, XSC/9205/21, Wallac, Turku, Finlande) et la radioactivité est mesurée dans un compteur à scintillation (Fisher Scientific, Wallac modèle 1405, Turku, Finlande). Le surnageant restant est retiré des tubes à l'aide d'une pipette de verre (25 ml) puis remplacé par 20 ml d'eau distillée fraîche. Cette procédure est répétée deux fois, de cette façon, chaque lavage permet d'atteindre un nouvel équilibre (Al- Bashir *et al.*, 1990).

3.10.1 Solution radioactive de fluoranthène

Une solution avec une activité spécifique de 100 000 000 dpm/ mg de fluoranthène est préparée en additionnant le [^{14}C]fluoranthène à une solution de 2,2 g/ l de fluoranthène dissous dans le méthanol.

3.11 Désorption des HAP présents dans les boues d'épurateurs

Les tests de désorption consistent principalement à mettre en solution les HAP adsorbés sur les particules des boues d'épurateurs (Al Bashir *et al.*, 1990). Pour réaliser cette expérience, la boue et de l'eau distillée sont déposées dans une bouteille en téflon de 250 ml selon un ratio de 30 % (p/v), puis agités sur un Wrist- Action Shaker, modèle 75 (Burell Co., Pittsburg, PA) pendant 24 heures à l'abri de la lumière (la bouteille est recouverte de papier d'aluminium). Suite à la période d'agitation, l'échantillon est centrifugé pendant 10 minutes à 5000 rpm (2000 g). Cette manipulation permet de retirer le surnageant (qui sera ultérieurement analysé par GC-MS pour connaître la concentration de HAP) à l'aide d'une pipette de verre (25 ml). Ainsi, 45 ml du surnageant sont récoltés et conservés à la noirceur à 4°C pour la réalisation des micro-extractions. L'excédent de surnageant est retiré de la bouteille et remplacé à nouveau

par de l'eau distillée fraîche jusqu'au volume initial soit, 200 ml. L'échantillon est de nouveau agité pour une période de 24 heures. L'opération est effectuée cinq fois.

3.12 Micro-extraction des HAP

Tel que mentionné auparavant, suite au prélèvement des échantillons de boue, la cellule de confinement des boues a été refermée. La quantité de boue d'épurateurs disponible est donc limité, c'est pourquoi, il est nécessaire d'effectué des micro-extractions pour déterminer la concentration des HAP par GC-MS.

3.12.1 Préparation de la solution standard

Les standards utilisés sont le fluorène-d_{10}, le pyrène-d_{10} et le benzo[a]pyrène-d_{12}. Chaque composé deutéré (1,2 mg) est déposé dans un ballon jaugée de 10 ml (préalablement rincer 3 fois au dichlorométhane (CH_2Cl_2) ainsi que le bouchon) puis dilué dans le dichlorométhane jusqu'à la jauge. Le mélange est aussitôt transvidé dans un vial de 10 ml, muni d'une valve Mininert préalablement rincée au dichlorométhane. Par la suite, un échantillon de 10 µl est prélevé à l'aide d'une seringue de verre (Hamilton) et additionné à un vial HPLC ambré de 1,8 ml contenant 990 µl de dichlorométhane. Le vial est ensuite fermé hermétiquement et conservé à 4°C pour analyse par GC-MS (témoin).

3.12.2 Extraction liquide-liquide

L'échantillon aqueux (45 ml) à analyser, auquel est ajouté 9 grammes de NaCl, est déposé dans une bouteille sérologique de 60 ml. La solution standard de récupération (25 µl) ainsi que 2 gouttes d'acide concentré (HCl) sont également incorporées à l'échantillon. La bouteille est ensuite fermée à l'aide d'une valve Mininert et agitée en position horizontale à 400 rpm sur une plaque agitatrice pendant 10 minutes à l'abri de la lumière (la bouteille est recouverte de papier aluminium) pour empêcher la photodégradation des contaminants. Par la suite, à l'aide d'une seringue de verre (Hamilton), 3 ml de chlorure de méthylène (CH_2Cl_2) sont ajoutés à l'échantillon et une fois de plus, la bouteille est agitée à 400 rpm pendant 20 minutes (la bouteille est toujours en position horizontale). Suite à l'agitation, la valve Mininert est remplacée par un septum de téflon et la bouteille est placée en position verticale, à la noirceur, l'ouverture vers le bas.

Avant de retirer, à l'aide d'une seringue de verre, 1 ml de solvant, l'échantillon est centrifugé à 2500 rpm, la tête vers le bas, à la température de la pièce pendant 10 minutes (les bouteilles sont déposées dans des gaines en caoutchouc, rotor employé JA-14).

3.13 Potentiel de minéralisation des HAP radioactifs dans les boues d'épurateurs

Pour déterminer le potentiel de biodégradation des polluants dans les boues d'épurateurs, des composés témoins radioactifs (marqués au carbone-14) représentatifs du type de pollution sont ajoutés dans des microcosmes et la minéralisation est suivie par la production de $[^{14}C]CO_2$. Les tests de minéralisation des HAP (le phénanthrène, le fluoranthène, le pyrène et le benzo[a] pyrène) réalisés en microcosme ont été effectués

afin de déterminer si les microorganismes présents dans les boues ont la capacité de biodégrader les HAP. De cette façon, il sera possible de déterminer s'il y a un phénomène d'atténuation naturelle dans les boues d'épurateurs ou encore si les HAP présents dans les boues sont biologiquement stables. Le tableau 3 présente le plan expérimental pour déterminer le potentiel de minéralisation des polluants témoins radioactifs dans les boues d'épurateurs sous conditions aérobies, dénitrifiantes et sulfato-réductrices. La méthodologie pour la préparation des microcosmes est résumée dans les paragraphes suivants.

Différents tests de minéralisation ont été effectués en fonction du type de polluants utilisés et de l'accepteur d'électron [oxygène (O_2),nitrate (NO_3^-), sulfate (SO_4^{2-})].

Tableau 3 Plan d'expérience utilisé pour déterminer le potentiel de minéralisation des HAP en microcosme sous conditions aérobies.

Traitements	**Nombre échantillons**	**Boue (g)**	**NaN_3 (g)**
1	2	20	
1	1 (témoin)	20	0,04

3.13.1 Préparation des microcosmes

Afin de déterminer le potentiel de biodégradation des HAP, 20 +/- 0,5 g de boue ou de lixiviat sont déposés dans une bouteille sérologique de 100 ml. Tel que mentionné auparavant, le polluant de référence (le phénanthrène, le fluoranthène, le pyrène ou le benzo[a]pyrène) marqué au carbone-14 est dissous dans une solution dans laquelle son coefficient de solubilité est élevé (méthanol ou toluène). Le contaminant (100 000 dpm)

est ensuite injecté dans le microcosme. Ce dernier est muni d'une trappe à CO_2 constituée de 1 ml de KOH 0,5 M déposé dans un tube en verre de 5 ml à l'intérieur de la bouteille.

De plus, pour chaque expérience, des témoins abiotiques sont réalisés en ajoutant 0,2 % d'azoture de sodium, soit 0,04 g/ microcosme de 20 g de boue. Ces témoins sont préparés afin de confirmer si la biodégradation est bien effectuée par les microorganismes indigènes des boues d'épurateurs.

Les microcosmes sont ensuite incubés à la température ambiante (20°C), sans agitation et à l'abri de la lumière (dans une armoire) pour éviter la photodégradation des polluants. La figure 4 représente le microcosme utilisé pour ces expériences.

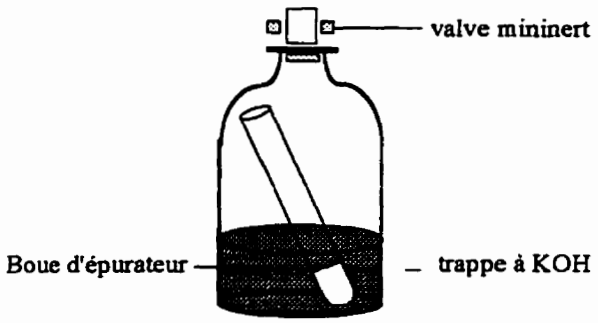


Figure 4 Microcosme utilisé pour les expériences de minéralisation

3.13.2 Suivi de la production de $[^{14}C]CO_2$

La production de $[^{14}C]CO_2$ est suivie tout au long des expériences de minéralisation en microcosme. L'échantillonnage du KOH est effectué en perçant le septum de caoutchouc (qui empêche l'air ambiant de pénétrer dans la bouteille et empêche également la volatilisation du CO_2 marqué) et en aspirant la solution de KOH pour le comptage de la radioactivité (Otte *et al.*, 1994; Millette *et al.*, 1995).. La trappe contenant la solution de KOH radioactive est ensuite rincée avec 1 ml d'une solution fraîche de KOH 0,5 M pour s'assurer que toute la solution radioactive a été aspirée. Les fractions de KOH (2 ml) sont alors mélangées à 10 ml de liquide à scintillation (10 ml) (Optiphase Hi- Safe 3, XSC/9205/21, Wallac, Turku, Finlande) et la radioactivité $[^{14}C]CO_2$ est mesurée avec un compteur à scintillation (Fisher Scientific, Wallac modèle 1405, Turku, Finlande). Pour obtenir le pourcentage de minéralisation dans chaque microcosme, le calcul suivant est effectué:

$$\% \text{ de minéralisation} = \frac{\text{nb de dpm au temps } X * 100}{\text{nb de dpm moyen dans les contrôles de départ}}$$

3.13.3 Conditions aérobies

Tel que mentionné auparavant, un septum étanche empêche l'air ambiant de pénétrer dans la bouteille, de l'oxygène est donc régulièrement rajoutée au cours de l'expérience pour que l'oxygène ne soit pas un facteur limitant lors de ces expériences.

Plusieurs contaminants ont été étudiés lors des tests de minéralisation sous conditions aérobies, soit quatre hydrocarbures aromatiques polycycliques: le phénanthrène, le fluoranthène, le pyrène et le benzo[a]pyrène.

3.13.3.1 Potentiel de biodégradation du phénanthrène dans le lixiviat des boues

Des tests de minéralisation ont été réalisés sur le lixiviat des boues d'épurateurs résultant de l'électrolyse de l'aluminium afin de déterminer le potentiel de biodégradation des contaminants en cas de fuite de la cellule d'entreposage. Seul le phénanthrène marqué au carbone-14 a été utilisé comme polluant cible lors de cette expérience. Les tests de minéralisation ont été réalisées sous conditions aérobies.

3.13.4 Conditions anoxies

Les boues d'épurateurs sont actuellement confinées dans des cellules étanches. Dans ce cas, comme en zone saturée, l'activité des microorganismes entraîne généralement une diminution de la quantité d'oxygène gazeux dans le milieu donc des conditions anoxies. Des tests de minéralisation sous conditions dénitrifiante ont donc été effectués afin de déterminer le potentiel de minéralisation des HAP en présence d'accepteurs d'électrons autre que l'oxygène.

Sous des conditions dénitrifiantes, l'air contenu dans les microcosmes est remplacée par de l'azote et du nitrate (NO_3^-) est ajouté pour servir d'accepteur d'électron. (Leduc *et al.*, 1992; Samson *et al.*, 1991).

Pour ce faire, les microcosmes contenant les boues d'épurateurs (20 g) sont purgés à l'azote pour une période d'environ 30 minutes afin de retirer l'oxygène présente dans l'échantillon et dans la bouteille. La solution de KOH 1N est également purgée pendant une heure avec de l'azote avant d'être ajoutés aux microcosmes. De plus, dans chaque microcosme, 3,6 g/ l de nitrate de sodium sont ajoutés, soit 0,06 g de $NaNO_3$ par microcosme.

La disparition des nitrates (NO_3^-) et l'accumulation des nitrites (NO_2^-) témoignent de l'activité de biodégradation sous des conditions dénitrifiantes. En effet, les nitrates utilisés comme accepteurs d'électrons par les microorganismes des boues d'épurateurs sont réduits et ainsi biotransformés en nitrites. L'analyse des ions est effectuée par chromatographie à haute performance en phase liquide (HPLC). La méthode utilisée pour l'analyse des ions NO_3^- et NO_2^- est décrite à la section 3.3. Ainsi, contrairement aux tests de minéralisation sous conditions aérobies, deux témoins sans radioactivité sont préparés et analysés au début et à la fin de l'expérience de minéralisation pour connaître la concentration de ces deux ions. Les tests de minéralisation ont été effectués en utilisant comme polluants cibles, le phénanthrène, le fluoranthène et le pyrène marqués au carbone-14.

3.13.5 Conditions sulfato-réductrices

Pour les tests de minéralisation effectués en conditions sulfato-réductrices, l'oxygène contenu dans l'échantillon et dans la bouteille est remplacé par de l'azote tandis que du sulfate (SO_4^{2-}) est ajouté pour servir d'accepteur d'électron (Leduc *et al.*, 1992).

Pour ce faire, les microcosmes contenant les boues d'épurateurs (20 g) sont purgés (bullage) à l'azote pour une période d'environ 30 minutes afin de retirer l'oxygène de l'échantillon et de la bouteille. La solution de KOH 1N est préalablement purgée pendant une heure avec de l'azote avant d'être ajoutée aux microcosmes. De plus, dans chaque microcosme, 4,0 g/ l de sulfate de sodium sont ajoutés, soit 0,064 g de Na_2SO_4 par microcosme.

Malgré les manipulations effectuées et une attente de plusieurs jours, le potentiel d'oxydoréduction dans les boues de procédé n'a pas été adéquat pour permettre la

réalisation des expériences de minéralisation. Les boues d'épurateurs ont donc été mélangées selon un ratio 1 dans 3 avec des boues provenant d'un réacteur biologique séquentiel (RBS) responsable de traiter les effluents d'une l'industrie laitière qui montraient déjà un bon potentiel d'oxydoréduction négatif approprié (-400 mV).

Dans ce cas, la disparition des ions sulfates et l'accumulation de H_2S ont été utilisés pour déterminer la présence d'activités sulfato-réductrices. L'analyse de ces ions a été réalisée par HPLC.

3.14 Extraction du lixiviat

Des tests écotoxicologiques et de minéralisation ont été effectués avec la fraction lixiviat des boues d'épurateurs afin de déterminer le potentiel toxique ainsi que le potentiel de biodégradation des HAP advenant une fuite de lixiviat de la cellule d'entreposage.

3.14.1 Pourcentage d'eau extractible

Les manipulations nécessaires pour déterminer le pourcentage d'eau extractible ont été effectuées selon le protocole de lixiviation de déchets solides pour bioessais de la compagnie Analex située à Laval.

Le pourcentage d'eau extractible de l'échantillon à analyser permet de calculer le volume nécessaire de boues et d'eau déminéralisée à mélanger pour réaliser la lixiviation de l'échantillon.

Pour ce faire, un poids d'échantillon homogénéisé est prélevé et placé dans un tube à centrifugation de 16 ml gradué et pré-pesé. Le tout est pesé et centrifugé pendant 30 minutes à 2500 rpm (1000 g). Le surnageant est ensuite séparé du solide à l'aide d'une pipette pasteur puis le tube est repesé afin de déterminer le pourcentage d'eau extractible. Cette opération a pour but de retrancher du volume d'eau à ajouter, la quantité d'eau extractible par centrifugation.

3.14.2 Lixiviation

3.14.2.1 Préparation du mélange

Peser un poids d'échantillon d'au moins 100 g, plus le pourcentage d'eau extractible s'il y a lieu, soit (P + EP), où P est d'au moins 100 g et, EP le pourcentage d'eau extractible obtenu par centrifugation.

Placer l'échantillon (P + EP) dans une bouteille de verre. Ajouter une quantité d'eau ultra-pure (eau déminéralisée) égale à 10 fois le poids du produit, moins le pourcentage d'eau extractible, soit, 10 P - EP.

3.14.2.2 Condition et séparation du lixiviat

La bouteille munie d'un bouchon en teflon est fermée hermétiquement et placée sur un agitateur rotatif avec retournement complet "End over end shaker" pouvant tourner entre 3 et 30 rpm. La vitesse de rotation est déterminée de façon à obtenir la meilleur agitation possible entre l'eau et l'échantillon. Le mélange est ainsi lixivié pendant 24 heures à la température de la pièce. Suite à cette manipulation, la phase solide est séparée de la phase liquide par filtration sur un filtre en fibre de verre de 0,45 μ (Whatman, 934-AH). Cette opération est facilitée par filtration sous vide ou sous pression (<0,5 atm ou 8 psi). Chaque filtre doit préalablement être rincé en filtrant 500 ml d'eau déminéralisée avant leur utilisation.

3.15 Analyses écotoxicologiques

Les tests écotoxicologiques ont été réalisés par la compagnie Analex. Ce laboratoire applique rigoureusement le protocole recommandé par l'Agence américaine de protection de l'environnement (US EPA).

Les tests écotoxicologiques sont réalisés pour déterminer si la boue ou le lixiviat de ces boues ont un potentiel génotoxique et/ou toxique. Ainsi des bioessais tels que le SOS Chromotest et le test d'élongation radiculaire ont été effectués par la compagnie Analex.

3.15.1 Essai de toxicité: Inhibition de l'élongation radiculaire avec la laitue *(Lactuva sativa)*

La méthode utilisant le macrophyte Lactuva sativa pour l'inhibition de l'élongation radiculaire a été effectuée sur un échantillon de lixiviat des boues d'épurateurs. Ce test a pour objet d'établir la concentration inhibitrice (CI_{50}) à laquelle la croissance des racines est inhibée de 50 % par rapport à un témoin.

Cinq graines de laitue sont exposées à une série de concentrations de l'échantillon pour une période de 120,05 heures. Le test est effectué dans des plats de Pétri placés à la noirceur. Après l'exposition, les racines exposées à chaque concentration sont mesurées et comparées au témoin. Le toxique de référence est le chlorure de mercure ($HgCl_2$). Il est utilisé pour évaluer la sensibilité des graines de laitue ainsi que la précision des données produites par le laboratoire. Le résultat est accepté si: la moyenne de germination dans le témoin est au moins de 90 % et si les conditions d'essai sont respectées.

3.15.2 Essai de toxicité: Le SOS Chromotest

Le SOS Chromotest est un essai colorimétrique permettant de détecter dans des échantillons liquides des lésions primaires à l'ADN chez Escherichia coli PQ37. Chez cette bactérie, le gène lacZ qui code pour la β-galactosidase (β-gal) et le gène ont été fusionnés par manipulation génétique (Quillardet *et al.*, 1985). Le gène sulA appartient au système SOS, un mécanisme de réparation de l'ADN sujet à erreurs. Lorsque l'ADN bactérien est agressé par un produit chimique génotoxique, le gène sulA appartenant au système SOS est activé, entraînant ainsi la synthèse de l'enzyme β-gal. La région lacZ normale ayant été retirée du génome de la souche *E.coli* PQ37, la production de β-galactosidase résulte donc directement d'agressions à l'ADN. La souche *E.Coli* PQ37

porte également un gène constitutif (non réprimé) pour la phosphatase alcaline (Pal). Cette enzyme est utilisée comme un indicateur de la synthèse protéique totale, et son dosage permet de déterminer le degré de cytotoxicité ou de perte de viabilité cellulaire. Une augmentation appréciable de la coloration bleue indique une activité génotoxique, alors qu'une diminution significative de la couleur jaune reflète la présence de molécules cytotoxiques.

L'essai SOS Chromotest a été réalisé sur des échantillons de lixiviat avec et sans un mélange d'activation mammalien (fraction microsomale (S9) de foie de rats traités à l'arochlor et des cofacteurs) qui peut activer le potentiel mutagène ou cancérogène des substances chimiques. L'utilisation de S9 permet donc la détection de substances dites «progénotoxiques», c'est-à-dire de molécules qui une fois métabolisées ont le potentiel d'endommager le matériel génétique. Pour vérifier l'intégrité des fonctions SOS chez *E. Coli* PQ37, des génotoxiques de références sont testés à chaque essai. Il s'agit de la nitro-4 quinoléine-n-oxyde pour les tests sans S9 et de l'amino-2 anthracène pour les tests avec S9.

CHAPITRE 4: CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUES DES BOUES D'ÉPURATEURS

4.1 Introduction

La caractérisation des boues d'épurateurs, faisant l'objet de ce projet, a été réalisée dans le but de déterminer si certains paramètres chimiques ou biologiques pouvaient favoriser ou encore inhiber la biodégradation des HAP présents en concentrations importantes dans ces dernières. Ainsi, le pH, le pourcentage d'humidité, le potentiel rédox et le dénombrement bactérien ont été mesurés afin de déterminer si ces derniers étaientt adéquats pour l'activité des microorganismes. La concentration des principaux éléments que l'on retrouve dans les boues d'épurateurs, c'est-à-dire, des HAP, des poussières d'aluminium et des fluorures, a également été mesurée. Ceci a permis de déterminer la masse molaire des HAP présents dans ces boues et ainsi de vérifier leur potentiel de biodégradation.

4.2 Résultats et discussion

4.2.1 pH

Ce paramètre est un facteur environnemental qui influence le métabolisme et la survie des microorganismes et, par conséquent, le processus de biodégradation. Le pH des boues d'épurateurs est de l'ordre de 7,57 à 20°C. Il est donc adéquat pour le métabolisme bactérien étant donné qu'un pH idéal, pour l'activité des microorganismes, se situe entre 7,0 et 8,2. De plus, il a été montré que la biodégradation des HAP était optimale à des valeur de pH se situant entre 7,5 et 7,8 (Dibble et Bartha, 1979). Le pH des boues d'épurateurs résultant de l'électrolyse de l'aluminium semble donc favorable à l'activité

des microorganismes et, par conséquent, à la biodégradation des composés reconnus comme étant biodégradables.

4.2.2 Pourcentage d'humidité

Le pourcentage d'humidité des boues a été obtenu par poids sec. De cette façon, il a été possible de déterminer si la quantité d'eau présente dans les boues d'épurateurs était suffisante pour permettre la solubilisation des nutriments et permettre le transport des microorganismes autour des particules des boues étudiées dans ce projet. Le pourcentage d'eau des boues d'épurateurs est de 62,7 %. Les boues d'épurateurs sont donc très humide. Toutefois, cette valeur paraît favorable à l'activité des microorganismes étant donné que des études ont montré que la biodégradation est généralement plus importante dans un sol sous forme de boue, que dans un sol humide (Middleton *et al.*, 1991). En effet, des études ont démontré que l'eau est un paramètre de première importance pour les réactions de biodégradation (Dibble et Bartha, 1979, Middleton *et al.*, 1991). Le pourcentage d'eau contenue dans les boues d'épurateurs semble donc adéquat pour la biodégradation des HAP.

4.2.3 Potentiel d'oxydoréduction

Le potentiel d'oxydoréduction des boues d'épurateurs est de + 60 mV à pH 7,5. Par conséquent, les boues d'épurateurs, comme l'indique la figure 5 se trouvent sous conditions anoxies c'est-à-dire dans un environnement pratiquement exempt d'oxygène dissous sans pour autant que des conditions anaérobies se développent. En effet, Degrémont (1989) a montré qu'un potentiel de + 40 mV (pH 7) ou négatif caractérisait un milieu réducteur, tandis qu'un potentiel supérieur à + 300 mV (ph 7) révélait un milieu

oxydant anormal. En fait, le potentiel d'oxydoréduction ou rédox indique sous quelles formes se trouvent les éléments constituant les boues. Ainsi, certains corps se trouvent sous forme oxydée ou réduite, et ont la capacité de passer de l'un à l'autre par gain d'électron (réduction) ou perte d'électron (oxydation) (Degrémont, 1989; Appelo *et al.*, 1993).

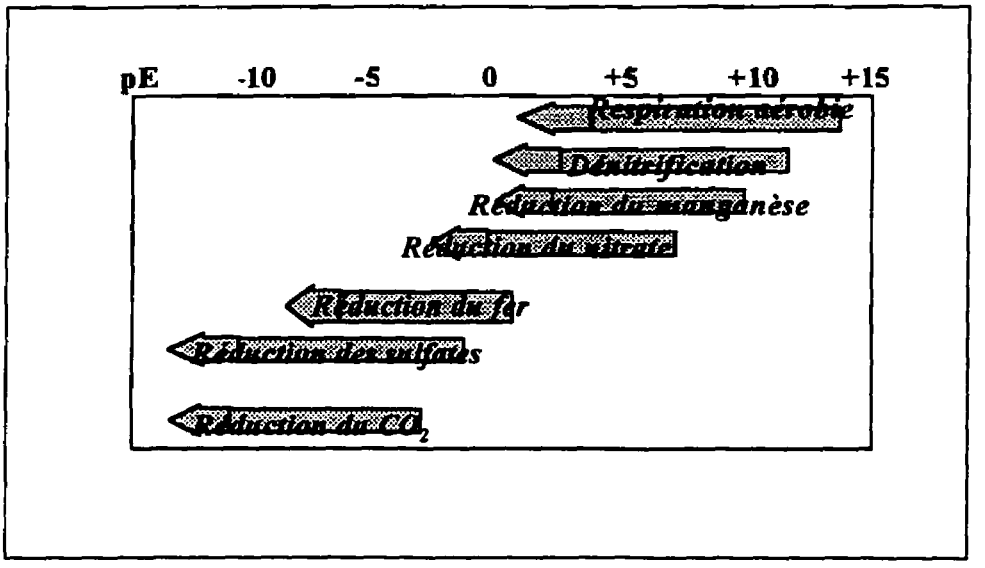


Figure 5 Potentiel d'oxydoréduction en fonction des voies métaboliques

4.2.4 Dénombrement bactérien

Un échantillon représentatif des boues d'épurateurs a été examiné pour dénombrer les hétérotrophes totaux. Les comptes cellulaires ont été réalisés sur plaques de Pétri, et ont permis de connaître le nombre et l'importance des souches bactériennes présentes dans les boues contaminées. Cette expérience montrant la présence de microorganismes adaptés aux conditions difficiles présentes dans ces boues de procédé, a permis d'amorcer l'étude de biodégradabilité des HAP par les microorganismes indigènes des boues. Les résultats obtenus sont exprimés en UFC, c'est-à-dire en unités formant des colonies. Un compte cellulaire total de 2,3 x 10^6 UFC par gramme de boue sèche a été obtenu. Cette

valeur est relativement élevée si l'on considère qu'un sol typique contient entre 10^6 et 10^9 bactéries/g (Morgan et Watkinson, 1989). En fait, bien qu'il s'agisse d'un essai réalisé en conditions aérobies, il semble que les microorganismes, présents dans les boues d'épurateurs, ont la capacité à croître dans ce milieu. Ce paramètre microbiologique semble donc également favorable à la biodégradation des contaminants.

4.2.5 Nature et concentration des contaminants présents dans les boues

Les principaux composés constituant les boues d'épurateurs ont été caractérisés dans le but de s'assurer que les composés organiques (HAP) soient reconnus comme étant biodégradables, ainsi que pour déterminer si des composés chimiques présents dans les boues d'épurateurs pourraient être toxiques pour la population bactérienne. Le tableau 4 indique la nature et la concentration en mg/kg (matière sèche) des HAP prioritaires (US EPA) et la concentration en mg/kg (matière sèche) des fluorures solubles et de l'aluminium.

Tableau 4: Identification et concentration des HAP, des fluorures totaux et de l'aluminium, en mg/ kg de matière sèche, dans les boues d'épurateurs résultant de l'électrolyse de l'aluminium.

Identification des contaminants	Concentration (mg/ kg)
Naphtalène	<10
Acénaphtylène	<10
Acénaphtène	<10
Fluorène	<10
Phénanthrène	1020
Anthracène	2720
Fluoranthène	3850
Pyrène	4440
Diméthyl-7,12benzo(a)anthracène	<10
Benzo(ghi)pérylène	40
Benzo(c)phénanthrène	90
Chrysène	1270
Benzo(a)anthracène	1220
Benzo(b+j+k)fluoranthène	2150
Benzo(a)pyrène	630
Méthyl-3cholanthrène	<10
Indéno[1,2,3-cd]pyrène	70
Dibenzo(a)anthracène	80
Dibenzo(al)pyrène	<10
Dibenzo(ai)pyrène	<10
Dibenzo(ah)pyrène	<10
Total	17 580
Fluorures	28 000
Aluminium	27 000

Les résultats montrent que la concentration des HAP est particulièrement élevée dans ces boues. En fait, une concentration aussi élevée de contaminants peut être toxique pour la population microbienne ou du moins en affecter l'activité. Des études ont d'ailleurs montré qu'au-delà d'une certaine concentration en contaminants, le taux de biodégradation peut diminuer (Matte, 1991; Alexander, 1994).

La proportion des HAP ayant une masse molaire élevée est relativement importante et pourrait ainsi entraîner une diminution de leur potentiel de biodégradation dans les boues d'épurateurs. En effet, la masse molaire affecte le taux de biodégradation des HAP, c'est-à-dire que plus le nombre de noyaux aromatique d'un HAP est important, plus ce dernier est récalcitrant à la biodégradation (Fleming *et al.*, 1993.; Wang *et al.*, 1990; Wild *et al.*, 1990; Wilson et Jones, 1993). Toutefois, par co-métabolisme ou encore par l'action de champignons, certains HAP de masse molaire élevée, tel que le benzo[a]pyrène, se sont avérés biodégradables (Cerniglia, 1984).

La concentration des fluorures totaux retrouvée dans les boues, de l'ordre de 28 000 mg/kg (matière sèche), est également élevée. Certains fluorures sont toxiques pour la population microbienne et, par conséquent, peuvent inhiber la biodégradation des HAP. Ces fluorures peuvent se fixer sur les sites enzymatiques et ainsi altérer la perméabilité cellulaire ou dénaturer les enzymes bactériens (Degrémont, 1989). Cependant, d'autres études ont montré que les fluorures, sous la forme de fluorure de calcium ou d'aluminium, présentent peu de toxicité pour les microorganismes (OMS, 1985). En outre, des souches bactériennes ont montré la capacité de résister et de tolérer un environnement peu propice à leur survie (Degrémont, 1989).

De la même façon, l'aluminium (sous forme d'alumine) en concentration aussi importantes que celles retrouvées dans les boues, peut, comme les fluorures, avoir un effet inhibiteur sur le potentiel de biodégradation des HAP présents dans les boues

d'épurateurs. L'aluminium peut être toxique pour la population bactérienne (Appana *et al.*, 1995; Environnement Canada, 1994). En fait, une concentration de 50 mM d'aluminium a retardé la croissance de Pseudomonas fluorescens, une bactérie rencontrée dans les sols, de plusieurs heures et affecte le rendement cellulaire de la population en le réduisant de 31% par rapport à une population contrôle (Appana *et al.*, 1995; Environnement Canada, 1994).

4.3 Conclusion

Outre la concentration élevée de contaminants présents dans les boues, la majorité des paramètres chimiques et microbiologiques étudiés dans les boues favorisent l'activité des microorganismes. En effet, le pH et le pourcentage d'humidité mesurés dans les boues d'épurateurs sont à l'intérieur des plages optimales au maintien de l'activité des microorganismes et au processus de biodégradation.

Toutefois, les concentrations importantes de HAP (17 580 mg/kg), de fluorures totaux (28 000 mg/kg) et d'aluminium (27 000 mg/kg) peuvent avoir un effet inhibiteur sur l'activité des microorganismes et ainsi réduire ou empêcher la biodégradation des HAP dans les boues d'épurateurs. Certaines études réalisées avec l'aluminium et le fluorure ont montré que dans certains cas, ces métaux pouvaient être toxiques pour la survie des microorganismes. En fait, malgré le rôle important du pH et du pourcentage d'humidité dans le maintien de l'activité microbienne, il est également essentiel que le milieu soit exempt de produits toxiques ou d'inhibiteurs susceptibles de ralentir, voir même d'empêcher cette activité (Degrémont, 1989).

La caractérisation physico-chimique a également permis d'identifier sous quelles conditions se trouvent les boues d'épurateurs et ainsi d'orienter les conditions (aérobies, anoxies) qui seront étudiées lors des tests de biodégradabilité des HAP.

CHAPITRE 5: ÉTUDE DU PARTAGE DES HAP DANS LES BOUES D'ÉPURATEURS

5.1 Introduction

L'étude d'adsorption/désorption des HAP a été réalisée en vue d'évaluer la biodisponibilité des contaminants, c'est-à-dire de déterminer si les HAP sont présents dans la phase aqueuse. Ces expériences ont également permis de vérifier le degré d'affinité des HAP pour les particules qui composent les boues d'épurateurs. En effet, l'étude de l'adsorption du ^{14}C-fluoranthène sur l'alumine, qui est la principale composante des boues d'épurateurs, a permis d'évaluer le pouvoir adsorbant de l'alumine ainsi que l'affinité des HAP pour cet élément.

5.2 Résultats et discussion

5.2.1 Adsorption/désorption du fluoranthène sur l'alumine

L'étude d'adsorption/désorption du fluoranthène sur l'alumine, qui est la principale composante des boues d'épurateurs, a été réalisée afin de déterminer la capacité d'adsorption de l'alumine pour les HAP. De cette façon, il a été possible d'identifier si l'alumine était responsable de l'adsorption des HAP dans les boues d'épurateurs. La figure 6 présente l'isotherme d'adsorption du ^{14}C-fluoranthène sur l'alumine, ainsi que la concentration du HAP adsorbé sur l'alumine suite à deux lavages.

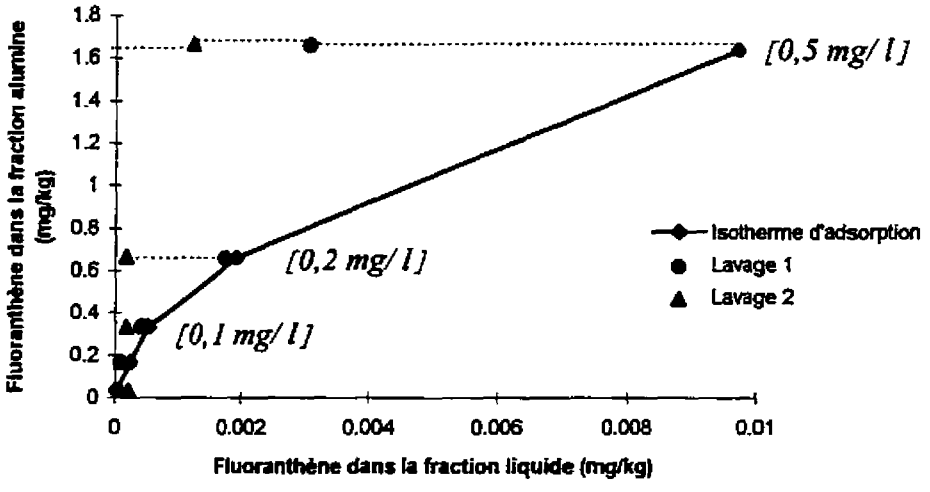


Figure 6 Isotherme d'adsorption du 14C-fluoranthène sur l'alumine et courbes de lavage

Les résultats montrent que la courbe d'adsorption suit l'isotherme d'adsorption de Freundlich. En effet, le coefficient de corrélation de la droite (ordonnée: log de la concentration adsorbée; abscisse: log de la concentration dans la phase aqueuse) est de 0,9923. On observe également une adsorption très rapide du ^{14}C-fluoranthène. En effet, lorsque la concentration initiale du HAP est de 0,5 mg/l, soit presque deux fois la solubilité du fluoranthène qui est de 0,26 mg/l, la proportion du fluoranthène dans la phase aqueuse est uniquement de 2% (0,009 mg/l). Par conséquent, 98% du fluoranthène a été adsorbé sur l'alumine. Suite au premier et deuxième lavage, on retrouve 0,6 % et 0,2 % de ^{14}C-fluoranthène dans la phase aqueuse soit 0,003 mg/l et 0,001 mg/l respectivement. L'alumine possède donc un excellent pouvoir adsorbant, étant donnée que la solution d'eau après les deux lavages montrait une concentration très faible en HAP. Par conséquent, la désorption des HAP est presque négligeable, et ce, malgré que l'adsorbat et l'adsorbant aient été rigoureusement mélangés durant 24 heures. De plus, même à une concentration largement supérieure à la solubilité du fluoranthène (0,5 mg/l), il n'y a pas saturation de la surface des sites d'adsorption de l'alumine par les

molécules organiques. Cette tendance se répète lorsque la concentration initiale de ^{14}C-fluoranthène est inférieure à la solubilité du HAP étudié. Par exemple, à des concentrations de 0,2 mg/l et 0,1 mg/l du HAP étudié, le pourcentage de ^{14}C-fluoranthène récupéré dans la phase aqueuse est de 0,003 % (0,0019 mg/l) et 0,0012 % (0,0005 mg/l). Cette expérience témoigne donc clairement que l'alumine est responsable de l'adsorption des HAP dans les boues et que cette dernière est pratiquement irréversible.

L'adsorption d'un solide dépend principalement de la surface spécifique du matériau, de la nature de la liaison entre l'adsorbant et l'adsorbat (cette énergie est mesurable dans le cas de l'adsorption des gaz), et du temps de contact entre le solide et la fraction liquide (Degrémont, 1989). L'alumine possède une bonne porosité, ainsi qu'une excellente surface spécifique d'environ 75 m^2/g. Son utilisation dans l'industrie de l'aluminium comme adsorbant dans les systèmes d'épuration à sec témoigne de son excellent pouvoir adsorbant. Cependant, la surface spécifique de l'alumine présente dans les boues d'épurateurs se trouve réduite. En effet, c'est principalement les poussières d'alumine (de moindre diamètre, 70% inférieur à 10 µm) qui sont dégagées et aspirées par le système de ventilation responsable du captage des gaz et des poussières. La surface spécifique de l'alumine, présentes dans les boues d'épurateurs, de l'ordre de 30 $m^2/$ g, demeure toutefois élevée. En effet, une étude a révélé qu'un sol, dont la surface spécifique était de l'ordre de 3,6 m^2/g de sol, possédait une forte capacité d'adsorption (Weissenfels *et al.*, 1992). Ainsi, l'alumine, présente en concentrations importantes (27 000 mg/ kg, matière sèche) dans les boues d'épurateurs, possède un excellent pouvoir adsorbant. Par ailleurs, la littérature a montré que le fluorure de calcium, présent également en concentrations importantes dans les boues (28 000 mg/ kg, matière sèche), possédait une faible capacité d'adsorption (Environnement Canada, 1993).

Le pouvoir adsorbant de l'alumine a fait l'objet de plusieurs études. Tel que mentionné auparavant (chapitre 2), le procédé Söderberg, un des procédés utilisés lors de la fabrication de l'aluminium, engendre la formation de gaz fluorés, notamment du fluorure d'hydrogène (HF), ainsi que des HAP et des poussières d'alumine. Les effets toxiques du HF sur plusieurs végétaux sont connus depuis déjà plusieurs décennies, c'est pourquoi une solution alcaline est injectée dans le système d'épuration humide des gaz afin de former un complexe entre le fluor et le calcium et ainsi former une molécule (CaF_2) moins nocive pour l'environnement. C'est à la fin des années soixante que les systèmes d'épuration à sec ont été introduits dans les alumineries. Dans ces systèmes, l'alumine est utilisée comme adsorbant pour l'adsorption des HF et s'avère plus efficace que l'ancien système (Coyne *et al.*, 1987; Coyne *et al.*, 1989). De nombreuses hypothèses ont été posées quant aux mécanismes d'adsorption du fluorure d'hydrogène sur l'alumine. Ces études ont montré que plusieurs mécanismes intervenaient lors de l'adsorption du HF sur l'alumine, soit des mécanismes de chimisorption et de physisorption (Coyne *et al.*, 1987; Coyne *et al.*, 1989). En fait, ces auteurs avancent que l'adsorption du HF sur l'alumine se fait en multicouches et que le pourcentage d'humidité est un paramètre de première importance lors des mécanismes d'adsorption. Ces études témoignent encore une fois du pouvoir adsorbant de l'alumine. Cependant, de par la complexité et la multitude des interactions possibles entre les HAP et l'alumine, les mécanismes d'adsorption ne sont pas faciles à élucider et n'ont pas fait, à la connaissance de l'auteur, l'objet d'études approfondies.

Les composés aromatiques polycycliques, hautement hydrophobes, sont connus pour leur affinité d'adsorption. L'adsorption, définie par la fixation d'un composé chimique à la surface d'un solide, est le transfert de la matière vers la phase solide (Degrémont, 1989, Appelo et Postma, 1993). Les phénomènes d'adsorption sont des paramètres importants étant donné qu'ils sont responsables du transport et du devenir des contaminants dans l'environnement (Appelo et Postma, 1993, Al-Bashir *et al.*, 1994b). Weissenfels *et al.*

(1992) ont montré qu'il existe deux processus distincts lors de l'adsorption des HAP sur les particules d'un sol. Le processus initial est identifié par l'adsorption rapide des composés hydrophobes à la surface des sites hydrophobes des particules du sol. Le processus qui suit cette première phase est une adsorption plus lente, associée à la migration des composés hydrophobes sur les sites moins accessibles de la matrice contaminée, comme par exemple la diffusion des contaminants dans les micropores. Cette deuxième phase se termine lorsqu'un équilibre est atteint entre la fraction adsorbée et la fraction désorbée du contaminant. Ainsi, plus la période d'incubation est longue, plus la fraction adsorbée du contaminant est importante (Weissenfels *et al.*, 1992). C'est pourquoi, comme le démontre les résultats issus des expériences d'adsorption/désorption, les HAP présents dans les boues d'épurateurs entreposées depuis plusieurs années sont fortement adsorbés sur la matrice contaminée.

L'adsorption joue également un rôle important en ce qui à trait à la toxicité d'une matrice contaminée. En effet, Weissenfels *et al.* (1992) ont montré qu'un sol possédant une forte capacité d'adsorption (surface spécifique élevée) présentait peu de toxicité, selon le bioessai Microtox, par rapport à un sol dont la surface spécifique était plus faible. Ainsi, malgré une diminution du potentiel de biodégradation, l'adsorption des HAP sur l'alumine entraînerait une réduction de la toxicité des boues d'épurateurs.

5.2.2 Désorption des HAP présents dans les boues d'épurateurs

L'étude de désorption des HAP présents dans les boues d'épurateurs a permis d'identifier si ces composés organiques hydrophobes étaient fortement adsorbés aux particules constituant les boues. Cette étude a également permis de déterminer la concentration des HAP dans la phase aqueuse et ainsi de connaître si ces derniers sont biodisponibles. La figure 7 présente les résultats issus de la désorption de quatre HAP, initialement présents dans les cellules, lorsque les boues ont été diluées avec de l'eau distillée selon les ratios suivants: 50 g/ 50 g (p liquide/ p boue), 80/ 20 (p/p), 90/ 10 (p/p), tandis que le tableau 5 présente la concentration des HAP que l'on retrouve dans la phase aqueuse après avoir effectués cinq lavages consécutifs des boues d'épurateurs avec de l'eau distillée.

L'étude de la désorption en fonction de la dilution montre que, peu importe la dilution effectuée, la concentration de HAP dans la phase aqueuse est sensiblement la même. Par conséquent, la limite de solubilité des HAP serait atteint. En effet, la concentration initiale de pyrène qui est de 4,440 mg/ g par gramme de boue sèche, passe à 4,437 mg/ g, 4,423 mg/ g et à 4,270 mg/ g respectivement pour les dilutions suivantes: 50 g/ 50 g (p liquide/ p boue), 80/ 20 (p/p), 90/ 10 (p/p). Cette même tendance se reproduit pour l'anthracène, le phénanthrène et le fluoranthène. En fait, les diagrammes présentés à la figure 8 indiquent clairement que malgré une agitation vigoureuse de la boue avec de l'eau distillée pour une période de seize heures, la concentration de HAP désorbés des particules de boues est très faible. Les HAP de quatre anneaux et plus, à l'exception du pyrène et du fluoranthène, sont en concentrations non détectables dans la phase aqueuse (limite de détection près >50 μg/l). Ces composés, hautement hydrophobes, possédant une faible solubilité, ainsi qu'un K_{ow} élevé, sont fortement adsorbés à la matrice.

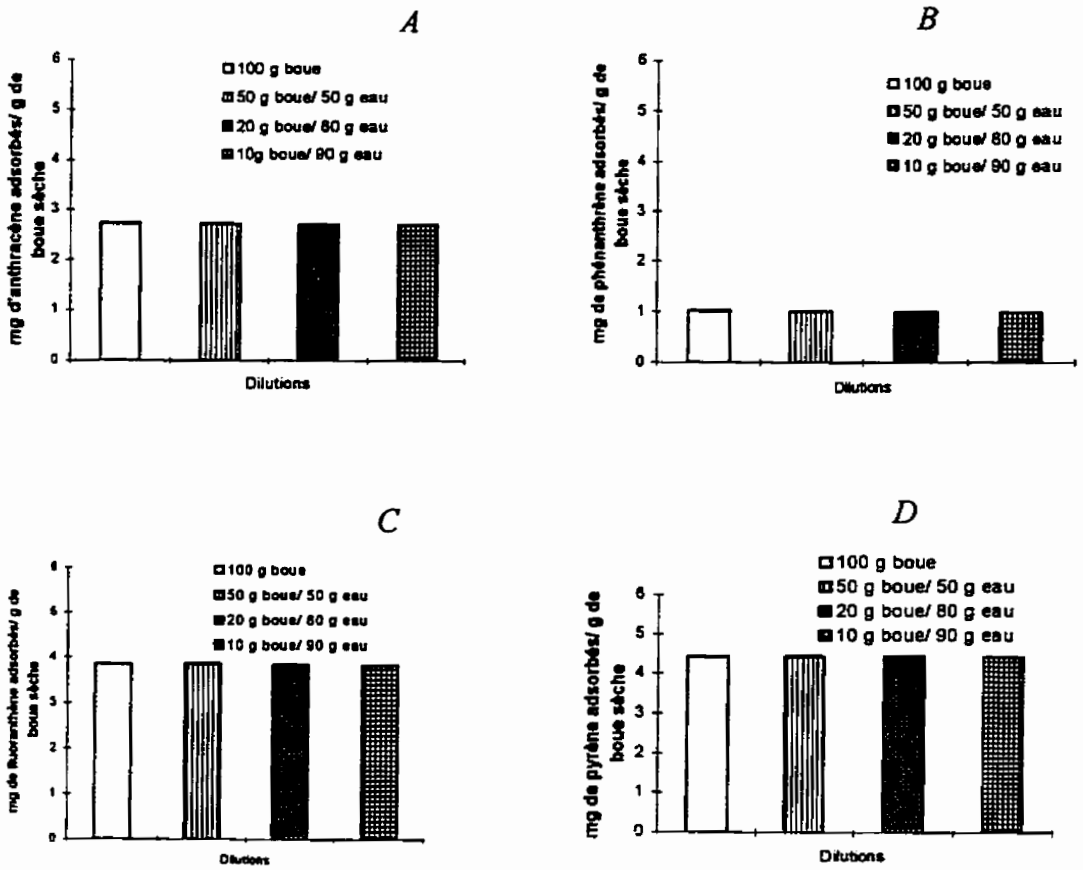


Figure 7 : Concentration en mg/g de boue sèche de HAP adsorbés en fonction de la dilution effectuée par rapport à la concentration initiale de HAP dans les boues d'épurateurs. A- Anthracène, B- Phénanthrène, C- Fluoranthène, D- Pyrène

Tableau 5 Concentration en mg des 16 HAP prioritaires (US EPA) désorbés par gramme de boue sèche en fonction du nombre de lavages

	Lavage 1	Lavage 2	Lavage 3	Lavage 4	Lavage 5
mg de HAP désorbés / g de boue sèche	0,028	0,017	0,021	0,012	0,016

Ainsi, malgré la concentration importante dans les boues d'épurateurs, ils sont peu présents dans la phase aqueuse. Les résultats issus de la seconde expérience (tableau 5) confirment ceux obtenus lors de l'expérience précédente. En effet, la concentration de HAP désorbés par gramme de boue sèche est sensiblement la même après avoir effectué cinq lavages avec de l'eau distillée. Malgré la faible concentration des HAP dans la phase aqueuse, ces résultats démontrent qu'il y aura toujours des HAP en solution et que ces derniers ont atteint leur limite de solubilité. Ces deux expériences montrent également que les HAP, hautement hydrophobes, sont fortement adsorbés sur l'alumine. L'adsorption réduit considérablement la biodisponibilité des HAP, affecte leur biodégradation et entraîne l'accumulation de ces contaminants à la surface des particules de la matrice contaminée (LaGrega *et al.*, 1994; Jenkins et Lion, 1993). En effet, Weissenfels *et al.* (1992) ont montré que les caractéristiques physico-chimiques du sol notamment, le pourcentage de matière organique et la surface spécifique d'un sol étaient les principales causes de l'adsorption des HAP. L'adsorption, tout comme le k_{ow}, est principalement contrôlé par les propriétés physico-chimiques de chaque contaminant (Al-Bashir *et al.*, 1994a). C'est pourquoi, comme le démontre les expériences de désorption, les HAP de masse molaire élevée qui possédent un k_{ow} élevé, sont fortement adsorbés sur l'alumine et sont non détectés dans la fraction liquide.

5.3 Conclusion

Les expériences d'adsorption/désorption ont montré que les HAP présents dans les boues d'épurateurs, en particulier ceux de masse molaire élevée, sont fortement adsorbés sur les particules constituant les boues d'épurateurs. En effet, les résultats issus de ces expériences ont montré, tout comme la littérature, que les HAP, hautement hydrophobes, avaient une forte affinité d'adsorption sur les particules. Ainsi, malgré une série de lavages sous agitation, une infime concentration seulement de HAP s'est désorbée des boues d'épurateurs. De plus, l'expérience de désorption en fonction de différentes dilutions, a montré que peu importe la dilution, la faible concentration des HAP retrouvée dans la phase aqueuse est demeurée sensiblement la même. La limite de solubilité, le K_{ow} élevé et la forte adsorption des HAP semblent être responsables de la faible concentration de HAP présents dans la phase aqueuse.

Les résultats issus de l'expérience de l'adsorption/désorption du fluoranthène marqué au carbone-14 a permis de révéler que l'alumine possède un important pouvoir adsorbant. En effet, l'alumine a la capacité d'adsorber une concentration importante du HAP étudié (0,5 mg/l) sans toutefois montrer une saturation de ses sites d'adsorption. En fait, l'adsorption du ^{14}C-fluoranthène en multicouches et la surface spécifique élevée de l'alumine sont responsables de l'excellent pouvoir adsorbant de l'alumine. Cette capacité d'adsorption est exploitée industriellement où l'alumine, dans l'industrie de l'aluminium, est utilisée comme adsorbant dans les systèmes d'épuration à sec.

L'alumine, présente en concentrations importantes dans les boues d'épurateurs, semble être responsable en grande partie de l'adsorption des HAP. L'adsorption est un paramètre qui influence le transport et le devenir des contaminants dans la nature et peut donc réduire ou empêcher la biodégradation de certains HAP, en particulier, les

composés de masse molaire élevée, présents dans les cellules d'entreposages. L'adsorption des HAP, présents dans les boues d'épurateurs pourrait donc entraîner une réduction du taux de biodégradation, l'accumulation de ces contaminants à la surface des particules de boues ainsi qu'une réduction de la toxicité (LaGrega *et al.*, 1994; Jenkins et Lion, 1993; Weissenfels, 1992).

CHAPITRE 6: BIODÉGRADABILITÉ DES HAP DANS LES BOUES D'ÉPURATEURS

6.1 Introduction

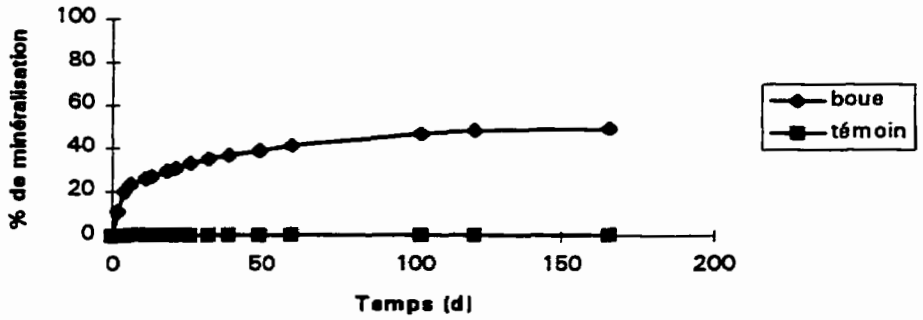
Des tests de minéralisation ont été réalisés dans le but de déterminer la biodégradabilité des HAP présents dans les boues d'épurateurs, ainsi que la présence de microorganismes capables de dégrader les HAP. Le potentiel de biodégradation des HAP a été vérifié sous conditions aérobies et anoxies. Les tests de minéralisation sous conditions anoxies se justifient par l'activité des microorganismes qui, en zone saturée, entraîne une diminution de l'oxygène gazeux et, par conséquent, des conditions anoxies. En effet, le potentiel rédox des boues d'épurateur de l'ordre de + 60 mV indique que les boues entreposées se trouvent sous conditions anoxies, c'est-à-dire dans un environnement pratiquement exempt d'oxygène dissous. Les tests de minéralisation ont permis de déterminer si les microorganismes présents en concentration importante dans les boues d'épurateurs avaient la capacité d'utiliser différents accepteurs d'électrons. Sous conditions anoxies, le potentiel de biodégradation dépend principalement de la capacité des microorganismes indigènes à utiliser un accepteur d'électrons autre que l'oxygène gazeux, par exemple, du nitrate ou du sulfate.

6.2 Résultats et discussion

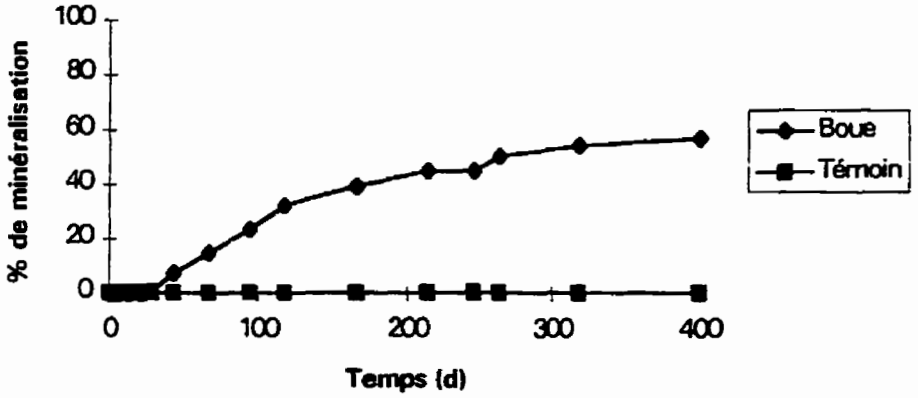
6.2.1 Minéralisation des HAP sous conditions aérobies

Des tests de minéralisation de composés témoins radioactifs ont été réalisés dans le but de déterminer le potentiel de biodégradation des HAP dans les boues d'épurateurs. Les figure 8 et 9 présentent les résultats obtenus lors des tests de minéralisation effectués sous conditions aérobies. Afin de s'assurer que l'oxygène ne devienne pas un facteur limitant au cours de la minéralisation des composés marqués, de l'oxygène gazeux a régulièrement été ajouté dans les microcosmes. Les HAP étudiés sont le phénanthrène, le pyrène, le fluoranthène et le benzo[a]pyrène.

Les résultats obtenus lors des tests de minéralisation montrent que le phénanthrène et le pyrène sont biodégradables dans les boues d'épurateurs, c'est-à-dire que les microorganismes présents dans ces boues ont la capacité d'utiliser certains HAP comme source d'énergie. En effet, le phénanthrène, un HAP de trois anneaux, montre un pourcentage de minéralisation de 49% après 166 jours d'incubation. Ceci est considérable si l'on considère qu'une substance organique est qualifiée de biodégradable lorsque la minéralisation atteint 50 % (U.S FDA, 1987).

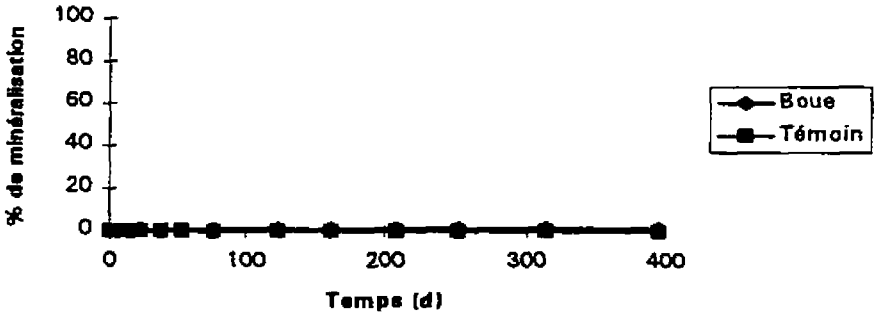


^{14}C-Phénanthrène avec O_2

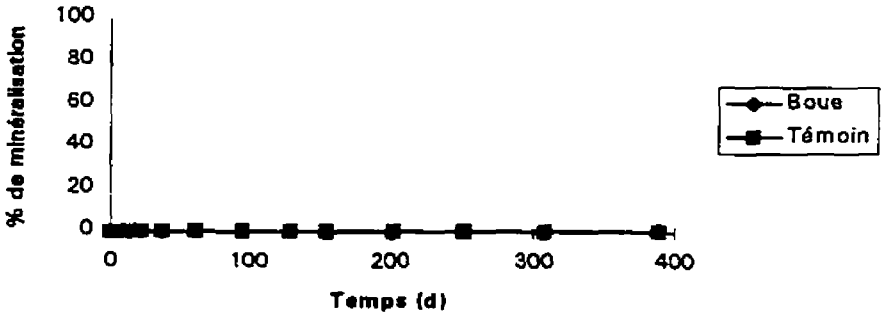


^{14}C-Pyrène avec O_2

Figure 8 Minéralisation du phénanthrène et du pyrène marqués au carbone-14 sous conditions aérobies par la biomasse indigène des boues d'épurateurs



^{14}C-Fluoranthène avec O_2



^{14}C-Benzo[a]pyrène avec O_2

Figure 9 Minéralisation du fluoranthène et du benzo[a]pyrène marqués au carbone-14 sous conditions aérobies par la biomasse indigène des boues d'épurateurs

De nombreuses études corroborent les résultats issus de cette étude. Par exemple, une étude réalisée avec cinq HAP, le naphtalène, l'anthracène (un HAP de 3 anneaux comme le phénanthrène), le benzo[a]anthracène, le dibenz[a,h]anthracène et le benzo[a]pyrène a montré que seul le naphtalène et l'anthracène étaient biodégradables par les microorganismes contenus dans les eaux usées (Cerniglia, 1984). En fait, plus la masse molaire augmente, plus le HAP est récalcitrant à la biodégradation bactérienne. De plus, les HAP de faible masse molaire, tels que le phénanthrène et le naphtalène, possèdent une solubilité aqueuse supérieure aux composés de masse molaire plus élevée et peuvent être utilisés comme seule source de carbone par certains microorganismes du sol (Weissenfels *et al.*, 1990; Wild *et al.*, 1993). De même, une seconde étude a montré que la volatilisation et la biodégradation étaient les principaux facteurs responsables de la disparition des HAP de trois anneaux et moins (Wilson et Jones, 1993). Plusieurs autres études ont également démontré que les HAP de faible masse molaire, tel que le phénanthrène, étaient facilement biodégradables sous conditions aérobies (Fleming *et al.*, 1993.; Wang *et al.*, 1990; Wild *et al.*, 1991; Wilson et Jones, 1993; Jenkins et Lion, 1993).

Lors des tests de minéralisation du ^{14}C-phénanthrène (figure 8), aucun temps de latence n'a été observé en fonction des temps d'échantillonnage. En conséquence, la biomasse présente dans les boues d'épurateurs est adaptée à la source de carbone que représente le phénanthrène. Cette observation indique également que les microorganismes sont en nombre suffisant pour initier immédiatement le processus de biodégradation. Deschênes (1995) a montré que le pourcentage de minéralisation du ^{14}C-phénanthrène dans un sol contaminé à la créosote atteignait 42 % après 10 jours d'incubation, alors que la minéralisation dans les boues d'épurateur atteint 25 % après 10 jours. La minéralisation du composé marqué s'est donc effectuée plus rapidement dans ce sol contaminée à la créosote. En fait, trois phases peuvent être observées au cours de la minéralisation du ^{14}C-phénanthrène dans les boues d'épurateurs. La première est reliée à la minéralisation rapide du composé marqué qui est facilement biodisponible. La seconde phase est

associée à l'adsorption du composé marqué sur l'alumine, ce qui entraîne une réduction et un ralentissement du taux de biodégradation, tandis que la troisième phase est représentée par une adsorption irréversible du contaminant sur la matrice contaminée qui provoque une inhibition de la biodégradation (plateau). Ainsi, le composé marqué, fraîchement ajouté, est moins sujet à l'adsorption qui ralentit la biodégradation et, par conséquent, il est facilement biodisponible. Cependant à mesure que le temps de contact (HAP-alumine) augmente, l'adsorption de contaminant sur la matrice contaminée réduit la biodisponibilité du HAP et affecte le potentiel de biodégradation.

Le pyrène, un HAP de 4 anneaux, a également montré une minéralisation importante. En effet, après 400 jours d'incubation, 57 % du ^{14}C a été récupéré sous forme de CO_2. Ce pourcentage de minéralisation est relativement important et peut paraître surprenant. En effet, Deschênes (1995) a montré que la minéralisation du pyrène marqué atteignait uniquement 2 % dans un sol contaminé à la créosote. En fait, le pourcentage élevé de ^{14}C-CO_2 récupéré peut s'expliquer par l'âge de la contamination. En effet, le pourcentage de minéralisation est plus important dans des boues dont la contamination date de plusieurs années étant donné que ces dernières contiennent une plus grande variété de microorganismes, lesquels sont adaptés aux différents types de contaminants (Wild et Jones, 1993; Atlas, 1988). Ainsi, la présence d'une multitude de contaminants favorise généralement l'apparition d'une grande variété de microorganismes, ce qui favorise à son tour les réactions de co-métabolisme. Le co-métabolisme joue un rôle important dans la biodégradation des HAP de plusieurs anneaux, tels que le pyrène, le fluoranthène et le benzo[a]pyrène et peut expliquer le pourcentage élevé de minéralisation observé (Laha et Luthy, 1991). Ainsi, l'adaptation d'une microflore est une condition essentielle à la biodégradation. Grocer *et al.* (1991) ont d'ailleurs montré une augmentation du taux de minéralisation du pyrène (55% en deux jours) après avoir inoculé un sol (10^6-10^8 UFC par grammes de sol) avec une souche bactérienne préalablement isolé d'un sol contaminé. Également, Wilson et Jones (1993) ont révélé que la biotransformation des HAP peut être 3

000 à 725 000 fois plus importante dans un sol contaminé depuis un certain temps (microorganismes adaptés) que dans un sol dont la contamination est récente (microorganismes non adaptés). En conséquence, les boues d'épurateurs, reposant dans une cellule étanche depuis plusieurs années et possédant une flore bactérienne relativement importante ($\cong 10^6$ UFC), devraient donc posséder une variété importante de microorganismes adaptés aux divers types de contaminants et capables, comme le démontrent les résultats obtenus lors de cette étude, de minéraliser le pyrène. Toutefois, contrairement aux tests de minéralisation utilisant le ^{14}C-phénanthrène, un temps de latence de 43 jours a été observé. Ce phénomène peut s'expliquer par des réactions de co-métabolisme ou par le temps requis à la population bactérienne de former une population suffisante (Manilal et Alexander, 1991). Comme dans le cas du phénanthrène, 3 phases peuvent être observées au cours de la minéralisation du ^{14}C-pyrène. La première est probablement liée au développement de la population bactérienne qui empêche d'entamer immédiatement les processus de biodégradation. La deuxième phase se distingue par les premières réactions de biodégradation ainsi qu'une réduction du taux de minéralisation provoquée par l'adsorption du contaminant, tandis que la troisième phase est associée à l'adsorption du composé sur le sites moins accessibles de la matrice contaminée qui rend le composé marqué non disponible pour la biodégradation.

Le fluoranthène, un HAP de 4 anneaux, et le benzo[a]pyrène, un HAP de 5 anneaux se sont montrés récalcitrants à la biodégradation. En effet, même après des temps d'incubation de 395 et 389 jours respectivement pour le fluoranthène et le benzo[a]pyrène, le pourcentage de récupération du ^{14}C-CO_2 demeure à zéro. Pourtant, la littérature indique que, malgré un taux de biodégradation moins élevé que celui observé pour le phénanthrène et le fluorène, le fluoranthène peut servir comme seule source de carbone par les souches bactériennes Alcaligenes denitrificans (Weissenfels *et al.*, 1990) et Pseudomonas paucimobilis (Mueller *et al.*, 1990). Cependant, aucune étude n'a été réalisée pour connaître l'efficacité de ces souches pures sur le terrain, c'est-à-dire sur un

site contaminé, en présence d'une contamination multiple. L'absence de minéralisation de ces deux composés peut s'expliquer d'une part, par l'absence de microorganismes ayant la capacité d'utiliser ces composés comme source d'énergie dans les boues d'épurateurs et, d'autre part, par le coefficient de partition octanol/eau (K_{ow}) élevé de ces deux composés hydrophobes. En fait, plusieurs facteurs influencent le taux de biodégradation des HAP dans l'environnement. Par exemple, les propriétés physico-chimiques, telles que la masse molaire, la solubilité, le coefficient de partition, l'hydrophobicité et la volatilité, sont des paramètres qui affectent le devenir des contaminants (Cerniglia, 1984). En effet, des HAP étudiés pour ce projet, le benzo[a]pyrène et le fluoranthène, dont les coefficients de partition sont de l'ordre de 6,06 et 4,90 respectivement, possèdent les K_{ow} les plus élevés, un K_{ow} modéré se situe autour de 2,5 - 3,5 (Sims et Overcash, 1983). En fait, ce coefficient indique la tendance d'un composé à être adsorbé sur les particules solides et, comme l'ont montré les résultats obtenus aux tests d'adsorption/désorption, les HAP, en particulier ceux de masse molaire élevée, sont fortement adsorbés sur l'alumine, ce qui entraîne principalement une réduction importante du taux de biodégradation et l'accumulation de ces contaminants à la surface des particules constituant les boues d'épurateurs (LaGrega *et al.*, 1994; Jenkins et Lion, 1993). Wild et Jones (1993) ont d'ailleurs montré que la demi-vie des HAP augmentait de façon exponentielle avec le logarithme du K_{ow}. Ainsi, plus le composé aromatique possède un coefficient de partition octanol/eau élevé, plus il est récalcitrant à la biodégradation. Par conséquent, la faible biodisponibilité des HAP dans la phase aqueuse peut expliquer l'absence de minéralisation du fluoranthène et du benzo[a]pyrène. Le benzo[a]pyrène est reconnu comme étant difficilement biodégradable. Cerniglia (1984) a montré que les HAP de masse molaire élevée comme le benzo[a]pyrène étaient récalcitrants à la biodégradation bactérienne. Wild et Jones., (1991) ont aussi montré que les HAP de cinq anneaux benzéniques et plus étaient particulièrement récalcitrants à la biodégradation et que, jusqu'à ce jour, aucune souche bactérienne capables d'utiliser ces composés complexes comme seule source de carbone

n'a été isolée. Enfin, Deschênes (1995) a également montré que les HAP de 5 anneaux et plus, présents dans un sol contaminé à la créosote, étaient récalcitrants à la biodégradation sous des conditions aérobies. En fait, les HAP, hautement hydrophobes, sont fortement adsorbés sur l'alumine. Par conséquent, l'absence de minéralisation observée dans certain cas, pourrait s'expliquer par la non biodisponibilité des HAP. En effet, de nombreuses études ont montré que la biodisponibilité des contaminants organiques était un facteur de première importante pour la biodégradation (LaGrega *et al.*, 1994; Jenkins et Lion., 1993, Al-Bashir et al, 1994b). L'adsorption réduit considérablement la biodisponibilité des contaminants, affecte la biodégradation et entraîne l'accumulation de ces contaminants à la surface des particules de la matrice contaminée (LaGrega *et al.*, 1994; Jenkins et Lion, 1993). En effet, Weissenfels *et al.* (1992) ont montré que l'adsorption des HAP, sur les particules d'un sol, en réduisait le taux de biodégradation. Ainsi, l'adsorption des HAP sur les particules de boue et la faible solubilité de ces derniers entraînent une réduction de la concentration des HAP dans la phase aqueuse et, par conséquent, restreint la minéralisation de certains HAP. En effet, Mihelcic et Luthy (1991) ont montré que la minéralisation d'un composé organique dépendait de sa concentration dans la phase aqueuse. Ces auteurs prétendent qu'il existe un équilibre entre la phase soluble et la fraction du contaminant adsorbé. De cette façon, la minéralisation complète du contaminant est possible. Ainsi, au fur et à mesure que le composé présent dans la phase aqueuse est biodégradé, la fraction adsorbée se solubilise peu à peu dans la fraction aqueuse jusqu'à la minéralisation complète du contaminant. Ce modèle peut expliquer la minéralisation de certains composés organiques possèdant un faible coefficient de partition octanol/eau (k_{ow}) et une solubilité élevée, comme le phénanthrène, lequel a montré un taux de minéralisation élevé dans les boues d'épurateurs. LaGrega *et al.* (1994) confirment ce modèle en indiquant que l'adsorption des contaminants est un processus réversible. Ces auteurs affirment que les composés organiques se désorbent au fur et à mesure que la concentration des contaminants dans la phase aqueuse diminue. Les HAP de faible masse molaire, tel que le phénanthrène,

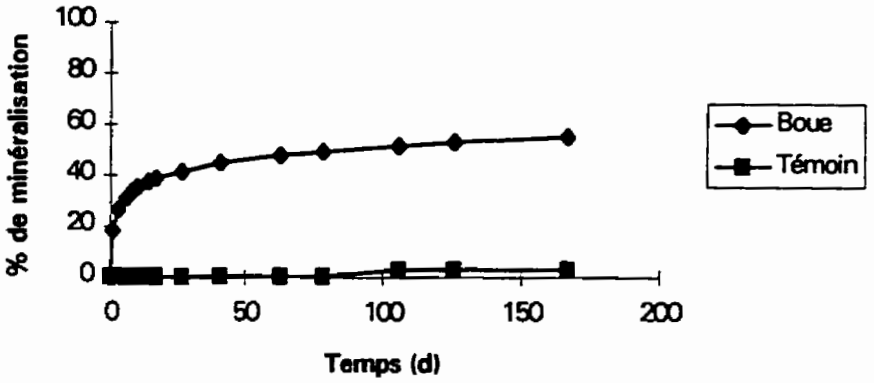
possède une solubilité plus élevée et un K_{ow} plus faible que les HAP de masse molaire élevée, et se désorbent en concentrations plus importantes. En conséquence, ils montrent une minéralisation élevée dans les boues d'épurateurs. L'adsorption des HAP de masse molaire élevée dans les boues d'épurateurs a donc pour conséquence de favoriser la biostabilité de ces composés, et ce, malgré la présence d'une biomasse adaptée à certains de ces contaminants.

6.2.2 Minéralisation des HAP sous conditions dénitrifiantes

Des tests de minéralisation ont été réalisés en remplaçant l'oxygène contenu dans le microcosme par de l'azote, et en ajoutant du nitrate, afin de déterminer si les microorganismes avaient la capacité d'utiliser le nitrate (NO_3^-) comme accepteur d'électrons. Les figures 10 et 11 présentent les résultats obtenus aux tests de minéralisation effectués sous conditions dénitrifiantes.

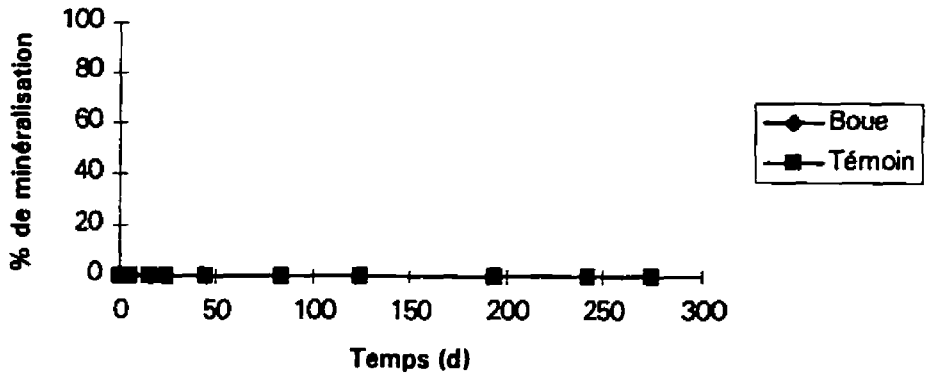
Les résultats obtenus lors des tests de minéralisation sous conditions dénitrifiantes montrent que les HAP de faible masse moléculaire sont biodégradables dans les boues d'épurateurs. En effet, le pourcentage de minéralisation du phénanthrène marqué au carbone-14 atteint 55% après 167 jours d'incubation. De plus, aucun temps de latence n'a été observé en fonction des temps d'échantillonnage. Ces observations indiquent que la biomasse indigène des boues est adaptée aux conditions anoxies. En effet, des études ont montré que les microorganismes ne pouvaient amorcer la minéralisation d'un composé marqué sans montrer un certain temps de latence si ces derniers n'étaient pas au préalable acclimatés à de telles conditions (Mihelcic et Luthy, 1988a). Encore une fois, la courbe de minéralisation du phénanthrène indique que le contaminant ajouté est rapidement utilisé par les microorganismes indigènes des boues, comme source de carbone. Par la suite, l'adsorption progressive du composé radioactif sur la matrice

contaminée, entraîne une réduction du taux de biodégradation pour finalement atteindre un plateau.

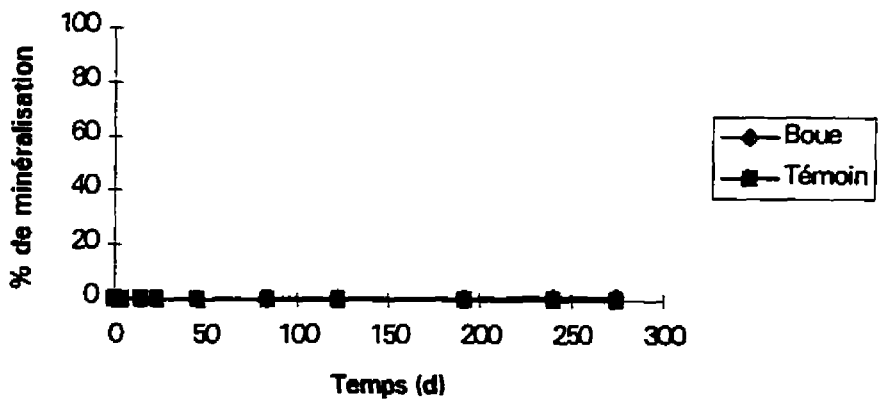


Phénanthrène avec NO_3^-

Figure 10 Minéralisation du phénanthrène marqués au carbone-14 sous conditions dénitrifiantes par la microflore indigène des les boues d'épurateurs



Pyrène avec NO_3^-



Fluoranthène avec NO_3^-

Figure 11 Minéralisation de HAP marqués au carbone-14 sous conditions dénitrifiantes par les microorganismes indigènes présents dans les boues d'épurateurs

Des témoins abiotiques, préparés pour chaque test de minéralisation, montrent que les microorganismes indigènes des boues d'épurateurs sont bien responsables de la biodégradation. De plus, la disparition des nitrates (NO_3^-) et l'accumulation des nitrites (NO_2^-) confirment l'activité de biodégradation sous des conditions dénitrifiantes. En effet, l'analyse des ions par HPLC a montré que les nitrates, utilisés comme accepteurs d'électrons par les microorganismes des boues d'épurateurs, ont été réduits et biotransformés en nitrites lors de la minéralisation du ^{14}C-phénanthrène. Au contraire, le fluoranthène et le pyrène, des HAP de quatre anneaux, se sont montrés récalcitrants sous de telles conditions. En effet, le pourcentage de minéralisation de ces deux composés aromatiques est toujours de zéro après 275 jours d'incubation.

Les résultats issus de cette expérience sont confirmés par de nombreuses études. En effet, des études ont montré clairement le potentiel de la dénitrification pour la bioremédiation des sols contaminés par des HAP de faible masse molaire (Mihelcic et luthy, 1988 a-b; Al-Bashir *et al.*, 1990; Samson *et al.*, 1991; Leduc *et al.*, 1992). Ainsi, les HAP de faible masse molaire comme le phénanthrène (étudié pour ce projet), la naphtalène (deux anneaux), l'acénaphthène, l'acénaphthylène, l'anthracène et le fluorène (HAP de 3 anneaux) ont été montrés biodégradables sous conditions dénitrifiantes. Mihelcic et luthy (1988b) ont montré que l'acénaphthène et le naphtalène marqué au carbone-14 à des concentrations initiales de 7 mg/l étaient biodégradés en moins de 9 semaines dans un système sol/eau (1 g sol/ 50 ml eau) lorsque la concentration en nitrate était suffisante pour que l'accepteur d'électrons ne devienne pas un facteur limitant. Par ailleurs, une seconde étude, réalisée avec un sol sous forme de boues (30% de solides), a montré que le pourcentage de minéralisation du ^{14}C-naphtalène à une concentration initiale de 50 mg/ kg pouvait atteindre 90 % après 50 jours (Al-Bashir *et al.*, 1990). Finalement, une troisième étude a montré que l'acénaphthène, l'acénaphthylène, l'anthracène, le naphtalène et le fluorène étaient tous biodégradables sous conditions dénitrifiantes à des taux variant de 0,4 à 1,8 mg/ kg /jour dépendamment de la

concentration initiale du HAP (Samson *et al.*, 1991). Néanmoins, le taux de biodégradation des HAP de faible masse molaire est plus élevé sous des conditions aérobies que sous des conditions dénitrifiantes (Leduc *et al.*, 1992). À la connaissance de l'auteur, aucune n'étude a montré que les HAP de masse molaire plus élevée (> 3 anneaux) sont biodégradables sous conditions dénitrifiantes. En somme, malgré le potentiel de la dénitrification pour la biodégradation des HAP de faible masse molaire comme le phénanthrène, en ce qui concerne les boues d'épurateurs, la dénitrification ne peut être envisagée comme méthode de traitement, étant donné que ces derniers ne représentent qu'une infime partie de la concentration totale de HAP que l'on retrouve dans les boues d'épurateurs. Les résultats issus de cette étude démontrent donc que les HAP présents dans les boues d'épurateurs, à l'exception des HAP de faible masse molaire, sont récalcitrants à la biodégradation sous conditions dénitrifiantes et ce malgré une biomasse adaptée à ces conditions.

6.2.3 Minéralisation des HAP sous conditions sulfato-réductrices

Ces tests de minéralisation ont été réalisés en remplaçant l'oxygène gazeux contenu dans le microcosme par de l'azote, et en ajoutant du sulfate afin de déterminer si les microorganismes avaient la capacité d'utiliser le sulfate (SO_4^{2-}) comme accepteur d'électrons.

En aucun temps, de telles conditions n'ont été obtenues dans les boues d'épurateurs. Les boues ont donc été mélangées à des boues provenant de l'industrie laitière présentant les conditions recherchées (c'est-à-dire un potentiel d'oxydoréduction de l'ordre de -300 mV) selon un ratio 1:3. Malgré cette manipulation, les boues d'épurateurs possédaient toujours un potentiel rédox trop élevé (-60 mV) pour permettre la réalisation de cette expérience. En effet, la figure 5 du chapitre 4 indique que pour obtenir des conditions

sulfato-réductrices, le potentiel rédox doit être de l'ordre de - 250 mV. Par conséquent, les tests de minéralisation sous conditions sulfato-réductrices n'ont pu être réalisés.

Cependant, des études ont montré que les HAP étaient récalcitrants à la biodégradation sous conditions sulfato-réductrices. En effet, tel que mentionné au chapitre 2, l'acénaphthène, l'acénaphthylène, l'anthracène, le naphtalène et le fluorène sont récalcitrants sous de telles conditions (Mihelcic et Luthy, 1988b; Leduc *et al.*, 1992).

6.3 Conclusion

Les tests de minéralisation ont montré que les HAP de faible masse molaire étaient biodégradables par la biomasse indigène des boues d'épurateurs sous conditions aérobies. En effet, une minéralisation importante a été observée pour le phénanthrène et le pyrène étudiés pour ce projet. Cependant, le fluoranthène et le benzo[a]pyrène se sont avérés récalcitrants à la biodégradation. Le coefficient de partition octanol/eau (K_{ow}) élevé, la forte adsorption des HAP de masse molaire élevée sur l'alumine ainsi que l'absence probable de microorganismes adaptés à cette source de carbone peuvent expliquer l'absence de minéralisation. Ainsi, malgré la présence d'une biomasse adaptée et capable de biodégrader certains HAP marqués sous conditions aérobies, l'adsorption de ces derniers sur l'alumine réduit considérablement leur biodégradation et entraîne l'accumulation des HAP à la surface des particules de boues.

En ce qui concerne les tests de minéralisation sous conditions dénitrifiantes, les résultats ont montré que le phénanthrène, un HAP de 3 anneaux, était biodégradable par les microorganismes indigènes des boues d'épurateurs. De nombreuses études ont d'ailleurs montré que la dénitrification présentait un potentiel pour la biodégradation des HAP de faible masse molaire (trois anneaux et moins). Ainsi, les HAP de masse molaire plus

élevée se sont montrés récalcitrants sous de telles conditions, et ce malgré l'environnement anoxie des boues d'épurateurs et la présence d'une microflore adaptée à ces conditions. En fait, les microorganismes présents dans la cellule n'ont pas la capacité d'utiliser les HAP de 4 anneaux et plus comme source d'énergie. Comme la concentration des HAP de 3 anneaux et moins dans les boues est pratiquement négligeable comparée à la concentration des HAP totaux, par conséquent, la majorité des HAP présents dans les boues entreposées sont biologiquement stables.

Les expériences sous conditions sulfato-réductrices n'ont pu être réalisées à cause de l'incapacité d'obtenir de telles conditions dans les boues d'épurateurs. Néanmoins, la littérature a montré que les HAP de faible masse molaire étaient récalcitrants à la biodégradation sous conditions sulfato-réductrices.

De façon générale, cette étude a permis de prédire, à partir des résultats obtenus en laboratoire, la biodégradabilité des HAP présents dans les cellules. Toutefois, des études réalisées sur le terrain indiquent que la demi-vie des composés aromatiques est significativement plus longue que celle suggérée par des études réalisées en laboratoire. En effet, lors des études en laboratoire, les boues sont conservées sous des conditions optimales (température 20°C à 30°C, pourcentage d'humidité stable et une bonne aération) qui tendent à augmenter le potentiel de biodégradation. La fraction résiduelle des HAP de masse molaire élevée serait également plus importante sur le terrain (Cerniglia, 1984; Wild et Jones, 1993). De plus, la biodisponibilité des radio-isotopes ajoutés serait également plus grande. Les conditions que l'on rencontre sur le site ne sont pas aussi optimales que celles utilisées pour la réalisation des expériences de minéralisation. En effet, des températures se situant autour de 20°C à 30°C sont essentielles pour favoriser l'activité des microorganismes (Dibble et Bartha, 1979; Matte, 1991) tandis que des températures trop élevées peuvent dénaturer les enzymes responsables de la biodégradation et des températures trop froides peuvent réduire ou

empêcher la biodégradation (Samson et Zaloum, 1989). Par conséquent, des températures adéquates pour maintenir l'activité des microorganismes présents dans les boues d'épurateurs se retrouvent plutôt durant la période estivale, sinon, les conditions climatiques présentent pendant le reste de l'année devraient réduire, voir même empêcher le potentiel de biodégradation des HAP présents dans les cellules étanches et ce, quelles que soient les conditions (aérobies, anoxies).

CHAPITRE 7: ÉTUDE DE LA FRACTION LIXIVIAT DES BOUES D'ÉPURATEURS

7.1 Introduction

Tel que mentionné auparavant, les boues d'épurateurs provenant de la fabrication de l'aluminium, sont présentement confinées à l'intérieur de cellules étanches dans le but d'empêcher l'eau de pluie de percoler dans les cellules et d'atteindre la nappe phréatique. Afin de prédire le devenir des HAP en cas d'une fuite éventuelle de lixiviat de la cellule, un test de lixiviation a été réalisé et la fraction lixiviat a été analysée pour connaître la concentration des HAP dans la phase aqueuse. La fraction lixiviat a également été utilisée pour déterminer le potentiel de biodégradation des HAP par des tests de minéralisation. Ces tests ont été effectués sous conditions aérobies. De cette façon, il a été possible de déterminer si la biomasse entraînée dans la phase aqueuse avait la capacité de biodégrader les HAP. La fraction lixiviat a également été utilisée pour la réalisation des tests écotoxicologiques. Deux bioessais, le SOS Chromotest et le test d'élongation radiculaire de la laitue, ont été effectués dans le but de déterminer si le lixiviat des boues d'épurateurs possédait un potentiel toxique ou génotoxique.

7.2 Résultats et discussion

7.2.1 Concentration des HAP dans le lixiviat

La concentration des HAP dans la phase aqueuse a été analysée pour déterminer si une fuite éventuelle de lixiviat des cellules pouvait présenter un danger pour l'environnement. En effet, le relarguage de ces composés dans les sols et finalement l'incorporation de ces derniers dans les eaux souterraines peut entraîner une contamination de l'environnement. Le tableau 6 présente la concentration de HAP que l'on retrouve dans la fraction lixiviat par rapport à la concentration initiale de HAP dans les boues d'épurateurs, aux critères de contamination des eaux souterraines (MENVIQ, 1988) et par rapport au lixiviat sur les résidus solides.

Les résultats de l'essai de lixiviation indiquent que plusieurs HAP, notamment l'acénaphtène, le fluorène, le phénanthrène, le fluorène, l'anthracène, le fluoranthène, le pyrène, le benzo[a]anthracène et le benzo[b+j+k]fluoranthène, dépassent le critère C de contamination des eaux souterraines (MENVIQ, 1988). Ce critère, indiquant que l'eau est fortement contaminée, a été élaboré à titre indicatif et ne pourrait, en aucun temps, être considéré comme une norme (MENVIQ, 1988). De plus, le facteur de dilution requis pour rencontrer ce critère C de contamination des eaux souterraines montre qu'advenant une fuite de lixiviat de la cellule, la concentration des HAP, après avoir atteint les eaux souterraines, ne présenterait qu'un faible danger étant donné les faibles valeurs des facteurs de dilution requis. Le facteur de dilution requis du phénanthrène est le plus élevé et n'est que de l'ordre de 42. Quant au facteur d'extractibilité, il témoigne clairement de la forte adsorption des HAP sur les particules de boues d'épurateurs. En effet, les valeurs obtenues montrent que la concentration de HAP désorbée suite à l'essai de lixiviation est faible par rapport à la concentration initiale de HAP retrouvée dans les boues d'épurateurs.

Tableau 6: Concentration de HAP dans les boues d'épurateurs et dans le lixiviat des boues par rapport aux critères de contamination des eaux souterraines et au règlement sur les déchets dangereux.

Composés	Conc. boues (mg/kg)	Conc. lixiviat (µg/l)	Crit. eaux (µg/l)	Déc. dang. (µg/l)	Facteur extracti-bilité	Fact. dil. req.
Naphtalène	<10	6	30			0,2
Acénaphtylène	<10	19	20			0,95
Acénaphtène	<10	120	30			4,0
Fluorène	<10	43	10			4,3
Phénanthrène	1020	210	5		$2,0 \times 10^{-4}$	42
Anthracène	2720	54	20		$1,9 \times 10^{-5}$	2,7
Fluoranthène	3850	84	10		$2,2 \times 10^{-5}$	8,4
Pyrène	4440	53	30		$1,2 \times 10^{-5}$	1,8
Di. 7,12benzo[a]anthracène	<10	<0,9	1			
Benzo[ghi]pérylène	40	<0,9	1			
Benzo[c]phénanthrène	90	1	2		$1,1 \times 10^{-5}$	0,5
Chrysène	1270	0,9	5		$7,0 \times 10^{-7}$	0,2
Benzo[a]anthracène	1220	2,8	2		$2,2 \times 10^{-6}$	1,4
Benzo[b+j+k]fluoranthène	2150	4,9	1		$2,2 \times 10^{-6}$	4,9
Benzo[a]pyrène	630	<0,9	1			
Méthyl-3cholanthrène	<10	<0,9	1			
Indéno[1,2,3-cd]pyrène	70	<0,9	5			
Dibenzo[a]anthracène	80	<0,9	1			
Dibenzo[al,ai,ah]pyrène	<10	<0,9	5			
HAP totaux	17 580	599	50	10		

Conc. boues: Concentration de HAP dans les boues d'épurateurs en mg/kg
Conc. lixiviat: Concentration de HAP dans la fraction lixiviat (eau) en µg/l
Crit. eaux: Critère C de contamination des eaux souterraines en µg/l
D. dang: Déchets dangereux sur lixiviat (acide) de résidu solide en µg/l (Règlement sur les déchets dangereux, 1985, c. Q-2, r. 12.1)
Fact. extractibilité: Facteur d'extractibilité = Conc. lixiviat/ Conc. boues (supposant 1000 g par litre d'eau)
Fact. dil. req.: Facteur de dilution requis pour rencontrer le critère C de contamination des eaux souterraines = Conc. lixiviat/ Crit. eaux

Par ailleurs, l'analyse des HAP dans la phase aqueuse indique que la concentration des HAP totaux, en particulier ceux de faible masse molaire, est élevée. En fait, ces derniers possèdent une solubilité supérieure aux composés plus lourds. Par exemple, la solubilité du phénanthrène est de 1,29 mg/l, tandis que celle du benzo[a]anthracène et du benzo[g, h, i]pérylène est de 0,014 mg/l et 0,00026 mg/l, respectivement. Ainsi, les HAP de masse molaire élevée, présentant une faible solubilité, ne sont pas détectés dans la phase aqueuse, la limite de détection de la méthode analytique étant de 0,0009 mg/l. De plus, les HAP, hautement hydrophobes, sont reconnus pour leur grande capacité d'adsorption (CNRC, 1983). On ne les retrouve donc qu'en faible concentration dans la phase aqueuse car fortement adsorbés aux particules. Par ailleurs, le coefficient de partition octanol/eau relativement élevé de ces composés hydrophobes confirme la forte tendance des HAP à s'adsorber. Ce coefficient est proportionnel à la masse molaire des HAP (Jenkins *et al.*, 1993). Ainsi, les composés de masse molaire élevée possèdent un K_{ow} élevé. Par exemple, le K_{ow} du phénanthrène, un HAP de 3 anneaux, est de 4,46, tandis que celui du benzo[g, h, i]pérylène est de 7,23 (Sims et Overcash, 1983). Ce dernier a donc tendance à être davantage adsorbé sur les particules composant les boues d'épurateurs et, par conséquent, à s'accumuler à la surface des particules (LaGrega *et al.*, 1994; Jenkins *et al.*, 1993). Ainsi, comme le montre les résultats de l'analyse, les HAP de masse molaire élevée, tels que le benzo[g, h, i]pérylène, le dibenzo[a]anthracène, le dibenzo[ah]pyrène, sont en concentration non détectable dans le lixiviat des boues d'épurateurs. La concentration de phénanthrène dans la phase aqueuse de 0,210 mg/l relativement faible par rapport à la limite de solubilité du phénanthrène qui est de l'ordre de 1,29 mg/l témoignent également du rôle important des phénomènes d'adsorption sur le devenir et le transport des HAP.

Quoique l'adsorption soit importante, la concentration de HAP retrouvée dans la phase aqueuse est élevée. Cependant, une étude réalisée pour connaître la mobilisation des HAP provenant d'un sol dont la concentration initiale de HAP était de 3044 mg/kg a montré que les HAP de quatre anneaux et plus, à l'exception du pyrène et du fluoranthène, après avoir agité le sol avec de l'eau déminéralisée selon un ratio de 100 g / 200 g, étaient en concentration non détectable dans la phase aqueuse (limite de détection près de 15 µg/l), la concentration des HAP totaux étant de 558 µg/l (Deschênes, 1995). La concentration des HAP totaux dans le lixiviat (599 µg/l) est donc relativement faible par rapport à celle retrouvée dans l'étude précédente, compte tenu de la concentration initiale des HAP présents dans les boues d'épurateurs qui était de 17 580 mg/kg (matière sèche). Ces résultats témoignent du pouvoir adsorbant des particules constituant les boues. L'âge de la contamination joue également un rôle important dans les phénomènes d'adsorption (Weissenfels *et al.* 1992, Degrémont, 1989). En effet, les HAP sont généralement plus fortement adsorbés dans un sol contaminé depuis un certain temps, que dans un sol dont la contamination est plus récente (Weissenfels *et al.* 1992).

En bref, malgré un phénomène d'adsorption important, la concentration des HAP dans la phase aqueuse est importante. Ainsi, advenant une fuite de la cellule, la concentration de HAP relarguée dans l'environnement pourrait présenter un danger potentiel pour l'environnement. Par conséquent, les cellules étanches doivent continuer à faire l'objet d'un contrôle et d'un suivi environnemental.

7.2.2 Minéralisation des HAP

Les tests de minéralisation ont été effectués dans le but de s'assurer que les HAP de faible masse molaire contenus dans le lixiviat étaient biodégradables par la flore bactérienne indigène des boues, si cette dernière était également entraînée dans la phase aqueuse. Ces

tests de minéralisation ont été réalisés sous conditions aérobies. De cette façon, il sera possible de déterminer le potentiel de biodégradation des HAP par les microorganismes indigènes advenant une fuite de lixiviat de la cellule. La figure 12 présente les résultats obtenus lors des tests de minéralisation.

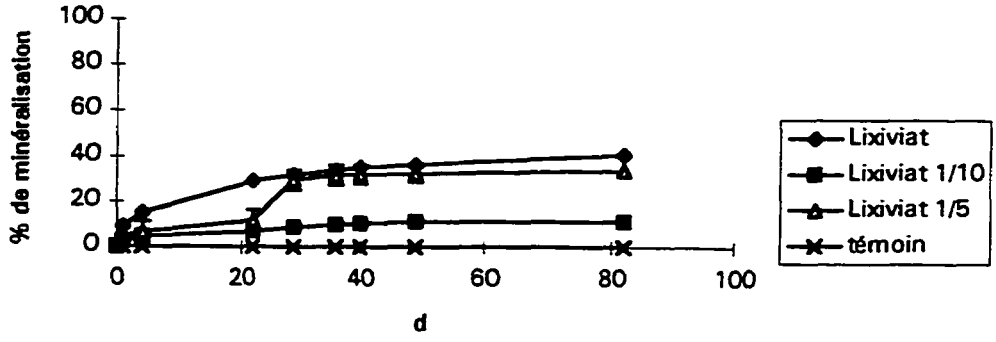


Figure 12 Minéralisation du ^{14}C-phénanthrène dans le lixiviat des boues d'épurateurs

Les résultats obtenus démontrent qu'advenant une fuite de lixiviat de la cellule, la biomasse entraînée avec le lixiviat aurait la capacité d'utiliser le phénanthrène, un HAP de faible masse molaire, comme source d'énergie. En effet, 45 % de minéralisation a été obtenue après 82 jours d'incubation. De nombreuses études ont démontré que les HAP de faible masse molaire sont facilement biodégradables (Fleming *et al.*, 1993.; Wang *et al.*, 1990; Wild *et al.*, 1991; Wilson et Jones, 1993; Jenkins et Lion, 1993). Les résultats ne montrent également aucun temps de latence avant l'attaque du contaminant par les microorganismes. Ces derniers sont donc adaptés à la source de carbone que représente les HAP.

Une série de dilution avec de l'eau distillée a été effectuée soit, 1/10 c'est-à-dire, 2 g lixiviat / 18 g eau ($p_{lixiviat}/p_{eau}$) et 1/5 (4 g/ 16 g). Les résultats indiquent que plus le lixiviat est dilué, plus le taux de minéralisation est faible. En fait, la dilution a pour effet de réduire la concentration de microorganismes par gramme de lixiviat, et ainsi de diminuer le taux de minéralisation. Ainsi, advenant une fuite de lixiviat, les microorganismes auraient la capacité de biodégrader les HAP de faible masse molaire.

7.2.3 Évaluation écotoxicologique

La fraction lixiviat a également été utilisée pour effectuer des tests écotoxicologiques. Ces derniers ont été réalisés afin de déterminer si le lixiviat possédait un potentiel génotoxique ou toxique. Ainsi, des bioessais, tels que le SOS Chromotest et le test d'élongation radiculaire de la laitue, ont été effectués par la compagnie Analex (Laval, Québec).

Le bioessai utilisant le macrophyte Lactuca sativa pour l'inhibition de l'élongation radiculaire a été effectuée sur le lixiviat issu d'un échantillon de boue. Ce test a pour but d'établir la concentration inhibitrice (CI_{50}) à laquelle la croissance des racines est inhibée de 50% par rapport au témoin. Le tableau 7 présente les résultats obtenus lors du bioessai élongation radiculaire. L'annexe B présente les certificats d'analyses écotoxicologiques.

Tableau 7 Résultats du test d'élongation radiculaire de la laitue

Organisme d'essai	CI_{50}-120h (%, v/v)	Unité toxique (U.T. CI_{50}-120h)
Lactuca sativa	> 100	< 1

CI_{50}: Concentration inhibitrice qui réduit la croissance de 50%

Les résultats ne démontrent aucun effet toxique (U.T. <1). En effet, ce test effectué sur des graines de laitue indique qu'après 5 jours, l'échantillon de lixiviat, à une concentration de 100%, n'a provoqué aucune inhibition du développement des graines. En fait, chaque graine renferme les éléments nécessaires à son développement à l'exception de l'eau. Les résultats obtenus de ce bioessai démontrent donc que les contaminants présents en concentration élevée (599 µg/l) dans la fraction lixiviat n'ont pas la capacité d'attaquer le tégument (enveloppe) de la graine et, par conséquent, de nuire au développement du macrophyte dans les premiers stades de sa croissance. En fait, ce test écotoxicologique permet de conclure que le lixiviat ne présente pas d'effet toxique à court terme pour cette organisme.

Le SOS Chromotest est un bioessai simple et rapide qui permet de détecter les dommages causés à l'acide désoxyribonucléique (ADN) par des produits toxiques générés par une activité industrielle, de même que ceux générés par un biotraitement (Quillardet *et al.*, 1985, Legault *et al.*, 1994, Renoux *et al.*, 1995). Le tableau 8 présente les résultats obtenus lors du SOS Chromotest.

Tableau 8 Résultats du SOS Chromotest: potentiel génotoxique de l'échantillon de lixiviat

	Cytotoxicité				Génotoxicité			
	CMEO		CSEO		CMEO		CSEO	
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S
Valeur mesurée (1)	> 50	> 50	50	50	10	10	2	2
U.T (2)	< 2	< 2	2	2				
U.G (3)					10	10	50	5(

(1): En pourcentage volume/ volume d'échantillon, (2): Unité toxique, (3): Unité génotoxique,

CMEO: Concentration minimale testée avec effets observés

CSEO: Concentration testée sans effet observé

Ces résultats ne démontrent aucun effet cytotoxique. En effet, la concentration minimale testée avec effets observés indique que même à la concentration maximale pouvant être testée lors de ce bioessai, c'est-à-dire 50 % de l'échantillon, aucun effet n'a été observé. L'unité toxique <2 indique que l'échantillon étudié ne possède pas de potentiel cytotoxique. La bactérie reste donc viable lorsqu'elle est en présence de l'échantillon à une concentration de 50%. Une concentration de 100 % pourrait provoquer une réponse positive au bioessai, cependant, ce bioessai ne permet pas d'analyser une telle concentration.

Toutefois, ce bioessai indique que le lixiviat des boues d'épurateurs possède un potentiel génotoxique, c'est-à-dire que les contaminants présents dans le lixiviat ont causés des dommages à l'ADN de la bactérie *E. coli*. En effet, la concentration minimale avec effets observés indique qu'à une concentration de 10 %, l'échantillon provoque une réponse positive au bioessai. Ce test écotoxicologique, contrairement au test d'élongation radiculaire de la laitue, indique le potentiel toxique du lixiviat sur plusieurs générations de

la bactérie. En effet, la division cellulaire de la bactérie s'effectue à chaque 20 minutes et la durée de ce bioessai est de 24 heures. Le SOS Chromotest permet donc de connaître les effets de substances chimiques à long terme.

De nombreuses études ont témoigné du potentiel génotoxique de certains HAP. En effet, l'Agence internationale pour la recherche du cancer a évalué la cancérogénécité d'au moins 14 molécules de HAP chez les animaux (Saucier, 1988). Quillardet *et al.* (1985) ont évalué le potentiel génotoxique de substances chimiques connues ou non pour leur potentiel cancérigène à l'aide de bioessais, tels que le SOS Chromotest et le test d'Ames, afin de valider la fiabilité de ces derniers pour l'évaluation des composés cancérigènes. Ces auteurs ont montré que l'anthracène, un HAP de faible masse molaire dont le potentiel cancérigène n'a pas encore été démontré, produisait une réponse négative aux deux tests génotoxiques. Au contraire, le pyrène et le benzo[a]pyrène, des HAP de masse molaire élevée et connus comme étant cancérigènes, ont montré une réponse positive au SOS Chromotest et au test d'Ames. En fait, les dommages causés à l'ADN peuvent entraîner des mutations ou un réarrangement de l'ADN, comme par exemple l'intégration d'un virus dans le matériel génétique. Ces changements génétiques affectent la structure et l'expression des gènes et peuvent provoquer l'induction de cancers (Quillardet *et al.*, 1985). Les résultats de cette étude suggèrent que les HAP de masse molaire élevée possèdent un potentiel génotoxique plus important que les HAP de faible masse molaire. Les résultats de cette étude ont également été corroborés par Legault *et al.* (1994). En effet, ces auteurs ont étudié la génotoxicité de nombreux composés chimiques, et ont montré que le benzo[a]pyrène provoquait une réponse positive au SOS Chromotest, c'est-à-dire, que le contaminant causait des dommages au matériel génétique de la bactérie *E. coli*. Ces auteurs ont également révélé que ce composé aromatique induisait une réponse positive au tests génotoxique d'Ames.

Helma *et al.* (1996) ont évalué le potentiel génotoxique de 23 échantillons à l'aide de quatre bioessais: le "differential DNA repair test", "le Microscreen phage induction assay", le test d'Ames et le SOS Chromotest. Cette étude a montré que le SOS Chromotest, qui possède une bonne sensibilité, apparaissait le plus prometteur des bioessais étudiés pour évaluer la génotoxicité de divers échantillons. Le choix du test génotoxique pour cette étude apparaît donc pertinent. Cependant, ce test ne permet pas d'identifier les composés ayant un potentiel génotoxique élevé en solution ou encore de déterminer les effets synergiques des contaminants présents dans une matrice contaminée.

7.3 Conclusion

L'analyse des HAP présents dans la fraction lixiviat des boues d'épurateurs a révélé qu'à 599 µg/l, la concentration de ces composés hydrophobes était largement supérieure au critère C du MENVIQ (1988) pour la contamination des eaux souterraines qui est de 50 µg/ l. La plage C indique que l'eau souterraine est sérieusement contaminée et qu'elle doit faire l'objet d'un suivi à défaut de procéder à sa décontamination. Toutefois, ce critère ne saurait en aucun cas être considéré comme une norme. L'identification des HAP dans la phase aqueuse indique que les HAP de faible masse molaire se retrouvent en concentration élevée. En fait, la solubilité plus élevée et le coefficient de partition octanol/ eau plus faible des HAP de faible masse molaire justifie la concentration importante de HAP de 4 anneaux et moins retrouvée dans cette phase. Les HAP de masse molaire plus élevée, hautement hydrophobes, ont tendance à être adsorbés plus fortement sur les particules constituant les boues d'épurateurs, c'est pourquoi, ces derniers sont en concentrations non détectables dans la fraction lixiviat. Néanmoins, malgré un phénomène d'adsoption important, la concentration des HAP dans la phase aqueuse pourrait présenter un danger potentiel pour l'environnement. Les tests de minéralisation ont montré que les HAP de faible masse molaire étaient biodégradables par

la biomasse entraînée par le lixiviat. A l'inverse, comme l'ont montré les tests de minéralisation des HAP dans les boues d'épurateurs, les HAP de masse molaire élevée, à l'exception du pyrène, sont récalcitrants à la biodégradation. De plus, l'évaluation écotoxicologique a révélé que le lixiviat présentait une réponse positive au SOS Chromotest. Ainsi, les contaminants présents dans la fraction lixiviat ont la capacité de causer des dommages à l'ADN de la bactérie *E. coli*. Par conséquent, les cellules étanches doivent continuer à faire l'objet d'un contrôle et d'un suivi environnemental.

CHAPITRE 8: DISCUSSION GÉNÉRALE

Le procédé Söderberg (épuration humide) utilisé pour la fabrication de l'aluminium, génère des quantités importantes de boues contaminées aux HAP, à des concentrations allant jusqu'à 17 580 mg/ kg de boues sèches. Ces boues d'épurateur, résultant de l'électrolyse de l'aluminium, sont classées comme déchets dangereux. Ce type de déchets pose généralement des problèmes quant à leur disposition. Ces boues sont ainsi présentement enfouies à l'intérieur d'une cellule étanche afin de protéger l'environnement. Ce projet visait à déterminer le devenir des HAP dans ces boues entreposées, à savoir, si les contaminants présents en concentrations élevées, sont biodisponibles et biodégradables par la microflore indigènes des boues d'épurateurs.

La caractérisation chimique et microbiologique des boues d'épurateurs a révélé que la majorité des paramètres étudiés, à l'exception de la concentration élevée de contaminants, apparaissait favorables à la biodégradation des HAP. En effet, le pH de l'ordre de 7,57 (à 20°C), le pourcentage d'humidité de 62,7 % et le dénombrement des hétérotrophes totaux de 2,3 x 10^6 unités formant des colonies (UFC) par gramme de boue sèche semblent optimaux pour l'activité des microorganismes. Toutefois, les concentrations importantes de HAP, de fluorures totaux et d'alumine respectivement de 17 580 mg/ kg, 28 000 mg/ kg et 27 000 mg/ kg (matière sèche), affectent probablement l'activité des microorganismes. La caractérisation des boues d'épurateurs a également permis de déterminer que les boues présentes dans la cellule se trouvent sous conditions anoxies, c'est-à-dire dans un environnement pratiquement exempt d'oxygène dissous.

Suite à la caractérisation des boues, des tests d'adsorption/désorption des HAP ont été réalisés afin de vérifier si les HAP présents dans les boues d'épurateurs étaient biodisponibles. Les résultats ont montré que ces derniers étaient fortement adsorbés aux particules des boues. En effet, l'étude d'adsorption/désorption a montré que quelque soit

la dilution de la boue effectuée, la faible concentration des HAP dans la phase aqueuse demeurait sensiblement la même. En fait, les HAP de masse molaire élevée, possédant une faible solubilité et un K_{ow} élevé, sont fortement adsorbés à la matrice. Une seconde expérience de désorption a confirmé ces résultats. En effet, la concentration de HAP adsorbés en fonction du nombre de lavages a révélé que la concentration de HAP désorbés après cinq lavages était pratiquement la même. Ainsi, l'adsorption et la limite de solubilité des HAP affectent leurs concentrations dans la phase aqueuse et, par conséquent, en réduit considérablement la biodisponibilité.

L'expérience d'adsorption/désorption du ^{14}C-fluoranthène a montré que l'alumine, qui est la principale composante des boues d'épurateurs, possédait un excellent pouvoir adsorbant. Les résultats ont montré une adsorption très rapide du fluoranthène sur l'alumine. En effet, à une concentration représentant deux fois la solubilité du HAP étudié (0,26 %), soit 0,5 mg/l, 98 % du fluoranthène a été adsorbés après 24 heures d'incubation. Ainsi, en présence d'une concentration importante de HAP, l'alumine n'a pas montré une saturation de ses sites d'adsorption. De plus, suite à deux lavages, des pourcentages très faibles de ^{14}C-fluoranthène de l'ordre de 0,6 % à 0,2 % soient 0,003 mg/l et 0,001 mg/l respectivement, ont été récupérés. Ces résultats témoignent donc de la forte capacité d'adsorption de l'alumine. L'adsorption en multicouches des HAP, ainsi que la surface spécifique de l'alumine seraient des facteurs importants lors des mécanismes d'adsorption. En fait, l'alumine possède une bonne porosité et une surface spécifique élevée (environ 75 m^2/g). Son utilisation dans les alumineries comme adsorbant dans les systèmes d'épuration à sec en témoigne. Ainsi, les HAP, en particulier ceux de masse molaire élevée, sont fortement adsorbés sur la matrice contaminée.

Étant donné que les expériences d'adsorption/désorption des HAP ont révélé la présence de HAP dans la phase aqueuse, des tests de biodégradabilité ont été entrepris afin de déterminer le potentiel de biodégradation des HAP par la microflore indigène des boues

d'épurateurs. Des tests de minéralisation de composés témoins radioactifs ont donc été réalisés sous conditions aérobies, dénitrifiantes et sulfato-réductrices étant donné que la caractérisation physico-chimiques a montré que les boues se trouvaient sous conditions anoxies. Les résultats ont montré que le phénanthrène, un HAP de trois anneaux, et le pyrène, un HAP de quatre anneaux, marqués au carbone-14, étaient biodégradables sous conditions aérobies. Toutefois, le fluoranthène et le benzo[a]pyrène se sont avérés récalcitrants à la biodégradation sous les mêmes conditions. En fait, la forte adsorption des HAP sur l'alumine, leur faible solubilité et l'absence d'une microflore adaptée à ces sources de carbone pourraient expliquer l'absence de minéralisation du ^{14}C-fluoranthène et du ^{14}C-benzo[a]pyrène. Le benzo[a]pyrène, tout comme les HAP de masse molaire élevée, est reconnu comme étant difficilement biodégradable.

En ce qui concerne les tests de minéralisation sous conditions dénitrifiantes, les résultats ont montré que le ^{14}C-phénanthrène, un HAP de faible masse molaire, était biodégradable dans les boues contaminées. Les microorganismes indigènes ont donc la capacité d'utiliser le nitrate (NO_3^-) comme accepteur d'électrons. Les résultats ont également montré que les HAP de masse molaire plus élevée, tels que le pyrène et le fluoranthène, étaient récalcitrants à la biodégradation sous de telles conditions. Ainsi, seuls les HAP de trois anneaux et moins, tels que l'acénaphthène, l'acénaphthylène, l'anthracène, le naphtalène et le fluorène sont biodégradables sous conditions dénitrifiantes. Cependant, l'adsorption de ces derniers limite leur biodisponibilité et, en conséquence, en réduit considérablement la biodégradation. Aussi, la majorité des HAP présents dans les boues d'épurateurs sont récalcitrants à la biodégradation .

La difficulté d'obtenir des conditions sulfato-réductrices en laboratoire a montré que de telles conditions seraient difficiles à atteindre dans les boues d'épurateurs. En conséquence, l'expérience de minéralisation sous de telles conditions n'a pu être réalisée.

Toutefois, la littérature a montré que les HAP étaient récalcitrants à la biodégradation sous conditions sulfato-réductrices.

Les résultats ont donc montré que malgré la présence d'une flore bactérienne adaptée à certains contaminants, la majorité des HAP, en particulier ceux de masse molaire élevée, étaient fortement adsorbés sur l'alumine. L'absence de certains composés aromatiques polycycliques dans la phase aqueuse, en particulier les HAP de masse molaire élevée, peut donc justifier l'absence de minéralisation observée dans certains cas. Par ailleurs, le modèle assumant un équilibre entre la phase aqueuse et la fraction du contaminant adsorbé témoigne du pourcentage de minéralisation élevée des HAP dont le k_{ow} est plus faible et la solubilité plus élevée, comme par exemple, celui obtenu lors des tests de minéralisation utilisant le ^{14}C-phénanthrène. En effet , les résultats obtenus ont montré qu'il existe en tout temps une infime concentration de HAP, de faible masse molaire, biodisponibles dans la fraction liquide des boues d'épurateurs. Enfin, malgré la présence d'une flore bactérienne adaptée à certains contaminants, les conditions anoxies présentes dans la cellule ainsi que la concentration importante de HAP de masse molaire élevée entraînent une biostabilité de ces derniers dans les boues d'épurateurs.

Malgré l'excellente capacité d'adsorption de l'alumine, un essai de lixiviation a révélé que la concentration de HAP dans le lixiviat (599 µg/ l) était élevée. Cependant, cet essai a montré que les HAP, de masse molaire élevée, étaient en concentration non détectable dans la phase aqueuse. Ainsi, on retrouve particulièrement des HAP de quatre anneaux et moins, dont la solubilité plus élevé et le K_{ow} plus faible justifient leur présence dans cette phase. Des tests de minéralisation effectués sur la fraction lixiviat ont montré que les HAP de faible masse molaire tel que le phénanthrène, étaient biodégradables par la biomasse présente dans la phase aqueuse. De plus, les tests de minéralisation effectués avec les boues d'épurateurs ont montré que la biomasse indigène des boues avait la capacité de biodégrader les HAP, de trois anneaux et moins, sous conditions

dénitrifiantes. Cependant, le SOS Chromotest, un bioessai génotoxique, a révélé que la fraction lixiviat possède un potentiel génotoxique, c'est-à-dire que les contaminants présents dans le lixiviat ont la capacité de causer des dommages à l'acide désoxyribonucléique (ADN) de la bactérie *E. coli* utilisée pour la réalisation de ce bioessai. La littérature a montré que les changements ou les réarrangements dans la structure de l'ADN étaient à l'origine de l'induction de cancers. Par conséquent, malgré le potentiel de biodégradation des HAP de faible masse molaire, une fuite de lixiviat de la cellule pourrait présenter un danger potentiel pour l'environnement. La cellule doit continuer à faire l'objet d'un contrôle et d'un suivi environnemental et ce, malgré la stabilité des HAP présents dans les boues d'épurateurs entreposées dans une cellules étanche.

CHAPITRE 9: CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET RECOMMANDATIONS

Le présent projet, réalisé en vue de déterminer le devenir des HAP dans des boues d'épurateurs confinées à l'intérieur d'une cellule étanche, a permis de révéler que les HAP présents dans les boues d'épurateurs étaient fortement adsorbés sur l'alumine et, par conséquent, peu biodisponibles. Malgré l'excellente capacité d'adsorption de l'alumine et la faible solubilité des HAP, on retrouve en tout temps une faible concentration de HAP dans la phase aqueuse. Des tests de biodégradabilité ont donc été entrepris et ont montré que seuls les HAP de faible masse molaire, lesquels constituent une faible fraction des HAP totaux, étaient biodégradables par la biomasse indigène des boues d'épurateurs. Par conséquent, la majorité des HAP présent dans les boues d'épurateurs, résultant de l'électrolyse de l'aluminium, sont biologiquement stables dans les boues confinées.

Un essai de lixiviation effectué sur les boues d'épurateurs a montré que la concentration de HAP, de l'ordre de 599 µg/l, dans la fraction liquide était relativement élevée. Le lixiviat est composé principalement de HAP de quatre anneaux et moins, dont la solubilité plus élevée et le K_{ow} plus faible justifient leur présence dans cette phase. Néanmoins, les facteurs de dilution requis pour rencontrer le critère C de contamination des eaux souterraines sont faibles et ne représente qu'un faible danger advenant une fuite de lixiviat de la cellule. Des tests de minéralisation effectués sur la fraction lixiviat a également montré que la microflore indigène avait la capacité de minéraliser ces HAP de faible masse molaire, tel que le phénanthrène. Par contre, le SOS Chromotest, un bioessai génotoxique, a révélé que la fraction lixiviat possédait également un potentiel génotoxique. En conséquence, la cellule étanche doit continuer à faire l'objet d'un contrôle et d'un suivi environnemental.

Dans l'optique de réduire la concentration de HAP dans les boues d'épurateurs confinées à l'intérieur de la cellule étanche, le traitement des boues d'épurateurs en bioréacteur

permettrait également de réduire le danger écotoxicologique associé à une fuite de lixiviat de la cellule de confinement. Ainsi, le traitement des boues en bioréacteur permet d'optimiser l'activité des microorganismes par un contrôle précis des paramètres clés, tels que la concentration en oxygène et en nutriments, ainsi que le pH et la température. Ce procédé, réalisé sous agitation, favoriserait la désorption des HAP, en particulier ceux de faible masse molaire, et par conséquent, augmenterait le potentiel de biodégradation des HAP. De cette façon, il y aurait principalement une réduction de la concentration des HAP de faible masse molaire, lesquels sont présents en concentration importante dans la fraction lixiviat des boues d'épurateurs. En somme, le biotraitement des boues d'épurateurs en bioréacteur permettrait de réduire la concentration des HAP considérés comme étant facilement biodégradables et, par conséquent, entraînerait une réduction du danger potentiel associé à une fuite de lixiviat de la cellule de confinement. La figure 13 illustre le traitement en bioréacteur proposé.

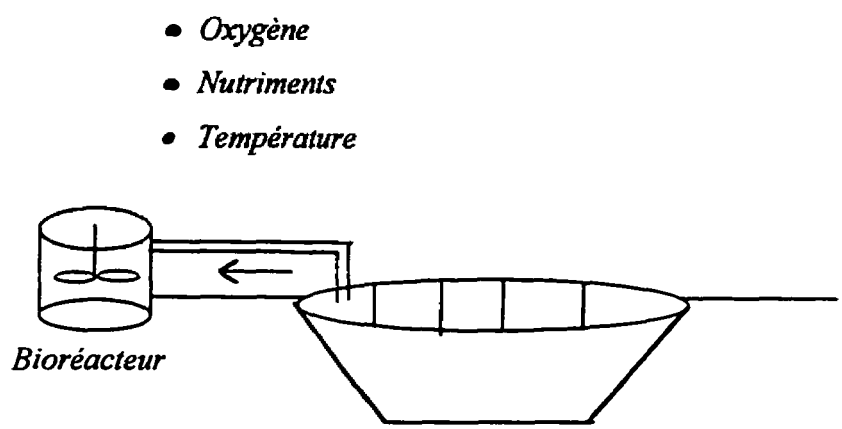


Figure 13 Traitement en bioréacteur des boues d'épurateurs confinées à l'intérieur d'une cellule étanche

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABU-ORF, M. M. et JAMRAH, A. I. (1995). Biosolids ans sludge management, Wat. Environ. Res., 67 (4), 481-486.

ALCAN. (1990a). L'Univers d'Alcan: la fabrication de l'aluminium, Alcan Aluminium Limitée, Brochure, Montréal.

ALCAN. (1990b). Alcan au Québec, Alcan Aluminium Limitée, Brochure, Montréal.

ALCAN. (1990c). L'Univers d'Alcan, Alcan Aluminium Limitée, Brochure, Montréal.

ADENUGA, A. O., JOHNSON, J. H., CANNON, J. N. et WAN, L. (1992). Bioremediation of PAH contaminated soil via in-vessel composting, Wat. Sci. Tech., 26 (9-11), 2331-2334.

AFEE, (1978). Les micropolluants minéraux dans les eaux superficielles continentales, rapport n°5, Le fluor, le chlore, le brome, l'iode, Association française pour l'étude des eaux, Centre national de documentation et d'information sur l'eau, Paris, 125 p.

ALEXANDER, M., (1994). Biodegradation and bioremediation, Academic Press, inc., San Diego, California, 302 p.

AL-BASHIR, B., CSEH, T., LEDUC, R., et SAMSON, R. (1990). Effect of soil/contaminant interactions on the biodegradation of naphthalene in flooded soil under denitrifying conditions, Appl. Microbiol. Biotechnol., 34, 414-419.

AL-BASHIR, B., HAWARI, J., LEDUC, R. et SAMSON, R. (1994a). Behavior of nitrogen-substituted naphthalenes in flooded soil- Part 1: Sorption/desorption and biodegradation, Wat. Res., 28 (8), 1817-1825.

AL-BASHIR, B., HAWARI, J., SAMSON, R. et LEDUC, R. (1994b). Behavior of nitrogen-substituted naphthalenes in flooded soil- Part 2: Effect of bioavailability on biodegradation kinetics, Wat. Res., 28 (8), 1827-1833.

ANONYME. (1995). Les technologies disponibles, Envirotech, 2 (5), 15p.

AFEE. (1978). Les micropolluants minéraux dans les eaux superficielles continentales, rapport n°5, Le fluor, le chlore, le brome, l'iode, Association française pour l'étude des eaux, Centre national de documentation et d'information sur l'eau, Paris, 125 p.

APPANA, V. D., HUANG, J. et PRUSA K-SACHACZEWSKI, E. (1995). Microbial adaptation to aluminum, Biotechnol. Progress, 11, 159-163.

APPELO, C. A. et POSTMA, D. (1993). Geochemistry, groundwater and pollution, A.A Balkema, Rotterdam, Pays-Bas, 535 p.

ATLAS, R. M. (1988). Biodegradation of hydrocarbons in the environment, Basic Life Sci., 45, 211-222.

APHA- AWWA- WPCF. (1989). Standard methods for the examination of water and wastewater, 17 ième édition, Am. Public Health Association, Washington, D. C.

APHA; AWWA; WPCF. (1992). Standard Methods for examination of water and wastewater, 18 ième édition, Am. Public Health Association, Washington, D. C.

BOETHLING, R. S. et ALEXANDER, M. (1979). Effect of concentration of organic chemicals on their biodegradation by natural microbial communities" Appl. Environ. Microbiol., juin, 1211-1216.

BOWEN, P. T., JACKSON, M. K., CORBITT, R. A. et GONCE, N. (1992). Sludge treatment utilization, and disposal, Wat. Environ. Res., 64, (4), 378-386.

CHAKRABARTY, A. M. (1982). Biodegradation and detoxication of environmental polluants, CRC Press, Boca Raton, Floride, 61-81.

CCMRE. (1987). Recommendations pour la qualité des eaux du Canada, Conseil Canadien des ministères des ressources et de l'environnement mars, Ottawa.

CERNIGLIA, C. E. (1984). Microbial metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons, Appl. Microbiol. 30, 31-77.

CHEREMISINOFF, P. N. (1987). Hazardous wastes and sludge treatment, Pollution Engineering, 19, 40-50.

CHEREMISINOFF, P. N. (1988). Special report: Hazardous material and sludge treatment and disposal, Pollution Engineering, 20, 66-73.

CNRC. (1983). Les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans le milieu aquatique: formation, sources, devenir et effets sur le biotope aquatique, Comité associé sur les critères scientifiques concernant l'état de l'environnement, Secrétariat de l'environnement Canada (CNRC no: 18982), 218 p.

COYNE, J. F., WONG, P. J., WAINWRIGHT, M. S. et BRUNGS, M. P. (1987). Factors influencing hydrogen fluoride adsorption on alumina, Proceedings of the technical sessions sponsored by The Metallurgical Society (TMS) light metals committee at the 116 th annual meeting, Denver, Colorado, 24-26 février, 113-118.

COYNE, J. F., WAINWRIGHT, M. S. et BRUNGS, M. P. (1989). The influence of physical and chemical properties of alumina on hydrogen fluoride adsorption, Proceedings of the technical sessions by The Metallurgical Society (TMS) light metals committee at the 118 TMS annual meeting, Las Vegas, Nevada, 27 février- 3 mars, 35-39.

CRAC- Critical reports on applied chemistry. (1987). Production of aluminium and alumina, Critical reports on applied chemistry , The Society of Chemical Industry, 20, Angleterre.

DEGREMONT. (1989). Memento technique de l'eau, Édition du Cinquantenaire, Neuvième étition, tome 1, Degrémont, Paris, France.

DESCHENES, L. (1995). Impact de surfactifs biologiques et du SDS sur la biodégradation et la mobilisation des HAP contenus dans un sol contaminé à la créosote, Thèse de doctorat, Institut national de la recherche scientifique, INRS-Eau, Québec.

DIBBLE, J.T. ET BARTHA, R. (1979). Effect of Environnemental parameters on the biodegradation of oil sludge, Appl. Env. Microbiol., 37 (4), 729-739.

ENVIRONNEMENT CANADA, Santé et bien être social Canada. (1994). Loi canadienne sur la protection de l'environnement, Les hydrocarbures aromatiques polycycliques, Liste des substances d'intérêt prioritaire, Rapport d'évaluation, Ottawa, 69 p.

ENVIRONNEMENT CANADA. (1993). Loi canadienne sur la protection de l'environnement, Fluorures inorganiques. Liste des substance d'intérêt prioritaire, Rapport d'évaluation, Ottawa, 77 p.

EPA, Environmental protection agency. (1986). EPA test methods for evaluating solid waste, 3ième édition, Washington, D. C., États-Unis.

FLEMING, J.T., SANSEVERINO, J. et SAYLER, G. S. (1993). Quantitative relationship betwen naphthalene catabolic gene frequency and expression in predicting PAH degradation in soils at gas manufacturing sites, Environ. Sci. Technol., 27, 1068-1074.

GERMIDA, J. J. (1993). Soil sampling and methods of analysis, M. R. Carter, Canadian society of soil science, chapitre 27, 263-268.

GROCER, R. J., WARSHEWSKY, D. et ROBIE VESTAL, J. (1991). Indigenous and enhanced mineralisation of pyrene, benzo[a]pyrene and carbazole in soils, Appl. Environ. Microbiol., 57, 3462-3469.

HELMA, C., MERSCH- SUNDERMANN, V., GLASBRENNER, U., KLEIN C., WENQUING, L., KASSIE, F., SCHULTE- HERMANN, R. et KNASMÜLLER, S. (1996). Comparative evaluation of four bacterial assays for the detection of genotoxic effects in the dissolved water phases of aqueous matrices, Environmental Science and Technology, 30 (3), 897-907.

HUONG, P. V. (1984). Les tendances nouvelles de la chimie du fluor" Ann. Chim. Fr., 9, 629-631.

JENKINS, M. B. et LION, L. W. (1993). Mobile bacteria and transport of polynuclear aromatic hydrocarbons in porous media", Appli. Environ. Microbiol., 59 (10), 3306-3313.

LAGREGA, M. D., BUCKINGHAM, P. L., EVANS, J. C. et the Environmental Resources Management Group. (1994). Hazardous waste management, McGraw-Hill, New York, États-Unis.

LAHA, S. et LUTHY, R. G. (1991). Inhibition of phenanthrene mineralization by nonionic surfactants in soil- water systems, Environ. Sci. Technol., 25 (11), 1920-1929.

LEDUC R., SAMSON R., AL-BASHIR B., AL-HAWARI J. et CSEH T. (1992). Biotic and abiotic disappearance of four PAH compounds from flooded soil under various rédox conditions, Wat. Sci. Tech., 26 (1-2), 51-60.

LEGAULT, R., BLAISE, C., ROKOSH, D et CHONG-KIT, R. (1994). Comparative assessment of the SOS Chromotest Kit and the Mutatox test with Salmonella plate incorporation (Ames Test) and fluctuation tests for screening genotoxic agents, Environ.Toxicol. Water Quality, 9, 45-57.

LOEHR, R. C., MARTIN J. H. JR. et NEUHAUSER, E. F. (1992). Land treatment of an aged oily sludge- organic loss and change in soil characteristics, Wat. Res., 26 (6), 805-815.

LQE- Loi sur la qualité de l'environnement. (1985). Règlement sur les déchets dangereux, annexe III, c. Q-2, r. 12.1.

MASC. (1987). Bauxite et alumine: produits minéraux importés, Énergie, Mines et Ressources Canada, bulletin minéral MR 219, Ottawa, 53 p.

MANILAL, V. B. et ALEXANDER, M. (1991). Factors affecting the microbial degradation of phenanthrene in soil, Appl. Microbiol. Biotechnol., 35, 401-405.

MATTE, N. (1991). Contribution à l'étude de la biodégradation des hydrocarbures par une population mixte de microorganismes isolés d'un sol contaminé, Mémoire de maîtrise, Département de génie chimique, École Polytechnique, Montréal.

MENVIQ- Ministère de l'Environnement du Québec. (1986). Avis sur les fluorures d'origine industrielle dans l'environnement québécois, Tome 1, Avis du Conseil consultatif de l'environnement, Québec, 221 p.

MENVIQ- Ministère de l'Environnement du Québec. (1988). Guide standard de caractérisation de terrains contaminés, Direction des substances dangereuses, Québec, rapport no. QEN/ SD-2.

MIDDLETON, A. C., NAKLES, D. V. et LINZ, D. G. (1991). The influence of soil composition on bioremediation of PAH-contamined soils, Remediation, Automne, 391-406.

MIHELCIC, J. R. et LUTHY R. G. (1988a). Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds under various redox conditions in soil-water systems, Appl. Environ. Microbiol., 54 (5), 1182-1187.

MIHELCIC, J. R. et LUTHY R. G. (1988b). Microbial degradation of acenaphthene and naphthalene under denitrification conditions in soil-water systems", Appl. Environ. Microbiol., 54 (5), 1188-1198.

MILLETTE, D, BARKER, J., COMEAU, Y., BUTLER, B., FRIND, E. O., CLEMENT, B. et SAMSON, R. (1995). Substrate interaction during aerobic biodegradation of creosote-related compounds: a factorial batch experiment, Environ. Sci. Technol., 29, 1944-1952.

MORGAN, P. et WATKINSON R.. J. (1989). Hydrocarbon degradation in soils and methods for soil biotreatment, CRC Crit. Rev. Biotechnol., 8 (4), 305-333.

MUELLER, J. G., CHAPMAN P. J., BLATTMANN B. O. et PRITCHARD P. H. (1990). Isolation and characterization of a fluoranthene-utilizing strain of Pseudomonas paucimobilis, Appl. Environ. Microbiol., 56 (4), 1079-1086.

OMS- Organisation mondiale de la santé. (1985). Critère d'hygiène de l'environnement 36: Fluor et fluorures, Programme international sur la sécurité des substances chimiques (IPCS), Genève, Suisse, 150 p.

OTTE, M.-P., GAGNON, J., COMEAU, Y., MATTE, N., GREER, C. W. et SAMSON, R. (1994). Activation of an indigenous microbial consortium for bioaugmentation of pentachlorophenol/ creosote contamined soils, Appl. Microbiol. Biotechnol., 40, 926-932

QUILLARDET, P., DE BELLECOMBE, C. et HOFNUNG, M. (1985). The SOS Chromotest, a colorimetric assay for genotoxins: validation study with 83 compounds, Mutation Reseach, 147, 79-95.

RENOUX, A. Y. (1995). Évaluation de bioprocédés d'assainissement en phase solide/liquide par l'utilisation de biotests écotoxicologiques, Institut national de la recherche scientifique (INRS-eau), Sainte-foy, Québec.

SAMSON, R., CSEH, T., HAWARI, J., DEMETER, A., AL-BASHIR, B. et LEDUC, R. (1991). Effect of rédox conditions, soil/contaminant interactons and chemical structure on the biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in flooded soil, Proceeding worl environment conference, Calgary, Alberta, avril, 8-11.

SAMSON, R. et ZALOUM, R.(1989). La détoxification des sols et des sédiments par l'utilisation de méthodes biologiques et non biologiques, dans le 12 ième Symposium sur le traitement des eaux usées et 1er atelier sur l'eau potable, Montréal, 20-21 nov., 409-428.

SAMSON, R. (1994). Biorestauration des sites contaminés: les technologies ex situ, Centre Québécois de Valorisation de la Masse, Montréal, 16 p.

SAUCIER, J.Y. (1988). Les HAP: nouvelles vedettes dans le monde des contaminants, Milieu, 36, 21-23.

SIMS, R. C. et OVERCASH M. R. (1983). Fate of polynuclear aromatic compounds (PNAs) in soil-plant systems, Residue Rev., 88: 1-68.

TCHOBANOGLOUS, G. et SCHROEDER, E. D. (1985). Water quality: characteristics, modeling, modification, Addison-Wesley publishing compagny, Reading, MA.768 p.

US EPA. (1986). Test methods for evaluating solid waste, vol. 1B: Laboratory manual for physical/chemical methods. U.S. Environmental Protection Agency, PB88239223.

U.S FDA. (1987). Environmental assessment technical assistance handbook PB87-175345, U.S Food and Drug Administration, National Technical Information Service, Washington, D.C.

WANG, X., YU, X. et BARTHA, R. (1990). Effect of bioremediation on polycyclic aromatic hydrocarbon residues in soil", Environ.Sci. Technol., 24, 1086-1089.

WEISSENFELS, W. S., BEYER, M. et KLEIN J. (1990). Degradation of phenanthrene, fluorene and fluoranthene by pure bacterial cultures, Appl. Microbiol. Biotechnol., 32, 479-484.

WEISSENFELS, W. D., KLEWER, H-J. et LANGHOFF, J. (1992). Adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by soil particules: influence on biodegradability and biotoxicit, Appl. Microbiol. Biotechnol., 36, 689-696.

WILD, S. R., OBBARD, J. P., MUNN, C. I., BERROW, M. L. et JONES, K. C. (1991). The long-term persistence of polynuclear aromatic hydrocarbons (PAH) in an agricultural soil amended with metal-contaminated sewage sludges, Sci. Total Env., 101, 235-253.

WILD, S. R. et JONES, K. C. (1993). Biological and abiotic losses of polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs) from soils freshly amended with sewage sludge, Environ. Toxicol. Chem., 12, 5-12.

WILSON, S. C. et JONES, K. C. (1993). Bioremediation of sol contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAH): a review, Environnemental Pollution, 81, 229-249

Annexe 1 CERTIFICATS D'ANALYSES DES HAP

Laboratoires
ECO•CNFS Inc.

Certificat d'analyse

CLIENT	École Polytechnique	NO. DE PROJET	505178
RESPONSABLE	Manon Leduc	DATE DE RÉCEPTION	21/06/95
ADRESSE	2900 Édouard Montpetit Montréal, Qc H3C 3A7	DATE DE PRÉLÈVEMENT	20/06/95
		NO. DE COMMANDE	—

REMARQUES

	ÉCHANTILLON(S) DE SOL, (mg/kg, MATIÈRE SÈCHE)
NUMÉRO DE LABORATOIRE	7
IDENTIFICATION	N1
Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques	
Naphtalène	< 10
Acénaphtylène	< 10
Acénaphtène	< 10
Fluorène	< 10
Phénanthrène	1020
Anthracène	2720
Fluoranthène	3850
Pyrène	4440
Diméthyl-7,12 benzo(a)anthracène	< 10
Benzo(ghi)pérylène	40
Benzo(c)phénanthrène	90
Chrysène	1270
Benzo(a)anthracène	1220
Benzo(b + j + k)fluoranthènes	2150
Benzo(a)pyrène	630
Méthyl-3 cholanthrène	< 10
Indéno(1,2,3-cd)pyrène	70
Dibenzo(ah)anthracène	80
Dibenzo(ai)pyrène	< 10
Dibenzo(ai)pyrène	< 10
Dibenzo(ah)pyrène	< 10
Total	17580
CONTRÔLE DE LA QUALITÉ	Récupération
STANDARD DE RÉCUPÉRATION	%
d12-Benzo(K)fluoranthène	N/A

CHIMISTE MARTIN DEA QUÉBEC

Superviseur _____ Chimiste _____

Date 11 juillet 1995

Ce rapport est pour l'usage exclusif du client et ne peut être reproduit sans une permission écrite des Laboratoires Eco•CNFS Inc. Les échantillons mentionnés plus haut seront conservés pendant 30 jours à partir de la date du rapport à moins d'instructions écrites du client.

This report is for the exclusive use of the client and may only be reproduced by written permission from Laboratoires Eco•CNFS Inc., unless otherwise instructed. Any sample pertaining to this report will be kept 30 days after report date.

Laboratoires ECO Laboratories

Certificat d'analyse • Certificate of Analysis

CLIENT	École Polytechnique	NO. DE PROJET	3092
RESPONSABLE	Manon Leduc	DATE DE RÉCEPTION	08/07/96
ADRESSE	C.P. 6079, Succ. Centre-Ville Montréal, Qc. H3C 3A7	DATE DE PRÉLÈVEMENT	—
		NO. DE COMMANDE	P2
REMARQUES	—		

NUMÉRO DE LABORATOIRE	EXTRAIT(S), (µg/L) 14792	14793	14794
IDENTIFICATION	1	2	3
Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques			
Naphtalène	< 50	< 50	< 50
Acénaphtylène	< 50	< 50	< 50
Acénaphtène	< 50	< 50	< 50
Fluorène	< 50	< 50	< 50
Phénanthrène	< 50	< 50	< 50
Anthracène	< 50	< 50	< 50
Fluoranthène	< 50	< 50	< 50
Pyrène	< 50	< 50	< 50
7,12-Diméthylbenzo(a)anthracène	< 50	< 50	< 50
Benzo(ghi)pérylène	< 50	< 50	< 50
Benzo(c)phénanthrène	< 50	< 50	< 50
Chrysène	< 50	< 50	< 50
Benzo(a)anthracène	< 50	< 50	< 50
Benzo(b + j + k)fluoranthènes	< 50	< 50	< 50
Benzo(e)pyrène	< 50	< 50	< 50
3-Méthylcholanthrène	< 50	< 50	< 50
Indéno(1,2,3-cd)pyrène	< 50	< 50	< 50
Dibenzo(ah)anthracène	< 50	< 50	< 50
Dibenzo(al)pyrène	< 50	< 50	< 50
Dibenzo(ai)pyrène	< 50	< 50	< 50
Dibenzo(ah)pyrène	< 50	< 50	< 50
Total	N.D.	N.D.	N.D.
CONTRÔLE DE LA QUALITÉ	Récupération	Récupération	Récupération
STANDARD DE RÉCUPÉRATION	%	%	%
D10-Pyrène	150	140	130

Vérifié

Approuvé

Date 26 juillet 1996

Ce certificat ne doit pas être reproduit, sinon en entier, sans l'autorisation écrite du laboratoire. Les échantillons mentionnés plus haut seront conservés pendant 30 jours à partir de la date du rapport à moins d'entente contraire écrite du client.

This certificate may not be reproduced except in its entirety, without the written approval of the laboratory. Samples pertaining to this report will be kept for 30 days after the date of the report unless otherwise arranged, in writing, by the client.

Laboratoires ECO Laboratories

Certificat d'analyse • Certificate of Analysis

CLIENT	École Polytechnique	NO. DE PROJET	3092
RESPONSABLE	Manon Leduc	DATE DE RÉCEPTION	08/07/96
ADRESSE	C.P. 6079, Succ. Centre-Ville Montréal, Qc. H3C 3A7	DATE DE PRÉLÈVEMENT	---
		NO. DE COMMANDE	P2
REMARQUES	---		

	EXTRAIT(S). (µg/L)		
NUMÉRO DE LABORATOIRE	14795	14796	14797
IDENTIFICATION	4	5	6
Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques			
Naphtalène	< 50	< 50	< 50
Acénaphtylène	180	170	< 50
Acénaphtène	860	880	< 50
Fluorène	340	350	< 50
Phénanthrène	1700	1700	< 50
Anthracène	560	570	< 50
Fluoranthène	770	790	< 50
Pyrène	480	510	< 50
7,12-Diméthylbenzo(a)anthracène	< 50	< 50	< 50
Benzo(ghi)pérylène	< 50	< 50	< 50
Benzo(c)phénanthrène	< 50	< 50	< 50
Chrysène	< 50	< 50	< 50
Benzo(a)anthracène	< 50	< 50	< 50
Benzo(b + j + k)fluoranthènes	< 50	< 50	< 50
Benzo(a)pyrène	< 50	< 50	< 50
3-Méthylcholanthrène	< 50	< 50	< 50
Indéno(1,2,3-cd)pyrène	< 50	< 50	< 50
Dibenzo(ah)anthracène	< 50	< 50	< 50
Dibenzo(ai)pyrène	< 50	< 50	< 50
Dibenzo(ai)pyrène	< 50	< 50	< 50
Dibenzo(ah)pyrène	< 50	< 50	< 50
Total	4870	4970	N.D.
CONTRÔLE DE LA QUALITÉ	Récupération	Récupération	Récupération
STANDARD DE RÉCUPÉRATION	%	%	%
D10-Pyrène	140	140	140

Vérifié Approuvé

Date 25 juillet 1996

CHIMISTE Marc Brunet QUÉBEC

Ce certificat ne doit pas être reproduit, sinon en entier, sans l'autorisation écrite du laboratoire. Les échantillons mentionnés plus haut seront conservés pendant 30 jours à partir de la date du rapport à moins d'indication écrite du client.

This certificate may not be reproduced except in its entirety, without the written approval of the Laboratory. Samples mentioned in this report will be kept for 30 days after the date of the report unless otherwise instructed, in writing, by the client.

Laboratoires ECO Laboratories

Certificat d'analyse • Certificate of Analysis

CLIENT	École Polytechnique	NO. DE PROJET	3092
RESPONSABLE	Manon Laduc	DATE DE RÉCEPTION	08/07/96
ADRESSE	C.P. 6079, Succ. Centre-Ville Montréal, Qc. H3C 3A7	DATE DE PRÉLÉVEMENT	—
		NO. DE COMMANDE	P2
REMARQUES	—		

	EXTRAIT(S), (µg/L)		
NUMÉRO DE LABORATOIRE	14798	14799	14800
IDENTIFICATION	7	8	9
Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques			
Naphtalène	< 50	< 50	< 50
Acénaphtylène	210	110	230
Acénaphtène	970	460	810
Fluorène	380	170	360
Phénanthrène	1600	640	2100
Anthracène	730	240	790
Fluoranthène	890	400	770
Pyrène	600	270	520
7,12-Diméthylbenzo(a)anthracène	< 50	< 50	< 50
Benzo(ghi)pérylène	< 50	< 50	< 50
Benzo(c)phénanthrène	< 50	< 50	< 50
Chrysène	< 50	< 50	< 50
Benzo(a)anthracène	< 50	< 50	< 50
Benzo(b + j + k)fluoranthènes	< 50	< 50	< 50
Benzo(a)pyrène	< 50	< 50	< 50
3-Méthylcholanthrène	< 50	< 50	< 50
Indéno(1,2,3-cd)pyrène	< 50	< 50	< 50
Dibenzo(ah)anthracène	< 50	< 50	< 50
Dibenzo(al)pyrène	< 50	< 50	< 50
Dibenzo(ai)pyrène	< 50	< 50	< 50
Dibenzo(ah)pyrène	< 50	< 50	< 50
Total	5380	2290	5580
CONTRÔLE DE LA QUALITÉ STANDARD DE RÉCUPÉRATION	Récupération %	Récupération %	Récupération %
D10-Pyrène	140	63	140

Vérifié Sylvie Lepente Approuvé Marc Bruneau

Date 26 juillet 1996

CHIMISTE QUÉBEC

Ce rapport ne doit pas être reproduit, sauf en entier, sans l'autorisation écrite du laboratoire. Les échantillons soumis pour analyse seront conservés pendant 30 jours à partir de la date du rapport à moins d'instructions écrites du client.

This certificate may not be reproduced except in its entirety, without the written approval of the laboratory. Samples pertaining to this report will be kept for 30 days after the date of the report unless otherwise instructed, in writing, by the client.

Laboratoires ECO Laboratories

Certificat d'analyse • Certificate of Analysis

CLIENT	École Polytechnique	NO. DE PROJET	3092
RESPONSABLE	Manon Leduc	DATE DE RÉCEPTION	08/07/96
ADRESSE	C.P. 6079, Succ. Centre-Ville Montréal, Qc. H3C 3A7	DATE DE PRÉLÈVEMENT	---
		NO. DE COMMANDE	P2
REMARQUES	---		

	EXTRAITS!, (µg/L)
NUMÉRO DE LABORATOIRE	14801
IDENTIFICATION	10
Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques	
Naphtalène	< 50
Acénaphtylène	220
Acénaphtène	830
Fluorène	350
Phénanthrène	2100
Anthracène	740
Fluoranthène	760
Pyrène	600
7,12-Diméthylbenzo(a)anthracène	< 50
Benzo(ghi)pérylène	< 50
Benzo(c)phénanthrène	< 50
Chrysène	< 50
Benzo(a)anthracène	< 50
Benzo(b+j+k)fluoranthènes	< 50
Benzo(a)pyrène	< 50
3-Méthylcholanthrène	< 50
Indéno(1,2,3-cd)pyrène	< 50
Dibenzo(ah)anthracène	< 50
Dibenzo(al)pyrène	< 50
Dibenzo(ai)pyrène	< 50
Dibenzo(ah)pyrène	< 50
Total	5500
CONTRÔLE DE LA QUALITÉ	Récupération
STANDARD DE RÉCUPÉRATION	%
D10-Pyrène	140

Vérifié Approuvé

Date 26 juillet 1996

Ce certificat ne doit pas être reproduit, sauf en entier, sans l'autorisation écrite du Laboratoire. Les échantillons mentionnés plus haut seront conservés pendant 30 jours à partir de la date du rapport à moins d'indication contraire du client.

This certificate may not be reproduced except in its entirety, without the written approval of the laboratory. Samples pertaining to this report will be kept for 30 days after the date of the report unless otherwise mutually agreed, in writing, by the client.

Laboratoires ECO Laboratories

Certificat d'analyse • Certificate of Analysis

À l'attention de Nathalie Beaudoin

Client École Polytechnique
2900 Édouard Monpetit
Montréal, Qc.
H3C 3A7

No de certificat 6491
Date d'émission 26/09/96

Date de réception 18/09/96
No. de projet P2
Bon de commande —

Paramètre:

Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques	Matrice: Liquide						Méthode: EC-13-311-95	
							No Lot : 15264	
	Blanc	Nb. Lab 37862	Dup.	Etalon 2e source Obtenu	Attendu	Incert.	MR-obtenu	MR-écart
	µg/L	µg/L	µg/L	ng	ng	%	µg/L	µg/L
Naphtalène	< 1	8		960	1000		70	40-84
Acénaphtylène	< 1	18		1000	1000		—	—
Acénaphtène	< 1	120		970	1000		111	92-137
Fluorène	< 1	43		1000	1000		—	—
Phénanthrène	< 1	210		920	1000		91	74-113
Anthracène	< 1	64		1100	1000		92	27-136
Fluoranthène	< 1	64		1000	1000		—	64-88
Pyrène	< 1	53		1000	1000		—	—
7,12-Diméthylbenzo(a)anthracène	< 1	< 0.9		1200	1000		—	—
Benzo(ghi)pérylène	< 1	< 0.9		800	1000		—	—
Benzo(c)phénanthrène	< 1	1		1100	1000		—	—
Chrysène	< 1	0.9		1000	1000		40	0-75
Benzo(a)anthracène	< 1	2.8		1200	1000		—	—
Benzo(b+j+k)fluoranthènes	< 1	4.9		3300	3000		—	—
Benzo(a)pyrène	< 1			950	1000		—	—
3-Méthylcholanthrène	< 1			960	1000		—	—
Indéno(1,2,3-cd)pyrène	< 1			940	1000		—	—
Dibenzo(ah)anthracène	< 1			920	1000		—	—
Dibenzo(al)pyrène	< 1			980	1000		—	—
Dibenzo(al)pyrène	< 1			950	1000		—	—
Dibenzo(ah)pyrène	< 1			950	1000		—	—
Total	ND	599						
% Recupération du Blanc D10-Pyrène	95							
Non-conformité:								
Commentaires:								

CHIMISTE Martin Brunet 94-076 QUÉBEC

Vérifié _____ Sylvain Laporte

Chimiste _____ Martin Brunet

Ce certificat ne doit pas être reproduit, sinon en entier, sans l'autorisation écrite du Laboratoire. Les échantillons mentionnés plus haut seront conservés pendant 10 jours à partir de la date du rapport à moins d'instructions écrites du client

Annexe 2 CERTIFICATS D'ANALYSES ÉCOTOXICOLOGIQUES

Analex Inc.

CERTIFICAT D'ANALYSE EN TOXICOLOGIE
(ÉLONGATION RADICULAIRE AVEC LA LAITUE)

Client: Mme Manon Leduc
ÉCOE POLYTECHNIQUE
2900, Edouard Montpetit
Montréal (Québec)
H3C 3A7

-Certificat:T-E 1029-96 (1 de 2)
-No. dossier:MKT/0535
-Bon de commande:BC007246-GC

-No.laboratoire:	83120.2	-Méth. de prélèv.:	N.D.	-Transporteur:	Polytechnique
-Produit:	Lixiviat	-Endroit de prélèv.:	École polytechnique	-Mode de conservation:	4°C
-Prélevé par:	N.D.	-Date de prélèv.:	30-04-96 (12h00)		

CARACTÉRISTIQUES DE L'ÉCHANTILLON À LA RÉCEPTION	
-Température de l'échantillon (°C):	21
-Apparence de l'échantillon:	Jaunâtre
-Odeur de l'échantillon:	Huile
-Matières solides dans l'échantillon:	N.D.
-Présence d'air entre le couvercle et l'échantillon:	Présence

CARACTÉRISTIQUES DE L'ÉCHANTILLON AVANT L'ESSAI	
-Oxygène dissous (mg/L):	7.8
-Température (°C):	15
-Conductivité (µmhos/cm):	750
-pH:	6.4

CARACTÉRISTIQUES DE L'ÉCHANTILLON APRÈS TRAITEMENT	
-Traitement de l'échantillon:	Aucun
-Oxygène dissous (mg/L):	N.D.
-Température (°C):	N.D.
-Conductivité (µmhos/cm):	N.D.
-pH:	N.D.

RÉSULTATS

No. éch. client	Date réception	Date d'analyse (heure)	Organisme d'essai	CI50-120h (%,v/v)	Unité Toxique ($U.T._{CI50-120h}$)
A1	30-4-96	01/05/96 (12h45)	*Lactuca sativa*	> 100	< 1

-Méthode de calcul: ICp
-Protocole: EPA, 1989. Methods for short term toxicity screening of hazardous waste sites: Lettuce root elongation (*Lactuca sativa*). EPA technical report: EPA/600/3-88/029. pp.90-95.
CI50: Concentration inhibitrice qui réduit la croissance de 50 % .
N.A.: Non applicable
N.D.: Non déterminé
DATE: Le 8 mai 1996

Vérifié par: Lyne Paquette
Lyne Paquette, biol., B.Sc.

Approuvé par: J. Bureau
Jacques Bureau, M.Sc. DEA.

Analex Inc.

CERTIFICAT D'ANALYSE EN TOXICOLOGIE
(ÉLONGATION RADICULAIRE AVEC LA LAITUE)

-Certificat:T-E-1029-96 (2 de 2)

CONDITIONS D'ESSAI	
-Organisme d'essai (variété):	*Lactuca sativa* (laitue frisée grand-rapide)
-Numéro de lot:	LL-50F
-Durée de l'essai:	120 h
-Température (c°):	24 ± 2
-Photopériode (h(lumière/obscurité)):	0/24
-Intensité lumineuse (lux):	0
-Récipient d'essai:	Pétri en verre Pyrex (100 mm x 15 mm)
-Volume de solution d'essai par récipient (ml):	4
-Nombre d'organisme par récipient d'essai:	5
-Nombre de réplicat:	3
-Caractéristiques des organismes:	*Graines non traitées*
-Substrat:	Papier filtre Whatman #3.(9 cm)
-Concentrations utilisées:	1-9-17-31-56-100
Toxique de référence (numéro d'essai et date):	Chlorure de mercure (48483.1 - 11/04/96)
•CI50-120h (g/L (IC 95%)):	0.043 (0.038 - 0.052)
-Germination moyenne dans le récipient témoin (%):	100
-Effet mesuré:	Inhibition de l'élongation des racines.

Méthode de calcul : ICp (Interpolation linéaire estimée)

Protocole: EPA, 1989. Protocols for short term toxicity screening of hazardous waste sites: Lettuce root elongation (*Lactuca sativa*). EPA technical report: EPA/600/3-88/029. pp. 90-95.

CI50: Concentration inhibitrice qui réduit la croissance de 50%
IC95%: Intervalle de confiance à 95%.

Date: Le 8 mai 1996

Vérifié par: Lyne Paquette
Lyne Paquette, biol., B.Sc.

Approuvé par: Bureau
Jacques Bureau, M.Sc. DEA.

Feuille de travail
Test d'élongation radiculaire (*Lactuca sativa*)
(EPA, 1989)

FEUILLE D'ENTRÉE DES DONNÉES

No. labo.:	83120-2	No. projet:	MKT 535
No. échantillon client:	A1		
Traitement:	aucun		
Date de lecture	96/05/06	(jj/mm/aa)	

compléter toutes les cellules ombrées ci-dessous - toutes les autres cellules sont calculées automatiquement

date de début de l'essai	96/05/01	heure	12:45	Nb d.organismes par réplicat	5
date de fin de l'essai	96/05/06	heure	12:45	Nb de réplicat	3
Toxique de référence	48483-1	date de préparation	96/04/11		

Oxygène dissous	N.D. - 7.8	mg/L	alcalinité	110	mg/L
Conductivité	N.D. - 750	µmhos	dureté	100	mg/L
pH	N.D. - 6.4		Température	15	°C
apparence	jaunâtre				

concentrations testées	TM	1	9	17	31	56	100
réplicat 1	56	51	40	61	63	53	42
	42	55	41	50	56	54	40
	46	50	60	50	56	35	43
	18	48	46	47	50	50	48
	41	58	50	57	49	52	43
réplicat 1	52	40	55	66	37	43	53
	49	46	55	44	50	47	55
	46	57	50	42	44	40	50
	52	52	46	59	51	40	44
	40	47	45	44	53	52	46
réplicat 1	37	45	66	48	46	50	43
	49	45	13	52	49	55	47
	52	7	60	53	53	55	48
	45	41	21	47	48	44	51
	51	34	60	0	60	56	21
moyenne	45.1	45.1	47.2	48.0	51.0	48.4	44.9
écart-type	9.2	12.4	14.5	14.9	6.4	6.5	7.9

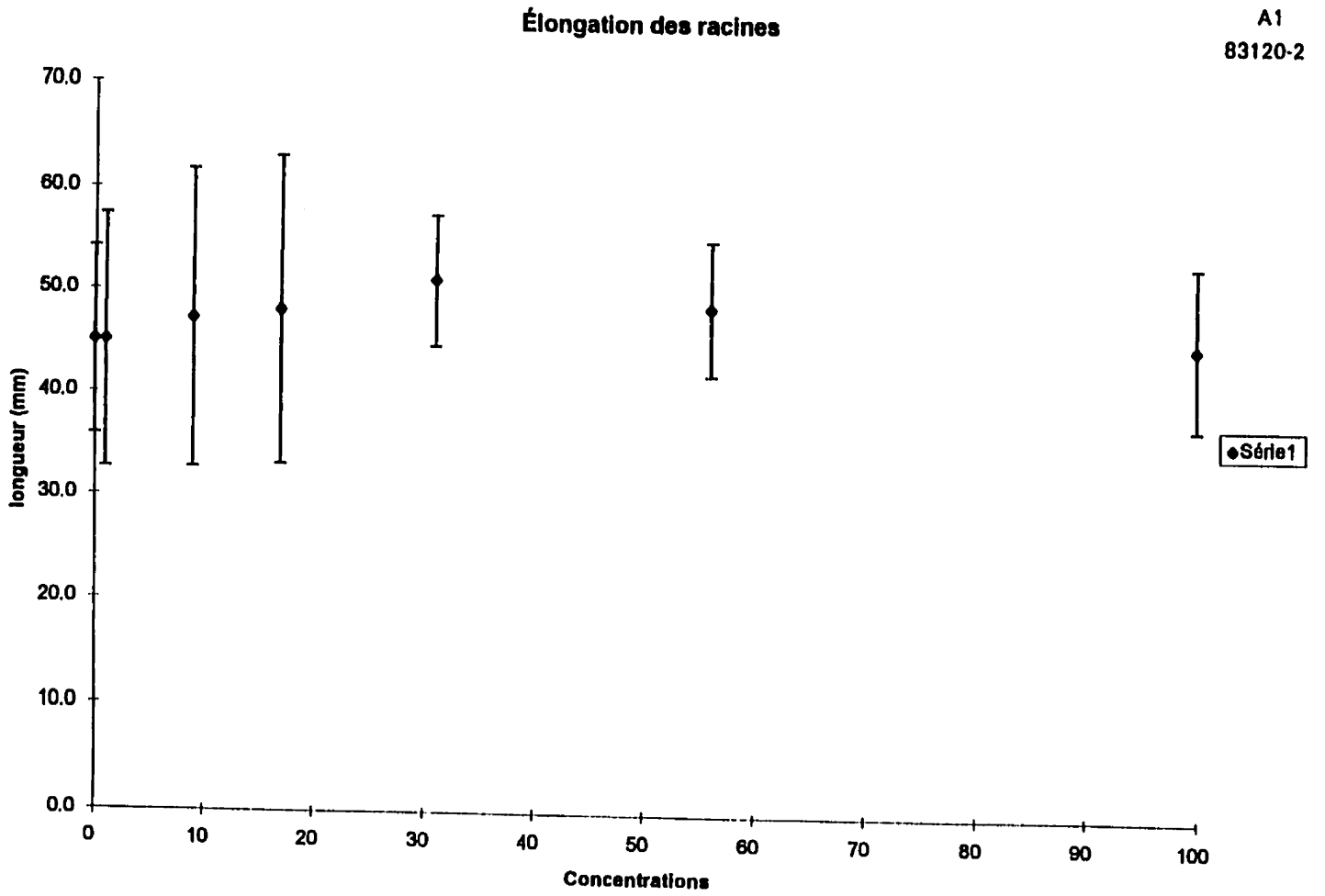
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
température °C	25	25	25	25	26	25

Commentaires:

Analyste: J.F. Brière - M. Asselin

Vérification: L. Paquette

graphique


Élongation des racines
A1
83120-2
70.0
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
longueur (mm)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
Concentrations
Série1

Analex Inc.

CERTIFICAT D'ANALYSE EN TOXICOLOGIE
(S.O.S CHROMOTEST)

Certificat: TE-1074-96 (2 de 2)

CONDITIONS D'ESSAI

Organisme d'essai:	*Escherichia coli* PQ 37
Température (°C):	37 ± 1
Récipient d'essai:	Microplaque Limbro Tintertek 96 puits @ 350 µL/puits.
Volume de solution par récipient d'essai (mL/puits):	200
Provenance des réactifs bactériens (# lot):	EBP inc. Brampton Ontario (950609)
Solution de dilution:	Eau purifiée et ajustée à 2% DSMO (diméthylsulfoxyde)
Substrat (# de lot):	5-Bromo-4 Chloro-β-D-galactoside (x gal) (950620) p-nitrophényle phosphate (PNPP) (951115)
Toxique de référence pour essai sans S9:	P-nitroquinoline oxyde (4NQO)
• No de lot :	9511
• SOSIP:	96.9
Fraction S9:	
•Provenance:	Microbiological associates
• No de lot:	R537
• Température de conservation (°C):	-80
Toxique de référence pour essai avec S9 (0.5%):	2-amino-anthracène (2AA)
•No de lot:	9601
•SOSIP:	0.52
Paramètre mesuré:	Cytotoxicité (phosphatase alcaline à 405 nm) et réparation du matériel génétique (β-galactosidase à 620 nm).
Lecteur de microplaque:	Vmax® de Molecular device

Référence: Environnement Canada, 1993. Test de génotoxicité avec la bactérie Escherichia coli, PQ 37. (S.O.S. Chromotest® Protocole pour échantillons aqueux. Laboratoire Conservation et protection, région du Québec. Centre St-Laurent.

SOSIP: Pente de la courbe dose-réponse pour le toxique de référence.

Vérifié par: S. Picard
Sophie Picard, D.E.C.

Approuvé par: J. Bureau
Jacques Bureau, M.Sc. DEA

Émis le 9 mai 1996 - Duplicata émis le 29 mai 1996

3025, Montée St-Aubin, Laval (Québec) Canada H7L 4E4 Tél.: (514) 682-3240 • Fax: (514) 682-6995

Analex Inc.

CERTIFICAT D'ANALYSE EN TOXICOLOGIE
(S.O.S. CHROMOTEST)

133

Client: Mme Manon Leduc
École Polytechnique
2900 Edouard Montpetit
Montréal, (Québec)

Certificat: TE-1074-96 (1 de 2)
No. dossier: MKT-535
Bon de commande:

No.laboratoire: 83120.1
Produit: lixiviat
Prélevé par: N.D.
Méth. de prélèv.: N.D.
Endroit de prélèv.: École Polytechnique
Date de prélèv.: 30/04/96 (12h00)
Transporteur: École Polytechnique
Mode de conservation: 4°C
Apparence de l'éch.: jaunâtre

CARACTÉRISTIQUES ET DE L'ÉCHANTILLON AVANT TRAITEMENT

Traitement de l'échantillon:	sucre
Température (°C):	21
Conductivité (µmhos/cm) après traitement:	750
pH après traitement:	6.4

TRAITEMENT DE L'ÉCHANTILLON

-Traitement de l'échantillon:	Extraction de 20g de sol humide dans le dichlorométhane puis échange de solvant pour amener le volume de l'extrait à 1mL de dimethylsulfoxide.

RÉSULTATS

No. éch.	Date réception	Date d'analyse	Organisme d'essai		Cytotoxicité				Génotoxicité			
A1	30/04/96 (14H00)	01/05/96 (08H30)	*Escherichia coli. PQ 37*		CMEO		CSEO		CMEO		CSEO	
					-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
				Valeur mesurée (1)	>50	>50	50	50	10	10	2	2
				U.T. (2)	<2	<2	2	2				
				U.G. (3)					10	10	50	50

(1): En pourcentage volume/volume d'échantillon.
(2): Unité cytotoxique.
(3): Unité génotoxique.
Référence: Environnement Canada, 1993. Test de génotoxicité avec la bactérie Escherichia coli, PQ 37.(S.O.S. Chromotest®) - Protocole pour échantillons aqueux. Laboratoire Conservation et protection, région du Québec. Centre St-Laurent.
CMEO: Concentration minimale avec effet observé
CSEO: Concentration sans effet observé
N.D.: Non déterminé
NOTE:

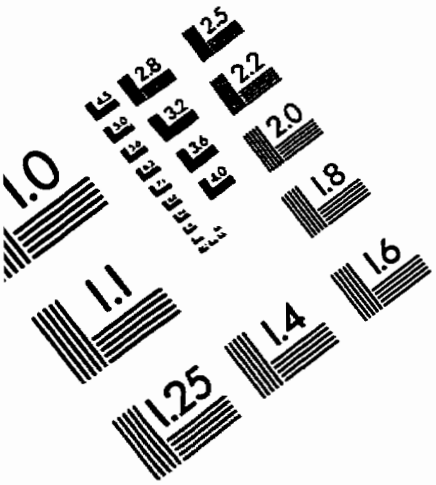
Vérifié par: S. Picard
Sophie Picard, D.E.C.

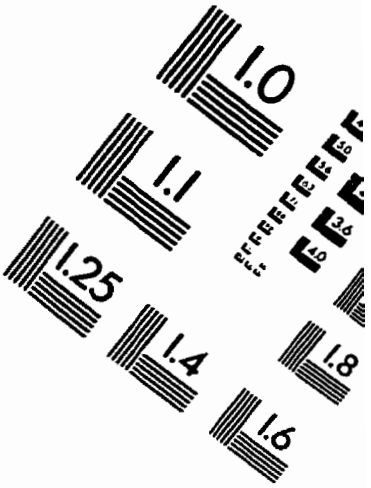
Approuvé par: J. Bureau
Jacques Bureau, M.Sc. DEA.

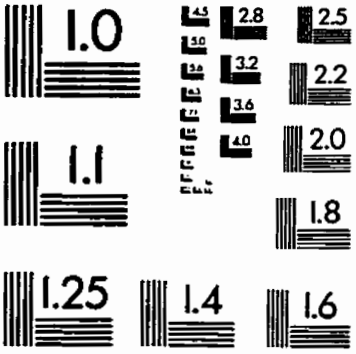
Émis le 9 mai 1996 - Duplicata émis le 29 mai 1996

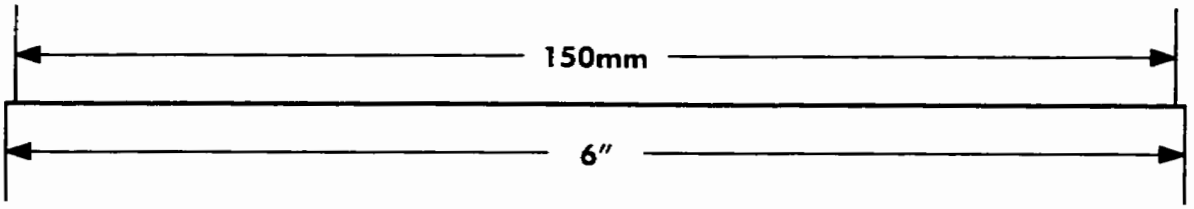
3025, Montée St-Aubin, Laval (Québec) Canada H7L 4E4 Tél.: (514) 682-3240 • Fax: (514) 682-6905

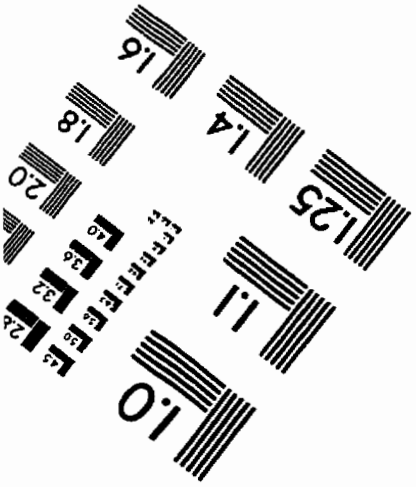
IMAGE EVALUATION TEST TARGET (QA-3)

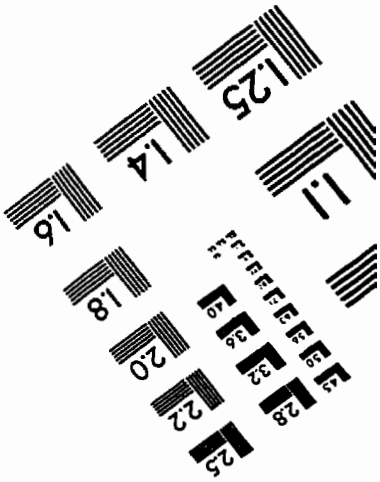










APPLIED IMAGE, Inc
1653 East Main Street
Rochester, NY 14609 USA
Phone: 716/482-0300
Fax: 716/288-5989

© 1993, Applied Image, Inc., All Rights Reserved