

94/0293

64/00

615

Cemagref  
14 avenue de Saint-Mandé  
75012 PARIS

**Contrat Ministère de l'Environnement / Cemagref**

**DRAEI 93196**

**IMPACT ET DEVENIR DES REJETS DES STATIONS D'EPURATION  
DANS LES EAUX DOUCES SUPERFICIELLES**

**Rapport final d'exécution de la recherche**

Décembre 1994

# SOMMAIRE

Résumé .....	I
Présentation .....	II

## Micropolluants ..... 1

**Eau épurée des rejets de stations d'épuration urbaines.  
Toxicité intrinsèque, approche d'effets dans le cours d'eau récepteur.**

1. Critères de choix des sites .....	2
1.1. Contraintes sur les stations d'épuration .....	2
1.2. Contraintes sur le milieu naturel .....	2
1.3. Stations d'épuration retenues .....	2
1.3.1. Les stations et leur environnement .....	2
1.3.2. Description des stations .....	3
2. Matériels et méthodes .....	5
2.1. Prélèvement in situ .....	5
2.2. Prélèvement et conditionnement des effluents pour les bioessais au laboratoire .....	5
2.2.1. Prélèvement et conditionnement .....	5
2.1.3. Protocole de décongélation .....	6
2.1.4. Réalisation des essais .....	6
2.3. Méthodes d'analyses biologiques et traitement des données .....	6
2.3.1. Analyses biologiques .....	6
2.3.2. Traitement des données .....	8
3. Analyses biologiques des eaux épurées constitutives des rejets de la station d'épuration de Saint-Fons .....	8
3.1. Prélèvements .....	8
3.2. Résultats des analyses chimiques .....	8
3.3. Résultats des essais biologiques .....	9
3.3.1. Bioessais de toxicité aiguë .....	9
3.3.2. Bioessais de toxicité chronique .....	10
3.3.3. Activités enzymatiques EROD et AChE .....	12
4. Analyses des eaux épurées constitutives des rejets de la station d'épuration de Bourg-en-Bresse .....	13
4.1. Prélèvements .....	13
4.2. Résultats des analyses chimiques .....	14
4.3. Résultats des essais biologiques .....	14
4.3.1. Bioessais de toxicité aiguë .....	14
4.3.2. Bioessais de toxicité chronique .....	14
4.3.3. Mesure des activités enzymatiques EROD .....	17
5. Mesures in situ sur la Reyssouze .....	17

6. Discussion sur les résultats de toxicité mesurés sur deux rejets de stations d'épuration .....	18
7. Test de nutrition sur <i>Daphnia magna</i> .....	21
7.1. Protocole opératoire .....	21
7.2. Effluent de Saint-Fons .....	22
7.3. Effluent de Bourg-en-Bresse .....	23
7.4. Conclusions .....	23
8. Etude de la faisabilité d'un essai de toxicité chronique sur fraction organique d'effluent : application à l'effluent de Saint-Fons .....	23
8.1. Evaluation de la toxicité de trois solvants .....	24
8.2. Essais de toxicité sur extraits organiques .....	25
8.2.1. Protocole .....	25
8.2.2. Résultats .....	26
9. Conclusions .....	26

Bibliographie .....	28
---------------------	----

Annexe .....	30
--------------	----

#### Protocole de l'essai sur *Cériodaphnia dubia*

1. Principe de l'essai .....	31
2. Organismes d'essai et conditions d'élevage .....	31
2.1. Organismes d'essai .....	31
2.2. Conditions d'élevage .....	31
2.3. Nourriture apportée .....	31
3. Plan expérimental .....	32
3.1. Recommandations .....	32
3.2. Déroulement de l'essai .....	32
3.3. Récipients .....	33
3.4. Conditions physico-chimiques de l'essai .....	34
3.5. Mesures biologiques effectuées .....	34
4. Conditions de validité de l'essai .....	34

#### Protocole de l'essai embryo-larvaire sur poisson zèbre

1. Principe de l'essai .....	35
2. Organismes d'essai et conditions d'élevage .....	35
2.1. Organismes utilisés pour l'essai .....	35
2.2. Conditions d'élevage .....	35
2.3. Récolte des oeufs .....	35
2.4. Nourriture apportée .....	35
3. Plan expérimental .....	36
3.1. Recommandations .....	36
3.2. Déroulement de l'essai .....	36
3.3. Récipients .....	36
3.4. Conditions physico-chimiques de l'essai .....	36
3.5. Mesures effectuées .....	37
4. Conditions de validité de l'essai .....	37

#### Protocole de l'essai d'induction d'enzyme de détoxification sur truite

1. Principe de l'essai .....	37
2. Organismes d'essai et conditions d'élevage .....	38

2.1. Espèce utilisée pour l'essai .....	38
2.2. Conditions de maintenance des poissons .....	38
2.3. Nourriture apportée .....	38
3. Essai avec contamination par contact .....	38
3.1. Principe .....	38
3.2. Déroulement de l'essai .....	39
3.3. Préparation des solutions injectées .....	39
3.4. Conditions physico-chimiques de l'essai .....	39
3.5. Mesures effectuées .....	40
3.6. Condition de validité .....	40

## **Matière organique .....** 41

### **Caractérisation de la matière organique des effluents urbains et des milieux aquatiques : mise au point de méthodes biochimiques opérationnelles.**

1. Nature et méthodes de caractérisation de la matière organique MO .....	42
1.1. Glucides .....	43
1.2. Protéines .....	44
1.3. Azote aminé .....	44
1.4. Lipides .....	45
1.5. Substances humiques .....	46
2. Résultats et Discussion .....	47
2.1. Critères de validation des méthodes .....	47
2.2. Glucides .....	48
2.2.1. Evaluation des méthodes .....	48
2.2.2. Protocole d'hydrolyse .....	49
2.2.3. Glucides particuliers .....	49
2.3. Protéines .....	50
2.3.1. Evaluation des méthodes .....	50
2.3.2. Recherche des interférences .....	51
2.3.3. Précipitation des protéines .....	51
2.4. Azote aminé .....	53
2.4.1. Evaluation des méthodes .....	53
2.4.2. Hydrolyse des protéines .....	53
2.5. Lipides .....	54
2.5.1. Choix de l'étalon .....	54
2.5.2. Pouvoir d'extraction du CCl <sub>4</sub> .....	55
2.5.3. Comparaison des méthodes "indice CH <sub>2</sub> " et gravimétrique .....	56
2.5.4. Evaluation de la méthode "indice CH <sub>2</sub> " .....	57
2.6. Substances humiques .....	57
2.6.1. Evaluation de la méthode .....	57
2.6.2. Caractère réfractaire des substances humiques .....	57
3. Conclusions .....	58
<b>Bibliographie .....</b>	<b>59</b>
<b>Annexe .....</b>	<b>63</b>

**Etude en réacteurs des apports d'effluents épurés sur les sédiments.  
Effets physicochimiques et biologiques. Activités exoenzymatiques.**

1. Avant propos.....	68
2. Utilisation d'un microcosme à six réacteurs pour simuler un rejet de station d'épuration dans un écosystème d'eau douce.....	69
2.1. Introduction.....	69
2.2. Matériels et Méthodes.....	72
2.3. Résultats.....	75
2.4. Discussion.....	78
3. Influence de l'oxygène, de la température et de la matière organique sur les activités exoenzymatiques de sédiments d'eau douce.....	78
3.1. Introduction.....	79
3.2. Matériels et méthodes.....	81
3.3. Résultats.....	82
3.4. Discussion.....	87
Bibliographie.....	91
Produits de la recherche.....	91

**Microorganismes..... 92**

**Dénombrements cellulaires et biovolumes en microscopie à épifluorescence couplée à un système d'analyse d'image.**

1. Démarche.....	93
2. Résultats.....	93

**Peuplements bactériens des eaux de rejet de stations d'épuration et des eaux de cours d'eau : méthode de lecture automatique des spectres électrophorétiques des protéines des souches bactériennes.**

1. Travail préliminaire : Profils de peuplement des boues activées.....	101
2. Electrophorèse des protéines bactériennes.....	102
2.1. Méthodes électrophorétiques.....	102
2.1.1. Principe.....	103
2.1.2. Concentration en acrylamide.....	103
2.1.3. Coloration.....	103
2.1.4. Conservation des gels.....	104
2.1.5. "Normalisation" des profils.....	104
2.2. Caractérisation des souches de rejet de pilote de station par électrophorèse.....	104
2.2.1. Observations et résultats préliminaires.....	105
2.2.2. Validité de la méthode.....	105
2.2.2.1. Profils protéiques et phases de croissance.....	106
2.2.2.2. Profils protéiques et milieux de croissance.....	106
2.3. Caractérisation des souches bactériennes par l'analyse d'image.....	107
2.3.1. Détection des pics.....	107

2.3.2.	Mode de comparaison des profils .....	107
2.3.3.	Calibration des gels .....	109
2.3.4.	Comparaison des courbes de calibration .....	112
2.3.5.	Validation des courbes prédictives - Comparaison avec des marqueurs supplémentaires.....	114
2.3.6.	Application à un cas concret. Comparaison de 16 souches de collection .....	116
2.4.	Caractérisation des souches majeures des rejets d'Achères .....	118

**Aptitude des bactéries des rejets à dégrader la matière organique : première approche.**

1.	Matériel utilisé .....	119
2.	Techniques utilisées.....	119
3.	Résultats .....	120
4.	Conclusion .....	121
	<b>Bibliographie .....</b>	<b>122</b>
	<b>Produits de la recherche .....</b>	<b>124</b>

**Rejets épisodiques .....** 126

1.	Préambule.....	126
2.	modélisation de l'effet léthal d'une hypoxie en présence d'ammoniaque sur des truitelles arc-en-ciel.....	126
	<b>Produits de la recherche .....</b>	<b>128</b>

*Pour obtenir copie du document complet,  
adressez votre demande à :*

**CEMAGREF - DICOVA**

B.P. 22

92162 ANTONY Cedex

[Sylviane-chevrot@cemagref.fr](mailto:Sylviane-chevrot@cemagref.fr)