



# Partie 4 - Combinaisons innovantes d'outils chimiques et biologiques pour caractériser l'efficacité des traitements complémentaires

Projet ECHIBIOTEB (ANR ECOTECH 2010)



université  
BORDEAUX





# ECHIBIOTEB (ANR ECOTECH 2010)



## Etat des connaissances pour les eaux après analyses chimiques ciblées et analyses biologiques *in vitro*

Cécile Miège

**Irstea:** C. Miège, M.J. Capdeville, F. Serveto, P. Bados, A. Roussel Galle, L. Dherret, JM. Choubert, M. Coquery

**Suez Environnement :** A. Bruchet, N. Noyon , S. Besnault

**Université Bordeaux :** H. Budzinski, J. Cachot, K. Le Menach, C. Clerandeu

**INERIS :** S. Ait-Aissa, N. Creusot

**Université Paris-Sud :** Y. Levi, L. Oziol





# Un consortium aux compétences variées

---



☛ **Iristea**, unité de recherche Milieux Aquatiques, Ecologie et Pollutions (MAEP, Lyon)

☛ **CIRSEE, Suez Environnement**



☛ **Université Bordeaux**, EPOC (Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux), UMR 5805 CNRS, LPTC (Laboratoire de Physico- et Toxicochimie de l'environnement)



☛ **Université Paris Sud 11**, Groupe Santé Publique – Environnement, UMR8079

Comprendre le monde,  
construire l'avenir®

☛ **INERIS**, Unités Ecotoxicologie in vitro et in vivo (ECOT) et Expertise et Essais en Ecotoxicologie (EXES)



☛ **ENVOLURE**



➔ Chimie analytique et environnementale, écotoxicologie, biologie, microbiologie, génie des procédés, épuration des eaux

Début/fin du projet : mars 2011 à décembre 2014



# Objectif général d'ECHIBIOTEB

- ➔ **développer et mettre en œuvre des combinaisons innovantes d'échantillonnage et de mesures chimiques et biologiques pour le suivi de l'efficacité des traitements complémentaires des eaux usées urbaines et des boues**

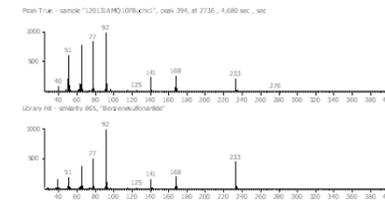
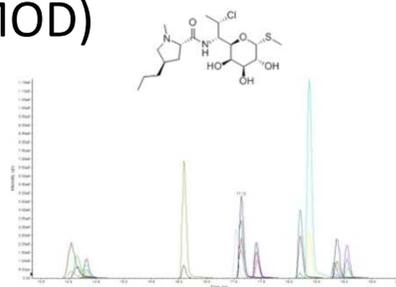
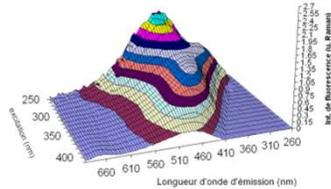


# Les outils étudiés dans ECHIBIOTEB

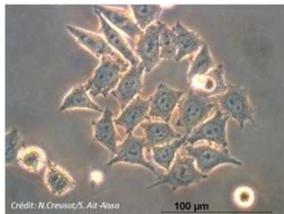
 chantillonnage intégratif   Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS) et Semi-Permeable Membrane Device (SPMD)



Analyses Chimiques   substances ciblées, screening et matière organique dissoute (MOD)



Analyses Biologiques   bioessais *in vitro* et *in vivo* (*in situ* et labo.)



Effect Directed Analysis (EDA)

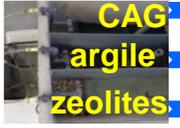
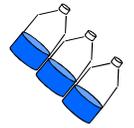


# Les traitements complémentaires communs entre ARMISTIQ et ECHIBIOTEB

ECHIBIOTEB -> 15 campagnes sur 6 stations couvrant différents procédés de traitement (oxydation, adsorption, lagunage)

-> des procédés optimisés

En commun avec ARMISTIQ :

Station	Traitement secondaire	Procédés complémentaires étudiés			
STEU Aw	Boue activée + filtre à sable				
STEU Aw	Boue activée + filtre à sable				
STEU Bw	Bioréacteur à membrane				
STEU Dw	Boue activée				

POA : procédés d'oxydation avancée, CAG : charbon actif en grain, O<sub>3</sub> : ozonation

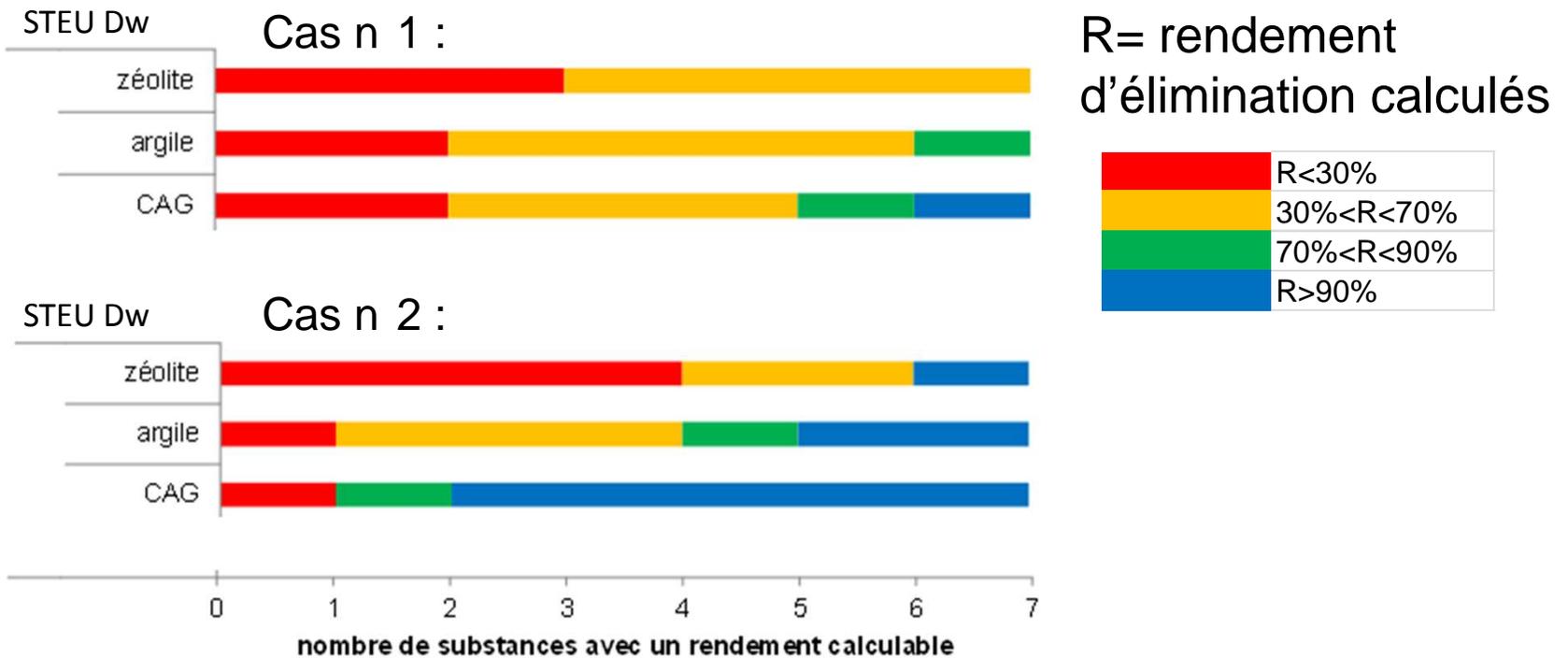


# Les analyses chimiques ciblées

- ➔ Si on étudie **un plus grand nombre de substances** que dans ARMISTIQ, arrive-t-on au même diagnostic d'efficacité des traitements étudiés ?



# La liste des substances pour évaluer l'efficacité des traitements : un enjeu



Si on choisit « au hasard » 7 substances : 1 HAP, 2 pharmaceutiques, 2 métaux, 1 pesticide, 1 AKP



On peut aboutir à un diagnostic différent



# Critères de choix des substances à suivre

A sélectionner : il faut des représentants

- Par type de procédé (ou processus de dégradation)
- Pour les substances **bien éliminées**
- Pour les substances **moyennement éliminées**
- Pour les substances **mal éliminées**

A ne pas sélectionner :

- Les substances jamais quantifiées, ni en entrée, ni en sortie
- Les substances dont le calcul de rendement d'élimination n'est pas fiable (ou pas calculable)



# Les substances étudiées

	ARMISTIQ (66 substances)	ECHIBIOTEB (156 substances)
<b>Métaux</b>	As, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Li, Mo, Ni, Pb, Sn, Ti, U, V, Zn	Idem
<b>Pharmaceutiques</b>	4 $\beta$ -Bloquants, 2 antidépresseurs, 3 anti-inflammatoires, 10 antibiotiques	+ 6 $\beta$ -bloquants, 7 antidépresseurs, 3 anti-inflammatoires, 3 bronchodilatateurs, 2 hypolipémiants, 2 stimulants, 41 antibiotiques, 10 anticancéreux, 9 antiviraux, 1 PDE5 inhibiteur
<b>Hormones estrogéniques</b>	/	+ estrone, 17 $\alpha$ -estradiol, 17 $\beta$ -estradiol, estriol, 17 $\beta$ -éthynylestradiol
<b>Alkylphénols et phénols</b>	4-NP, 4-NP1EO, 4-NP2EO, 4-NPEC, 4-t-OP, 4-t-butylphenol	+ bisphenol A
<b>Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)</b>	Naphtalene, acenaphthylene, <i>acenaphtene</i> , fluorene, phenanthrene, anthracene, pyrene, fluoranthene, benzo(a)anthracene, chrysene + triphenylene, benzo(b+j+k)fluoranthene, indeno(c-d)pyrene, benzo(ghi)perylene, dibenzo(a,h+a,c)anthracene, benzo(a)pyrene, benzo(e)pyrène, dibenzothiophène, 2,1 benzo-naphtothiophène, pérylène,	Idem
<b>Pesticides</b>	Atrazine, simazine, diuron, isoproturon, glyphosate, AMPA	Idem



# Les substances à ne pas sélectionner

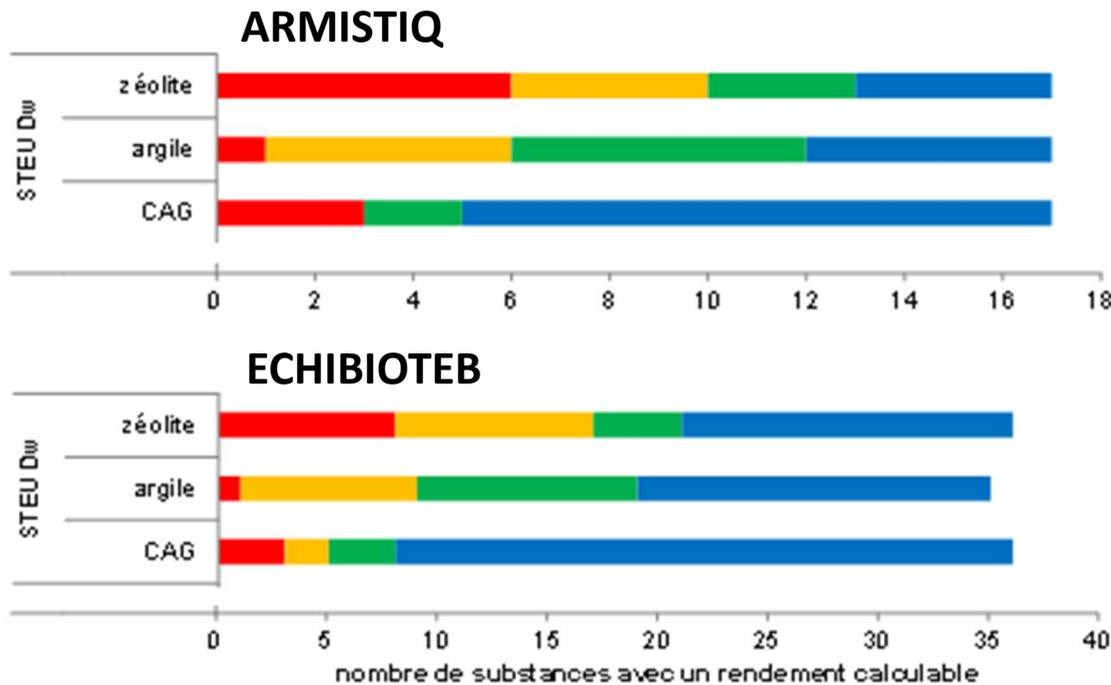
Liste initiale ECHIBIOTEB (156 substances)	Non quantifiées (49 substances)	R non calculable plus de 3 fois (54 substances)	Liste effective ECHIBIOTEB (53 substances)
16 métaux	/	3	13 métaux
103 pharmaceutiques	1 $\beta$ -bloquant, 24 antibiotiques, 8 anticancéreux, 6 antiviraux	3 $\beta$ -bloquants, 16 antibiotiques, 1 anticancéreux, 2 antiviraux, 6 antidépresseurs, 3 anti-inflammatoires, 2 bronchodilatateurs, 1 hypolipémiant, 1 PDE5 inhibiteur	29 pharmaceutiques
5 hormones estrogéniques	2	3	0 hormones estrogéniques
7 alkylphénols et phénols	1 phénol	3	3 alkylphénols et phénols
19 hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)	5	7	7 hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)
6 pesticides	/	3	3 pesticides



# Comparaison des procédés d'adsorption ARMISTIQ vs ECHIBIOTEB

R= rendement  
d'élimination calculés

	R<30%
	30%<R<70%
	70%<R<90%
	R>90%

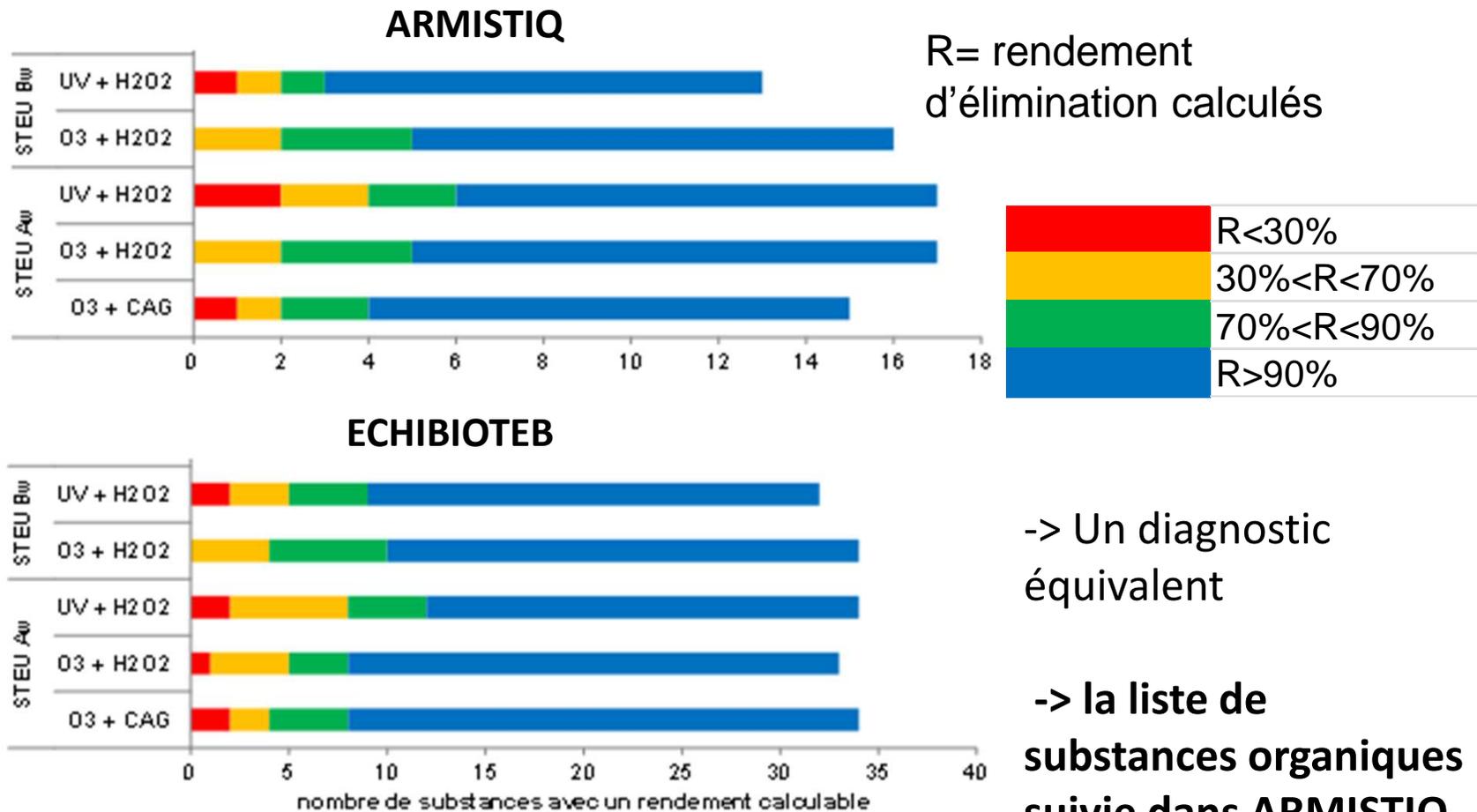


-> Un diagnostic équivalent

-> la liste de substances organiques suivie dans ARMISTIQ est pertinente



# Comparaison des procédés d'oxydation avancée ARMISTIQ vs ECHIBIOTEB



Les POA présentés sont tous en conditions optimisées

-> Un diagnostic équivalent

-> la liste de substances organiques suivie dans ARMISTIQ est pertinente



## Les bioanalyses *in vitro*

☛ Si on évalue la présence de **substances biologiquement actives** à la place de substances chimiques, arrive-t-on au même diagnostic d'efficacité des traitements que dans ARMISTIQ ?



# Batterie de tests *in vitro* recouvrant différents mécanismes de toxicité

Récepteurs / activité	Code	Méthode	Résultat	L.D.
<b><i>Perturbateurs endocriniens (tests cellulaires)</i></b>				
Estrogénique	ER	MELN	Estradiol-Eq	0.17 ng/L
Androgénique	AR	MDA-kb2	Dihydrotestosterone-Eq	2.3 ng/L
Anti-androgénique	anti-AR	MDA-kb2	Flutamide-Eq	3.2 µg/L
Thyroidien	TR	PC-DR-LUC	T3-Eq	12.9 ng/L
Anti-thyroidien	anti-TR	PC-DR-LUC		n.a.
<b><i>Activit� dioxin-like (tests cellulaires)</i></b>				
PAH-like	AhR 4h	PLHC-1	BaP-Eq	0.1 µg/L
Dioxin-like	AhR 24h	PLHC-1	TCDD-Eq	2.1 ng/L
<b><i>G�no/cytotoxiques (tests microbiens)</i></b>				
Génotoxicité (± S9)	SOS (±S9)	SOS chromotest	Induction g�ne <i>sfiA</i>	n.a.
Cytotoxicité (± S9)	SOS (±S9)	SOS chromotest	% t�moin	n.a.



# Les activités biologiques mesurées sont globalement faibles

	CAG		STEU Aw				STEU Bw				STEU Dw			
			O <sub>3</sub> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		UV + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		O <sub>3</sub> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		UV + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		Adsorbants alternatifs			
	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie GAC	Sortie argile	Sortie zeolite
Estrogénique	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+
Androgénique	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anti-androgénique	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Thyroidien	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anti-thyroidien	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PAH-like	-	-	-	-	-	-	-	-	++	+	-	-	-	-
Dioxin-like	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Génotoxicité directe	++	+	-	-	++	++	++	-	-	-	++	-	-	++
Génotoxicité indirecte	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	++
Cytotoxicité sans S9	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+
Cytotoxicité avec S9	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+



# Comparaison des différents traitements

	O <sub>3</sub> + CAG		STEU Aw		UV + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		STEU Bw		UV + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		STEU Dw				
	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Adsorbants alternatifs			Sortie
												GAC	argile	zeolite	
Estrogénique	+ -	-	+ -	-	+ +	-	+ -	-	+ -	-	+ - -	-	-	-	+
Androgénique	+ +	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PAH-like	-	-	-	-	-	-	-	-	++ +	-	-	-	-	-	-
Dioxin-like	-	-	+ +	-	+ -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Génotoxicité directe	++ +	-	-	-	++ ++	-	++ -	-	-	-	++ - -	-	-	-	++
Génotoxicité indirecte	+ +	+ -	+ -	-	+ -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++
Cytotoxicité sans S9	+ +	- +	- +	- +	+ +	- +	+ +	- +	- +	-	-	-	-	-	+
Cytotoxicité avec S9	+ -	-	-	-	-	-	+ -	-	-	-	-	-	-	-	+

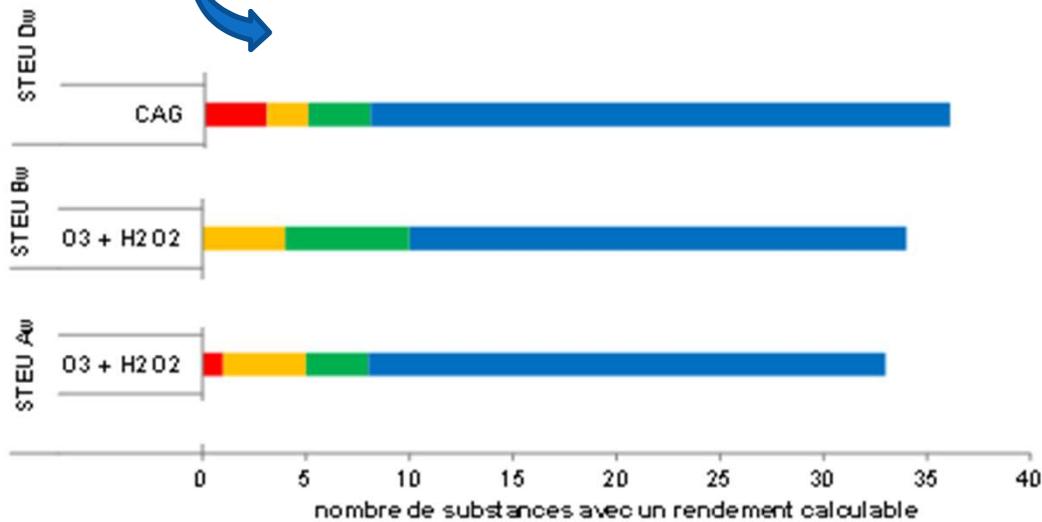
Une diminution de l'effet après traitement

Pas de diminution de l'effet après traitement

Une augmentation de l'effet après traitement -> à investiguer



# Analyse chimique ciblée vs. bioanalyse *in vitro*



**CAG :**  
Performant selon chimie ET bioanalyse

## O<sub>3</sub>+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> :

- \* Performant selon chimie
- \* Une toxicité DL persistante et une cytotoxicité induite ->   investiguer

	Aw O <sub>3</sub> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		Bw O <sub>3</sub> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		Dw adsorbants alternatifs	
	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie CAG
Estrogénique	+	-	+	-	+	-
Androgénique	-	-	-	-	-	-
PAH-like	-	-	-	-	-	-
Dioxin-like	+	+	-	-	-	-
Génotoxicité directe	-	-	++	-	++	-
Génotoxicité indirecte	+	-	-	-	-	-
Cytotoxicité sans S9	-	+	+	+	-	-
Cytotoxicité avec S9	-	-	+	-	-	-



# Conclusions et perspectives

- Les substances ciblées dans ARMISTIQ sont pertinentes
  - A vérifier avec de nouvelles familles de substances (perfluorés, hormones androgéniques, thyroïdiennes, dérivés d'alkylphénols, phtalates, parabens, ...)
- La toxicité *in vitro* dans les eaux traitées est très faible
  - Concernant la démarche EDA : nécessité de travailler sur des très gros volumes d'eau (>20L)
  - Etudier la complémentarité de tous les outils ECHIBIOTEB pour caractériser les procédés de traitements complémentaires des eaux et des boues
  - Proposer une méthodologie d'utilisation de cette batterie d'outils et d'interprétation des résultats pour un diagnostic d'efficacité de traitements complémentaires



# Merci de votre attention

Pour en savoir plus :

- Un site web : <http://echibioteb.irstea.fr/>
- Un colloque final public : février 2015 à Lyon
- Un numéro spécial en 2015 dans le journal “Environmental Science and Pollution Research”

