



ECHIBIOTEB

Outils innovants d'Echantillonnage,
d'analyses CHImiques et BIOlogiques pour le
suivi de Traitements avancés des Eaux usées
et des Boues

2011-2013 (3 ans)

ANR ECOTECH 2010

Pour mieux
affirmer
ses missions,
le Cemagref
devient Irstea



www.irstea.fr

Cécile Miège

Réunion plénière du projet ECHIBIOTEB, 16 mai 2012, Paris



Objectif général

2

- ☞ Il s'agit de développer et mettre en oeuvre des technologies innovantes d'échantillonnage et de mesures chimiques et biologiques pour le suivi de l'efficacité des procédés avancés de traitement des eaux usées urbaines et des boues
- ✓ ECHIBIOTEB = Complément du projet ARMISTIQ (tâches A et B sur le traitements avancés eaux et tâche D sur le traitement boues)



Analyses chimiques : 160 molécules ciblées³

- Par rapport à ARMISTIQ : des molécules cibles en plus
- 12 métaux, 7 AKP, BPA, tetrabromo-BPA, 52 antibiotiques, 10 anti-cancéreux, 10 anti-viraux, 10 bêtabloquants, 5 estrogènes, 17 pesticides, 1 phtalate, 7 PCBi, 16 HAP, 9 PBDE, HBCD, PBB153
- Dosées dans les eaux et/ou boues, dans les SPMD ou POCIS
- Par des techniques chromatographiques
- Réalisé par ISM-LPTC, Irstea et CIRSEE-SE

= **Tâche 2** (coord. Irstea, M Coquery) : Caractérisation chimique ciblée des eaux et boues avant et après traitement



Analyses chimiques : du screening pour identifier de nouvelles molécules

- dans des eaux usées ou traitées représentatives, dans des boues et suite à la démarche EDA
- pour l'identification de nouvelles molécules et de produits de dégradation
- pour proposer une liste de composés pertinents à suivre dans le futur.

① GC-2D-MS(TOF) (CIRSEE-SE)

② SPME/GC/HRMS(TOF) et LC/HRMS (TOF) (ISM-LPTC)

= **Tâche 3** (coord. CIRSEE Suez Environnement, A Bruchet) : Méthodologies innovantes pour le screening chimique et l'identification de molécules nouvelles dans les eaux et boues avant et après traitement

Les tests in vitro prévus (biodétection) pour eaux et boues

5

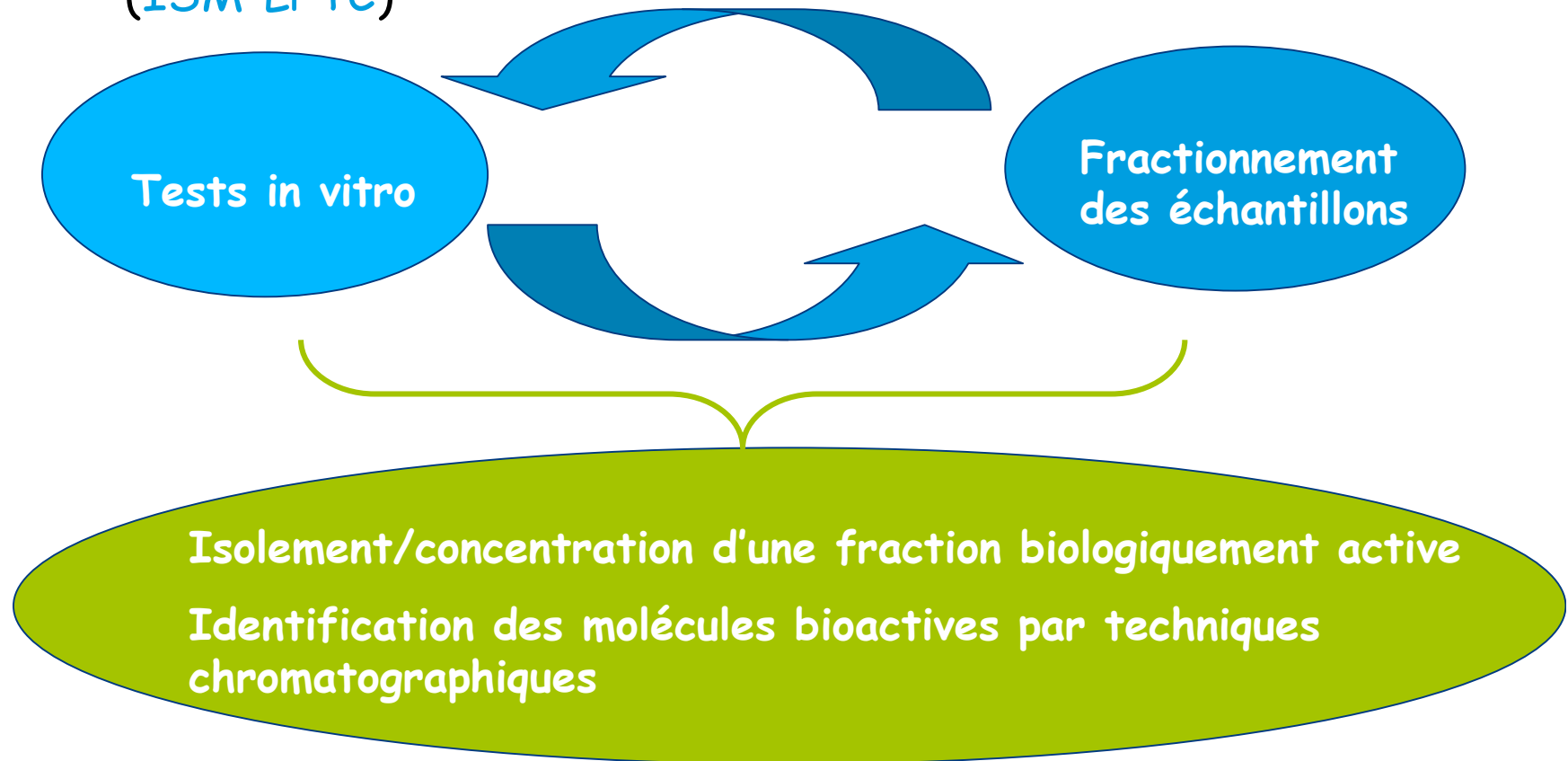
☛ composés PE, dioxin-like et génotoxiques

Mécanismes ciblés	Essais in vitro (réf.)	Mesure finale du test	Exemples de polluants environnementaux détectés	Partenaire
Récepteur des œstrogènes (ER)	Cellules MELN (<i>Pillon et al, 2005</i>)	Activité luciférase	Stéroïdes naturels (E1, E2, E3) et synthétiques (EE2), alkylphénols, bisphénol A, certains pesticides organochlorés...	UMR8079
Récepteurs des hormones thyroïdiennes (TR)	Cellules PC-DR-LUC (<i>Jugan et al, 2007</i>)	Activité luciférase	TBBPA, halophénols, PBDE, HAP	
Récepteurs des androgènes (AR) et des glucocorticoïdes (GR)	Cellules MDA-kb2 (<i>Wilson et al, 2002, Kinani et al. 2010</i>)	Activité luciférase	Androgènes : testostérone, trenbolone Anti-androgènes : pesticides, alkylphénols, bisphénol A glucocorticoïdes : pharmaceutiques de type corticostéroïdes (dexaméthasone, cortisone,...)	INERIS
Récepteur de la dioxine (AhR)	Cellules PLHC-1 (<i>Louiz et al, 2008, Kinani et al. 2010</i>)	Activité EROD	Dioxines et dioxin-like, HAPs, PCBs coplanaires...	
Génotoxicité	SOS Chromotest (<i>Quillardet et al., 1982</i>)	Induction du gène SfiA	Génotoxiques et pro-génotoxiques : HAP, HAP nitrés, amines aromatiques, nitrosamines, certains pesticides et solvants organochlorés, métaux lourds, anticancéreux	ISM-LPTC

= **Tâche 4** (coord. **INERIS, S Aït-Aïssa**) : Bioanalyse - Recherche de composés biologiquement actifs dans les eaux et boues avant et après traitement à l'aide de bioessais in vitro

La démarche EDA (effect-directed analyses)

- Pour faciliter l'identification des contaminants biodétectés par les tests in vitro dans les échantillons d'eaux et de boues (ISM-LPTC)



= **Tâche 5** (coord. ISM-LPTC, M-H. Devier) : Amélioration de la détection des fractions toxiques par la méthode EDA (effect-directed analyses)



Les échantillonneurs intégratifs pour les eaux (ISM-LPTC, Cemagref)

7

- SPMD (Semi-Permeable membrane Device) pour les hydrophobes
- POCIS (Polar Organic Chemical integrative Samplers) pour les hydrophiles

Sur 4 sites, (3 procédés avancés intensif des eaux et le procédé extensif de type lagune)

Exposition en amont et en aval des traitements étudiés jusqu'à 28 jours (2 à 4 durées d'exposition différentes, au moins 1 triplicat)

Couplés à i) des analyses chimiques des molécules ciblées, ii) des screening chimiques, iii) des biotests in vitro

= **Tâche 6** (coord. ISM-LPTC, H Budzinski) : Application des échantillonneurs intégratifs pour la concentration et la quantification des micropolluants dans les eaux avant et après traitement

Les tests in vivo prévus (mesures de toxicité)

8

✓ Sur 4 sites, (3 procédés avancés intensif des eaux et le procédé extensif de type lagune), campagnes sur 1 mois

Bio-test	Laboratoire/ex situ	Compartiment	Référence	Durée	Réponses étudiées	Partenaire
Bactérie <i>Vibrio fisheri</i> (Test Microtox)	laboratoire	Effluent / Eluat de boue	NF EN ISO 11348-3	1h	Toxicité aiguë (réduction de la bioluminescence)	ISM-LPTC
Micro-algue <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	laboratoire	Effluent / Eluat de boue	NF EN ISO 8692	3j	Croissance de la population	INERIS
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	laboratoire	Effluent / Eluat de boue	NF ISO 20665	7j	Reproduction	INERIS
Avoine	laboratoire	Boue	ISO /DIS 11269-1	4j	Elongation racinaire	INERIS
Avoine / cresson	laboratoire	Boue	NF ISO 11269-2	18j	Emergence et croissance des parties aériennes	INERIS
Gammare <i>G.fossarum</i>	Ex situ	Effluent	Geffard et al. accepted Xuereb et al., 2009	30j	Survie Croissance Reproduction Taux d'alimentation	Cemagref
Insecte <i>Chironomus riparius</i>	Ex situ	Effluent	AFNOR T90-339-1	30j	Survie Croissance Emergence	Cemagref
Mollusque <i>Potamopyrgus antipodarum</i>	Ex situ	Effluent	Duft et al., 2007	30j	Survie Croissance Reproduction	Cemagref
Embryons et larves du Poisson <i>Oryzias latipes</i>	Ex situ	effluent	Cachot et al., 2007	20 à 30 j	Survie, croissance, taux d'éclosion, durée du développement, malformations, dommages à l'ADN	ISM-LPTC

= Tâche 7 (coord. Irstea, O Geffard) : Evaluation de la toxicité des eaux et boues avant et après traitement à l'aide de bioessais in vitro



L'influence de la matière organique dissoute (MOD) sur la toxicité et la biodisponibilité (Envolure) ⁹

Tests rapides in situ en microplaque pour appréhender le caractère inhérent aux MOD à moduler la qualité et la toxicité des eaux étudiées

Basé sur un concept d'inhibition compétitive de fluorescence (plus l'affinité entre polluant et MOD est forte, plus le signal de fluorescence de la sonde est élevé)

Permettra d'apporter des éléments d'interprétation des résultats de toxicité et d'échantillonnage par SPMD ou POCIS

Prévu sur les 4 sites d'étude de la toxicité, des SPMD et POCIS, tests en amont et aval des procédés

= **Tâche 8** (coord. [ENVOLURE](#), Y Dudal) : Caractérisation in situ des interactions entre matière organique et micropolluants dans les eaux avant et après traitement

T8 Caractérisation in situ des interactions entre matière organique et micropolluants									
	Choix des molécules cibles pour adaptation du test	D21							
	Protocole de test								
	Bilan sur les interactions mesurées								D23
	Eléments d'interprétation des résultats de toxicité								D24
T9 Synthèse, exploitation concertée des résultats et valorisation									
	Une liste (non exhaustive) de nouveaux composés indésirables (eaux et boues)								D25
	Guides de bonne exploitation des outils mis en œuvre pour caractériser les procédés								D26
	Comparaison de l'efficacité des procédés optimisés selon les outils innovants testés								D27
	Méthodologies de diagnostic des procédés. Stratégies de déploiement des outils et d'interprétation des données.								D28
	Colloque final public								D29



ANR : Mémento rapide (1)

T0 dépenses = dépenses éligibles à partir du 4 juin 2010 jusqu'au 16 mars 2014

T0 "juridique /contractuel" = 17 mars 2011

Accord de consortium comporte au minimum:

- répartition des tâches, moyens et fournitures
- partage droits propriété intellectuelle
- publication/diffusion
- valorisation

☞ doit être finalisé rapidement (17 mars 2012)

☞ + accompagné d'une attestation de conformité

Pour tout contact avec l'ANR Ecotech : utiliser l'adresse ecotech@ (pas les adresses personnelles)

Rapports d'avancement fortement conseillés TOUS les 6 mois (obligatoire seulement à 6, 18 et 36 mois) :

Important de compiler les embauches en CDD.

☞ prochain rapport d'avancement = celui à 18 mois (29 juin 2012)



ANR : Mémento rapide (2)

* Revue à mi-parcours : Présentation à l'ANR du projet et des résultats (à Montpellier en oct.2012)

☞ fournir un résumé pour le 29 juin 2012

* Relevé de dépenses : à la fin du projet pour les EPST. Par contre il y a 1 demande d'estimation de dépense dans les rapports d'avancement (T12, T24 et T36).

IMPORTANT : Variation des postes de dépenses : souplesse de 30% à aide constante (informer l'unité support ADEME)

* Pole de compétitivité : +12000 € de financement abondé au projet; versé en 1 seule fois (colloque fin de projet).

* Publications : remercier soutien de l'ANR Ecotech

* Présentations : logo "financé par l'ANR" à utiliser

Merci de votre attention





Un consortium aux compétences variées

- ☛ L'**Irstea**, unité de recherche Milieux Aquatiques, Ecologie et Pollutions (MAEP, Lyon)
- ☛ Le **CIRSEE**, **Suez-Environnement**
- ☛ Le laboratoire de Physico- et Toxicologie de l'environnement (**LPTC**), Institut des Sciences Moléculaires (**ISM** - UMR 5255 CNRS), Université de Bordeaux 1
- ☛ Le groupe Santé Publique-Environnement, Université Paris Sud 11 (**UMR8079**)
- ☛ L'**INERIS**, Unités Ecotoxicologie in vitro et in vivo (ECOT) et Expertise et Essais en Ecotoxicologie (EXES)
- ☛ **ENVOLURE**



- Tâche 1 (coord. Cemagref, C Miège) : Coordination du projet et harmonisation des méthodes
- Tache 2 (coord. Cemagref, M Coquery) : Caractérisation chimique ciblée des eaux et boues avant et après traitement
- Tâche 3 (coord. CIRSEE Suez Environnement, A Bruchet) : Méthodologies innovantes pour le screening chimique et l'identification de molécules nouvelles dans les eaux et boues avant et après traitement
- Tâche 4 (coord. INERIS, S Aït-Aïssa) : Bioanalyse - Recherche de composés biologiquement actifs dans les eaux et boues avant et après traitement à l'aide de bioessais in vitro
- Tâche 5 (coord. ISM-LPTC, M-H. Devier) : Amélioration de la détection des fractions toxiques par la méthode EDA (effect-directed analyses)
- Tâche 6 (coord. ISM-LPTC, H Budzinski) : Application des échantillonneurs intégratifs pour la concentration et la quantification des micropolluants dans les eaux avant et après traitement
- Tâche 7 (coord. Cemagref, O Geffard) : Evaluation de la toxicité des eaux et boues avant et après traitement à l'aide de bioessais in vitro
- Tâche 8 (coord. ENVOLURE, Y Dudal) : Caractérisation in situ des interactions entre matière organique et micropolluants dans les eaux avant et après traitement
- Tâche 9 (coord. Cemagref, C Miège) : Synthèse, exploitation concertée des résultats et valorisation



Objectifs scientifiques et techniques / technologies innovantes

17

1/ ➡ améliorer la représentativité de l'échantillonnage et la sensibilité des analyses chimiques et biologiques : échantillonneurs intégratifs

2/ ➡ évaluer la complémentarité d'outils d'analyse chimique et biologique, leurs domaines d'application, proposer des stratégies de déploiement et d'interprétation des données : tests in vitro (potentiel perturbateur endocrinien, "dioxin like" et génotoxique) ; tests in vivo (toxicité sur des organismes représentatifs des milieux récepteurs), analyses chromatographiques (quantification de molécules cibles)

3/ ➡ isoler et caractériser plus finement les fractions et les molécules bioactives, identifier des molécules non cibles et des produits de dégradation : démarche de type EDA (Effect Directed Analyses) couplée à des méthodologies de screening (GC-2D-MS(TOF), SPME/GC/HRMS(TOF) ou LC/HRMS(TOF))



4/ ➡ appréhender par des tests rapides in situ le caractère inhérent aux matières organiques dissoutes à moduler la qualité et la toxicité des eaux étudiées.



Les procédés de traitement des eaux usées urbaines et des boues

= Une partie de ceux sélectionnés dans le projet ARMISTIQ, après optimisation :

☛ Eaux (tertiaire) :

3 procédés intensifs compacts (grandes collectivités) : oxydation à l'ozone, aux rayons UV, adsorption sur charbon actif, osmose inverse

3 procédés extensifs autonomes (petites collectivités ou sortie de boues activées) : lagune, prairie humide avec infiltration, filtre planté de roseaux

☛ Boues :

1 compostage avec digestion anaérobie en amont (grandes collectivités)

1 rhizofiltration (collectivités rurales)