Evaluation des Risques Ecotoxicologiques liés à l'épandage de boues de STEP chaulées sur une parcelle agricole

Gilles Donguy¹, Pascale Chenon²

(1) Expert en Evaluation des Risques Ecotoxicologiques ; 3 chemin de la Berthaudière 69150 Décines France (2) VOXGAIA, 7 rue Traversière 68400 Riedisheim France

*Auteur correspondant : gdonguy@laposte.net

RÉSUMÉ

Les boues de stations d'épuration urbaines peuvent être épandues sur sol agricole selon un cadre règlementaire fixé par un décret de 1997, sous la responsabilité du producteur de ces boues considérées comme des déchets. Sous l'impulsion de l'Union des producteurs de chaux, un dossier technique pour la création d'une nouvelle norme, basé sur la réalisation d'une Evaluation des Risques Ecotoxicologiques (ERE) portant sur des boues chaulées, a été transmis à l'ANSES, et a conduit à l'élaboration d'une norme AFNOR (NFU44-003) permettant d'utiliser ces boues en tant gu'amendement. L'ERE, qui comporte classiquement quatre étapes (formulation du problème, caractérisation des expositions, caractérisation des effets, caractérisation des risques) a été mise en place selon l'approche « substances » portant sur l'écosystème terrestre, sur la base d'un scénario type d'épandage de boues chaulées sur un sol agricole. Des analyses physicochimiques ont été réalisées sur ces boues en ce qui concerne les traceurs de risques suivants : 3 HAPs et 9 Eléments Trace Métalliques. Pour chacun de ces traceurs de risque, l'exposition (PEC) a été caractérisée sur la base d'un facteur de dilution de la boue dans le sol agricole, calculé pour la dose D1 dite agricole (0,1 %) et une dose 5 fois plus importante D5 (0,5 %), tandis que des valeurs écotoxicologiques (PNEC) ont été tirées des bases de données internationales. Ainsi, pour chaque substance, et pour les doses d'exposition D1 et D5, le risque a été caractérisé selon la méthode du quotient (PEC/PNEC) du TGD (Technical Guidance Document) de l'ECB (European Chemical Bureau). Les résultats de l'ERE permettent de conclure à l'absence de risque significatif pour l'écosystème terrestre pour les doses d'exposition D1 et D5. Pour conforter ou affiner cette conclusion, la mise en œuvre d'une approche « matrice », plus proche de la réalité du terrain, et portant sur plusieurs boues de STEP, serait souhaitable, non seulement pour l'écosystème terrestre mais aussi pour les cours d'eau avoisinants et la nappe phréatique située à l'aplomb de la surface cultivée.

MOTS-CLÉS: boues de step, chaux, écotoxicité, écosystèmes, évaluation des risques écotoxicologiques

ABSTRACT

Sewage sludge from urban wastewater plants can be applied on agricultural land in accordance to a regulatory framework established by a 1997 decree, under the responsibility of the producer of the sludge considered as waste. Under the impetus of the French Lime Association, a technical dossier for the creation of a new standard, based on the realization of an Ecotoxicological Risk Assessment (ERA) on limed sludge, was transmitted to ANSES, and led to the development of an AFNOR standard (NFU44-003) allowing the use of these sludge as soil improvers. The ERA, which typically involves four steps (problem formulation, characterization of exposure, characterization of effects, risk characterization), has been implemented using the "substances" approach to the terrestrial ecosystem, a typical scenario of spreading sludge on agricultural soil. Physicochemical analyzes were carried out on these sludges with regard to the following hazard tracers: 3 HAPs and 9 Trace Elements Metal. For each of these risk tracers, exposure (PEC) was characterized on the basis of a sludge dilution factor in agricultural soil, calculated for the so-called agricultural D I (0.1 %) and a dose 5 times greater D5 (0.5 %), while ecotoxicological values (PNEC) were derived from international databases. For each substance, and for the exposure doses D1 and D5, the risk was characterized according to the quotient (PEC / PNEC) method of Technical Guidance Document (TGD). The results of the ERA suggest that there is no significant risk to the terrestrial ecosystem for exposure doses D1 and D5. To reinforce or refine this conclusion, the implementation of a "matrix" approach, closer to reality on the ground, and involving several urban sludges, would be desirable, not only for the terrestrial ecosystem but also for the nearby streams and groundwater underneath the cultivated area.

KEYWORDS: urban sludges, lime, ecotoxicity, ecosystem, ecotoxicological risk assessment

Evaluation des Risques Ecotoxicologiques liés à l'épandage de boues de STEP chaulées sur une parcelle agricole

Gilles Donguy, Pascale Chenon

INTRODUCTION

En France, plus de 70 % des boues issues du traitement des

eaux usées sont valorisées en agriculture soit directement, soit après leur compostage. Cependant, elles représentent moins de I % des quantités totales de matières fertilisantes d'origine résiduaire (Mafor) épandues, et leur épandage concerne moins de I % des surfaces recevant des Mafor (Houot et al., 2014).

Les autres types de Mafor sont :

- Les effluents d'élevages : les fumiers sont les Mafor les plus épandues en quantité et en surface (63 % des quantités totales des Mafor épandues en 2011 et 62 % des surfaces recevant des Mafor en 2011).
- Les composts d'origine urbaine.
- Les digestats d'origine urbaine.
- Les boues et effluents industriels.
- Les biochars.
- Les cendres.
- Les sédiments.

Cadre règlementaire

Les boues de station d'épuration peuvent être, sous certaines conditions, épandues sur des terres agricoles.

Le cadre règlementaire que doivent respecter les épandages de ces boues est fixé par le décret n° 97-1133 du 8 décembre 1997 et son arrêté d'application du 8 janvier 1998 (Journal Officiel n°°26 du 31 janvier 1998). La pratique est donc encadrée du point de vue sanitaire et environnemental, pour s'assurer à la fois de l'aptitude des sols à remplir cette fonction de recyclage et également de l'innocuité des épandages vis-àvis des sols, de la chaîne alimentaire et des eaux.

Le producteur de boues est responsable de la filière épandage, de la production de la boue jusqu'à son épandage et à son suivi. Ceci est la principale conséquence du classement des boues en tant que déchet. Ces boues sont valorisées en agriculture pour leur valeur fertilisante. Cependant pour qu'elles sortent

du statut de déchet il faut qu'elles soient conformes à une norme rendue d'application obligatoire ou qu'elles aient obtenues une autorisation de mise sur le marché (AMM) délivrée par l'Agence Nationale de la Sécurité Sanitaire et de l'Environnement (ANSES).

Les boues chaulées, objets de l'étude, ne rentraient pas dans le champ d'une norme rendue d'application obligatoire et n'avaient pas fait l'objet d'une demande d'AMM au moment où la présente étude a été mise en place. Le bureau de normalisation des matières fertilisantes (BNFerti) a donc engagé un long travail de création d'une nouvelle norme. Un dossier démontrant scientifiquement que le produit est efficace et que son innocuité vis-à-vis des utilisateurs et de l'environnement est garantie devait alors être élaboré pour être évalué par le Ministère en charge de l'Agriculture et l'ANSES. Ainsi, au cours de ce travail de normalisation, une évaluation des risques écotoxicologiques a été réalisée. Les produits concernés sont des boues issues du traitement d'eaux urbaines, traitées avec du chlorure ferrique et du lait de chaux et déshydratées par filtre presse. La caractérisation analytique de ces boues et les essais d'efficacité alcalinisante réalisés ont démontré qu'elles étaient conformes aux exigences d'innocuité de l'ANSES pour une demande d'AMM.

Cette publication porte sur une partie de l'évaluation des risques réalisée : l'évaluation des risques pour les écosystèmes terrestres par une approche de type « substances ».

Les résultats de cette évaluation simplifiée des risques écotoxicologiques joints aux autres résultats de caractérisation et d'efficacité ont été soumis à l'ANSES pour avis. La norme NF U44-003 a ainsi été homologuée par l'AFNOR en août 2015 et le Ministère a publié l'arrêté de mise en application obligatoire le 11 décembre 2015.

Evaluation des risques éco-toxicologiques

L'évaluation des risques éco-toxicologiques des boues issues du traitement des eaux usées, et traitées au chlorure ferrique et à la chaux, n'a pas fait l'objet de travaux publiés dans une revue à comité de lecture jusqu'à ce jour en France.

Différents travaux ont cependant été menés pour évaluer les risques environnementaux résultant de l'apport de ce type de fertilisants sur des sols agricoles. Nous pouvons citer les trois

principales études, les deux premières étant des expertises et la dernière reposant sur des essais expérimentaux.

Une étude Norvégienne d'évaluation des risques par une « approche substances » a été publiée en 2009 (Norvegian Scientific Committee for Food Safety, 2009). Les auteurs concluent qu'il n'est pas attendu de risque significatif pour l'environnement aquatique suite aux apports de boues en agriculture. Vis à vis des sols, le risque est considéré comme faible en lien avec la présence de certains contaminants organiques (octylphénols, nonylphenols et LAS) mais dont les concentrations et les effets sont aujourd'hui mal connus.

Une expertise collective a été menée par des organismes de recherche Français sur un panel de matières fertilisantes d'origine résiduaire appliquées à des sols à usage agricole ou forestier (Houot et al., 2014). Les auteurs se sont concentrés sur des données concernant le contexte français. Ils indiquent que les protocoles souvent mis en œuvre ne permettent pas de statuer sur une réelle écotoxicité des Mafor. Beaucoup d'articles comparent les paramètres biologiques mesurés dans des sols témoins, dans des sols recevant une fertilisation minérale et dans des sols recevant des Mafor. En conséquence, des impacts observés sur le vivant ne sont que difficilement reliables à d'éventuels effets écotoxiques dans la mesure où la nature des intrants constitue un facteur confondant. Par exemple, la matière organique des Mafor est très impactante, elle n'est pas présente dans les sols témoins. Les auteurs concluent que des méthodologies d'Evaluation des Risques Ecotoxicologiques (ERE) se sont développées au niveau national et international afin de mieux démontrer l'innocuité de matières fertilisantes, pouvant être des Mafor, lors de leur apport au sol. Ces méthodologies constituent des outils importants d'aide à la décision quant aux conditions d'usage des fertilisants. Toutefois, les études réalisées ne sont malheureusement pas encore valorisées par des articles scientifiques.

Une étude a été menée par l'INERIS et le CNRS en 2014 (CNRS, INERIS, 2014) afin d'identifier les substances émergentes dans des boues de stations d'épuration et d'évaluer les risques sanitaires (EQRS). Cette étude a mis en œuvre des analyses et bio-essais, mais son objectif était de caractériser le risque sanitaire et non le risque environnemental. Elle comporte deux grands volets, la caractérisation chimique et écotoxicologique des boues et composts de boues et l'évaluation des risques sanitaires attribuables à leur épandage. Ainsi des essais d'écotoxicité sur des organismes représentatifs des milieux terrestres (8 essais) et aquatiques (6 essais) ont été réalisés. Les quatorze essais ont été menés à une, cinq et dix fois la dose d'épandage agronomique en mélange avec des sols standardisés. Même si une approche d'évaluation des risques n'a pas été menée, les essais d'écotoxicité ont été réalisés dans des conditions d'exposition proches de l'usage réel des produits. Les résultats n'ont pas révélé d'écotoxicité à la dose d'épandage usuelle (sauf le test de reproduction de Ceriodaphnia dubia pour lequel une relation dose effet n'est

pas mise en évidence). Des effets biologiquement significatifs apparaissent toutefois pour certains tests à 5 fois et 10 fois la dose d'épandage.



Dans ce contexte général, cette publication propose de rendre compte des résultats d'une ERE ayant porté sur l'épandage sur un sol agricole, de boues traitées au chlorure ferrique et à la chaux (désignées par le terme boues chaulées dans la suite de ce document), via une « approche substances » relative à l'écosystème terrestre.

I. Approche méthodologique pour l'évaluation des risques écotoxicologiques

C'est dans les années 1990 que les premières méthodologies d'Evaluation des Risques Ecologiques (ERE) sont apparues, dans un contexte de prise de conscience des risques pour les écosystèmes exposés à des substances d'origine anthropique. En 1992, l'US Environmental Protection Agency (US-EPA) a proposé un cadre méthodologique pour évaluer les risques écologiques des sites industriels contaminés (US-EPA, 1992) (Fig. 1). Ce guide a ensuite évolué pour devenir les « Guidelines for Ecological Risk Assessment » (US EPA, 1998), et s'est imposé comme la référence internationale pour l'ERA (Perrodin et al., 2011). Depuis, ce document a été pris en compte par de nombreux pays et adapté notamment à la gestion des sites pollués (CEAEQ, 1998 ; Environment Agency of United Kingdom, 2003 ; Liliburne et Phillips, 2011).

Par ailleurs, diverses méthodologies ont été développées pour évaluer les risques liés à d'autres sources de contamination. On peut notamment citer ici la méthodologie rédigée par l'Union Européenne pour évaluer les risques relatifs aux substances chimiques mises sur le marché (ECB, 2003 ; Environment Agency of United Kingdom, 2003), ainsi que des études françaises portant sur l'évaluation des risques écotoxicologiques liés au stockage à terre de sédiments de dragage (Perrodin et al., 2006), et sur l'évaluation de l'écocompatibilté de scénario de valorisation de déchets minéraux (Perrodin et al., 2000 ; ADEME, 2002).

La plupart des méthodes ainsi formulées sur le plan international sont mise en œuvre selon les quatre phases successives ci-dessous :

- I. La formulation problème
- 2. La caractérisation des expositions
- 3. La caractérisation des effets
- 4. La caractérisation finale du risque lui-même.

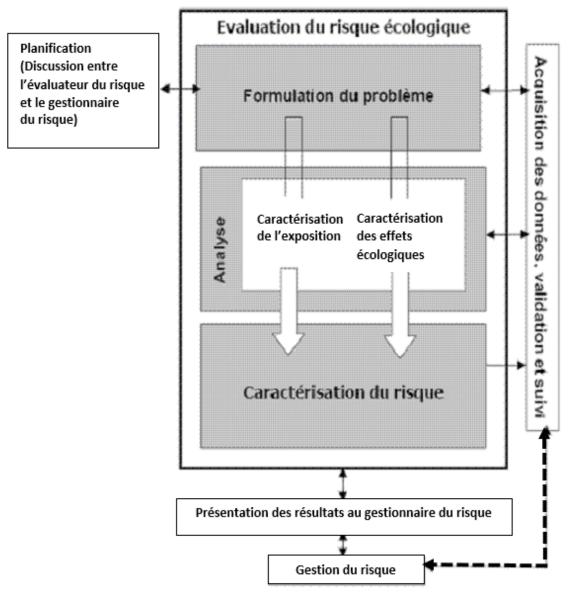


Figure I - Diagramme général de l'évaluation des risques écologiques (US EPA, 1992)

La formulation du problème

C'est la phase initiale, qui permet, après diverses recherches et investigations (données disponibles, données à collecter, choix de traceurs de risques, analyses à réaliser, références pour l'interprétation des résultats...), de fixer une feuille de route des actions à mener pour réaliser les 4 étapes de l'ERE (US EPA, 1998 ; Perrodin et al., 2011).

La caractérisation des expositions

Cette phase a pour but de préciser le mode de contact spatiotemporel entre les polluants (traceurs de risque définis dans la formulation du problème) et les écosystèmes cibles à protéger (US EPA, 1998). Outre la caractérisation des sources de polluants, elle doit établir les modalités de transfert de ces derniers vers les cibles à protéger. Cette analyse peut être réalisée à l'aide de

modèles de transferts théoriques plus ou moins complexes, et/ou sur la base de résultats expérimentaux (Perrodin et al., 2011). Dans le cas de l'approche « substances » mise en œuvre ici, elle aboutit pour chaque substance, à l'établissement de la Predicted Environmental Concentration (PEC).

La caractérisation des effets

Cette phase a pour but de déterminer dans quelle mesure les organismes de l'écosystème cible peuvent être impactés par les polluants auxquels ils seront exposés (Perrodin et al., 2011). Elle est principalement basée sur des approches biologiques, avec notamment la mise en œuvre de batteries de bioessais, au sujet duquel il existe une abondante littérature. Dans le contexte de cette ERE, elle concerne en particulier les déchets (Clément et al., 1996; Rojícková-Padrtová et al., 1998; Isidori et al., 2003; Pandard et al., 2006) et les sols, boues et composts (Juvonen

et al., 2000; Schaefer, 2004), mais aussi plus globalement les principes de choix d'une batterie de bioessais (ADEME, 2005).

Les bioessais se concrétisent par l'obtention de valeurs d'effets écotoxicologiques : NOEC, CE20, CE50... Sur la base de ces valeurs d'effet, et concernant l'approche « substances » selon les règles du TGD (ECB, 2003), un facteur de sécurité (ou facteur d'extrapolation) est appliqué pour définir la concentration en-dessous de laquelle il n'y a pas d'effet significatif attendu sur l'écosystème cible : la Predicted No Effect Concentration (PNEC).

La caractérisation du risque lui-même

Elle consiste à mettre en perspective l'exposition des organismes aux polluants et les effets potentiels induits par ces polluants sur ces mêmes organismes, afin de définir s'il y a risque ou non pour l'écosystème cible. Plusieurs approches plus ou moins complexes sont possibles pour ce faire (Babut et al., 2002). La méthode dite « du quotient » est la plus répandue sur le plan international. Cette méthode consiste à calculer le ratio PEC/PNEC. Quand ce quotient "Q" est supérieur à I, le risque est considéré comme significatif, et ceci d'autant plus que cette valeur est grande. A l'inverse, plus la valeur de « Q » est inférieure à I, et plus le risque est faible. Cette méthode est très commode pour une approche règlementaire et opérationnelle, bien que relativement simpliste. C'est pourquoi d'autres approches, plus complexes, sont parfois proposées.

2. Elaboration de la méthodologie d'évaluation des risques éco-toxicologiques

2.1. Formulation du problème

2.1.1. Description du scénario

Cette description a pour but, dans un premier temps :

- I. De présenter de façon synthétique les différents écosystèmes cibles susceptibles d'être affectés par l'épandage de boues chaulées sur un terrain agricole.
- 2. De préciser les différentes voies d'exposition concernées (Fig. 2).

Dans le cadre de cet article, seuls les risques pour la cible CI (culture céréalière mise en œuvre sur le mélange sol agricole plus boue chaulée) sont traités. Concernant la source SI, nous disposons de boues chaulées hygiénisées (boues de STEP traitées au chlorure ferrique et au lait de chaux puis déshydratées sur filtre-presse). Ces boues ont fait l'objet d'analyses physico-chimiques (Laboratoire LDAR) ciblées sur des substances retenues comme traceurs de risques (métaux et HAPs). Ce choix ne doit cependant pas occulter le fait que d'autres polluants sont présents dans les boues : pesticides, médicaments, etc.

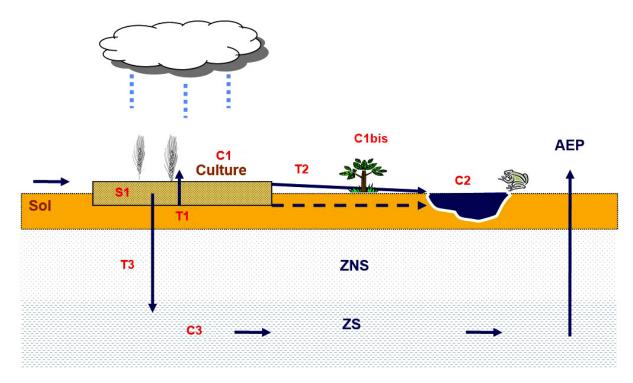


Figure 2 - Présentation du scénario étudié.

ZNS : zone non saturée ; ZS : zone saturée ; S1 : mélange sol agricole et boue chaulée ; T1 : transfert vers la culture ; T2 : transfert vers l'écosystème terrestre et le cours d'eau alentour ; T3 : transfert vers la nappe ; C1 : culture céréalière ; C1 bis : écosystème terrestre ; C2 : cours d'eau ; C3 : nappe ; AEP : Alimentation en Eau Potable.

Tableau I - Résultats d'analyse physicochimiques des boues chaulées

Eléments traces métalliques	Concentrations en mg/kg de MS
As	4,63
Cd	1,74
Cr	21,9
Cu	433
Hg	0,46
Ni	17,80
Pb	39,30
Se	1,95
Zn	458,00
HAPs	
Benzo(a)pyrène	0,06
Benzo(b)fluoranthène	0,10
Fluoranthène	0,11

Tableau 2 - Données spatiales et numériques du scénario étudié

Dimension de la culture amendée :				
	10 ha			
Apport de boues chaulées :				
	15 tonnes de MB/ha			
	Soit 3 tonnes de MS/ha (pour une teneur en eau de 80 %)			

MB: Matières Brutes. MS: Matières Sèches

Concernant l'écosystème cible retenu (la culture céréalière sur le sol amendé), la voie de transfert T1 rend compte de la possible absorption des substances par le système racinaire des céréales, mais aussi de leur absorption par la faune terrestre et les autres composantes de la flore du sol.

En résumé, les trois éléments essentiels du scénario sont la source « SI » (boue chaulée), le transfert « TI » et la cible « CI » (faune et flore du sol, dont la culture céréalière).

Le dimensionnetment du scénario a été établi sur la base d'une culture type de céréale avec épandage de boues chaulée, sur une surface de 10 ha. La dose d'usage d'épandage est de 15 tonnes de matières brutes/ha, il s'agit d'usage courant.

Les données spatiales et numériques retenues pour ce scénario sont résumées dans le tableau 2 ci-dessus :

2.1.2. Options retenues pour la réalisation de l'ère

Cette ERE est basée sur l'approche « substances », dans la mesure où nous disposons des données nécessaires à cette étude (analyses physicochimiques, valeurs écotoxicologiques des bases de données internationales) pour les traceurs de risque sélectionnés.

2.2. Matériels et méthodes

2.2.1. Caractérisation des expositions

Définition des ratios caractéristiques de l'exposition

Le calcul de l'exposition est basé sur l'apport à dose D1 de la boue chaulée, dite « dose agricole » d'une part, et sur une estimation du tonnage de terre dans laquelle la boue est diluée. L'apport standard, comme vu dans la formulation du problème, est de 15 tonnes de boue humide/ha, soit pour une teneur en eau de 80 %, un apport de 3 tonnes de matière sèche/ha, référencé QB.

Pour estimer le tonnage de terre recevant les boues d'épandage, on considère une épaisseur de 20 cm de sol d'une part, et une densité du sol arrondie à « 1,5 » d'autre part. Un ha de terrain correspond donc à 10 000 × 0,2 × 1,5 = 3 000 m³ de sol agricole, soit 3 000 tonnes de sol agricole référencé QS. Le Facteur de dilution de la boue chaulée dans le sol sera donc $\mathbf{Fd} = \mathbf{Q_R}/\mathbf{Q_s}$

Prise en compte des modalités d'épandage

Il est admis que la dose D5 (soit un apport à dose 5 fois plus élevée que la dose normale D1) correspond à la quantité maximum que le sol peut contenir en boue chaulée, en considérant les apports successifs annuels.

Ce choix d'étudier 5 fois la dose usuelle d'apport, n'est pas lié à la quantité maximale que le sol pourrait recevoir. Légalement, l'apport maximal est de 3 kg de MS/m² sur 10 ans (soit 30 tonnes de MS sur 10 ans/ha), si on respecte les flux en ETM (Eléments Traces Métalliques) et CTO (Composés Traces Organiques) par ailleurs, donc en moyenne 3 t de MS/ha/an. Ce choix est lié au fait que la réponse à la dose usuelle d'apport ne suffit pas, car il y a forcément des superpositions d'apport sur le terrain (les outils pour épandre ne sont pas toujours assez précis, les apports se font par passage d'un tracteur donc les superpositions de produits sont inévitables mais on ne peut pas savoir combien de couches de produit sont superposées). Donc finalement avec une dose supérieure à la dose d'usage, on cherche à couvrir une certaine incertitude sur l'exposition.

L'exposition se concrétise par le calcul de la PEC (Predicted Environmental Concentration) telle que définie par le TGD (Technical Guidance Document) pour l'approche « substances » (ECB, 2003). Elle est calculée à partir du facteur de dilution **Fd** défini plus haut pour chaque dose d'intérêt, en l'occurrence ici les doses D1 et D5.

Analyses chimiques des boues

Les analyses chimiques des boues chaulées ont été réalisées suivant les protocoles suivants :

Pour les métaux : Norme NF EN 13346

Pour les HAPs : Norme X 33-012

2.2.2. Caractérisation des effets

La caractérisation des effets est réalisée selon l'approche « substances ». Dans cette approche, les valeurs de concentrations sans effet pour les écosystèmes (PNEC) des substances « traceurs de risques » sont recherchées dans les bases de données nationales ou internationales.

2.2.3. Caractérisation des risques

Dans le cadre de l'approche « substances » appliquée ici, c'est la méthode du quotient, évoquée au chapitre 2 qui est retenue. Les PEC et les PNEC une fois déterminées, pour chaque substance le quotient Q = PEC/PNEC est ainsi calculé. Au final, c'est le quotient le plus défavorable qui est pris en compte pour évaluer s'il y a risque ou non pour l'écosystème cible.

3. Résultats

La méthodologie décrite ci-dessus a été mise en œuvre pour le scénario décrit précédemment dans la figure 2.

3.1. Caractérisation des expositions

Nous produisons donc ici les résultats basés sur les données numériques du scénario, permettant dans un premier temps le calcul des facteurs de dilution respectifs de la boue aux doses D1 et D5 (Fd) dans le sol agricole :

- Fd dose D1 = QB/Q $_{\rm s}$ = 3 / 3 000 = 1/1 000, soit 0,1 %.
- Fd dose D5 = Fd dose D1/5 = (1/1 000)/5 = 1/200, soit 0,5 %.

Les PEC ont été calculées pour les doses D1 et D5 en appliquant les facteurs de dilutions correspondant calculés cidessus. Les résultats sont consignés dans le tableau 4.

3.2. Caractérisation des effets et des risques

3.2.1. Caractérisation des effets

Dans le cas de notre étude, les valeurs de PNEC (Tableau 4) ont été recueillies dans les fiches de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques de l'INERIS, en ce qui concerne les métaux et le benzo(a)pyrène (INERIS, 2006). Pour le benzo(b)fluoranthène et le fluoranthène, leur PNEC a été recueillie dans le guide issu du programme ANR SEDIGEST (Perrodin et al., 2007)

3.2.2. Caractérisation des risques

Les quotients de risque ou Indices de Risques (IR), calculés pour les doses D1 et D5 figurent dans le tableau 3.

Pour l'ensemble des substances sélectionnées, les indices de risques sont nettement inférieurs à 1, y compris à 5 fois la dose d'apport usuelle (D5), ce qui permet de conclure à des risques non significatifs des traceurs de risque étudiés selon l'approche « substances » pour l'écosystème cible terrestre.

4. Discussion

4.1. Analyse critique des résultats

Analyses chimiques des boues

Les analyses chimiques ont été réalisées par un seul laboratoire (LDAR). On peut imaginer qu'il aurait été plus pertinent de confier l'analyse à au moins deux laboratoires, pour s'assurer de la reproductibilité des résultats (analyses inter laboratoires).

Tableau 3 -. Indices de Risques terrestres en approche « substances » pour les doses DI et D5

Eléments traces métalliques	PEC DI mg/kg de MS	PEC D5 mg/kg de MS	PNEC mg/kg de MS	IR DI	IR D5
As	0,005	0,025	1,80	0,00	0,01
Cd	0,002	0,010	1,20	0,00	0,01
Cr	0,022	0,110	3,20	0,01	0,03
Cu	0,433	2,165	2,70	0,16	0,80
Hg	0,000	0,002	0,04	0,00	0,05
Ni	0,018	0,090	1,30	0,01	0,07
Pb	0,039	0,195	12,00	0,01	0,01
Se	0,002	0,010	0,02	0,11	0,50
Zn	0,458	2,290	26	0,02	0,09
HAPs					
Benzo(a)pyrène	0,000	0,001	0,32	0,00	0,00
Benzo(b)fluoranthène	0,000	0,001	2,5	0,00	0,00
Fluoranthène	0,000	0,001	5	0,00	0,00

Tableau 4. Comparaison des valeurs de concentration de la boue de STEP chaulée étudiée avec les valeurs moyennes fournies par le SYPREA

Eléments traces métalliques	Concentrations dans la boue étudiée en mg/kg de MS	Valeurs SYPREA en mg/kg de MS
As	4,63	n,m
Cd	1,74	1,1
Cr	21,9	47,5
Cu	433	237,5
Hg	0,46	0,6
Ni	17,80	21,9
Pb	39,30	48,2
Se	1,95	n.m
Zn	458,00	3 000
HAPs		
Benzo(a)pyrène	0,06	0,2
Benzo(b)fluoranthène	0,10	0,3
Fluoranthène	0,	0,5

Cela étant, ces analyses sont basées sur des protocoles normalisés, par un laboratoire accrédité COFRAC et peuvent donc être considérés comme relativement fiables, aux facteurs d'incertitude près.

Par contre, le fait de ne disposer que d'une boue est plus problématique : il semble en effet plus pertinent de disposer de 2 ou 3 boues chaulées, issues de STEP urbaines différentes. Les variations potentielles de concentrations entre les diverses boues sont en effet a priori plus certaines que celles possibles entre deux laboratoires d'analyse. Une thèse (Jardé, 2005) portant sur la composition organique de boues de STEP de Lorraine, conclu à des teneurs spécifiques en certains

composés organiques selon la nature des effluents traités (domestiques, papèteries et agroalimentaires), mais aussi, par ailleurs, à une composition moyenne des boues domestiques, liés à un fond géochimique organique. Il est aussi constaté une certaine variabilité de ce fond géochimique, indépendante de l'environnement industriel et de la taille de l'agglomération, traduisant de possibles pollutions ponctuelles ou accidentelles.

Nous pouvons cependant mettre les résultats en perspective par rapport aux valeurs moyennes de composition des boues de STEP proposées par le Syndicat des Professionnels du Recyclage en Agriculture (SYPREA: http://syprea.org/article/composition-boues.html): les teneurs

en CTM (Composés Trace Métalliques) des boues chaulées étudiées ici sont en-dessous de la moyenne des boues de STEP pour le chrome, le mercure, le plomb, et le zinc, et au-dessus de la moyenne pour le cuivre et le cadmium, comme l'illustre le tableau 4.

Concernant les CTO (Composés Trace Organiques) étudiés, le tableau 4 montre qu'ils sont nettement en-deçà des moyennes. Les boues de STEP contiennent néanmoins potentiellement des PCB, des pesticides, des résidus de médicaments et autres substances dites « émergentes » (CNRS, INERIS, 2014), qui n'ont pas été pris en compte dans le cadre de cette étude.

Concentration d'exposition des organismes terrestres

La détermination des PEC est basée sur un facteur de dilution de la boue dans le sol agricole. Bien que relativement simpliste, il est à noter que la voie de transfert est réduite ici à sa plus simple expression, puisque la boue est directement apportée au sol. Il est par contre difficile d'évaluer à court ou moyen terme, les modulations potentielles de ces valeurs de PEC inhérentes aux phénomènes de biodégradation, de lessivage et/ou de percolation par les eaux de pluies.

Cependant, un rapport sur l'impact à long terme de l'épandage de déchets (dont des boues urbaines) en agrosystème, (ENSAIA-INRA, 2004) montre que les polluants organiques apportés par les déchets sont peu transférés du sol vers les organes consommés des plantes, en raison de leur faible biodisponibilité. En effet, un document de synthèse (Periquet et al., 2001) précise que les principaux CTO (HAP, PCB) sont hydrophobes (et fixés sur la matière organique des boues), ce qui diminue leur biodisponibilité pour les plantes et pour les organismes du sol. Une thèse portant sur la valorisation des boues de STEP (Amir, 2005) confirme ce fait par référence à plusieurs études montrant que la biodisponibilité des HAPs est diminuée notamment par des phénomènes d'adsorption par les matières organiques ou les argiles (ces dernières peuvent « oligomériser » les HAPs).

Le rapport cité plus haut (ENSAIA-INRA, 2004) souligne d'autre part que les très faibles concentrations détectées dans les végétaux poussant sur un sol amendé en boues peuvent aussi être dues à des dépôts atmosphériques.

Caractérisation des effets

Pour l'évaluation des effets, l'approche « substances » s'appuie notamment sur la consultation des bases de données internationales, qui fournissent soit directement des PNEC, soit des valeurs écotoxicologiques (CE20, CE50, NOEC...) à partir desquelles les PNEC sont calculées selon les règles du TGD. Dans le cadre de cette ERE,

quasiment toutes les valeurs de PNEC sont issues de la base de données de l'INERIS : elles sont a priori plus fiables que des PNEC calculées à partir de diverses sources de données écotoxicologiques, car issue d'un comité d'expert, et donc à privilégier en première intention.

Dans le cadre d'une optique « substances », il existe par ailleurs une approche plus poussée que les tests écotoxicologiques classiques pour apprécier les effets des polluants sur les organismes exposés : les tests en microcosme. Une thèse portant sur des essais en microcosme aquatique lentique (Clément, 2006) précise que l'extrapolation de résultats de test écotoxicologiques à la réponse des écosystèmes n'est pas prédictible, en raison par exemple de dynamismes des populations, des phénomènes de bioamplification, non pris en compte dans des bioessais monospécifiques classiques. De plus, selon l'auteur, les facteurs de sécurité appliqués aux résultats des tests écotoxicologiques (selon les règles du TGD) peuvent conduire à une sous-estimation ou une surestimation des effets. Dans un ouvrage consacré à la bioaccumulation des polluants dans la faune terrestre (Vaufleury et al., 2013), l'auteure précise que si les METs (Modèles d'Ecosystèmes Terrestres) présentent l'avantage de se rapprocher de la complexité des écosystèmes, la calibration inter laboratoires de certains paramètres (la masse de vers de terre utilisée par exemple) doit être améliorée et harmonisée dans l'optique d'une standardisation permettant une comparaison valable des résultats.

Au final la mise en œuvre de tels essais (microcosmes aquatiques ou terrestres) s'avère donc plus proche de la réalité du terrain, mais aussi plus complexe et plus onéreuse que les tests écotoxicologiques classiques, et laissent donc une certaine légitimité à ces derniers.

Risques écologiques

D'autres méthodes de caractérisation des risques sont utilisables dans certains contextes (US EPA, 1998 ; Babut et Perrodin, 2001) :

- Les méthodes qualitatives qui caractérisent le risque en deux ou trois catégories, par exemple fort/faible/moyen, le plus souvent sur la base d'un jugement d'expert (Rivière, 1998). Elles sont utilisables pour des démarches comparatives (deux types de contamination, par exemple)
- Les méthodes intégrant l'ensemble de la relation polluant/réponse permettent d'estimer le niveau de risque associé à un niveau d'exposition donné. Ces méthodes sont particulièrement utiles pour tester plusieurs possibilités de réduction des risques, ou lorsqu'il y a différentes concentrations d'exposition (en fonction du temps ou de la zone géographie) et/ ou d'effet (chronique/aigu) (Klaine et al., 1996; Solomon et al., 1996).

Par ailleurs, la méthode du quotient pose le problème de la pertinence de la valeur pivot, fixée à 1 dans le TGD, notamment lorsque la valeur de ce quotient en est proche. Dans un certain nombre de guides récents (Donguy et al., 2010), il est fait référence à une valeur pivot double : pas de risque si le quotient est inférieur à 0,5, risque avéré s'il est supérieur à 2, et nécessité de conduire des études plus poussées si l'Indice de risques est compris entre ces deux valeurs.

Mais en l'occurrence, les Indices de risques sont nettement inférieurs à 0,5 à dose I (au maximum 0,16 pour le cuivre) et toujours inférieurs à I pour la dose 5.

4.2. Discussion méthodologique

La pertinence de la méthodologie (approche « substances ») dépend bien entendu de la fiabilité des données à chacune des 3 premières étapes.

En premier lieu le choix des traceurs de risques est certes limité (métaux lourds, 3 HAPs), mais il concerne des substances avérées dangereuses, dont certaines sont sur la liste des substances prioritaires de la Directive cadre sur l'eau (Journal officiel de l'Union européenne, 2013).

Pour l'évaluation de l'exposition, les données du scénario (dimensionnement et dose d'apport notamment) doivent être le plus réaliste possible. En l'occurrence, elles sont basées sur l'usage habituel en la matière. Nous sommes cependant dans le cadre d'une ERE prospective telle que définie dans un article sur l'évaluation des risques écologiques (Perrodin, 2012).

Pour l'évaluation des effets, l'approche « substances » reste la plus simple, en terme de calcul et de la communication du résultat de l'ERE. Mais dans ce contexte, l'approche « matrice », bien que plus lourde à mettre en œuvre, serait a priori plus robuste : en effet elle intègre les interactions possibles (antagonisme, synergie, additivité) d'effets sur les organismes cibles (Perrodin, 2012) d'une part, et prend en compte les résultats de tests écotoxicologiques réalisés directement sur la matrice considérée (mélange boue/sol agricole ou sol standard).

Pour l'évaluation des effets, l'approche « substances » reste la plus simple, en terme de calcul et de la communication du résultat de l'ERE. Mais dans ce contexte, l'approche « matrice », bien que plus lourde à mettre en œuvre, serait a priori plus robuste : en effet elle intègre les interactions possibles (antagonisme, synergie, additivité) d'effets sur les organismes cibles (Altenburger et al., 2000, Hermens et al., 1982, Calamari et al., 1980, Warne, 2003, Perrodin, 2012) d'une part, et prend en compte les résultats de tests écotoxicologiques réalisés directement sur la matrice considérée (mélange boue/sol agricole ou sol standard) d'autre part. Cette approche pourrait être mise en œuvre dans le cadre d'un projet de recherche sur plusieurs boues

de STEP urbaines de différentes agglomérations, hygiénisées selon le même protocole, avec des analyses physicochimiques réalisées par un ou deux laboratoires selon des protocoles standards et des tests écotoxicologiques normalisés établis par deux laboratoires différents.

CONCLUSION

Au-delà du contexte règlementaire qui fixe des valeurs limites quant aux teneurs en substances potentiellement dangereuses des boues de STEP urbaines (boues hygiénisées par chaulage en l'occurence), cette étude a permis d'évaluer de façon plus concrète le risque dû à leur valorisation en agriculture, dans le cadre d'une véritable Evaluation des Risques Ecotoxicologiques (ERE). Via les analyses physicochimiques standardisées, les données écotoxicologiques des bases de données internationales (INERIS notamment) d'une part, et la méthodologie approche « substances » d'autre part, nous pouvons conclure à l'absence de risque significatif de l'épandage de boues chaulées sur sol agricole, aux doses habituellement pratiquées (Dose I), mais aussi à des doses 5 fois plus élevées.

Cependant, même si les traceurs de risques retenus sont ciblés sur des substances classiquement présentes dans les boues et par ailleurs choisies parmi les plus dangereuses et pour lesquelles des seuils règlementaires existent, il est à rappeler que de nombreuses autres substances sont potentiellement présentes dans les boues de STEP urbaines, comme des résidus de substances pharmaceutiques, des phénols (CNRS, INERIS, 2014) et autres substances dites « émergentes », et ne sont donc pas prises en compte dans le cadre de cette étude.

Au final, nous pouvons donc conclure à l'absence d'un risque démontré pour l'écosystème terrestre, lié à l'épandage de boues de STEP chaulées sur sol agricole, selon une ERE axée sur l'approche « substances ». Pour conforter et/ou affiner cette conclusion, d'une part, la mise en œuvre d'une approche « matrice » concomitante peut être envisagée.

D'autre part, ce même processus pourrait être envisagé pour évaluer les éventuels risques pour les cours d'eau situés à proximité de l'épandage, ainsi que pour qualité de la nappe phréatique située à l'aplomb de la surface cultivée.

Les auteurs souhaitent remercier les adhérents de l'Union des Producteurs de Chaux (Up Chaux) pour la fourniture des boues et le financement de ces travaux. Nous remercions également Yves Perrodin, du laboratoire LEHNA de l'ENTPE, pour ses conseils pertinents, et pour la fourniture de documents utiles à ce travail.

Références bibliographiques

ADEME, 2002. Évaluation de l'écocompatibilité des scénarios de stockage et de valorisation des déchets. Agence De l'Environnement et de la Maîtrise de l'Énergie, Angers, 12 p.

ADEME, 2005. Développement d'une méthode de sélection des tests biologiques de toxicité et de génotoxicité adaptée à différents scénarii. In : Programme de recherche de l'Agence De l'Environnement et de la Maîtrise de l'énergie. 262 p.

Altenburger, R., Backhaus, T., Boedeker, W., Faust, M., Scholze M., Grimme Lh., 2000. Predictability of the toxicity of multiple chemical mixtures to *Vibrio fischeri*: mixtures composed of similarly acting chemicals. *Environ Toxicol Chem* 2000; Vol 19; pp: 2341-2347. DOI: https://doi.org/10.1002/etc.5620190926

Amir, S., 2005. Contribution à la valorisation de boues de stations d'épuration par compostage : devenir des micropolluants métalliques et organiques et bilan humique du compost. Thèse. 341 p. Disponible en ligne au 23/08/2017 : http://oatao.univ-toulouse.fr/7376/

Babut, M., Perrodin, Y., 2001. Évaluation écotoxicologique de matériaux de dragage - (1) présentation et justification de la démarche. Cemagref, ENTPE, VNF, Centre d'Etudes Techniques Maritimes et Fluviales ; 47 p. Disponible en ligne au 23/08/2017 : http://www.eau-mer-fleuves.cerema.fr/IMG/pdf/NR_18_pt1_cle0152de.pdf

Babut, M., Perrodin, Y., Bray, M., Clément, B., Delolme, C., Devaux, A., Durrieu, C., Garric, J., Vollat, B., Becart, D., Charrier, C., 2002. Évaluation des risques écologiques causés par des matériaux de dragage: proposition d'une approche adaptée aux dépôts en gravière en eau. *Revue des Sciences de l'Eau* 2002, 15; pp:615-639. DOI: https://doi.org/10.7202/705472ar

Calamari, D., Alabaster, JS., 1980. An approach to theoretical models in evaluating the effects of mixtures of toxicants in the aquatic environment. *Chemosphere* 1980; 9; pp: 533-538. DOI: https://doi.org/10.1016/0045-6535(80)90069-7

CEAEQ, 1998. Procédure d'évaluation des risques écotoxicologiques pour la réhabilitation des terrains contaminés. Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec, Québec, 139 p. Disponible en ligne au 23/08/2017 : http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/ecotoxicologie/pere/index.htm

Clément, B., 2006. Apports des essais en microcosmes aquatiques lentiques de laboratoire à l'évaluation écotoxicologique des polluants. 290 p. Disponible en ligne au 23/08/2017 : https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00142639

Clément, B., Persoone, G., Colin, J., Du-delepierre, A., 1996. Estimation of the hazard of landfills through toxicity testing of leachates. I. Determination of leachate toxicity with a battery of acute tests. *Chemosphere* 33, pp: 2303-2320. DOI: https://doi.org/10.1016/0045-6535(96)00322-0

CNRS, INERIS, 2014. Substances « émergentes » dans les boues et composts de boues de stations d'épurations d'eaux usées collectives – Caractérisation et évaluation des risques sanitaires - novembre 2014 - Convention n° 1006C0122 entre l'ADEME, le SYPREA, LA FP2E, LE SIAAP, L'INERIS et le CNRS 2

INERIS-DRC-14-115758-08437A. 294 p. Disponible en ligne au 23/08/2017 : http://www.ineris.fr/propos-de-lineris/qui-sommes-nous/actualit%C3%A9s/une-%C3%A9tude-sur-les-substances-%C3%A9mergentes-dans-les-boues-

Donguy, G., Perrodin, Y., Chouteau, C., Esnault, P., 2010. Eléments d'évaluation des risques écotoxicologiques des infrastructures routières. SETRA, 60 p.

ECB, 2003. Technical Guidance Document (TGD) in support of: Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) N° 1488/94 on Risk Assessment for existing substances, Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. European Chemical Bureau, Ispra (Italy), 1044 p. Disponibles en ligne au 23/08/2017: http://enfo.agt.bme.hu/drupal/en/etanfolyam/11423

ENSAIA-INRA, 2004. Impact à long terme de l'épandage de déchets en agrosystème. Rapport final, 99 p. Disponible en ligne le 23/08/2017 : http://prod-gessol.integra.fr/sites/default/files/rapport%20final%20SCHWARTZ.pdf

Environment Agency of United Kingdoms, 2003. Ecological Risk Assessment, A public consultation on a frame work and methods for assessing harm to ecosystems from contaminants soil. Environment Agency of United Kingdoms, Bristol (UK), 104 p.

Hermens, Jlm., Leeuwangh P., 1982. Joint toxicity of chemicals to Guppy (Poecilia reticulata). *Ecotoxicology and Environmental Safety*; Vol 6, issue 3, June 1982; pp:302-310. DOI: https://doi.org/10.1016/0147-6513(82)90020-3

Houot, S., Pons, Ml., Pradel, M., 2014. Expertise scientifique collective INRA-CNRS-Irstea. Valorisation des matières fertilisantes d'origine résiduaire sur les sols à usage agricole ou forestier, impacts agronomiques, environnementaux, socio-économiques. Rapport final de l'ESCo «Matières fertilisantes d'origine résiduaire», octobre 2014. 930 p. Disponible en ligne au 23/08/2017 : http://institut.inra.fr/Missions/Eclairer-les-decisions/Expertises/Toutes-les-actualites/Expertise-Mafor-effluents-boues-et-dechets-organiques

INERIS, 2006. Benzo(a)pyrène. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. 2006. 44 p. Disponible en ligne au 23/08/2017: http://www.ineris.fir/substances/fir/page/21

Isidori, M., Lavorgna, M., Nardelli, A., Parrella, A., 2003. Toxicity identification evaluation of leachates from municipal solid waste landfills : A multispecies approach. Chemosphere 52 ; pp : 85-94. DOI : https://doi.org/10.1016/s0045-6535(03)00298-4

Jardé, E., 2005. Composition organique de boues résiduaires de stations d'épuration lorraines : caractérisation moléculaire et effets de la biodégradation. 287 p. Disponible en ligne au 23/08/2017 : https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00007882

Journal Officiel n°°26 du 31 janvier 1998. Arrêté du 08/01/98 fixant les prescriptionstechniques applicables aux épandages de boues sur les sols agricoles pris en application du décret n° 97-1133 du 08/12/97 relatif à l'épandage des boues issues du traitement des eaux usées. Disponible en ligne au 30/08/2017 : https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=|ORFTEXT000000570287

Journal Officiel de l'Union Européenne, 2013. Directive 2013/39/UE du parlement européen et du conseil du 12 août 2013 modifiant les directives 2000/60/CE et 2008/105/CE en ce qui concerne les substances prioritaires pour la politique dans le domaine de l'eau. Disponible en ligne au 23/08/2017 : http://data.europa.eu/eli/dir/2013/39/oj

Juvonen, R, Martikainen, E., Schultz, E., Joutti, A., Ahtiainen J., Lehtokari, M., 2000. A battery of toxicity tests as indicators of decontamination in composting oily waste. *Ecotoxicol Environ Saf*; 47; pp: 156-166. DOI: https://doi.org/10.1006/eesa.2000.1943

Klaine, Sj., Cobb, Gp., Dickerson, Rl., Dixon, r., Kendall, Rj., Smith, Ee., et al., 1996. An ecological risk assessment for the use of the biocide, dibromonitrilopropionamide (DBNPA), in industrial cooling systems. *Environ Toxicol Chem*; 15; pp:21-30. DOI: https://doi.org/10.1002/etc.5620150104

Liliburne, L., Phillips, C., 2011. Risk Assessment for Contaminated Sites in New Zealand. Disponible en ligne au 23/08/2017 : http://contamsites.landcareresearch.co.nz

Norwegian Scientific Committee for Food Safety (VKM), 2009. Risk assessment of contaminants in sewage sludge applied on Norwegian soils, – Opinion from the Panel on Contaminants in the Norwegian Scientific Committee for Food Safety. Disponible en ligne au 23/08/2017: www.vkm.no/dav/2ae7f1b4e3.pdf - Errata: http://www.vkm.no/dav/eb02d59356.pdf

Pandard, P., Devillers, J., Charissou, A.-M., Poulsen, V., Jourdain, M.-J., Ferard, J.-F., Grand, C., Bispo, A., 2006. Selecting a battery of bioassays for ecotoxicological characterization of wastes. *Sci. Total Environ.* 363; pp:114-125. DOI: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.12.016

Periquet, A., Boisset, M., Catteau, M., Lecerf, J.-M., Leguille, C., Verger, P., 2001. Les boues d'épuration. Document de synthèse. Comité sécurité alimentaire d'Aprifel. 43 p. Disponible en ligne au 29/08/2017 : http://www.aprifel.com/userfiles/file/boues_epuration.pdf

Perrodin, Y., 2012. Évaluation des risques écologiques : développements prioritaires et recherches concomitantes », VertigO - la revue électronique en sciences de l'environnement. Vol. 12, n° I. DOI : https://doi.org/10.4000/vertigo.12097

Perrodin, Y., Babut, M., Bedell, J-P., Bray, M., Clement, A., Delolme, C., Devaux, A., Durrieu, C., Garric, J., Montuelle, B., 2006. Assessment of ecotoxicological risks related to depositing dredged materials from canals in northern France on soil. *Environment International* 32; pp:804-814. DOI:https://doi.org/10.1016/j.envint.2006.05.003

Perrodin, Y., Boillot, C., Angerville, R., Donguy, G., Evens, E., 2011. Ecological risk assessment of urban and industrial systems : A review. *Science of the Total Environment* 409 ; pp : 5162-5176. DOI: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.08.053

Perrodin, Y., Donguy, G., Pandard, P., Andres, S., 2007. ANR Sedigest. Guide méthodologique pour l'évaluation des risques écologiques liés à la restauration de carrières de la zone littorale à l'aide de sédiments de dragage portuaires prétraités. Tome 1, présentation de la méthodologie. Disponible en ligne au 29/08/2017 :

https://www.researchgate.net/publication/232756126_Guide_d'evaluation_des_risques_ecologiques_lies_au_remblaiement_de_carrieres_de_la_zone_littorale_avec_des_sediments_de_dragage_portuaires_pre-traites

Perrodin, Y., Grelier-Volatier, L., Barna, R., Gobbey, A., 2000. Assessment of the ecocompatibility of waste disposal or waste use scenarios: towards the elaboration and implementation of a comprehensive methodology. *Waste Management Series* 1; pp: 504-512. DOI: https://doi.org/10.1016/s0713-2743(00)80061-6

Rojícková-Padrtová, R., Marisalek, B., Holoubek, I., 1998. Evaluation of alternative and standard toxicity assays for screening of environmental samples: Selection of an optimal test battery. *Chemosphere* 37; pp: 495-507. DOI: https://doi.org/10.1016/s0045-6535(98)00065-4

Schaefer, M., 2004. Assessing 2,4,6-trinitrotoluene (TNT)-contaminated soil using three different earthworm test methods. *Ecotox. Environ. Safe.* 57; pp: 74-80. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2003.08.005

Solomon, K. R., Baker, D. B., Richards, R. P., Dixon, K. R., Klaine, S. J., La Point, T.W., Kendall, R. J., Weisskopf, C. P., Giddings, J. M., Giesy, J. P., Hall, L. W. and Williams, W. M. (1996), Ecological risk assessment of atrazine in North American surface waters. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15; pp: 31–76. DOI: https://doi.org/10.1002/etc.5620150105

US-EPA, 1992. Framework for ecological risk assessment. Washington, DC: Risk Assessment Forum, U.S. Environmental Agency. EPA/630/R-92/001; 161 p. Disponible en ligne au 29/08/2017: https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPURL.cgi?Dockey=30004UK].txt

US EPA, 1998. Guidelines for Ecological Risk Assessment. United States Environmental Protection Agency, Washington, EPA/630/R-95/002F p. 188. Disponible en ligne au 29/08/2017 : https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPURL.cgi?Dockey=30004XFR.txt

Vaufleury, A., Gimber, F, Gomot, L., 2013. Bioaccumulation, bioamplification des polluants dans la faune terrestre. Un outil pour la biosurveillance des écosystèmes. 682 p.

Warne, Msj., 2003. A review of the ecotoxicity of mixtures, approaches to, and recommendation for, their management. In: Langley A, Gilbey M, Kennedy B, editors. Fifth national workshop on the assessment of site contamination. Adelaide: EPHC - NEPC - en Health; pp: 253–76. Disponible en ligne au 29/08/2017: http://www.nepc.gov.au/resource/ephc-archive-site-contamination