



# Le Programme ECHIBIOTEB : Outils innovants d'échantillonnage, d'analyses chimiques et biologiques pour le suivi des traitements complémentaires des eaux usées et des boues

Cécile Miège, Jean-Marc Choubert

**Irstea** : C. Miège, J.M. Choubert, O. Geffard, M. Coquery

**Cirsee Suez Environnement** : A. Bruchet, S. Besnault

**Université de Bordeaux** : H. Budzinski, J. Cachot, E. Parlanti

**INERIS** : S. Aït-Aïssa, P. Pandard

**Université de Paris Sud** : Y. Lévi

**Envolure SAS** : Y. Dudal



# Contexte

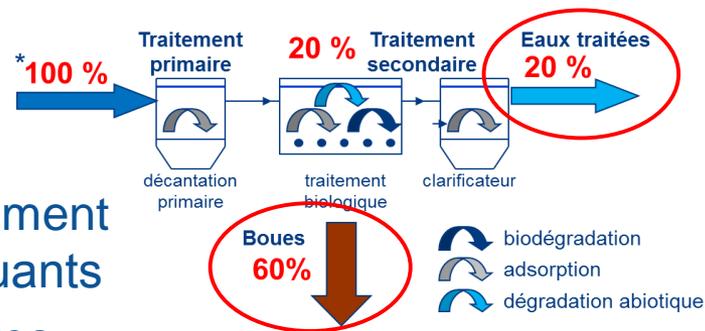
## ECHIBIOTEB -> dans la continuité de 2 projets

- AMPERES (2006-2009)

- Comparer différents procédés de traitement vis-à-vis de l'élimination des micropolluants
- 10 procédés traitement complémentaires des eaux, 6 procédés traitement des boues
- 127 micropolluants étudiés

- ARMISTIQ (2010-2013)

- Conditions opératoires (doses d'oxydant O<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ; temps de séjour adsorbants CAG, argile expansée ; types de déshydratation boues) pour la meilleure efficacité d'élimination des micropolluants
- 5 procédés de traitement complémentaires, 9 procédés de traitement des boues
- micropolluants étudiés : 64 pour les procédés de traitement complémentaire ; 79 pour les boues



# Un consortium aux compétences variées

- ☛ **Irstea**, 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
  - ☛ **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

# Objectifs et stratégie

Comparaison  
amont vs. aval  
pour chaque  
procédé

*Comment obtenir un échantillon « représentatif » ?*  
-> dans le temps pour les eaux  
-> dans l'espace pour les boues

- Eaux : éch. moyen 2h vs. échantillon intégratif sur 2 à 4 semaines
- Boues : méthode de quartage

*Comment évaluer  
l'efficacité de  
procédés de  
traitements  
complémentaires des  
eaux usées et des  
boues ?*

*Comment analyser cet échantillon ?  
Quel paramètre mesurer ? Avec quelle lunette  
l'observer ?*



☞ des outils chimiques

☞ des outils biologiques

# Une démarche d'analyse « intégrée »



**Quantifier une concentration en micropolluants pré-ciblés *a priori***

☞ Quid de tous les autres micropolluants non préciblés ?



**Identifier *a posteriori* de nouveaux micropolluants et produits de dégradation**

☞ Lesquels sélectionner comme indicateurs ?



**Mesurer une activité biologique cellulaire ou microbienne (perturbateur endocrinien, dioxin-like, cytotoxicité, ...)**

☞ Comment faire le lien entre les micropolluants quantifiés et l'activité biologique ?

# Pour une analyse la plus « pertinente » possible



**Quantifier une concentration en micropolluants pré-ciblés *a priori***

↳ Quid de tous les autres micropolluants non préciblés ?



**Identifier *a posteriori* de nouveaux micropolluants et produits de dégradation**

↳ Lesquels sélectionner comme indicateurs ?



**Identifier les micropolluants responsables de l'activité biologique détectée**



**Caractériser la physico-chimie du milieu (matière organique)**

↳ qui influence la biodisponibilité des micropolluants



**Mesurer une activité biologique cellulaire ou microbienne (perturbateur endocrinien, dioxin-like, cytotoxicité, ...)**

↳ Comment faire le lien entre les micropolluants quantifiés et l'activité biologique ?



**Mesurer un effet biologique global sur organisme (crustacés, insectes, gastéropodes, poissons, ...)**

↳ A interpréter en s'appuyant sur les autres paramètres mesurés



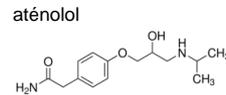
# Les analyses de molécules ciblées dans les boues



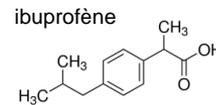
## 113 molécules organiques et 12 métaux

54 médicaments

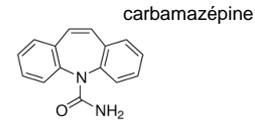
3  $\beta$ -bloquants



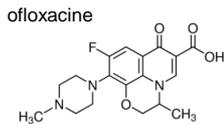
6 anti-inflammatoires



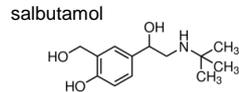
9 antidépresseurs



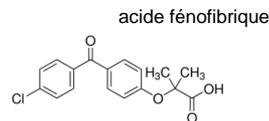
24 antibiotiques



3 bronchodilatateurs



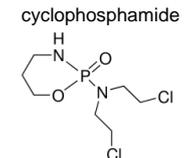
2 hypolipémiants



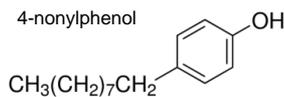
2 stimulants



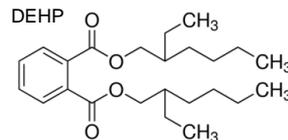
5 anticancéreux



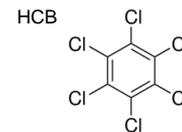
6 alkylphénols (AkP)



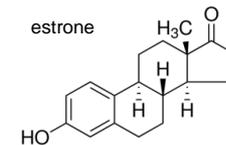
2 plastifiants



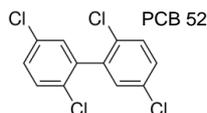
11 pesticides organochlorés



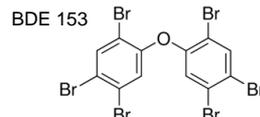
5 hormones oestrogéniques



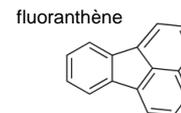
8 PCB



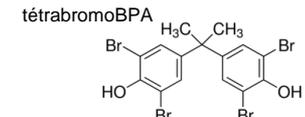
8 PBDE



16 HAP



3 divers



Comprendre le monde, construire l'avenir®



maîtriser le risque pour un développement durable



# Les analyses de molécules ciblées dans les boues



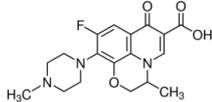
## 113 molécules organiques et 12 métaux

-> M-J Capdeville

54 médicaments

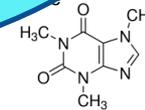
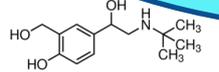
24 antibiotiques

ofloxacin



3 bronchodilatateurs

salbutamol

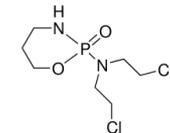


Dépresseurs

carbamazépine

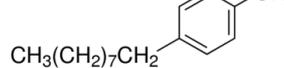
5 anticancéreux

cyclophosphamide

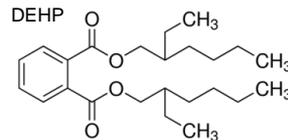


6 alkylphénols (AkP)

4-nonylphenol

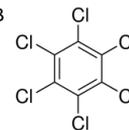


2 plastifiants



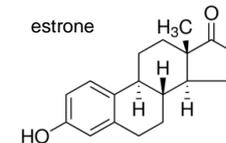
11 pesticides organochlorés

HCB

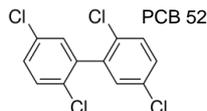


5 hormones oestrogéniques

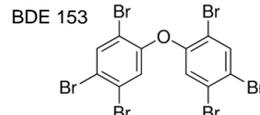
estrone



8 PCB

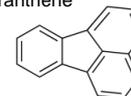


8 PBDE



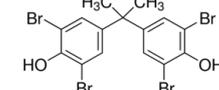
16 HAP

fluoranthène



3 divers

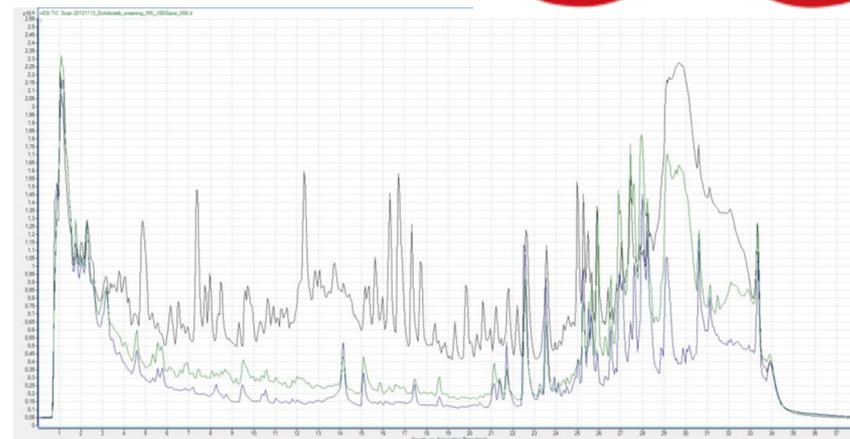
tétrabromoBPA



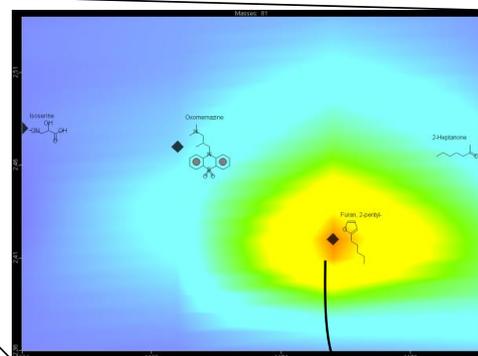
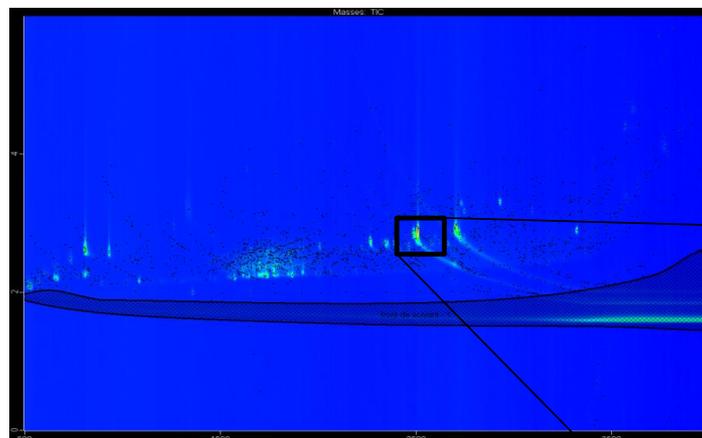
# Les analyses chimiques non ciblées



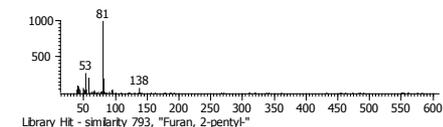
LC/TOF



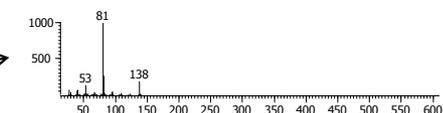
GC-2D-TOF



Peak True - sample "110922extMeOHacet:1", peak 145, at 1176 , 2,420 sec , sec



Library Hit - similarity 793, "Furan, 2-pentyl-"



Comprendre le monde, construire l'avenir



maîtriser le risque pour un développement durable

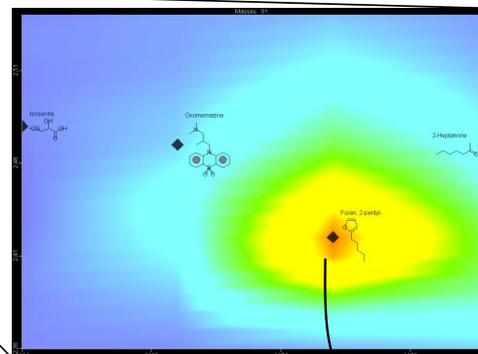
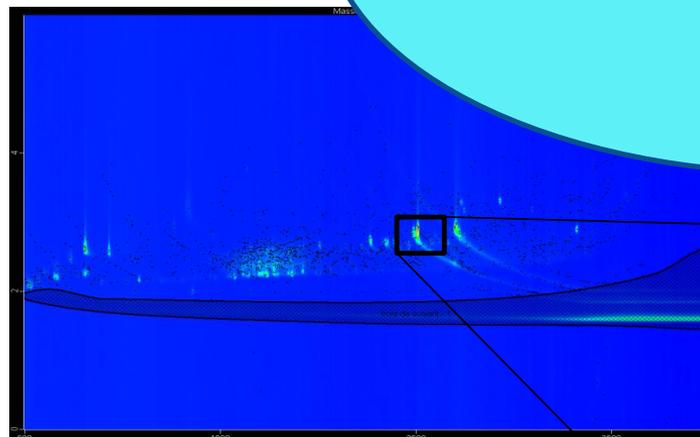
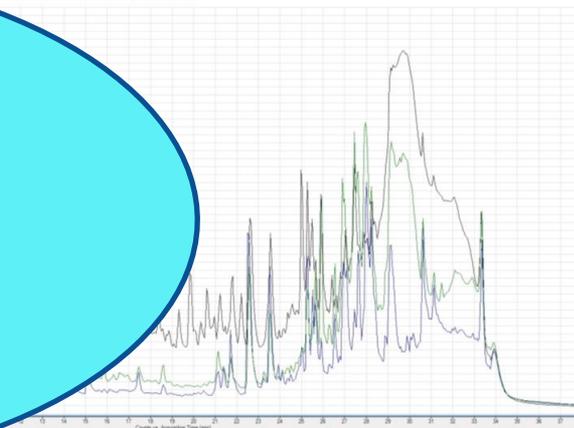


# Les analyses chimiques non ciblées

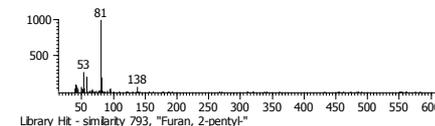


-> A Bruchet

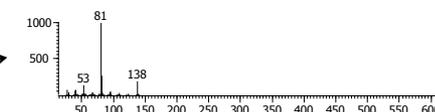
GC-2



Peak True - sample "110922extMeOHacet:1", peak 145, at 1176 , 2,420 sec , sec



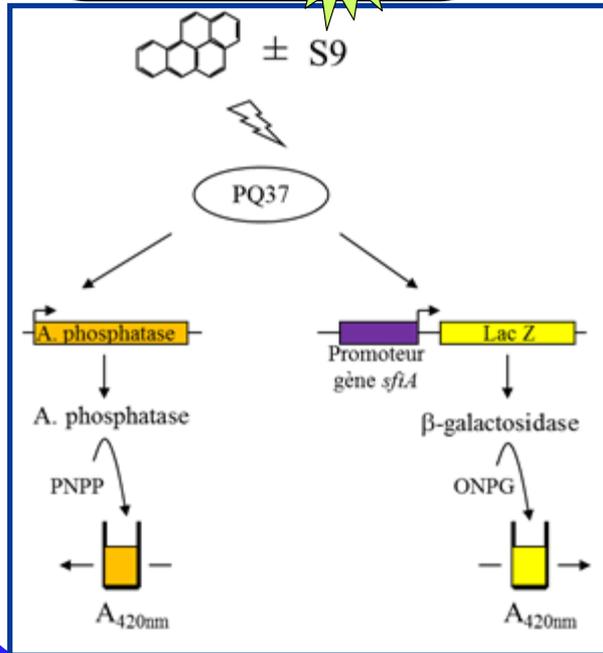
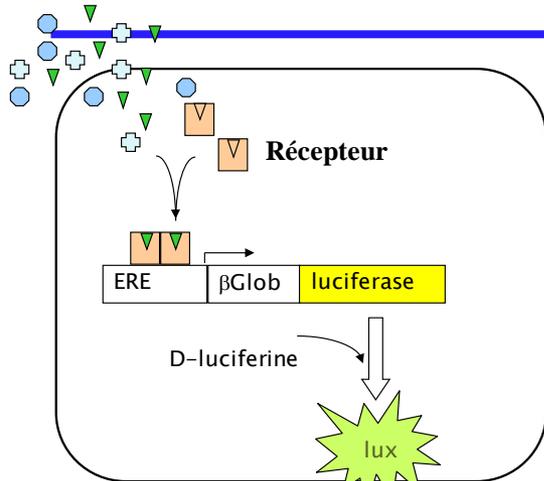
Library Hit - similarity 793, "Furan, 2-pentyl"



Comprendre le monde, construire l'avenir



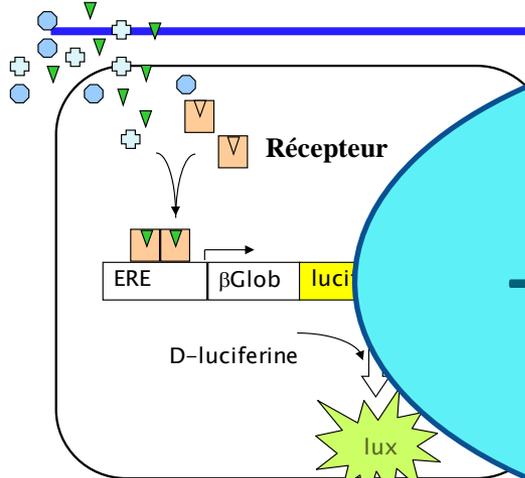
# Les bioessais *in vitro*



- Tests cellulaires exprimant un gène rapporteur sous contrôle de récepteurs des hormones (ER, AR, TR, GR) ou de la dioxine (AhR)
  - Mise en évidence de la **présence de substances actives** au sein des échantillons, mesure d'activité estrogénique, androgénique, thyroïdienne, glucocorticoïde, HAP-like, dioxin-like
  - **Quantification relative en composé de référence** dans l'échantillon (TEQ)

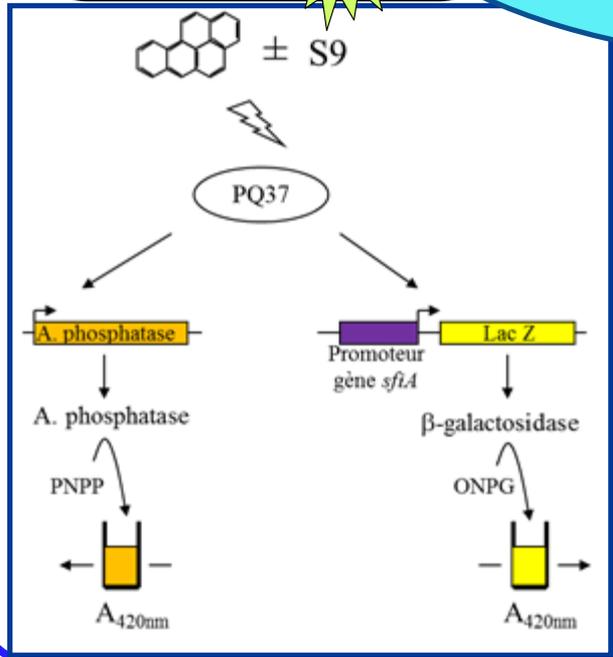
- Test basé sur l'expression d'un gène rapporteur lacZ sous le contrôle du promoteur du gène sfiA (gène de réparation de l'ADN).
  - Mesure du **potentiel génotoxique et cytotoxique** des échantillons
  - Test **semi-quantification**

# Les bioessais *in vitro*



-> S Ait-Aïssa

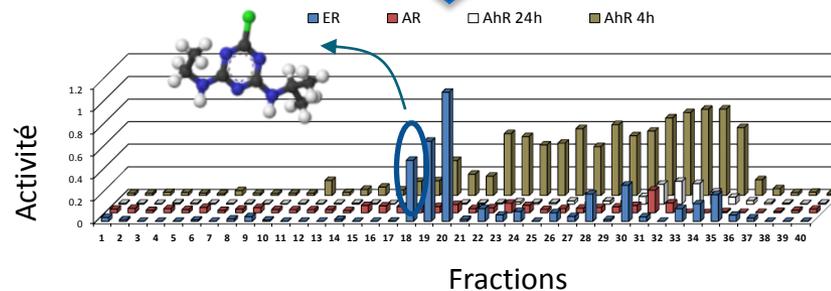
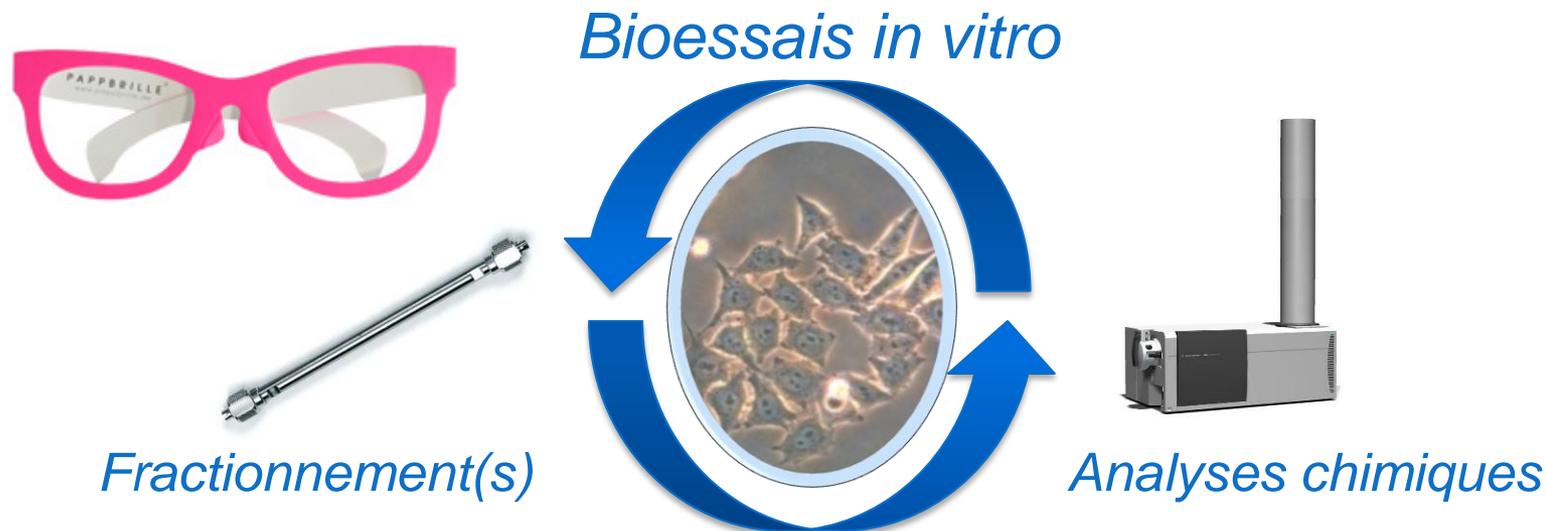
exprimant un gène rapporteur  
 récepteurs des hormones  
 la dioxine (AhR)  
 présence de  
 ein des échantillons,  
 nique, androgénique,  
 tico ide, HAP-like,



Quantification relative en composé de référence dans l'échantillon (TEQ)

- Test basé sur l'expression d'un gène rapporteur lacZ sous le contrôle du promoteur du gène sfiA (g ne de réparation de l'ADN).
- Mesure du **potentiel génotoxique et cytotoxique** des échantillons
- Test **semi-quantification**

# Démarche EDA : couplage biologie/physico-chimie



➔ **Identifier les composés actifs**

# Démarche EDA : couplage biologie/physico-chimie

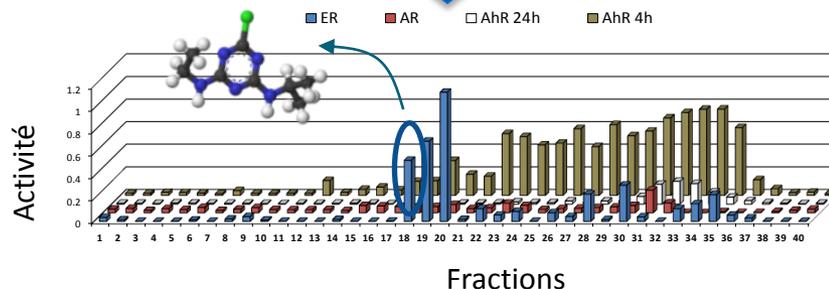


Bioessais *in vitro*



Fractionnement(s)

-> N Creusot



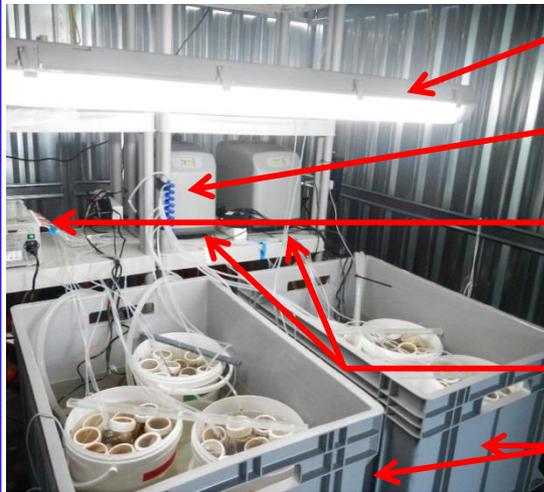
→ Identifier les composés actifs

# Les bioessais *in vivo* sur site



Exposition des organismes :

contrôle de :



néon + minuteur

luminosité

bulleur + robinets

oxygénation

pompe  
péristaltique

débit  
flux continu

climatiseurs  
d'aquarium  
bain-marie

température



seau avec  
surverse

chambre  
d'exposition

*Gammarus fossarum* (crustacé) : survie, taux d'alimentation (7 j), reproduction (21 j)



Larve de *Chironomus riparius* (insecte) : survie, croissance (7 j)

*Potamopyrgus antipodarum* (gastéropode) : survie, croissance, reproduction



Embryons d'*Oryzias latipes* (poisson, medaka japonais) : survie, éclosion, anomalies de développement



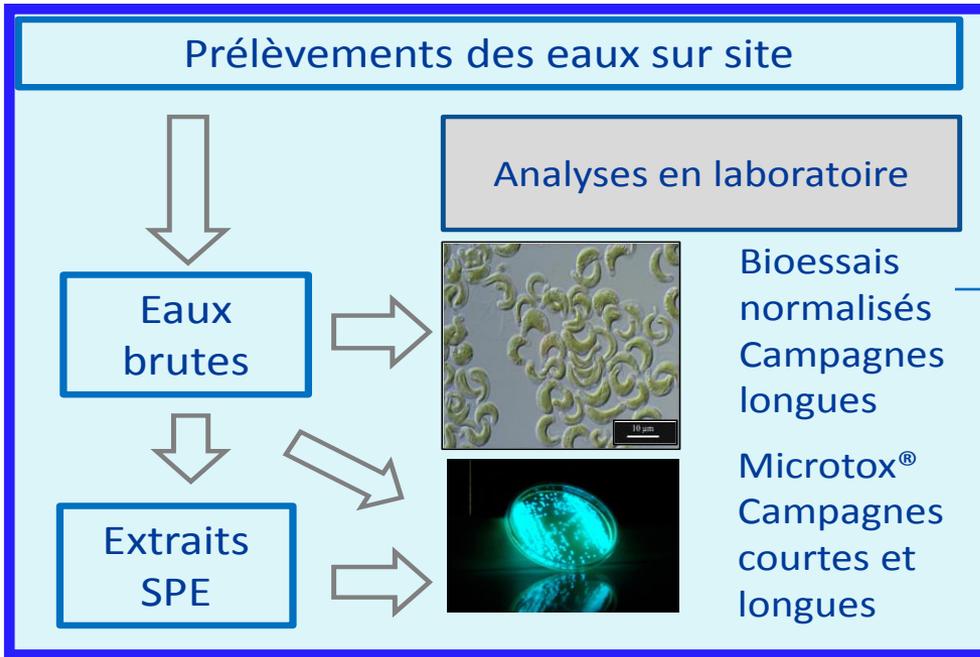
# Les bioessais *in vivo* en laboratoire



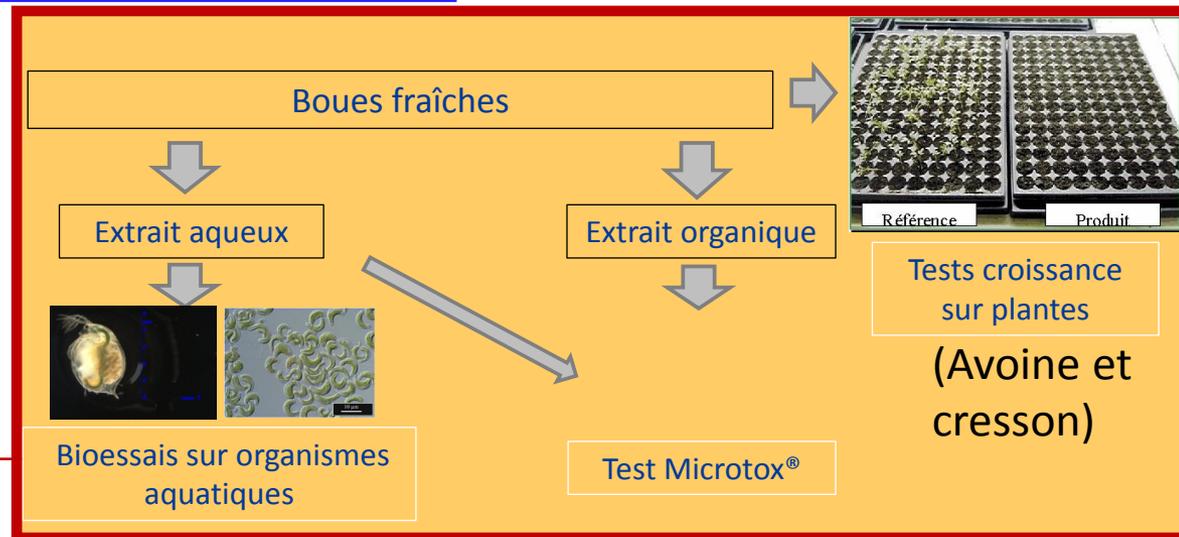
Comprendre le monde, construire l'avenir®



maîtriser le risque pour un développement durable



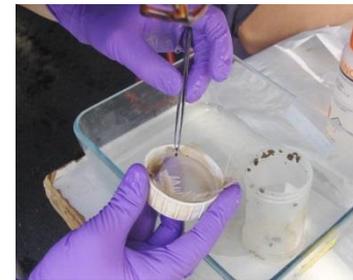
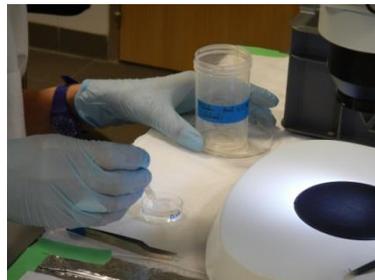
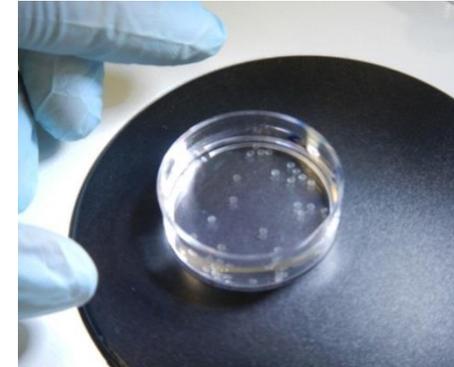
daphnies, micro -algues vertes et brachionius (rotifère)



daphnies et micro -algues vertes



# Les bioessais *in vivo* sur site



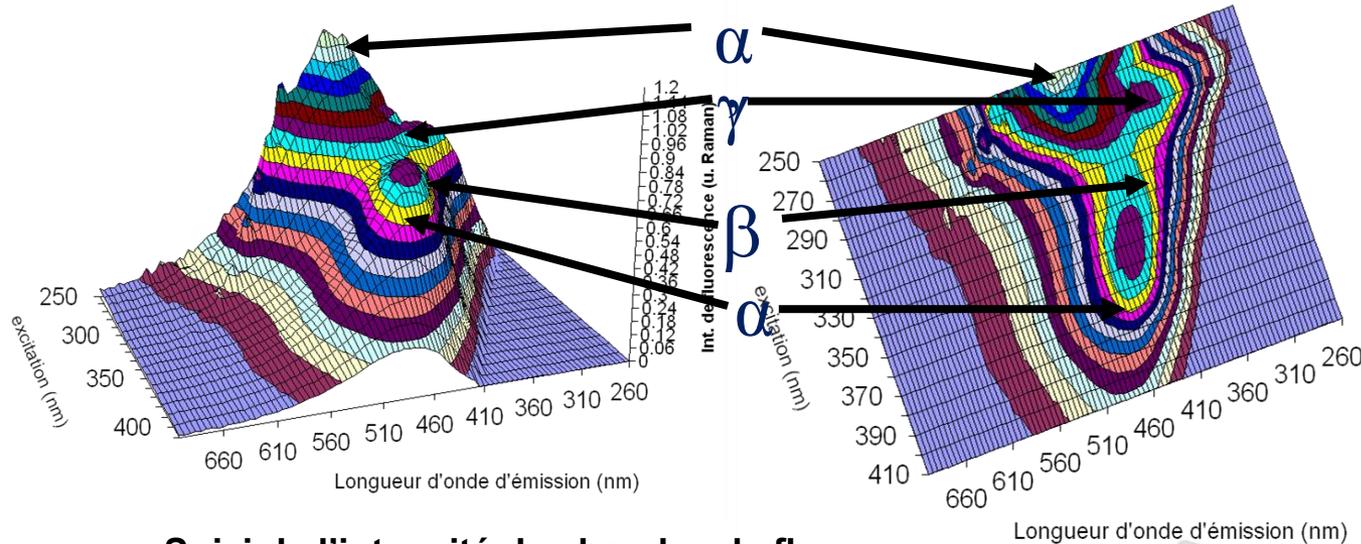
Comprendre le monde,  
construire l'avenir®



maîtriser le risque  
pour un développement durable



# La matière organique dissoute (MOD)



## Suivi de l'intensité des bandes de fluorescence

$\alpha$  : matériel type substances humiques

$\alpha'$  : matériel type substances humiques + matériel plus récent

$\beta$  : composante biologique

$\gamma$  : composés majoritairement de type protéique + activité bactérienne

☞ **Caractérisation par fluorescence 3D et tests de réactivité microplaque**



Comprendre le monde, construire l'avenir®



maîtriser le risque pour un développement durable



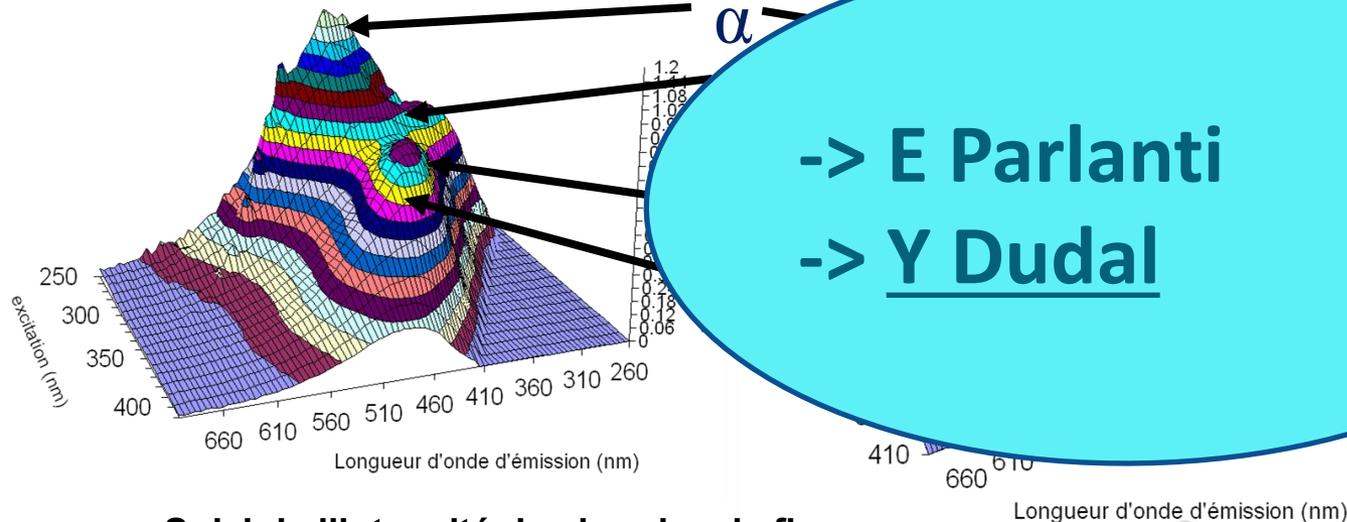
# La matière organique dissoute (MOD)



Comprendre le monde, construire l'avenir



maîtriser le risque pour un développement durable



## Suivi de l'intensité des bandes de fluorescence

$\alpha$  : matériel type substances humiques

$\alpha'$  : matériel type substances humiques + matériel plus récent

$\beta$  : composante biologique

$\gamma$  : composés majoritairement de type protéique + activité bactérienne

☞ **Caractérisation par fluorescence 3D et tests de réactivité microplaque**



# Les échantillonneurs intégratifs

## L'échantillonnage passif :

- ✓ Intérêt : concentration moyenne pour la durée d'exposition
- ✓ Principe : diffusion des composés du milieu aquatique (dissous) vers la phase réceptrice



## POCIS :

- ✓ organiques hydrophiles
- ✓ durée d'exposition : 14 jours
- ✓ exposés en triplicat (+1 blanc terrain)

## SPMD:

- ✓ organiques hydrophobes
- ✓ durée d'exposition : 28 jours
- ✓ exposés en triplicat (+1 blanc terrain)

flux continu,  
contrôle  
du débit(400 L/j)

contrôle de  
la température



contrôle de  
la lumière



# Les échantillonneurs intégratifs



## L'échantillonnage passif

- ✓ Intérêt : **concentration**
- ✓ Principe : **diffusion (passive) vers la phase réceptrice**

-> H Budzinski



## POCIS :

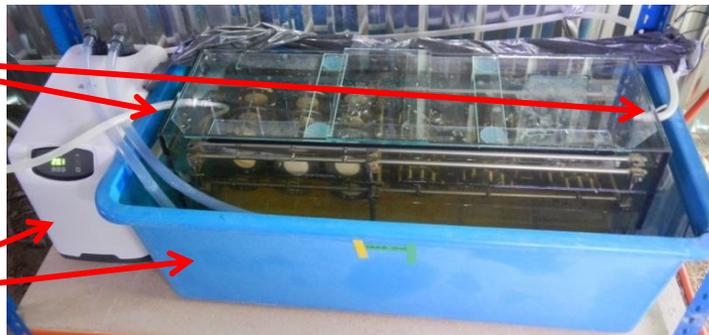
- ✓ organiques hydrophiles
- ✓ durée d'exposition : **14 jours**
- ✓ exposés en **triplicat** (+1 blanc terrain)

## SPMD:

- ✓ organiques hydrophobes
- ✓ durée d'exposition : **28 jours**
- ✓ exposés en **triplicat** (+1 blanc terrain)

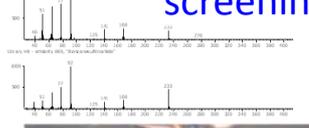
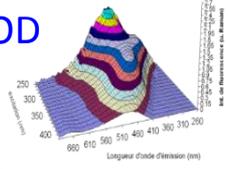
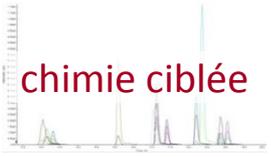
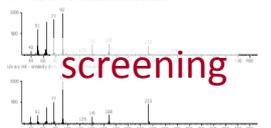
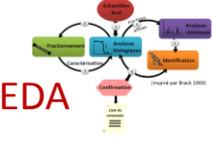
flux continu,  
contrôle  
du débit(400 L/j)

contrôle de  
la température



contrôle de  
la lumière

# Les types de campagnes d'échantillonnage

Type	eaux « courtes »	eaux « longues »	boues
Durée	1 jour	1 mois	2 x 1 jour car prélèvements espacés de la durée du traitement
Nombre	11	4	3
Outils utilisés	<p>chimie ciblée</p>  <p>screening</p>  <p>bioessais in vitro</p>  <p>MOD</p>  <p>SPMD</p>  <p>POCIS</p>  <p>EDA</p>  <p>bioessais in vivo</p> 	<p>chimie ciblée</p>  <p>screening</p>  <p>EDA</p>  <p>bioessais in vitro</p>  <p>bioessais in vivo</p> 	



Comprendre le monde, construire l'avenir®



maîtriser le risque pour un développement durable



# Installation des campagnes longues : montage du cabanon, installation électrique, déviation des eaux



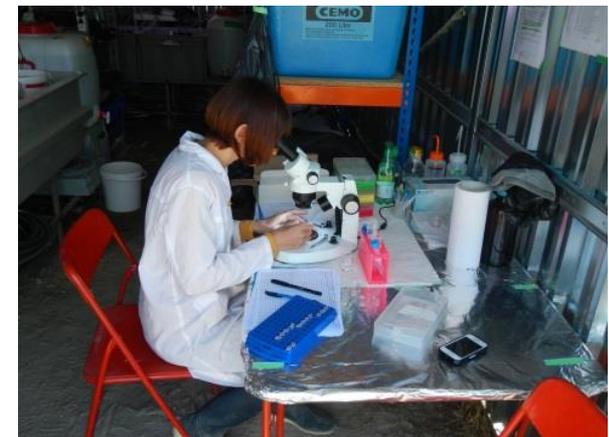
# Installation des campagnes longues : aménagement intérieur



Comprendre le monde,  
construire l'avenir®



maîtriser le risque  
pour un développement durable

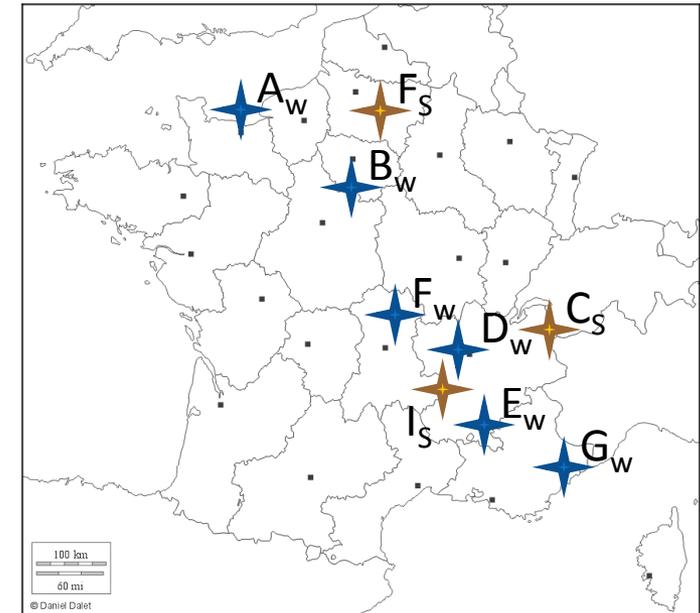


# Critères de choix des procédés

## Panel de procédés de traitement complémentaires des eaux ou de traitement des boues :

- implantés sur le territoire français (ou susceptibles de l'être)
- avec efficacité reconnue pour éliminer certains micropolluants
- situés en zones urbaines, mais aussi en zones rurales
- avec des points de prélèvements accessibles

- ★ Sites de traitement des Eaux (1000 - 300 000 EH)
- ★ Sites de traitement des boues



# Procédés de traitement complémentaire (tertiaire) des eaux

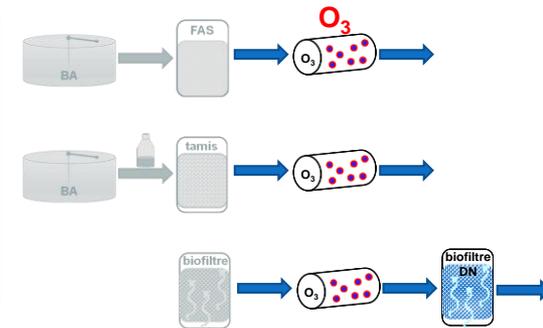
## Procédés à échelle réelle

### PROCÉDÉS D'OXYDATION A L'OZONE



Filtere à sable + Ozone (3 mg/L, 26 min)  
Tamis rotatif + Ozone (5 mg/L, 35 min)  
(aval de boues activées aération prolongée - sites Aw, Fw)

Ozone (5 mg/L, 13 min) + Biofiltre dénitrifiant  
(aval de biofiltres - site Gw)



### LAGUNE DE FINITION



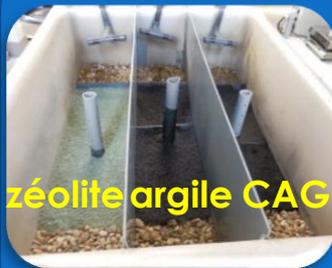
Temps de séjour hydraulique (10 à 30 jours)  
(aval de disques biologiques + Lit de clarification-séchage planté de roseaux - site Ew)



# Procédés de traitement complémentaire (tertiaire) des eaux

## Procédés à échelle pilote

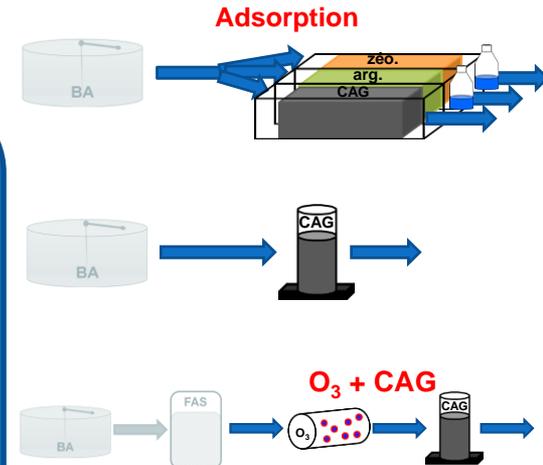
### PROCÉDÉS AVEC MATÉRIAUX ADSORBANTS



zéolite arg. CAG

- Zéolite (24 h, en opération depuis 40 j)
- Argile expansée (24 h, en opération depuis 40 j)
- CAG (4 - 6 min, en opération depuis 28 j)
- CAG (1,5 h, en opération depuis 220 j)  
(aval boues activées aération prolongée - site Dw)

**CAG (10 min)**  
(aval boues activées + FAS + Ozone - site Aw)



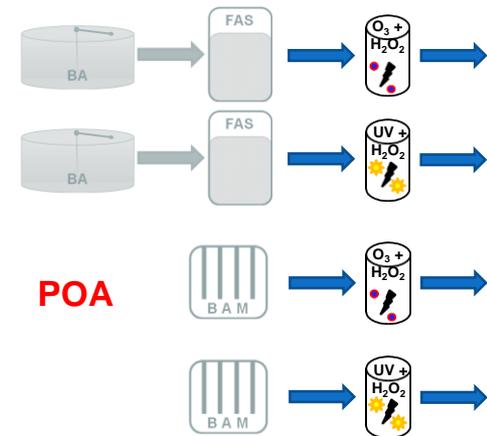
### PROCÉDÉS D'OXYDATION AVANCÉE (POA)



POA

- Ozone (5 mg/L) +  $H_2O_2$  (3,5 mg/L) : 3 min
- UV (795 mJ/cm<sup>2</sup>) +  $H_2O_2$  (10 mg/L) : 10 min

(aval de boues activées aération prolongée - site Aw + aval de bioréacteur à membranes - site Bw)



# Nature des effluents soumis aux procédés de traitement complémentaire

## Effluents nitrifiés ( $\text{NO}_3 > 20 \text{ mg N/L}$ et $\text{NH}_4 < 5 \text{ mg N/L}$ )

- Disques biologiques + Lit clarification-séchage (zone rurale 1000 EH)
- Biofiltration à 2 étages (zone urbaine 30 000 EH)

## Effluents nitrifiés/dénitrifiés ( $\text{NO}_3 < 2 \text{ mg N/L}$ et $\text{NH}_4 < 5 \text{ mg N/L}$ )

- Boue activée aération prolongée (zone urbaine, 43 000 - 300 000 EH)
- Bioréacteur à membranes immergées (zone urbaine, 67 000 EH)

## Autres :

- Matières en suspension ( $< 10 \text{ mg/L}$ )
  - Filtre à sable ou Tamis rotatif installé entre la Boue activée et traitement complémentaire micropolluants
  - Implantation directe après biofiltration ou bioréacteur à membranes
- Carbone organique dissous ( $< 10 \text{ mg/L}$ ) et nitrites ( $< 0,3 \text{ mg N/L}$ )

# Echantillonnage et conditionnement des eaux

- Echantillons « moyen » 2h (compatibles avec temps de séjour hydraulique)
- Précautions pour limiter la contamination : matériel de prélèvement en verre et en téflon, procédures de nettoyage du matériel

## 1- Prélèvements



## 2- Echantillon moyen



## 3- Conditionnement



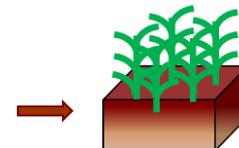
# Procédés de traitement des boues pour valorisation agricole

## Procédés à échelle réelle (3 sites)



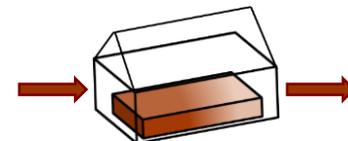
### LIT DE SÉCHAGE PLANTÉ DE ROSEAUX (site Is)

- Chaque lit est alimenté 2 semaines, repos 14 semaines
- Séjour des boues (10 ans)
- Pas d'alimentation 4 mois (épandage agricole)
- Boues provenant STEU boues activées (13 000 EH)



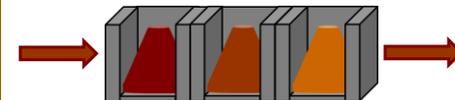
### SÉCHAGE SOLAIRE (site Cs)

- Séjour des boues (28 j)
- Boues provenant STEU boues activées (32 000 EH)



### COMPOSTAGE CASIERS, SEMI-FERMÉS VENTILÉS SOUS TOITURE AVEC RECIRCULATION D'AIR CHAUD (site Fs)

- Séjour des boues (2 mois) - Boues d'une 10<sup>aine</sup> de step
- Mélange avec refus criblage, 1 retournement / semaine
- 15 000 t compost / an



→ Suivi d'un « lot » de boue (avec prélèvement à différents instants)

# Echantillonnage et conditionnement des boues

- Echantillons représentatifs de l'hétérogénéité spatiale
- Préparation des échantillons par la méthode du quartage, lyophilisation et broyage avant analyse
- Précautions pour limiter la contamination : matériel de prélèvement en verre et en téflon, procédures de nettoyage du matériel

## 1- Prélèvements



## 2- Echantillon moyen



## 3- Conditionnement



# en conclusion ...



## Panel de procédés de traitement complémentaires des eaux, ou de traitement des boues on été étudiés

- Implantés sur différents STEU (1 000 à 300 000 EH)
- Echelle réelle ou échelle du pilote semi-industriel

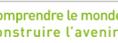
## Conditions de fonctionnement étudiées

- Bon traitement des paramètres classiques
- Conditions « optimisées » d'une sélection de micropolluants
- Différentes qualités d'eau appliquée

## Mêmes échantillons d'eaux et de boues, caractérisés par différents outils

# Les questions posées au départ dans ECHIBIOTEB

- **Quels micropolluants indicateurs pour le suivis des effluents et des boues ?**
- **Quels types d'analyse (ou lunette) pour un suivi de la qualité des rejets de stations d'épuration ?**
- **Quelle complémentarité entre les analyses chimiques et biologiques ?**
- **Quel intérêt des échantillonneurs intégratifs pour le suivi de la qualité des effluents ?**
- **Quelle est l'efficacité des procédés de traitement testés ?**



# Remerciements

- **Pour l'aide au choix des STEU et autorisation d'accès :**
  - les maîtres d'ouvrages et les équipes d'exploitation, Lyonnaise des Eaux, Nantaise des eaux, Grand Lyon...
  - **Irstea** : J.P. Canler
  - **Suez Environnement** : S. Martin, S. Besnault, Y. Penru
- **Pour la réalisation des campagnes de terrain, les analyses et l'exploitation des résultats :**
  - **Irstea** : M. Arhror, C. Brosse, C. Crétollier, D. Coupet, D. Dyda, J. Gahou, D. Gorini, J. Iaciancio, R. Jacquet, P. Le Pimpec, M. Masson, C. Michard, S. Pelletant, L. Richard, H. Sanejouand, A. Sapin
  - **Suez Environnement** : J.C. Alibar, C. Gogot
  - **Université de Bordeaux** : P. Van Delft
  - **INERIS** : A. Gaudillot, J. Giacalone, C. Meline, A. Pilette
  - **Université de Paris Sud** : M. Bimbot, V. Huteau
  - **Envolure SAS** : M. Muller
- **Le Comité de suivi du projet :**
  - **AE RMC** : C. Lagarrigue
  - **ONEMA** : O. Perceval, P.F. Staub, S. Garnaud



Comprendre le monde,  
construire l'avenir®



maîtriser le risque  
pour un développement durable





Merci de votre attention

