



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

**UNIVERSITÉ DE LORRAINE**

École doctorale RP2E, Ressources Procédés Produits Environnement

Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux

**Thèse de doctorat**

Pour l'obtention du titre de

Docteur de l'Université de Lorraine

Spécialité Géosciences

par

**Laure PASQUINI**

---

**MICROPOLLUANTS ISSUS DE L'ACTIVITÉ DOMESTIQUE DANS  
LES EAUX URBAINES ET LEUR DEVENIR EN STATION  
D'ÉPURATION**

---

*Thèse dirigée par Tatiana GORNER et codirigée par Jean-François MUNOZ*

*Soutenue publiquement le 23 Mai 2013, devant la commission d'examen*

Christophe DAGOT	Professeur, ENSIL, Limoges	Rapporteur
Régis MOILLERON	Professeur, UPEC, Val de Marne	Rapporteur
Marie-Noëlle PONS	Directeur de Recherche CNRS, LRGP, Nancy	Examineur
Cédric GUIGNARD	Docteur, Responsable plate-forme chimie analytique, CRP Gabriel Lippmann, Luxembourg	Examineur
Daniel VILLESSOT	Directeur scientifique, Lyonnaise des eaux, Paris	Examineur
Tatiana GORNER	Maître de Conférences, ENSIC, Université de Lorraine	Directrice de thèse
Jean-François MUNOZ	Directeur du Laboratoire d'Hydrologie de Nancy, ANSES	Co-directeur de thèse
Joachim HANSEN	Professeur, Université du Luxembourg, Luxembourg	Invité
Michel JOYEUX	Docteur, Directeur qualité et environnement, Eau de Paris	Invité



**UNIVERSITÉ DE LORRAINE**  
École doctorale RP2E, Ressources Procédés Produits Environnement  
Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux

**Thèse de doctorat**  
Pour l'obtention du titre de  
Docteur de l'Université de Lorraine  
Spécialité Géosciences

par

**Laure PASQUINI**

---

**MICROPOLLUANTS ISSUS DE L'ACTIVITÉ DOMESTIQUE DANS  
LES EAUX URBAINES ET LEUR DEVENIR EN STATION  
D'ÉPURATION**

---

*Thèse dirigée par Tatiana GORNER et codirigée par Jean-François MUNOZ*

*Soutenue publiquement le 23 Mai 2013, devant la commission d'examen*

Christophe DAGOT	Professeur, ENSIL, Limoges	Rapporteur
Régis MOILLERON	Professeur, UPEC, Val de Marne	Rapporteur
Marie-Noëlle PONS	Directeur de Recherche CNRS, LRGP, Nancy	Examineur
Cédric GUIGNARD	Docteur, Responsable plate-forme chimie analytique, CRP Gabriel Lippmann, Luxembourg	Examineur
Daniel VILLESSOT	Directeur scientifique, Lyonnaise des eaux, Paris	Examineur
Tatiana GORNER	Maître de Conférences, ENSIC, Université de Lorraine	Directrice de thèse
Jean-François MUNOZ	Directeur du Laboratoire d'Hydrologie de Nancy, ANSES	Co-directeur de thèse
Joachim HANSEN	Professeur, Université du Luxembourg, Luxembourg	Invité
Michel JOYEUX	Docteur, Directeur qualité et environnement, Eau de Paris	Invité







## **Remerciements**

Ce manuscrit de thèse est le résultat d'un travail de recherche de trois ans et quelques mois. Il n'aurait jamais pu voir le jour sans la présence, la collaboration, l'aide ou encore les conseils d'un grand nombre de personnes.

Ainsi, je remercie tout d'abord Fabien Thomas, directeur du LIEC, et Jean-François Munoz, directeur du LHN, de m'avoir accueilli au sein de leurs laboratoires et permis d'y développer ce travail de thèse.

Je remercie tout particulièrement mes directeurs de thèse, Tatiana Gorner et Jean-François Munoz pour le temps qu'ils m'ont accordé, leurs précieux conseils, leur investissement et leur soutien.

Je remercie Christophe Dagot et Régis Moilleron d'avoir accepté d'être les rapporteurs de ce travail, et également Marie-Noëlle Pons, Cédric Guignard et Daniel Villessot d'avoir accepté de faire partie de ce jury de thèse.

Je remercie tous les collaborateurs scientifiques de ce travail, Xavier France du GEMCEA, toujours prêt à mettre en place les préleveurs (plus ou moins collaboratifs quant à eux), Christophe Merlin du LCPME, qui a fait preuve de beaucoup de pédagogie pour me parler « microbiologie », Marie-Noëlle Pons du LRGP pour son dynamisme, et Xavier Dauchy du LHN pour sa disponibilité et ses conseils.

Merci à tous les stagiaires qui ont apporté une petite pierre à la construction de cette thèse, Cyril Drzewinsky (nos tous premiers prélèvements...), Timothée Daguinot (éleveur de bactéries !), Lucille Hassenboehler (ou super Stagiaire, dompteuse d'HPLC !) et Grazielli Colla (reine de la DCO !), et aussi merci aux stagiaires 2A de l'ENSG pour leur motivation envers ce sujet.

Ce travail n'aurait pas non plus été possible sans la collaboration des exploitants de station d'épuration, Veolia pour Nancy-Maxéville et Saur pour Pont-à-Mousson. Je remercie également Delphine Laurent de la CUGN et Olivier Heyob de la SAUR pour la mise à disposition des données mesurées en station d'épuration.

J'en arrive enfin aux personnes qui ont rendu ma vie de thésarde plus qu'agréable au sein des différents laboratoires que j'ai côtoyés.

Il y a tout d'abord les thésards du LRGP, Dinh, Amine, Aziz, Billy et Yuhai, ces cinq mecs venus de tous horizons toujours prêts à accueillir comme il se doit une fille entrant dans leur bureau. Merci pour ces moments de détente !

Je remercie tous les membres du LHN, et en particulier Virginie, Nicole, Christelle, Adeline et Cristina, pour leur aide, leur patience et leur bonne humeur tout simplement. Désolée d'avoir encrassé vos sources et d'avoir été porteuse de poisse du lundi matin, mais au moins vous vous souviendrez de moi !!

Je garde le meilleur pour la fin (ou presque)... Merci aux jeunes (ex-) Lemmiens, Renaud, Marie-Eve, Henriette et Mathieu, avec qui j'ai eu la chance de partager le bureau mais aussi de bons moments, Jenny, Noémie, Rime et Camille, les « grandes », toujours de très bon conseil, Pabla, Jennifer, Mounir, Mathilde, Haytham, pour nos discussions, votre soutien et votre bonne humeur. Nos vendredis-croissants vont me manquer !! Je vous fais confiance (surtout à toi Renaud) pour maintenir cette tradition pour longtemps.

Les derniers, les voici, ma famille. Je tiens à remercier mes parents, Isabelle et Gilbert qui m'ont toujours soutenue dans mes études mais aussi incitée à aller le plus loin possible, mon frère Guillaume, mes grands-parents, mes oncles et tantes et bien sûr Dorian pour leur soutien et aussi pour leur présence tant au quotidien que lors de ma soutenance. Ils ont fait preuve de courage et d'ouverture d'esprit pour venir écouter ces histoires de « micropolluants dans l'eau et autre chromatographie liquide ». Merci enfin à ma Farandole des Prés II, dite « Finou ». Il n'est pas commun de remercier sa jument mais elle mérite cette place, elle a été mon moment d'évasion, mon moyen de faire retomber le stress et la pression chaque jour et tout au long de cette thèse.





# TABLE DES MATIÈRES

<b>LISTE DES ABREVIATIONS .....</b>	<b>V</b>
<b>LISTE DES FIGURES .....</b>	<b>VII</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX .....</b>	<b>XI</b>
<b>INTRODUCTION GENERALE .....</b>	<b>1</b>
<b>CHAPITRE I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>7</b>
I.1 TRAITEMENT BIOLOGIQUE DES EAUX USEES.....	7
I.1.1 <i>Traitement par boues activées</i> .....	8
I.1.1.1 Rôle des microorganismes et activité microbienne .....	8
I.1.1.2 Procédés à cultures libres.....	12
I.1.1.3 Procédés à cultures fixées .....	14
I.1.2 <i>Traitement et valorisation des boues de STEP</i> .....	17
I.1.3 <i>Traitements tertiaires</i> .....	18
I.1.3.1 Exemple de la cavitation hydrodynamique.....	18
I.2 MICROPOLLUANTS ISSUS DE L'ACTIVITÉ DOMESTIQUE.....	20
I.2.1 <i>Les composés perfluorés : PFOA et PFOS</i> .....	20
I.2.2 <i>Les antibiotiques : érythromycine et ofloxacine</i> .....	26
I.2.3 <i>Un antidouleur : l'ibuprofène</i> .....	32
I.2.4 <i>Un alkylphénol : le 4-nonylphénol</i> .....	35
I.2.5 <i>Un biocide : le triclosan</i> .....	40
I.2.6 <i>Un édulcorant : le sucralose</i> .....	43
I.3 EFFICACITÉ DE FONCTIONNEMENT DE STATIONS DE TRAITEMENT DES EAUX USEES ET LEGISLATION .....	47
I.3.1 <i>Efficacité des traitements d'épuration en France</i> .....	47
I.3.1.1 <i>Projet AMPERES</i> .....	47
I.3.1.2 <i>Plan national sur les résidus de médicaments dans les eaux</i> .....	51
I.3.1.3 <i>Campagne nationale d'occurrence des alkyl perfluorés dans les eaux destinées à la consommation humaine</i> .....	54
I.3.1.4 <i>Campagne exploratoire sur la présence des micropolluants émergents</i> .....	56
I.3.2 <i>Un point sur la législation</i> .....	58
I.4 METHODES D'EXTRACTION ET DE DETECTION .....	62
I.4.1 <i>Extraction des molécules cibles de la phase dissoute</i> .....	62
I.4.1.1. L'extraction liquide-liquide (LLE) .....	62
I.4.1.2. L'extraction sur phase solide (SPE).....	63
I.4.1.3. La microextraction sur phase solide (SPME) .....	64
I.4.1.4. L'extraction par barreau adsorbant (SBSE).....	64
I.4.1.5. L'échantillonnage passif .....	65
I.4.2 <i>Extraction des molécules cibles de la phase solide</i> .....	66
I.4.2.1. L'extraction par agitation.....	66
I.4.2.2. L'extraction solide-liquide type soxhlet .....	66
I.4.2.3. L'extraction par liquide pressurisé.....	66
I.4.3 <i>Techniques de purification</i> .....	67

I.4.4 Analyse des micropolluants par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse .....	67
I.4.4.1 La chromatographie liquide .....	68
I.4.4.1 La spectrométrie de masse .....	69
I.4.5 Méthodes de quantification.....	70
I.4.5.1 L'étalonnage externe.....	70
I.4.5.2 L'étalonnage interne .....	71
<b>CHAPITRE II. MATERIELS ET METHODES .....</b>	<b>73</b>
II.1 SITES ET METHODES DE PRELEVEMENT.....	73
II.1.1 Eaux usées urbaines .....	73
II.1.1.1 Réseau d'assainissement des eaux urbaines de Clairlieu : zone résidentielle .	73
II.1.1.2 Réseau d'assainissement des eaux urbaines de Brabois : zone mixte .....	74
II.1.2 Stations d'épuration .....	75
II.1.2.1 Station d'épuration de Nancy-Maxéville.....	75
II.1.2.2 Station d'épuration de Pont-à-Mousson .....	76
II.1.3 Stratégie de prélèvements.....	78
II.2 ANALYSE DES PARAMETRES CLASSIQUES .....	78
II.2.1 Protocole d'analyse de la DCO.....	79
II.2.2 Protocole d'analyse de l'ammonium.....	80
II.2.3 Protocole d'analyse des matières sèches et volatiles.....	80
II.3 TRAÇAGE ISOTOPIQUE DES INFILTRATIONS D'EAU .....	81
II.4 ANALYSE DES MICROPOLLUANTS .....	82
II.4.1 Matériels et réactifs.....	82
II.4.2 Conditions analytiques LC-MS/MS pour l'analyse multi-résidus.....	83
II.4.2.1 Quantification, gammes et limites de quantification.....	88
II.4.3 Conditions analytiques UPLC®-MS/MS pour l'analyse des PFC.....	90
II.4.3.1 Quantification, gammes et limites de quantification.....	93
II.4.4 Préparation des échantillons : optimisation et validation des protocoles .....	94
II.4.4.1 Protocole d'extraction multi-résidus de la phase liquide.....	95
II.4.4.1.1 Optimisation de la SPE sur l'eau d'Evian .....	95
II.4.4.1.2 Optimisation du protocole sur la matrice réelle eau usée .....	99
II.4.4.1.3 Validation du protocole d'extraction sur la matrice eau usée .....	100
II.4.4.1.4 Effets de la centrifugation et filtration des échantillons, de la centrifugation des extraits et blancs préleveur .....	101
II.4.4.2 Protocole d'extraction des PFC de la phase liquide .....	101
II.4.4.2.1 Optimisation de la SPE sur la matrice eau usée .....	101
II.4.4.2.2 Validation du protocole d'extraction sur la matrices eau usée.....	104
II.4.4.2.3 Effets de la centrifugation, de la filtration et blancs préleveur.....	104
II.4.4.3 Les micropolluants en phase liquide : résumé des protocoles d'extraction ..	106
II.4.4.4 Protocole d'extraction des micropolluants de la phase solide.....	107
II.4.4.5 Les micropolluants en phase solide : résumé des protocoles d'extraction et purification .....	108
II.6 METHODES D'ANALYSE POUR L'EVALUATION DE L'IMPACT DES MICROPOLLUANTS SUR LA FLORE BACTERIENNE.....	110
II.6.1 Impact sur la croissance bactérienne.....	110
II.6.1.1 Conditions de culture de la souche bactérienne.....	110
II.6.1.2 Manipulation et traitement des résultats.....	110
II.6.2 Impact sur les EPS solubles et liées dans les boues de STEP .....	113
II.6.2.1 Utilisation de réacteurs batch .....	113

II.6.2.2 Extraction et analyse des EPS .....	113
II.6.2.3 Analyse des EPS .....	115

### **CHAPITRE III. RÉSULTATS DES CAMPAGNES DE PRÉLÈVEMENT ET DISCUSSIONS ..... 117**

#### **III.1 DEVENIR DES MICROPOLLUANTS DANS UNE STATION D'ÉPURATION BIOLOGIQUE : PONT-À-MOUSSON..... 119**

##### *III.1.1 Campagnes de prélèvement : mesures et étude statistique ..... 119*

III.1.1.1 Résultats obtenus pour les six micropolluants : érythromycine, ibuprofène, 4-nonylphénol, ofloxacine, sucralose et triclosan. .... 119

III.1.1.2 Résultats obtenus pour PFOA et PFOS..... 132

III.1.1.3 Étude statistique ..... 135

III.1.1.3.1 Analyse en Composante Principale (ACP) ..... 135

a. Relations entre la micro et la macropollution entrant à la STEP ..... 135

b. Relations entre la micro et la macropollution entrant et sortant de la STEP ..... 137

III.1.1.3.1 Régression linéaire multiple..... 139

a. Relation entre les concentrations en micro et macropolluants en entrée de STEP 139

b. Relations entre les concentrations en micropolluants en sortie de STEP et la micropollution mesurée en entrée de STEP et la macropollution mesurée en sortie.... 144

c. Relations entre les concentrations en micropolluants en sortie de STEP et la macropollution mesurée en entrée et en sortie de STEP ..... 147

*III.1.2 Autres résultats..... 150*

III.1.2.1 Prise en compte du temps de rétention hydrauliques de la STEP de Pont-à-Mousson ..... 150

III.1.3.1 Flux de micropolluants..... 152

#### **III.2 PRÉSENCE DE MICROPOLLUANTS DANS LES EAUX USÉES URBAINES NANCÉIENNES ET LEUR DEVENIR EN STATION D'ÉPURATION..... 155**

*III.2.1 Campagnes de prélèvement : mesures et étude statistique ..... 155*

*III.2.2 Autres résultats..... 185*

III.2.2.1 Prise en compte du temps de rétention hydraulique de la STEP de Nancy-Maxéville..... 185

III.2.2.2 Flux de micropolluants..... 187

a. À la STEP de Nancy-Maxéville..... 187

b. Dans les égouts..... 189

#### **III.3 COMPARAISON DES DEUX STATIONS D'ÉPURATION ÉTUDIÉES ..... 191**

a. Comparaison de la macropollution ..... 191

b. Comparaison de la micropollution ..... 192

c. Comparaison des études statistiques..... 194

### **CHAPITRE IV. RÉSULTATS DES ÉTUDES MENÉES EN LABORATOIRE ET DISCUSSIONS ..... 197**

#### **IV.1 IMPACT DES MICROPOLLUANTS SUR LE VIVANT..... 198**

#### **IV.2 ÉLIMINATION DES MICROPOLLUANTS PAR LES BOUES ACTIVÉES ; SUIVI CINÉTIQUE EN LABORATOIRE ..... 210**

<b>CONCLUSION GENERALE .....</b>	<b>213</b>
<b>PERSPECTIVES.....</b>	<b>217</b>
<b>REFERENCES .....</b>	<b>219</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>232</b>

---

## LISTE DES ABREVIATIONS

---

AcCN	Acétonitrile
AINS	Anti-inflammatoire non stéroïdien
AFNOR	Agence Française de Normalisation
AMPA	Aminomethyl-phosphonic acid
AMPERES	Analyse des Micropolluants Prioritaires et Emergents dans les Rejets et les Eaux de Surface
ANSES	Agence Nationale de Sécurité Sanitaire, Alimentation, Environnement et Travail
DCE	Directive cadre sur l'eau
DGS	Direction générale de la santé
DJA	Dose journalière acceptable
DBO	Demande biologique en oxygène [mg/L]
DCO	Demande chimique en oxygène [mg/L]
EH	Equivalent habitant
EPS	Substance polymérique extracellulaire
ERY	Érythromycine
ESI	Ionisation électrospray
HPLC	Chromatographie liquide haute pression
IBU	Ibuprofène
INERIS	Institut National de l'Environnement industriel et des Risques
LHN	Laboratoire d'Hydrologie de Nancy
LC-MS/MS	Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem
LCPME	Laboratoire de Chimie Physique et Microbiologie pour l'Environnement
LD	Limite de détection
LLE	Extraction liquide-liquide
LQ	Limite de quantification
MeOH	Méthanol
MES	Matières en suspension
MRM	Multiple reaction monitoring
MS	Matières sèches
MVS	Matières volatiles en suspension

NQE	Norme de qualité environnementale
4-NP	4-nonylphénol
OFL	Ofloxacine
ONEMA	Office National de l'Eau et des Milieux Aquatiques
ORL	Oto-rhino-laryngologie
PEHD	Polyéthylène haute densité
PFBA	Acide perfluorobutanoïque
PFBS	Sulfonate de perfluorobutane
PFDA	Acide perfluorodécanoïque
PFC	Composé perfluoré
PFHpA	Acide perfluoroheptanoïque
PFHxA	Acide perfluorohexanoïque
PFHxS	Sulfonate de perfluorohexane
PFNA	Acide perfluorononanoïque
PFOA	Acide perfluorooctanoïque
PFOS	Perfluorooctane sulfonate
PFPeA	Acide perfluoropentanoïque
PP	Polypropylène
PTFE	Polytétrafluoroéthylène ou Téflon®
PVDF	Polyfluorure de vinylidène
SPE	Extraction sur phase solide
STEP	Station d'épuration
SUC	Sucralose
TIC	Courant total ionique
TCS	Triclosan
UPLC®	Chromatographie liquide ultra performante

---

## LISTE DES FIGURES

---

Figure I-1 : Schéma simplifié d'un système à boues activées.....	12
Figure I-2 : Schéma simplifié d'une station de lagunage naturel.....	13
Figure I-3 : Station de lagunage de Rochefort (Charente-Maritime). ....	14
Figure I-4 : Représentation schématique a) du procédé à disques biologique et b) du système à lit bactérien.....	15
Figure I-5 : Supports poreux utilisés pour la croissance des microorganismes dans les lits bactériens : a) pouzzolane, roche naturelle volcanique alvéolaire, b) matériau plastique. ....	15
Figure I-6 : Photos de la station d'épuration par filtres plantés de roseaux de Mars-là-Tour (Lorraine). ....	16
Figure I-7 : Représentation schématique des réactions se produisant dans une bulle de cavitation (Rebattet 2009). ....	19
Figure I-8 : Formules développées de l'acide perfluorooctanoïque (PFOA) et du perfluorooctane sulfonate (PFOS).....	20
Figure I-9 : Nombre de publications parues sur les composés perfluorés, PFOA et PFOS, chaque année, depuis 1992. Classification en fonction des domaines suivants : Toxicité et impact des molécules sur le milieu naturel, Présence dans le vivant et les aliments, Présence dans l'environnement, Comportement en station d'épuration, et Elimination et dégradation. 25	25
Figure I-10 : Formules développées de l'érythromycine (ERY) et de l'ofloxacin (OFL). ....	26
Figure I-11 : Propriétés d'adsorption et mobilité des antibiotiques dans l'environnement (Bonot 2010). ....	28
Figure I-12 : Nombre de publications parues sur l'érythromycine et l'ofloxacin chaque année, depuis 1992. Classification en fonction des domaines suivants : Toxicité et impact des molécules sur le milieu naturel, Présence dans le vivant et les aliments, Présence dans l'environnement, Comportement en station d'épuration, et Elimination et dégradation. ....	31
Figure I-13 : Formule développée de l'ibuprofène. Carbone asymétrique. ....	32
Figure I-14 : Principaux produits de dégradation de l'ibuprofène dans le corps humain (d'après Hutt 1983). ....	33
Figure I-15 : Nombre de publications parues sur l'ibuprofène chaque année, depuis 1992. Classification en fonction des domaines suivants : Toxicité et impact des molécules sur le milieu naturel, Présence dans le vivant et les aliments, Présence dans l'environnement, Comportement en station d'épuration, et Elimination et dégradation. ....	34
Figure I-16 : Formules développées d'une molécule de 4-nonylphénol et du 4-n-nonylphénol. ....	35
Figure I-17 : Voies de dégradation biologique des alkylphénols polyéthoxylés (source d'alkylphénols) (Ying et al. 2003). ....	36
Figure I-18 : Nombre de publications parues sur le 4-nonylphénol chaque année, depuis 1992. Classification en fonction des domaines suivants : Toxicité et impact des molécules sur le milieu naturel, Présence dans le vivant et les aliments, Présence dans l'environnement, Comportement en station d'épuration, et Elimination et dégradation. ....	39

Figure I-19 : Formule développée du triclosan. ....	40
Figure I-20 : a. Dégradation du TCS en présence de chlore libre, proposée par Canosa et al. (2005), b. photodégradation du TCS proposée par Lores et al. (2005).....	40
Figure I-21 : Nombre de publications parues sur le triclosan chaque année, depuis 1992. Classification en fonction des domaines suivants : Toxicité et impact des molécules sur le milieu naturel, Présence dans le vivant et les aliments, Présence dans l'environnement, Comportement en station d'épuration, et Elimination et dégradation. ....	42
Figure I-22 : Formule développée du sucralose et ses produits de dégradation obtenus par hydrolyse en milieu acide.....	43
Figure I-23 : Nombre de publications parues sur le sucralose chaque année, depuis 1992. Classification en fonction des domaines suivants : Toxicité et impact des molécules sur le milieu naturel, Présence dans le vivant et les aliments, Présence dans l'environnement, Comportement en station d'épuration, et Elimination et dégradation. ....	45
Figure I-24 : Répartition des micropolluants (pourcentage) dans les eaux d'entrée et de sortie de STEP. Adapté de Esperanza et al. (2009).....	48
Figure I-25 : Fréquence de quantification des différentes molécules dans les ressources et dans les eaux destinées à la consommation humaine en fonction de l'origine de l'eau : eau de surface (ESU) et eau souterraine (ESO).....	52
Figure I-26 : Abattements moyens des molécules en fonction des filières de traitement. ....	53
Figure I-27 : Carte des villes et rivières majeures en France. Les ronds grisés représentent les points d'échantillonnages pour lesquels au moins un PFC a été quantifié (concentration supérieure à la limite de quantification).....	55
Figure I-28 : Comparaison de 41 paires d'échantillons eau brute/eau traitée. Nombre d'échantillons présentant un niveau de concentration en PFC supérieur à la limite de quantification (4 ng/L pour chaque composé) (Boiteux et al. 2012). ....	55
Figure I-29 : Protocole classique d'extraction sur phase solide (SPE). ....	64
Figure I-30 : Vue explosée d'un dispositif à échantillonnage passif montrant la couche adsorbante contenue entre deux disques de membrane eux-mêmes maintenus entre deux supports circulaires.....	65
Figure I-31 : Principe de la spectrométrie de masse en tandem. ....	70
Figure II-1 : Lotissement de Clairlieu (gauche) et technopôle de Brabois (droite) vus du ciel [source Google Map].....	75
Figure II-2 : Stations d'épuration de Nancy-Maxéville (à gauche) et de Pont-à-Mousson (à droite) vues du ciel [source Google Map]. ....	77
Figure II-3 : Photo de l'appareil LC-MS/MS (Thermo Scientific). ....	83
Figure II-4 : Chromatogramme (TIC) des quatre molécules (et leurs étalons internes) analysées en mode ESI -, à la limite de quantification.....	85
Figure II-5 : Chromatogramme (TIC) des deux molécules et de l'étalon interne analysés en ESI +, à la limite de quantification.....	86
Figure II-6 : Photo de l'UPLC <sup>®</sup> -MS/MS (Waters).....	90
Figure II-7 : Chromatogramme (TIC) des 10 PFC étudiés par l'ANSES, à la limite de quantification.....	91

Figure II-8 : Schéma de la démarche mise en place pour l'analyse des micropolluants cibles. ....	95
Figure II-9 : Composition du support d'une cartouche Oasis <sup>®</sup> HLB. ....	96
Figure II-10 : Influence du pH sur les rendements d'extraction des composés cibles, a) élution de la cartouche au méthanol, b) élution de la cartouche à l'acétonitrile. ....	97
Figure II-11 : Schéma du montage de SPE pour l'extraction multi-résidus. ....	99
Figure II-12 : Influence du volume de prise d'essai sur les rendements d'extraction des micropolluants dans l'eau usée. ....	100
Figure II-13 : Rendements d'extraction de la méthode multi-résidus pour des concentrations en micropolluants à la limite de concentration et en milieu de gamme, dans l'eau usée. ....	100
Figure II-14 : Schéma du montage de SPE pour l'extraction des composés perfluorés. ....	101
Figure II-15 : Composition du support d'une cartouche Oasis <sup>®</sup> WAX. ....	102
Figure II-16 : Moyenne des rendements d'extraction (n = 3) de PFOA et PFOS dans l'eau usée obtenus pour chaque fraction de 2 mL (2 × 1 mL) de solvant (NH <sub>4</sub> OH 0,1 % dans MeOH). ....	103
Figure II-17 : Rendements d'extraction moyens de PFOA et PFOS dans les quatre matrices : Evian, eau du robinet, eau superficielle, et eau usée a) à la limite de quantification, b) à une concentration en milieu de gamme. ....	104
Figure II-18 : Rendements d'extraction de PFOA et PFOS ajoutés dans une eau usée avant les étapes de centrifugation, filtration, et SPE (n = 3). ....	105
Figure II-19 : Protocoles d'extraction a) des composés perfluorés et b) des autres molécules (multi-résidus) en phase liquide. ....	106
Figure II-20 : Rendements d'extraction moyens de PFOA et PFOS dans la boue. ....	108
Figure II-21 : Protocoles d'extraction des huit micropolluants étudiés dans la phase solide et méthodes de purification a) des composés perfluorés et b) des autres molécules (multi-résidus). ....	109
Figure II-22 : Schéma de dilution de la culture bactérienne et exposition à différentes concentrations en micropolluants. ....	111
Figure II-23 : Courbe de croissance typique obtenue à partir de la souche MG1655 dans le milieu LB. ....	112
Figure II-24 : Exemple de courbes de croissance bactérienne indiquant une toxicité (g augmentant). ....	112
Figure II-25 : Réacteurs batch de 4 L utilisés lors des expérimentations. ....	113
Figure II-26 : Schéma du protocole d'extraction des EPS liées dans les boues (Avella et al. 2010). ....	114
Figure II-27 : Représentation schématique de la chromatographie d'exclusion par taille, a) séparation sur la colonne, b) chromatogramme obtenu, c) courbe d'étalonnage. ....	116
Figure III-1 : Concentrations en PFOA et PFOS dans la phase liquide, en entrée et sortie de STEP, mesurées lors des campagnes d'été et hiver 2011 à Pont-à-Mousson. ....	133
Figure III-2 : ACP (PC1 & PC2) : cercle de corrélation des paramètres mesurés (concentrations en micro et macropolluants) dans l'eau usée à l'entrée de STEP. ....	136

Figure III-3 : ACP (PC1 et PC2) : cercle de corrélation des paramètres mesurés (concentration en micro et macropolluants) dans les eaux usées d'entrée (« in ») et les eaux traitées de sortie (« out ») de station d'épuration. ....	138
Figure III-4 : Concentrations en micropolluants mesurées et calculées à l'entrée de la station d'épuration. Les valeurs calculées sont obtenues par les expressions du Tableau III-3. ....	143
Figure III-5 : Concentrations en micropolluants mesurées et calculées à la sortie de la station d'épuration. Les valeurs calculées sont obtenues par les expressions du Tableau III-5. ....	146
Figure III-6 : Concentrations en micropolluants mesurées et estimées à la sortie de la station d'épuration. Les valeurs calculées sont obtenues par les expressions du Tableau III-6. ....	149
Figure III-7 : Concentrations moyennes journalières lors de la campagne de prélèvement d'été 2012 à la STEP de Pont-à-Mousson. Prélèvements réalisés sur 24 h en entrée et 72 h (trois jours : J1, J2 et J3) en sortie de STEP. ....	151
Figure III-8 : Concentrations moyennes journalières lors de la campagne de prélèvement d'été 2012 à la STEP de Nancy-Maxéville. Prélèvements réalisés sur 24h en entrée et 72h en sortie de STEP. ....	186
Figure IV-1 : Quantités de micropolluants (en %) retrouvées dans les phases liquide et solide des réacteurs batch a) fortement aéré, b) faiblement aéré. ....	212

---

## LISTE DES TABLEAUX

---

Tableau I-1 : Occurrence des PFC dans les stations d'épuration et les ressources en eaux.....	23
Tableau I-2 : Occurrence de l'érythromycine et de l'ofloxacine dans les stations d'épuration et les ressources en eaux. ....	30
Tableau I-3 : Occurrence de l'ibuprofène dans les stations d'épuration et les ressources en eaux. ....	33
Tableau I-4 : Occurrence du 4-nonylphenol dans les stations d'épuration et les ressources en eaux. ....	38
Tableau I-5 : Occurrence du triclosan dans les stations d'épuration et les ressources en eaux. ....	41
Tableau I-6 : Occurrence du sucralose dans les stations d'épuration et les ressources en eaux. ....	44
Tableau I-7 : Propriétés physico-chimiques des micropolluants étudiés et leurs concentrations couramment mesurée dans l'eau usée (phase liquide) entrant en STEP. ....	46
Tableau I-8 : Efficacité des traitements primaires. Adapté de Martin-Ruel et al. (2009). ....	49
Tableau I-9 : Efficacité des traitements tertiaires d'affinage et avancés. Adapté de Martin-Ruel et al. (2009). ....	50
Tableau I-10 : Performances minimales des stations d'épuration devant traiter une charge brute de pollution organique supérieure à 120 kg/j de DBO5. ....	60
Tableau I-11 : Valeurs maximales acceptables dans l'eau potable en Allemagne et dans différents états des Etats-Unis. ....	61
Tableau II-1 : Concentrations moyennes des paramètres caractérisant l'affluent des STEP de Nancy-Maxéville et de Pont-à-Mousson. ....	78
Tableau II-2 : Conditions chromatographiques pour l'analyse de : sucralose, ibuprofène, triclosan et 4-nonylphénol. ....	84
Tableau II-3 : Conditions chromatographiques HPLC pour l'analyse de : érythromycine et ofloxacine. ....	86
Tableau II-4 : Paramètres de la source ESI en mode négatif et positif. ....	87
Tableau II-5 : Transitions MRM des composés de la méthode multi-résidus ; mode d'ionisation (+ : positif, - : négatif), tension de cône et énergies de collision appliquées. ....	88
Tableau II-6 : Liste des étalons internes associés à chaque composé. ....	88
Tableau II-7 : Gammes de concentration de chaque composé et leurs limites de quantification. ....	89
Tableau II-8 : Conditions chromatographiques UPLC. ....	91
Tableau II-9 : Temps de rétention (Tr) des 10 PFC analysés. ....	91
Tableau II-10 : Paramètres de la source ESI en mode négatif. ....	92
Tableau II-11 : Transitions MRM des PFC ionisés en ESI -, tension de cône et énergies de collision appliquées. ....	92

Tableau II-12 : Concentrations en étalons internes dans les vials.....	94
Tableau III-1 : Campagnes de prélèvement réalisées et analyses effectuées sur les différents sites étudiés .....	118
Tableau III-2 : Concentrations moyennes journalières de PFOA et PFOS en entrée (eau usée et matières en suspension) et sortie (eau épurée et boue biologique) de STEP lors des campagnes d'été et hiver 2011 à Pont-à-Mousson.....	134
Tableau III-3 : Corrélations entre variables explicatives (macropollution) et variables à expliquer (micropollution) ayant subi différentes transformations.....	140
Tableau III-4 : Structures des régressions linéaires décrivant la concentration des micropolluants en entrée de STEP en fonction de la macropollution mesurée en entrée, et les coefficients de corrélation (r) du modèle. ....	141
Tableau III-5 : Corrélations entre les paramètres de micro et macropollution. Les corrélations maximales sont en gras. ....	142
Tableau III-6 : Structures des régressions linéaires décrivant les concentrations en micropolluants en sortie de STEP en fonction de la macropollution mesurée à la sortie de STEP et de la micropollution mesurée en entrée. Coefficients de corrélation des modèles (r). ....	144
Tableau III-7 : Structures des régressions linéaires décrivant les concentrations en micropolluants en sortie de STEP en fonction de la macropollution mesurée en entrée et sortie de STEP, et coefficients de corrélation (r) des modèles. ....	147
Tableau III-8 : Concentrations moyennes journalières et flux journaliers (en g/j) des micropolluants dans la phase liquide en entrée et sortie de la STEP de Pont-à-Mousson, pour chaque campagne de prélèvement. Les débits d'eau sont indiqués en gras pour chaque campagne (m <sup>3</sup> /j). ....	153
Tableau III-9 : Flux journaliers pour chaque campagne prélèvement et flux journaliers moyens, des micropolluants (en g/j) rejetés dans la phase liquide en sortie de la STEP de Pont-à-Mousson. Estimation des rejets annuels.....	154
Tableau III-10 : Concentrations moyennes journalières et flux journaliers (en g/j) des micropolluants dans la phase liquide en entrée et sortie de la STEP de Nancy-Maxéville, pour chaque campagne de prélèvement. Les débits d'eau sont indiqués en gras pour chaque campagne (m <sup>3</sup> /j). ....	188
Tableau III-11 : Flux journaliers moyens des micropolluants (en g/j) dans la phase liquide en sortie de la STEP de Nancy-Maxéville, et estimation des rejets annuels. ....	189
Tableau III-12 : Flux journaliers (en g/j/EH) des micropolluants dans la phase liquide des sites de Clairlieu (zone résidentielle) et Brabois (zone mixte) pour chaque campagne de prélèvement. Les débits d'eau usée (m <sup>3</sup> /j) et le nombre d'EH sont indiqués en gras pour chaque campagne. ....	190
Tableau III-13 : Macropollution moyenne (± écart-type) en termes de DCO (mg/L), ammonium (mg/L), et turbidité (NTU), mesurée en entrée et sortie des deux STEP étudiées. ....	191
Tableau III-14 : Flux de micropolluants moyens journaliers par équivalent habitant (g/j/EH) dans l'eau épurée en sortie des deux STEP étudiées.....	194

Tableau III-15 : Concentrations moyennes en micropolluants ( $\pm$ écart-type) mesurées dans les phases liquides en entrée et sortie des deux STEP étudiées. Le rendement d'élimination est indiqué à l'aide du code couleur (légende sous le tableau).....	193
Tableau III-16 : Corrélations entre les concentrations mesurées en entrée des deux STEP étudiées.....	195
Tableau IV-1 : Niveaux de dopage en micropolluants dans les réacteurs étudiés. ....	210



---

# INTRODUCTION GENERALE

---

## Contexte sociétal

Le milieu urbain s'est assaini tout au long du XIX<sup>ème</sup> siècle. Les premiers grands programmes d'assainissement à Paris visaient à déplacer les foyers d'insalubrité aux limites de la ville (injection des eaux usées dans le sous-sol à plusieurs dizaines de mètres de profondeur dès les années 1830, création de champs d'épandage en dehors de la ville à partir des années 1850, ...), ce qui suscita de vives polémiques. L'assainissement généralisé de l'espace public a été réalisé lors de grands travaux dans la deuxième moitié du XIX<sup>ème</sup>. Il a été effectué au travers de l'aménagement des voiries, de la mise en place de tout-à-l'égout et de réseaux de distribution de l'eau, et de la collecte des ordures. Cette profonde mutation de l'environnement urbain s'est appuyée sur l'essor de l'hygiène publique grâce au travail des médecins dénonçant la nocivité de l'espace urbain, et sur la révolution industrielle et le travail des ingénieurs réaménageant l'espace urbain (Barles 1999).

L'industrialisation et les changements profonds de la société du XX<sup>ème</sup> siècle ont eu pour revers la dégradation des cours d'eau et des ressources souterraines par les rejets industriels, puis, depuis les années 50, par la pollution agricole liée à l'essor de l'agriculture française et l'utilisation d'engrais et de pesticides. Depuis quelques décennies, l'utilisation croissante de médicaments et de produits chimiques facilitant la vie quotidienne contribue à dégrader la qualité des ressources en eau au travers des rejets des eaux usées domestiques.

On s'inquiète aujourd'hui de la présence dans les ressources en eau de produits cosmétiques, pharmaceutiques et d'autres encore, bien qu'en faible concentration ( $\mu\text{g/L}$  ou  $\text{ng/L}$ ), mais dont on ne connaît pas, ou peu, leurs effets à long terme sur les humains et écosystèmes (UNESCO 2009). Cette pollution chimique est aussi appelée pollution émergente, venant du fait qu'elle n'était pas mesurée et/ou pas détectée auparavant (essor des techniques analytiques), qu'il n'existe pas de statut réglementaire pour un grand nombre de molécules utilisées au quotidien et que la question sur leurs risques (pour l'environnement et pour la santé) est récente.

Les substances chimiques offrent des avantages dont la société moderne ne saurait plus se passer. Près de 100 000 substances différentes ont été enregistrées sur le marché communautaire en 1981 et environ 2700 nouvelles ont été recensées en 2001 (Union Européenne 2001). Face aux préoccupations croissantes, la Commission Européenne a introduit le système REACH (Registration, Evaluation and Autorisation of Chemicals) afin de

résorber « l'héritage du passé » et d'acquérir des connaissances sur les substances que l'industrie souhaite continuer à commercialiser. Etant donné le nombre de substances sur le marché, la Commission a accordé une priorité aux substances qui sont responsables d'une exposition importante ou qui sont préoccupantes en raison de leurs propriétés dangereuses ou suspectées.

Pour protéger la santé humaine et promouvoir un environnement non toxique la Commission, dans son livre blanc (Union Européenne 2001), a proposé une stratégie pour refondre profondément les pratiques de notre société. En voici quelques objectifs :

- Rendre les industriels responsables de la sécurité (ils ne doivent mettre sur le marché que des produits qui ne présentent pas de danger pour les utilisations auxquelles ils sont destinés)
- Prêter une attention particulière aux effets chroniques à long terme, et aux polluants organiques persistants qui se déplacent à grandes distances et s'accumulent dans l'environnement et dans les tissus vivants
- Augmenter la connaissance et la production de données
- Informer le public
- Mettre en œuvre le respect de la législation
- Protéger les ressources en eau...

La Directive Cadre sur l'Eau (DCE) (Directive 2000/60/CE) a mis en place une politique communautaire dans le domaine de l'eau au niveau Européen. Elle vise le retour à un bon état écologique et chimique des masses d'eau (souterraines, de surface et des eaux côtières) d'ici 2015. La DCE met à jour tous les quatre ans une liste de substances qui sont considérées comme étant des micropolluants prioritaires et dangereux prioritaires à surveiller (dont le déversement sera progressivement interdit). Cette liste comptait 33 molécules en 2000 et 41 en 2008, réparties en quatre catégories : pesticides, métaux lourds, polluants industriels et autres polluants. Actuellement 11 autres molécules sont en révision pour en faire partie.

### **Contexte scientifique**

Les pollutions industrielles et agricoles sont considérées depuis longtemps comme un problème sociétal. Mais la prise de conscience de pollution issue de notre activité domestique n'est que très récente, le nombre d'articles scientifiques étant en augmentation que depuis quelques années (Pasquini et al. 2013). La communauté scientifique et les industriels ont engagé des recherches communes sur la présence de ces résidus dans le milieu naturel et leur

impact tant sur la santé que sur l'environnement. Traitements médicamenteux (antibiotiques, hormones, anticancéreux, analgésiques...), produits d'hygiène corporelle (savons, crèmes...), produits d'entretien (détergents...), composés utilisés dans le traitement des textiles (hydrofuges...) ou dans la fabrication de revêtements antiadhésifs (poêle, emballages...)... sont tout autant de produits qui sont acheminés, après leur utilisation dans notre vie quotidienne, vers les filières de traitement des eaux usées. Les procédés d'épuration des eaux usées, initialement conçus pour l'abattement de la macropollution, ne sont pas forcément adaptés à l'élimination des micropolluants. Ces derniers peuvent ainsi se retrouver disséminés dans le milieu naturel au travers des effluents des stations d'épuration (STEP) (eau épurée et boues). En France, le projet de recherche AMPERES, mené de 2006 à 2008 sur le devenir de 127 substances (métaux, pesticides, pharmaceutiques...) dans les filières d'épuration, a mis en évidence l'insuffisance d'épuration par les procédés classiques. Les procédés tertiaires (d'affinage ou avancés) permettent cependant d'améliorer considérablement l'élimination des micropolluants (Ruel et al. 2011).

Les procédés d'épuration des eaux usées reposent sur la capacité des bactéries à dégrader la pollution organique en l'utilisant pour leur propre développement. Les paramètres classiques contrôlés par les autorités et qui permettent de définir l'efficacité d'épuration d'un traitement biologique sont basés sur l'élimination de la macropollution : les matières en suspension et la pollution organique carbonée, azotée et phosphorée. Excepté pour quelques molécules, les quantités et le devenir des micropolluants d'origine domestique dans les stations d'épuration ne sont ni connus ni contrôlés. Ils peuvent ainsi être rejetés dans le milieu naturel via les eaux épurées ou par l'épandage des boues de stations d'épuration.

Pour pallier ce manque de connaissances et de suivi il faut disposer des méthodes d'analyse permettant l'identification, la détection et la quantification de ces molécules. Les méthodes commencent donc à être élaborées, motivées par l'intérêt grandissant pour la micropollution d'origine urbaine. Parmi les dernières avancées analytiques, la spectrométrie de masse, couplée à des méthodes séparatives (chromatographie liquide ou gazeuse), permet une analyse sensible et sélective des micropolluants présents dans des matrices environnementales complexes (sols, eaux usées, boues...).

### **Orientation de l'étude**

Ce travail de thèse s'inscrit dans la nécessité d'accroître nos connaissances sur la présence de micropolluants dans le milieu urbain et leur devenir en station d'épuration. Parmi

les centaines de molécules issues de l'activité domestique et pouvant être rejetées dans nos eaux usées, seuls huit micropolluants ont été choisis pour notre étude : deux antibiotiques (érythromycine et ofloxacine), un anti-inflammatoire (l'ibuprofène), un antibactérien (le triclosan), un produit de dégradation des détergents (le 4-nonylphénol), un édulcorant (le sucralose) et deux composés perfluorés omniprésents dans différents usages (PFOA et PFOS). Ce choix a été fait i) en fonction de l'usage des molécules, ii) selon leur propriétés physico-chimiques, mais également iii) selon l'intérêt sociétal qui leur était porté. En effet, les composés pharmaceutiques et perfluorés présentaient d'ores et déjà un intérêt pour la Direction Générale de la Santé (service de l'administration française chargé de préparer la politique de santé publique en France, et d'aider à sa mise en œuvre) qui a initié plusieurs campagnes nationales en 2009 afin d'étudier la présence de ces familles de molécules dans les eaux (de surface et souterraines) destinées à la potabilisation. Il nous semblait donc utile et intéressant de suivre quelques uns de ces micropolluants dans les eaux urbaines et en station d'épuration.

L'objectif de ce travail consistait à faire un état des lieux sur la présence de micropolluants cibles dans les eaux usées urbaines entrants en station d'épuration et d'évaluer leur devenir. La présence des micropolluants dans l'eau mais également dans les boues d'épuration a été mesurée afin d'estimer la part de micropolluants éliminée par biodégradation et celle éliminée par adsorption (transfert de la pollution vers les boues).

L'étude a été effectuée sur deux stations d'épuration biologiques possédant des configurations différentes : une traitant les eaux usées d'une grande agglomération (270000 habitants) et une traitant les eaux usées d'une petite agglomération (24000 habitants). Pour mesurer les concentrations des micropolluants dans les égouts et dans les stations d'épuration, il a été nécessaire de mettre au point des méthodes d'analyse. Des méthodes d'extraction et d'analyse des huit micropolluants dans les matrices liquides (eau usée et eau traitée) et solides (matières en suspension et boue) ont été développées en collaboration avec le Laboratoire d'Hydrologie de Nancy (ANSES).

Dans une approche plus globale, l'intérêt s'est également porté sur l'impact des micropolluants sur la masse bactérienne des STEP qui assure la fonction épuratrice et qui peut être menacée par la toxicité de certaines molécules. Dans un premier temps, des tests de toxicité des micropolluants étudiés sur une souche bactérienne modèle (*Escherichia coli*) ont été réalisés en collaboration avec le LCPME, Nancy. Puis, dans un second temps, la sensibilité de la biomasse de STEP vis à vis des micropolluants a été étudiée: d'une part via

l'analyse des substances polymériques extracellulaires (EPS) sécrétés naturellement pour s'adapter au milieu et d'autre part par le suivi de la capacité d'épuration des boues biologiques en terme de paramètres classiques d'épuration (DCO, ammonium...). L'étude de l'impact des micropolluants sur la biomasse a été réalisée en réacteur batch en collaboration avec le LRGP, Nancy.

Ce travail de thèse est organisé en quatre chapitres. Certains résultats obtenus y sont présentés sous forme d'articles acceptés ou soumis.

*Le premier chapitre* de ce manuscrit présente *la synthèse bibliographique* des connaissances actuelles. La première partie fait l'inventaire des procédés de traitement des eaux usées existants et présente leurs principes de fonctionnement. Après une description détaillée des molécules étudiées dans la seconde partie, la troisième partie présente les résultats de plusieurs études menées en France sur ces molécules ainsi que les textes législatifs régissant la qualité des eaux traitées. Une quatrième partie récapitule les protocoles d'extraction, de purification et d'analyse de micropolluants décrits dans la littérature.

*Le deuxième chapitre*, divisé en six parties, décrit les *matériels et méthodes* utilisés ou mis en place au cours de cette thèse. La première partie présente les sites d'étude choisis, et le fonctionnement des stations d'épuration étudiées. Dans les parties suivantes sont décrit(e)s :

- les méthodes utilisées pour l'analyse des paramètres classiques.
- la méthode de traçage isotopique des infiltrations d'eau dans le réseau d'assainissement.
- les développements et validations des protocoles analytiques pour l'analyse de chaque groupe de molécules (composés perfluorés pour une méthode, les six autres molécules pour la seconde) dans les phases liquides et solides.
- les méthodes employées pour l'évaluation de l'impact des micropolluants sur la flore bactérienne.

*Le troisième chapitre* présente l'ensemble des résultats des campagnes de prélèvement. *Le devenir des micropolluants* dans les deux stations d'épuration étudiées et *l'occurrence des micropolluants* dans les eaux usées urbaines sont exposés. Afin de rechercher les relations entre micro et macropollution entrant et sortant des deux STEP étudiées, une étude statistique par analyse en composante principale (ACP) et par régression linéaire multiple des concentrations en micro et macropolluants mesurées dans les phases liquides (en entrée et en sortie) a été réalisée.

*Le quatrième chapitre* expose les résultats des études menées en laboratoire. Une première partie est consacrée aux résultats obtenus sur *l'impact des micropolluants* sur l'activité bactérienne en conditions de laboratoire (tests de croissance bactérienne, analyse des EPS des boues cultivées en réacteur batch). Une deuxième partie expose les résultats du *suivi cinétique* de l'élimination des micropolluants en réacteur batch.

Ce manuscrit se termine par une synthèse des principaux apports de ce travail, et présente les perspectives de recherche pour de futurs travaux.

## CHAPITRE I. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

---

Dans ce premier chapitre, les différents procédés de traitement biologique des eaux usées sont présentés. Le but est ensuite de faire le point sur les connaissances actuelles concernant les micropolluants issus de l'activité domestique étudiés : leurs propriétés physico-chimiques, leurs voies d'utilisation, de dégradation, et d'émission dans l'environnement sont données. Les niveaux de contamination des eaux et des boues et le recensement bibliographique sur chaque molécule est présenté. Une troisième partie fait l'inventaire des études menées en France sur les micropolluants et leur devenir dans les filières de traitement des eaux usées et de potabilisation. Ce chapitre se termine enfin par l'exposition (non exhaustive) des techniques pour l'extraction, la purification, l'analyse et la quantification des micropolluants dans les eaux et les matières solides.

### I.1 TRAITEMENT BIOLOGIQUE DES EAUX USEES

Le traitement biologique des eaux usées est pour l'essentiel basé sur l'activité de bactéries. Il vise à éliminer les effets sensoriellement perceptibles mais aussi certains éléments chimiques présents dans l'eau. Le but est de rendre l'eau acceptable par le milieu naturel en terme de pollution organique, azotée, phosphorée et particulaire.

Une station d'épuration des eaux usées classique est habituellement composée (Duchène 2005) :

- d'un prétraitement et d'un traitement primaire, physiques, qui permettent d'éliminer une grande partie des matières en suspension et des graisses (dégrillage, dessablage, déshuilage et décantation lamellaire des matières en suspension : les boues primaires)
- d'un traitement secondaire composé à la fois d'un traitement biologique, pour éliminer la pollution organique et minérale (azote), source de nutriments pour les microorganismes, et d'un traitement chimique pour améliorer la qualité de l'effluent (élimination du phosphore par ajout de chlorure ferrique, floculation des boues par ajout de polymère)
- et parfois, d'un traitement tertiaire, chimique ou physique, qui permet d'améliorer la qualité de l'épuration. Parmi les différents procédés existants (ozonation, nanofiltration...), l'oxydation avancée par cavitation sera présentée dans la partie I.1.3.1.

### **I.1.1 Traitement par boues activées**

C'est au début du XX<sup>ème</sup> siècle, et en s'appuyant sur les travaux de Pasteur, qu'Edward Arden et William Lockett donnent naissance au traitement biologique (Arden et Lockett 1914). Ils constatèrent la formation d'agrégats bactériens lors de l'aération continue d'eaux d'égout. La présence d'oxygène augmente l'activité bactérienne, ce qui accélère la dégradation naturelle de la matière organique. Cette biomasse active prend alors le nom de boues activées.

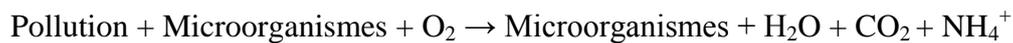
#### *I.1.1.1 Rôle des microorganismes et activité microbienne*

Il existe deux types de microorganismes présents dans les boues activées : les eucaryotes (protozoaires, métazoaires et champignons), qui possèdent une structure cellulaire évoluée (Jenkins et al. 1993), et les procaryotes (bactéries), de structure plus simple et qui sont les plus nombreux. Afin d'assurer la synthèse de nouveau matériel cellulaire, les microorganismes (eucaryotes et procaryotes) ont besoin de sources d'énergies qui sont : le carbone (organique ou minéral), et les nutriments (organiques ou inorganiques). Ainsi, les microorganismes transforment la pollution organique biodégradable en composés inorganiques (biodégradation en  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{CH}_4^+$ ,  $\text{H}_2$ ). Deux types de pollutions organiques se distinguent : la pollution primaire ou macropollution (carbonée, azotée et phosphorée), de l'ordre de plusieurs centaines de mg/L et la micropollution qui correspond aux substances contenues dans les eaux usées à des concentrations de l'ordre du nanogramme au microgramme par litre.

Le carbone organique est le principal constituant de la biomasse et est aussi la pollution principale à éliminer. La pollution azotée est contenue dans les protéines et l'urée (azote organique) mais aussi sous forme d'ammoniaque (hydrolyse de l'azote organique en azote minéral). À l'entrée d'une STEP, l'azote est présent sous forme de 60 à 75 % d'ammoniaque et 25 à 40 % d'azote organique soluble ou particulaire. Enfin, la pollution phosphorée est liée à la présence de phosphore sous forme d'orthophosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$ , minéral) ou de polyphosphates (phosphore organique) (Degremont 2005).

Les microorganismes sont naturellement présents dans les eaux usées et s'y développent en condition aérobie, ou anaérobie (Degrémont 2005) :

- En condition aérobie (eaux aérées) : le carbone et l'azote organique sont biodégradés et se retrouvent sous forme de  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_4^+$  et de biomasse. L'azote ammoniacal est ensuite oxydé en nitrites puis en nitrates (nitrification). On peut résumer le mécanisme par les équations suivantes :



- En condition anaérobie (à l'abri de l'air), ou milieu réducteur : les nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) sont réduits en azote gazeux ( $\text{N}_2$ ) (dénitrification) en présence d'un donneur d'électrons qui est soit le carbone organique encore présent dans l'eau brute, soit une source de carbone ajoutée telle que le méthanol ou un acétate.

La matière organique dégradée peut être quantifiée grâce à :

- La demande chimique en oxygène (DCO)
- La demande biochimique en oxygène (DBO)
- Le carbone organique total (COT)

La DCO permet d'estimer la quantité totale de matière oxydable (AFNOR 2001). Il s'agit d'une oxydation chimique, à chaud par le dichromate de potassium. La consommation globale de l'oxygène du dichromate de potassium est mesurée et est représentative de la majeure partie des composés organiques et minéraux oxydables. La DCO est exprimée en mg d' $\text{O}_2$  par litre.

La  $\text{DBO}_5$  correspond à la quantité d'oxygène dissout consommée par les microorganismes pour oxyder toute la matière organique biodégradable (pendant 5 jours, à  $20^\circ\text{C}$  et à l'obscurité) (AFNOR 1998). Les mesures de DBO et DCO permettent de déterminer la fraction de matière organique biodégradable par rapport à la quantité totale de matière organique présente dans une eau usée.

Le COT représente la teneur en carbone lié à la matière organique, et repose sur une mesure, par sonde à capteur infrarouge non dispersif, du  $\text{CO}_2$  émis après oxydation complète des matières organiques (généralement oxydation thermique à haute température (de  $800$  à  $1200^\circ\text{C}$ )).

Dans les procédés biologiques de traitement des eaux, les bactéries vivent sous forme d'agrégats biologiques tels que les biofilms et les floccs bactériens. Ces agrégats, de structure microbienne assez dense, résultent de l'accumulation des microorganismes, de substances polymériques extracellulaires (EPS), cations multivalents, fibres organiques, particules inorganiques, colloïdes et constituants solubles (Wingender et al. 1999). Les bactéries représentent 5 à 20 % de la partie organique de la boue, tandis que les EPS y contribuent entre 25 et 70 % (Frolund et al. 1996).

#### Les substances polymériques extracellulaires (origine, description, rôle, analyse des EPS)

Les EPS sont des produits microbiens situés sur ou à l'extérieur de la surface cellulaire et sont composés en majorité de polysaccharides et de protéines (de 75 à 90%) ainsi que d'une partie beaucoup plus réduite constituée de lipides, d'ADN, d'ARN et de substances humiques (Frolund et al. 1996, Flemming et al. 1999, Wingender et al. 1999). Les EPS étant les composantes majeurs des boues activées, certaines propriétés importantes des floccs comme la densité, la porosité et la biomasse viable, sont associées à celles des EPS (Flemming et al. 1999, Sponza 2003).

On trouve deux types d'EPS au sein des boues activées : les EPS solubles et les EPS liées (Laspidou et Rittmann 2002). Les EPS solubles sont également nommées produits microbiens solubles (Laspidou et Rittmann 2002). Elles peuvent provenir soit de l'hydrolyse de macromolécules, soit de la dissolution des EPS liées aux cellules (Hsieh et al. 1994). Ces substances solubles contribuent à la DCO et la DBO soluble (Rittman et McCarty 2001) et sont parfois utilisés comme source de nutriments par les cellules. Ce sont également elles qui sont la cause principale de colmatage des membranes (Judd 2008, Meng et al. 2009).

Les EPS liées aux boues activées proviennent de différents processus tels que la sécrétion par les microorganismes, la libération du matériel cellulaire, la lyse cellulaire, et l'adsorption des substances du milieu (Flemming et Leis 2001). La taille des EPS est très variable et varie de 10 à 600 kDA (Garnier et al. 2005).

La totalité des microorganismes procaryotes (bactéries) ainsi que certains eucaryotes (espèces fongiques) qui vivent au sein d'une communauté microbienne ont la capacité de produire des EPS. Les fonctions majoritaires des EPS, énumérées par Wingender et al. (1999) sont les suivantes :

- Ce sont des barrières de protection contre les agressions extérieures (résistance à des hôtes, à des substances bactéricides, protection contre le stress oxydant).

- La matrice d'EPS permet de retenir l'eau et permet ainsi de lutter contre la dessiccation des cellules.
- Elles ont un rôle structurel, et confèrent une organisation spatiale spécifique, ce qui influence la décantation des boues dans le procédé à boues activées.
- Elles permettent la communication et la reconnaissance entre les cellules.
- Elles permettent l'adhésion aux surfaces et la colonisation des surfaces, qui peuvent mener à la formation de biofilm.
- Les EPS sont également une réserve de nutriment pour les microorganismes. D'une part, comme dit précédemment, les EPS elles-mêmes, lorsqu'elles sont solubles, peuvent être métabolisées. D'autre part, grâce à leur propriété adhésive elles ont la capacité de retenir certaines particules.

Ainsi, les EPS reflètent la réponse des bactéries aux conditions du milieu en fonctionnement normal ou sous stress. Les microorganismes produisent des EPS pour assurer leur survie dans certains cas de compétitivité entre espèces mais aussi en réponse aux modifications environnementales.

Au sein des stations d'épuration, les microorganismes sont soumis à de nombreuses variations (physico-chimiques) du milieu, et donc à des conditions de stress. Selon Bott et Love (2002), les microorganismes s'adaptent physiologiquement aux chocs toxiques par l'activation d'une réponse microbienne. Cette réponse peut induire la détérioration de la performance du traitement (ex : l'agrégation des floes, la décantation), et est associée à une modification de la croissance et de l'activité bactérienne.

Ainsi, les micropolluants peuvent avoir un effet sur la biomasse des stations d'épuration car certains sont d'ailleurs par définition toxiques pour les bactéries (antibiotiques, biocides). Aquino et Stuckey (2004) ont observé l'augmentation significative de la concentration d'EPS solubles en présence de chloroforme et de chrome. Avella et al. (2010) ont observé l'augmentation de la concentration d'EPS liées au floe en présence des antibiotiques érythromycine et roxythromycine.

Il existe principalement deux types de procédés biologiques pour le traitement des eaux usées : les procédés à cultures libres (boues activées et lagunage) et les procédés à cultures fixées (disques biologiques, lit bactérien, et filtres bactériens) (Duchène 2005).

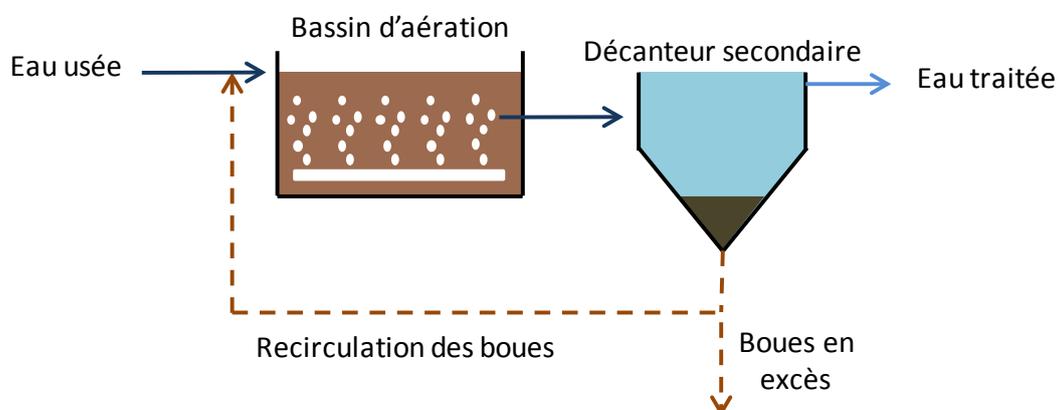
### *1.1.1.2 Procédés à cultures libres*

Dans les procédés à cultures libres, les bactéries se développent sous forme de floccs dispersés au sein du liquide à traiter. L'ensemble est brassé afin de maintenir la culture en suspension.

Il existe deux procédés à cultures libres différents : le traitement par boues activées et le lagunage.

Le traitement par boues activées est le procédé le plus utilisé en France (60 % des stations d'épuration) (Cemagref 2008). Le procédé à boues activées est basé sur l'intensification des processus d'autoépuration présent dans le milieu naturel. En effet, il permet la dégradation et la minéralisation de la matière organique par les bactéries aérobies dans un espace réduit, grâce à un apport en oxygène assuré par un brassage de la liqueur mixte.

Ce procédé est composé de deux bassins principaux (**Figure I-1**). Le premier est un bassin d'aération, dans lequel les agrégats bactériens sont maintenus en suspension dans l'eau grâce à un brassage continu de la liqueur (Metcalf et Eddy 2003). Les microorganismes s'y développent et consomment la pollution organique des effluents en la transformant en dioxyde de carbone et eau. Le second bassin, appelé décanteur secondaire ou clarificateur, permet ensuite la séparation solide/liquide. Une partie de la boue décantée est recirculée dans le bassin aéré, augmentant ainsi la concentration en biomasse dans le réacteur biologique et amplifiant le taux d'épuration des eaux. La partie des boues en excès est envoyée vers la filière de traitement des boues.

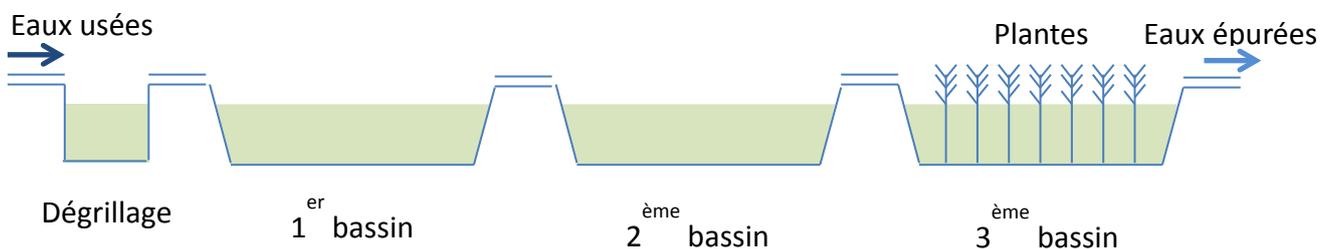


**Figure I-1** : Schéma simplifié d'un système à boues activées.

Une variante du procédé classique à boues activées est le système dit de « réacteurs biologiques séquentiels » (RBS). Dans ce procédé, les étapes d'aération et de décantation sont réalisées par alternance dans un seul et même bassin.

*Le lagunage* (Degrémont 2005), naturel ou aéré, met en œuvre une succession de bassins (généralement trois) peu profonds (1 à 5 m) dans lesquels les eaux usées préalablement décantées ou non, s'écoulent lentement et en ressortent « épurées » (**Figure I-2**). Ce procédé permet la dégradation de la matière organique par les organismes naturellement présents dans les eaux usées (les bactéries aérobies et anaérobies) et par les algues microscopiques.

Le premier bassin est généralement une lagune dans laquelle a lieu la dégradation de la pollution organique par les bactéries présentes. L'oxygénation naturelle est assurée grâce aux échanges gazeux de l'eau avec l'atmosphère et à la photosynthèse des végétaux chlorophylliens (algues). Une oxygénation complémentaire à l'aide de brasseurs, aérateurs, ou plants de macrophytes (iris, roseaux, joncs...) permet d'améliorer le rendement d'épuration de la lagune. Le second bassin permet la décantation des boues biologiques. L'eau est enfin envoyée dans la troisième lagune afin d'en affiner sa qualité à l'aide de macrophytes qui permettent la diminution de la concentration en azote et en phosphore.



**Figure I-2 :** Schéma simplifié d'une station de lagunage naturel.

Le lagunage présente les avantages d'avoir un faible coût, un faible besoin en énergie, et une gestion assez simple. Ce procédé nécessite cependant un temps de séjour des effluents plus long, et un espace plus important (ce qui peut être contraignant en milieu urbain). Le seul entretien lourd est le curage complet des bassins à renouveler tous les 7 à 10 ans (Degrémont 2005).

Le lagunage est aujourd'hui largement représenté en France, il constitue 20% des petites installations (Racault et Boutin 2004).

Ce procédé peut cependant être utilisé pour le traitement des eaux usées de villes plus importantes. Étendue sur 70 ha, la station de lagunage de Rochefort est la plus vaste d'Europe (**Figure I-3**). Les eaux usées de la ville, décantées et dégraissées, s'écoulent de bassin en bassin avec un temps de séjour de quatre mois environ. Du fait de l'abondance de planctons

dans les bassins, différentes espèces d'oiseaux aquatiques (canards, échassiers, grèbes...) y trouvent leur nourriture (LPO France 2011).



**Figure I-3** : Station de lagunage de Rochefort (Charente-Maritime).

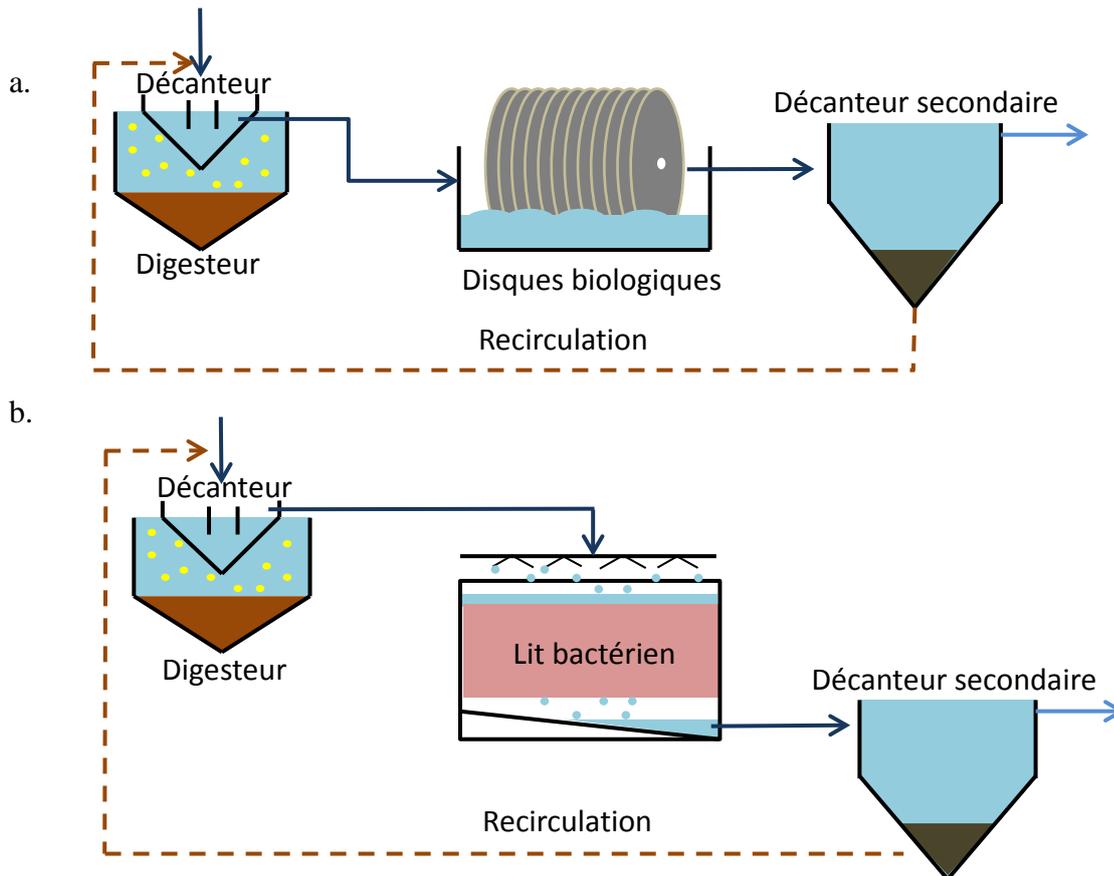
#### *1.1.1.3 Procédés à cultures fixées*

Dans les procédés à cultures fixées, aussi appelés biofiltrations, on utilise la capacité qu'ont la plupart des microorganismes à produire des exopolymères et permettant ainsi leur fixation sur des supports très divers pour former un biofilm. Leur croissance est assurée sous condition aérobie et anaérobie (Degrémont 2005).

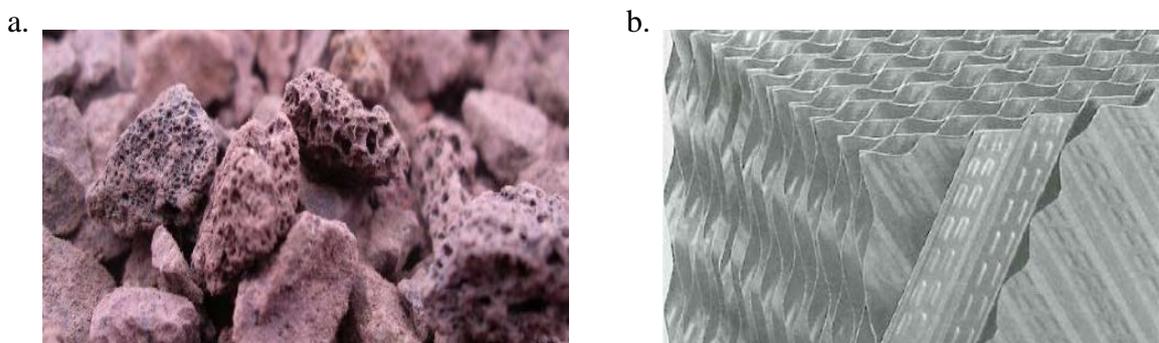
- Le premier système, mis au point en Allemagne dans les années cinquante (Duchène 2005), est le *procédé à disques biologiques*. Des disques en polystyrène expansé, servant de support solide à la croissance du film bactérien, sont fixés sur un axe autour duquel ils pivotent (Figure I-4). Ce dispositif est partiellement immergé (ce qui assure le mélange et l'aération) dans un bassin alimenté par les eaux usées qui ont préalablement subi un traitement primaire. Les bactéries éliminent la matière organique par dégradation aérobie grâce à l'oxygène atmosphérique. Dès qu'il dépasse une épaisseur de quelques millimètres, le biofilm se détache et est entraîné vers le décanteur secondaire. Ce procédé, qui semble très simple, a toutefois connu des problèmes mécaniques et a été abandonné en France à partir de 1975. D'autres systèmes à biofilm ont alors été développés.
- *Le lit bactérien* est un procédé où les microorganismes se développent sur un support poreux (naturel ou plastique, Figure I-5) qui est régulièrement irrigué par l'effluent à traiter, préalablement décanté. Les microorganismes fixés forment un biofilm et éliminent les matières organiques. Le biofilm croît jusqu'à former deux couches : aérobie et anaérobie. Dans la couche anaérobie, les mécanismes endogènes et le dégagement de gaz entraînent des détachements locaux du biofilm et laissent ainsi

disponibles de nouvelles zones de colonisation. Le mélange d'eau traitée et de biofilm récupéré en sortie du lit bactérien est séparé par décantation (Degremont 2005).

Ce procédé nécessite moins de surveillance et moins d'énergie (pas d'insufflation d'air) qu'un procédé à boues activées. Son efficacité d'épuration est inférieure et dépend des caractéristiques du matériel poreux utilisé (Agence de l'Eau Rhin-Meuse 2012). L'un des problèmes majeurs des lits bactériens est le colmatage du matériau filtrant par un trop fort développement du biofilm microbien.



**Figure I-4 :** Représentation schématique a) du procédé à disques biologiques et b) du système à lit bactérien.

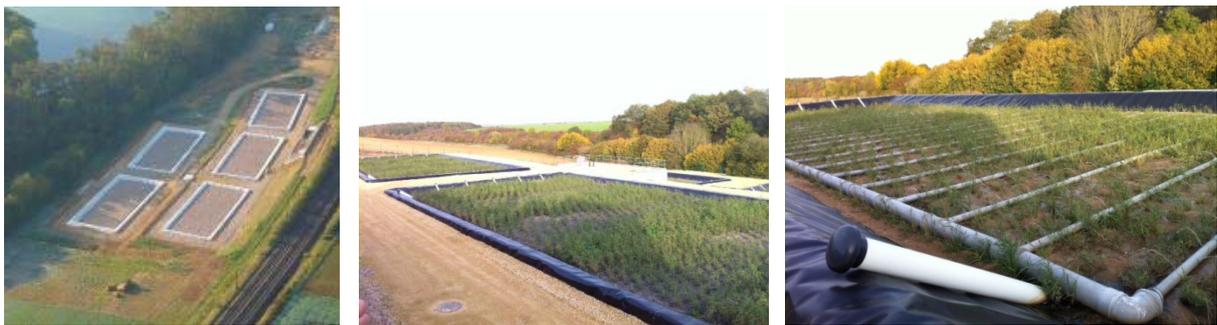


**Figure I-5 :** Supports poreux utilisés pour la croissance des microorganismes dans les lits bactériens : a) pouzzolane, roche naturelle volcanique alvéolaire, b) matériau plastique.

- les filtres biologiques : à sable, ou plantés de roseaux sont utilisés pour les petites collectivités de 50 à 1000 EH. Ils présentent des cultures microbiennes fixées sur des supports fins et de granulométrie variable (grains de sable ou graviers de diamètres inférieurs à 4-5 mm). Ces procédés permettent une filtration superficielle de la pollution organique particulaire et l'épuration biologique de l'eau grâce aux bactéries fixées sur les particules de sable. Ils assurent une surface spécifique importante et par conséquent une surface d'échange très supérieure à celle des autres procédés d'épuration (Degrémont 2005).

Les roseaux (et/ou autres végétaux), de par leur système racinaire, ont plusieurs rôles : ils permettent l'infiltration de l'eau au travers de la boue qui s'accumule à la surface, ils assurent la ré-oxygénation des massifs filtrants, et ils créent un milieu favorable à l'activité biologique et au développement des microorganismes épurateurs (Agence de l'Eau Rhin-Meuse 2007). Ces dispositifs sont généralement composés de deux bassins (étages) successifs : un premier pour retenir la majorité des particules et débiter l'épuration et un second pour finir ou affiner l'épuration (Figure I-6). Les boues sont évacuées tous les quinze ans environ.

Ce procédé, très en vogue, a d'ailleurs inspiré la fabrication de piscines dites naturelles ou écologiques. Des bassins accueillant des végétaux aquatiques épurateurs assurent une autoépuration physique, bactériologique et biologique de l'eau de baignade.



**Figure I-6 :** Photos de la station d'épuration par filtres plantés de roseaux de Mars-là-Tour (Lorraine).

### **I.1.2 Traitement et valorisation des boues de STEP**

Les boues sont composées de 95 à 99 % d'eau (ADEME 2012), de matières organiques et de matières minérales dissoutes ou insolubles. Le conditionnement des boues représente près de 50% des coûts totaux de fonctionnement d'une station d'épuration (Spellman 2009). Il vise à réduire 1) le pouvoir fermentescible (stabilisation) et 2) le volume des boues (élimination de l'eau pour une manipulation plus aisée) (Degrémont 2005).

1) La réduction du pouvoir fermentescible revient à stopper l'activité bactérienne et donc la dégradation de la matière organique. Elle peut être obtenue par :

- Digestion aérobie ou anaérobie (jusqu'à l'auto-oxydation de la biomasse).
- Stabilisation chimique par ajout de chaux avant ou après l'étape de déshydratation.

2) La réduction du volume de boue peut être obtenue par :

- L'épaississement par décantation gravitaire, ou par épaississement dynamique (flottation, égouttage/filtration, ou centrifugation). Après cette étape, la boue reste néanmoins toujours fluide et possède une siccité d'environ 10 %.
- Coagulation grâce à l'ajout de sels de fer ou d'aluminium, de chaux (Deneux-Mustin et al. 2001) ou de polymères cationiques de haute masse moléculaire (Legrand et al. 1998)
- La déshydratation mécanique par centrifugation ou filtration qui permet d'extraire l'eau dite « libre » et une partie de l'eau liée aux matières solides. La siccité peut atteindre jusqu'à 40 %.
- La déshydratation thermique dans des réacteurs chauffants (150 à 200 °C pendant 30 à 60 minutes) ou par évaporation (lits de séchage), qui permet d'éliminer la quasi-totalité de l'eau liée aux matières solides et d'atteindre ainsi de forte siccité (jusqu'à 90 %).

Plus d'un million de tonnes de boues (déshydratées) sont produites en France chaque année (Veolia 2012). Celles-ci sont dirigées vers différentes filières de traitement et de valorisation:

- L'épandage agricole, où toutefois des conditions sont dictées par le code de l'environnement afin d'éviter tous les risques sanitaires qui y sont associés.
- La mise en décharge (ou centre de stockage), qui permet la production de biogaz convertible en électricité. Ce mode de recyclage est fortement réglementé.
- L'incinération, où l'inconvénient majeur est qu'une boue déshydratée contient encore 70% d'eau. Ce procédé est donc relativement coûteux du point de vue énergétique.

### I.1.3 Traitements tertiaires

Les méthodes classiques de traitement des eaux usées ne répondant pas toujours aux exigences réglementaires et environnementales (par exemple pour les rejets de nitrates, de phosphore...), des procédés dits tertiaires sont mis en place afin d'améliorer les capacités de traitement. Il s'agit de procédés physico-chimiques, avec notamment des procédés membranaires (ultrafiltration, nanofiltration, osmose inverse) ou des procédés d'oxydation avancée (ozonation, peroxyde d'hydrogène, UV). Ces techniques présentent souvent un coût ainsi qu'un bilan environnemental (notion de transfert d'impact) discutable (Downward et Taylor 2007).

Parmi les techniques d'oxydation avancée recensées, l'oxydation par cavitation présente deux avantages majeurs :

- Elle ne nécessite pas l'introduction de produits chimiques
- Son principe de fonctionnement est relativement simple (conditions modérément rigoureuses, réalisées à température ambiante et maintenance peu coûteuse)

La cavitation est définie de manière générale comme étant l'ensemble des phénomènes liés à la formation, la croissance et l'effondrement (collapse) de microbulles ou cavités se produisant à des intervalles de temps très courts ( $10^{-3}$  s) et libérant une quantité importante d'énergie (Gogate et Pandit 2000). La cavitation naît dans un liquide soumis à une dépression suffisamment importante (la pression doit être inférieure à la pression de vapeur saturante) pour qu'une bulle de vapeur soit susceptible de se former.

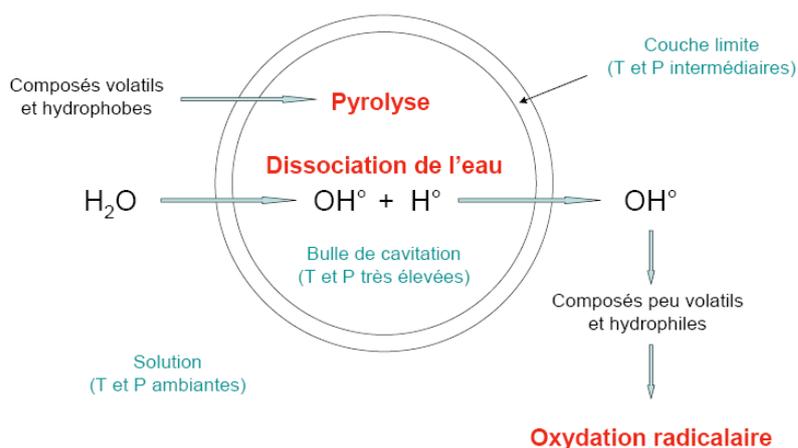
Par exemple, la cavitation hydrodynamique est produite par les variations de pression d'un liquide qui s'écoule à grande vitesse dans un système dont la géométrie crée des variations de pression. Cette cavitation peut être simplement générée lors du passage d'un liquide à travers un orifice ou à travers un rétrécissement de sa section. Une fois l'obstacle passé, le fluide retrouve ses conditions de pression initiales et les bulles de vapeur implosent.

#### *I.1.3.1 Exemple de la cavitation hydrodynamique*

Au niveau de chaque bulle de cavitation la température et la pression augmentent localement en un temps très court (0,5  $\mu$ s). Elles peuvent atteindre respectivement 3000°C et 300 bar. L'implosion brutale de ces bulles entraîne la dissociation des molécules d'eau en atomes d'hydrogène et en radicaux hydroxyles, puissants oxydants, qui se combinent pour former du peroxyde d'hydrogène. Les polluants présents dans l'eau peuvent alors subir deux types de dégradation (Figure I-7) : la pyrolyse au sein des bulles (pour les polluants volatils qui

diffusent dans les bulles), et l'oxydation par les groupements hydroxyles aux interfaces gaz/liquide (pour les polluants non volatils, hydrophobes) et en phase liquide (pour les polluants non volatils hydrophiles) (Rebattet 2009).

Des études récentes ont été réalisées sur l'utilisation de la cavitation hydrodynamique pour éliminer la micropollution. Cette méthode permet, par exemple, de dégrader le dichlorvos (pesticide) avec un rendement d'élimination proche de 16 % (en une heure). Ce rendement peut atteindre les 91 % lorsque le procédé de cavitation est couplé à un procédé Fenton (ajout de  $\text{Fe}^{2+}$  :  $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \cdot\text{OH} + \text{OH}^- + \text{Fe}^{3+}$ ) (Joshi et Gogate 2012). Braeutigam et al. (2012) ont pu montrer que la cavitation hydrodynamique peut dégrader la carbamazépine (concentrations allant de 1 – 50  $\mu\text{g/L}$ ) avec un rendement d'élimination de 27 % en 15 minutes. Le rendement peut être supérieur à 96 % lorsque le procédé est couplé à la cavitation acoustique. La méthode « hybride » de cavitation hydrodynamique - acoustique permet également d'accroître les rendements d'élimination du chloroforme qui passent de 7 % en cavitation hydrodynamique à 90 % en cavitation hybride (en 30 minutes) (Franke et al. 2011). Concernant les composés étudiés dans ce travail, seuls Vecitis et al. (Vecitis et al. 2008) ont pu montrer que la cavitation acoustique permet de dégrader les composés perfluorés PFOA et PFOS (composés qui possèdent une extrême stabilité thermique et chimique). En seulement deux heures, plus de 90% du PFOA et PFOS ont été dégradés par la cavitation acoustique pour une concentration initiale de 10  $\mu\text{g/L}$ .



**Figure I-7 :** Représentation schématique des réactions se produisant dans une bulle de cavitation (Rebattet 2009).

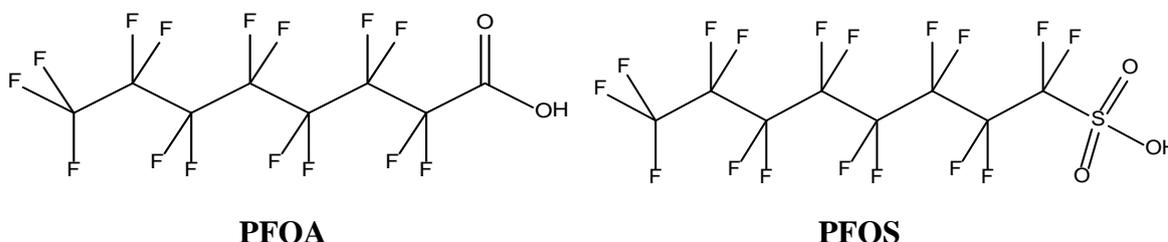
## I.2 MICROPOLLUANTS ISSUS DE L'ACTIVITÉ DOMESTIQUE

### I.2.1 Les composés perfluorés : PFOA et PFOS

Les composés perfluorés (PFC) sont constitués de chaînes carbonées de longueurs variables dont une grande partie ou la totalité des atomes d'hydrogène ont été remplacés par des atomes de fluor. Au bout de cette chaîne se trouve le groupement fonctionnel. Les composés perfluorés peuvent ainsi être classés en plusieurs catégories (Rapport ANSES 2010):

- Les perfluoroalkyl carboxylates (PFCA) :  $F(CF_2)_nCO_2^-$
- Les perfluoroalkyl sulfonates (PFAS) :  $F(CF_2)_nSO_3^-$
- Les fluoro-télomères et autre composés à base de PFC

Les deux molécules étudiées dans ce travail sont l'acide perfluorooctanoïque (PFOA) et le perfluorooctane sulfonate (PFOS) (Figure I-8)



**Figure I-8 :** Formules développées de l'acide perfluorooctanoïque (PFOA) et du perfluorooctane sulfonate (PFOS).

PFOA et PFOS sont des composés chimiquement stables grâce à la forte énergie des liaisons carbone-fluor et sont à la fois hydrophiles (au niveau des groupements fonctionnels) et hydrophobes (au niveau de la chaîne fluorée). Ils sont persistants et bioaccumulatifs. Ils ne peuvent pas être dégradés par l'action d'acides forts, par réduction ou par oxydation à haute température (Kissa 2001), ou encore par photolyse ou sous lumière UV (KEMI 2006).

La solubilité des PFC est faible que ce soit dans l'eau (3,4 g/L pour le PFOA et 0,5 g/L pour le PFOS) ou dans un solvant organique. Les PFC ont donc tendance à s'accumuler à une interface : eau/solvant organique ou liquide/solide (Kissa 2001).

Synthétisés depuis la fin des années 40, les PFC sont utilisés pour fabriquer des produits résistants à la chaleur, hydrophobes et lipophobes (Prevedouros et al. 2006). Ils sont ainsi largement répandus dans la fabrication de substances hydrofuges, anti-salissantes et imperméables aux graisses qui sont appliquées sur les tissus, les emballages, les tapis et les moquettes. Ils sont beaucoup employés dans les produits industriels et domestiques tels que les nettoyeurs de sols et de surfaces métalliques, les shampoings, les peintures, les emballages

alimentaires en carton notamment et les revêtements anti-adhésifs (ustensiles de cuisine) de métaux et de semi-conducteurs. Ils participent également à la formulation d'agents tensio-actifs, de détergents, d'émulsifiants, de mouillants, de dispersants, de lubrifiants et de mousses extinctrices (Prevedouros et al. 2006).

La totalité des PFC retrouvés dans l'environnement est d'origine anthropique. Seuls les composés contenant un atome de fluor (composés monofluorés) peuvent être présents naturellement ou formés au cours de réactions biologiques ou géochimiques dans la biosphère (Renner 2001). Certaines plantes vertes et certains champignons et microorganismes produisent des composés organiques monofluorés. Le fluoroacétate de sodium ( $\text{FCH}_2\text{CO}_2\text{Na}$ ) est par exemple le métabolite d'un répulsif produit naturellement par une quarantaine de plantes d'Australie, du Brésil ou d'Afrique (acacia, gastrolobium, oxylobium...) (Murphy et al. 2003). Ce produit peut aussi être fabriqué par synthèse organique pour être utilisé en tant que pesticide et raticide.

L'abondance des PFC dans le milieu naturel est attribuée à leur émission directe et indirecte dans l'eau :

- Emission directe par les industries lors de la fabrication de PFC, ou lors de leur utilisation pour synthétiser des fluoropolymères (PTFE, PVDF...).
- Emission directe lors du rejet de produits de consommation domestiques et industriels qui renferment des PFC (nettoyants pour sols, PFOS dans les mousses anti-incendie...)
- Emissions indirectes lors de la dégradation de précurseurs (molécules parents dont les produits finaux de leur dégradation sont PFOA et PFOS) : les fluoro-télomères  $\text{F}(\text{CF}_2)_n(\text{CH}_2)_p\text{R}$  se dégradent en PFOA et PFOS et les sulfonamides d'alkyl-perfluorés  $\text{F}(\text{CF}_2)_n(\text{CH}_2)_p\text{SO}_2\text{NR}$  en PFOS.
- Emissions indirectes lors du relargage de résidus de PFC qui ont permis la fabrication des polymères (PTFE, PVDF...)

NB : le polytetrafluoroéthylène (PTFE, ou Téflon<sup>®</sup>) est un polymère fluoré, synthétisé avec l'aide du PFOA. Le PTFE est stable, et ne peut pas se dégrader en PFOA ou PFOS. Seules de très faibles teneurs (résidus) en PFOA peuvent subsister dans les revêtements en Téflon. On estime que plus de 99 % du PFOA est éliminé du PTFE vendu sous forme solide. (Prevedouros et al. 2006)

En 2006, Prevedouros et al. (2006) ont estimé que 3200 à 7600 tonnes de PFC ont déjà été produites par l'industrie, et que la majorité (80%) a été relarguée dans l'environnement. Cette présence chimique dans l'environnement aquatique est principalement due au déversement des eaux usées et des eaux traitées de station d'épuration (Becker et al. 2008). Les perfluorés sont donc retrouvés dans la faune, la flore, les humains, sur toute la planète (Higgins et al. 2005).

La voie d'exposition majeure aux composés perfluorés pour la population est l'alimentation. L'eau potable et les poissons peuvent contenir des PFC avec des teneurs allant, par exemple, jusqu'à 700 ng/L de PFOA et 52 µg/L de PFOS dans le sang de morues (Falandysz et al. 2006) et 126 ng/g de PFOA et 4,3 ng/g de PFOS dans la chair de mollusques (Pan et al. 2010). Les études menées sur l'eau potable montrent que les teneurs en PFC (individualisé) ne dépassent jamais les 150 ng/L, avec une valeur moyenne aux alentours de quelques ng/L (Loos et al. 2007b, Wilhelm et al. 2008). En matière de traitement de potabilisation des eaux, les systèmes membranaires semblent offrir une grande efficacité (Steinle-Darling et Reinhard 2008) et l'efficacité du traitement par charbon actif est plutôt controversée (Skutlarek et al. 2006). Les emballages alimentaires (sachet de popcorn à chauffer au micro-onde) peuvent contenir des composés à base de fluoro-télomères qui sont susceptibles de migrer dans la nourriture et être ensuite métabolisés dans le corps humain en PFOA. Une autre voie d'exposition à ces composés est l'atmosphère. Il a été mis en évidence la présence de fluoro-télomères et de sulfonamides d'alkyl-perfluorés dans l'air (Martin et al. 2006) pouvant se dégrader en PFOA et PFOS.

De manière générale, les perfluorés agissent sur le système endocrinien. Ils activent des signaux hormonaux et sont déclencheurs potentiels de cancer, de stérilité (Joensen et al. 2009) et d'anomalies développementales. L'exposition de l'homme au PFOA entraîne un sous-développement de sa glande thyroïde (Melzer et al. 2010). Cet effet a pour conséquences possibles l'obésité, la résistance à l'insuline, le cancer de la thyroïde (Tardiff et al. 2009). Le PFOS est un composé toxique pour les mammifères (rats et souris (Lau et al. 2004)) et possède un caractère bioaccumulatif dans les poissons, oiseaux et mammifères (Gebbink et Letcher, Sinclair et al. 2006, Gebbink et Letcher 2012).

PFOA et PFOS ne sont pas détruits en station d'épuration. Les concentrations mesurées en sortie de STEP sont même parfois supérieures à celles mesurées en entrée. Ceci s'explique par la dégradation de précurseurs lors des différentes étapes de traitement (Dinglasan et al. 2004,

Rhoads et al. 2008, Yu et al. 2009). Les concentrations relevées en station d'épuration varient en fonction de la nature des apports (industriels, domestiques, commerciaux) et de la taille des agglomérations (Tableau I-1), les rejets domestiques étant souvent les moins riches en PFC. Les composés qui possèdent une longue chaîne perfluorée (au minimum huit atomes de carbone) ont tendance à se fixer en partie aux boues, et ce d'autant plus s'ils possèdent la fonction sulfonate (comme PFOS). Il semble donc que les PFC soient rejetés dans l'environnement via les eaux usées, les eaux épurées et également les boues de STEP.

**Tableau I-1** : Occurrence des PFC dans les stations d'épuration et les ressources en eaux.

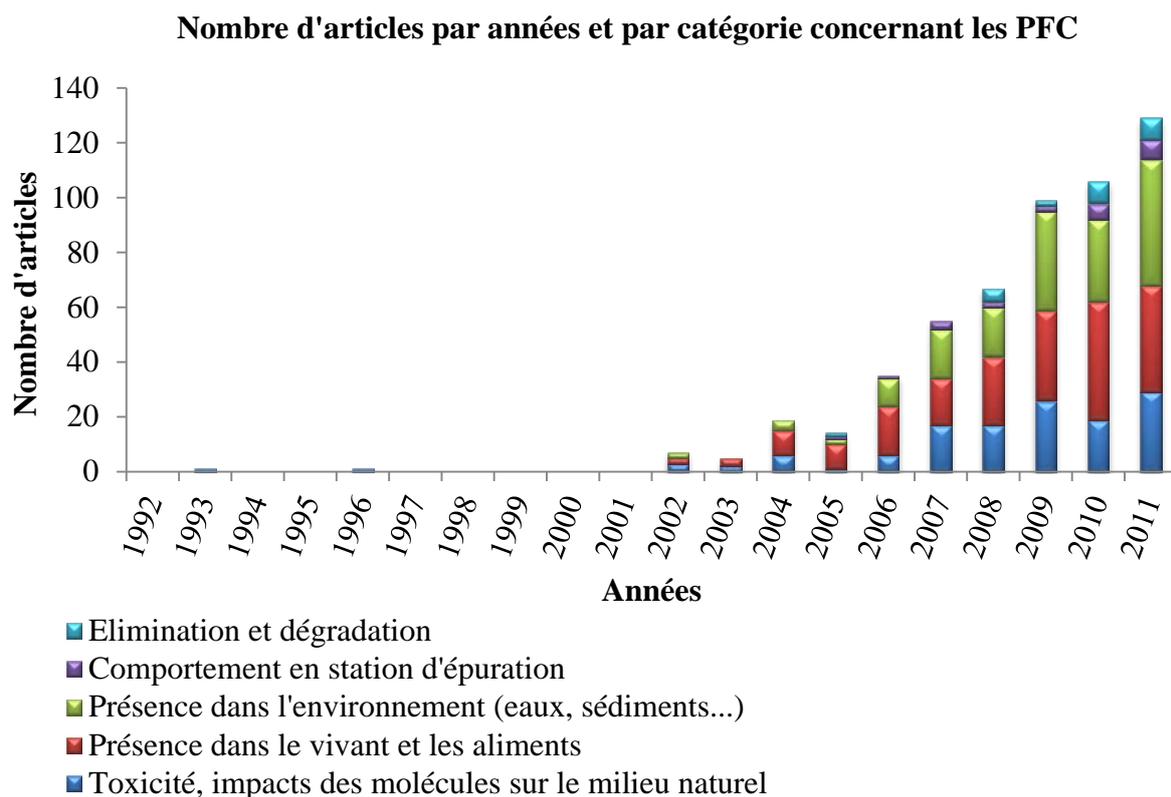
Matrices	[PFOA]	[PFOS]	Auteurs	
Eau usée :				
Affluent t = 0	1,8 ng/L	< 1 ng/L	Becker et al. (2008)	
Effluent t = 0	11 ng/L	12 ng/L		
Effluent t + 48h	11ng/L	2,4 ng/L		
Eau usée :				
Affluent	75 ng/L	71 ng/L	Shivakoti et al. (2010)	
Effluent	104 ng/L	89 ng/L		
Boue	93 ng/L	98 ng/L		
STEP urbaine :				
Affluent	14,1 à 82 ng/L	7,9 à 25,3 ng/L	Yu et al. (2009)	
Effluent	15,8 à 138,7 ng/L	7,3 à 16,7 ng/L		
Boues activées	8,3 à 20,4 ng/g	21,5 à 33,2 ng/g		
Boues digérées	17,4 à 45,8 ng/g	30,7 à 39,2 ng/g		
STEP industrielle :				
Affluent	31,8 à 638,2 ng/L	56,3 à 374,5 ng/L		
Effluent	74,4 à 1057,1 ng/L	35,5 à 461,7 ng/L		
Boues activées	24,9 à 54,4 ng/g	245,1 à 617,7 ng/g	Yoo et al. (2009)	
Boues digérées	46,9 à 69,0 ng/g	445,2 à 702,2 ng/g		
Boues	31 ng/g	372 ng/g		
Boues	10,8 ng/g	251 ng/g	Higgins et al. (2005)	
Boues	4,5 ng/g	41 ng/g	D'Eon et al. (2009)	
Boues	454 à 4780 ng/g	236 à 5383 ng/g	Guo et al. (2010)	
Eau de surface	4,2 à 2568 ng/L	0,4 à 123 ng/L	Lein et al. (2008)	
Eau de surface	2,9 à 68,6 ng/L	4,1 à 450 ng/L	Naile et al. (2010)	
Eau de surface	< 5 ng/L	< 10 ng/L	Loos et al. (2007b)	
Eau souterraine	< 5 ng/L	< 10 ng/L		

Afin d'observer l'intérêt porté par la communauté scientifique sur ces molécules et leur impact environnemental, un recensement bibliographique a été réalisé grâce à la base de données Web of Science<sup>®</sup>. Ce service d'information universitaire donne accès à six bases de données portant sur les sciences, sciences sociales, les arts et sciences humaines... ce qui représente plus de 12 000 revues, et plus de 150 000 comptes rendus de conférences depuis 1900.

La recherche s'est faite à l'aide de mots clés et les publications scientifiques ont été classées dans différentes catégories :

- Toxicité et impact des molécules sur le vivant
- Présence dans le vivant et les aliments
- Présence dans l'environnement (eau, sédiments, ...)
- Comportement en station d'épuration
- Méthodes d'élimination et de dégradation

Ainsi, la Figure I-9 présente le nombre de publications parues ces vingt dernières années (de 1992 à 2011) concernant les composés perfluorés et classées en fonction des différentes catégories. L'intérêt pour les PFC (et en fonction des cinq catégories citées) n'est apparu qu'en 2002 et n'a cessé de grandir depuis ces dix dernières années. De 2002 à 2005 les publications portaient essentiellement sur la présence de ces molécules dans le vivant et leur toxicité. Puis la question de savoir si les PFC sont présents dans l'environnement (eaux, sédiments) et s'ils peuvent être rejetés via les effluents de STEP a été soulevée à partir de 2006. C'est enfin à partir de 2008 que des études ont été menées sur les méthodes qui pourraient permettre l'élimination et la dégradation des PFC.

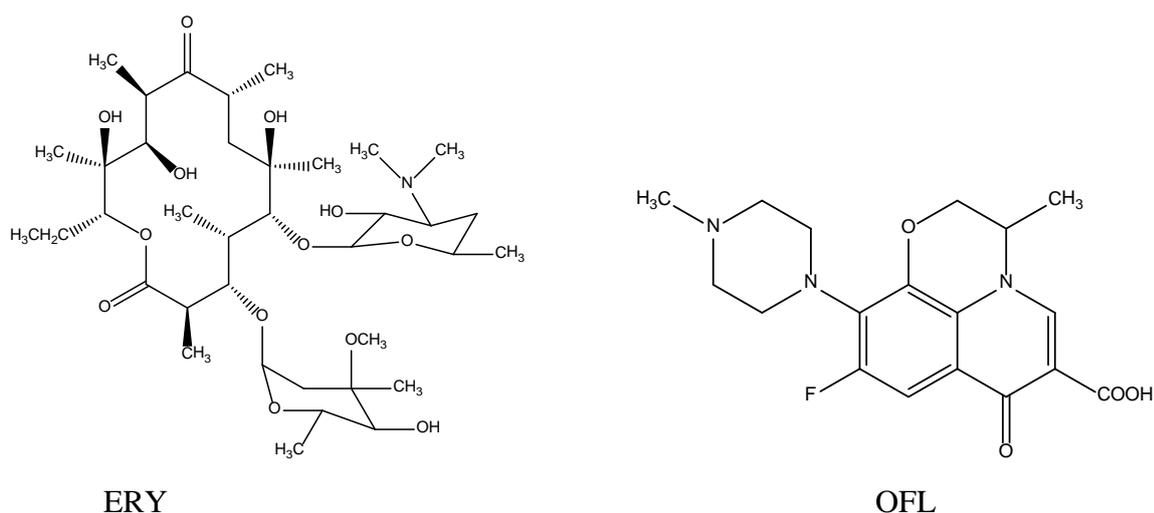


**Figure I-9 :** Nombre de publications parues sur les composés perfluorés, PFOA et PFOS, chaque année, depuis 1992. Classification en fonction des domaines suivants : Toxicité et impact des molécules sur le milieu naturel, Présence dans le vivant et les aliments, Présence dans l'environnement, Comportement en station d'épuration, et Elimination et dégradation.

## I.2.2 Les antibiotiques : érythromycine et ofloxacine

Les antibiotiques sont définis comme des substances biologiques (synthétisées par des champignons ou des bactéries) ou synthétiques capables de tuer ou d'inhiber la croissance de microorganismes. Du point de vue physico-chimique, les antibiotiques possèdent une importante polarité, sont faiblement volatils et leur solubilité dans l'eau est variable. Les macrolides, comme l'érythromycine font partie des antibiotiques les moins solubles dans l'eau.

Les antibiotiques sont classés en plusieurs familles selon différents critères : l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'action. Il a été choisi d'étudier l'érythromycine et l'ofloxacine car ces deux molécules proviennent de deux familles différentes et présentent des propriétés physico-chimiques différentes. L'érythromycine (ERY) est un macrolide dont le mode d'action consiste en l'inhibition de la synthèse protéique. C'est un bactériostatique, lipophile qui est largement utilisé dans le traitement d'infections Gram positives comme l'acné, les infections respiratoires, et les infections rénales. L'ofloxacine (OFL) est une fluoroquinolone qui est utilisée dans le traitement d'infections Gram négatives. C'est un bactéricide hydrophile dont l'utilisation est majoritairement réservée au secteur hospitalier pour traiter ou prévenir les infections des voies aériennes et parfois pour le traitement d'infections urinaires, osseuses, ORL, et gynécologiques. Les structures de ces deux molécules sont présentées sur la **Figure I-10**.

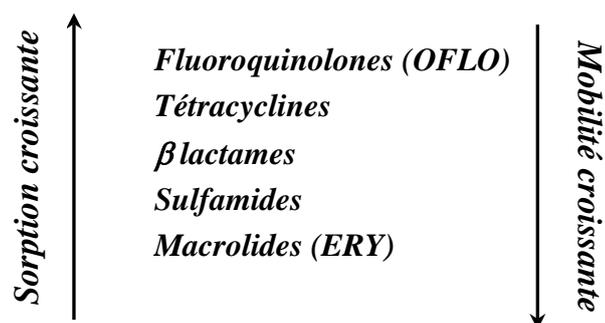


**Figure I-10** : Formules développées de l'érythromycine (ERY) et de l'ofloxacine (OFL).

Une fois administrés, les antibiotiques sont véhiculés dans l'organisme par voie sanguine. Durant ce transit, une partie des molécules est métabolisée principalement au niveau du foie, et l'autre partie reste sous forme native. Ce mélange, formé de métabolites secondaires actifs ou non et du composé actif primaire est ensuite éliminé dans les fèces et les urines (Kummerer et al. 2000, Boxall et al. 2004). Selon la molécule considérée, le taux d'excrétion du composé sous sa forme native varie (Hirsch et al. 1999). Hirsh et al. (1999) ont pu observer que l'ERY est peu métabolisée, plus de 60% de la quantité administrée n'est pas transformée dans l'organisme.

Les antibiotiques se retrouvent donc dans les eaux usées et sont acheminés vers les stations d'épuration (STEP). Ils subissent alors des phénomènes de solubilisation, d'adsorption et de dégradation biologique et physico-chimique (Joss et al. 2005). Les propriétés physico-chimiques de l'antibiotique considéré et celles de son environnement vont déterminer la répartition de la molécule entre la phase aqueuse et les boues (Golet et al. 2003, Gobel et al. 2004, Joss et al. 2005, Lindberg et al. 2006).

La capacité de sorption des antibiotiques aux matières organiques et minérales ne peut pas être expliquée par leurs solubilités. Ainsi ce n'est pas l'hydrophobicité qui permet d'expliquer les fortes capacités de sorption à la matière organique des tétracyclines et des quinolones. En effet, il semble que la capacité de complexation de ces antibiotiques à des cations divalents, des échanges d'ions et des liaisons hydrogènes entre des groupements acides des acides humiques et des groupements polaires des molécules antibiotiques soient à l'origine de cette forte adsorption aux matières organiques (Thiele-Bruhn 2003). Ces propriétés d'interaction avec la matière organique accentuent leur capacité de persistance dans l'environnement. Complexés à la matière organique, ils sont moins facilement disponibles pour la dégradation biotique et abiotique. Associée à leur faible volatilité, cette propriété augmente leur capacité d'accumulation dans les écosystèmes (Daughton et Ternes 1999). Ainsi, on peut résumer de façon générale les propriétés de ces molécules par le schéma de la Figure I-11.



**Figure I-11 :** Propriétés d'adsorption et mobilité des antibiotiques dans l'environnement (Bonot 2010).

Les tétracyclines, les fluoroquinolones et certaines pénicillines s'adsorbent majoritairement aux matières en suspension et se concentrent dans les boues (Cha et al. 2006, Lindberg et al. 2006). Pour ce qui est des fluoroquinolones, deux phénomènes majeurs interviennent : l'établissement de ponts cationiques avec les composés minéraux et la possibilité pour ces molécules de se retrouver partiellement ionisées leur permettant ainsi d'interagir avec la matière organique (Tolls 2001). La plus grande partie des fluoroquinolones présentes dans les eaux usées à l'entrée de la STEP est éliminée dès les traitements primaires car elles se trouvent complexées à la matière organique dans les boues.

La plus grande partie des macrolides et sulfamides rejetés dans les eaux usées reste solubilisée dans la phase aqueuse (Gobel et al. 2005). Les eaux usées sont des matrices très hétérogènes qui varient dans le temps et l'espace et de nombreux paramètres (tels que le pH, la température, la nature et la concentration des composés rejetés) peuvent affecter les phénomènes de solubilisation et d'adsorption des molécules aux matières organiques et minérales contenues dans ces milieux. De plus, il est nécessaire de tenir compte du fait que le comportement d'une molécule antibiotique peut varier selon son environnement physico-chimique. Ainsi, selon la station d'épuration étudiée le devenir d'un composé peut varier. Ce constat a été fait par exemple pour les macrolides dont le coefficient de sorption est élevé dans certaines conditions *in vitro* (McFarland et al. 1997), ce qui n'a pas été observé dans l'étude de Gobel et al. (2005) portant sur deux stations d'épuration Suisses, où les macrolides étudiés (érythromycine, roxithromycine et clarithromycine) étaient principalement présents dans la phase aqueuse.

La biodégradation des antibiotiques en station d'épuration a été très peu étudiée. Seules des données de concentrations des composés en entrée et sortie d'installations sont disponibles, et

les résultats sont parfois contradictoires. Pour l'ERY, les études de McArdeell et al. (2003) et Gobel et al. (2005) montrent une faible dégradation de la molécule au niveau de la STEP (environ 35 %) en relation avec la faible adsorption de la molécule au floc. Li et Zhang (2010) n'ont quant à eux observé aucune biodégradation et aucune adsorption de la molécule sur les boues. A l'inverse, une autre étude montre une dégradation importante de ce macrolide au niveau du bassin biologique (Sarmah et al. 2006).

Comme vu précédemment, l'OFL est très largement éliminée par adsorption aux boues et ceci dès les premières étapes de traitement des eaux usées. Or si l'on observe les données de Lindberg et al. (2005) et de Radjenovic et al. (2009), la concentration diminue dans les effluents (à hauteur de 75 à 86 %), ce qui laisse suggérer une possible biodégradation, mais la concentration dans les boues activées est très élevée et varie de 0,1 à 2,0 mg/kg de boues activées sèches. Ceci est confirmé par Li et Zhang (2010) qui ont pu observer que l'OFL est rapidement adsorbé sur les boues (42,3 % en 15 min) et que les rendements d'élimination sont ensuite améliorés grâce à la dégradation biologique de la molécule (40,8 % en 48h). Il est important de tenir compte du temps de rétention hydraulique de la station d'épuration : plus celui-ci est long, plus le rendement d'élimination sera grand.

De par leur nature (et leur objectif), les antibiotiques sont toxiques pour les microorganismes et par conséquence aussi pour le milieu naturel. Ils sont donc aussi susceptibles d'influencer les performances d'épuration par les boues activées. L'étude de Louvet et al. (2010) réalisée en réacteurs batch sur des boues de STEP, a montré que les taux de nitrification et d'élimination de la matière organique diminuent en présence d'érythromycine (à partir d'une concentration de 0,5 mg/L) et en fonction de l'origine des boues.

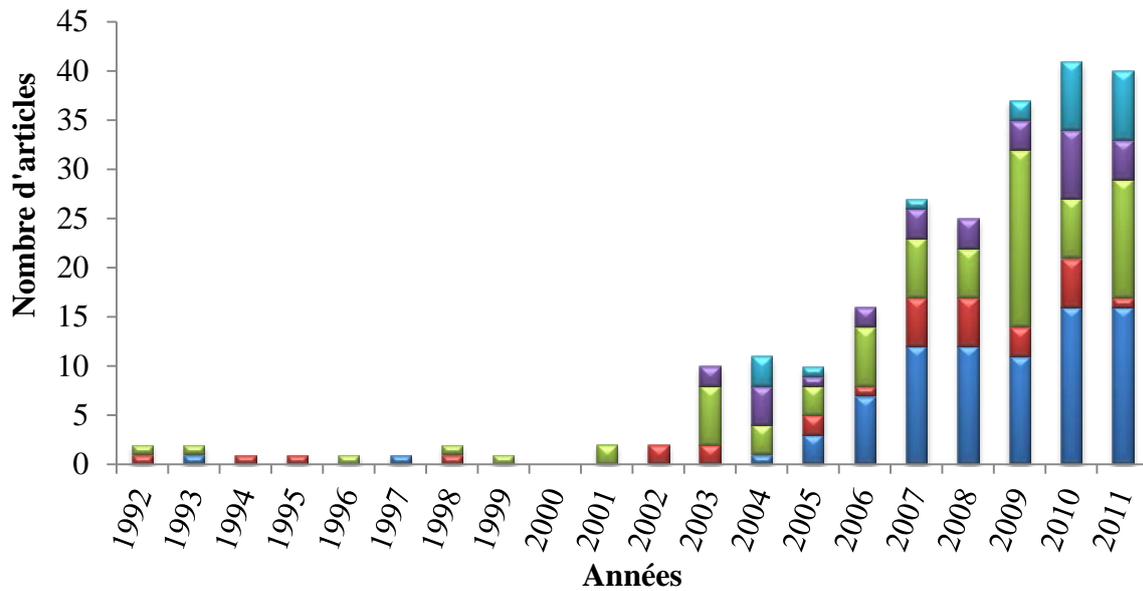
Le rejet d'antibiotiques dans le milieu naturel contribue à l'augmentation du potentiel de résistance des bactéries pathogènes (Baquero et al. 2008) et présente un risque important pour la santé publique. L'exposition des bactéries aux antibiotiques (dans le corps humain, dans les animaux ou dans l'environnement) crée une sélection naturelle qui favorise le développement de résistances. Les gènes porteurs de résistance peuvent se propager parmi l'ensemble des populations bactériennes (bactéries environnementales, commensales, pathogènes) grâce au transfert de gènes horizontal qui consiste en l'échange du matériel génétique entre microorganismes. La résistance prolifère également par la réplication des microorganismes qui sont porteurs de gènes de résistance (American Academy of Microbiology 2009). Les antibiotiques peuvent donc devenir de moins en moins efficaces.

Le recensement bibliographique effectué sur ces deux antibiotiques et en fonction des cinq catégories (Figure I-12) montre que l'intérêt qui est porté par les scientifiques, sur l'impact de ces molécules sur le milieu naturel et leur comportement en STEP, est croissant depuis une dizaine d'années. En 2011, 40 publications sont parues sur l'ERY, toutes catégories confondues, et seulement 22 sur l'OFL. Nous pouvons noter que très peu de données ont été publiées sur le comportement de l'OFL en station d'épuration. Comme pour les composés perfluorés, la question de savoir quelles sont les méthodes qui peuvent permettre l'élimination ou la dégradation de ces antibiotiques a pris une importance depuis quelques années seulement.

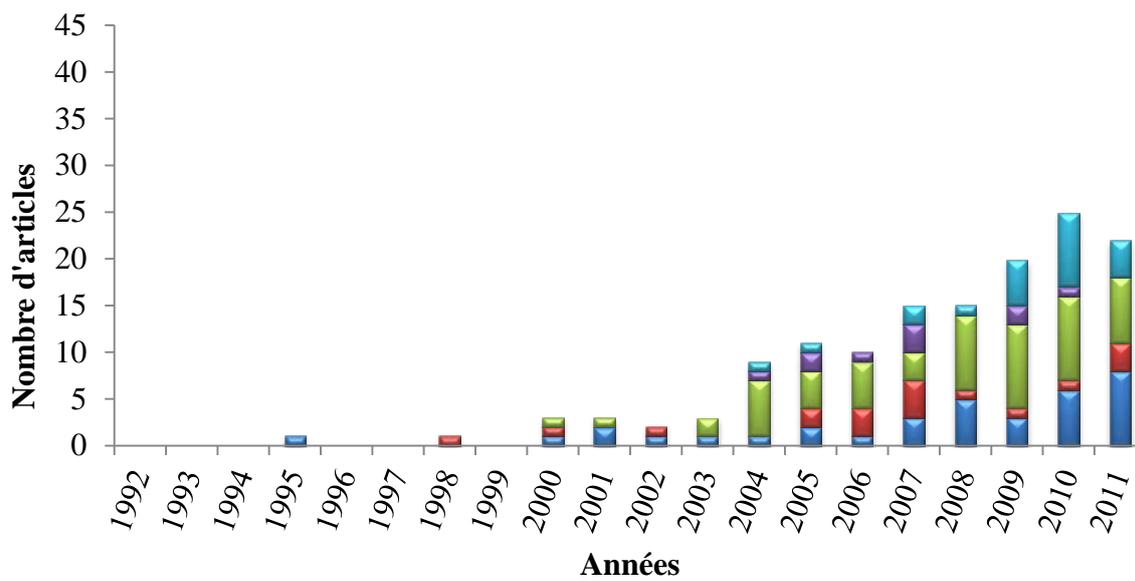
**Tableau I-2 :** Occurrence de l'érythromycine et de l'ofloxacin dans les stations d'épuration et les ressources en eaux.

Matrices	[ERY]	Auteurs	[OFL]	Auteurs
Affluent Effluent	0,07 – 0,14 µg/L 0,15 – 0,29 µg/L	Miege et al. (2008)	0,04 à 2,15 µg/L 0,03 à 0,55 µg/L	Lee et al. (2007)
Affluent STEP Eau de surface Eau souterraine	2,5 à 6 µg/L 0,15 à 1,7 µg/L n.d.	Hirsch et al. (1999)		
STEP 1 : Affluent Effluent STEP 2 : Affluent Effluent Boues	0,067 µg/L 0,075 µg/L 0,044 µg/L 0,055 µg/L	Gobel et al. (2004)	0,08 à 0,37 µg/L 0,04 à 0,17 µg/L 0,17 à 0,89 mg/kg	Xu et al. (2007)
Affluent Effluent Boues activées Boues digérées	0,06 à 1,90 µg/L 0,06 à 1,10 µg/L n.d. n.d.	Gobel et al. (2005)	0,02 à 0,29 µg/L 0,007 à 0,05 µg/L 0,1 à 2,0 mg/kg	Lindberg et al. (2005)
Effluent STEP	0,11 à 0,20 µg/L	McArdell et al. (2003)		
Affluent Effluent Eau de surface	0,017 µg/L 0,002 µg/L	Suarez et al. (2010a)	0,02 µg/L n.d. n.d.	Seifrtová et al. (2010)

### Nombre d'articles par années et par catégorie concernant l'ERY



### Nombre d'articles par années et par catégorie concernant l'OFL



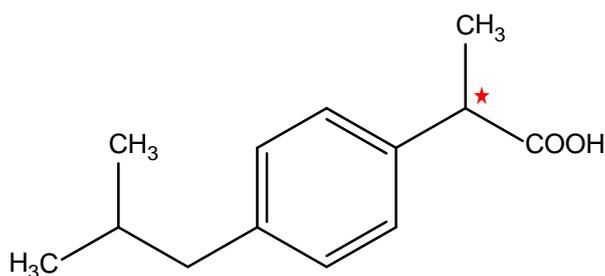
- Elimination et dégradation
- Comportement en station d'épuration
- Présence dans l'environnement (eaux, sédiments...)
- Présence dans le vivant et les aliments
- Toxicité, impacts des molécules sur le milieu naturel

**Figure I-12 :** Nombre de publications parues sur l'érythromycine et l'ofloxaciné chaque année, depuis 1992. Classification en fonction des domaines suivants : Toxicité et impact des molécules sur le milieu naturel, Présence dans le vivant et les aliments, Présence dans l'environnement, Comportement en station d'épuration, et Elimination et dégradation.

### I.2.3 Un antidouleur : l'ibuprofène

L'ibuprofène est un anti-inflammatoire non stéroïdien (qui ne contient pas corticoïdes ou de glucocorticoïdes) utilisé dans le traitement de douleurs, fièvres et inflammations. Il agit en bloquant la formation de médiateurs chimiques qui donnent naissance à l'inflammation : les prostaglandines. Ce médicament est disponible sans ordonnance et sa dose thérapeutique est relativement élevée : de l'ordre de 600 à 1200 mg par jour. Il faisait donc partie des produits pharmaceutiques les plus vendus en officines françaises en 2010, en termes de quantité (AFSSAPS 2011).

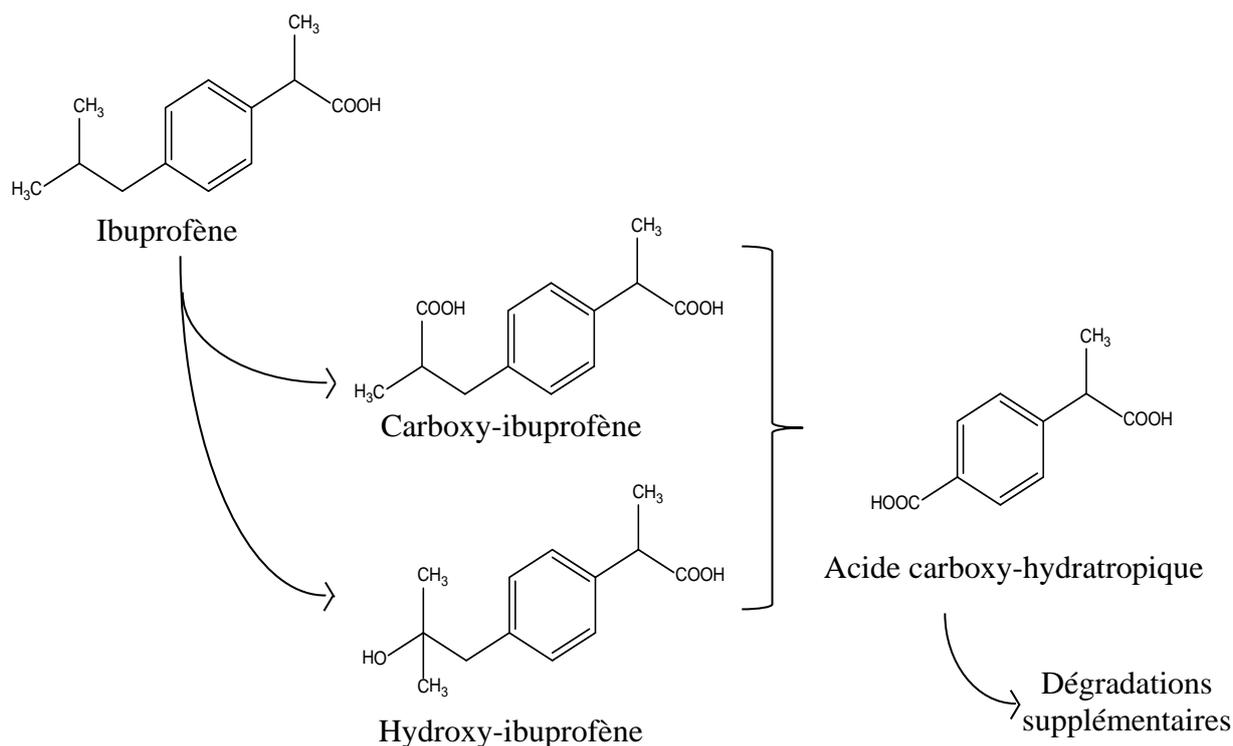
L'ibuprofène (**Figure I-13**) possède un carbone asymétrique et seul l'énantiomère S est pharmacologiquement actif. Tout comme les antibiotiques, l'ibuprofène est en grande partie excrété par le corps humain sous forme inchangée et sous forme de métabolites dont les principaux sont l'hydroxyl-ibuprofène, le carboxy-ibuprofène et l'acide carboxy-hydratropique (Figure I-14).



**Figure I-13** : Formule développée de l'ibuprofène. ★Carbone asymétrique.

L'ibuprofène est faiblement soluble dans l'eau ( $\log K_{ow} = 3,5$  (Stuer-Lauridsen et al. 2000)), environ 43 mg/L à 37°C (Stephenson et al. 2006). Rejeté dans les eaux de surface, la molécule a tendance à s'adsorber sur les sédiments (Scheytt et al. 2005) et subit très peu la photo-dégradation (Tixier et al. 2003).

La biodégradation est un procédé d'élimination très efficace (Tableau I-3) (Buser et al. 1999). Les valeurs de concentrations présentées dans le Tableau I-3 en témoignent. 75 à 90 % de l'ibuprofène est dégradé par l'épuration biologique (Buser et al. 1999, Radjenovic et al. 2009, Suarez et al. 2010b). Ces rendements d'élimination peuvent être améliorés à l'aide de procédés d'oxydation avancés comme le photo-fenton (Mendez-Arriaga et al. 2010), les ultrasons (Mendez-Arriaga et al. 2008b), la photo-catalyse avec  $TiO_2$  (Mendez-Arriaga et al. 2008a), ou encore par ozonation et UV-VIS (Coelho et al. 2009).



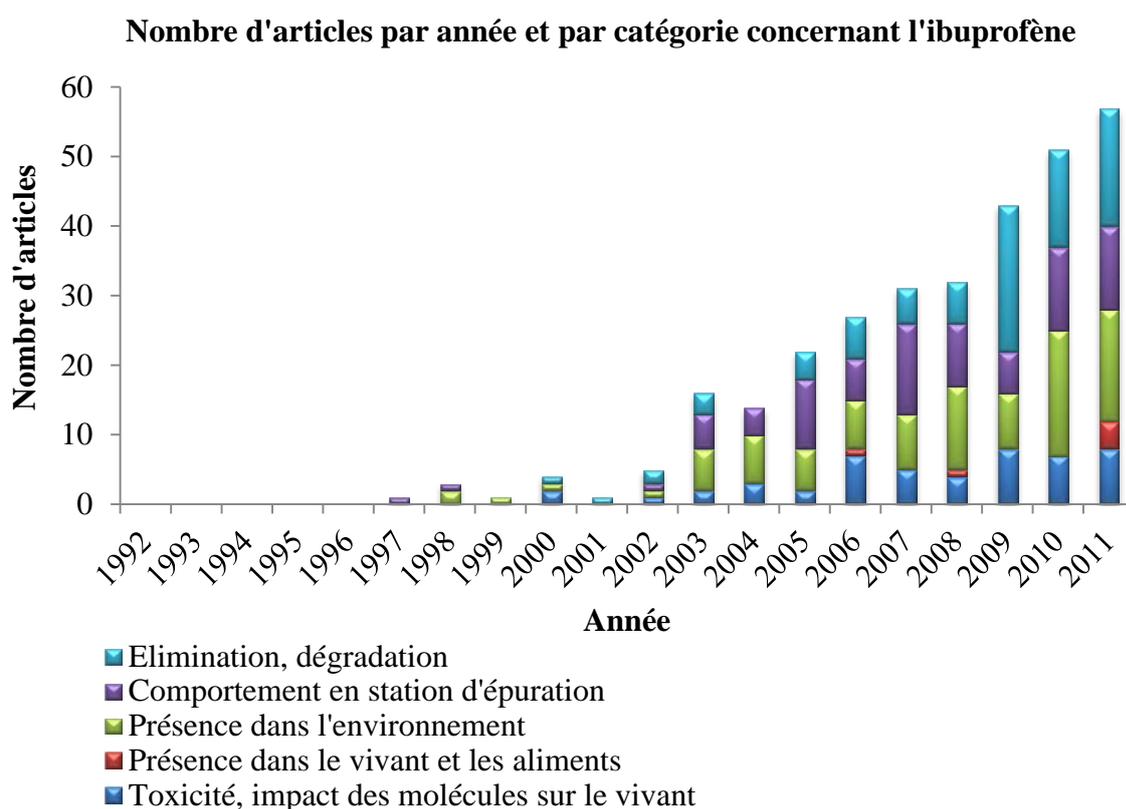
**Figure I-14 :** Principaux produits de dégradation de l'ibuprofène dans le corps humain (d'après Hutt 1983).

**Tableau I-3 :** Occurrence de l'ibuprofène dans les stations d'épuration et les ressources en eaux.

Matrice	[Ibuprofène]	Auteurs
Affluents	1,0 à 3,3 µg/L	(Buser et al. 1999)
Effluents	0,002 à 0,081 µg/L	
Eaux de surface	0,001 à 0,008 µg/L	
Effluents	0,8 à 85 µg/L	(Farré et al. 2001)
Eaux de surface	0,1 à 2,7 µg/L	
Affluents	1,2 à 4,9 µg/L	(Huppert et al. 1998)
Effluents	< 0,1 à 0,68 µg/L	
Affluents	59 à 160 µg/L	(Santos et al. 2007)
Effluents	3,2 à 12,6 µg/L	
Affluent	8,1 µg/L	(Suarez et al. 2010a)
Effluent	0,4 µg/L	

Très peu de publications traitant de la toxicité de l'ibuprofène sur le vivant sont disponibles. Néanmoins quelques recherches ont montré qu'il avait un effet sur l'expression de gènes, et qu'il était cytogénotoxique (Parolini et al. 2009). Il peut être toxique pour le milieu aquatique puisqu'il agit aussi sur le développement d'algues comme *Selanastrum capricornutum* (Brun et al. 2006). Enfin il modifie la reproduction de poissons comme *Oryzias latipes* (Flippin et al. 2007) et de crustacés comme *Daphnia magna* (Heckmann et al. 2007).

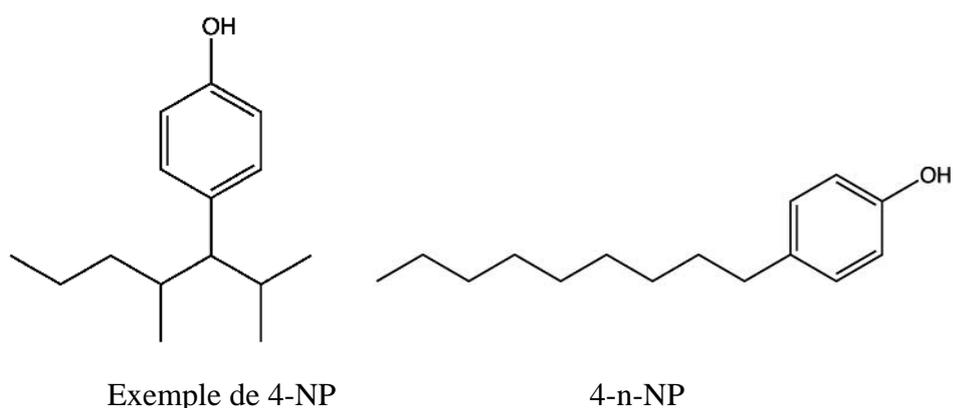
Le recensement bibliographique effectué sur l'ibuprofène et en fonction des cinq catégories (Figure I-15) montre que l'intérêt porté sur son comportement en STEP et sa présence dans le milieu naturel, est croissant depuis 2003. Cependant peu d'études sont menées sur l'évaluation de la toxicité de l'ibuprofène et sur les mesures de concentrations présentes dans le vivant.



**Figure I-15** : Nombre de publications parues sur l'ibuprofène chaque année, depuis 1992. Classification en fonction des domaines suivants : Toxicité et impact des molécules sur le milieu naturel, Présence dans le vivant et les aliments, Présence dans l'environnement, Comportement en station d'épuration, et Elimination et dégradation.

### I.2.4 Un alkylphénol : le 4-nonylphénol

Les nonylphénols (NP) et les octylphénols (OP) font partie de la famille des alkylphénols (AP). Les nonylphénols ont pour formule générale :  $C_9H_{19}-C_6H_4-OH$ . Le groupe alkyl est ramifié de diverses manières et peut être situé en position meta, ortho ou para du groupement phénol. Dans les mélanges commerciaux, l'isomère para, ou 4-nonylphénol (4-NP) (Figure I-16), représente la majorité des nonylphénols (80%) (Becue et Nguyen 2005). L'isomère du 4-NP qui possède une chaîne alkyl linéaire est appelé le 4-n-nonylphénol (4-n-NP).

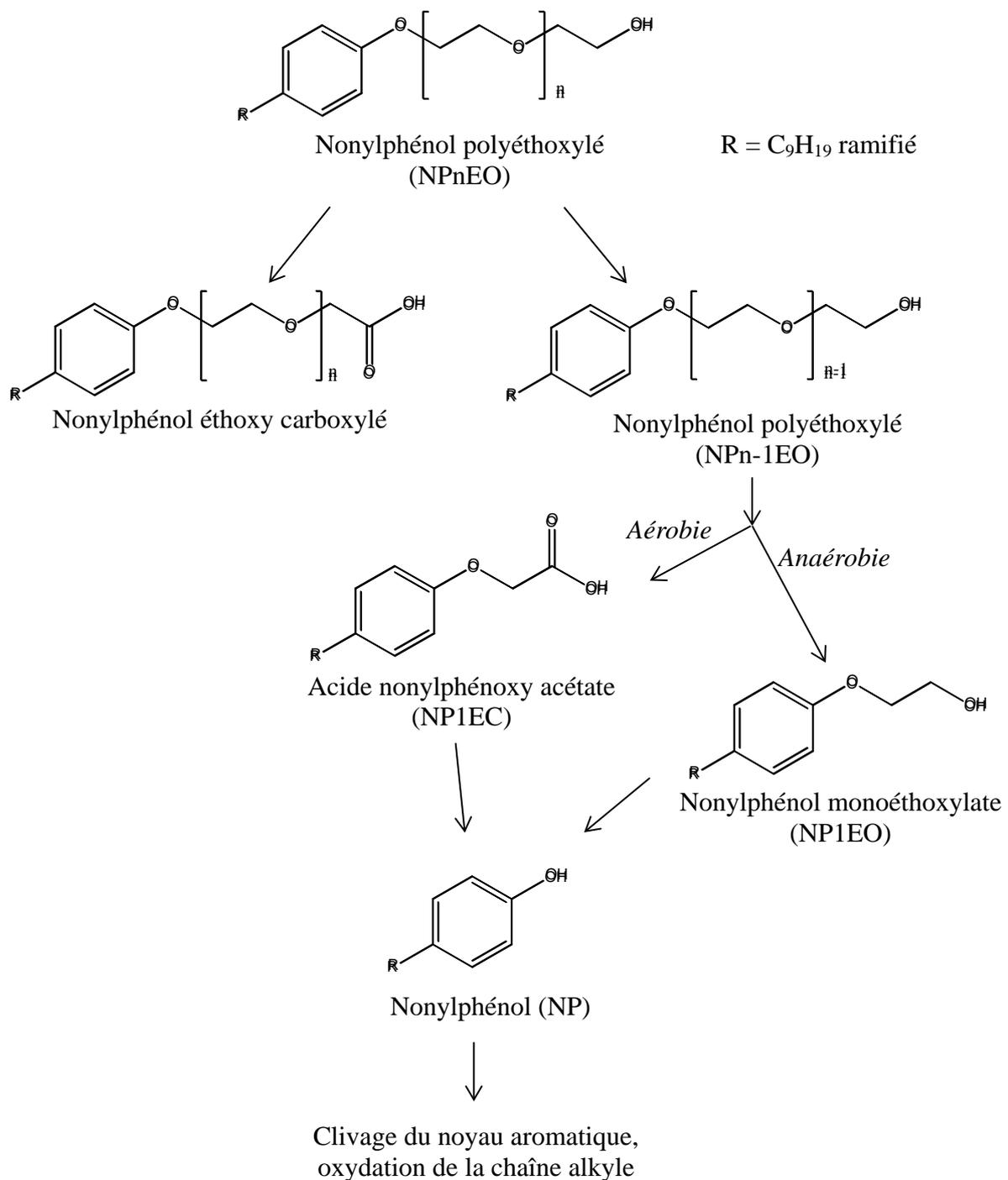


**Figure I-16 :** Formules développées d'une molécule de 4-nonylphénol et du 4-n-nonylphénol.

Les alkylphénols sont utilisés presque uniquement pour la fabrication d'alkylphénols polyéthoxylés (APnEO) qui possèdent des propriétés dispersantes, émulsifiantes et mouillantes. Les APnEO sont utilisés dans la formulation de produits de nettoyage domestiques et pour l'automobile, de détergents, de produits cosmétiques, de produits de désencrage à papier, de peintures et d'agents de traitement de surface. Ils sont également utilisés dans la préparation de résines phénoliques, de polymères, de stabilisants, d'antioxydants et d'agents de durcissement. Ils entrent enfin dans la composition de pesticides et de peintures à l'eau comme émulsifiant et adjuvants (Becue et Nguyen 2005).

La principale source de nonylphénols est la biodégradation des nonylphénols polyéthoxylés (NPnEO) (Figure I-17). En effet, en conditions anaérobies, le processus biologique conduit à la formation de nonylphénol et d'éthoxylates de niveaux inférieurs (monoéthoxylate NP1EO ou diéthoxylate NP2EO). En conditions aérobies, les NPnEO sont biotransformés en acide nonylphénoxy acétique (NP1EC), en acide nonylphénoxy-éthoxyacétique (NP1EC) et en nonylphénol (NP). Les nonylphénols sont plus persistants, plus toxiques, plus lipophiles, et

moins hydrosolubles que les NPnEO (Bennie 1999). La solubilité du 4-NP dans l'eau est très faible (5,4 mg/L). Il a donc tendance à s'accumuler préférentiellement dans les boues et les sédiments.



**Figure I-17 :** Voies de dégradation biologique des alkylphénols polyéthoxylés (source d'alkylphénols) (Ying et al. 2003).

Le 4-NP est un xénobiotique classé comme perturbateur endocrinien capable d'interférer avec le système hormonal de nombreux organismes aquatiques (McMaster 2001, Soares et al. 2008), ce qui entraîne un impact négatif sur leur système de reproduction (Yokota et al. 2001). C'est une molécule dont l'impact sur le vivant et le milieu naturel a suscité l'intérêt des scientifiques depuis les années 90 (Figure I-18). Elle est inscrite sur la liste des polluants prioritaires dangereux désignés par la directive cadre sur l'eau (DCE 200/60/CE, liste des polluants prioritaires en annexe).

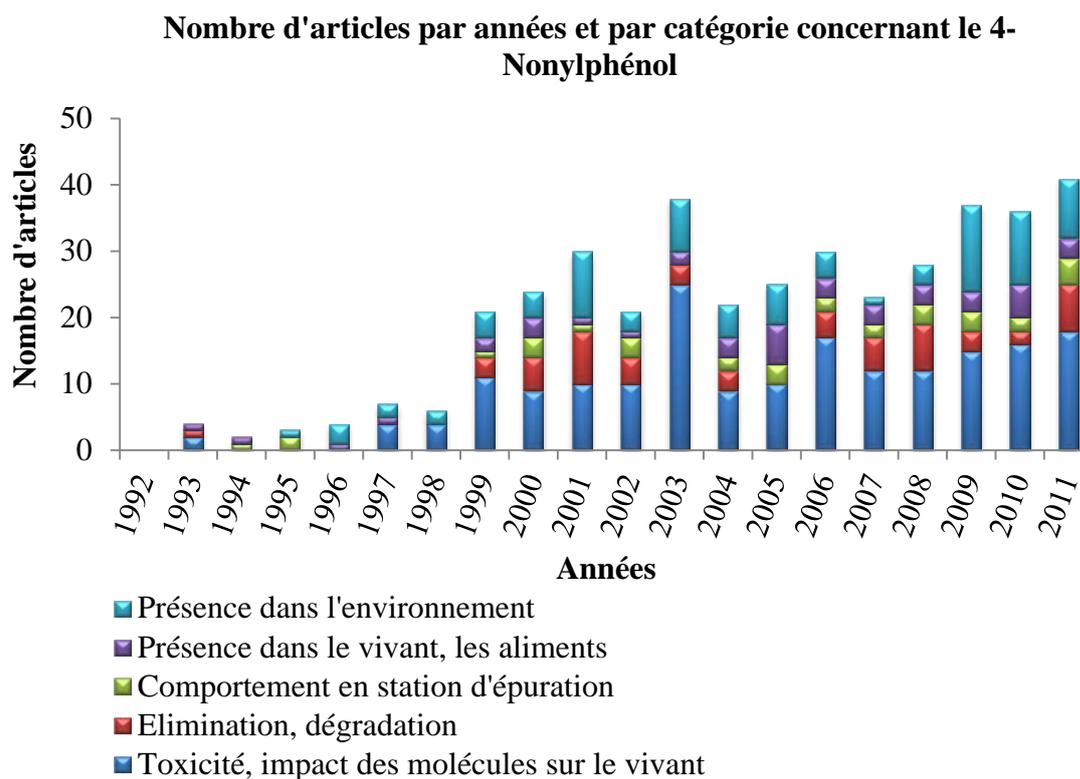
De par leur utilisation dans de nombreux produits, la source principale de rejet d'alkylphenols dans l'environnement est l'eau usée. Les connaissances sur la biodégradation du 4-NP sont assez contradictoires. Certaines études estiment que plus de 90 % du 4-NP entrant en STEP est éliminé par le traitement biologique classique (Ying et al. 2008), tandis que d'autres estiment que 65% des alkylphenols entrants en STEP sont rejetés dans l'environnement (Ahel et al. 1994). Enfin, il a été relevé que les concentrations en 4-NP peuvent augmenter en sortie de STEP (Hu et al. 2007, Vega Morales et al. 2009) suite à la dégradation du NPnEO.

Les rendements d'élimination du 4-NP peuvent être améliorés grâce à l'ozonation, au piégeage sur charbon actif ou à la chloration (ajout de ClO<sub>2</sub>) (Lenz et al. 2004).

Dans le milieu aquatique, le 4-NP se répartit dans les sédiments (62 %), l'eau (35%) (Tableau I-4), et les poissons (3%) et entre donc dans la chaîne alimentaire (Huang et al. 2007). Selon certains auteurs, le 4-NP adsorbé aux boues ou aux sédiments est facilement biodégradé en conditions aérobies (Topp et Starratt 2000, De Weert et al. 2008) et anaérobie (Chang et al. 2005) et encore plus en présence de végétaux (Brown et al. 2009).

**Tableau I-4 :** Occurrence du 4-nonylphenol dans les stations d'épuration et les ressources en eaux.

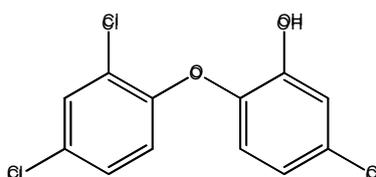
Matrice	[4-Nonylphénol]	Auteurs
Eau de mer	0,32 à 2,76 µg/L	Basheer et Lee (2004)
Effluent STEP	0,14 à 0,24 µg/L	Jahnke et al. (2004)
Affluent	2,8 à 30,0 µg/L	Lee et Peart (1995)
Effluent	0,8 à 15,0 µg/L	
Boues	137 à 470 mg/kg	
Belgique :		
Eau usée	0,58 à 0,73 µg/L	Loos et al. (2007a)
Rivière	0,32 à 2,2 µg/L	
Italie :		
Eau usée	0,37 à 0,53 µg/L	
Rivière	0,46 à 0,70 µg/L	
Eau de surface	0,14 à 0,20 µg/L	Loyo-Rosales et al. (2003)
Sédiments	0,41 à 6,7 mg/kg	
Boues activées	5 à 25 mg/kg	Meesters et Schröder (2002)
Eau usée	0,20 à 0,23 µg/L	Nie et al. (2009)
Boues activées	2,3 mg/kg	
Affluent	1,5 à 2,6 µg/L	Pothitou et Voutsas (2008)
Effluent	0,8 à 1,6 µg/L	
MES entrée de STEP	160 à 268 mg/kg	
Boues	1,1 à 1,3 mg/kg	
Affluent	< 0,4 ng/L	Stavrakakis et al. (2008)
Effluent	1,7 à 4,6 µg/L	
Affluent	1,0 à 2,7 µg/L	Gilbert-Pawlik (2011)
Effluent	0,13 à 0,17 µg/L	
MES entrée de STEP	2,0 à 8,0 mg/kg	
Boues primaires	37,4 à 1200 ng/L	
Boues secondaires	10,8 à 23,3 ng/L	



**Figure I-18 :** Nombre de publications parues sur le 4-nonylphénol chaque année, depuis 1992. Classification en fonction des domaines suivants : Toxicité et impact des molécules sur le milieu naturel, Présence dans le vivant et les aliments, Présence dans l'environnement, Comportement en station d'épuration, et Elimination et dégradation.

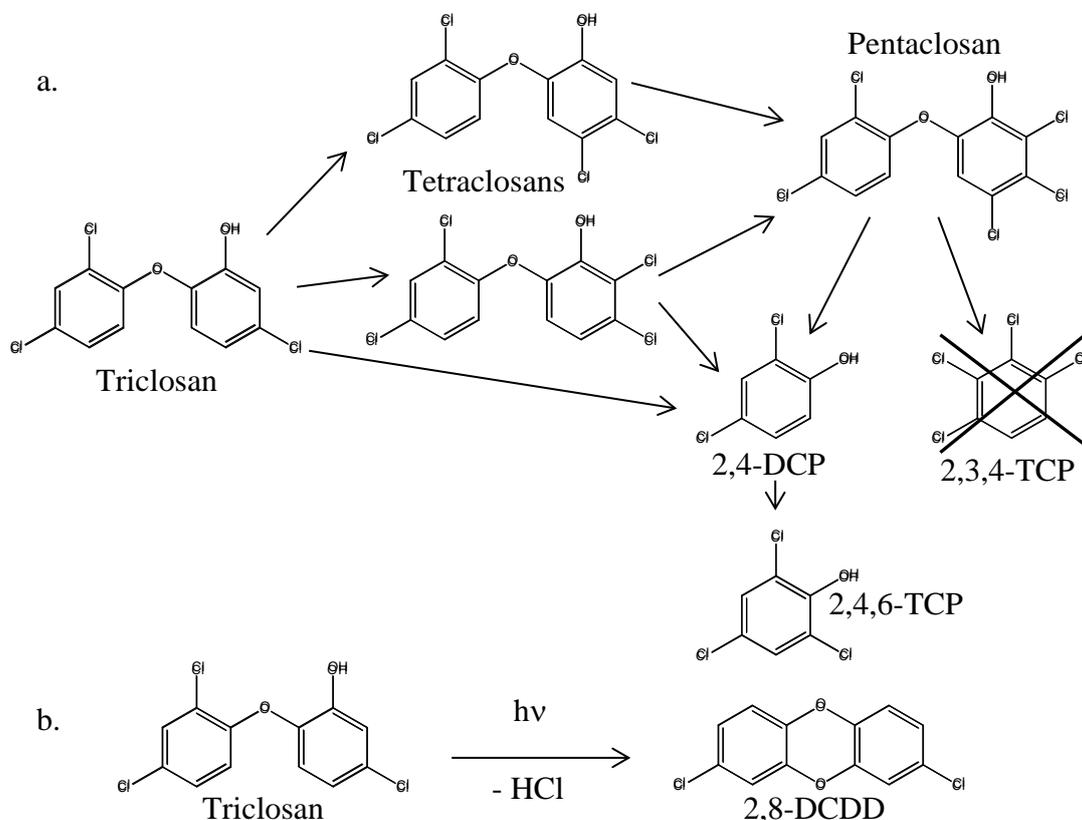
## I.2.5 Un biocide : le triclosan

Connu aussi sous le nom d'irgasan, le triclosan (**Figure I-19**) est un bactéricide présent dans un grand nombre de produits d'hygiène corporelle tels que les gels douche, savons, déodorants, lotions et crèmes pour les mains, dentifrices, bains de bouche... mais aussi dans des produits médicaux où il est utilisé comme agent antiseptique dans les savons désinfectants pour les mains, dans les crèmes pour la peau, ou dans les produits dentaires (Singer et al. 2002).



**Figure I-19** : Formule développée du triclosan.

Cette molécule est peu stable. Elle subit une dégradation photolytique dans l'eau (en surface) mais très peu dans les boues (Lores et al. 2005). Il se forme alors de la dichlorodibenzo-p-dioxine. En présence de chlore libre, le triclosan se dégrade pour former des chlorophénols toxiques (Canosa et al. 2005). La Figure I-20 représente les différentes voies de dégradation possibles du triclosan.



**Figure I-20** : a. Dégradation du TCS en présence de chlore libre, proposée par Canosa et al. (2005), b. photodégradation du TCS proposée par Lores et al. (2005).

Le triclosan est peu soluble dans l'eau (10 mg/L à 20°C) et est préférentiellement adsorbé sur les phases solides. Sa présence dans l'environnement est principalement due aux effluents de station d'épuration et à l'épandage des boues (Liu et al. 2009). En effet, dans une usine de traitement de l'eau, 79% du TCS subit une dégradation biologique, 15% est adsorbé sur les boues, et 6% est rejeté dans les eaux de surface (Singer et al. 2002). C'est surtout depuis 2007 que le nombre d'études sur le comportement du TCS en STEP et son impact sur le milieu naturel n'a cessé d'augmenter (Figure I-21).

Les concentrations relevées en STEP vont de quelques dizaines de ng/L à quelques µg/L suivant le type de rejet d'eau usée (eau de ville, d'hôpital...). Les quantités de TCS mesurées dans les boues de STEP sont de l'ordre de un à plusieurs µg/g (Tableau I-5).

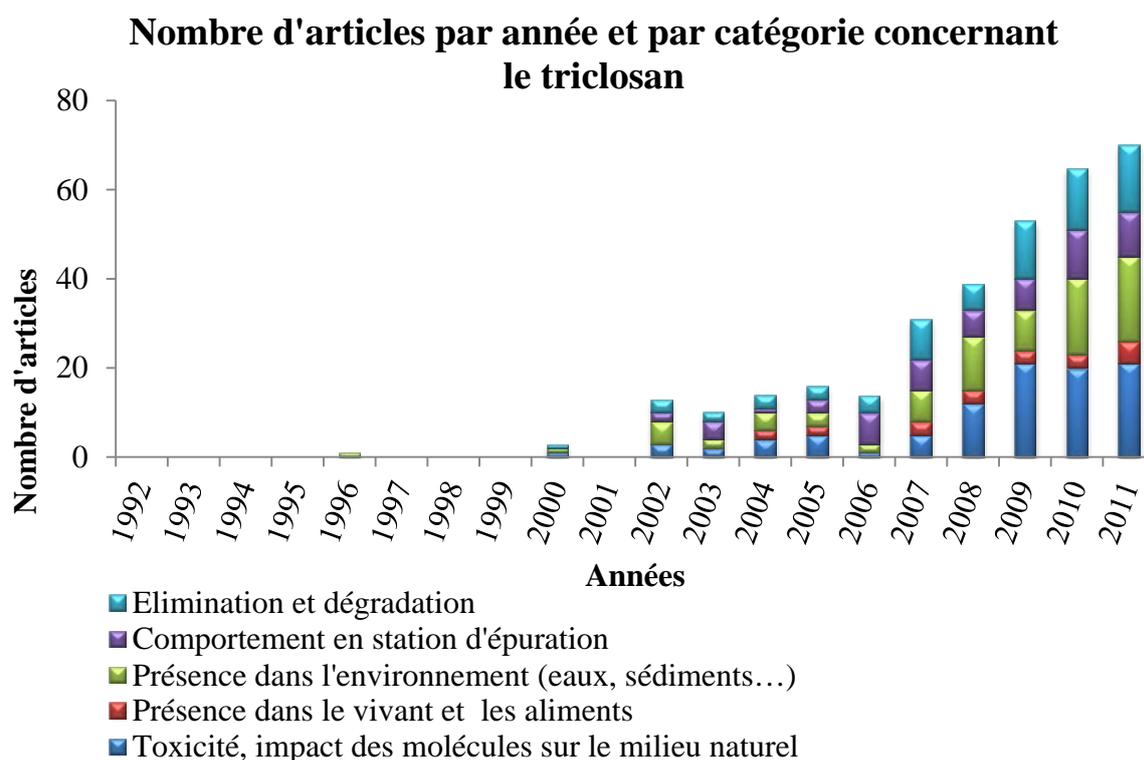
**Tableau I-5 :** Occurrence du triclosan dans les stations d'épuration et les ressources en eaux.

Matrice	[Triclosan]	Auteurs
Effluent de STEP	42 à 213 ng/L	Singer et al. (2002)
Eau usée	22,5 à 213 ng/L	Wu et al. (2007)
Eau usée: Affluent Effluent	1280 ng/g < 2 ng/g	Vanderford et Snyder (2006)
Boues	418 à 5400 ng/g	Morales et al. (2005)
Boues activées	0,62 à 1,49 µg/g	Chu et Metcalfe (2007)
Boues	1,84 µg/g	
STEP eau de ville :		
Affluent	0,28 µg/L	
Effluent	0,43 µg/L	
STEP eau d'hôpital :		
Affluent	9,07 µg/L	Gatidou et al. (2007)
Effluent	1,12 µg/L	
STEP eau université :		
Affluent	0,79 µg/L	
Effluent	0,23 µg/L	

Le triclosan présente à long terme des effets de toxicité potentielle sur les organismes aquatiques, mais il présente aussi un risque lors de sa dégradation en sous-produits plus toxiques encore (composés chlorés, lipophiles, stables et bioaccumulatifs) (Canosa et al. 2005).

James et al. (2010) ont montré chez la brebis que le TCS est un puissant inhibiteur de la fabrication d'œstrogènes. Il est donc considéré comme perturbateur endocrinien. L'exposition

d'une brebis pleine, et par analogie d'une femme enceinte, au triclosan peut alors mettre en danger la grossesse, et le développement du fœtus (James et al. 2010). Une autre étude, de Dayan (2007), sur la présence de TCS dans le lait maternel, n'a pas permis de conclure que le TCS avait un effet néfaste sur les nourrissons.

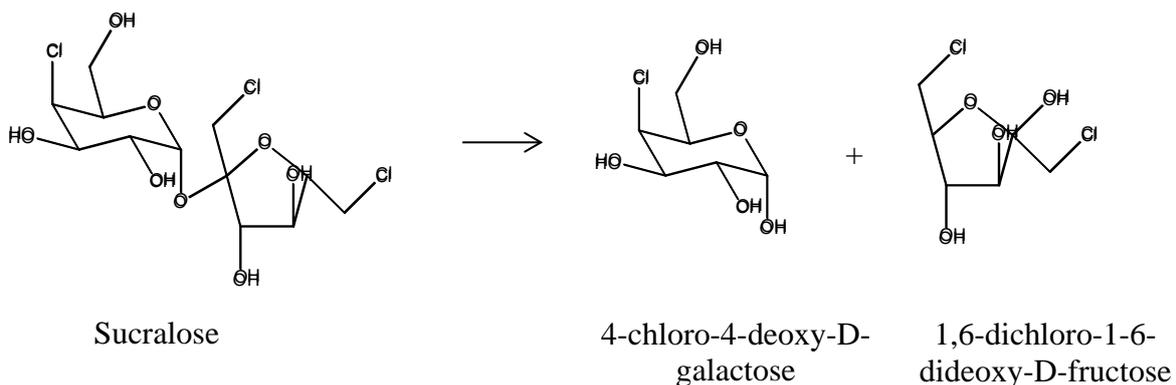


**Figure I-21 :** Nombre de publications parues sur le triclosan chaque année, depuis 1992. Classification en fonction des domaines suivants : Toxicité et impact des molécules sur le milieu naturel, Présence dans le vivant et les aliments, Présence dans l'environnement, Comportement en station d'épuration, et Elimination et dégradation.

### I.2.6 Un édulcorant : le sucralose

Le sucralose est un sucre chloré polaire contenant cinq groupements hydroxyle (Figure I-22). Il a une intensité sucrée 600 fois supérieure à celle du saccharose mais il est non nutritif et non calorique (Grice et Goldsmith 2000). C'est un édulcorant synthétisé à partir du saccharose par le remplacement sélectif de trois groupements hydroxyles par des atomes de chlore. C'est un solide cristallin blanc, très soluble dans l'eau (280 g/L à 20°C). Il est stable sous sa forme cristalline comme en solution. Toutefois, en solution acide le sucralose s'hydrolyse lentement en ses deux constituants qui sont des monosaccharides chlorés (Figure I-22). Par exemple après 1 an, à 25°C et à pH 3, 1% du sucralose est hydrolysé (à pH 4 et 6 il n'y a pas d'hydrolyse) (Bannach et al. 2009).

Le sucralose est omniprésent dans le milieu aqueux. Le corps humain le rejette à 98% sous sa forme inchangée. Il est extrêmement persistant, avec un temps de demie vie dans l'eau allant jusqu'à plusieurs années.



**Figure I-22 :** Formule développée du sucralose et ses produits de dégradation obtenus par hydrolyse en milieu acide.

De nombreuses études (Tableau I-6) montrent que les concentrations en sucralose mesurées en entrée et sortie de STEP sont quasi identiques. Ceci indique que le sucralose n'est pas (ou très peu) éliminé par les procédés d'épuration classiques et qu'il est rejeté dans les eaux de surface (Brorström-Lundén et al. 2008). Les concentrations rejetées sont relativement importantes, de l'ordre de 1 à 11 µg/L, et les concentrations mesurées dans les boues sont très faibles, de 1 à 15 µg/kg.

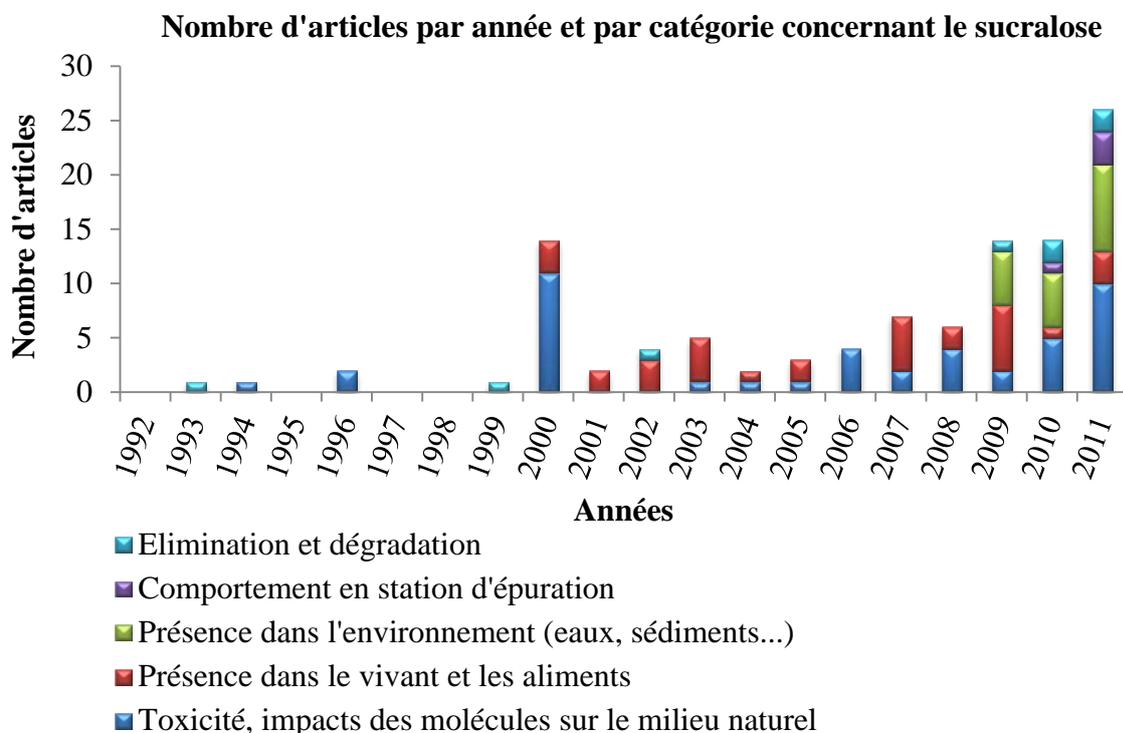
L'ozonation et le traitement par lumière UV et peroxyde d'hydrogène ne permettent d'améliorer que très peu les rendements d'élimination (Scheurer et al. 2010). L'adsorption sur charbon actif semble être plus efficace (Minten et al. 2011).

**Tableau I-6 :** Occurrence du sucralose dans les stations d'épuration et les ressources en eaux.

Matrice	[Sucralose]	Auteurs
Eau de surface	0,2 à 1,1 µg/L	Loos et al. (2009)
Eau STEP :		
Affluent	3,5 à 8,0 µg/L	Brorström-Lundén et al. (2008)
Effluent	1,8 à 11,0 µg/L	
Boues	<1 à 15 µg/kg	
Eau de surface	<4 à 3560 ng/g	
Eau usée	0,8 à 1,8 µg/L	Ferrer et Thurman (2010)
Eau de surface	n.d. à 1,8 µg/L	
Eau souterraine	0,6 à 2,4 µg/L	
Eau côtière	n.d. à 0,17 nM	Mead et al. (2009)
Eau potable	0,1 à 2,9 µg/L	Mawhinney et al. (2011)
Affluent	2 à 9 µg/L	Buerge et al. (2011)
Effluent	2 à 9 µg/L	
Effluent de STEP	27,0 µg/L	
Eau de surface qui reçoit les effluents de STEP	0,12 à 10,0 µg/L	Oppenheimer et al. (2011)
Eau de surface qui ne reçoit pas d'effluents de STEP	n.d.	
Effluent de STEP	11 µg/L	Minten et al. (2011)
+ charbon actif	0,03 µg/L	
+ O <sub>3</sub> 5mg/L	7,9 µg/L	
+ O <sub>3</sub> 15 mg/L	4,2 µg/L	
+ UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	6,6 µg/L	
Eau de surface	0,07 à 0,4 µg/L	
Effluent de STEP	5,9 µg/L	Morlock et al. (2011)
Eau de surface	0,2 µg/L	

Du point de vue toxicologique, le sucralose provoque des migraines (Flamm et al. 2003, Hirsch 2007, Grotz 2008) et des inflammations de l'intestin (Qin 2011). Très peu d'études existent sur l'impact du sucralose sur le vivant (Figure I-23). Selon Brusick et al. (2010) le sucralose ne présente pas de génotoxicité. Il ne modifie pas le développement neuronal néonatal et le comportement de l'adulte (Viberg et Fredriksson 2011). Il ne présente pas d'effets sur la santé humaine pour une exposition fréquente ou sur le long terme (Baird et al. 2000) (expériences réalisées sur des humains volontaires, exposés à différentes concentrations en sucralose et en fructose sur une période de treize semaines). C'est uniquement que très récemment que la recherche s'est tournée vers le suivi de cet édulcorant dans le milieu naturel et de son comportement en STEP. La présence, dans l'environnement, d'une substance ressemblant à un sucre est susceptible de modifier le comportement alimentaire des

organismes aquatiques (Loos et al. 2009). A haute température, le sucralose se dégrade en chlorophénols toxiques (George et al. 2010, Rahn et Yaylayan 2010).



**Figure I-23 :** Nombre de publications parues sur le sucralose chaque année, depuis 1992. Classification en fonction des domaines suivants : Toxicité et impact des molécules sur le milieu naturel, Présence dans le vivant et les aliments, Présence dans l'environnement, Comportement en station d'épuration, et Elimination et dégradation.

En résumé, les huit micropolluants cibles sont issus de différentes activités de notre quotidien. Il a été difficile de choisir uniquement quelques molécules parmi des centaines, voire des milliers de « candidates ». Notre choix a été guidé par i) l'intérêt scientifique et sociétal récent qui leur était porté et par ii) leurs propriétés physico-chimiques (Tableau I-7) ( $\log K_{ow}$ , pKa, solubilité dans l'eau) afin de suivre leur répartition dans les phases liquide et solide selon ces paramètres.

Les données sur leurs concentrations dans les eaux usées, boues, eau épurée, leur devenir en station d'épuration ou sur leur impact sur l'activité bactérienne sont encore très peu nombreuses. Néanmoins, l'ANSES a déjà réalisé des campagnes nationales afin d'estimer l'occurrence de centaines de micropolluants dans les ressources en eau (médicaments, composés perfluoré, voir pages 51 à 56). De ce fait, notre choix s'est porté sur trois médicaments (erythromycine, ofloxacine et ibuprofène) et deux composés perfluorés (PFOA

et PFOS) qui étaient en cours de suivi par l'ANSES dans les eaux destinées à la potabilisation. Pour ces molécules les méthodes existaient pour leur analyse dans des matrices relativement simples (eau de surface, souterraine, potable), il a donc fallu adapter/développer les méthodes d'analyse dans les matrices complexes qui sont l'eau usée et les boues de STEP.

Les trois autres molécules ont été choisies du fait de leur omniprésence dans les usages du quotidien : le 4-NP est un produit de dégradation de détergents qui figure sur la liste des substances prioritaires de la DCE, le sucralose est un édulcorant largement utilisé dans la nourriture industrielle (boissons, chewing-gum, yaourt...), et le triclosan est un biocide présent dans de nombreux produits d'hygiène corporelle (savon, dentifrice...). Le triclosan est d'ailleurs étudié par l'ONEMA dans la campagne exploratoire qui a été lancée en 2012 (page 56).

**Tableau I-7 :** Propriétés physico-chimiques des micropolluants étudiés et leurs concentrations couramment mesurée dans l'eau usée (phase liquide) entrant en STEP.

Composé	M	log K <sub>ow</sub>	pKa	Solubilité dans l'eau (g L <sup>-1</sup> )
Ibuprofène <sup>a</sup>	206	3.97	4.4	0.040
Erythromycine <sup>b</sup>	733	3.06	8.9	1.000
4-Nonylphénol <sup>c</sup>	220	4.48	10.7	0.006
Ofloxacine <sup>d</sup>	361	-0.39	6.1	28.00
PFOA <sup>e</sup>	414	-	3.8	9.5
PFOS <sup>f</sup>	500	-	<1.0	-
Sucralose <sup>g</sup>	397	-0.50	-	280.0
Triclosan <sup>h</sup>	289	4.76	8.1	0.010

*a)* (Stuer-Lauridsen et al. 2000, Stephenson et al. 2006, Völgyi et al. 2007); *b)* (McFarland et al. 1997, Qiang et Adams 2004); *c)* (Vazquez-Duhalt et al. 2005); *d)* (Barbosa et al. 1997, Bhandari et al. 2009); *e)* (Prevedouros et al. 2006, Burns et al. 2008); *f)* (Cheng et al. 2009); *g)* (Jenner et Smithson 1989); *h)* (US EPA 2008).

- non déterminé

## **I.3 EFFICACITE DE FONCTIONNEMENT DE STATIONS DE TRAITEMENT DES EAUX USEES ET LEGISLATION**

### **I.3.1 Efficacité des traitements d'épuration en France**

Dans cette partie, quatre études menées en France sur les micropolluants sont présentées. Il s'agira tout d'abord de développer les principaux résultats obtenus lors du projet AMPERES. Ce projet visait à évaluer l'efficacité des systèmes d'épuration des eaux usées vis-à-vis de micropolluants. De manière générale, les récentes études sur le devenir des micropolluants dans les stations d'épuration indiquent que les procédés de traitement des eaux usées sont peu ou non efficaces vis-à-vis de certaines molécules. Les micropolluants non éliminés sont ainsi rejetés dans les eaux naturelles qui sont nos ressources en eau potable. Les principaux résultats de deux campagnes nationales réalisées par l'ANSES (Laboratoire d'Hydrologie de Nancy) seront ensuite exposés. Ces études portaient sur l'occurrence des résidus médicamenteux et des composés perfluorés dans les eaux destinées à la consommation humaine (de la ressource en eau jusqu'au robinet). Enfin, la campagne exploratoire sur la présence de micropolluants émergents dans les ressources en eaux, réalisée par l'ONEMA, sera présentée.

#### *I.3.1.1 Projet AMPERES*

Le projet ANR AMPERES, mené de 2006 à 2008, a été entrepris par le Cemagref, Suez Environnement, le LPTC de Bordeaux et l'agence de l'eau Rhône Méditerranée Corse. Il avait pour objectifs de mesurer la concentration en micropolluants dans les eaux usées et traitées de 21 stations d'épuration et de quantifier l'efficacité d'élimination de différentes filières d'épuration : boues activées, biofiltration, traitements tertiaires oxydant ou filtrant...vis-à-vis de ces contaminants.

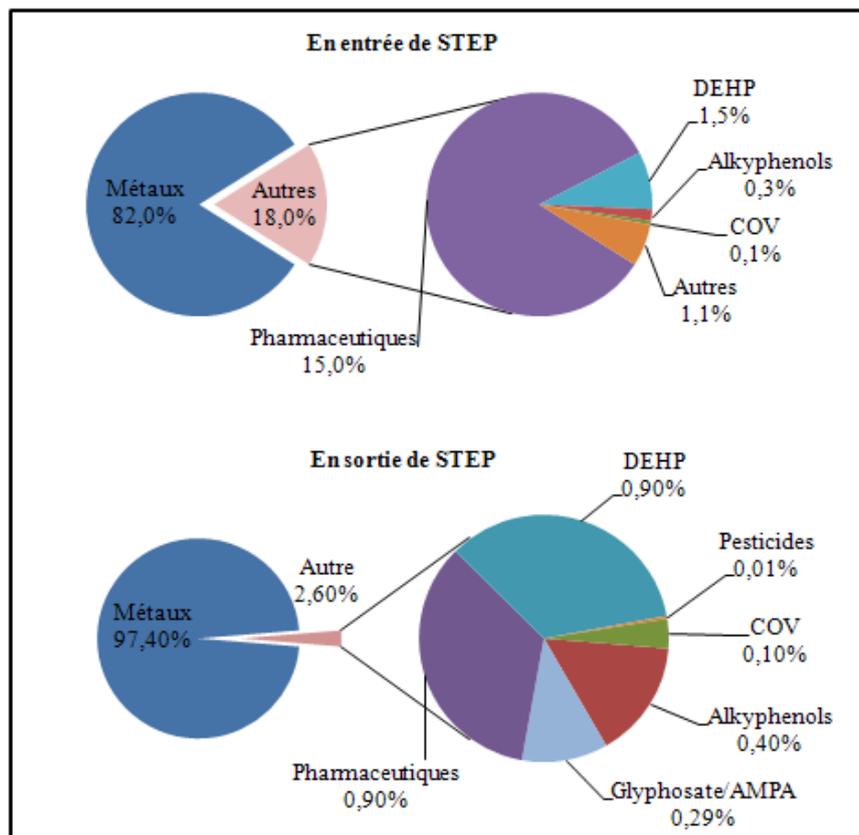
Ce sont en tout 127 substances qui ont été suivies (liste en annexe 1) :

- 41 substances prioritaires de la DCE.
- 48 substances chimiques pertinentes comme d'autres métaux, des produits de dégradation des détergents et pesticides, et d'autres substances jugées intéressantes (triclosan, bisphénol A).
- 38 substances émergentes (33 composés pharmaceutiques et 5 hormones) choisies en fonction de leur consommation en France, des concentrations retrouvées dans les milieux aquatiques et de leur toxicité connue.

Les mesures ont été effectuées en entrée et en sortie de procédés, sur les fractions solides et liquides accompagnées de mesures dans les boues et dans les retours en tête.

Les résultats des flux de polluants en entrée et en sortie de STEP sont présentés sur la Figure I-24. Parmi les micropolluants les plus persistants (en quantité), après traitement en STEP, ont été retrouvés (Esperanza et al. 2009) :

- les métaux, à des concentrations supérieures à 10 µg/L
- les substances pharmaceutiques (kétoprofène), les alkylphénols (éthoxylates et DEHP : phtalate utilisé dans les plastiques), et le glyphosate et son métabolite l'AMPA à des concentrations entre 1 et 10 µg/L
- les hormones, le nonylphénol, le triclosan, les autres pesticides, les pharmaceutiques (paracétamol, aspirine, ibuprofène, caféine...), les composés bromés et chlorés, les HAP et COV en concentration inférieure à 1 µg/L



**Figure I-24** : Répartition des micropolluants (pourcentage) dans les eaux d'entrée et de sortie de STEP. Adapté de Esperanza et al. (2009).

Les rendements d'élimination des différentes étapes de traitement (décantation primaire et boues activées) sont présentés dans le Tableau I-8. On note que le traitement par boues activées est un procédé efficace pour la plupart des micropolluants (rendement d'élimination supérieur à 70%). Néanmoins, le transfert vers les boues est significatif pour environ 65% des substances. Ce rendement est toutefois dépendant de la charge massique et de l'âge des boues (Martin-Ruel et al. 2009).

**Tableau I-8** : Efficacité des traitements primaires. Adapté de Martin-Ruel et al. (2009).

Famille	Substance	Décantation primaire simple (1station)	Décantation primaire physico-chimique (2 stations)	Boues activées à faible charge (6 stations)
COV	Dichlorométhane	7	66 ± 3	88 ± 14
HAP	Fluoranthène	68	44	79 ± 7
Phtalate	DEHP	40	38 ± 16	92 ± 8
Polymère phénolé	Bisphénol A	< 0	< 0	60 ± 30
Aromatique	Benzothiazole	29	< 0	69 ± 8
Pesticide	Diuron	31	< 0	18 ± 31
Chlorophénol	Dichlorophénol	84	< 0	53 ± 39
Hormone	Estrone	< 0	< 0	91 ± 11
Pharmaceutique	Sulfaméthoxazole	19	5 ± 17	52 ± 20
Pharmaceutique	Propranolol	24	10 ± 10	19 ± 18
Pharmaceutique	Paracétamol	7	7 ± 27	85 ± 22
Métal	Zinc	54	60 ± 5	58 ± 22
Métal	Plomb	63	92	73 ± 27

Rendement élimination < 30 % ■  
 Rendement élimination 30 à 70 % ■  
 Rendement élimination > 70 % ■

L'efficacité des traitements tertiaires, d'affinage ou avancés, est présentée sur le **Tableau I-9**. Les traitements d'affinage permettent l'abattement de certains métaux par décantation rapide, de retenir quelques éléments polaires (glyphosate, AMPA) par filtration sur sable, et le traitement complémentaire d'environ 20 substances par lagunage. En ce qui concerne les traitements tertiaires avancés, l'osmose inverse est le procédé le plus efficace pour une plus large gamme (80%) de composés (pharmaceutiques, pesticides, COV, métaux, alkylphénols). L'ozonation est efficace à plus de 70 % pour 55 % des composés (pharmaceutiques, pesticides). Enfin, le traitement par charbon actif présente une efficacité intermédiaire entre l'osmose inverse et l'ozonation.

**Tableau I-9 :** Efficacité des traitements tertiaires d’affinage et avancés. Adapté de Martin-Ruel et al. (2009).

		Gamme de rendement d'élimination maximal (%)					
Famille	Substance	Traitement d'affinage			Traitements avancés		
		Décantation rapide	Filtration sur sable	Lagunage	Osmose inverse	Ozone	Charbon actif
COV	Dichlorométhane, trichlorométhane, tetrachloroéthylène	Orange	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert
Pesticides	glyphosate	Orange	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert
	AMPA	Orange	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert
	atrazine, simazine	Orange	Vert	Vert	Vert	Orange	Vert
	diuron, isoproturon	Orange	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert
Chlorophénols	Dichlorophénol, tribromophénol	Orange	Vert	Vert	Orange	Vert	Vert
Phtalates	DEHP	Orange	Vert	Vert	Vert	Vert	Orange
HAP	Fluoranthène	Orange	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert
Additifs industriels	Benzothiazole	Orange	Vert	Vert	Orange	Vert	Vert
Métaux	Li, Ti, V, Se, Ba	Orange	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert
	As	Orange	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert
	Cu, Sn	Orange	Vert	Orange	Vert	Vert	Vert
	B	Orange	Vert	Vert	Vert	Vert	Orange
	Fe	Orange	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert
	Cr, Zn	Orange	Vert	Orange	Vert	Vert	Vert
	Ni, Co, Rb, Mo, Sb, U	Orange	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert
	Hg	Orange	Vert	Orange	Vert	Vert	Vert
	Ag, Cd	Orange	Vert	Orange	Vert	Vert	Vert
	Pb, Al	Orange	Orange	Vert	Vert	Vert	Vert
Alkylphénols	Nonylphénol	Orange	Orange	Vert	Vert	Vert	Vert
	Octylphénols, NP2EO	Orange	Orange	Vert	Vert	Vert	Vert
	NP1EO, Alkylphenol carboxylates	Orange	Orange	Vert	Vert	Vert	Vert
Hormones	Estrone, ethinyl estradiol	Orange	Orange	Vert	Orange	Vert	Vert
	oxprenolol, bisprolol, atenolol, sotalol	Orange	Orange	Vert	Vert	Vert	Vert
	paracetamol, diclofenac, gemfibrozil	Orange	Orange	Vert	Vert	Vert	Vert
	timolol, nadolol	Orange	Orange	Vert	Vert	Vert	Orange
	propranolol	Orange	Orange	Vert	Vert	Vert	Vert
Pharmaceutiques	Carbamazépine, diazepam, nordiazepam, alprazolam, fluoxetine, acebutolol, ibuprofène, naproxène, terbutaline	Orange	Orange	Vert	Vert	Vert	Vert
	Amitriptyline, metoprolol, roxythromycine	Orange	Orange	Vert	Vert	Vert	Vert
	Ketoprofène, salbutamol	Orange	Orange	Vert	Vert	Vert	Vert
	Aspirine	Orange	Orange	Vert	Vert	Vert	Vert
	Sulfamethoxazole, bromazepam	Orange	Orange	Vert	Vert	Vert	Vert

Rendement élimination < 30 % ■  
 Rendement élimination 30 à 70 % ■  
 Rendement élimination > 70 % ■

### *1.3.1.2 Plan national sur les résidus de médicaments dans les eaux*

En janvier 2006 l'AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) a été saisie par la DGS (Direction Générale de la Santé, service de l'administration française chargé de préparer la politique de santé publique en France, et d'aider à sa mise en œuvre) d'une demande d'appui scientifique et technique pour identifier les substances médicamenteuses qu'il conviendrait de rechercher en priorité dans les eaux destinées à la consommation humaine et pour élaborer un protocole d'étude analytique (Rapport ANSES 2011).

Dans un premier temps a été établie une liste hiérarchisée des résidus de médicaments à analyser dans les eaux en tenant compte de leur solubilité dans l'eau, de leur rémanence, de leur toxicité, de leur consommation et de leur criticité. La criticité est exprimée par l'équation 1 :

$$\text{criticité} = \frac{\text{quantité consommée}}{\text{posologie minimale}} \times \text{solubilité} \quad \text{Équation 1}$$

Parmi les 205 médicaments humains et 115 médicaments vétérinaires étudiés (et leurs métabolites), 76 ont été retenus d'après les critères de hiérarchisation et seulement 45 (dont cinq métabolites) ont été analysables (listes complètes en annexe 2). L'ibuprofène, l'érythromycine et l'ofloxacine font partie de la liste finale analysée. Une méthode d'analyse dite multi-résidus par SPE LC-MS/MS a été développée afin de doser les molécules avec des limites de quantification allant jusqu'à 50 à 1 ng/L.

Une campagne nationale de mesure des 45 médicaments a été réalisée de 2009 à 2011 sur tout le territoire français. Pour les eaux brutes, 285 échantillons ont été analysés : deux tiers de ces échantillons sont d'origine souterraine et un tiers est d'origine superficielle. Les eaux traitées correspondant à ces eaux brutes ont aussi été analysées (soit 285 échantillons d'eau traitée). Les eaux traitées analysées représentent, en termes de débit d'eau distribuée, 24 % de la population Française.

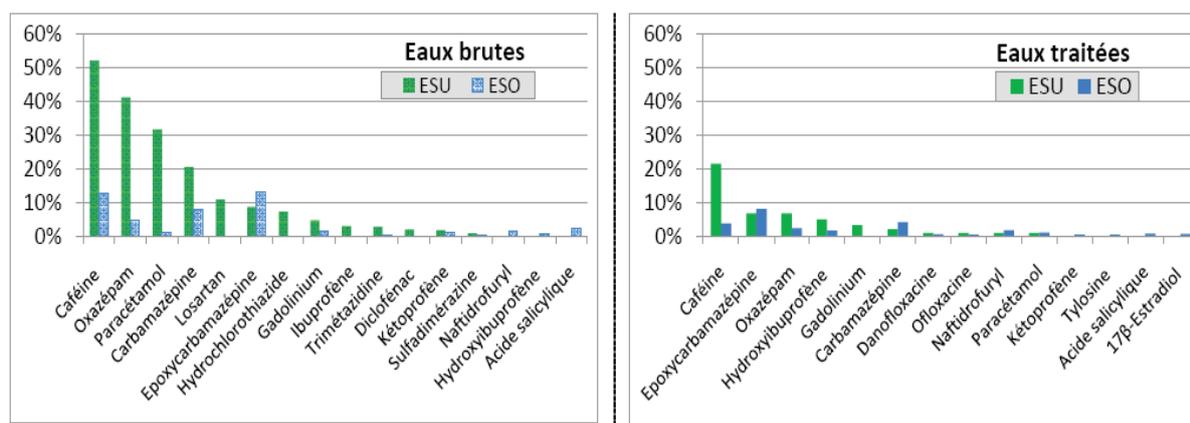
Un bilan a été dressé quant à la présence de ces molécules dans les eaux destinées à la consommation humaine. Sur les 45 molécules recherchées :

- dans les eaux brutes, 30 molécules ont été détectées au moins une fois, dont 16 à des teneurs supérieures aux limites de quantifications. Les molécules les plus fréquemment détectées étant la carbamazépine, l'oxéпам, le paracétamol et l'époxycarbamazépine.

- dans les eaux traitées, 19 molécules ont été détectées au moins une fois, dont 14 à des teneurs supérieures aux limites de quantification, les principales étant l'époxycarbamazépine, la carbamazépine, l'oxépam et l'hydroxyibuprofène.

Les concentrations maximales retrouvées sont de l'ordre de 400 ng/L dans les eaux brutes (paracétamol) et 100 ng/L dans les eaux traitées (acide salicylique). Les molécules retrouvées dans les eaux brutes et dans les eaux traitées (Figure I-25) sont sensiblement les mêmes. Les métabolites sont cependant plus fréquemment détectés dans les eaux traitées.

Les eaux de surface présentent des fréquences de quantification des molécules plus importantes que les eaux souterraines. La comparaison entre les fréquences de quantification en eaux brutes et en eaux traitées (pour les eaux superficielles essentiellement) semble illustrer une certaine efficacité des filières de traitement poussé mises en œuvre pour ce type de ressource (Figure I-25).

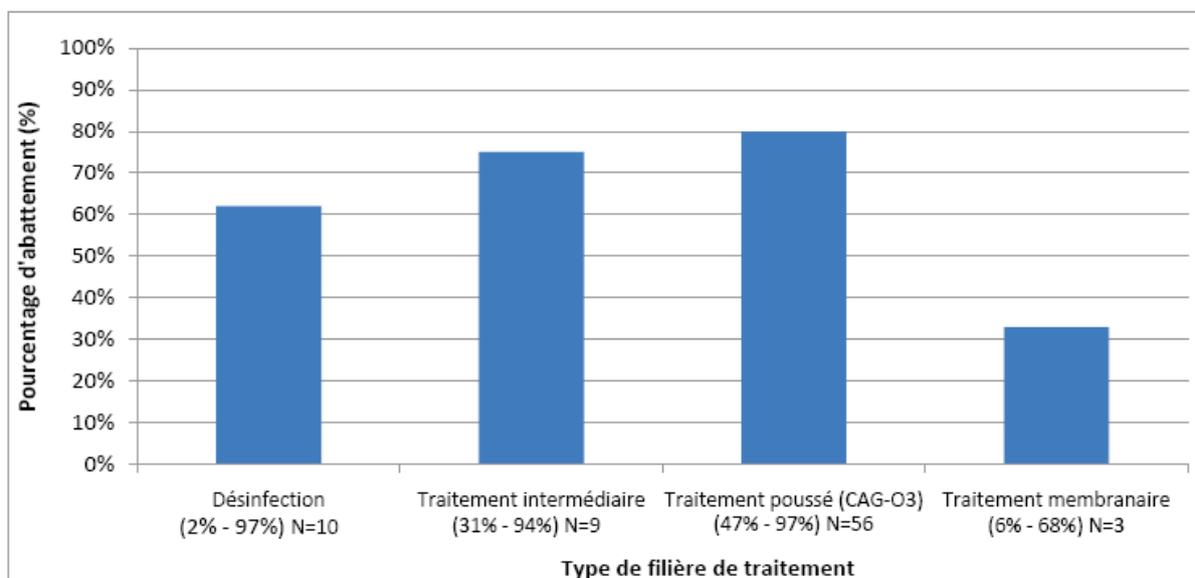


**Figure I-25 :** Fréquence de quantification des différentes molécules dans les ressources et dans les eaux destinées à la consommation humaine en fonction de l'origine de l'eau : eau de surface (ESU) et eau souterraine (ESO).

L'efficacité des différentes filières de potabilisation a été estimée à partir des échantillons présentant des teneurs cumulées en médicaments supérieures à 100 ng/L. Au total ces résultats concernent 78 couples eaux brutes/eaux traitées (sur 285). Les résultats mettent en évidence des abattements variables en fonction des filières de traitements (**Figure I-26**) et des molécules considérées. Pour les traitements poussés de type ozonation et charbon actif, les plus représentés (56 sites), on observe une efficacité de l'ordre de 75 à 80 %. Cependant ces données doivent être interprétées avec prudence puisque la finalité de cette démarche n'était pas d'étudier spécifiquement l'efficacité des filières de traitement. En effet :

- Le nombre d'échantillons positifs est relativement faible, en particulier pour les traitements membranaires.

- Un seul prélèvement a été réalisé par site.
- A certaines eaux traitées peuvent correspondre plusieurs ressources en eau brute dont une seule a été analysée (environ 10 à 20 % des cas).
- L'apparente élimination de certains composés peut être liée à la faible stabilité de certaines molécules en présence de chlore et/ou la transformation des molécules mères en produits de dégradation.



**Figure I-26 :** Abattements moyens des molécules en fonction des filières de traitement.

Cette campagne nationale a permis de dresser un état des lieux des niveaux de concentration en résidus médicamenteux avec un taux de couverture d'environ 25 % de l'eau de consommation produite en France. Il en ressort que ces eaux sont très souvent contaminées par les produits pharmaceutiques, les niveaux de concentration dans les eaux naturelles variant en fonction de la stabilité chimique, de la biodégradabilité, des caractéristiques physico-chimiques des molécules et des performances des stations d'épuration.

### *1.3.1.3 Campagne nationale d'occurrence des alkyl perfluorés dans les eaux destinées à la consommation humaine*

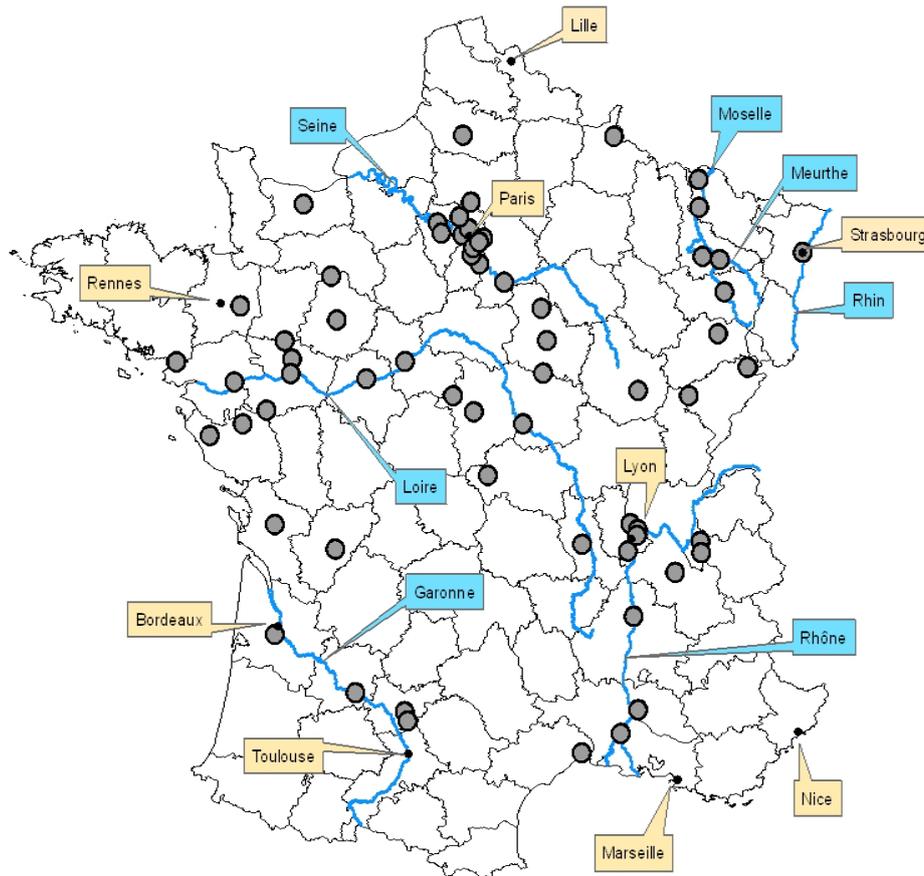
Le faible nombre de données sur les rejets de PFC dans les eaux de surface, leur présence dans les eaux souterraines et dans les eaux traitées en France a incité la DGS à saisir l'ANSES afin de mettre en place une campagne nationale d'occurrence de ces substances dans les eaux brutes (de surface et souterraines) et traitées (destinées à la consommation humaine).

Dix composés perfluorés (sept carboxylates et trois sulfonates) ont été suivis au travers de deux campagnes de prélèvement en été 2009 (de juillet à septembre) et en juin 2010. L'échantillonnage a été réparti de façon homogène sur les 100 départements français. Une méthode par SPE LC-MS/MS a été développée pour analyser les PFC dans les échantillons d'eaux brutes et d'eaux traitées qui représentent environ 20 % de la production nationale en eau potable.

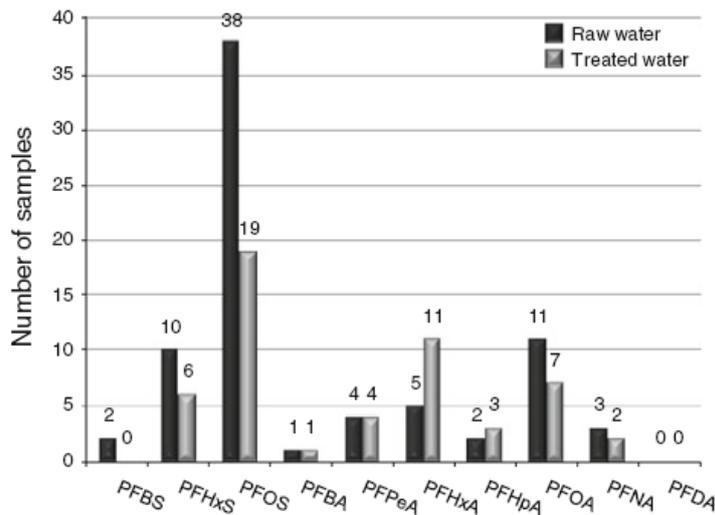
Dans les eaux brutes, la concentration maximale mesurée était de 139 ng/L pour le PFHxA et la somme des PFC a excédé 100 ng/L seulement dans trois échantillons. Sur les dix PFC recherchés, PFOS, PFHxS, PFOA et PFHxA sont les plus retrouvés. Ils sont respectivement détectés dans 27 %, 13 %, 11% et 7 % des cas.

Une variabilité géographique des concentrations en PFC a été observée (Figure I-27). Les départements possédant de grands fleuves et/ou une forte densité de population semblent être plus touchés par la contamination en PFC (la Seine à Paris, le Rhône à Lyon...).

La concentration maximale mesurée dans l'eau traitée (potable) était de 125 ng/L pour le PFHxA. La somme des PFC a excédé 100 ng/L (156 ng/L) dans un seul échantillon. La Figure I-28 compare la présence de PFC à des concentrations supérieures à la limite de quantification (4 ng/L pour chaque composé), dans des paires d'échantillons eau brute/eau traitée. Il semblerait que les perfluoroalkyls sulfonates soient éliminés au cours des procédés de traitements de l'eau. Cependant, les perfluoroalkyls carboxylates ne sont pas éliminés et sont parfois présents en plus forte concentration dans les eaux traitées que dans les eaux brutes. Ceci peut s'expliquer par la dégradation de précurseurs (fluoro-télomères ou sulfonamides d'alkyl-perfluorés).



**Figure I-27 :** Carte des villes et rivières majeures en France. Les ronds grisés représentent les points d'échantillonnages pour lesquels au moins un PFC a été quantifié (concentration supérieure à la limite de quantification).



**Figure I-28 :** Comparaison de 41 paires d'échantillons eau brute/eau traitée. Nombre d'échantillons présentant un niveau de concentration en PFC supérieur à la limite de quantification (4 ng/L pour chaque composé) (Boiteux et al. 2012).

En nombre d'échantillons, cette étude est la plus importante réalisée sur l'occurrence des PFC dans les eaux continentales (331 eaux brutes et 110 eaux traitées). Elle a permis de dresser un état des lieux des niveaux de concentration en alkyls perfluorés avec un taux de couverture d'environ 20 % de l'eau de consommation produite en France.

Parmi toutes les ressources étudiées, aucune n'a présenté des concentrations en PFC supérieures aux valeurs réglementaires proposées en Allemagne et aux Etats-Unis (voir partie II.1.3). Dans la perspective d'intégrer la recherche de PFC au contrôle sanitaire, l'ANSES recommande de ne pas se limiter aux seuls composés PFOA et PFOS. En effet, il en ressort de cette étude que d'autres PFC (notamment PFHxA) sont parfois présents en forte teneur dans les ressources en eau et que d'autres encore (PFHxA, PFHpA) peuvent naître de la dégradation de précurseurs.

#### *1.3.1.4 Campagne exploratoire sur la présence des micropolluants émergents*

Une opération nationale de recherche et développement sur les micropolluants émergents dans les eaux de la métropole française a été initiée en 2012 par le ministère en charge du développement durable. L'ONEMA (Office national de l'eau et des milieux aquatiques) est le maître d'ouvrage du projet et en assure la plus grande partie du financement. Il s'appuie sur des opérateurs publics (INERIS, IFREMER) pour en assurer la mise en œuvre technique et a chargé AQUAREF (laboratoire national de référence pour la surveillance des milieux aquatiques) de l'élaboration des prescriptions techniques et des méthodes d'analyse avec l'aide des équipes de recherche impliquées. Ce sont en tout une vingtaine d'acteurs qui sont réunis pour la mise en œuvre de cette campagne (organismes de recherche, agences de l'eau, offices de l'eau, laboratoires d'analyses, bureaux d'études...).

Près de 180 molécules (annexe 3) ont été retenues (sur 2400 candidates) selon leurs propriétés intrinsèques et leurs possibilités d'analyse. Ces molécules font partie d'une dizaine de familles de polluants, et seront recherchées dans les eaux de surface, les eaux littorales, les plans d'eau et dans les eaux souterraines des départements ultramarins.

Les principaux objectifs de ces campagnes sont :

- Acquérir des connaissances, représentatives à l'échelle nationale, sur la présence de polluants émergents.

- Disposer de données complémentaires sur des molécules déjà surveillées, mais dont les matrices sur lesquelles s'opère aujourd'hui la surveillance ne sont pas pertinentes ou alors pour lesquelles les limites de quantification de la surveillance méritent des examens complémentaires
- Obtenir une proposition, par le comité d'experts animé par l'ONEMA et l'INERIS, d'une nouvelle liste de substances nationales pertinentes à surveiller à partir de 2014 (ce qui est une des priorités du plan national micropolluants).

### I.3.2 Un point sur la législation

La réglementation sur l'eau est complexe et il est important de redéfinir les différents termes utilisés dans la législation. Une **directive** est un texte voté au niveau européen par les représentants des états membres. Une **loi** transpose la directive en droit Français. La loi est imposée par le parlement qui détient le pouvoir législatif et peut entraîner des sanctions pénales si celle-ci n'est pas respectée. L'**arrêté** vise à faire respecter une loi. Il est mis en place par une autorité administrative qui détient le pouvoir exécutif (ministre, préfet, maire). Enfin, une **circulaire** interprète les différents textes et donne des instructions de service. Une circulaire interprétative ne possède aucune valeur juridique.

On peut observer, dans l'évolution de la législation, la prise en compte de plus en plus importante de la préservation du milieu naturel. Trois lois majeures sur la gestion des ressources en eau en France peuvent être retenues :

- La loi du 16 décembre 1964, relative au régime et à la répartition des eaux et à la lutte contre leur pollution, évoque la notion de pollueur-payeur (redevance plus élevée lorsque le préjudice porté au milieu naturel est important). Cette loi a organisé la gestion décentralisée de l'eau par bassin par la création des six Agences de l'eau (Adour-Garonne, Artois-Picardie, Rhin-Meuse, Loire-Bretagne, Rhône-Méditerranée et Corse, Seine-Normandie).
- La loi sur l'eau du 3 janvier 1992, est la transposition Française de la directive européenne du 21 mai 1991 (91/271/EEC) sur les eaux résiduaires urbaines. Elle a permis de mettre en œuvre une gestion globale des eaux et ainsi d'imposer la mise en place de systèmes d'assainissement collectifs dans les communes. De nouveaux outils de gestion des eaux par bassin sont mis en place : les SDAGE (Schéma Directeur d'Aménagement et de Gestion des Eaux) à l'échelle de grands bassins et les SAGE (Schéma d'Aménagement et de Gestion des Eaux) à l'échelle locale, qui sont tous deux dirigés par les agences de l'eau.
- La loi sur l'eau et les milieux aquatiques (LEMA), datant du 30 décembre 2006 apporte de nouvelles orientations aux deux lois précédentes. Elle donne des outils en vue d'atteindre les objectifs fixés par la directive cadre sur l'eau (DCE) et souhaite améliorer

le service public de l'eau et de l'assainissement pour donner un accès à l'eau pour tous avec une gestion plus transparente.

La directive cadre sur l'eau (DCE 2000/60/CE) a été adoptée le 23 octobre 2000 par l'Union Européenne. Elle est issue de la nécessité de revisiter les nombreuses directives sur l'eau qui se sont accumulées et de mettre en avant les objectifs de préservation et de restauration de l'état des eaux superficielles (eaux douces et eaux côtières (à moins d'un mille marin soit 1852 m)) et des eaux souterraines. Elle souhaite atteindre d'ici 2015 un « bon état » général (écologique et chimique) des différents milieux aquatiques. Ceci implique la mise en place de réseaux de surveillance nécessitant des moyens de mesure renforcés. Un état des lieux doit être effectué afin d'instaurer un « plan de gestion » des eaux et ce, neuf ans maximum après la mise en application de la directive.

Les indicateurs de qualité cités relèvent des domaines physico-chimiques, écologiques, hydromorphologiques mais également de l'écologie du paysage. La qualité est évaluée grâce à l'utilisation d'un « état de référence » comme point de départ. La DCE met à jour tous les quatre ans une liste de substances qui sont considérées comme étant des micropolluants prioritaires et dangereux prioritaires (dont le déversement sera progressivement interdit) à surveiller. Cette liste comptait 33 molécules en 2000 et 41 en 2008 (Annexe 4), réparties en quatre catégories : pesticides, métaux lourds, polluants industriels et autres polluants. Actuellement 11 autres molécules sont en révision pour en faire partie, dont le PFOS, l'AMPA, le glyphosate ou encore le bisphenol-A.

La mise à jour en 2008 de la DCE (2008/105/CE) établit des normes de qualité environnementales (NQE) pour la liste des 41 substances dans les eaux souterraines et de surface (Annexe 5). Une NQE est définie comme la concentration d'un polluant ou d'un groupe de polluants dans l'eau, les sédiments ou le biote, qui ne doit pas être dépassée, afin de protéger la santé humaine et l'environnement. La détermination de ces limites de concentration est possible grâce à une méthodologie spécifique élaborée au niveau européen (Technical Guidance For Deriving Environmental Quality Standards (European Commission 2011)).

Les NQE de substances d'intérêt national (ne faisant pas partie de la liste de la DCE) sont déterminées au niveau national. En France, l'INERIS fait des propositions de valeurs de NQE au Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie, via sa convention avec l'ONEMA.

La circulaire du 7 mai 2007 transpose la DCE à l'échelle française et fixe des normes de qualité environnementales (NQE) pour les polluants prioritaires listés. La NQE du 4-nonylphenol est fixée à 0,3 µg/L dans les eaux de surface intérieures, de transitions, marines intérieures et territoriales. Aucune obligation du suivi des concentrations dans les sédiments n'est présentée.

L'arrêté du 22 juin 2007 fixe les concentrations maximales et les rendements minimaux à atteindre en STEP pour l'élimination de la pollution classique : DBO5, DCO, phosphore, azote, et MES (Tableau I-10), et en fonction de la sensibilité du milieu recevant es eaux épurées. Cet arrêté indique aussi que le raccordement d'effluents non-domestiques au système de collecte est possible mais à condition de vérifier que les effluents ne contiennent pas les 157 substances (Annexe 6) visées par le décret n°2005-378 du 20 avril 2005 (relatif au programme national d'action contre la pollution des milieux aquatiques par certaines substances dangereuses) et une liste de 13 substances qui font partie de la liste de la DCE.

**Tableau I-10 :** Performances minimales des stations d'épuration devant traiter une charge brute de pollution organique supérieure à 120 kg/j de DBO5.

	Concentration en sortie de STEP		Rendement minimal d'épuration
DBO5	25 mg/L	OU	pour 120 à 600 kg/j : 70 % pour plus de 600 kg/j : 80 %
DCO	125 mg/L		75 %
MES	35 mg/L		90 %
NGL Azote Global	15 mg/l pour une charge brute de 600 à 6000 kg/j 10 mg/l pour une charge brute > 6000 kg/j		70%
PT Phosphore Total	2 mg/l pour une charge brute de 600 à 6000 kg/j 1 mg/l pour une charge brute > 6000 kg/j		80%

Mis à part pour le 4-NP, aucune loi en France n'impose des limites de concentration des micropolluants étudiés dans cette thèse, dans le milieu naturel. Néanmoins, le Canada a déjà fixé une limite de concentration du triclosan « à la source », c'est à dire dans la formulation des produits cosmétiques. Le triclosan ne doit pas dépasser 0,03 % dans les cosmétiques buccaux (dentifrices...) et 0,3 % dans les autres cosmétiques (savon...). Le triclosan n'étant

pas une substance prioritaire (DCE) mais une substance d'intérêt en France, l'INERIS a fait une proposition de NQE à 0,05 µg/L.

En ce qui concerne les limites d'exposition humaine à ces composés, peu de données sont disponibles. Au Canada, la dose journalière acceptable (DJA) de consommation de sucralose a été fixée à 9 mg/kg. La directive européenne 94/35/CE, concernant les édulcorants destinés à être employés dans les denrées alimentaires, fixe une DJA pour le sucralose à 15 mg/kg.

Pour les composés perfluorés PFOA et PFOS, des limites de consommation via l'eau potable ont été fixées en Allemagne et aux Etats-Unis. Celles-ci sont regroupées dans le Tableau I-11. Récemment, Wilhelm et al. (2010) ont proposé des valeurs indicatrices provisoires pour une exposition sans danger à l'eau potable (au cours d'une vie) pour plusieurs des PFC autres que PFOA et PFOS: PFBA à 7000 ng/L, PFPeA à 3000 ng/L, PFHxA à 1000 ng/L, PFHpA à 300 ng/L, PFBS à 3000 ng/L et PFHxS à 300 ng/L.

La plupart des molécules étudiées dans cette thèse sont donc susceptibles d'avoir un impact sur le milieu naturel et d'être légiférées un jour en France.

**Tableau I-11 :** Valeurs maximales acceptables dans l'eau potable en Allemagne et dans différents états des Etats-Unis.

		PFOA	PFOS	Références
<b>ALLEMAGNE</b>				
	Valeur guide pour une consommation sur toute une vie (somme de PFOA et PFOS)	300 ng/L		(FEA 2011)
<b>ETATS-UNIS</b>				
Minesota	Limite de risque chronique pour la santé autre que le cancer	300 ng/L		(MDH 2008)
New Jersey	Concentration dans l'eau potable pour une exposition à vie	40 ng/L		(Post et al. 2009)
North Carolina	Niveau acceptable dans l'eau	630 ng/L		(MDH 2008)
EPA	Valeurs provisoire conseillée pour la santé	400 ng/L	200 ng/L	(US EPA 2009)

## **I.4 METHODES D'EXTRACTION ET DE DETECTION**

Grâce aux avancées technologiques, les instruments d'analyses sont devenus de plus en plus performants mais, dans la plupart des cas, il est nécessaire de traiter l'échantillon suivant différents protocoles avant de pouvoir l'analyser. Classiquement, un protocole analytique est composé :

- d'une étape d'extraction permettant d'isoler et de transférer les molécules recherchées dans un solvant. Ceci implique l'utilisation de procédés physico-chimiques qui permettent de séparer les solutés de la matrice étudiée.
- d'une étape de purification qui peut être utile pour débarrasser l'extrait des éventuels interférents.
- d'une étape de concentration qui consiste à diminuer le volume de solvant par évaporation jusqu'à un volume fixé puis à reprendre le résidu avec un solvant (différent ou non du premier utilisé) approprié à la méthode d'analyse.
- et enfin de l'analyse (séparation et détection) des composés.

### **I.4.1 Extraction des molécules cibles de la phase dissoute**

Les techniques d'extraction de la phase dissoute sont nombreuses. L'extraction liquide-liquide (LLE) et l'extraction sur phase solide (SPE) sont des techniques classiques tandis que la micro-extraction en phase solide (SPME) ou encore l'extraction en phase solide par agitation d'un barreau adsorbant (SBSE) sont des techniques beaucoup plus récentes.

#### *I.4.1.1. L'extraction liquide-liquide (LLE)*

L'extraction liquide-liquide (LLE) repose sur les différences d'affinités que possèdent les composés étudiés avec deux liquides pratiquement non miscibles : leurs coefficients de partage solvant organique/eau. Le solvant d'extraction est mis en contact avec la phase liquide pendant un temps suffisamment long pour permettre le transfert des composés de la phase aqueuse vers le solvant. On utilise habituellement une ampoule à décanter pour séparer les deux phases liquides et plusieurs cycles d'extraction peuvent être nécessaires afin d'obtenir une bonne extraction. Plusieurs paramètres doivent être optimisés :

- le ratio volume initial d'échantillon sur volume de solvant d'extraction
- le nombre de cycles d'extraction
- le solvant (ou le mélange de solvant) d'extraction et le pH de l'échantillon

Les principaux inconvénients de cette méthode sont la manipulation de grands volumes d'échantillons, l'utilisation de grandes quantités de solvants, le grand nombre d'étapes et par conséquent le risque élevé de perte de composés ou encore le risque de contamination.

#### *1.4.1.2. L'extraction sur phase solide (SPE)*

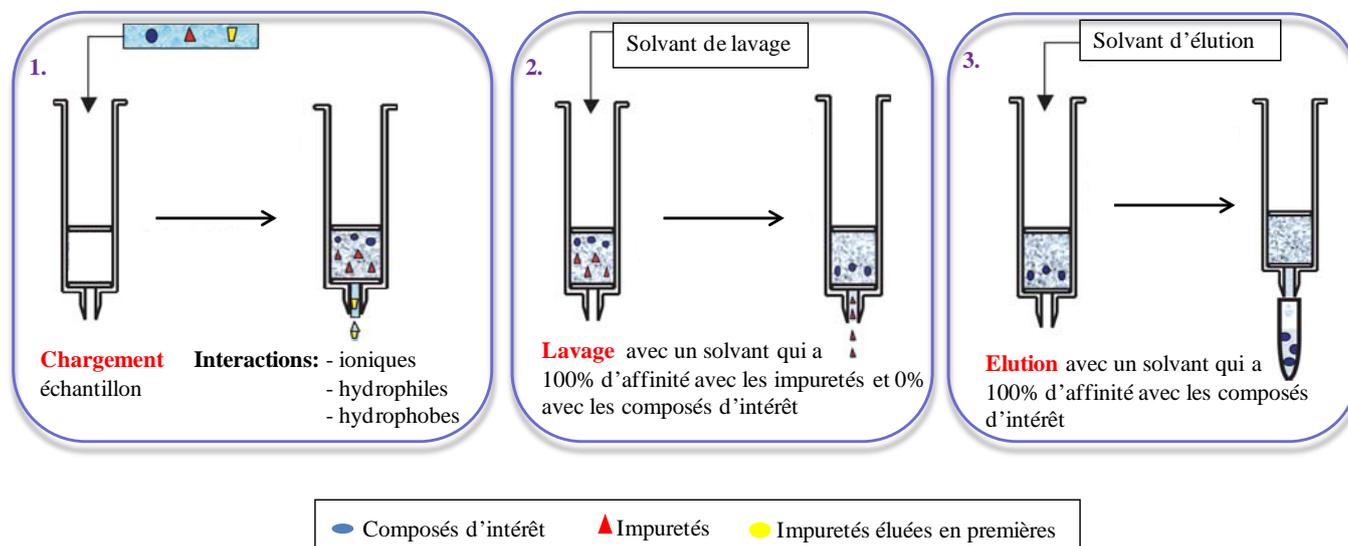
L'extraction sur phase solide (SPE) repose sur les différences d'affinités que possèdent les composés étudiés avec la phase liquide (l'échantillon) et une phase solide (adsorbant). Le protocole de SPE (**Figure I-29**) comporte une étape de conditionnement (la phase solide est imbibée avec un solvant pour solvater les groupes fonctionnels à la surface de l'adsorbant), puis l'échantillon aqueux percole sur le support solide adsorbant qui piège sélectivement les composés étudiés en mettant en jeu diverses interactions. Le support adsorbant subit ensuite un lavage qui permet d'éliminer les interférents mais pas les composés étudiés. Et enfin, les molécules retenues sont éluées par un solvant spécifique qui rompt les interactions avec la phase solide. Pour améliorer le rendement d'extraction, plusieurs paramètres doivent être optimisés :

- le choix de l'adsorbant
- les conditions d'éluion : type et volume de solvant
- le pH de l'échantillon

Habituellement, l'adsorbant est placé dans une cartouche et inséré entre deux frittés. La nature de l'adsorbant est très variable mais il s'agit souvent de silice greffée. Les quatre principaux adsorbants sont :

- Phase inverse (C8, C18...): la phase solide apolaire retient les composés peu ou non polaires présents dans une matrice polaire. Les interactions mises en jeu sont de type hydrophobes et Van der Waals.
- Phase normale (ENVI-Florisil...): la phase solide polaire retient les composés polaires présents dans une matrice peu ou non polaire. Les interactions mises en jeu sont de type polaire (liaisons hydrogène, dipôle-dipôle...).
- Adsorbants échangeurs d'ions (LC-SAX, Oasis WAX...): la phase solide ionique retient les composés ionisés en solution aqueuse. Les interactions mises en jeu sont de type électrostatique.
- Adsorbants polymériques (PS-DVB, Oasis HLB...): la phase solide polaire ou non polaire retient les composés polaires aromatiques et insaturés présents en solution aqueuse. Selon le support, les interactions mises en jeu sont de type polaires ou interaction hydrophobes.

La SPE présente les avantages de faible consommation de solvants, de facilité à mettre en œuvre, d'une application pour une large gamme de composés, de la possibilité de travailler sur plusieurs échantillons à la fois et rapidement, et d'une très bonne reproductibilité.



**Figure I-29 :** Protocole classique d'extraction sur phase solide (SPE).

#### 1.4.1.3. La microextraction sur phase solide (SPME)

La SPME permet d'extraire et de concentrer les molécules se trouvant dans un liquide ou un gaz. Cette technique est rapide et ne nécessite pas l'utilisation de solvant. Une fibre en silice, greffée d'une phase stationnaire, est soit plongée dans la solution à analyser (immersion), soit placée au-dessus de la solution (extraction head space). Les analytes sont alors adsorbés sur la phase stationnaire. La fibre est ensuite retirée de l'échantillon et les analytes sont désorbés directement sur la colonne chromatographique : par élution pour l'analyse par chromatographie liquide et par augmentation de la température (et entraînement par un gaz) pour l'analyse par chromatographie gazeuse.

#### 1.4.1.4. L'extraction par barreau adsorbant (SBSE)

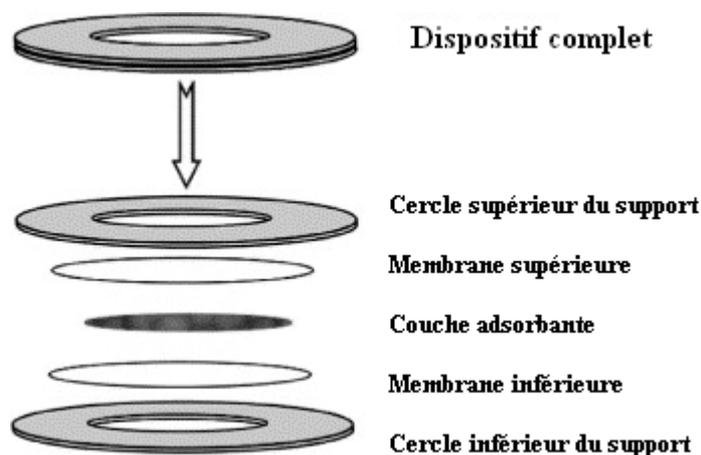
La SBSE (Stir Bar Sorptive Extraction) est une méthode d'extraction de molécules organiques ne nécessitant pas l'utilisation de solvant. Son principe de fonctionnement est le même que celui des échantillonneurs passifs. L'extraction se fait par sorption des molécules dissoutes sur un barreau aimanté recouvert d'un polymère. La desorption des molécules est ensuite effectuée directement en entrée de la colonne chromatographique, à l'aide d'un solvant (LC) ou thermiquement (GC).

#### 1.4.1.5. L'échantillonnage passif

Les échantillonneurs passifs ont été développés afin d'évaluer des niveaux de contamination très faibles d'un milieu sur un temps long. Leur principe est basé sur l'accumulation des contaminants par diffusion passive dans le dispositif placé dans l'environnement aquatique à analyser (en rivière par exemple). Cet outil implique une phase receveuse (liquide absorbant, solide adsorbant, ou gel chélateur) qui possède une affinité avec un groupe spécifique de micropolluants, et cette phase est séparée du milieu à échantillonner par une couche limitant la diffusion (Figure I-30).

Les échantillonneurs passifs présentent les avantages de concentrer les analytes directement *in situ*, de faciliter l'échantillonnage, de limiter la dégradation des molécules piégées lors du transport et du stockage des dispositifs. De plus, ils ne nécessitent pas d'énergie pour fonctionner et sont relativement simples à utiliser (petits, légers).

Il est cependant difficile de déterminer avec précision les concentrations moyennes pondérées dans le temps obtenues *in situ* avec des échantillonneurs cinétiques, car les taux d'échantillonnage (qui sont spécifiques à chaque molécule et qui représentent la quantité d'eau ayant traversé l'échantillonneur par unité de temps) dépendent de la vitesse d'écoulement de l'eau, la température, l'encrassement biologique, et des possibles variations de concentration. De plus, la quantité de micropolluant retenue par la phase receveuse varie en fonction de l'échantillonneur passif (type de membrane), et n'est pas strictement représentative de la fraction dissoute libre.



**Figure I-30 :** Vue explosée d'un dispositif à échantillonnage passif montrant la couche adsorbante contenue entre deux disques de membrane eux-mêmes maintenus entre deux supports circulaires.

## **I.4.2 Extraction des molécules cibles de la phase solide**

Lors de l'extraction de la phase solide (particulaire), les polluants étudiés sont désorbés de la phase solide et migrent dans un solvant. Plusieurs techniques, plus ou moins récentes, existent. Trois d'entre elles sont présentées ci-dessous et ce sont toutes des extractions solide-liquide.

### *I.4.2.1. L'extraction par agitation*

L'extraction par agitation correspond à une extraction solide-liquide des molécules par agitation à froid ou à l'aide d'ultrasons. L'échantillon solide est tout simplement agité dans un solvant, à pression atmosphérique et à température ambiante. Les composés adsorbés migrent dans le solvant puis ce dernier est séparé du solide par centrifugation. Le cycle d'extraction peut être répété plusieurs fois.

Cette méthode est simple mais nécessite parfois l'utilisation d'un grand volume de solvant et peut être relativement longue.

### *I.4.2.2. L'extraction solide-liquide type soxhlet*

L'extraction solide-liquide type soxhlet correspond à nouveau à une extraction solide-liquide mais par recirculation continue du solvant porté à ébullition et condensé. Le cycle d'ébullition et de condensation peut durer jusqu'à 24 heures.

Cette méthode est simple à mettre en œuvre mais utilise de grandes quantités de solvant et n'est pas adaptée aux composés thermolabiles qui peuvent se dégrader.

### *I.4.2.3. L'extraction par liquide pressurisé*

L'extraction par liquide pressurisé (ou Accelerated Solvent Extraction ASE<sup>®</sup>, Dionex) fait partie des techniques nouvelles (1995), qui utilisent moins de solvant. Il s'agit d'une extraction solide-liquide réalisée dans des conditions de température et de pression très élevées (100 °C et 100 Bars). La viscosité des solvants étant réduite dans ces conditions, ils possèdent un plus grand pouvoir de solvation et un plus grand pouvoir de diffusion dans l'échantillon. Cette technique présente les avantages de faible temps d'extraction, diminution importante des quantités de solvant, augmentation des rendements d'extraction et utilisation pour un large éventail d'applications.

### **I.4.3 Techniques de purification**

Lors d'une extraction des composés ciblés, un certain nombre de composés interférents peuvent être co-extraits de la matrice étudiée. Il s'agit par exemple de soufre, de composés macromoléculaires (graisses, cires...), de pigments, ou encore de composés organiques dont les temps de rétention chromatographiques sont voisins de ceux des molécules étudiées. Il peut donc s'avérer nécessaire d'effectuer une purification de l'extrait avant toute analyse physico-chimique, le but étant d'éliminer au maximum les interférents afin d'améliorer la quantification des composés ciblés.

### **I.4.4 Analyse des micropolluants par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse**

Après l'étude de la bibliographique concernant les méthodes permettant la détection et la quantification des micropolluants cible, et compte tenu du matériel analytique mis à disposition, notre choix s'est porté sur l'utilisation de la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) pour l'analyse des huit molécules.

La chromatographie est une technique qui permet la séparation des constituants chimiques d'un mélange complexe. Tous les types de chromatographie sont basés sur le même principe, à savoir l'utilisation simultanée d'une phase stationnaire (silice, polymère, gel...) et d'une phase mobile (liquide, gaz ou fluide supercritique) traversant la phase stationnaire placée dans la colonne. L'échantillon est injecté sur la colonne contenant la phase stationnaire et les différents composants de l'échantillon sont entraînés au travers de cette colonne grâce à la phase mobile. Les propriétés physico-chimiques des molécules sont responsables de leurs interactions avec les phases stationnaire et mobile et donc de leur répartition entre les deux phases et de leur vitesse de déplacement au travers de la colonne. Les molécules sont ainsi caractérisées par leur temps de rétention, les molécules ayant le moins d'affinité avec la phase stationnaire étant les premières à sortir de la colonne.

Après séparation des micropolluants, leur détection et identification peut se faire en spectrométrie de masse. Une étude récente de Richardson (2010) souligne l'importance et la capacité de cette méthode pour l'étude de contaminants dans l'environnement. Un spectromètre de masse est très souvent couplé à une chromatographie liquide (LC-MS) ou gazeuse (GC-MS).

Dans le cadre de notre étude, la LC-MS/MS ou LC couplée à la spectrométrie de masse en tandem à l'aide d'un triple quadripôle a été utilisée. La chromatographie liquide permet la séparation des molécules et la spectrométrie de masse permet leur détection et leur quantification.

#### *1.4.4.1 La chromatographie liquide*

La chromatographie liquide (LC) permet la séparation des molécules d'un échantillon liquide. Il existe différents types de chromatographie liquide. Les plus couramment utilisés sont :

- La chromatographie en phase normale : la phase stationnaire est de nature hydrophile, c'est à dire que des groupements polaires (-CN, -NH<sub>2</sub>, -diol) ou peu polaires (-phényles) sont greffés sur la silice et la phase mobile est plutôt apolaire.
- La chromatographie en phase inverse : la phase stationnaire est de nature apolaire (chaines alkyl C8 ou C18 par exemple) et la phase mobile est plutôt polaire.

Quelle que soit la LC utilisée, l'appareil est toujours constitué des éléments suivants:

- Des réservoirs de solvants constituent la phase mobile.
- Une pompe maintient un débit constant de la phase mobile (de quelques  $\mu\text{L}/\text{min}$  à quelques  $\text{mL}/\text{min}$ ).
- Un système d'injection permet d'introduire l'échantillon (quelques  $\mu\text{L}$ ) dans le circuit sous pression sans perturber le débit de phase mobile.
- Une colonne analytique, qui contient la phase stationnaire, placée dans un chauffe-colonne. La température de la colonne est maintenue constante pendant toute la durée des analyses afin d'assurer une bonne reproductibilité des temps de rétention.

Les colonnes mesurent 15 à 30 cm de longueur, ont un diamètre interne de quelques millimètres (2 à 5 mm) et les particules qu'elles contiennent ont un diamètre de 3 à 5  $\mu\text{m}$ . Un système HPLC (High Performance Liquid Chromatography) peut fonctionner pour des pressions allant jusqu'à 400 bar.

Un nouvel appareil, breveté par Waters, est sur le marché depuis 2004 : l'UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography). Il emploie des colonnes plus courtes (5 à 15 cm), avec un diamètre plus petit (de 1 à 5 mm), contenant des particules de plus faible diamètre (< 2  $\mu\text{m}$ ), et utilise des débits de phase mobile plus importants (doublés par rapport à l'HPLC). À cause de la très faible granulométrie de la phase stationnaire, la pression peut atteindre jusqu'à

1000 bar. Les avantages de cette technique sont un gain de résolution (pics plus fins), une diminution de la consommation en solvant et un gain de temps (débits multipliés par deux).

#### *1.4.4.1 La spectrométrie de masse*

La spectrométrie de masse permet d'identifier les molécules analysées par leurs spectres de masse (charge des ions détectés ( $m/z$ ) et ratio relatif entre ces différents ions). Un spectromètre de masse est constitué des éléments suivants :

- Une source d'ionisation transforme les molécules de la solution en ions gazeux.
- Un analyseur sépare les ions gazeux en fonction de leur rapport  $m/z$ . Ceci est réalisé grâce à un balayage rapide des  $m/z$ .
- Un détecteur mesure le courant induit le traversant.

Les paragraphes suivants définissent les éléments utilisés pour ce travail.

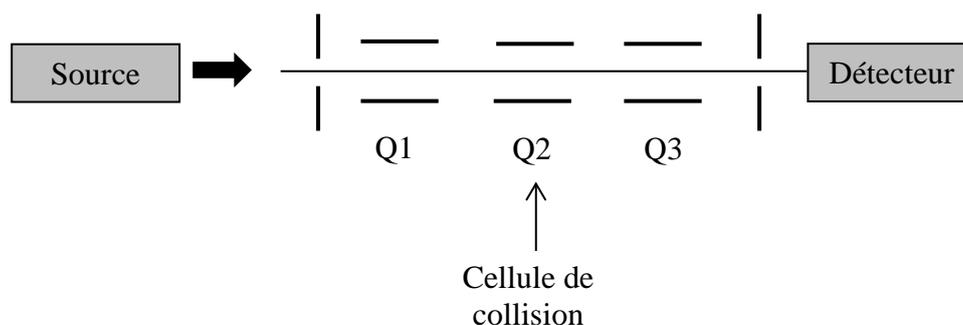
L'ionisation par électrospray (ESI) a été utilisée, dans cette thèse, comme source d'ionisation. Cette technique permet d'ioniser les molécules polaires de bas à haut poids moléculaire. Les ions formés sont appelés ions parents et sont de la forme  $[M+H]^+$  ou  $[M-H]^-$  selon le mode d'ionisation positif ou négatif.

L'échantillon, en sortie de colonne, est introduit dans un capillaire porté à un haut potentiel. Un champ électrique intense est imposé à la sortie du capillaire, ce qui provoque la formation d'un nuage de gouttelettes chargées. La taille des gouttelettes diminue ensuite progressivement par évaporation du solvant (aidé par un flux de gaz inerte, ou gaz de nébulisation,  $N_2$ , chauffé). Les ions désolvatés sont ainsi formés et sont entraînés vers des lentilles qui permettent de refocaliser les ions vers l'analyseur.

L'analyseur employé pour cette étude est un triple quadripôle constitué de deux analyseurs quadripolaires (Q1 et Q3) et d'une cellule de collision (Q2) (**Figure I-31**). Un quadripôle comprend quatre électrodes qui sont soumises deux à deux à des potentiels alternatifs U et V. Parmi les ions qui entrent dans le quadripôle, seuls les ions étant stables, dans les conditions de U et V imposées, traversent le quadripôle. Les autres ions sont éjectés. La variation du rapport (U, V) permet de balayer toute une gamme de masses  $m/z$ , et ceci très rapidement.

Le premier quadripôle sélectionne, dans le mélange d'ions, les ions parents des composés recherchés en fonction de leur  $m/z$ . Les ions retenus traversent le quadripôle et sont fragmentés

dans une cellule de collision par impact avec de l'argon (l'énergie de collision peut varier en fonction du composé). Les fragments créés sont ensuite envoyés dans un second quadripôle qui sélectionne les ions fils d'intérêt en fonction de leur  $m/z$  afin de confirmer la présence du composé recherché.



**Figure I-31** : Principe de la spectrométrie de masse en tandem.

Le détecteur possède un double rôle : détecter les ions à la sortie de l'analyseur et transformer le flux ionique en flux électrique afin d'amplifier le signal en un signal électronique mesurable par le système. Pour notre étude, un photomultiplicateur fonctionnant à l'aide d'une dynode a été utilisé. Les ions entrent en collision avec une dynode et provoquent ainsi l'émission d'électrons secondaires. Les électrons produits sont accélérés et envoyés sur des dynodes en séries puis jusqu'au scintillateur qui les convertit en photons. Ces derniers sont détectés puis convertis en courant électrique par le photomultiplicateur.

## I.4.5 Méthodes de quantification

### I.4.5.1 L'étalonnage externe

La méthode d'étalonnage externe permet la quantification des composés à partir de droites d'étalonnage précédemment établies par l'analyse de solutions de concentrations croissantes en composés ciblés purs. Pour chaque molécule, sa droite d'étalonnage représente l'aire du signal en fonction de la concentration. Cette méthode, très simple à mettre en œuvre, présente l'inconvénient d'être relativement incertaine du fait que les effets de matrice ne sont pas pris en compte (la droite d'étalonnage est constituée à partir des signaux des composés purs dans un solvant) et les éventuelles pertes d'échantillon lors de l'injection ne sont pas détectées et corrigées. C'est pourquoi l'étalonnage interne est considéré comme étant plus fiable.

#### *1.4.5.2 L'étalonnage interne*

L'étalonnage interne consiste à ajouter, à la solution à doser, une molécule non présente dans l'échantillon initialement et qui possède des propriétés physico-chimiques et une réponse chromatographique proches de celles du composé étudié : l'étalon interne. Il s'agit souvent d'un isotope de la molécule étudiée (remplacement d'un ou plusieurs atomes de carbone par du  $^{13}\text{C}$  ou d'atomes d'hydrogène par du deutérium). Il est très courant d'associer un étalon interne à une famille de molécules qui présentent des caractéristiques physico-chimiques proches.

Des droites d'étalonnage sont établies par l'analyse de solutions de concentrations croissantes en composés cibles purs auxquelles une concentration fixe d'étalon interne a été ajoutée. La droite d'étalonnage, de chaque composé, représente le rapport des aires du signal de la molécule étudiée sur le signal de l'étalon interne en fonction de la concentration.

Dans les échantillons inconnus, les étalons internes sont ajoutés en quantités égales. L'ajout peut s'effectuer avant l'extraction de l'échantillon, il s'agit alors d'étalons internes d'extraction (qui subissent tout le protocole de traitement de l'échantillon). Cette méthode permet de corriger les pertes de composés qui pourraient être liées à l'extraction (si des molécules ne sont pas complètement extraites, l'étalon interne ne sera pas complètement extrait non plus). Les étalons internes peuvent aussi être ajoutés avant l'injection des échantillons : il s'agit alors d'étalons internes d'injection qui permettent de corriger les pertes lors de l'injection des échantillons (si une partie de l'échantillon n'est pas injectée, une partie de l'étalon interne ne sera pas injectée non plus). Les étalons internes permettent aussi de corriger les effets de matrice (diminution ou augmentation du signal), dans le cas où le composé et son étalon interne sont affectés de façon similaire.



---

## CHAPITRE II. MATERIELS ET METHODES

---

L'objectif de ce chapitre est de présenter l'ensemble des aspects expérimentaux mis en place au cours de ce travail de thèse. La première partie décrit les zones urbaines et le fonctionnement des stations d'épuration étudiées, ainsi que les stratégies de prélèvement mises en œuvre. Les deux parties suivantes présentent les protocoles et appareils utilisés pour l'analyse des paramètres classiques dans les eaux usées (DCO, ammonium et matières sèches et volatiles) et pour le traçage isotopique des infiltrations d'eau dans les égouts.

La quatrième partie détaille les paramètres de chromatographie et de spectrométrie de masse, ainsi que l'optimisation et la validation des protocoles pour l'analyse des composés perfluorés et des six autres molécules respectivement. La cinquième partie présente les méthodes utilisées pour évaluer l'impact des micropolluants sur la flore bactérienne.

### II.1 SITES ET METHODES DE PRELEVEMENT

Les campagnes de prélèvement ont été réalisées dans le réseau d'assainissement du Grand Nancy et dans les stations d'épuration de Nancy-Maxéville et de Pont-à-Mousson.

#### II.1.1 Eaux usées urbaines

##### *II.1.1.1 Réseau d'assainissement des eaux urbaines de Clairlieu : zone résidentielle*

Situé au cœur de la forêt de Haye, le lotissement de Clairlieu est un quartier résidentiel de la ville de Villers-lès-Nancy (Figure II-1). Ce quartier a été construit en 1970 et a subi quelques agrandissements depuis 1990. Il comporte actuellement :

- 1362 pavillons
- 676 logements de type locatifs sociaux ou collectifs HLM
- 1 foyer de personnes âgées (58 logements)
- 1 groupe scolaire
- 1 centre commercial

En 1982, Clairlieu comptait 5823 habitants, valeur relevée aussi en 1990. Sur trois groupes scolaires opérationnels en 1970, seul un groupe est opérationnel aujourd'hui, traduisant ainsi le vieillissement croissant de la population.

Clairlieu dispose d'un réseau séparatif, dont les eaux usées sont acheminées vers une station de relevage, où ont été effectués les prélèvements, pour être ensuite envoyées vers la

station d'épuration de Nancy Maxéville. Les débits d'eaux usées ont été calculés à partir des relevés des pompes de relevage. Ainsi, connaissant le temps de fonctionnement et les débits des pompes sur la période de prélèvement il était possible d'en déduire les débits d'eaux usées.

#### *II.1.1.2 Réseau d'assainissement des eaux urbaines de Brabois : zone mixte*

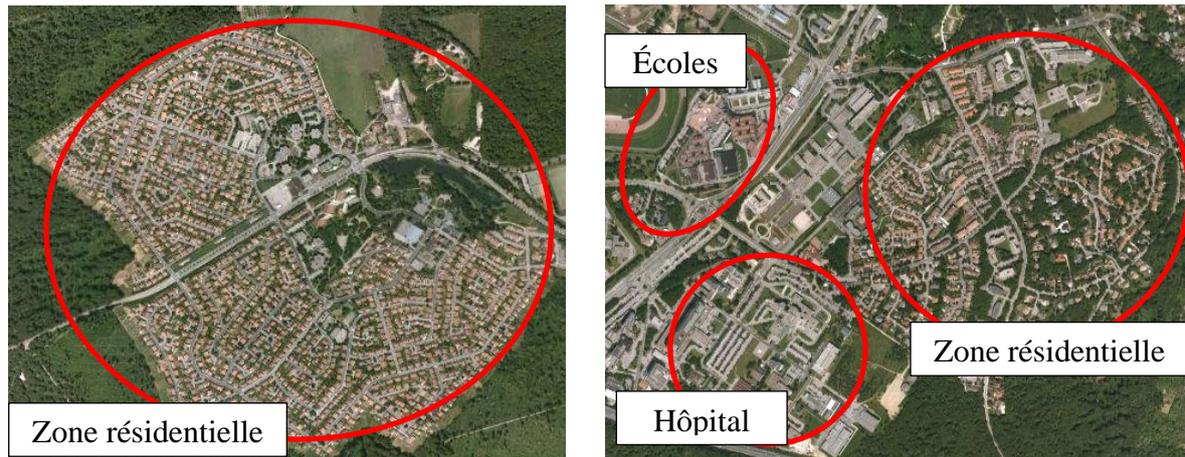
Situé sur la commune de Vandœuvre-lès-Nancy, le technopôle de Nancy-Brabois est composé d'écoles, de laboratoires, d'entreprises (informatique, électronique, télécommunication, médical et biotechnologie...), d'un centre hospitalier universitaire (potentiel de 950 lits), d'un hôpital d'enfants (230 lits) et d'habitats (Figure II-1). Brabois dispose d'un réseau séparatif et unitaire.

Les prélèvements ont été effectués dans une conduite d'égout et le site a été équipé d'un débitmètre à ultrasons basé sur l'effet Doppler afin de relever la hauteur d'eau dans la conduite à intervalle de temps régulier. Le capteur ultrason aérien est de type SonicSens couplé à un enregistreur de type Multilog Lite SMS (HYDREKA). Les débits ont été calculés à partir de la connaissance de la hauteur d'eau, de la pente de la conduite, de sa géométrie et de son coefficient de rugosité.

$$Q = S_m \times V = S_m \times K \times R_h^{2/3} \times i^{1/2} \quad \text{Équation 2}$$

Avec :

- V, la vitesse d'écoulement calculée par la formule de Manning-Strickler
- $S_m$ , la section mouillée de la canalisation (en  $m^2$ )
- $R_h$ , le rayon hydraulique (en m) et  $R_h = S_m/P_m$  (où  $P_m$  est le périmètre mouillé)
- K, le coefficient de rugosité, dit de Strickler (en  $m^{1/3}.s^{-1}$ ) et  $K = 1/n$  (où n est le coefficient de Manning)
- i, la pente hydraulique (en m/m)



**Figure II-1** : Lotissement de Clairlieu (gauche) et technopôle de Brabois (droite) vus du ciel [source Google Map].

## II.1.2 Stations d'épuration

### II.1.2.1 Station d'épuration de Nancy-Maxéville

La station d'épuration de Nancy-Maxéville (Figure II-2) a été mise en service en 1971 et possède une capacité d'épuration de 500 000 équivalents habitants (400 000 pour la filière urbaine et 100 000 pour la filière industrielle). Cette station est exploitée par Veolia Eau depuis 2008 et pour une durée de 10 ans. Elle traite les eaux de toute l'agglomération Nancéenne (23 communes et environ 290 000 habitants) et les eaux usées industrielles de la brasserie située à Champigneulle. Par jour, la station traite en moyenne 100 000 m<sup>3</sup> d'eau usée provenant de la filière urbaine et 2000 m<sup>3</sup> provenant de la brasserie. Le temps de séjour hydraulique est d'environ 15 à 18 heures par temps sec et 12 heures par temps de pluie.

Les effluents de la brasserie sont prétraités au niveau de la brasserie (dégrillage et ajustement du pH entre 6,5 et 10,5) puis prétraités biologiquement à la STEP dans un bassin séparé de la filière urbaine. La DCO est abattue de 3000 à 300 mg/L et les eaux sont ensuite envoyées dans le circuit de traitement des eaux urbaines.

Les eaux usées urbaines (Tableau II-1) subissent un traitement primaire traditionnel à savoir un dégrillage (5 cm puis 1 cm), un dessablage (par décantation), un déshuilage (par injection de fines bulles d'air et raclage de la surface) et une décantation lamellaire dont les boues primaires produites sont envoyées en digestion anaérobie.

La première étape du traitement secondaire consiste en un traitement anoxie dans lequel la pollution carbonée est abattue (diminution de la DCO) et les nitrates sont transformés en ammonium (les bactéries utilisent l'oxygène des nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) pour dégrader la matière organique). Les effluents sont ensuite envoyés dans un réacteur biologique (Biolift ®) qui est un bassin aéré constitué de plusieurs cellules (18 pour la filière urbaine et 14 pour la filière industrielle) qui permet la nitrification des effluents (transformation de l'ammonium en nitrates). Chaque cellule ( $170 \text{ m}^3$ ) est un réacteur à lit de sable fluidisé. Des grains de sable de faible granulométrie sont maintenus en suspension par un flux hydraulique créé par la recirculation interne dans la cellule. Ces grains servent de support pour le développement du biofilm bactérien. Du fait des fortes contraintes de cisaillement rencontrées dans le Biolift ®, une partie du biofilm se détache et des bactéries plus ou moins libres peuvent se retrouver en suspension. Un dégazeur/dessableur permet la récupération des sables pour la recirculation. L'effluent est ensuite dirigé vers un traitement anoxie « aval » où la dénitrification a lieu (dégradation des nitrates formés dans le Biolift ®) ; du méthanol est ajouté dans le bassin anoxie pour enrichir la liqueur en carbone facilement assimilable par les bactéries.

La liqueur mixte est décantée en clarificateur. Une partie de la boue décantée est recyclée dans le premier bassin anoxie et le reste est envoyé vers l'étape d'épaississement. En sortie de clarificateur l'eau subit un traitement par ajout de chlorure ferrique pour précipiter le phosphore, et un ajout de polymère pour la floculation. Une dernière décantation lamellaire (avec ajout de sable) est réalisée avant de rejeter l'eau épurée à la Meurthe.

La teneur en eau des boues produites est diminuée au maximum grâce à une étape de digestion à  $37^\circ\text{C}$  pendant 20 jours (le biogaz produit est ré-utilisé pour sécher les boues). Les boues sont ensuite épaissies par ajout de polymères puis centrifugées (siccité de 30 %). Elles subissent enfin un séchage thermique et une filtration sur filtre à manche (siccité de 85 %). Des granulés sont formés à partir de ces boues séchées et sont valorisés par épandage agricole. Cependant si leurs teneurs en HAP, PCB, arsenic ou métaux lourds (cadmium...) sont trop élevées, les granulés sont incinérés ou mis en décharge.

#### *II.1.2.2 Station d'épuration de Pont-à-Mousson*

La station d'épuration de Pont-à-Mousson (Figure II-2), mise en service en 1999, est plus petite que celle de Nancy. Elle est exploitée par la Société fermière SAUR depuis 1993 et pour une durée de 20 ans. Cette STEP traite les eaux usées de sept communes (environ 27 000

habitants) dont deux industries, Sute (usinage de tubes électriques) et Philips (fabrication de lampes halogènes), soit en moyenne 9 500 m<sup>3</sup>/j par temps sec. La capacité d'épuration est de 32 000 équivalents habitants et le temps de séjour hydraulique est estimé à 45 heures.

Les eaux usées urbaines (Tableau II-1) subissent un traitement primaire traditionnel à savoir un dégrillage, un dessablage (par décantation), et un dégraissage (par injection de fines bulles d'air et raclage de la surface). Le traitement secondaire correspond à une filière de type boues activées en aération prolongée (temps d'oxygénation moyen de 12 h/j). Les eaux usées sont envoyées dans deux réacteurs biologiques comprenant chacun une zone de biosorption (2 x 70 m<sup>3</sup>, zone de contact dont le but est d'améliorer la décantation des boues) et une zone d'aération (2 x 3 500 m<sup>3</sup>). La nitrification et la dénitrification se font en alternance par séquençage de l'aération. Le bassin d'aération fonctionne par la dissociation de l'aération et du brassage. Il est équipé de dispositifs d'insufflation d'air et d'agitateurs à vitesse lente pour brasser et éviter la formation de « zones mortes ». Une déphosphatation physico-chimique, par ajout de sel de fer (clairtan), est réalisée en sortie de traitement biologique puis la liqueur mixte est décantée en clarificateur. L'eau épurée est déversée dans la Moselle, une partie des boues est recirculée vers les réacteurs biologiques et l'autre partie est envoyée vers la filière de traitement des boues.

La déshydratation des boues s'effectue à l'aide d'un silo pré-concentrateur (équipé d'un dispositif de drainage vertical des boues par grille filtrante), d'une étape de centrifugation (siccité de 20 %) et d'une étape de chaulage (siccité de 30 %). Le chaulage est un ajout de chaux qui bloque l'activité biologique (et l'évolution de la boue) et qui permet ainsi la stabilisation chimique de la boue.



**Figure II-2 :** Stations d'épuration de Nancy-Maxéville (à gauche) et de Pont-à-Mousson (à droite) vues du ciel [source Google Map].

**Tableau II-1** : Concentrations moyennes des paramètres caractérisant l’affluent des STEP de Nancy-Maxéville et de Pont-à-Mousson.

Paramètres	STEP Nancy-Maxéville (filère eau urbaine)	STEP Nancy-Maxéville (filère eau industrielle)	STEP Pont-à-Mousson
Débit d’entrée	100 000 m <sup>3</sup> /j	2000 m <sup>3</sup> /j	9 500 m <sup>3</sup> /j
DCO	200 – 600 mg/L	2000 – 6000 mg/L	200 – 600 mg/L
DBO5	40 – 250 mg/L	1500 – 4500 mg/L	120 – 300 mg/L
MES	40 – 250 mg/L	500 – 1500 mg/L	80 – 210 mg/L
NTK	10 – 30 mg/L	10 – 30 mg/L	15 – 140 mg/L
Phosphore total	3 - 7 mg/L		5 – 9 mg/L

### II.1.3 Stratégie de prélèvements

Les échantillons sont prélevés à l’aide d’un préleveur automatique (ISCO 3700) muni de 24 flacons d’un litre en polypropylène et alimenté sur batterie. Les prélèvements sont réalisés proportionnellement au temps. Ils sont donc étalés sur 24h à raison d’un prélèvement de 250 mL toutes les 15 minutes (soit 4 prélèvements par heure et par flacon). Une fois les prélèvements terminés, les échantillons sont récupérés et séparés en trois parties : une partie est envoyée au LRGP pour l’analyse des paramètres classiques, une seconde partie est stockée dans un flacon en polypropylène (pour l’analyse des composés perfluorés) et la dernière partie est stockée dans un flacon en verre (pour l’analyse des autres molécules). Les différents flacons sont conservés au réfrigérateur à 4°C.

Il est important de souligner que les prélèvements ont été réalisés uniquement par temps sec afin de ne pas subir les effets de dilution liés à l’infiltration d’eau de pluie dans les réseaux d’égouts, et ainsi avoir des conditions de prélèvement comparables les unes aux autres.

## II.2 ANALYSE DES PARAMETRES CLASSIQUES

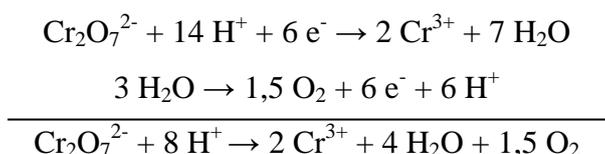
Les paramètres classiques (pH, conductivité, DCO, turbidité...) de tous les échantillons prélevés ont été mesurés au LRGP afin de caractériser les eaux usées étudiées mais aussi dans le but d’évaluer si les STEP étudiées étaient en fonctionnement « normal » (avec de bons abattements de la macropollution) lors de nos campagnes de prélèvement. Les stations d’épuration étudiées nous ont également fourni les valeurs mesurées quotidiennement par

leurs soins quelques jours avant et après nos campagnes de prélèvement. Les méthodes d'analyse utilisées sont présentées ci-dessous.

La DCO, la concentration en ammonium et la turbidité ont été mesurées avec un spectrophotomètre Hach® DR/2400. La longueur d'onde de cet appareil s'étend de 400 à 800 nm ( $\pm 1$  nm). La sélection de la longueur d'onde s'effectue manuellement et la lecture des résultats peut s'effectuer en mode transmission, absorption ou concentration. Le mode absorption a été utilisé.

### II.2.1 Protocole d'analyse de la DCO

La DCO est une mesure de la pollution oxydable chimiquement par un mélange sulfochromique (US EPA 1993). L'état d'avancement de la réduction de l'ion dichromate (jaune) en chrome (III) (vert) est mesuré par spectrophotométrie. La DCO représente la quantité d'oxygène ( $O_2$ , en mg/L), équivalente à la quantité de dichromate consommée par les matières oxydables dissoutes (pour oxyder toute la matière organique). Elle est calculée à l'aide de l'équation d'oxydo-réduction mettant en jeu les couples  $Cr_2O_7^{2-}/Cr^{3+}$  et  $O_2/H_2O$  :



Pour l'analyse de nos échantillons, 2 mL de chaque échantillon ont été prélevés et placés dans un tube HACH® et un « blanc » a été préparé à l'aide de 2 mL d'eau dé ionisée. 3.5 mL d'acide ont été ajoutés aux échantillons et au blanc (la réaction avec l'acide est fortement exothermique). La solution d'acide est composée d'acide sulfurique concentré et de sulfate d'argent (catalyseur). Ensuite, 1,5 mL de solution de digestion ont été ajoutés. C'est une solution composée de dichromate de potassium (oxydant fort) et de sulfate de mercure qui joue un rôle de complexant avec les ions chlorures (et empêche ainsi la précipitation des ions chlorure avec le catalyseur). Les tubes ont ensuite été bouchés et homogénéisés. Ils ont été placés dans un four préchauffé à 150°C, pendant 2 heures, puis laissés à refroidir hors du four pendant 30 minutes.

L'absorbance des solutions a été mesurée grâce au spectrophotomètre, à la longueur d'onde de 420 nm pour la gamme basse (0 – 150 mg/L), et 620 nm pour les gammes intermédiaire (0 – 750 mg/L) et haute (0 – 1500 mg/L). La DCO a été estimée grâce à une droite d'étalonnage qui donne la correspondance entre l'absorbance de l'échantillon et sa DCO.

### II.2.2 Protocole d'analyse de l'ammonium

La méthode de dosage de l'ammonium est basée sur le réactif de Nessler, composé d'iodo-mercurate de potassium alcalin.

Une dilution des échantillons a été réalisée lorsque la teneur en ammonium était trop importante pour entrer dans la gamme linéaire d'étalonnage. Dans le cas de l'analyse des eaux usées, il a été nécessaire d'effectuer une dilution au vingtième, avec un volume final de 10 mL.

Deux gouttes de stabilisant minéral en solution ont été ajoutées dans chacun des échantillons, puis deux gouttes de dispersant PVA (polyvinyle acétate) en solution, ainsi que 400 µL de réactif de Nessler alcalin. Le réactif de Nessler, en présence d'ammonium, forme un complexe orangé. La concentration en ions  $\text{NH}_4^+$  peut ainsi être mesurée par dosage colorimétrique.

L'absorbance du mélange, homogénéisé, a été mesurée par spectrophotométrie à la longueur d'onde de 425 nm. La concentration en  $\text{NH}_4^+$  a été obtenue à partir d'une droite d'étalonnage (erreur  $\pm 0,5 \text{ N-NH}_4^+ \text{ mg/L}$ ).

### II.2.3 Protocole d'analyse des matières sèches et volatiles

Les matières sèches (MS) et matières volatiles (MV) ont été déterminées selon les méthodes normalisées ((American Public Health Association et al. 2005), « standard methods 2540 G : total, fixed and volatile solids in solid and semisolid samples). Pour la mesure des matières sèches, 20 mL d'échantillon ont été placés dans un creuset qui a été placé dans un four à 105°C jusqu'à stabilisation du poids. La concentration s'exprime par :

$$\text{MS} = \frac{\text{P2} - \text{P1}}{0,020} \qquad \text{Équation 3}$$

avec P1 le poids du creuset propre (en g) et P2 le poids du creuset après séchage (en g). La matière sèche correspond à l'ensemble des matières en suspension et les matières solubles (en g/L).

Pour la mesure des matières volatiles, le creuset est ensuite chauffé à 525°C pendant 2 heures. La perte de masse après le séchage à haute température correspond aux matières volatiles.

### II.3 TRAÇAGE ISOTOPIQUE DES INFILTRATIONS D'EAU

L'infiltration d'eau de pluie, ou souterraine, dans les égouts peut modifier la chimie des eaux usées par simple dilution de ses composants ou par addition de pollution supplémentaire. C'est pourquoi l'infiltration d'eau claire dans les réseaux étudiés a été contrôlée lors de nos campagnes de prélèvement.

Les processus hydrologiques se produisant dans les égouts peuvent être décrits par l'analyse du ratio deutérium/hydrogène (Houhou et al. 2010). Cette approche permet l'identification et la quantification des eaux souterraines ou pluviales pouvant entrer dans les égouts.

Les égouts sont principalement alimentés par l'eau du robinet qui est isotopiquement relativement stable dans le temps. Selon la saison, le rapport isotopique D/H des eaux souterraines et des eaux de pluie est généralement différent de celui de l'eau du robinet. Par conséquent, l'infiltration d'eau claire dans le réseau d'assainissement peut générer une déviation significative de la composition isotopique de l'eau. Une diminution de ce ratio indique une entrée d'eau pluvieuse (contenant plus de molécules légères H<sub>2</sub>O) et une augmentation du ratio D/H indique une entrée d'eau souterraine (plus chargée en molécules lourdes HDO) dans le réseau.

Pour chacune de nos campagnes de prélèvement, nous avons vérifié que celles-ci avaient été réalisées avec un rapport D/H constant. Dans le cas contraire, seules les mesures réalisées sans infiltration d'eau ont été considérées pour notre étude.

La composition isotopique de l'eau (ratio D/H) a été mesurée par le CRPG (Centre de Recherches Pétrographiques et Géochimiques, Vandoeuvre-lès-Nancy) à l'aide d'un spectromètre de masse Isoprime couplé à un analyseur élémentaire (Morrison et al. 2001). Les résultats ont été reportés en notation  $\delta D$  qui représente la déviation entre le ratio isotopique mesuré (D/H) et le matériel de référence (D/H SMOW) (équation 4, exprimé en ‰). Les matériaux de référence utilisés étaient des V-SMOW (Vienna Standard Mean Ocean Water).

$$\delta D = \left( \frac{D/H_{\text{sample}}}{D/H_{\text{SMOW}}} - 1 \right) \times 1000 \quad \text{Équation 4}$$

## II.4 ANALYSE DES MICROPOLLUANTS

### II.4.1 Matériels et réactifs

Les micropolluants recherchés sont présents en très faible concentration (du ng/L au µg/L) dans les matrices étudiées. Certains d'entre eux peuvent s'adsorber sur les matériaux utilisés pour leur analyse (plastique ou verre) et/ou en être relargué (du plastique ou du Teflon). Des précautions doivent donc être prises pour limiter les effets (contamination ou adsorption) liés à l'utilisation de certains matériaux.

Pour l'analyse des PFC, les consommables utilisés ont été, dans la mesure du possible, exempts de fluoropolymères (PTFE) et de fluoroelastomère afin d'éviter tout risque d'interférences. L'utilisation de verre a également été évitée car les PFC peuvent s'y adsorber (AFNOR 2009). Les flacons d'échantillonnage étaient en PEHD (polyéthylène haute densité) et les vials en polypropylène. Pour l'analyse des autres molécules, ou analyse dite « multi-résidus », l'utilisation de consommables en verre ambré a été adoptée.

Avant leur utilisation, les consommables ont été lavés à l'eau chaude puis rincés à l'eau ultra pure (EUP, préparée à l'aide d'un système Milli-Q, Millipore). Après séchage, le matériel était rincé à l'acétone (qualité HPLC, Fischer Scientific) et séché à l'air ambiant.

Les solutions de standards analytiques de PFOA et PFOS proviennent de Wellington Laboratories (Canada). Ibuprofène, érythromycine, ofloxacine, triclosan, 4-NP et sucralose ont été obtenus chez Sigma-Aldrich GmbH (Allemagne).

Les étalons internes employés pour l'analyse des huit molécules sont : PFOA-<sup>13</sup>C<sub>4</sub> et PFOS-<sup>13</sup>C<sub>4</sub> (Wellington Laboratories, Canada), ibuprofène-d<sub>3</sub> (Sigma-Aldrich GmbH, Germany), sucralose-d<sub>6</sub> (Santa Cruz Biotechnology, USA), triclosan-d<sub>3</sub> (Toronto Research Chemicals Inc., Canada), et érythromycine-<sup>13</sup>C (Isotec, USA).

Tous les solvants utilisés pour la préparation des échantillons (méthanol, et acétonitrile) étaient de qualité HPLC (Carlo Erba, France). Ceux utilisés pour l'analyse par LC-MS/MS (méthanol, acétonitrile, eau) étaient de qualité LC-MS (Biosolve, France).

## II.4.2 Conditions analytiques LC-MS/MS pour l'analyse multi-résidus

L'analyse multi-résidus (de toutes les molécules sauf les PFC) a été réalisée à l'aide d'un chromatographe en phase liquide de type Accela Thermo Scientific couplé à un spectromètre de masse TSQ Quantum Ultra triple quadripôle (**Figure II-3**). L'ensemble du système HPLC-MS/MS était piloté par le logiciel Xcalibur 2.0.7.

L'optimisation de la méthode d'analyse a été réalisée au Laboratoire d'Hydrologie de Nancy (LHN – ANSES). Pour certaines des molécules étudiées (ibuprofène, érythromycine et ofloxacin) la méthode d'analyse avait déjà été développée au sein de ce laboratoire. Il a fallu adapter la méthode existante à l'analyse de nos six molécules aux propriétés totalement différentes.

Deux « run » chromatographiques ont été nécessaires pour séparer et analyser les six molécules par LC-MS/MS. Les conditions de la chromatographie et de la spectrométrie de masse sont présentées ci-dessous.



**Figure II-3** : Photo de l'appareil LC-MS/MS (Thermo Scientific).

### Conditions LC

Le premier run analytique (en mode d'ionisation négative (ESI -)) permet l'analyse de : sucralose, ibuprofène, triclosan et 4-NP.

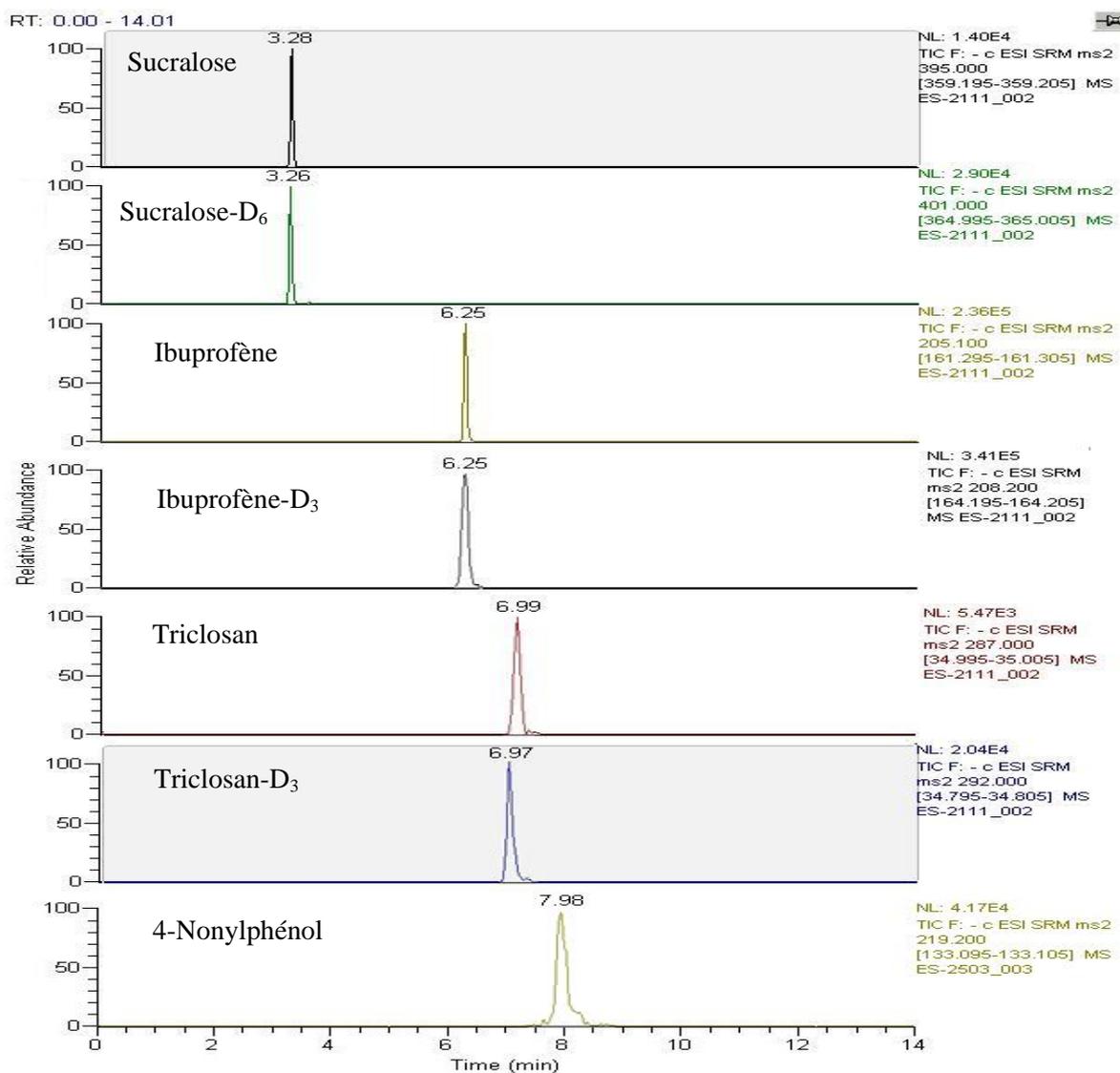
La colonne analytique utilisée est une Hypersil Gold de dimensions 2,1 x 150 mm, de taille des particules de 3  $\mu\text{m}$ , et contenant une phase stationnaire de type C18. Il s'agit donc d'une chromatographie en phase inverse. Pour protéger la colonne et augmenter sa durée de vie, une pré-colonne (2,1 x 10 mm) contenant la même phase stationnaire a été mise en place.

La phase mobile, le débit, le gradient d'élution, la température de la colonne et le volume d'injection sont présentés dans le Tableau II-2.

La Figure II-4 présente les chromatogrammes (courant ionique total, TIC) des quatre molécules et des étalons internes, à la limite de quantification, analysés dans les conditions décrites précédemment.

**Tableau II-2 :** Conditions chromatographiques pour l'analyse de : sucralose, ibuprofène, triclosan et 4-nonylphénol.

<b>Instrument</b>	Accela Thermo Scientific		
<b>Colonne</b>	Hypersil Gold (3 µm, 2,1×150 mm)		
<b>Phase mobile</b>	A : Eau de qualité LC/MS B : Acétonitrile de qualité LC/MS		
<b>Gradient d'élution</b>	Temps (min)	% A	% B
	0	90	10
	5,0	10	90
	10,0	10	90
	10,1	90	10
	14,0	90	10
<b>Débit</b>	300 µL/min		
<b>Température de la colonne</b>	20 °C		
<b>Volume d'injection</b>	10 µL		



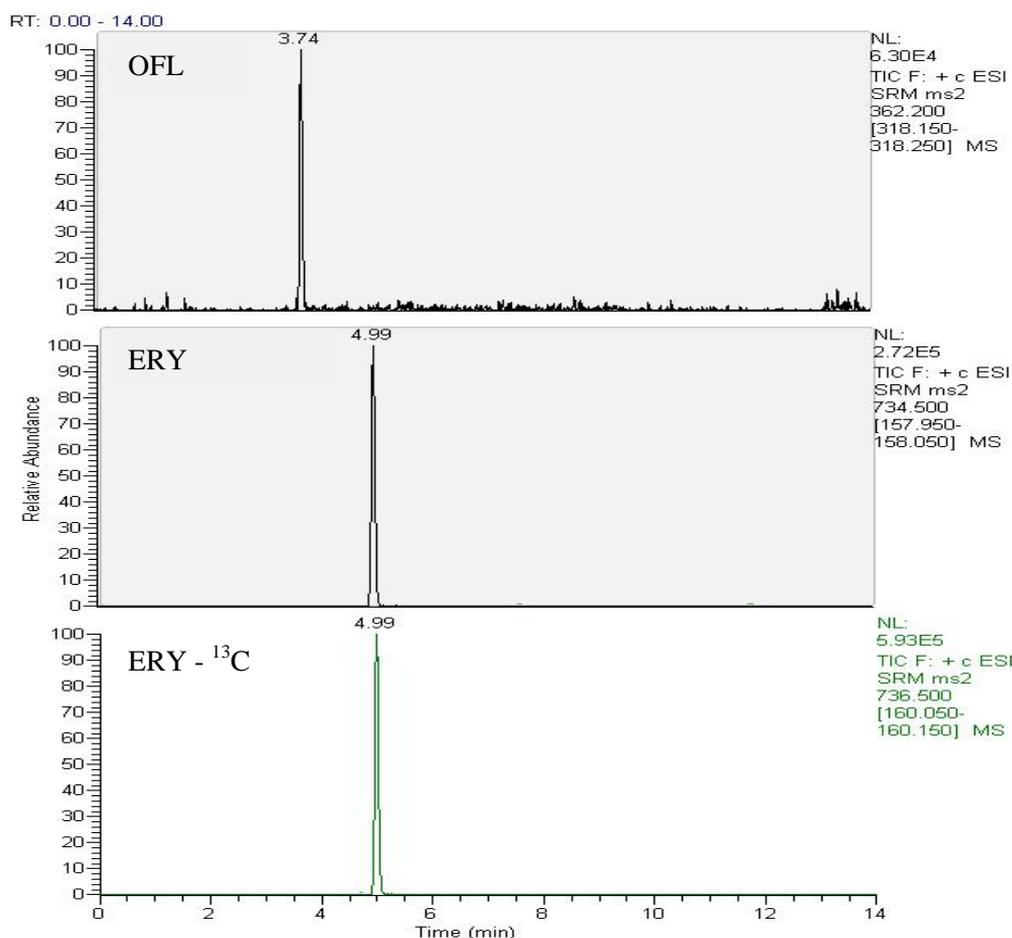
**Figure II-4 :** Chromatogramme (TIC) des quatre molécules (et leurs étalons internes) analysées en mode ESI -, à la limite de quantification.

Le second run (ESI +) permet l'analyse des deux antibiotiques, érythromycine et ofloxacine. La colonne analytique qui a été utilisée est une colonne XTerra de dimensions 2,1 x 100 mm, de taille de particules 3,5  $\mu\text{m}$ , et contenant une phase stationnaire de type C18 (phase inverse). De nouveau, une pré-colonne (2,1 x 10 mm) contenant la même phase stationnaire, a été mise en place.

La phase mobile, le débit, le gradient d'éluion, la température de la colonne et le volume d'injection sont présentés dans le Tableau II-3. La Figure II-5 présente les chromatogrammes (courant ionique total, TIC) des deux antibiotiques et de l'étalon interne de l'érythromycine analysés dans les conditions décrites précédemment.

**Tableau II-3 :** Conditions chromatographiques HPLC pour l'analyse de : érythromycine et ofloxacin.

Instrument	Accela Thermo Scientific		
Colonne	XTerra (3,5 µm, 2,1×100 mm)		
Phase mobile	A : Eau de qualité LC/MS + 0,1 % acide formique B : Acétonitrile LC/MS + 0,1 % acide formique		
Gradient d'éluion	Temps (min)	% A	% B
	0	98	2
	5,0	2	98
	10,0	2	98
	10,1	98	2
	14,0	98	2
Débit	300 µL/min		
Température de la colonne	20 °C		
Volume d'injection	10 µL		

**Figure II-5 :** Chromatogramme (TIC) des deux molécules et de l'étalon interne analysés en ESI +, à la limite de quantification.

Conditions MS/MS

Chaque molécule a été infusée en mode d'acquisition MRM (Multiple Reaction Monitoring) afin de déterminer leurs transitions spécifiques (ion parent – ion fils) majoritaires. L'infusion consiste à injecter directement dans le spectromètre de masse chaque composé pur à 1 mg/L dans eau/acétonitrile (AcCN) (50 : 50), entraîné par une phase mobile (eau/AcCN, 50 : 50) à 10 µL/min. Les paramètres de source (Tableau II-4), ont été optimisés pour l'ensemble des molécules, afin d'avoir un ion parent et des ions fils les plus stables et intenses possibles.

Le dosage d'un composé en MS/MS nécessite deux transitions par composé quand cela est possible. La transition (ion parent – ion fils) la plus intense est appelée transition de quantification (Q) et la suivante est la transition de confirmation (c). Le ratio en unité d'aire (Q/c) de ces deux transitions permettra l'identification du composé. Les transitions des six molécules et de leurs étalons internes marqués sont recensées dans le Tableau II-5.

**Tableau II-4** : Paramètres de la source ESI en mode négatif et positif.

Instrument	TSQ Quantum Ultra	
	ESI -	ESI +
Source d'ionisation	ESI -	ESI +
Tension du capillaire	3 kV	4 kV
Température de désolvation	350 °C	350 °C
Débit du gaz de désolvation	10 ua	10 ua
Débit du gaz à contre-courant	5 ua	5 ua
Pression du gaz de collision	1,0 mTorr	1,0 mTorr

**Tableau II-5 :** Transitions MRM des composés de la méthode multi-résidus ; mode d'ionisation (+ : positif, - : négatif), tension de cône et énergies de collision appliquées.

Composé	Mode d'ionisation	Transition de quantification	Transition de confirmation	Tension de cône (V)	Energie de collision (eV)
Erythromycine	+	734 > 576	734 > 158	120	20
Ery- <sup>13</sup> C <sub>2</sub>	+	736 > 160	736 > 578	125	31
Ibuprofène	-	205 > 161	205 > 205	-84	8
Ibuprofène-D <sub>3</sub>	-	208 > 164	-	-80	8
4-NP	-	219 > 133	219 > 162	-90	33
Ofloxacine	+	362 > 318	326 > 261	120	18
Sucralose	-	395 > 359	397 > 361	-117	15
Sucralose-D <sub>6</sub>	-	401 > 365	-	-99	19
Triclosan	-	287 > 35	289 > 35	-82	11
Triclosan-D <sub>3</sub>	-	292 > 35	292 > 37	-62	10

#### II.4.2.1 Quantification, gammes et limites de quantification

La quantification des six molécules étudiées se fait par étalonnage interne et externe (pour le 4-NP et l'OFL). Les étalons internes associés à chaque composé sont présentés dans le Tableau II-6. Ils sont ajoutés aux échantillons avant l'étape d'extraction des molécules afin de corriger à la fois les pertes liées à la préparation des échantillons et les effets de matrice.

**Tableau II-6 :** Liste des étalons internes associés à chaque composé.

Composé	Etalon interne
Erythromycine	Erythromycine- <sup>13</sup> C <sub>2</sub>
Ibuprofène	Ibuprofène-D <sub>3</sub>
4-Nonylphénol	-
Ofloxacine	-
Sucralose	Sucralose-D <sub>6</sub>
Triclosan	Triclosan-D <sub>3</sub>

La gamme d'étalonnage est composée de sept points de différentes concentrations présentés dans le Tableau II-7. Les gammes d'étalonnage (annexe 7) ont été validées d'après la norme NF-T 90-210 (annexe 9).

Les limites de quantification (LQ, Tableau II-7) de chaque molécule ont été fixées en tenant compte du rapport signal/bruit et des valeurs de blancs de solvant et de blancs d'extraction. En effet, le 4-NP, le triclosan et l'ofloxacine sont présents de façon récurrente lors des analyses. Les limites de quantification de ces trois molécules ont donc été fixées de façon à ce que les valeurs de blancs ne dépassent pas 1/3 de la LQ.

**Tableau II-7 :** Gammes de concentration de chaque composé et leurs limites de quantification.

Composé	Gamme d'étalonnage (µg/L)	LQ (µg/L)	LQ dans l'eau (µg/L)
Erythromycine	10 – 200	20	0,1
Ibuprofène	10 – 300	20	0,1
4-Nonylphénol	20 – 600	60	0,3
Ofloxacine	10 – 200	20	0,1
Sucralose	100 – 3000	300	1,5
Triclosan	20 – 600	60	0,3

#### Précautions et contrôles pour la validation d'une série d'échantillons

Les mesures prises pour pallier les pollutions par les composés étudiés ont été les suivantes :

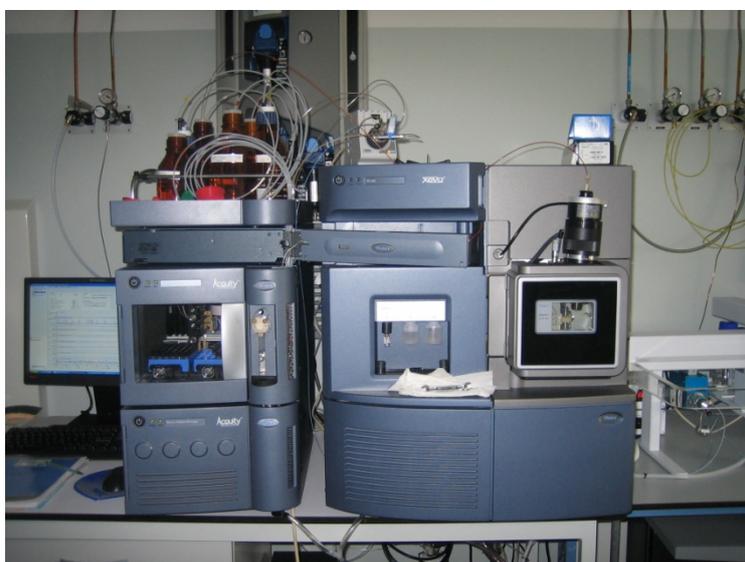
- Avant injection des extraits :
  - Rinçage de la seringue d'injection avec un mélange eau/MeOH.
- Durant la série d'injection des extraits
  - Au début de la séquence, deux blancs de solvant puis deux solutions des micropolluants à la limite de détection ont été injectés et les intensités des signaux ont été comparées à celles des injections précédentes.
  - A intervalles réguliers, des blancs de solvant (eau/AcCN) ont été injectés pour éviter les « effets mémoire ».

De plus, tous les 10 échantillons, un point de contrôle (solution de concentration connue en micropolluants) a été analysé. Ce contrôle intra-série permet d'évaluer la justesse et la dérive de l'instrument au cours de l'analyse.

### II.4.3 Conditions analytiques UPLC<sup>®</sup>-MS/MS pour l'analyse des PFC

L'analyse des composés perfluorés a été réalisée par chromatographie en phase liquide, avec un appareil de type Acquity UPLC<sup>®</sup> (Waters) couplé à un spectromètre de masse Xevo<sup>®</sup> triple quadripôle (**Figure II-6**). L'ensemble du système UPLC-MS/MS était piloté par le logiciel Masslynx V4.1.

L'optimisation de la méthode d'analyse a été réalisée par le LHN pour la campagne nationale d'occurrence des PFC dans les eaux destinées à la consommation humaine. La méthode initiale permet l'analyse de 10 PFC dont PFOA et PFOS. Les conditions de la chromatographie et de la spectrométrie de masse sont présentées ci-dessous.



**Figure II-6** : Photo de l'UPLC<sup>®</sup>-MS/MS (Waters).

#### Conditions UPLC

La colonne analytique qui a été utilisée est une Acquity<sup>®</sup> BEH C18 de dimensions 2,1 x 50 mm, taille des particules de 1,7  $\mu\text{m}$  ; la phase stationnaire est une silice greffée de chaînes alkyles C18. Pour protéger la colonne et augmenter sa durée de vie, une pré-colonne (2,1 x 5 mm) contenant la même phase stationnaire, a été mise en place.

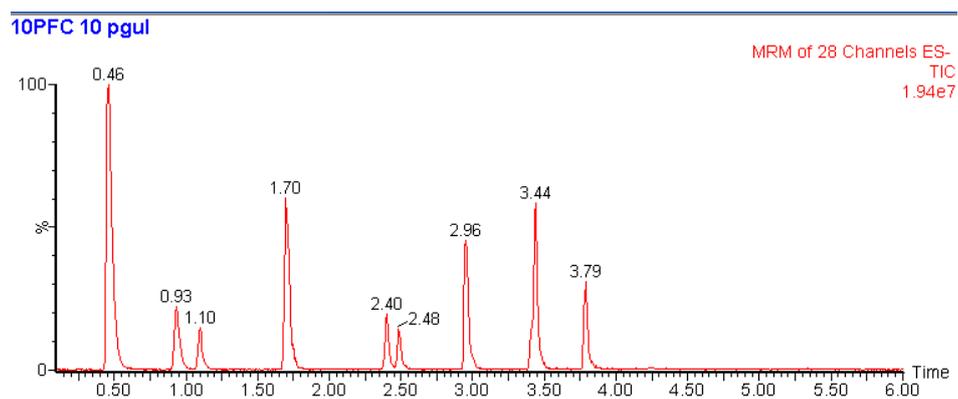
La composition de la phase mobile, le débit, le gradient d'éluion, la température de la colonne et le volume d'injection sont présentés dans le **Tableau II-8**. Les constituants des phases mobiles utilisées (méthanol, eau et acétate d'ammonium) sont de qualité LC-MS (Biosolve).

La Figure II-7 présente un chromatogramme (courant ionique total, TIC) des 10 PFC analysés dans les conditions décrites précédemment. Ces conditions chromatographiques permettent de

séparer neuf PFC sur les dix analysés. Comme indiqué sur le Tableau II-9, PFNA et PFOS sont co-élués. Cette co-élution n'est cependant pas gênante puisque les transitions suivies en spectrométrie de masse pour les deux molécules sont différentes et que chacune ne répond pas (ou très peu) aux transitions de l'autre.

**Tableau II-8 :** Conditions chromatographiques UPLC.

Instrument	ACQUITY UPLC <sup>®</sup>		
Colonne	ACQUITY UPLC <sup>®</sup> BEH C <sub>18</sub> (1,7 µm, 2,1×50 mm)		
Phase mobile	A : 2 mM acétate d'ammonium dans eau : MeOH (9/1) B : Méthanol LC/MS		
Gradient d'élution	Temps (min)	% A	% B
	0	70	30
	0,50	70	30
	5,00	15	85
	5,10	0	100
	6,60	0	100
	6,70	70	30
	10,00	70	30
Débit	650 µL/min		
Température de colonne	50 °C		
Volume d'injection	5 µL		



**Figure II-7 :** Chromatogramme (TIC) des 10 PFC étudiés par l'ANSES, à la limite de quantification.

**Tableau II-9 :** Temps de rétention (Tr) des 10 PFC analysés.

Composé	PFBA	PFPeA	PFBS	PFHxA	PFHpA	PFHxS	PFOA	PFNA	PFOA	PFDA
Tr (min)	0,45	0,93	1,10	1,70	2,39	2,49	2,95	<b>3,40</b>	<b>3,44</b>	3,79

Conditions MS/MS

L'analyse par spectrométrie de masse s'effectue avec une source d'ionisation ESI en mode négatif. Chacun des PFC étudiés a été infusé en mode d'acquisition MRM (Multiple Reaction Monitoring) afin de déterminer leurs transitions spécifiques (ion parent – ion fils) majoritaires. Chaque composé pur à 1 mg/L dans eau/méthanol (50 : 50) a été injecté dans le spectromètre de masse et entraîné par une phase mobile eau/méthanol (50 : 50) à 10 – 20  $\mu\text{L}/\text{min}$ . Les paramètres de source (position, tension capillaire, température de désolvation, débit de gaz de désolvation et de gaz à contre-courant), la tension du cône et l'énergie de collision sont optimisés pour l'ensemble des molécules, l'objectif étant d'avoir un ion parent et des ions fils les plus stables et intenses possibles. Tous ces paramètres sont résumés dans le Tableau II-10.

Les transitions de PFOA, PFOS et des étalons internes marqués PFOA- $^{13}\text{C}_4$  et PFOS- $^{13}\text{C}_4$  sont recensées dans le Tableau II-11.

**Tableau II-10** : Paramètres de la source ESI en mode négatif.

Instrument	Xevo <sup>®</sup> TQ MS
Source d'ionisation	ESI -
Tension du capillaire	0,44 kV
Température de désolvation	650 °C
Débit du gaz de désolvation	1200 L/h
Débit du gaz à contre-courant	50 L/h
Débit du gaz de collision	0,20 mL/min

**Tableau II-11** : Transitions MRM des PFC ionisés en ESI –, tension de cône et énergies de collision appliquées.

Composé	Ion précurseur (m/z)	Transition de quantification	Transition de confirmation	Tension de cône (V)	Energie de collision (eV)
PFOA	413	413 > 369	413 > 169	16	10 / 19
PFOS	499	499 > 99	499 > 80	60	38 / 39
PFOA $^{13}\text{C}_4$	417	417 > 372	-	16	10
PFOS $^{13}\text{C}_4$	503	503 > 99	-	60	38

#### *II.4.3.1 Quantification, gammes et limites de quantification*

La quantification de PFOA et PFOS se fait par étalonnage interne. Les étalons internes utilisés sont PFOA et PFOS marqués au  $^{13}\text{C}$  (PFOA- $^{13}\text{C}_4$ , PFOS- $^{13}\text{C}_4$ ). Ils sont ajoutés aux échantillons avant l'étape d'extraction des molécules, ce qui permet de corriger à la fois les pertes liées à la préparation des échantillons et les effets de matrice.

La gamme d'étalonnage est composée de sept points de différentes concentrations en composés purs et elle s'étend de 1 à 200  $\mu\text{g/L}$ . Les gammes d'étalonnage quadratiques pour PFOA, PFOS sont présentées dans l'Annexe 8. Les gammes d'étalonnage et la limite de quantification de 10  $\mu\text{g/L}$  (soit une concentration dans l'eau de 5  $\text{ng/L}$ ) ont été validées d'après la norme NF-T 90-210 (annexe 9).

#### Précautions et contrôles pour la validation d'une série d'échantillons

Au niveau de l'analyse chromatographique, certaines mesures ont été prises afin de palier et/ou d'éviter des pollutions par les composés perfluorés :

- Avant injection des extraits :
  - Rinçage de la seringue d'injection avec un mélange eau/MeOH.
  - Utilisation de vials en PP (bouchon y compris) pour éviter une pollution due aux septums en Teflon.
- Durant la série d'injection des extraits
  - Au début de la séquence, deux solutions de PFC à la limite de détection ont été injectées et les intensités des signaux ont été comparées à celles des injections précédentes.
  - A intervalles réguliers, des blancs de solvant (eau/MeOH) ont été injectés pour éviter les « effets mémoire ».

De plus, tous les 10 échantillons, un point de contrôle (solution de concentration connue en PFC) a été analysé. Ce contrôle intra-série permet d'évaluer la justesse et la dérive de l'instrument au cours de l'analyse. Pour valider une série d'analyse, la concentration expérimentale calculée pour le point contrôle ne doit pas s'écarter de plus de 20% de sa valeur théorique.

#### II.4.4 Préparation des échantillons : optimisation et validation des protocoles

Le protocole analytique qui a été adopté pour l'analyse des micropolluants dans les eaux usées et les boues (phases liquides et solides) est un protocole relativement classique. Il est composé d'un prétraitement, de l'extraction des micropolluants dans les différentes matrices, d'une purification (pour l'extraction des molécules de la phase solide uniquement), et de différentes analyses. La **Figure II-8** résume ces étapes.

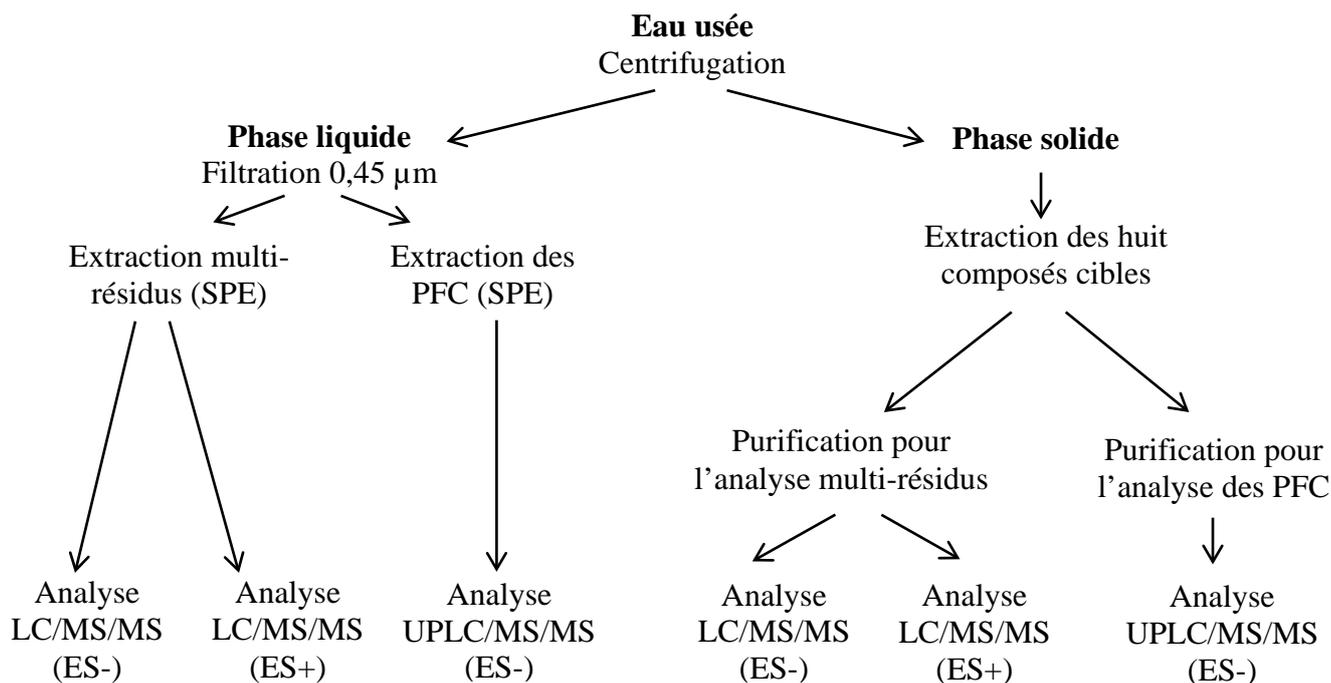
Avant de les analyser, les échantillons prélevés subissent différents prétraitements. Ils sont dans un premier temps centrifugés à 20 000 g pendant 40 minutes. Cette étape permet de séparer la phase liquide de la phase solide. Le culot est stocké au réfrigérateur et les micropolluants en sont extraits dans les 24 heures. Le surnageant est filtré à 0,45 µm (nitrate de cellulose, Sartorius) et l'extraction des huit micropolluants de la phase liquide est réalisée selon deux protocoles SPE distincts :

- Pour le protocole « multi-résidus » (extraction de l'ibuprofène, le sucralose, le triclosan, le 4-NP, l'ERY et l'OFL), 50 mL de filtrats sont placés dans un flacon en verre ambré. Une quantité fixe d'étalons internes de la méthode multi-résidus y est ajoutée. Le flacon est placé au réfrigérateur et les micropolluants sont extraits dans les 24h (voir test de stabilité en Annexe 10).
- Pour l'extraction des PFC, 300 mL de filtrat sont placés dans un flacon en PEHP. Une quantité fixe d'étalons internes de PFOA et PFOS est ajoutée à l'échantillon puis ce dernier est placé au réfrigérateur (4°C). L'extraction des PFC est réalisée dans les 3 jours.

Les concentrations en étalon interne dans le vial, avant injection sont présentées dans le Tableau II-12.

**Tableau II-12** : Concentrations en étalons internes dans les vials.

<b>Etalon interne</b>	<b>Concentration dans le vial (µg/L)</b>
Erythromycine- <sup>13</sup> C <sub>2</sub>	50
Ibuprofène-D <sub>3</sub>	50
Sucralose-D <sub>6</sub>	500
Triclosan-D <sub>3</sub>	150
PFOA <sup>13</sup> C <sub>4</sub>	50
PFOS <sup>13</sup> C <sub>4</sub>	50



**Figure II-8 :** Schéma de la démarche mise en place pour l'analyse des micropolluants cibles.

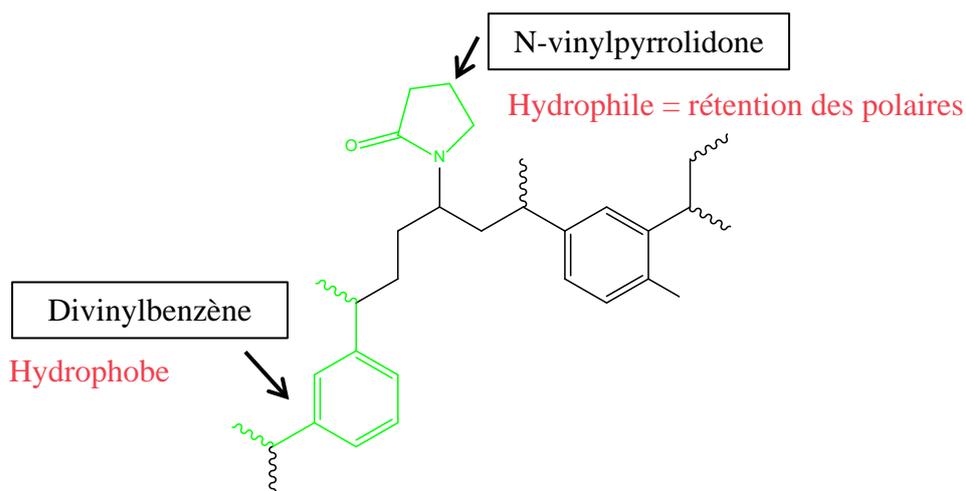
#### II.4.4.1 Protocole d'extraction multi-résidus de la phase liquide

Le protocole d'extraction « multi-résidus » des micropolluants (ibuprofène, érythromycine, ofloxacin, 4-nonylphenol, triclosan et sucralose) a été développé à partir du protocole mis en place par le LHN pour l'extraction des médicaments (dont ibuprofène, ERY, et OFL) dans les eaux de surface (qui s'appuie sur la méthode EPA 1694). Il a fallu optimiser ce protocole pour l'extraction de nos six micropolluants dans les phases liquides eau d'Evian puis la matrice complexe eau usée.

##### II.4.4.1.1 Optimisation de la SPE sur l'eau d'Evian

L'optimisation de la méthode a d'abord été effectuée sur l'eau d'Evian, une eau faiblement minéralisée. Des échantillons de 300 mL ont été dopés à un niveau de concentration au milieu de la gamme de chaque composé et plusieurs paramètres ont été optimisés afin d'avoir les meilleurs rendements d'extraction. Un automate d'extraction Gilson GX-274 ASPEC a été utilisé pour permettre l'extraction rapide et reproductible d'un plus grand nombre d'échantillons.

L'extraction multi-résidus de la phase liquide a été réalisée par SPE avec des cartouches Oasis<sup>®</sup> HLB (Hydrophilic-Lipophilic Balance) (6 cc, 200 mg, Waters), qui sont couramment utilisées pour l'extraction de nos composés cibles. La phase solide des cartouches est constituée d'un polymère hydrophobe (divinylbenzène) greffé de groupements hydrophiles (N-vinylpyrrolidone) (**Figure II-9**). Les interactions entrant en jeu pour la rétention des composés cibles seront donc de nature hydrophile-hydrophobes.



**Figure II-9** : Composition du support d'une cartouche Oasis<sup>®</sup> HLB.

- Influence du pH

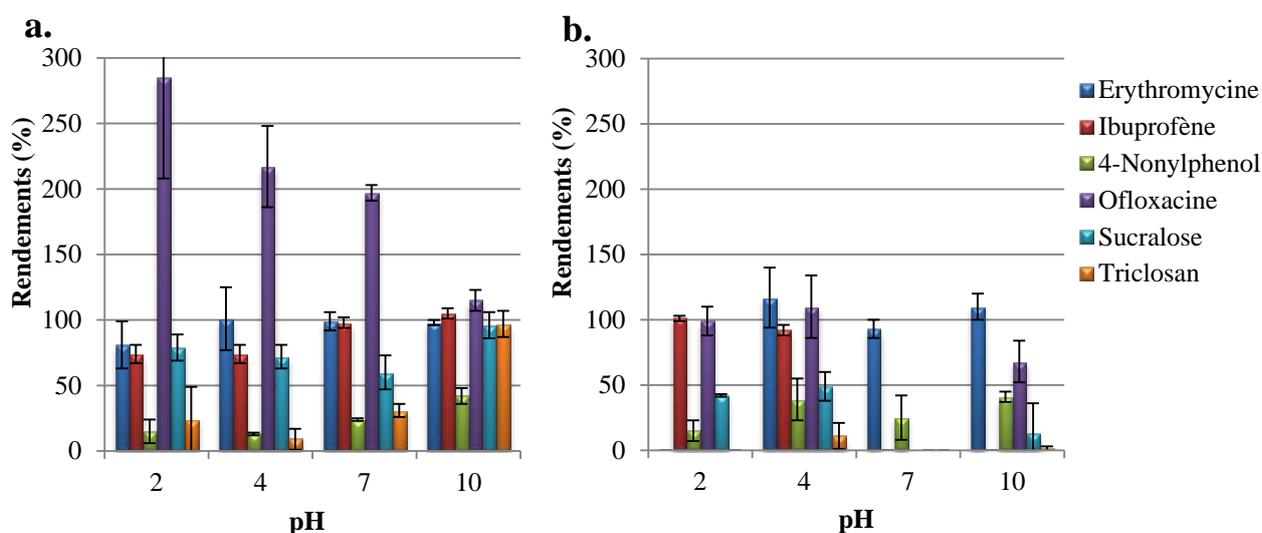
Le pH d'échantillons d'eau d'Evian dopée et non dopée a été ajusté à 2, 4, 7 et 10 avec NaOH (1 mol/L) ou HCl (1 mol/L) et les étalons internes ont été ajoutés avant la SPE. Les extractions ont été réalisées en triplicat pour chaque niveau de pH et le protocole initial appliqué était le suivant :

1. **Rinçage** : 6 mL de MeOH
2. **Conditionnement de la cartouche** : 6 mL de MeOH, puis 2 × 6 mL EUP au pH de l'échantillon considéré.
3. **Chargement de l'échantillon** : 5 mL/min.
4. **Lavage de la cartouche** : 2 × 3 mL d'EUP au pH de l'échantillon considéré.
5. **Séchage la cartouche** : 30 min sous vide.
6. **Elution des analytes**: 3 × 2 mL de MeOH récupérés dans des tubes en verre.

**7. Reprise des extraits:** éluat évaporé sous flux d'azote, à 37°C, jusqu'à un volume d'environ 200 µL. L'extrait a été complété avec un mélange eau/acétonitrile (90 : 10) (LC/MS, Biosolve) jusqu'à 500 µL puis homogénéisé.

Les résultats présentés sur la Figure II-10 a) montrent que le pH 10 donne les meilleurs rendements d'extraction pour les six composés étudiés : entre 80 et 110 % excepté pour le 4-NP qui présente des rendements de l'ordre de 50 %.

D'après la circulaire DGS/SD7A n°2003-445, une méthode d'analyse doit faire apparaître des rendements d'extraction compris entre 60 et 120% pour être acceptable et validée.



**Figure II-10 :** Influence du pH sur les rendements d'extraction des composés cibles, a) élution de la cartouche au méthanol, b) élution de la cartouche à l'acétonitrile.

Afin d'améliorer les rendements d'extraction du 4-NP deux possibilités ont été testées :

- Utiliser un autre solvant d'élution pour éluer la totalité du 4-NP qui pourrait être retenu sur les cartouches.
  - Utiliser un étalon interne qui permettrait de corriger la faible extraction du 4-NP.
- Influence du solvant d'élution

Le protocole d'extraction précédemment décrit a été appliqué à des échantillons d'eau d'Evian dopées et non dopées. Le méthanol, solvant d'élution des cartouches HLB, a été remplacé par de l'acétonitrile.

La Figure II-10 b) montre que les rendements d'extraction du 4-NP restent proches de 50 % avec une élution à l'acétonitrile, à pH 10. De plus, les rendements d'extraction des cinq autres molécules sont clairement diminués lors de l'élution à l'AcCN.

- Choix d'un étalon interne pour la quantification du 4-NP

Le 4-NP correspond à un mélange d'isomères du para-nonylphénol. A l'heure actuelle, aucun de ses isomères n'a pu être synthétisé seul en vue de le marquer au deutérium ou au  $^{13}\text{C}$ .

Le 4n-NP (isomère linéaire du 4-NP) est un composé quasi absent des mélanges commerciaux de nonylphénols et est absent du milieu naturel. Il a donc été suggéré par Gasperi et al. (Gasperi et al. 2007) de tenter de l'utiliser en tant qu'étalon interne.

De nouvelles expérimentations ont montré des rendements d'extraction du 4n-NP plus faibles que ceux obtenus pour le 4-NP (de l'ordre de 30 %). Les isomères linéaires et ramifiés du nonylphénol ne semblent pas se comporter de la même façon sur la phase adsorbante des cartouches. Ce constat a aussi été fait par Gilbert-Pawlik (2011). Il est donc impossible d'utiliser le 4n-NP comme étalon interne d'extraction.

Les rendements d'extraction du 4-NP étant constants autour de 50 %, il a été décidé que les valeurs de concentration mesurées dans les échantillons seraient corrigées par le rendement de dopage obtenu dans la même matrice. Le protocole d'extraction final, résultant de ces optimisations, est le suivant :

- 1. Rinçage :** la cartouche d'extraction est rincée avec 6 mL de MeOH, puis séchée sous vide avant le conditionnement.
- 2. Conditionnement de la cartouche :** réalisé par passages successifs de 6 mL de MeOH et  $2 \times 6$  mL d'EUP à pH 10.
- 3. Chargement de l'échantillon:** un volume de 300 mL d'échantillon à un pH compris entre 9.5 et 10,5 est percolé à environ 5 mL/min.
- 4. Lavage de la cartouche:** la cartouche est lavée avec 5 mL d'EUP à pH 10.
- 5. Séchage la cartouche:** pendant 30 min sous vide.
- 6. Elution:** l'élution des analytes est réalisée avec 6 mL de MeOH ( $3 \times 2$  mL) collectés dans des tubes en verre.
- 7. Reprise des extraits:** L'éluat est ensuite évaporé sous flux d'azote, à  $37^\circ\text{C}$ , en utilisant un concentrateur d'échantillon, jusqu'à un volume d'environ 100  $\mu\text{L}$ . L'extrait est complété avec un mélange eau/acétonitrile (90 : 10) (LC-MS) jusqu'à 250  $\mu\text{L}$  puis homogénéisé. Les extraits sont stockés au réfrigérateur dans des vials en verre ambré jusqu'à analyse.

## II.4.4.1.2 Optimisation du protocole sur la matrice réelle eau usée

Le protocole décrit précédemment a été appliqué à la matrice eau usée, dopée et non dopée, afin d'en déterminer les rendements d'extraction de chaque composé. Pour l'extraction des micropolluants présents dans cette matrice, la SPE manuelle a été adoptée (**Figure II-11**). Une unité d'extraction de 12 positions reliée à une pompe permettant de faire le vide a été utilisée. Chaque cartouche d'extraction était connectée à un flacon d'échantillon par un tube en PP. La vitesse d'écoulement était réglée par des robinets disposés au niveau de chaque cartouche.



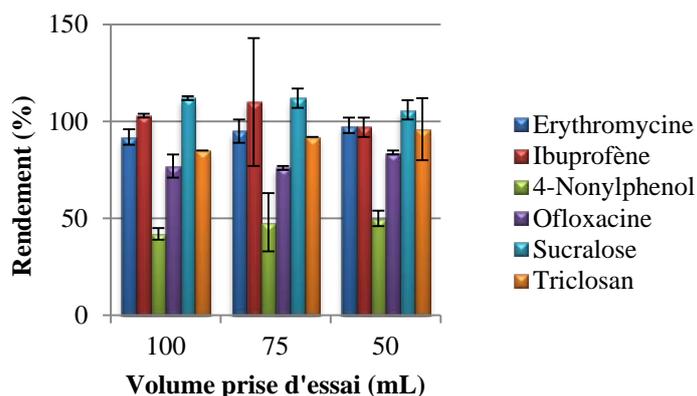
**Figure II-11** : Schéma du montage de SPE pour l'extraction multi-résidus.

La SPE d'un volume de 300 mL d'eau usée, centrifugée et filtrée, entraîne un colmatage de la cartouche HLB. Il a donc fallu optimiser le volume de la prise d'essai d'eau usée.

- Optimisation du volume de prise d'essai

Le protocole d'extraction a été appliqué à des prises d'essais de 100, 75 et 50 mL d'eau usée dopée (en triplicat) et non dopée. Le facteur de reconcentration des extraits a été maintenu constant pour tous les échantillons.

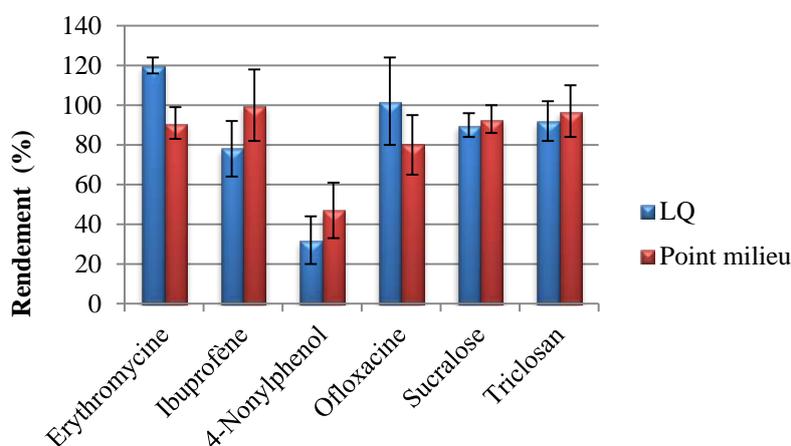
Comme l'indique la Figure II-12, le volume de la prise d'essai n'a pas d'impact sur les rendements d'extraction des micropolluants cibles dans l'eau usée. Nous avons donc choisi de prendre un volume de 50 mL pour l'analyse de nos échantillons (extrait final concentré à 250  $\mu$ L).



**Figure II-12 :** Influence du volume de prise d'essai sur les rendements d'extraction des micropolluants dans l'eau usée.

#### II.4.4.1.3 Validation du protocole d'extraction sur la matrice eau usée

Pour la validation du protocole, les rendements d'extraction ont été évalués sur la matrice eau usée dopée avec les six composés à deux niveaux de concentrations : à la limite de quantification de chacun des composés et à une concentration au milieu de leur gamme d'étalonnage. Les échantillons dopés et non dopés ont été analysés et le protocole de dopage a été répété six à dix fois pour chaque niveau de concentration. La Figure II-13 présente les rendements d'extraction obtenus pour les six micropolluants étudiés, dans l'eau usée et aux deux niveaux de concentrations. Les six molécules, sauf le 4-NP, présentent des rendements d'extraction compris entre 80 et 120 % dans la matrice eau usée, ce qui est donc très acceptable. D'après la circulaire DGS/SD7A n°2003-445, une méthode d'analyse doit faire apparaître des rendements d'extraction compris entre 60 et 120% pour être acceptable et validée.



**Figure II-13 :** Rendements d'extraction de la méthode multi-résidus pour des concentrations en micropolluants à la limite de concentration et en milieu de gamme, dans l'eau usée.

#### II.4.4.1.4 Effets de la centrifugation et filtration des échantillons, de la centrifugation des extraits et blancs préleveur

Des essais sur la centrifugation et la filtration à  $0,45\ \mu\text{m}$  d'échantillons d'eau usée dopée ont démontré que ces prétraitements n'avaient pas d'effet sur les concentrations en micropolluants. De même, la centrifugation des extraits n'influe pas sur les concentrations des micropolluants dans le solvant (eau/AcCN, 90 : 10).

Enfin, les blancs préleveurs n'ont indiqué aucune contamination en micropolluants cibles, excepté pour le 4-nonylphénol. En effet, après passage au travers du système de prélèvement, l'eau initialement exempte de micropolluants contient du 4-NP à l'état de traces. Les concentrations mesurées sont cependant inférieures à la limite de quantification de 4-NP.

#### II.4.4.2 Protocole d'extraction des PFC de la phase liquide

Le mode opératoire utilisé pour l'étude des composés perfluorés dans la phase liquide correspond au protocole mis en place par le LHN (qui s'était basé sur la norme ISO 25101 (AFNOR 2009)) avec des modifications mineures. En effet, le protocole du LHN avait été développé pour l'analyse de matrices « propres » : eau d'Evian, eau du robinet, et eau de surface, il a donc fallu tester et optimiser cette méthode pour l'extraction des PFC dans la matrice beaucoup plus complexe qu'est l'eau usée.

##### II.4.4.2.1 Optimisation de la SPE sur la matrice eau usée

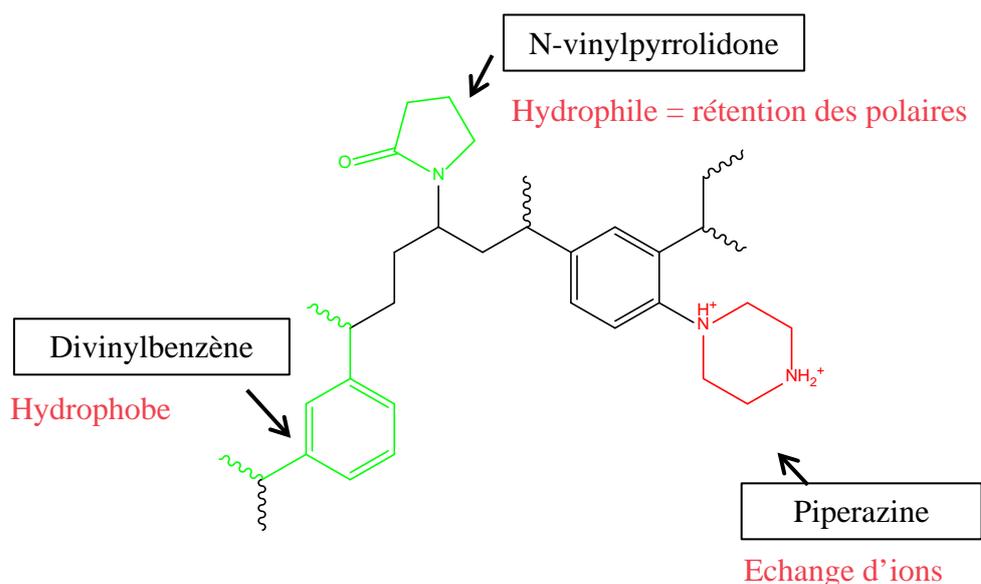
La méthode SPE ayant déjà été optimisée sur l'eau d'Evian (par le LHN), nous sommes directement passés à l'étape d'optimisation du protocole sur la matrice réelle étudiée : l'eau usée. Les PFC ont été extraits de la phase liquide par SPE manuelle (**Figure II-14**).



**Figure II-14** : Schéma du montage de SPE pour l'extraction des composés perfluorés.

Les cartouches utilisées sont des Oasis<sup>®</sup> WAX (Weak Anion-eXchange) (6cc, 150 mg, Waters). Leur support est constitué d'un polymère hydrophobe (divinylbenzène) greffé de groupements hydrophiles (N-vinylpyrrolidone) et échangeurs d'ions (piperazine) (**Figure II-15**). Lors de l'étape d'adsorption des molécules sur la cartouche, le pH de la solution doit être tel que les composés cibles et le groupement piperazine soient ionisés ; dans ce cas les PFC seront retenus par le support grâce à des interactions ioniques et hydrophobes. Pour éluer les molécules, le pH doit être tel que les composés cibles (et/ou les groupements piperazine) passent sous leur forme moléculaire.

Dans le cas des PFC, espèces ionisée à tous pH (pKa très faible), le passage de la forme ionisée à la forme moléculaire concerne uniquement le groupement piperazine du support de la cartouche. Ce groupement possède un pKa de 6 ; il a donc été choisi de travailler à un pH voisin de 4 pour l'étape d'adsorption des PFC (l'adsorbant est alors chargé positivement sous la forme  $R_2NH_2^+$ ), et à pH de 11 pour l'élution des composés (l'adsorbant est alors sous la forme  $R_2NH$  et les interactions avec les PFC sont rompues).



**Figure II-15** : Composition du support d'une cartouche Oasis<sup>®</sup> WAX.

Le protocole SPE utilisé est le suivant :

- 1. Rinçage** : la cartouche d'extraction est rincée avec 6 mL de 0,1% d'hydroxyde d'ammonium ( $NH_4OH$ ) dans le MeOH,  $2 \times 6$  mL de MeOH puis séchée sous vide avant le conditionnement.

**2. Conditionnement de la cartouche :** il est réalisé par passages successifs de 6 mL de MeOH et  $3 \times 6$  mL d'eau ultra pure (EUP) à pH 4.

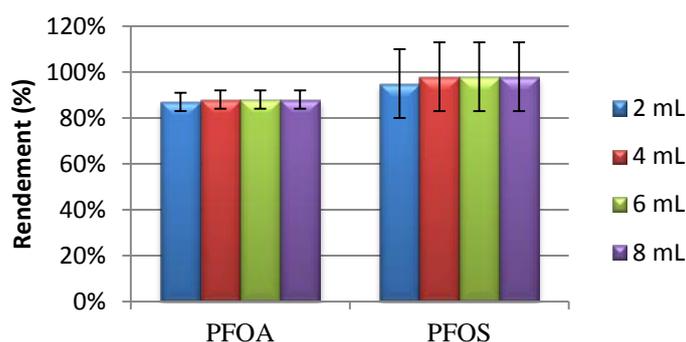
**3. Chargement de l'échantillon:** un volume de 300 mL d'échantillon acidifié à un pH compris entre 3,5 et 4,5 est percolé à environ 5 mL/min.

**4. Lavage de la cartouche:** la cartouche est lavée avec 6 mL d'EUP acidifiée à pH 4.

**5. Séchage la cartouche:** pendant 40 min sous vide.

**6. Elution:** dans le protocole initial, développé par le LHN, l'élution des analytes est réalisée avec 2 mL de MeOH ( $2 \times 1$  mL) qui permet de récupérer les PFC de chaîne carbonée de petite taille (3 ou 4 carbones). Pour notre étude, l'éluat au MeOH n'est pas récupéré, il sert uniquement de lavage de la cartouche. Pour l'élution des chaînes carbonées plus longues (PFOA et PFOS), 2 mL de 0,1%  $\text{NH}_4\text{OH}$  dans le méthanol ( $2 \times 1$  mL) sont utilisés et collectés dans des tubes en polypropylène. Le volume d'élution avec l'ammonium à 0,1 % dans le méthanol a été optimisé dans le cadre de l'étude des eaux usées. Il a été augmenté à 4 mL ( $4 \times 1$  mL) (Figure II-16).

**7. Reprise des extraits:** L'éluat est ensuite évaporé sous flux d'azote, à  $37^\circ\text{C}$ , en utilisant un concentrateur d'échantillon, jusqu'à un volume d'environ 100  $\mu\text{L}$ . L'extrait est complété avec un mélange eau/méthanol (70 : 30) (LC-MS, Biosolve) jusqu'à 150  $\mu\text{L}$  puis homogénéisé. Les extraits sont centrifugés (11000 g pendant 15 minutes) et les surnageants sont stockés au réfrigérateur dans des vials en PP jusqu'à analyse.



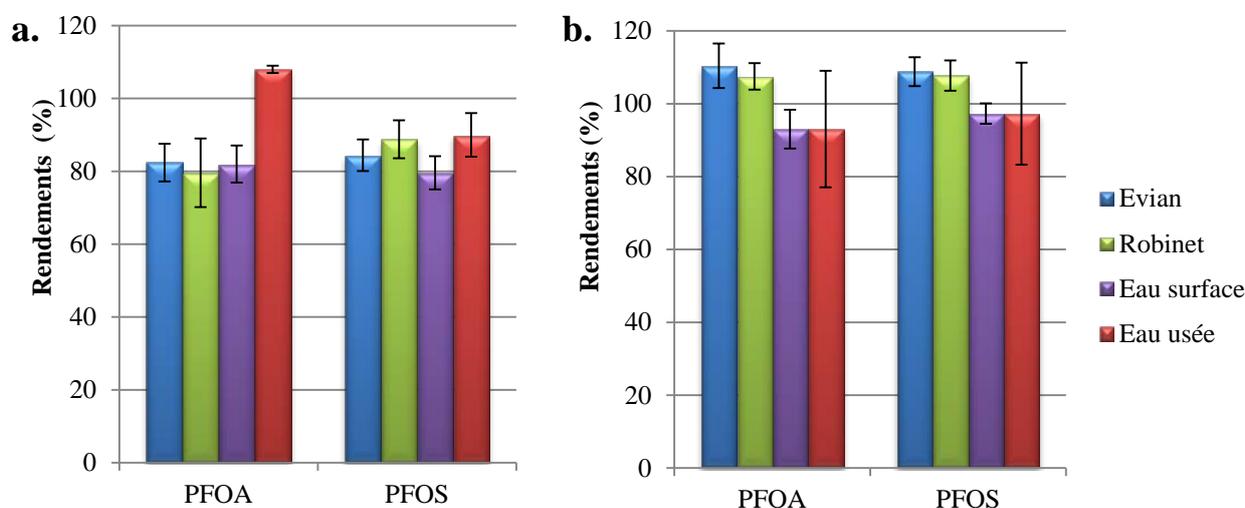
**Figure II-16 :** Moyenne des rendements d'extraction ( $n = 3$ ) de PFOA et PFOS dans l'eau usée obtenus pour différentes fractions de solvant ( $\text{NH}_4\text{OH}$  0,1 % dans MeOH).

## II.4.4.2.2 Validation du protocole d'extraction sur la matrices eau usée

Les rendements d'extraction des cartouches (SPE) ont été évalués sur différentes matrices au LHN : eau d'Evian (eau moyennement minéralisée), eau du robinet et eau superficielle. Dans le cadre de cette thèse, les rendements d'extraction des PFC dans la matrice eau usée ont été évalués afin de valider le protocole d'extraction développé.

Des échantillons d'eau usée ont été dopés avec PFOA et PFOS à deux niveaux de concentrations : à la limite de quantification (5 ng/L) et à 50 ng/L (concentration au milieu de la gamme d'étalonnage). Les échantillons dopés et non dopés ont été analysés et le protocole de dopage a été répété 6 à 10 fois pour chaque niveau de concentration. La Figure II-17 présente les rendements d'extraction obtenus pour les deux PFC étudiés dans l'eau usée et dans les matrices étudiées au LHN. PFOA et PFOS présentent des rendements d'extraction compris entre 80 et 120 % dans les 4 matrices étudiées, ce qui est donc très satisfaisant.

Régulièrement, lors de séries d'échantillonnage, un blanc d'eau ultra pure a été testé. Un échantillon de 300 mL d'EUP a subi le même traitement que les échantillons d'eau usée afin de contrôler l'absence de contaminations (par les consommables) lors de l'extraction SPE.



**Figure II-17 :** Rendements d'extraction moyens de PFOA et PFOS dans les quatre matrices : Evian, eau du robinet, eau superficielle, et eau usée a) à la limite de quantification, b) à une concentration en milieu de gamme.

## II.4.4.2.3 Effets de la centrifugation, de la filtration et blancs préleveur

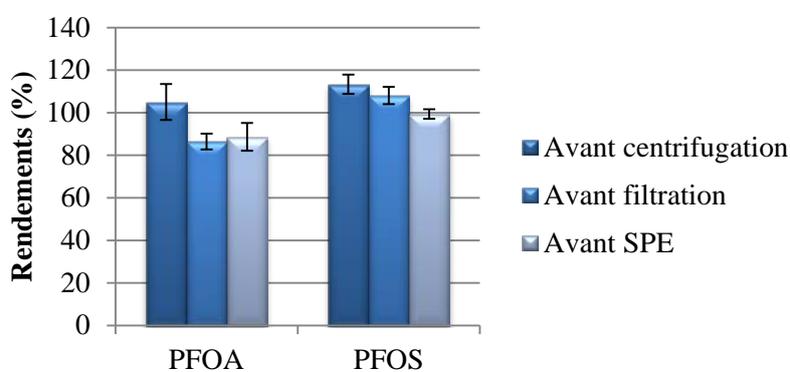
Afin de s'assurer que les étapes de prétraitement de l'échantillon, c'est à dire la centrifugation et filtration de l'eau usée avant extraction des PFC n'ont pas d'impact sur les niveaux de

concentration mesurés, des rendements d'extraction ont été effectués par dopage de l'eau usée :

- avant la centrifugation
- avant l'étape de filtration
- avant la SPE

Dans les trois cas, l'étalon interne a été ajouté avant l'étape d'extraction (SPE). Il a donc permis de corriger les éventuelles pertes en composés liées à la SPE et à l'analyse, et n'a pas corrigé les pertes liées aux étapes de centrifugation et filtration.

La Figure II-18 nous indique que les étapes de prétraitement des échantillons d'eau usée n'ont pas d'impact sur les rendements d'analyse des composés perfluorés PFOA et PFOS.



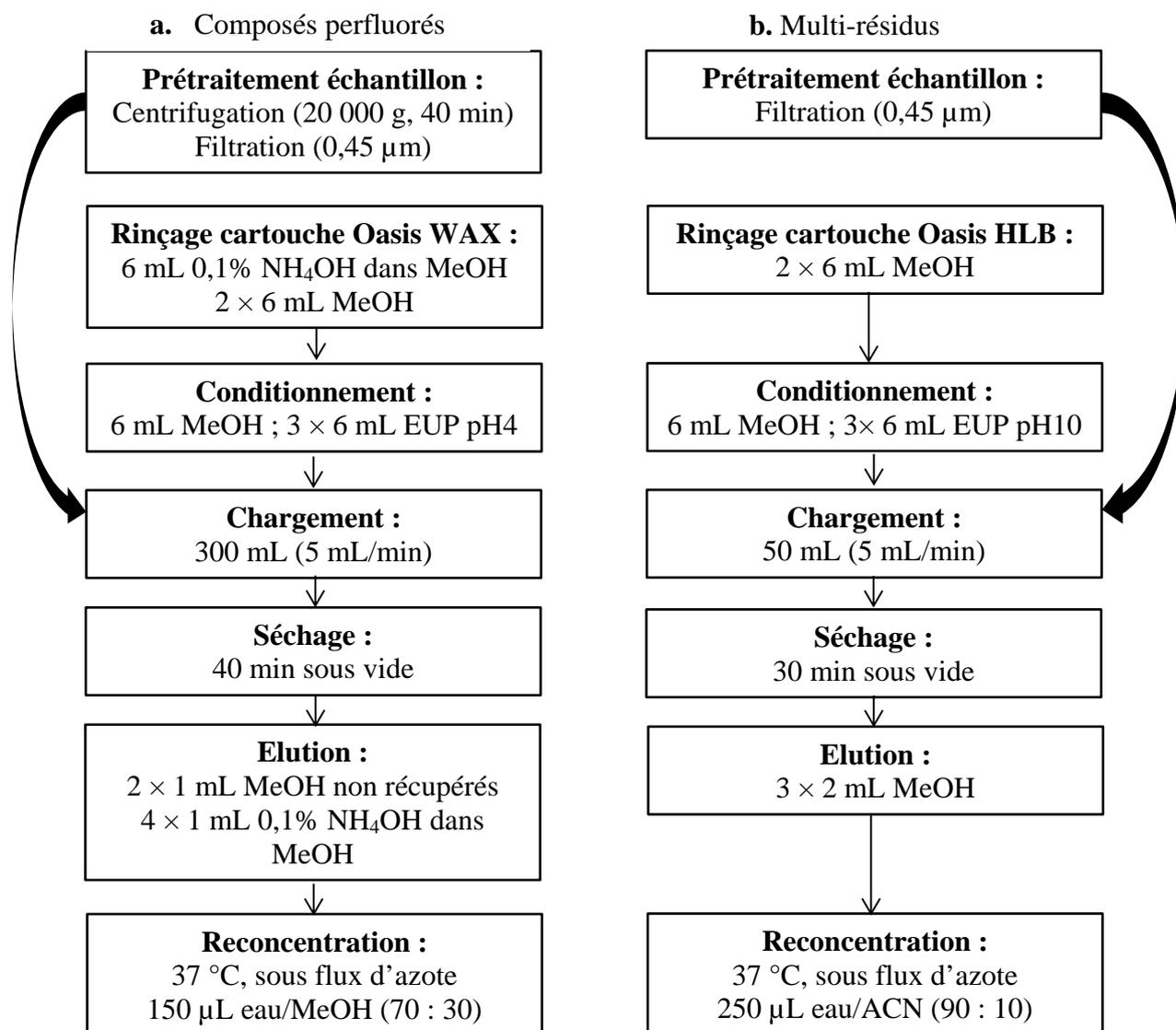
**Figure II-18 :** Rendements d'extraction de PFOA et PFOS ajoutés dans une eau usée avant les étapes de centrifugation, filtration, et SPE (n = 3).

Afin d'éliminer les éventuelles matières en suspension qui pourraient être à l'origine d'une détérioration prématurée de la colonne chromatographique, une centrifugation des extraits a été mise en place. Les concentrations mesurées dans des extraits centrifugés ou non centrifugés ont montré que 98 à 100 % des PFC restent dans la phase dissoute de l'extrait (et non piégés dans le culot). La centrifugation des extraits ne semble pas contribuer à une perte significative des rendements d'analyse de PFOA et PFOS.

Enfin, un blanc préleveur a été réalisé afin de vérifier l'absence de contamination liée aux matériaux présents dans le système de prélèvement automatique, ou éventuellement aux contaminations par les résidus des précédents prélèvements. De l'eau ultra pure, exempte de PFC, a circulé au travers du préleveur et a été analysée. Ce test a montré l'absence de contamination en PFC par le système utilisé.

#### II.4.4.3 Les micropolluants en phase liquide : résumé des protocoles d'extraction

Après optimisation des protocoles SPE et validation des méthodes sur la matrice réelle d'eau usée, le protocole final obtenu pour l'extraction des micropolluants en phase liquide est celui décrit sur la Figure II-19.



**Figure II-19 :** Protocoles d'extraction a) des composés perfluorés et b) des autres molécules (multi-résidus) en phase liquide.

#### *II.4.4.4 Protocole d'extraction des micropolluants de la phase solide*

L'extraction des huit micropolluants de la phase solide s'est basée sur le protocole mis en place par Yoo et al. (2009) qui ciblait l'extraction des composés perfluorés :

- 1. Digestion de la boue :** 1 mL de NaOH (1 M) est ajouté à 0,5 g de solide (récupéré après centrifugation). Le tout est soumis à sonication pendant 30 minutes dans un bain chaud. L'échantillon est ensuite stocké au réfrigérateur (4°C dans le noir) pour la nuit.
- 2. Neutralisation du pH :** le lendemain, 1 mL d'acide chlorhydrique (1 M) est ajouté pour neutraliser le pH.
- 3. Extraction des micropolluants :** l'échantillon est soumis à une extraction mécanique par un solvant : 10 mL d'un mélange acétonitrile/méthanol (50/50) sont ajoutés et le mélange est lentement agité pendant 60 minutes.
- 4. Séparation des deux phases :** la boue est séparée du solvant par centrifugation (10 000 g, 20 minutes, 20 °C), et le surnageant est récupéré.

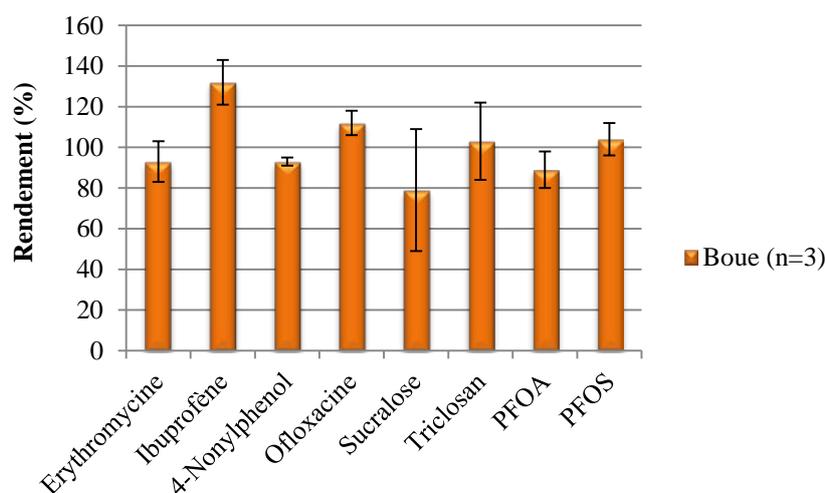
L'étape d'extraction par le solvant est répétée une seconde fois et les deux extraits obtenus sont mélangés (environ 22 mL au final).

L'extrait subit ensuite une étape de purification pour chaque famille de composés (PFC et multi-résidus).

Pour les composés perfluorés, 4 mL d'extrait sont dilués dans 96 mL d'eau ultra pure, le pH est ajusté à 4, les étalons internes sont ajoutés. Le protocole SPE à l'aide de cartouches WAX est appliqué (Figure II-19 a)). Les analyses sont réalisées de la même façon que pour les échantillons liquides, et les résultats sont donnés en ng de PFC par g de boue centrifugée (humide).

Pour les autres molécules, 4 mL d'extrait sont dilués dans 96 mL d'eau ultra pure, le pH est ajusté à 10, les étalons internes de la méthode multi-résidus sont ajoutés. Le protocole SPE à l'aide de cartouches HLB est appliqué (Figure II-19 b)). Les analyses sont réalisées selon la méthode multi-résidus développée pour les échantillons liquides. Les résultats sont donnés en ng de micropolluant par g de boue centrifugée (humide).

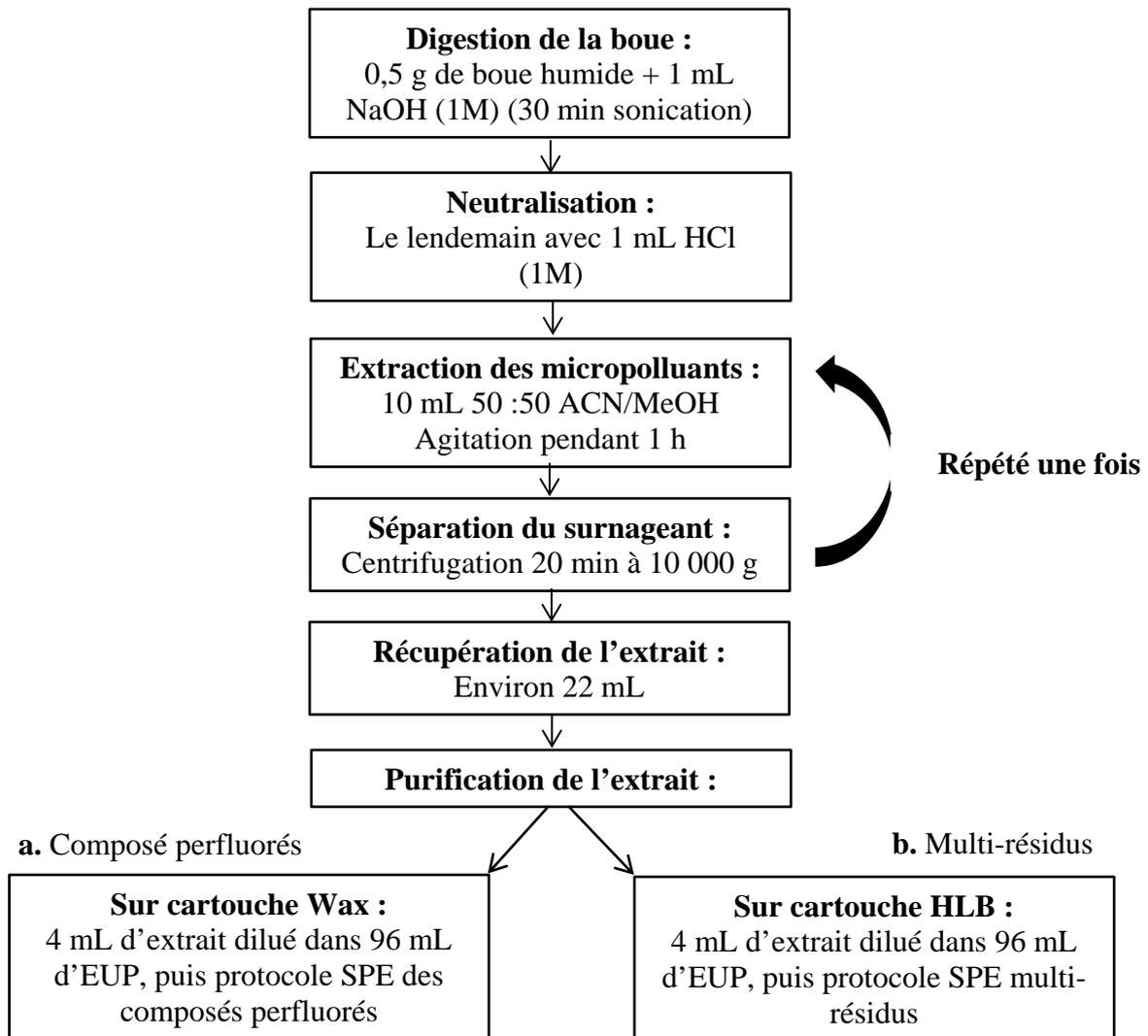
Une boue de STEP a été dopée en triplicat et les rendements d'extraction ont pu être déterminés par l'analyse de cette boue dopée et non dopée. Le protocole de dopage de la matrice solide est le suivant : les micropolluants dans un solvant organique (MeOH ou AcCN) ont été déposés sur l'échantillon de boue (solide récupéré après centrifugation) et l'ensemble a été homogénéisé manuellement. La **Figure II-20** présente les rendements d'extraction obtenus pour les huit micropolluants étudiés, dans les boues. Toutes les molécules, le 4-NP y compris, présentent de très bons rendements d'extraction de la phase solide, de l'ordre de 80 à 130 %.



**Figure II-20** : Rendements d'extraction moyens de PFOA et PFOS dans la boue.

#### *II.4.4.5 Les micropolluants en phase solide : résumé des protocoles d'extraction et purification*

Le protocole final de l'extraction des micropolluants en phase solide (Figure II-21) est composé d'une étape de digestion de la matière organique, de l'extraction simultanée des huit micropolluants de la phase solide par agitation mécanique dans un solvant, et enfin d'une étape de purification qui est fonction de la nature des micropolluants (une méthode pour les PFC et une méthode pour les autres molécules).



**Figure II-21 :** Protocoles d'extraction des huit micropolluants étudiés dans la phase solide et méthodes de purification a) des composés perfluorés et b) des autres molécules (multi-résidus).

## II.5 METHODES D'ANALYSE POUR L'EVALUATION DE L'IMPACT DES MICROPOLLUANTS SUR LA FLORE BACTERIENNE

Cette section décrit les modes opératoires mis en place pour l'évaluation de l'impact des micropolluants cibles sur l'activité bactérienne. Deux approches ont été utilisées :

- 1) Des tests de toxicité sur une bactérie modèle *Escherichia coli*
- 2) L'étude des substances polymériques extracellulaires dans les boues de STEP

### II.5.1 Impact sur la croissance bactérienne

A ce jour, il existe divers tests permettant de mesurer la toxicité de molécules chimiques et d'en conclure sur leurs impacts environnementaux. Tous fonctionnent sur le même principe : des organismes vivants sont exposés à différentes concentrations en polluant dans un milieu et les effets visibles sont comparés à une norme définie pour les mêmes organismes, vivant dans les mêmes conditions mais non exposés au polluant. La nature de ces organismes vivants est diverse, allant du poisson à la bactérie luminescente (Rodier 1996). Dans le cadre de cette thèse, les tests ont été réalisés sur une souche de laboratoire (bactérie modèle), et les manipulations ont été effectuées au sein du Laboratoire de Chimie, Physique et Microbiologie pour l'Environnement (LCPME) de Vandoeuvre-lès-Nancy.

#### *II.5.1.1 Conditions de culture de la souche bactérienne*

La souche bactérienne qui a été utilisée pour cette étude est la souche mère *Escherichia coli* MG1655, largement décrite par Blattner et al. (1997) (séquençage du génome).

Les cultures bactériennes ont été réalisées à 37°C et sous une agitation de 160 rpm dans un bain marie Innova 3100 (New Brunswick). Le milieu de culture LB (bouillon lysogène), était composé de 10 g/L de tryptone, 5 g/L d'extrait de levure et 10 g/L de NaCl dissous dans de l'eau distillée (« LB Miller », Difco). Le tout a été stérilisé par autoclave (Lequeux de type 14967A).

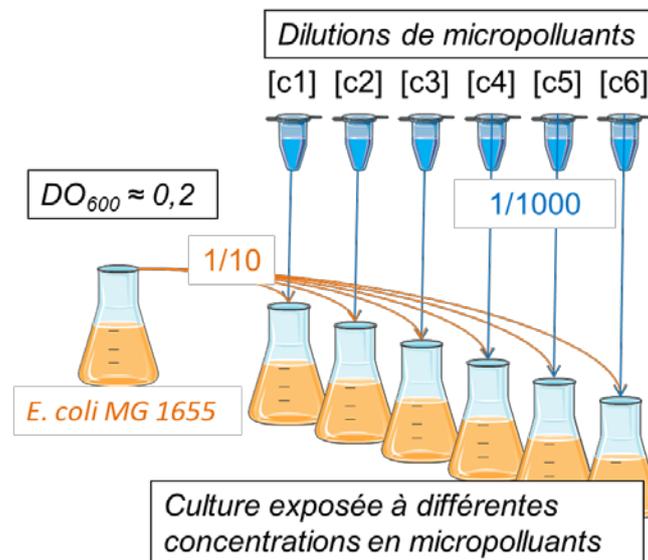
#### *II.5.1.2 Manipulation et traitement des résultats*

La souche bactérienne a été préalablement mise en culture pendant 16 heures à partir d'une colonie dans 2 mL de milieu LB. Cette pré-culture a ensuite permis d'inoculer 100 mL de milieu LB (dilution au centième), préchauffé à 37°C et soumis à une agitation de 160 rpm au bain marie. Les bactéries ont été cultivées jusqu'en milieu de phase exponentielle de croissance, c'est à dire pour une mesure de densité optique à 600 nm (DO<sub>600</sub>) de 0,2. La DO<sub>600</sub>

de la culture bactérienne était suivie à l'aide d'un spectrophotomètre (Spectrophotomètre : UV-Visible Safas ; type : UV-MC<sup>2</sup>).

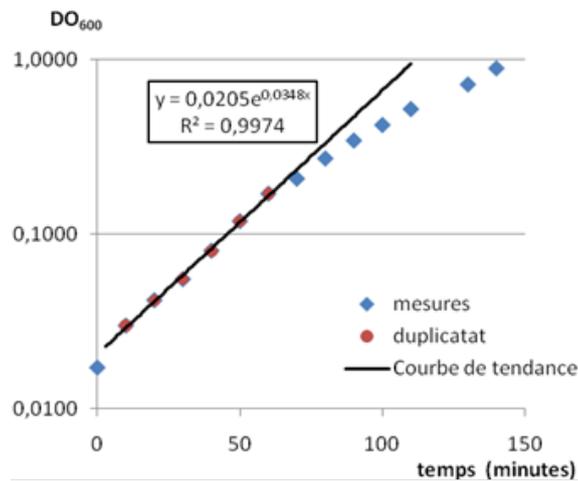
La culture a ensuite été diluée au 1/10<sup>e</sup> dans une série d'erlenmeyer préchauffée à 37°C et contenant 50 mL de milieu LB et une gamme de concentrations en polluant à tester (Figure II-22). L'évolution de la culture a été suivie par des mesures de DO<sub>600</sub> à intervalles de temps réguliers (toutes les 10 minutes environ).

Tous les suivis de croissance bactérienne comprennent impérativement un témoin (absence de polluant). Dans le cas éventuel de l'utilisation d'un solvant autre que l'eau pour apporter les micropolluants, un témoin de toxicité de ce solvant a été réalisé par ajout du même volume de solvant que pour les autres milieux.



**Figure II-22 :** Schéma de dilution de la culture bactérienne et exposition à différentes concentrations en micropolluants.

Les valeurs de DO<sub>600</sub> ainsi obtenues ont été ensuite représentées graphiquement sur une échelle logarithmique en fonction du temps (Figure II-23). La première partie de la croissance correspond à la phase exponentielle de croissance et est rectiligne sur l'échelle logarithmique. L'équation de cette première partie de la courbe, de type  $y = c e^{bx}$  (avec « b » et « c » des constantes), est recherchée par une régression pour une sélection de données présentant le coefficient de détermination « R<sup>2</sup> » le plus élevé (Figure II-23). Il est à noter qu'en milieu LB, la croissance d'*Escherichia coli* présente deux parties rectilignes (correspondant à l'utilisation séquentielle des substrats), avec deux équations distinctes, et que seule la première a été considérée dans le cadre de ce travail (Sezonov et al. 2007).



**Figure II-23 :** Courbe de croissance typique obtenue à partir de la souche MG1655 dans le milieu LB.

Le temps de génération,  $g$ , est le temps de doublement de la population bactérienne, exprimé en minutes, dans le milieu au moment de cette phase de croissance maximale. Il est déterminé à partir de l'équation de la courbe de tendance selon la formule :

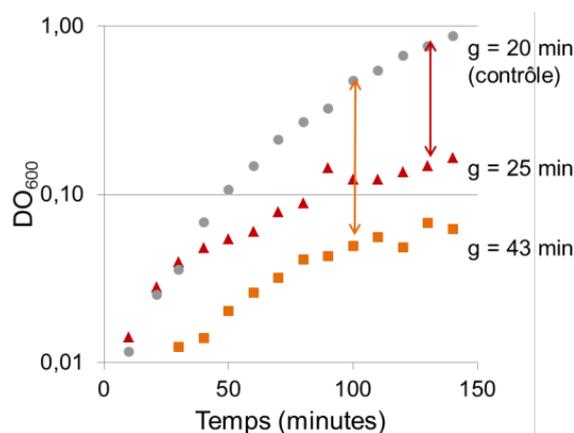
$$\text{Ln}(2)/b \text{ avec « } b \text{ » coefficient de l'équation } y=ce^{bx}$$

Dans l'exemple donné par la Figure II-23, la valeur obtenue est la suivante :

$$\text{Ln}(2)/0.0348 = 20 \text{ minutes}$$

Il faudra donc 20 minutes à la population bactérienne en phase exponentielle de croissance pour doubler.

Ainsi, les temps de génération obtenus pour chacun des milieux différemment concentrés en polluants ont été comparés à celui du témoin (valeur de référence). Une toxicité a été considérée comme avérée si, en tenant compte de la marge de variation, c'est-à-dire l'écart type mesuré à partir de la moyenne des témoins négatifs de toutes les manipulations, une différence apparaissait (Figure II-24).



**Figure II-24 :** Exemple de courbes de croissance bactérienne indiquant une toxicité ( $g$  augmentant).

## II.5.2 Impact sur les EPS solubles et liées dans les boues de STEP

### II.5.2.1 Utilisation de réacteurs batch

Des réacteurs batch en PVC ont été utilisés pour étudier l'impact des micropolluants sur la production d'EPS par les microorganismes dans les boues d'épuration. La durée de fonctionnement des réacteurs a été fixée à 24 h, comme lors de précédents travaux (Avella et al. 2010). Ces manipulations ont été effectuées au sein du Laboratoire Réactions et Génie des Procédés (LRGP) de Nancy.

Dans chaque réacteur, 1 L de boue épaisse, prélevée dans le circuit de recirculation des boues de la STEP de Nancy-Maxéville, a été diluée dans 2 L d'eau usée, prélevée à l'entrée de la même STEP. Ce mélange, appelé liqueur mixte, reproduit les conditions du bassin biologique de la STEP. Une aération, grâce à un bulleur au fond du réacteur, a permis l'apport en oxygène ainsi que l'agitation afin d'avoir une bonne homogénéité au sein du réacteur. Aucun apport de nutriment n'a été effectué au cours des 24 heures d'expérience.

Quatre réacteurs ont été utilisés en parallèle (**Figure II-25**). L'un de ces réacteurs a servi de témoin (T), il contenait la liqueur mixte sans micropolluants. Les trois autres ( $R_1$ ,  $R_2$ , et  $R_3$ ) contenaient la liqueur mixte et les micropolluants à trois niveaux concentrations  $C_1$ ,  $C_2$  et  $C_3$ .

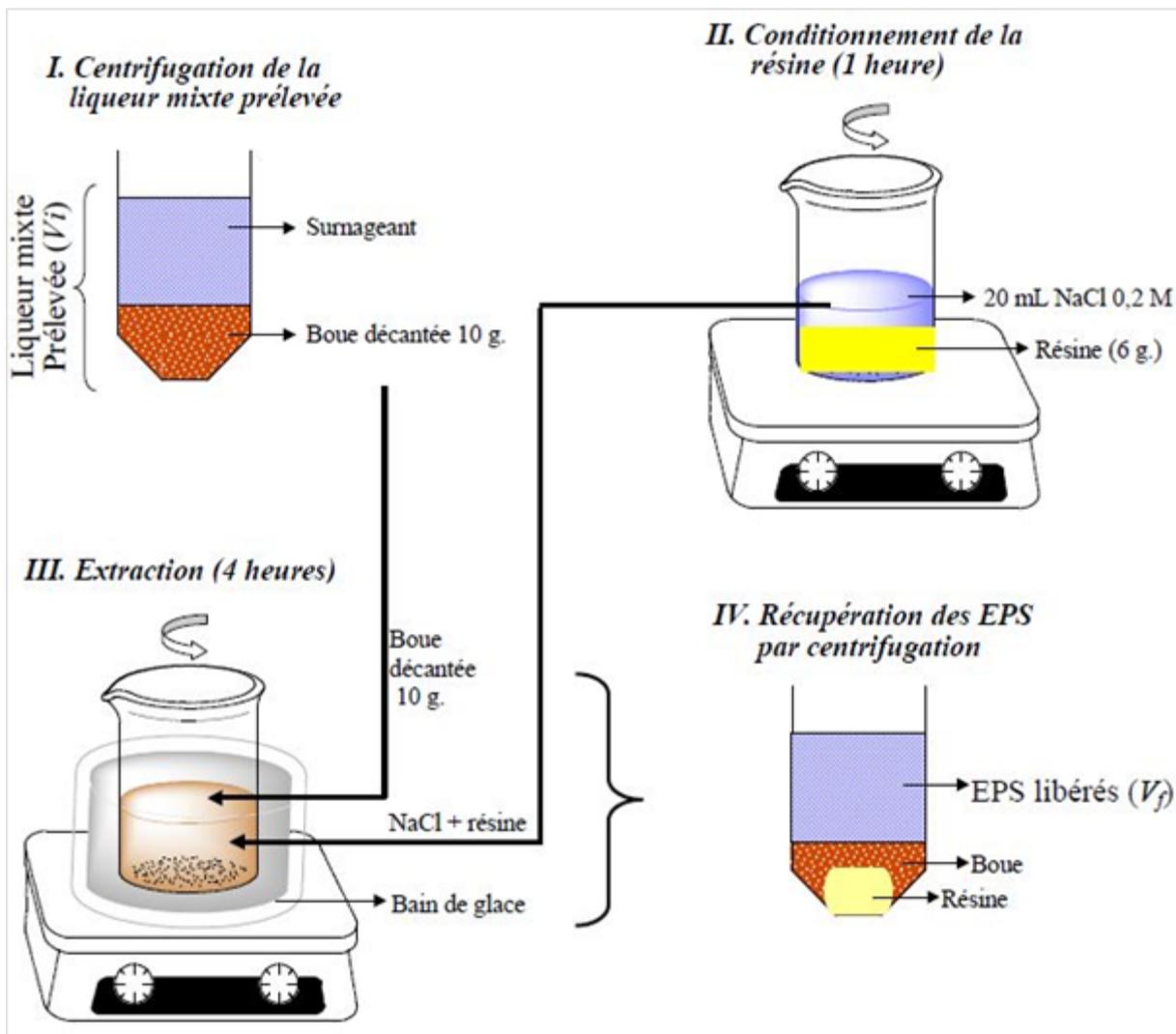


**Figure II-25** : Réacteurs batch de 4 L utilisés lors des expérimentations.

### II.5.2.2 Extraction et analyse des EPS

Les EPS solubles et liées dans les floccs ont été analysées en début ( $t = 0$ ) et en fin d'expérience ( $t = 24$  h). Pour chaque réacteur, la liqueur mixte a subi une centrifugation à 4500 g pendant 15 minutes. Les EPS solubles, contenues dans le surnageant, ont été directement analysées et les EPS liées au flocc ont été dans un premier temps extraites du culot par le protocole de résine échangeuse d'ions présenté sur la Figure II-26 (Avella et al., 2010). La résine échangeuse d'ions DOWEX (50 x 8 Na<sup>+</sup>, 20-50 mesh, Fluka, France) a été conditionnée avant d'être utilisée : 20 mL de NaCl 0,2 M ont été ajoutés à 6 g de résine et le tout a été agité pendant une heure.

Pour l'extraction des EPS, 10 g de boue centrifugée (culot) ont été ajoutés à la résine conditionnée. Ce mélange a alors été maintenu sous agitation pendant quatre heures à une température d'environ 4°C, ajustée à l'aide d'un bain de glace (ceci permet de ralentir fortement l'activité bactérienne). Il a ensuite été centrifugé 15 minutes à 4500 g. Le surnageant, contenant les EPS, a été filtré à 0.45µm (filtres cellulose acétate, Chromafil® CA-45/25, Macherey-nagel) et environ 1,5 mL de filtrat ont été transférés dans un vial. Les extraits d'EPS ainsi obtenus ont été analysés par chromatographie liquide.



**Figure II-26** : Schéma du protocole d'extraction des EPS liés dans les boues (Avella et al. 2010).

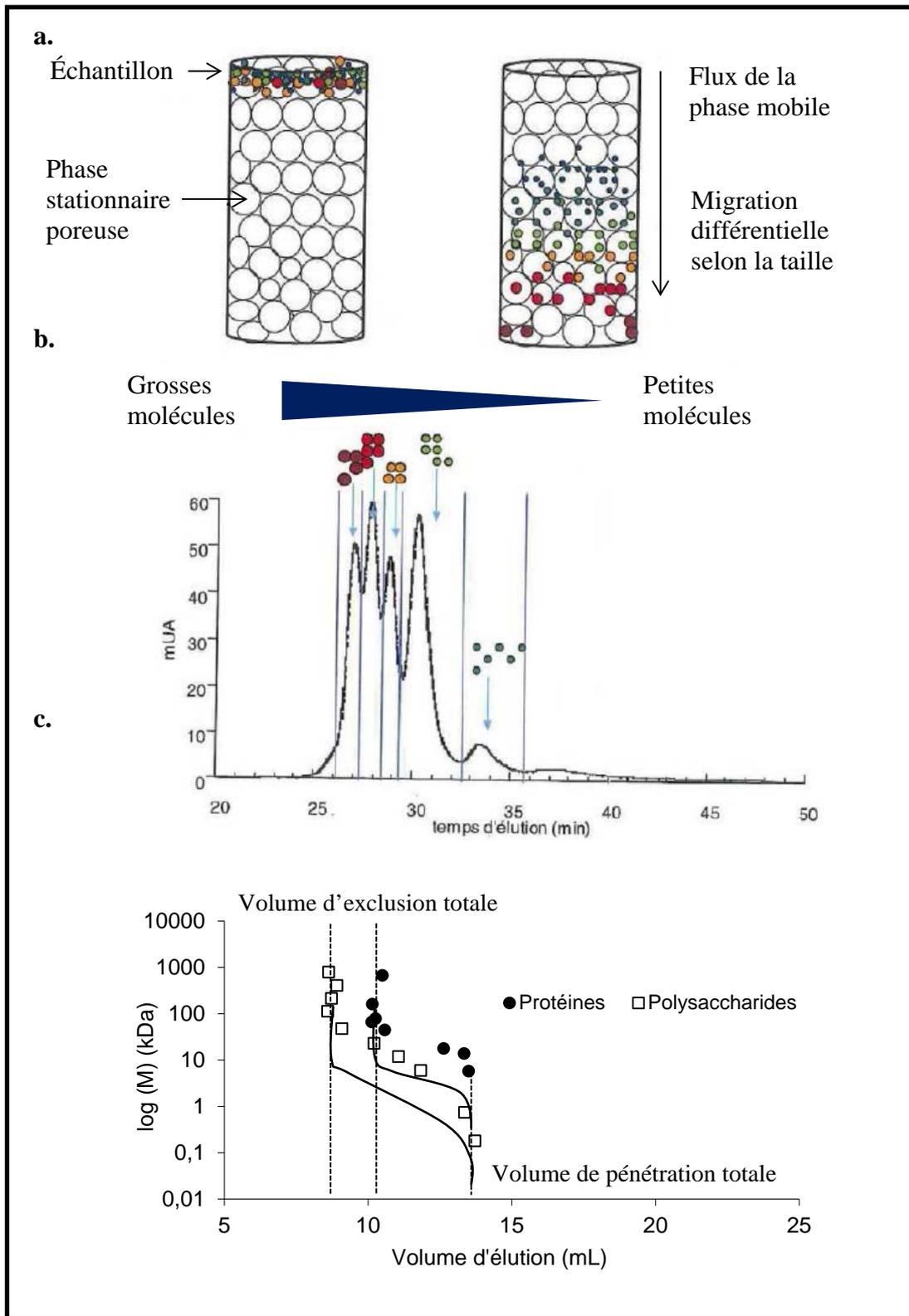
### *II.5.2.3 Analyse des EPS*

La technique de l'HPLC d'exclusion par taille permet de séparer un mélange de molécules en groupes de molécules de même taille. Une colonne de type Zorbax GF 250 (25 cm x 9,4 mm, Agilent Technologies, France) a été utilisée. C'est une colonne remplie d'une phase stationnaire dont la taille des pores est contrôlée. Les molécules ayant la plus grande masse molaire, dont le volume est supérieur à celui des pores, contournent la phase stationnaire sans la pénétrer et vont donc être éluées très rapidement. Les molécules ayant les masses molaires les plus faibles, dont le diamètre est inférieur à celui des pores de la phase stationnaire, sont retenues en fonction de la répartition des tailles des pores. Les plus petites molécules sont donc éluées en dernier. La phase mobile qui a été employée pour cette étude est NaCl 0,2 M à un débit de 1 mL/min.

Une courbe d'étalonnage (Figure II-27 c)) des temps de rétention a été réalisée à l'aide de molécules de tailles connues (étalons) : des polysaccharides et des protéines purs. Ces composés sont également les constituants majeurs des EPS. Les masses molaires des polysaccharides utilisés correspondent à 0,18 ; 0,74 ; 5,9 ; 11,8 ; 22,8 ; 47,3 ; 112 ; 212 ; 404 et 788 kDa (Polymers Labs, Phenomenex). Les protéines étalons utilisées sont les suivantes : insuline bovine 5,7kDa, ribonucléase A bovine 13,7 kDa, myoglobine 17,6 kDa, albumine de poulet 44,3 kDa,  $\beta$ -amylase 56 kDa, albumine bovine sérum 66 kDa, Apo-transferrine 78 kDa, IgG sérum humain 160 kDa, thyroglobuline 670 kDa ; (Sigma-Aldrich, France).

Un pic chromatographique correspond soit à une molécule pure, soit à un ensemble de molécules ayant la même taille hydrodynamique (qui dépend du solvant et du pH). La Figure II-27 donne une représentation schématique de cette technique.

Les analyses chromatographiques ont été effectuées sur un chromatographe Hewlett Packard série 1100 (Logiciel : HPCChemstation) équipé d'un détecteur UV-visible à barrettes de diode permettant l'acquisition simultanée de spectres entre les longueurs d'onde de 190 à 400 nm. Pour l'étude des EPS solubles et liées aux floccs, la longueur d'onde de 254 nm a été choisie.



**Figure II-27 :** Représentation schématique de la chromatographie d'exclusion par taille, a) séparation sur la colonne, b) chromatogramme obtenu, c) courbe d'étalonnage.

---

## **CHAPITRE III. RÉSULTATS DES CAMPAGNES DE PRÉLÈVEMENT ET DISCUSSIONS**

---

Ce chapitre présente l'exploitation des résultats des campagnes de prélèvement réalisées au cours cette thèse ; il est articulé en trois parties.

1. La première partie présente les mesures des concentrations en micropolluants et de la macropollution dans la station d'épuration de Pont-à-Mousson. Les concentrations mesurées en entrée et en sortie de STEP ont été soumises à une évaluation statistique par analyse en composante principale (ACP) et régression linéaire multiple (RLM). Une partie des résultats est présentée sous forme d'un article accepté à la publication.

2. La seconde partie présente les mesures des concentrations en micropolluants dans la station d'épuration de Nancy-Maxéville et les niveaux de concentration mesurés en termes de macro et micropollution dans les eaux usées urbaines Nanciennes. Les concentrations en macro et micropolluants en entrée et en sortie de STEP ont été soumises à une évaluation statistique (ACP et RLM). Une partie des résultats est présentée sous forme d'un article soumis.

3. Enfin, la troisième partie est consacrée à la comparaison des résultats obtenus dans les deux STEP étudiées.

Le Tableau III-1 résume les différentes campagnes qui ont été réalisées sur les différents sites étudiés, le temps du prélèvement (24 ou 72 h), le nombre d'échantillons analysés par heure de prélèvement et ceci en fonction des familles de molécules (composés perfluorés, PFC, et molécules de la méthode dite multi-résidus).

**Tableau III-1** : Campagnes de prélèvement réalisées et analyses effectuées sur les différents sites étudiés

	Été 2010	Été 2011	Hiver 2011	Été 2012
Durée de campagne	24h	24h	24h	72h
Nombre d'analyses	24 (1 par h)	12 (1 pour 2h)	12 (1 pour 2h)	36 (1 pour 2h)
Brabois	PFC	PFC	PFC	-
	-	Multi-résidus	Multi-résidus	-
Clairlieu	PFC	PFC	PFC	-
	-	Multi-résidus	Multi-résidus	-
STEP Nancy entrée/sortie	PFC (24 x 2)	PFC	PFC	-
	-	Multi-résidus	Multi-résidus	Multi-résidus
STEP PAM entrée/sortie	-	PFC	PFC	-
	-	Multi-résidus	Multi-résidus	Multi-résidus

- PFC : PFOA et PFOS

- Multi-résidus : Erythromycine, ofloxacine, ibuprofène, 4-NP, sucralose et triclosan.

## III.1 DEVENIR DES MICROPOLLUANTS DANS UNE STATION D'ÉPURATION BIOLOGIQUE : PONT-À-MOUSSON

### III.1.1 Campagnes de prélèvement : mesures et étude statistique

Au total, trois campagnes de prélèvement ont été réalisées à la STEP de Pont-à-Mousson : en été 2011, hiver 2011, et été 2012.

Une partie des résultats est présentée sous forme d'un article accepté dans *Chemical Papers*, en décembre 2012 (section III.1.1.1). Il rassemble les résultats obtenus pour les micropolluants ERY, ibuprofène, 4-NP, OFL, sucralose et triclosan, présentes dans les phases liquides (eau usée et eau épurée) et solides (matières en suspension et boue). La qualité des eaux usées et épurées, évaluée par la mesure des paramètres classiques de macropollution (DCO, ammonium et turbidité), est également présentée.

La section III.1.1.2 présente les résultats concernant les mesures de PFOA et PFOS qui n'ont pas été inclus dans la publication (uniquement deux campagnes de mesures ont été réalisées pour les PFC).

Enfin, dans la section III.1.1.3, l'exploitation statistique des mesures réalisées à la STEP de Pont-à-Mousson est développée. Le traitement statistique des données avait pour objectif de trouver les relations pouvant exister entre les concentrations en micro et macropolluants entrant et sortant de cette STEP.

*III.1.1.1 Résultats obtenus pour les six micropolluants : érythromycine, ibuprofène, 4-nonylphénol, ofloxacin, sucralose et triclosan.*

Article accepté dans *Chemical Papers*, en décembre 2012

(*Chemical Papers* 67 (6) 601-612 (2013))

## ORIGINAL PAPER

**Assessment of the fate of some household micropollutants  
in urban wastewater treatment plant****<sup>a</sup>Laure Pasquini\*, <sup>b</sup>Jean-François Munoz, <sup>b</sup>Nicole Rimlinger, <sup>b</sup>Xavier Dauchy,  
<sup>c</sup>Xavier France, <sup>d</sup>Marie-Noëlle Pons, <sup>a</sup>Tatiana Görner**

<sup>a</sup>Laboratory of Environment and Mineral Processing - CNRS, University of Lorraine,  
15 Avenue du Charmois, 54501 Vandœuvre-lès-Nancy cedex, France

<sup>b</sup>ANSES, Nancy Laboratory for Hydrology, Water Chemistry Department, 40 rue Lionnois, 54000 Nancy, France

<sup>c</sup>GEMCEA, 149 rue Gabriel Péri, 54500 Vandœuvre-lès-Nancy, France

<sup>d</sup>Laboratory of Reactions and Process Engineering - CNRS, University of Lorraine, 1 rue Grandville, 54001 Nancy cedex, France

Received 16 November 2012; Revised 21 December 2012; Accepted 29 December 2012

Everyday domestic activity is a significant source of water pollution. The presence of six household micropollutants in an urban wastewater treatment plant (WWTP) was assessed in wastewater and sludge. A multi-target analytical method was developed for the quantification of ibuprofen, erythromycin, ofloxacin, 4-nonylphenol, 5-chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol (triclosan), and sucralose. The micropollutants were extracted from the liquid and solid phases and their concentrations were determined by LC-MS/MS. The efficiency of micropollutants' removal within a conventional activated sludge process was assessed. From 50 % to 90 % of ibuprofen and erythromycin was removed from the wastewater liquid phase. Their removal can be attributed to biological degradation as they were not found adsorbed on the outlet sludge. Ofloxacin and triclosan were removed from the liquid phase with similar efficiencies; however, they were adsorbed on the sludge, so it was not possible to determine their removal mechanism (whether biodegradation or displacement to solid phase/sequestration). Sucralose was not removed from wastewater ( $3 \mu\text{g L}^{-1}$  in inlet and outlet liquid phase) and not adsorbed on the sludge. 4-Nonylphenol concentrations were sometimes higher in the WWTP outlet water; this may relate to the degradation of alkylphenol ethoxylates in the wastewater treatment process. 4-Nonylphenol was always present in the outlet sludge.

© 2013 Institute of Chemistry, Slovak Academy of Sciences

**Keywords:** household micropollutants, wastewater, sludge, solid phase extraction, LC-MS/MS

**Introduction**

Our society's development over the past fifty years has led to the increased use of pharmaceutical products and complex chemicals in households. Hence, our everyday life has become a source of environmental pollution transported by urban wastewater. Wastewater treatment plants (WWTPs) have been designed to eliminate macropollutants such as organic matter,

nitrogen, and phosphorus. Even if the removal mechanisms for conventional contaminants are largely understood, this is not the case for most of the micropollutants (Radjenović et al., 2009a; Suarez et al., 2010). The removal of compounds such as pharmaceuticals, personal care products or surfactants is not commonly investigated because few or no regulations exist for their release in water bodies. The EU Parliament (2008) has established an initial list of just 41

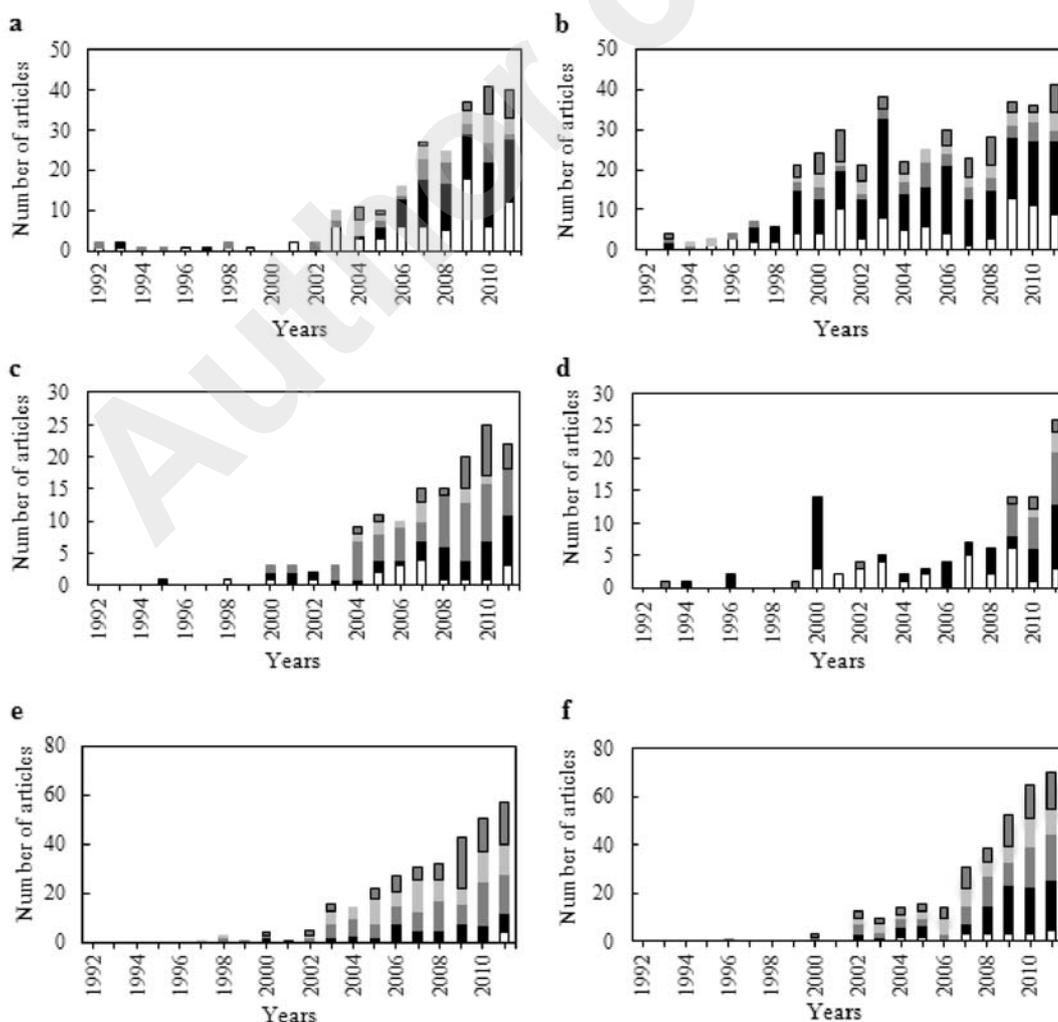
\*Corresponding author, e-mail: laure.pasquini@univ-lorraine.fr

substances or groups of substances as action priorities to ensure a “satisfactory chemical and biological status for surface waters” by 2015. Ideally, it would be necessary to assess the impact and toxicity of all the pollutants released by urban WWTPs, many of which are already considered to be a possible threat to environmental health and safety. Therefore, it becomes important to determine their concentrations in wastewater treatment systems in order to make safe conclusions about their fate and the possible threat level.

Analytical methods are often lacking, particularly when micropollutants should be measured in complex matrices such as wastewater or sludge. Multi-target analysis procedures are solutions to minimise the time required for sample preparation (including often the extraction step) and analysis. A recent review of environmental mass spectrometry (Richardson, 2010) noted the importance and capacity of this technique for the analysis of emerging contaminants.

In this work, six household micropollutants, albeit chemically different, were simultaneously extracted from wastewater and sludge and analysed by mass spectrometry. The molecules studied issued from different activities of our everyday life: pharmaceutical compounds (erythromycin, ofloxacin, and ibuprofen), personal care and home cleaning products (5-chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol (triclosan; TCS), and 4-nonylphenol (4-NP)), and a sweetener (sucralose).

Erythromycin is a bacteriostatic antibiotic macrolide widely used in the treatment of infections caused by Gram-positive bacteria because of its wide spectrum of antimicrobial activity. Ofloxacin is a fluoroquinolone antibiotic used in the treatment of infections caused by Gram-negative bacteria. Several researchers have reported that pharmaceuticals are generally not eliminated during the wastewater treatment process (Kümmerer, 2001; Ruel et al., 2011; Suarez et al., 2010) and the mechanism for their apparent elimination is mostly sorption on sewage sludge (Lillenber



**Fig. 1.** Number of publications on the six studied compounds: erythromycin (a), 4-NP (b), ofloxacin (c), sucralose (d), ibuprofen (e), and TCS (f) since 1992 and classified into five areas: □ – presence in environment, ■ – toxicity and impact on environment, ■ – presence in humans and in food, ■ – behaviour in WWTP, and ■ – degradation methods.

et al., 2009; Picó & Andreu, 2007). The chief risk to public health is the ability of antibiotics to promote bacterial resistance (Baquero et al., 2008).

Ibuprofen is an analgesic and non-steroidal anti-inflammatory drug which has pharmacological effects on the aquatic fauna and was found in natural waters and in rainbow trout exposed to sewage effluents (Brown et al., 2007; Fent et al., 2006).

TCS is a broad-spectrum antimicrobial agent used in personal-care products such as soaps, toothpastes, cosmetics, skin creams, and deodorants (Singer et al., 2002). TCS is hydrolytically stable, relatively non-volatile, and hydrophobic (Lindström et al., 2002). Recent studies have suggested that TCS has weak androgenic and anti-oestrogenic potency (Ishibashi et al., 2004; Liu et al., 2009).

4-NP arises as a metabolite from mixtures of 4-nonylphenol-ethoxylates (NPEOs) during the biological wastewater treatment process (Vega Morales et al., 2009). NPEOs are produced in large amounts and applied worldwide as non-ionic surfactant mixtures in industrial, household, and commercial-cleaning formulations (Meesters & Schröder, 2002). 4-NP is a hydrophobic compound which adsorbs to organic matter (Soares et al., 2008). It has shown endocrine-disrupting effects on aquatic biota (Balch & Metcalfe, 2006), hence it is designated as a priority hazardous substance on the European Water Framework Directive (WFD) list.

Sucralose is a sweetener synthetically produced from sucrose by the selective replacement of three hydroxyl groups with chlorine atoms. Sucralose is currently used in more than thirty countries. The possible toxicity of sucralose was reviewed by Grice and Goldsmith (2000).

Scientific interest in the environmental impact of these molecules or their behaviour in WWTP is very recent, as demonstrated by the review of the literature since 1992, obtained using the Web of Science database. Fig. 1. shows the frequency of publications on the six molecules in five areas: (i) toxicity and impact on the environment; (ii) presence in humans and in food; (iii) presence in the environment; (iv) behaviour in WWTP; (v) degradation methods.

These compounds were chosen for their current occurrence in domestic use and according to their physical and chemical properties (octanol/water partition coefficient,  $\log K_{ow}$ , solubility in water,  $pK_a$ ) (Table 1) in order to observe their fate and possible partitioning in water and sludge in the WWTP. One of the molecules (4-NP) is on the WFD priority list; other molecules present a new social and research interest to preserve the quality of the natural environment. The objective of this study was to evaluate the removal (biodegradation or adsorption on sludge/sequestration) of the target micropollutants from the wastewater in an urban WWTP, and, where possible, to posit some general conclusions.

## Experimental

### Standards and reagents

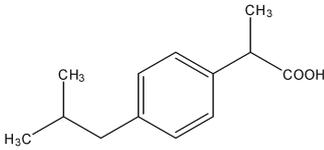
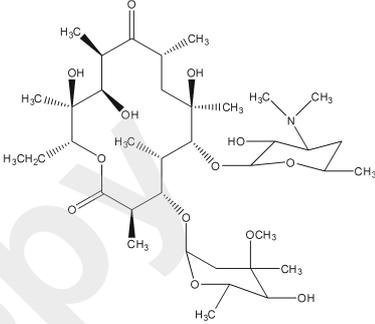
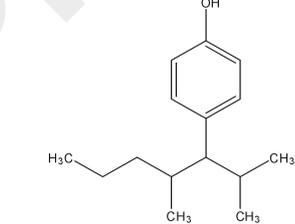
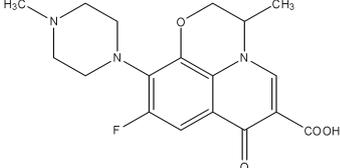
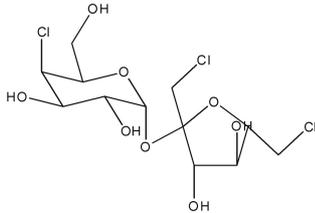
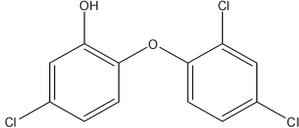
Methanol of HPLC grade was supplied by Carlo Erba (France), and acetonitrile (ACN) of ULC/MS grade by Biosolve (The Netherlands). HPLC-grade water was prepared using a Milli-Q system (Millipore, France). Analytical standards of ibuprofen, erythromycin, ofloxacin, TCS, 4-NP, and sucralose were obtained from Sigma–Aldrich (Germany). Stock solutions of individual compounds were prepared in ACN at  $1 \text{ g L}^{-1}$  and kept at  $-18^\circ\text{C}$ . They were used to prepare standard solutions for calibration and spiking experiments. A mixture of deuterated [ $^2\text{H}_3$ ]-ibuprofen (ibuprofen-d3; Sigma–Aldrich), [ $^2\text{H}_6$ ]-sucralose (sucralose-d6; Santa Cruz Biotechnology, USA), [ $^2\text{H}_3$ ]-TCS (TCS-d3; Toronto Research Chemicals, Canada), and [ $^{13}\text{C}_2$ ]-erythromycin (erythromycin-c13; Isotec, USA) was used as internal standard for quantification. Poly(divinylbenzene-*co-N*-vinylpyrrolidone) cartridges (Oasis HLB, 6 mL, 200 mg) were supplied by Waters (Milford, USA)

### Samples collection and pre-treatment

The wastewater and sludge samples were collected from the WWTP of Pont-à-Mousson (France). This WWTP uses a traditional primary treatment to remove particles and fats and a secondary treatment corresponding to an activated sludge process combining aerated and anoxic periods (on average 12 h of aeration per day). The mixed liquor is settled in a clarifier where iron salt is added to precipitate phosphorus. The WWTP has a capacity of 32000 population equivalent and treats wastewater from seven small municipalities and from manufacturing companies (plastics, halogen lights). The hydraulic retention time of the WWTP is estimated as 45 h, and the solid residence time, which is one of the principal operating parameters for biotic and abiotic removals of pollution, is estimated as 9 days on average.

Samplings were performed at the inlet and outlet of the plant and in the biological tank. The wastewater and treated water samples were collected in dry weather with an automatic sampler (ISCO 3700; Teledyne ISCO, USA) over 24 h (1 L per hour and per bottle) and the sludge samples were collected manually. Wastewater and sewage sludge samples were submitted to the extraction procedures described thereafter of this experimental section. Spiking procedures were performed on the wastewater and sludge to consider the impact of the matrices. Non-spiked water and sludge samples were also analysed to determine possible background concentrations of these compounds.

**Table 1.** Physical properties and structures of target compounds

Compound	$M_w$	$\log K_{ow}$	pKa	Solubility in water/(g L <sup>-1</sup> )	Structure
Ibuprofen <sup>a</sup>	206	3.97	4.4	0.040	
Erythromycin <sup>b</sup>	733	3.06	8.9	1.000	
4-NP <sup>c</sup>	220	4.48	10.7	0.006	
Ofloxacin <sup>d</sup>	361	-0.39	6.1	28.00	
Sucralose <sup>e</sup>	397	-0.50	–	280.0	
Triclosan <sup>f</sup>	289	4.76	8.1	0.010	

a) Stephenson et al. (2006), Stuer-Lauridsen et al. (2000), Völgyi et al. (2007); b) McFarland et al. (1997), Qiang and Adams (2004); c) Vazquez-Duhalt et al. (2005); d) Bhandari et al. (2009), Barbosa et al. (1997); e) Jenner and Smithson (1989); f) Environmental Protection Agency (2008).

### Analysis of conventional parameters of wastewaters

Several conventional parameters of wastewater were checked. Measurements of the chemical oxygen demand (COD), ammonium concentration (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), turbidity, pH, and conductivity were performed by the Laboratory of Reactions and Process Engineer-

ing (Nancy, France). The soluble COD was measured, following its chemical oxidation by a sulphochromic mixture, by spectrophotocolorimetry (Environmental Protection Agency, 1993) and ammonium concentration was determined by the Nessler colorimetric method (Hach Nessler Method 8038 on a Hach<sup>®</sup> DR/2400 spectrophotometer; Hach Company, USA).

**Table 2.** Liquid chromatography gradient conditions for separation of different classes of compounds

Compounds	Columns	Mobile phases	Gradient
Ibuprofen 4-NP Sucralose TCS	Hypersil Gold 150 mm × 2.1 mm Part. size 3 μm	A: Water B: Acetonitrile	$t = 0$ min, 90 % A $t = 5$ min, 10 % A $t = 10$ min, 10 % A $t = 10.1$ min, 90 % A $t = 14$ min, 90 % A
Erythromycin, Ofloxacin	XTerra MS C18 100 mm × 2.1 mm Part. size 3.5 μm	A: Water (0.1 % formic acid) B: Acetonitrile (0.1 % formic acid)	$t = 0$ min, 98 % A $t = 5$ min, 2 % A $t = 10$ min, 2 % A $t = 10.1$ min, 98 % A $t = 14$ min, 98 % A

### Extraction of micropollutants from liquid phases

For extraction of the target compounds from liquid samples (wastewater and treated water), solid-phase extraction (SPE) was performed using hydrophilic-lipophilic balance (HLB) cartridges, which are widely used for the extraction of the target compounds (Brorström-Lundén et al., 2008; Loos et al., 2007; Environmental Protection Agency, 2007), fitted on a vacuum manifold. Optimisation of the micropollutants' SPE protocol was first performed on spiked mineral water (Evian-les-Bains, France). The effect of sample volume (50 mL, 150 mL, 300 mL), pH (2, 7, 10), and the organic solvent (methanol, ACN) used for elution, on recovery of each of the compounds, was investigated. The optimised method was then used to study micropollutants' extraction recoveries from wastewater.

Prior to extraction, wastewater was filtered through a cellulose nitrate filter (0.45 μm pore size; Sartorius Stedim Biotech, Germany). pH was adjusted to 10 with NaOH (1 mol L<sup>-1</sup>) and internal standards were added to the samples.

The HLB cartridges were conditioned with 6 mL of methanol and 2 × 6 mL of Milli-Q water at pH 10. 50 mL of the samples was then loaded at a flow-rate of 5 mL min<sup>-1</sup>. Subsequently, the cartridges were rinsed with 6 mL of Milli-Q water (pH 10) to remove any interference and dried under vacuum for 30 min. The target compounds were eluted from the cartridge with 3 × 2 mL of MeOH. The solvent from the eluates was evaporated by a gentle stream of nitrogen at 37 °C to a volume of 100 μL and a mixture of ACN/Milli-Q water ( $\varphi_r = 1 : 9$ ) was added to a final volume of 250 μL. The extracts were then centrifuged (13000g, 20 °C, 10 min) and the supernatant was used for analysis.

### Extraction of micropollutants from solid phases

The solids (particulate matter or sludge) were

separated from the liquid phase by centrifugation (20000g, 20 °C, 40 min). For the solids digestion, 1 mL of NaOH (1 M) was added to 0.5 g of the pellet and it was then sonicated in a heated water bath for 30 min. The sample was then incubated overnight (4 °C in the dark). The next day, 1 mL of HCl (1 M) was added to the sample to neutralise the pH. 10 mL of ACN/MeOH ( $\varphi_r = 1 : 1$ ) was added as extraction solvent and the mixture was gently shaken for 60 min. The phases in the slurry were separated by centrifugation (10000g, 20 °C, 20 min) and the supernatant was collected. This solvent-extraction step was repeated once more and the extracts were combined (about 22 mL). The combined extracts were then cleaned as follows: 4 mL of the extract was diluted with 96 mL of Milli-Q water, internal standards were added, and the SPE protocol with HLB cartridges was applied as described above for the liquid phase (the extract was not filtered prior to the SPE protocol).

### Liquid chromatography – tandem mass spectrometry

A Thermo Scientific liquid chromatography Accela device (USA) connected to a Thermo Scientific mass spectrometer TSQ Quantum Ultra (USA) was used to analyse the six compounds in two different LC-MS/MS runs. The liquid chromatography conditions are presented in Table 2. For both runs, columns were maintained at 20 °C, injection volumes were 10 μL and flow-rates were set at 0.3 mL min<sup>-1</sup>.

In the first run, ibuprofen, 4-NP, sucralose, and TCS were analysed in the electrospray negative ionisation mode (ES<sup>-</sup>) and in the second run erythromycin and ofloxacin were analysed in the electrospray positive ionisation (ES<sup>+</sup>) mode. The source parameters were as follows: capillary voltage was set at 3 kV in ES<sup>-</sup> and 4 kV in ES<sup>+</sup>; source and desolvation temperatures were maintained at 350 °C in both modes. Nitrogen was used as the nebuliser gas and argon as the collision gas.

The micropollutants in the sample extracts were

**Table 3.** Mean recoveries (%) and relative standard deviations (RSD) of spiked wastewater samples; method detection limit (MDL) and method quantification limit (MQL) in wastewater and calibration concentration ranges

Compounds	Spiking level	Recovery $\pm$ RSD <sup>a</sup>	MDL	MQL	Calibration range
	( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	%		( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	
Erythromycin	0.5	91 $\pm$ 8	0.05	0.10	10–200
	0.1	100 $\pm$ 6			
Ibuprofen	0.5	100 $\pm$ 17	0.05	0.15	10–300
	0.15	78 $\pm$ 12			
4-NP	2.5	47 $\pm$ 14	0.10	0.30	20–600
	0.75	32 $\pm$ 11			
Ofloxacin	0.5	80 $\pm$ 13	0.05	0.10	10–200
	0.1	102 $\pm$ 22			
Sucralose	5.0	93 $\pm$ 7	0.50	1.50	100–3000
	1.5	90 $\pm$ 6			
TCS	1.5	97 $\pm$ 10	0.10	0.30	20–600
	0.45	92 $\pm$ 9			

a) Replicate of ten determinations. Blank subtracted.

**Table 4.** Mean recoveries (%) and relative standard deviations (RSD) of spiked sewage sludge sample; method detection limit (MDL) and method quantification limit (MQL)

Compounds	Spiking level	Recovery $\pm$ RSD <sup>a</sup>	MDL	MQL
	( $\text{ng g}^{-1}$ )	%		( $\text{ng g}^{-1}$ )
Erythromycin	55	93 $\pm$ 10	27.5	55
Ibuprofen	55	132 $\pm$ 11	27.5	55
4-NP	275	93 $\pm$ 2	55.0	165
Ofloxacin	55	112 $\pm$ 6	27.5	55
Sucralose	550	79 $\pm$ 30	275	550
TCS	165	103 $\pm$ 19	55.0	165

a) Replicate of three determinations. Blank subtracted.

detected, confirmed, and quantified by MS/MS in multiple-reaction monitoring (MRM). The parent and fragment ions used for compound identification and quantification are listed in Table S1 in the supplementary data, along with the optimum cone voltages and collision energies used. Optimisation was performed by infusion of each individual standard at  $1 \text{ mg L}^{-1}$  using a syringe pump ( $10 \mu\text{L min}^{-1}$ ) mixed with the LC effluent (50 % A, 50 % B;  $300 \mu\text{L min}^{-1}$ ).

Quantification was carried out by the internal standard method with isotope-marked molecules for erythromycin (with erythromycin-c13), ibuprofen (ibuprofen-d3), sucralose (sucralose-d6), and TCS (TCS-d3) and by the external standard method for ofloxacin and 4-NP. A seven-point calibration curve was generated for each compound. Peak integration and quantification were performed automatically using Xcalibur software (Thermo Scientific, USA). Linearity (Table 3) was validated with regression coefficients ( $R^2$ ) higher than 0.984 for each compound.

## Results and discussion

### Extraction procedures performances

The six micropollutants studied have different physical characteristics (Table 1), making it a challenge to extract them with good performances in a single SPE procedure. Recovery of the micropollutants from wastewater samples (Table 3) was determined by spiking 50 mL of wastewater at two concentration levels and extracted as described above. Spiking experiments were repeated 10 times for each concentration. Good recoveries, ranging from 75 % to 100 %, were obtained for ibuprofen, erythromycin, ofloxacin, sucralose, and TCS at both concentration levels; lower recoveries (30–60 %) were obtained for 4-NP. The problem of the low recoveries of the 4-NP was described by Jahnke et al. (2004), who used HLB cartridges with methanol and dichloromethane as elution solvent. They observed recoveries ranging from 25 % to 60 %.

In order to increase the 4-NP extraction recovery, we investigated the ACN as elution solvent (results not shown). However, this also afforded a low recovery of 4-NP. Accordingly, in further studies, the concentrations of 4-NP in water were corrected for extraction recovery (50 %).

The extraction recovery of the micropollutants from the solid phases (Table 4) was determined by spiking, in triplicate, 0.5 g of sludge at concentration

levels close to the limit of quantification of each compound. Under these conditions, all of the target compounds (including 4-NP) afforded good recoveries.

Despite careful preparation of the samples and a good chromatographic separation, interfering substances present in the complex matrix can affect the detection of the target compounds. These interferences can prevent ionisation of some of the compounds (signal suppression), or they may contribute to am-

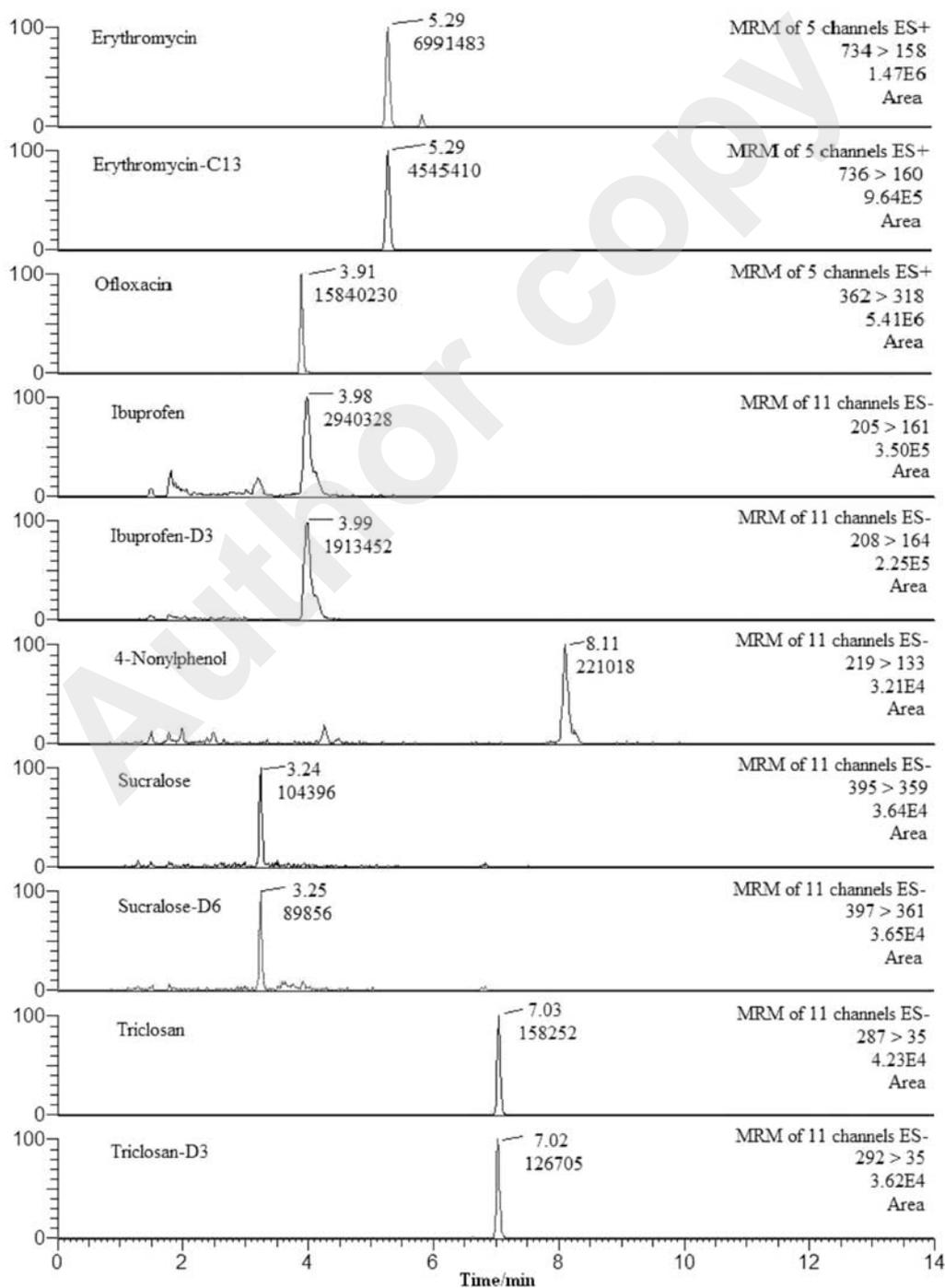


Fig. 2. Typical MRM quantitation transitions for the studied pollutants extracted from wastewater sample.

**Table 5.** Conventional parameters of wastewater and outlet-treated water monitored in WWTP  $\pm$  daily standard deviation and removals (%)

Period	WWTP concentrations		
	COD/(mg L <sup>-1</sup> )	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> /(mg L <sup>-1</sup> )	Turbidity/NTU <sup>a</sup>
<u>WWTP inlet concentrations</u>			
Summer 2011	335 $\pm$ 64	50 $\pm$ 10	297 $\pm$ 215 <sup>a</sup>
Winter 2011	234 $\pm$ 69	68 $\pm$ 14	215 $\pm$ 44
Summer 2012	250 $\pm$ 91	35 $\pm$ 5	123 $\pm$ 32
<u>WWTP outlet concentrations</u>			
Summer 2011	35 $\pm$ 15	6 $\pm$ 2	11 $\pm$ 2
Winter 2011	41 $\pm$ 10	10 $\pm$ 2	12 $\pm$ 3
Summer 2012	36 $\pm$ 8	3 $\pm$ 1	14 $\pm$ 4
<u>WWTP removals</u>			
Summer 2011	90 <sup>b</sup>	88 <sup>b</sup>	96 <sup>b</sup>
Winter 2011	82 <sup>b</sup>	85 <sup>b</sup>	94 <sup>b</sup>
Summer 2012	86 <sup>b</sup>	91 <sup>b</sup>	89 <sup>b</sup>

a) Standard deviation was important because of the high turbidity measured between 8 a.m. and 12 a.m. on this date, probably due to point source pollution; b) in %; NTU – nephelometric turbidity unit, prescribed by the Environmental Protection Agency.

plification of the signals from molecules. In order to reduce the matrix effects, a selective extraction, purification of the samples, and the internal standard quantification method were applied.

Fig. 2 shows typical LC-MS/MS chromatograms obtained from a wastewater extract in which the six compounds were detected. This technique provides reliable qualitative and quantitative results for the target compounds in wastewater and sludge extracts due to unique transitions between the parent and product ions, thus eliminating most of the chemical noise.

#### **Analysis of conventional parameters of wastewaters**

Three sampling series were performed at the WWTP: in the summer and winter of 2011 and in the summer of 2012.

Measurement of the conventional parameters (Table 5) at the inlet and outlet of the WWTP showed that between 82 % and 90 % of COD was removed over the three campaigns, with concentrations ranging from 35 mg L<sup>-1</sup> to 41 mg L<sup>-1</sup> at the outlet of the plant. Between 85 % and 91 % of ammonium was removed and more than 90 % of the suspended matter (turbidity) was eliminated during the three campaigns. These removals comply with the decree of 22 June 2007 (Le ministre d'Etat, ministre de l'écologie, 2007) which, in France, imposes removals of 75 % of the COD (or concentrations under 125 mg L<sup>-1</sup> at the outlet), and 90 % of the suspended matter. This indicates that the WWTP studied was operating with a good efficiency during the three sampling campaigns. We also checked the WWTP database for the removal

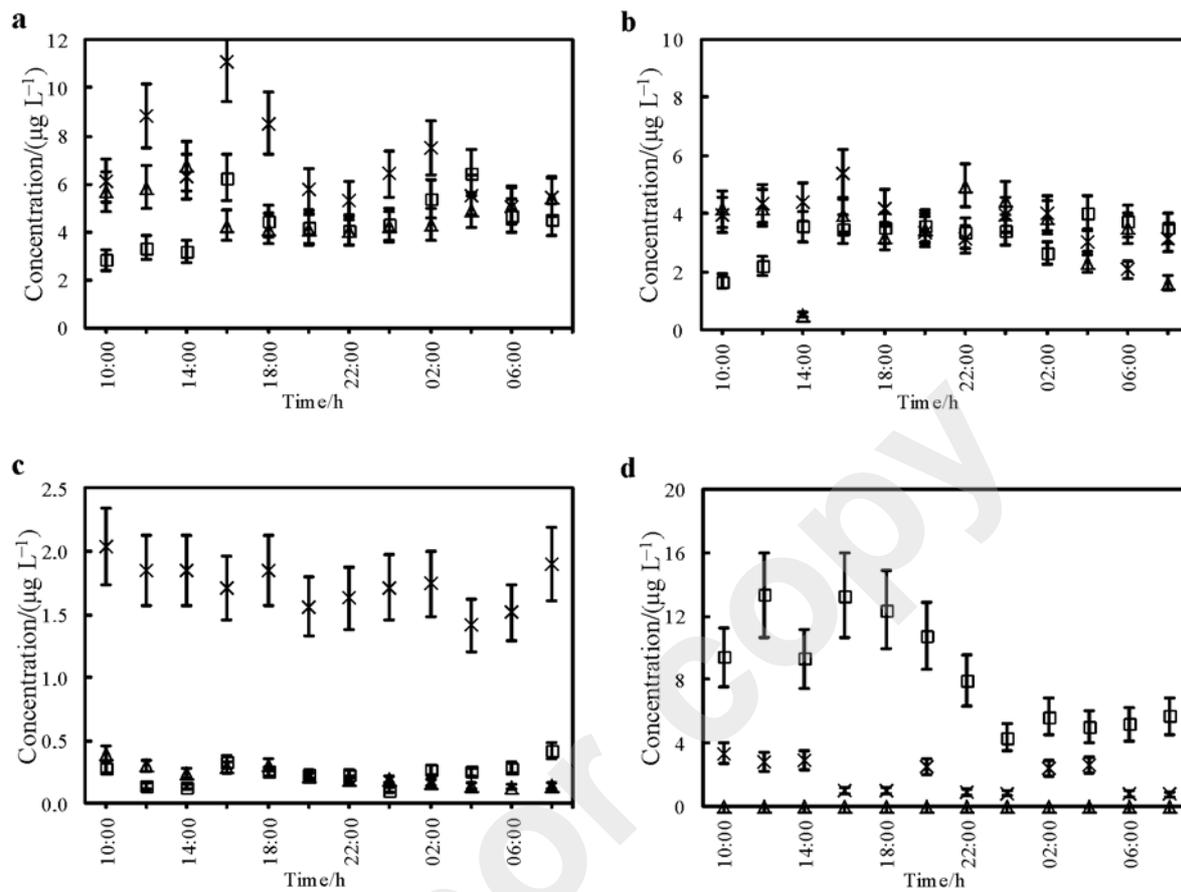
efficiencies one week before and one week after the sampling campaigns to ascertain that the WWTP was operating in normal and continuous mode.

#### **Assessment of removal of the six micropollutants in a biological wastewater treatment plant**

The analytical method developed was applied to the inlet wastewater (water and suspended matter) and treated effluents (water and sludge) of the WWTP. The inlet and outlet concentrations of the six micropollutants were determined over 24 h. Some interesting observations can be made (Fig. 3): the pharmaceutical compounds, ofloxacin and ibuprofen, were present in the inlet wastewater at higher concentrations in winter than in the summer periods, and the concentration of 4-NP (largely resulting from manufacturing activity) showed important daily variations; the concentrations in the inlet wastewater decreased significantly during the night-time in the summer 2011 campaign.

The efficiency of micropollutants' removal during the biological treatment process is presented in Table 6. When the outlet concentrations were below the method quantification limit (MQL) values, the concentrations found are given in brackets. The removal efficiency was calculated rigorously with the MQL value but also with the value measured under MQL and is also given as information in brackets; we may consider that the removal efficiency was at least equal to that calculated with MQL value.

The summer and winter campaigns gave very similar removal results and three cases were observed: (i)



**Fig. 3.** Measurement of WWTP inlet concentrations of ibuprofen (a), sucralose (b), ofloxacin (c), and 4-NP (d) over 24 h and at three different sampling dates; – summer 2011, × – winter 2011, and Δ – summer 2012.

relatively good removal; (ii) no removal; and (iii) special behaviour.

(i) Four micropollutants were removed from the wastewater during treatment with good yields of between 50–90 %: ibuprofen, erythromycin, ofloxacin, and TCS. Erythromycin and ofloxacin were always detected in the WWTP effluent, even if their concentrations were sometimes below the method quantification limit (MQL) (Table 3). The presence of micropollutants at very low concentrations in the WWTP liquid effluent does not necessarily mean that these molecules were biologically degraded in the treatment process. It has been reported that sorption on sludge is one of the mechanisms for the apparent decrease of micropollutants' concentrations in wastewater (DiFrancesco et al., 2004) and sorption has an impact on the micropollutants' concentrations in the final solid and liquid effluents (Clarke & Smith, 2011; Mackay & Fraser, 2000). In the WWTP studied, ibuprofen and erythromycin removal from the liquid phase can be attributed to biological degradation because they were not found adsorbed on the sludge. However, ofloxacin and TCS were adsorbed on the sludge (Table 6); hence their removal from the liquid phase can be due, at least in part, to displacement from the liquid to the solid phase. According

to some publications, triclosan is essentially biodegraded (Singer et al., 2002) and ofloxacin is first rapidly removed from the liquid phase by adsorption on the solid phases (Cha et al., 2006; Lindberg et al., 2006), and then degraded by the biological treatment (Li & Zhang, 2010; Radjenović et al., 2009b). Both molecules were already present in particulate matter in wastewater entering the WWTP. TCS is a hydrophobic molecule ( $\log K_{ow} = 4.76$ ) and ofloxacin is hydrophilic ( $\log K_{ow} = -0.39$ ), so their presence in the solid phases is not governed only by their hydrophobicity but more complex phenomena must be involved. It has been reported that fluoroquinolones such as ofloxacin are partially ionised and form complexes with the organic matter of the sludge (Tolls, 2001).

(ii) The sucralose concentrations in the influent and effluent water were the same ( $\approx 3 \mu\text{g L}^{-1}$ ) and this compound was not adsorbed on the solid phases. This means that sucralose was not eliminated at all in this WWTP process. It is a hydrophilic compound ( $\log K_{ow} = -0.50$ ), not biodegradable, so the phenomena observed are not surprising. Sucralose was entirely released into surface water through the treated water effluent, as observed in other studies (Brorström-Lundén et al., 2008; Scheurer et al., 2009).

**Table 6.** Daily mean concentrations of target compounds in WWTP influents (wastewater and particulate matter) and effluents (treated water and sludge) and their percentage removal from water in summer 2011, winter 2011, and in summer 2012

Compound	Influents		Effluents		Removal from water %
	Water ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Particulate matter ( $\text{ng g}^{-1}$ )	Water ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Sewage sludge ( $\text{ng g}^{-1}$ )	
<u>Summer 2011</u>					
Erythromycin	0.3	n.d.	< MQL (0.06)	n.d.	> 70 (80)
Ibuprofen	4.5	n.d.	0.1	n.d.	90
4-NP	6.8	793	1.3	676	80
Ofloxacin	0.2	191	< MQL (0.05)	173	> 50 (75)
Sucralose	3.2	n.d.	3.2	n.d.	0
Triclosan	0.6	637	< MQL (0.12)	410	> 50 (80)
<u>Winter 2011</u>					
Erythromycin	0.2	n.d.	< MQL (0.05)	n.d.	> 50 (75)
Ibuprofen	6.8	n.d.	0.2	n.d.	90
4-NP	1.8	684	3.0	332	–
Ofloxacin	1.7	208	0.7	246	75
Sucralose	3.8	n.d.	3.4	n.d.	0
Triclosan	0.8	600	< MQL (0.13)	328	> 60 (85)
<u>Summer 2012</u>					
Erythromycin	0.5	n.d.	< MQL (0.05)	n.d.	> 80 (90)
Ibuprofen	4.9	n.d.	0.1	n.d.	90
4-NP	n.d.	101	1.4	134	–
Ofloxacin	0.2	84	0.1	224	50
Sucralose	3.4	n.d.	3.5	n.d.	0
Triclosan	< MQL (0.13)	132	n.d.	75	> 90

n.d. – Not detected, MQL – method quantification limit.

(iii) The behaviour of 4-NP merits special attention. During the second and third campaigns, the concentration of 4-NP in the liquid phase was higher at the outlet of the WWTP ( $3.0 \mu\text{g L}^{-1}$  and  $1.4 \mu\text{g L}^{-1}$ , resp.) than in its inlet ( $1.8 \mu\text{g L}^{-1}$  and not detected, resp.). The MQL was  $0.3 \mu\text{g L}^{-1}$ , so it cannot be an analytical random. It has been reported (Vega Morales et al., 2009) that the degradation of nonylphenol ethoxylates (present in detergents) can take place during the biological process and produce 4-NP. This phenomenon could be responsible for the increase in 4-NP observed throughout the WWTP process studied. In the first campaign, high concentrations of 4-NP were observed in the WWTP influent (up to  $13 \mu\text{g L}^{-1}$  during the daytime hours), with a decrease of more than 80 % in the effluent ( $1.3 \mu\text{g L}^{-1}$ ) (Fig. 2). The high concentrations in wastewater could be explained by an industrial activity using alkylphenols. The 4-NP is a hydrophobic compound and we noted that it was adsorbed on wastewater particulate matter entering the WWTP and also on sludge (Table 6).

### Conclusions

The fate of six household micropollutants issu-

ing from various domestic activities was studied in an urban WWTP: erythromycin, ibuprofen, 4-NP, ofloxacin, sucralose, and TCS. To follow the dynamics of the micropollutants in the WWTP process and their removal from wastewater, an analytical method by LC-MS/MS, including multi-target extraction, was developed. The analysis of low concentrations of the target compounds in such complex matrices as wastewater and sludge presented a challenge.

Erythromycin, ibuprofen, TCS, and ofloxacin were removed from the wastewater liquid phase with quite a good efficiency (50–90 %). The erythromycin and ibuprofen removal can be attributed to the biodegradation because they were not present in the WWTP output sludge. However, ofloxacin and triclosan remained adsorbed on the sludge at about  $0.2 \text{ mg kg}^{-1}$  and  $0.4 \text{ mg kg}^{-1}$ , respectively. This means that a full assessment of the micropollutants' removal in the WWTP process requires not only checking their removal from the liquid phase but also their occurrence in the outlet sludge. It is worth stating that, in this WWTP, the erythromycin was removed with good yields (over 50 %); this is not always the case reported in the literature (Göbel et al., 2005). Biological treatment may be efficient even for recalcitrant an-

tibiotics; however, sucralose, an extensively used low-caloric sweetener, was not removed at all. Its presence in surface waters could act as an indicator of pollution conveyed by the discharge of sewage and WWTP treated waters.

Some molecules, even at very low concentrations, may have an impact on aquatic life, may disperse and persist in the environment. The presence of micropollutants in the sludge should also be assessed as it can be a source of environmental pollution via land-farming.

*Acknowledgements.* We would like to thank the SAUR group, operator of the WWTP in Pont-à-Mousson, for granting us access to the treatment plant, as well as the Zone Atelier Moselle and the Region Lorraine.

## References

- Balch, G., & Metcalfe, C. (2006). Developmental effects in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to nonylphenol ethoxylates and their degradation products. *Chemosphere*, 62, 1214–1223. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2005.02.100.
- Baquero, F., Martínez, J. L., & Cantón, R. (2008). Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Current Opinion in Biotechnology*, 19, 260–265. DOI: 10.1016/j.copbio.2008.05.006.
- Barbosa, J., Bergés, R., Toro, I., & Sanz-Nebot, V. (1997). Protonation equilibria of quinolone antibacterials in acetonitrile-water mobile phases used in LC. *Talanta*, 44, 1271–1283. DOI: 10.1016/s0039-9140(96)02188-1.
- Bhandari, A., Surampalli, R. Y., Adams, C. D., Champagne, P., Ong, S. K., Tyagi, R. D., & Zhang, T. C. (2009). *Contaminants of emerging environmental concern*. Reston, VA, USA: American Society of Civil Engineers.
- Brorström-Lundén, E., Svenson, A., Viktor, T., Woldegiorgis, A., Remberger, M., & Kaj, L. (2008). *Measurement of sucralose in the Swedish screening program 2007*. Stockholm, Sweden: Swedish Environmental Research Institute.
- Brown, J. N., Paxéus, N., Förlin, L., & Larsson, D. G. J. (2007). Variations in bioconcentration of human pharmaceuticals from sewage effluents into fish blood plasma. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 24, 267–274. DOI: 10.1016/j.etap.2007.06.005.
- Cha, J. M., Yang, S., & Carlson, K. H. (2006). Trace determination of beta-lactam antibiotics in surface water and urban wastewater using liquid chromatography combined with electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1115, 46–57. DOI: 10.1016/j.chroma.2006.02.086.
- Clarke, B. O., & Smith, S. R. (2011). Review of “emerging” organic contaminants in biosolids and assessment of international research priorities for the agricultural use of biosolids. *Environment International*, 37, 226–247. DOI: 10.1016/j.envint.2010.06.004.
- DiFrancesco, A. M., Chiu, P. C., Standley, L. J., Allen, H. E., & Salvito, D. T. (2004). Dissipation of fragrance materials in sludge-amended soils. *Environmental Science & Technology*, 38, 194–201. DOI: 10.1021/es034618v.
- Environmental Protection Agency (1993). Method 410.4. The determination of chemical oxygen demand by semi-automated colorimetry. EPA-600/4-79-020. Cincinnati, OH, USA.
- Environmental Protection Agency (2007). Method 1694. Pharmaceuticals and personal care products in water, soil, sediment, and biosolids by HPLC/MS/MS. EPA-821-R-08-002. Cincinnati, OH, USA.
- Environmental Protection Agency (2008). Reregistration eligibility decision for triclosan. EPA 739-RO-8009. Cincinnati, OH, USA.
- EU Parliament (2008). Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on environmental quality standards in the field of water policy, amending and subsequently repealing. *Official Journal of the European Union*, L 348, 84–97.
- Fent, K., Weston, A. A., & Caminada, D. (2006). Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*, 76, 122–159. DOI: 10.1016/j.aquatox.2005.09.009.
- Göbel, A., Thomsen, A., McArdell, C. S., Joss, A., & Giger, W. (2005). Occurrence and sorption behavior of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in activated sludge treatment. *Environmental Science & Technology*, 39, 3981–3989. DOI: 10.1021/es048550a.
- Grice, H. C., & Goldsmith, L. A. (2000). Sucralose—an overview of the toxicity data. *Food and Chemical Toxicology*, 38 (Supplement 2), S1–S6. DOI: 10.1016/s0278-6915(00)00023-5.
- Ishibashi, H., Matsumura, N., Hirano, M., Matsuoka, M., Shiratsuchi, H., Ishibashi, Y., Takao, Y., & Arizono, K. (2004). Effects of triclosan on the early life stages and reproduction of medaka *Oryzias latipes* and induction of hepatic vitellogenin. *Aquatic Toxicology*, 67, 167–179. DOI: 10.1016/j.aquatox.2003.12.005.
- Jahnke, A., Gandrass, J., & Ruck, W. (2004). Simultaneous determination of alkylphenol ethoxylates and their biotransformation products by liquid chromatography/electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1035, 115–122. DOI: 10.1016/j.chroma.2004.02.060.
- Jenner, M. R., & Smithson, A. (1989). Physicochemical properties of the sweetener sucralose. *Journal of Food Science*, 54, 1646–1649. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1989.tb05179.x.
- Kümmerer, K. (2001). Drugs in the environment: Emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources - A review. *Chemosphere*, 45, 957–969. DOI: 10.1016/s0045-6535(01)00144-8.
- Le ministre d'Etat, ministre de l'écologie (2007). Arrêté du 22 juin 2007 relatif à la collecte, au transport et au traitement des eaux usées des agglomérations d'assainissement ainsi qu'à la surveillance de leur fonctionnement et de leur efficacité, et aux dispositifs d'assainissement non collectifs recevant une charge brute de pollution organique supérieure à 1,2 kg/j de DBO5. NOR: DEVO0754085A. Paris, France. (in French)
- Li, B., & Zhang, T. (2010). Biodegradation and adsorption of antibiotics in the activated sludge process. *Environmental Science & Technology*, 44, 3468–3473. DOI: 10.1021/es903490h.
- Lillenberg, M., Yurchenko, S., Kipper, K., Herodes, K., Pihl, V., Sepp, K., Löhmus, R., & Nei, L. (2009). Simultaneous determination of fluoroquinolones, sulfonamides and tetracyclines in sewage sludge by pressurized liquid extraction and liquid chromatography electrospray ionization-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216, 5949–5954. DOI: 10.1016/j.chroma.2009.06.029.
- Lindberg, R. H., Olofsson, U., Rendahl, P., Johansson, M. I., Tysklind, M., & Andersson, B. A. V. (2006). Behavior of fluoroquinolones and trimethoprim during mechanical, chemical, and active sludge treatment of sewage water and digestion of sludge. *Environmental Science & Technology*, 40, 1042–1048. DOI: 10.1021/es0516211.
- Lindström, A., Buerge, I. J., Poiger, T., Bergqvist, P. A., Müller, M. D., & Buser, H. R. (2002). Occurrence and environmental behavior of the bactericide triclosan and its methyl derivative in surface waters and in wastewater. *Environmental Science & Technology*, 36, 2322–2329. DOI: 10.1021/es0114254.

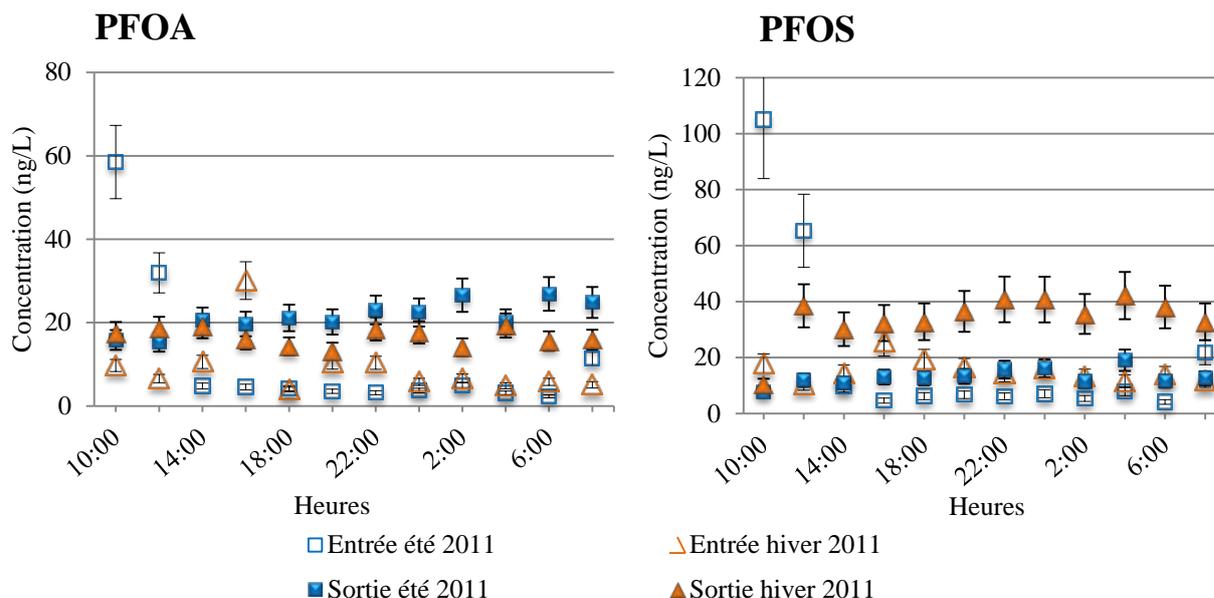
- Liu, F., Ying, G. G., Yang, L. H., & Zhou, Q. X. (2009). Terrestrial ecotoxicological effects of the antimicrobial agent triclosan. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 86–92. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2008.06.009.
- Loos, R., Hanke, G., Umlauf, G., & Eisenreich, S. J. (2007). LC-MS-MS analysis and occurrence of octyl- and nonylphenol, their ethoxylates and their carboxylates in Belgian and Italian textile industry, waste water treatment plant effluents and surface waters. *Chemosphere*, 66, 690–699. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2006.07.060.
- Mackay, D., & Fraser, A. (2000). Bioaccumulation of persistent organic chemicals: mechanisms and models. *Environmental Pollution*, 110, 375–391. DOI: 10.1016/S0269-7491(00)00162-7.
- McFarland, J. W., Berger, C. M., Froshauer, S. A., Hayashi, S. F., Hecker, S. J., Jaynes, B. H., Jefson, M. R., Kamicker, B. J., Lipinski, C. A., Lundy, K. M., Reese, C. P., & Vu, C. B. (1997). Quantitative structure-activity relationships among macrolide antibacterial agents: In vitro and in vivo potency against *Pasteurella multocida*. *Journal of Medicinal Chemistry*, 40, 1340–1346. DOI: 10.1021/jm960436i.
- Meesters, R. J. W., & Schröder, H. F. (2002). Simultaneous determination of 4-nonylphenol and bisphenol A in sewage sludge. *Analytical Chemistry*, 74, 3566–3574. DOI: 10.1021/ac011258q.
- Picó, Y., & Andreu, V. (2007). Fluoroquinolones in soil—risks and challenges. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387, 1287–1299. DOI: 10.1007/s00216-006-0843-1.
- Qiang, Z., & Adams, C. (2004). Potentiometric determination of acid dissociation constants (pKa) for human and veterinary antibiotics. *Water Research*, 38, 2874–2890. DOI: 10.1016/j.watres.2004.03.017.
- Radjenović, J., Petrović, M., & Barceló, D. (2009a). Fate and distribution of pharmaceuticals in wastewater and sewage sludge of the conventional activated sludge (CAS) and advanced membrane bioreactor (MBR) treatment. *Water Research*, 43, 831–841. DOI: 10.1016/j.watres.2008.11.043.
- Radjenović, J., Jelić, A., Petrović, M., & Barceló, D. (2009b). Determination of pharmaceuticals in sewage sludge by pressurized liquid extraction (PLE) coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 393, 1685–1695. DOI: 10.1007/s00216-009-2604-4.
- Richardson, S. D. (2010). Environmental mass spectrometry: Emerging contaminants and current issues. *Analytical Chemistry*, 82, 4742–4774. DOI: 10.1021/ac101102d.
- Ruel, S. M., Choubert, J. M., Esperanza, M., Miège, C., Madrigal, P. N., Budzinski, H., Le Ménach, K., Lazarova, M., & Coquery, M. (2011). On-site evaluation of the removal of 100 micro-pollutants through advanced wastewater treatment processes for reuse applications. *Water Science and Technology*, 63, 2486–2497. DOI: 10.2166/wst.2011.470.
- Scheurer, M., Brauch, H. J., & Lange, F. T. (2009). Analysis and occurrence of seven artificial sweeteners in German waste water and surface water and in soil aquifer treatment (SAT). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 394, 1585–1594. DOI: 10.1007/s00216-009-2881-y.
- Singer, H., Müller, S., Tixier, C., & Pillonel, L. (2002). Triclosan: Occurrence and fate of a widely used biocide in the aquatic environment: Field measurements in wastewater treatment plants, surface waters, and lake sediments. *Environmental Science & Technology*, 36, 4998–5004. DOI: 10.1021/es025750i.
- Soares, A., Guieysse, B., Jefferson, B., Cartmell, E., & Lester, J. N. (2008). Nonylphenol in the environment: A critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters. *Environment International*, 34, 1033–1049. DOI: 10.1016/j.envint.2008.01.004.
- Stephenson, B. C., Rangel-Yagui, C. O., Pessoa, A., Jr., Tavares, L. C., Beers, K., & Blankschtein, D. (2006). Experimental and theoretical investigation of the micellar-assisted solubilization of ibuprofen in aqueous media. *Langmuir*, 22, 1514–1525. DOI: 10.1021/la052530k.
- Stuer-Lauridsen, F., Birkved, M., Hansen, L. P., Holten Lützhøft, H. C., & Halling-Sørensen, B. (2000). Environmental risk assessment of human pharmaceuticals in Denmark after normal therapeutic use. *Chemosphere*, 40, 783–793. DOI: 10.1016/S0045-6535(99)00453-1.
- Suarez, S., Lema, J. M., & Omil, F. (2010). Removal of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) under nitrifying and denitrifying conditions. *Water Research*, 44, 3214–3224. DOI: 10.1016/j.watres.2010.02.040.
- Tolls, J. (2001). Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: A review. *Environmental Science & Technology*, 35, 3397–3406. DOI: 10.1021/es0003021.
- Vazquez-Duhalt, R., Marquez-Rocha, F., Ponce, E., Licea, A. F., & Viana, M. T. (2005). Nonylphenol, an integrated vision of a pollutant. *Applied Ecology and Environmental Research*, 4, 1–25.
- Vega Morales, T., Torres Padrón, M. E., Sosa Ferrera, Z., & Santana Rodríguez, J. J. (2009). Determination of alkylphenol ethoxylates and their degradation products in liquid and solid samples. *Tr-Ac Trends in Analytical Chemistry*, 28, 1186–1200. DOI: 10.1016/j.trac.2009.07.011.
- Völgyi, G., Ruiz, R., Box, K., Comer, J., Bosch, E., & Takács-Novák, K. (2007). Potentiometric and spectrophotometric pKa determination of water-insoluble compounds: Validation study in a new cosolvent system. *Analytica Chimica Acta*, 583, 418–428. DOI: 10.1016/j.aca.2006.10.015.

### *III.1.1.2 Résultats obtenus pour PFOA et PFOS*

Les concentrations de PFOA et PFOS dans la phase liquide, en entrée et sortie de STEP, mesurées lors des deux campagnes de prélèvement à Pont-à-Mousson (été et hiver 2011) sont présentées sur la Figure III-1.

En entrée de STEP, lors de la campagne d'été 2011 nous avons mesuré de fortes concentrations en PFOA (jusqu'à 60 ng/L) et PFOS (plus de 100 ng/L) de 10 h à 14 h. Ces fortes teneurs sont probablement liées à un rejet industriel ponctuel (usine de fabrication de matières plastique, ou usine de production de lampes halogènes infrarouges). Lors de la seconde campagne de prélèvement en hiver 2011, nous n'avons pas observé ce pic de pollution.

En sortie de STEP, la concentration en PFOA et PFOS dans la phase liquide était supérieure à celle mesurée en entrée (Tableau III-2). En effet, la concentration en PFOA a varié aux alentours de 5 à 10 ng/L en entrée et 15 à 25 ng/L en sortie de STEP lors des deux campagnes de prélèvement. La concentration en PFOS a varié aux alentours de 5 à 20 ng/L en entrée et 10 à 40 ng/L en sortie de STEP. Ce phénomène, déjà observé dans d'autres études, peut être lié à la dégradation de précurseurs au cours du processus d'épuration : les fluoro-télomères qui se dégradent en PFOA et PFOS et les sulfonamides d'alkyl-perfluorés qui se dégradent en PFOS (Dinglasan et al. 2004, Rhoads et al. 2008). Une méthode d'analyse de précurseurs de PFOA et PFOS (qui était en cours de développement au LHN lors de notre dernière campagne de prélèvement) a permis de confirmer la présence de deux précurseurs de nos composés perfluorés cible dans les eaux usées d'entrée de STEP : le N-ethylperfluoro-1-octanesulfonamideacetic acid (Et-NFOSAA) et le perfluoro-1-octanesulfonamidoacetic acid (FOSAA).



**Figure III-1 :** Concentrations en PFOA et PFOS dans la phase liquide, en entrée et sortie de STEP, mesurées lors des campagnes d'été et hiver 2011 à Pont-à-Mousson.

PFOA et PFOS étaient également présents dans les matières en suspension de l'eau usée entrant à la STEP mais n'étaient pas quantifiables (concentrations inférieures à la limite de quantification) (Tableau III-2). Ceci signifie que l'apport des PFC en STEP se fait essentiellement par les molécules dissoutes dans l'eau. Leurs concentrations étaient plus importantes et quantifiables dans les boues biologiques du bassin d'aération. Les PFC semblent s'adsorber sur les boues au cours du procédé d'épuration biologique des eaux usées. De plus, nous avons pu observer que PFOS s'adsorbe en plus grande quantité que PFOA. Ce comportement est décrit par Higgins et Luthy (2006), qui ont montré que la teneur en carbone organique de matières solides (sols, sédiment, MES), la longueur de la chaîne carbonée des PFC et la nature de leur groupement (sulfonate ou carboxylate) influencent les capacités de sorption et de désorption des PFC. Un sulfonate (PFOS) s'adsorberait mieux que son analogue carboxylate (PFOA).

Enfin, les boues déshydratées (prélevées en fin de processus de déshydratation, après chaulage) ont présenté des concentrations en PFC proches de celles mesurées dans les boues biologiques (centrifugées).

**Tableau III-2 :** Concentrations moyennes journalières de PFOA et PFOS en entrée (eau usée et matières en suspension) et sortie (eau épurée et boue biologique) de STEP lors des campagnes d'été et hiver 2011 à Pont-à-Mousson.

	Entrée de STEP		Boue biologique (ng/g)	Sortie de STEP	
	Eau usée (µg/L)	MES (ng/g)		Eau épurée (µg/L)	Boue déshydratée (ng/g)
<u>Été 2011</u>					
PFOA	11,4 ± 17,0*	< LQ (1,4)	< LQ (1,3)	21,4 ± 3,7	< LQ (1,7)
PFOS	20,8 ± 31,5*	< LQ (0,8)	12,5	13,0 ± 2,9	13,8
<u>Hiver 2011</u>					
PFOA	9,2 ± 7,0	< LQ (1,4)	2,2	16,7 ± 2,1	< LQ (1,4)
PFOS	15,4 ± 4,1	< LQ (0,7)	21,1	34,2 ± 8,4	27,9

\* Ce grand écart-type indique une pollution ponctuelle, observée dans la matinée (Figure III-1).

### III.1.1.3 Étude statistique

Les méthodes statistiques peuvent être un outil pour la recherche de relations empiriques dans des systèmes complexes composés d'un grand nombre de variables afin de décrire certains comportements, phénomènes ou propriétés. Grâce aux méthodes statistiques, il est possible de donner une explication physique à un système et de mieux comprendre par exemple le fonctionnement d'une station d'épuration (Avella et al. 2011). Un changement de coefficient de corrélation entre deux variables, ou la non-adéquation de nouvelles mesures aux modèles établis antérieurement peut être également un moyen tout à fait pertinent pour détecter des modifications de fonctionnement d'une station d'épuration (Kiss et al. 2011).

Le logiciel XL STAT a été utilisé pour les travaux d'exploitation statistique suivants.

#### III.1.1.3.1 Analyse en Composante Principale (ACP)

##### a. Relations entre la micro et la macropollution entrant à la STEP

Les concentrations des macro et micropolluants mesurées en entrée de STEP, au cours des trois campagnes de prélèvement à la STEP de Pont-à-Mousson, ont été soumises à une analyse statistique par ACP (Lebart et al. 1979). Cette méthode statistique est un outil d'observation qui permet de décrire les faits et d'identifier les relations entre les variables mesurées. C'est une méthode qui permet l'analyse des relations entre les paramètres en les représentant sur un cercle de corrélation. Seules les variables éloignées du centre du cercle sont statistiquement bien expliquées dans le système et ont été considérées dans notre travail. Les variables proches les unes des autres sont en corrélation normale, celles opposées de 180° sont en corrélation inverse, et celles placées à 90° sont indépendantes. Les corrélations ont été calculées selon le coefficient de Pearson. Il faut donc rappeler que les corrélations utilisées ici ont cherché à mettre en évidence des relations linéaires entre les variables. Par conséquent, l'absence de corrélations ne signifie pas qu'il y a une absence de liaisons entre les variables (autre que linéaires).

Dans un premier temps, nous avons examiné les relations existantes entre les concentrations en micro et macropolluants dans les eaux usées entrant dans la STEP. L'ACP des concentrations en micro et macropolluants mesurées dans l'eau usée d'entrée de STEP est présentée sur la Figure III-2. Les trois premiers axes de composante principale ont été examinés. Ils permettent d'expliquer 78,8 % de la variabilité des données. Seuls les deux premiers axes (PC1 & PC2), qui permettent d'expliquer la plus grande variabilité des données

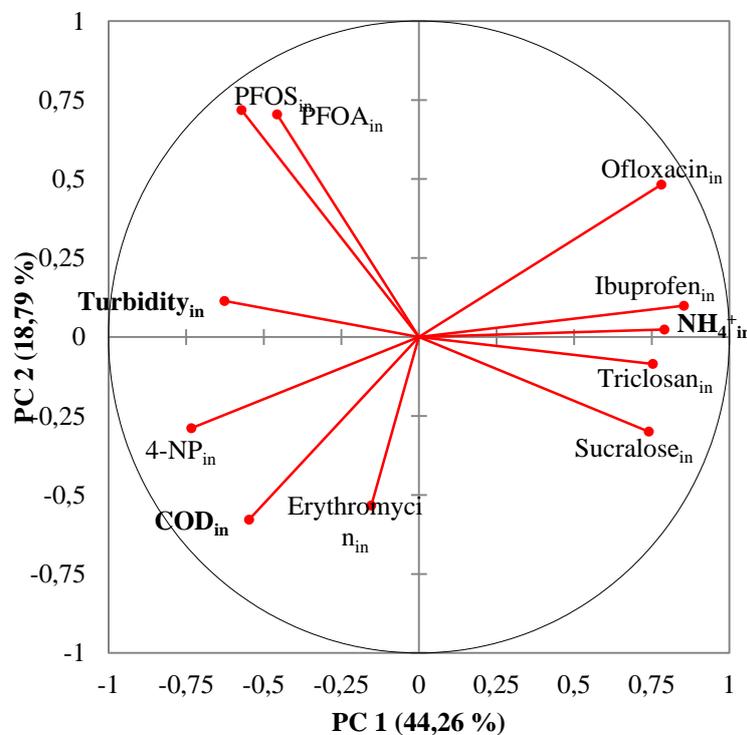
(63,1 %), sont présentés ici. Les corrélations positives suivantes, entre la micro et macropollution entrant à la STEP (notées avec l'indice « in »), ont été identifiées:

- La concentration en 4-NP en entrée est corrélée à la turbidité et à la DCO en entrée.
- Les concentrations en ibuprofène, ofloxacine, sucralose et triclosan sont corrélées avec la concentration en ammonium en entrée de STEP.
- Les concentrations en PFOA et PFOS en entrée de STEP sont corrélées entre elles.

La concentration en érythromycine en entrée de STEP n'est que faiblement expliquée, car proche du centre du cercle. Les axes de composante principale de niveaux supérieurs (troisième et quatrième axes) n'ont pas permis d'améliorer l'explication de cette variable.

On peut également noter l'absence de corrélation significative entre les paramètres de macropollution (DCO,  $\text{NH}_4^+$  et turbidité). Ceci permet d'affirmer que les trois paramètres sont importants pour la modélisation des corrélations (si deux paramètres avaient été corrélés, il aurait été possible d'en supprimer un).

Après avoir établi les corrélations entre les paramètres, les diagrammes binaires présentés en Annexe 11 ont permis de confirmer ces liens entre la micro et la macropollution en entrée de STEP (sauf pour le 4-NP), et entre PFOA et PFOS.



**Figure III-2 :** ACP (PC1 & PC2) : cercle de corrélation des paramètres mesurés (concentrations en micro et macropolluants) dans l'eau usée à l'entrée de STEP.

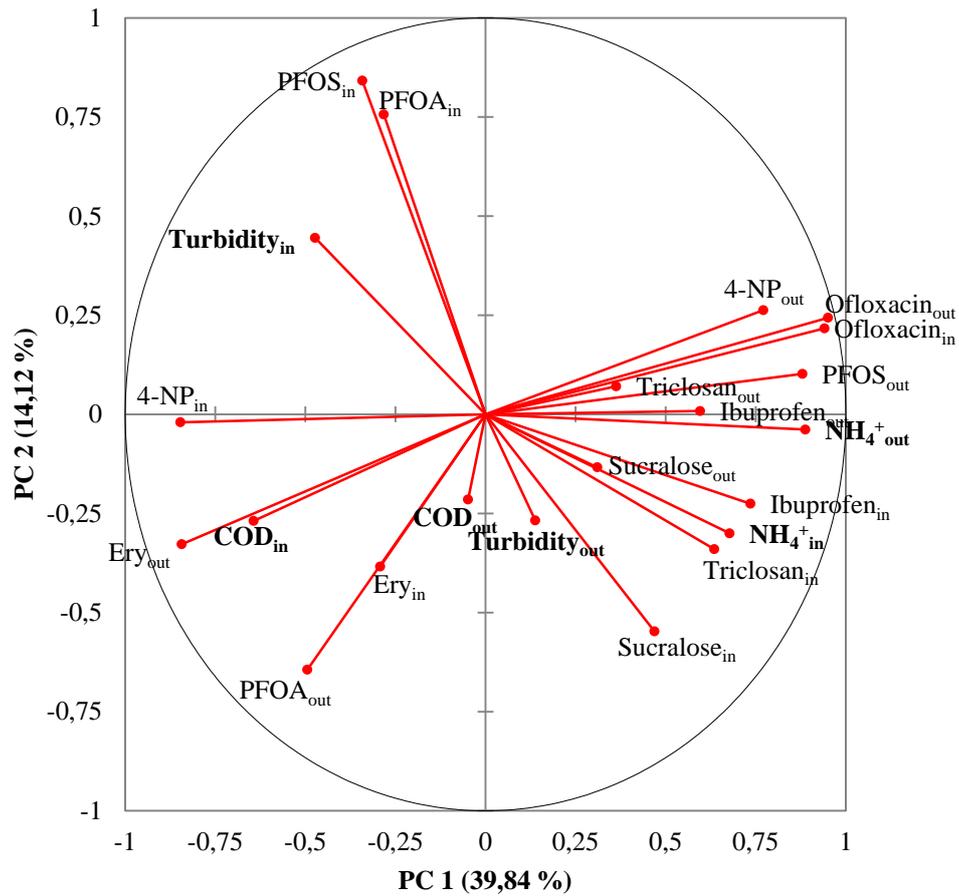
b. Relations entre la micro et la macropollution entrant et sortant de la STEP

Dans un second temps, nous avons souhaité voir s'il existait des liens entre la micro et macropollution dans les eaux usées entrant dans la STEP, et la micro et macropollution dans l'eau épurée.

L'analyse ACP de tous les paramètres, c'est à dire des concentrations en micro et macropolluants dans l'eau usée d'entrée de STEP (notées avec l'indice « in ») et dans l'eau épurée en sortie de STEP (notées avec l'indice « out »), a été réalisée. Il faudrait considérer les cinq premiers axes pour expliquer 78,0 % de la variabilité des données. Les deux premiers axes de composante principale (PC1 et PC2), présentés sur la Figure III-3, expliquent 54,0 % de la variabilité des données. Nous pouvons observer que :

La DCO mesurée en sortie est indépendante de sa concentration en entrée (90°). Ceci reflète la capacité d'épuration de la STEP : la macropollution entrante (DCO) a été bien éliminée, à plus de 82 % (cf tableau 5 de la publication III.1.1.1) peu importe quelle était la concentration mesurée en entrée.

- La concentration en ofloxacin en sortie de STEP est corrélée avec la concentration en ofloxacin en entrée de STEP. Ceci traduit l'élimination partielle et quasi constante de l'ofloxacin (éliminée à plus de 50 % peu importe la concentration en entrée, cf tableau 6 de la publication III.1.1.1).
- PFOA et PFOS (qui ont été identifiés entrant ensemble à la STEP) présentent des concentrations en sortie de STEP indépendantes de leurs concentrations en entrée (90°). La concentration en 4-NP en sortie de STEP est également indépendante de sa concentration en entrée de STEP.
- Les concentrations en ibuprofène, triclosan et sucralose en sortie de STEP et la concentration en érythromycine en entrée de STEP sont des variables peu expliquées (car près du centre).



**Figure III-3 :** ACP (PC1 et PC2) : cercle de corrélation des paramètres mesurés (concentration en micro et macropolluants) dans les eaux usées d'entrée (« in ») et les eaux traitées de sortie (« out ») de station d'épuration.

### III.1.1.3.1 Régression linéaire multiple

Une fois les corrélations entre micro et macropollution établies, des régressions linéaires multiples (RLM) ont été utilisées pour les décrire. La RLM permet d'expliquer d'un point de vue quantitatif, une variable (la concentration d'un micropolluant) en fonction d'autres variables (macropollution). Le modèle qui en résulte pourrait alors permettre de prédire la valeur de cette variable en l'absence de moyens de mesures correspondants.

- a) Dans un premier temps, nous avons tenté de décrire la pollution entrant à la STEP de Pont-à-Mousson, recherchant les relations existantes entre la micro et la macropollution mesurées.
- b) Nous avons ensuite regardé s'il existait des liens entre la micropollution en sortie de STEP et la micropollution entrante et la macropollution sortante.
- c) Enfin, nous avons examiné s'il était possible de décrire la micropollution en sortie de STEP en fonction de la macropollution en entrée et en sortie (mesurée facilement et très régulièrement à la STEP).

#### a. Relation entre les concentrations en micro et macropolluants en entrée de STEP

La RLM a été utilisée pour décrire la concentration d'entrée d'un micropolluant par des expressions numériques composées des trois variables de macropollution mesurées en entrée de STEP : la DCO, la concentration en ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) et la turbidité.

$$C \text{ micro}_{in}^{calc} = f(C \text{ macro}_{in}^M) \quad \text{Équation 5}$$

$C \text{ micro}_{in}^{calc}$  est la concentration du micropolluant calculée à l'entrée de la STEP (en  $\mu\text{g/L}$  et  $\text{ng/L}$  pour les PFC), et  $C \text{ macro}_{in}^M$  correspond à la macropollution mesurée à l'entrée de la station d'épuration, exprimée en termes de DCO ( $\text{mg/L}$ ),  $\text{NH}_4^+$  ( $\text{mg/L}$ ) et de turbidité (NTU).

Afin de mettre en évidence les liaisons pouvant exister entre les variables, les corrélations entre la variable à expliquer (micropolluant) et les variables explicatives (macropollution) ont été calculées, ces dernières ayant subi des transformations de type : variables au carré, logarithme des variables, ou inverse des variables. Les structures de modèles homogènes suivantes ont été considérées ( $a_1$ ,  $a_2$ ,  $a_3$ , et  $a_4$  étant des constantes) :

$$C \text{ micro}_{in}^{calc} = a_1 \text{ DCO} + a_2 \text{ NH}_4^+ + a_3 \text{ turbidité} + a_4 \quad \text{Équation 6}$$

$$C \text{ micro}_{in}^{calc} = a_1 \text{ DCO}^2 + a_2 \text{ NH}_4^{+2} + a_3 \text{ turbidité}^2 + a_4 \quad \text{Équation 7}$$

$$C \text{ micro}_{in}^{calc} = a_1 \log(\text{DCO}) + a_2 \log(\text{NH}_4^+) + a_3 \log(\text{turbidité}) + a_4 \quad \text{Équation 8}$$

$$C \text{ micro}_{in}^{calc} = a_1/\text{DCO} + a_2/\text{NH}_4^+ + a_3/\text{turbidité} + a_4 \quad \text{Équation 9}$$

Le Tableau III-3 présente les corrélations entre les variables ayant subi ou non des transformations. Dans de nombreux cas, nous pouvons noter que l'utilisation de transformation (carré, logarithme, inverse) n'apporte pas d'augmentation significative des degrés de corrélation. Cependant, quelques améliorations sont constatées comme par exemple la corrélation entre ERY et turbidité qui passe de -0,15 à 0,46 en utilisant l'inverse de la turbidité.

**Tableau III-3 :** Corrélations entre variables explicatives (macropollution) et variables à expliquer (micropollution) ayant subi différentes transformations.

	DCO	NH4	TUR	DCO <sup>2</sup>	NH4 <sup>2</sup>	TUR <sup>2</sup>	L(DCO)	L(NH4)	L(TUR)	1/DCO	1/NH4	1/TUR
IBU	-0,25	0,68	-0,15	-0,29	0,70	-0,22	-0,20	0,63	-0,02	0,15	-0,56	-0,08
ERY	-0,15	-0,36	-0,15	-0,11	-0,29	-0,08	-0,19	-0,43	-0,31	0,22	0,50	0,46
OFL	-0,42	0,71	0,00	-0,43	0,71	-0,11	-0,39	0,70	0,18	0,36	-0,65	-0,30
TCS	0,00	0,74	0,19	-0,05	0,70	0,02	0,05	0,76	0,42	-0,09	-0,75	-0,54
SUC	-0,05	0,38	-0,16	-0,10	0,39	-0,22	-0,01	0,37	-0,01	-0,03	-0,36	-0,15
4-NP	0,37	0,01	0,54	0,36	-0,02	0,48	0,35	0,06	0,55	-0,32	-0,11	-0,49
PFOA	0,02	-0,19	0,55	0,01	-0,15	0,54	0,03	-0,22	0,44	-0,04	0,24	-0,25
PFOS	0,05	-0,29	0,63	0,06	-0,25	0,64	0,04	-0,31	0,48	-0,04	0,31	-0,26

(avec IBU : ibuprofène, TCS : triclosan, SUC : sucralose)

L'utilisation de modèles de structure « composites » (les différentes variables subissant des transformations différentes) pourraient être envisagée pour améliorer les corrélations entre les variables. Cependant, seules les régressions homogènes simples ont été examinées dans ce travail.

La précision des expressions numériques pour décrire les paramètres (intensité des relations) a été estimée par le coefficient de corrélation  $r$ , reliant une concentration en micropolluant mesurée à sa valeur calculée par le modèle de régression. Les structures et coefficients de régression des expressions linéaires sont présentées ici (Tableau III-4). Les valeurs considérées comme suspectes dans l'établissement du modèle n'ont pas été prises en compte dans la création du modèle, de façon à obtenir un modèle insensible à ces valeurs. La détermination de ces valeurs suspectes a été réalisée par la mesure de la différence entre la concentration en micropolluant mesurée et sa valeur donnée par le modèle (calcul d'erreur). Une valeur a été considérée comme suspecte si cette différence était supérieure à deux fois l'écart-type des erreurs sur les mesures de concentration d'un même micropolluant.

Une bonne adéquation (fort coefficient de corrélation) entre les valeurs mesurées et calculées a été obtenue pour ibuprofène, OFL, triclosan et PFOS. Ceci est aussi observé sur la Figure III-4 qui présente les concentrations en micropolluants mesurées et calculées ; les valeurs calculées suivent, avec 95% de probabilité (lignes grisées sur les graphiques), la même tendance que les valeurs mesurées.

Le coefficient de corrélation du modèle de l'érythromycine est faible à cause de deux points qui sont écartés. Ce coefficient n'est pas diminué lorsqu'on supprime ces deux points extrêmes.

L'estimation de la concentration en 4-NP à l'entrée en fonction de la macropollution semble être difficile. Ceci s'explique par le fait que les apports de 4-NP semblent être liés à une activité industrielle et à son usage et/ou déversement ponctuel dans les eaux usées (cf. figure 3 de la publication III.1.1.1 acceptée dans Chemical papers).

Le sucralose présente une très faible variabilité de concentration ( $\approx 3 \mu\text{g/L}$ ) et est donc faiblement expliqué par les paramètres de macropollution mesurés. La concentration en ammonium est le paramètre qui influence tout de même le plus la concentration en sucralose.

On peut également observer cela pour PFOA, dont les concentrations présentent aussi une faible variabilité, et sont donc peu explicables par la macropollution.

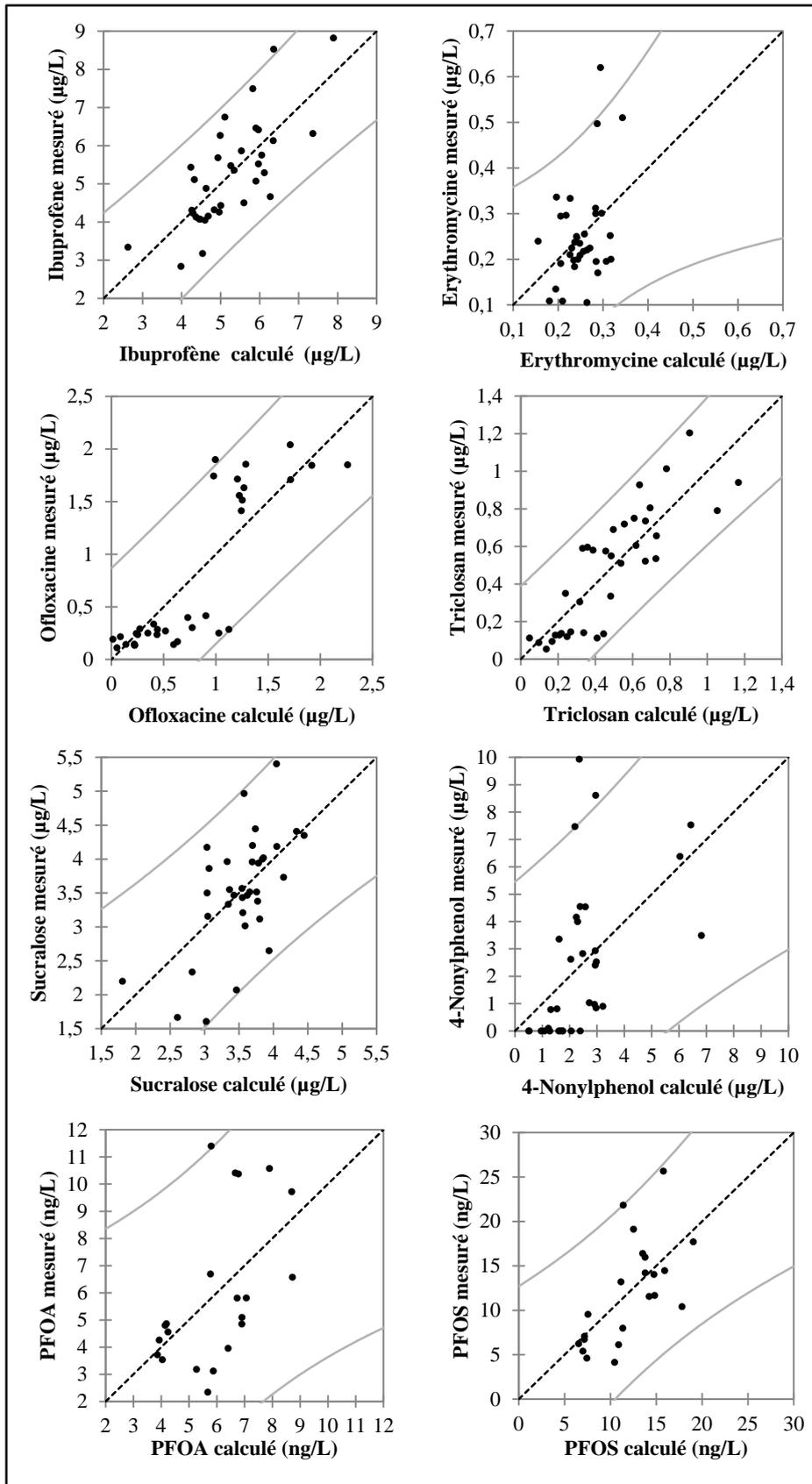
**Tableau III-4 :** Structures des régressions linéaires décrivant la concentration des micropolluants en entrée de STEP en fonction de la macropollution mesurée en entrée, et les coefficients de corrélation (r) du modèle.

	Constante	$DCO_{in}$	$NH_4^+_{in}$	Turbidité <sub>in</sub>	r
$C_{IBU_{in}^{calc}}$	3,27724	-0,00267	0,06130	-0,00218	0,744
$C_{ERY_{in}^{calc}}$	0,12944	0,00054	-0,00050	-0,00003	0,387
$C_{OFL_{in}^{calc}}$	0,15622	-0,00443	0,03140	0,00083	0,839
$C_{TCS_{in}^{calc}}$	-0,31154	-0,00045	0,01569	0,00042	0,839
$C_{SUC_{in}^{calc}}$	1,77330	0,00341	0,02693	-0,00282	0,600
$C_{4-NP_{in}^{calc}}$	-0,38904	0,00122	-0,02114	0,01857	0,516
$C_{PFOA_{in}^{calc}}$	6,14114	-0,01882	0,05151	0,00913	0,538
$C_{PFOS_{in}^{calc}}$	14,29637	-0,05180	0,09401	0,02890	0,633

Le Tableau III-5 présente les coefficients de corrélation (issus de la matrice de corrélation) entre les paramètres de micro et macropollution des modèles établis. Il est intéressant de noter que les corrélations avec la concentration en ammonium, qui est essentiellement issus des urines, sont fortes avec les micropolluants rejetés dans les eaux usées via le corps humain (ibuprofène, ofloxacine, sucralose).

**Tableau III-5 :** Corrélations entre les paramètres de micro et macropollution. Les corrélations maximales sont en gras.

	DCO <sub>in</sub>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> <sub>in</sub>	Turbidité <sub>in</sub>
IBU <sub>in</sub>	-0,267	<b>0,647</b>	-0,216
ERY <sub>in</sub>	<b>0,365</b>	-0,118	0,144
OFL <sub>in</sub>	-0,418	<b>0,715</b>	0,002
TCS <sub>in</sub>	-0,020	<b>0,834</b>	0,238
SUC <sub>in</sub>	0,071	<b>0,455</b>	-0,228
4-NP <sub>in</sub>	0,279	0,123	<b>0,295</b>
PFOA <sub>in</sub>	-0,267	<b>0,647</b>	-0,216
PFOS <sub>in</sub>	<b>0,365</b>	-0,118	0,144



**Figure III-4 :** Concentrations en micropolluants mesurées et calculées à l'entrée de la station d'épuration. Les valeurs calculées sont obtenues par les expressions du Tableau III-4.

b. Relations entre les concentrations en micropolluants en sortie de STEP et la micropollution mesurée en entrée de STEP et la macropollution mesurée en sortie

La RLM a ensuite été utilisée pour décrire les concentrations en micropolluants en sortie de STEP par des expressions numériques faisant intervenir les paramètres de macropollution mesurés en sortie de STEP (DCO, concentration en ammonium et turbidité) et les concentrations en micropolluants mesurées en entrée de STEP:

$$C_{micro_{out}}^{calc} = f(C_{macro_{out}}^M, C_{micro_{in}}^M) \quad \text{Équation 10}$$

$C_{micro_{out}}^{calc}$  est la concentration calculée en micropolluant (en µg/L et ng/L pour les PFC) à la sortie de la STEP,  $C_{macro_{out}}^M$  est la macropollution (DCO (mg/L),  $NH_4^+$  (mg/L) et turbidité (NTU)) mesurée à la sortie de la STEP, et  $C_{micro_{in}}^M$  est la concentration en micropolluants mesurée (en µg/L ou ng/L) à l'entrée de la STEP.

Les structures des expressions numériques linéaires, et les coefficients de corrélation (r) sont présentées ci-dessous dans le Tableau III-6. La Figure III-5 donne les représentations graphiques des concentrations mesurées et calculées pour les micropolluants en sortie de STEP. Les lignes grisées représentent la marge d'erreur d'environ deux fois l'écart-type, soit un intervalle de confiance de 95 %.

**Tableau III-6 :** Structures des régressions linéaires décrivant les concentrations en micropolluants en sortie de STEP en fonction de la macropollution mesurée à la sortie de STEP et de la micropollution mesurée en entrée. Coefficients de corrélation des modèles (r).

	Constante	$DCO_{out}$	$NH_4^+_{out}$	$Turbidité_{out}$	$Micro_{in}$	r
$C_{IBU_{out}}^{calc}$	0,03197	-0,00067	0,01376	0,00365	-0,00004	0,664
$C_{ERY_{out}}^{calc}$	0,12063	-0,00191	-0,00206	0,00180	-0,00533	0,873
$C_{OFL_{out}}^{calc}$	-3,49114	0,09920	0,00921	-0,00020	0,03303	0,996
$C_{TCS_{out}}^{calc}$	0,35698	-0,00918	0,01164	-0,00226	0,06037	0,820
$C_{SUC_{out}}^{calc}$	3,52124	-0,02895	0,08983	-0,00771	0,05153	0,580
$C_{4-NP_{out}}^{calc}$	-10,06833	0,31500	0,00782	-0,00228	0,04368	0,808
$C_{PFOA_{out}}^{calc}$	76,54180	-1,57680	0,97098	-0,43096	-0,07514	0,840
$C_{PFOS_{out}}^{calc}$	-90,50154	2,49302	1,28529	0,74324	0,00484	0,907

En comparant les concentrations des micropolluants calculées en sortie de STEP, à celles mesurées, on peut observer sur la Figure III-5 une bonne fiabilité pour toutes les expressions : les concentrations en micropolluants calculées suivent la même tendance que les concentrations mesurées, et tous les points sont dans l'intervalle de confiance de 95 %.

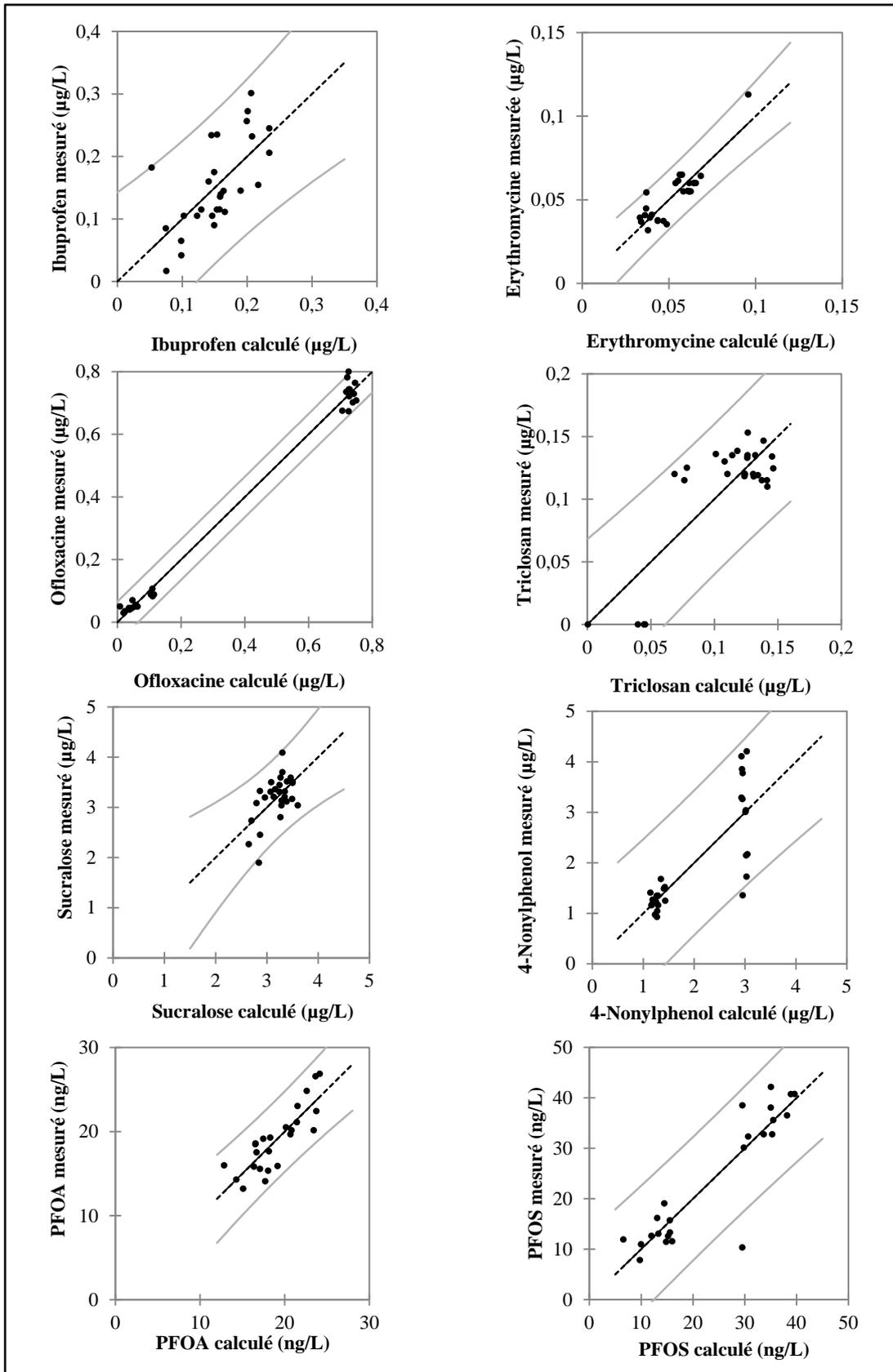
Les concentrations en ibuprofène, érythromycine et triclosan (tous bien éliminés de la phase liquide) en sortie de STEP ne sont pas dépendantes de leurs concentrations en entrée de STEP (Tableau III-6). Ceci montre que les trois molécules sont très bien abattues dans le procédé d'épuration étudié, quelles que soient leurs concentrations en entrée de STEP (faible ou plus importante).

La concentration en ofloxacine en sortie de STEP est dépendante de sa concentration en entrée. Il a été observé que l'OFL est éliminé entre 50 et 75 % quelle que soit sa concentration en entrée de STEP. Nous pouvons noter aussi deux populations : une correspondant à la campagne d'hiver 2011 (fortes concentrations) et une correspondant aux deux campagnes d'été (2011 et 2012), dont les concentrations mesurées étaient plus faibles.

Le modèle définissant la concentration en sucralose en sortie de STEP, présente un assez faible coefficient de corrélation ( $r = 0,580$ ) qui résulte des faibles liens existants entre la concentration en sucralose en sortie de STEP et les paramètres de macro et micropollution utilisés. Nous avons pu observer que le sucralose n'est pas éliminé de la phase liquide au travers de la STEP, et que ses concentrations en entrée et en sortie sont quasi identiques et constantes. La concentration en sucralose en sortie de STEP est essentiellement définie par une constante (3,52), qui correspond approximativement au niveau de concentration moyen du sucralose dans l'eau épurée (et dans l'eau usée entrante).

La concentration en 4-NP en sortie de STEP est faiblement corrélée aux paramètres choisis pour les raisons expliquées précédemment : sa concentration est peu prévisible car c'est un produit de dégradation de molécules précurseur (NPEO), et de plus, son niveau de concentration dans les eaux usées dépend d'une activité industrielle, ponctuelle (deux populations sont d'ailleurs observées sur son graphique Figure III. 5).

Les concentrations en PFOA et PFOS sont assez bien décrites par leurs modèles ( $r$  de 0,84 et 0,91 respectivement). Néanmoins, on observe comme en ACP, que PFOA et PFOS présentent des concentrations en sortie de STEP indépendantes de leurs concentrations en entrée.



**Figure III-5 :** Concentrations en micropolluants mesurées et calculées à la sortie de la station d'épuration. Les valeurs calculées sont obtenues par les expressions du Tableau III-6.

c. Relations entre les concentrations en micropolluants en sortie de STEP et la macropollution mesurée en entrée et en sortie de STEP

Dans un dernier temps, nous avons souhaité voir s'il existait des relations entre la micropollution mesurée en sortie de STEP et la macropollution mesurée en entrée et sortie de STEP. Ainsi, en combinant les équations 5 et 10, nous avons essayé d'évaluer la possibilité d'estimer la micropollution rejetée dans les eaux de surface (par les effluents de STEP) par la simple mesure de la macropollution en entrée et sortie de STEP (mesurée quotidiennement dans une station d'épuration).

$$C_{micro_{out}}^{calc} = f(C_{macro_{out}}^M, C_{macro_{in}}^M) \quad \text{Équation 11}$$

Les structures des expressions numériques linéaires sont données dans le Tableau III-7 et la Figure III-6 présente les concentrations en micropolluants calculées à la sortie de la station d'épuration. Une bonne fiabilité a également été obtenue pour toutes les expressions : les concentrations en micropolluants estimées suivent la même tendance que les concentrations mesurées et sont dans l'intervalle de confiance de 95 %.

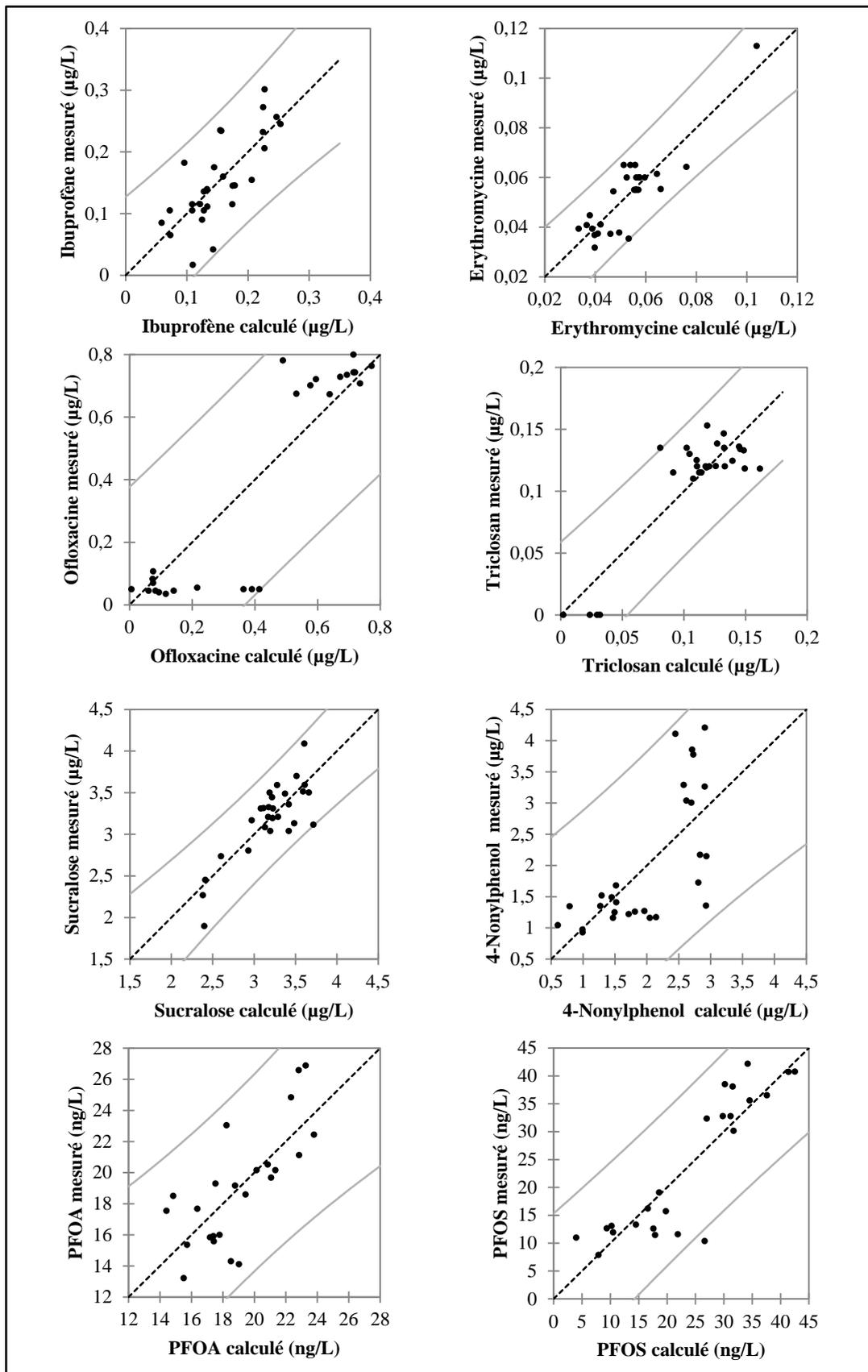
**Tableau III-7 :** Structures des régressions linéaires décrivant les concentrations en micropolluants en sortie de STEP en fonction de la macropollution mesurée en entrée et sortie de STEP, et coefficients de corrélation (r) des modèles.

	Constante	DCO <sub>out</sub>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> <sub>out</sub>	Turb. <sub>out</sub>	DCO <sub>in</sub>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> <sub>in</sub>	Turb. <sub>in</sub>	r
<i>C<sub>IBU<sub>out</sub></sub></i> <sup>calc</sup>	0,07086	-0,00148	0,02073	0,00317	0,00019	-0,00086	-0,00003	0,753
<i>C<sub>ERY<sub>out</sub></sub></i> <sup>calc</sup>	0,05678	-0,00023	-0,00303	0,00171	0,00003	0,00017	0,00000	0,877
<i>C<sub>OFL<sub>out</sub></sub></i> <sup>calc</sup>	0,18103	-0,00202	0,05894	-0,00235	-0,00159	0,00469	0,00038	0,890
<i>C<sub>TRI<sub>out</sub></sub></i> <sup>calc</sup>	-0,00437	0,00151	0,00507	-0,00129	-0,00011	-0,00010	0,00007	0,878
<i>C<sub>SUC<sub>out</sub></sub></i> <sup>calc</sup>	1,78340	0,01548	0,00491	0,00257	-0,00130	0,00839	0,00041	0,830
<i>C<sub>4-NP<sub>out</sub></sub></i> <sup>calc</sup>	0,79623	0,00323	0,13211	-0,01072	-0,00311	0,01403	0,00087	0,697
<i>C<sub>PFOA<sub>out</sub></sub></i> <sup>calc</sup>	25,23470	-0,11854	-0,29958	-0,23611	0,04038	0,02827	-0,01836	0,734
<i>C<sub>PFOS<sub>out</sub></sub></i> <sup>calc</sup>	-25,33028	0,07517	3,29994	0,57170	-0,02316	0,16071	0,02296	0,889

Cette étude a permis d'établir des corrélations entre les concentrations en micropolluants en sortie de la STEP étudiée et la macropollution entrante et sortante. Les modèles obtenus, spécifiques à cette station d'épuration dont nous avons préalablement analysé le fonctionnement, devront être validés sur de nouvelles campagnes de prélèvement. Cette approche pourrait par la suite être un moyen d'estimer les concentrations des micropolluants dans les rejets d'eau épurée par la simple mesure des paramètres de macropollution.

Les opérateurs des STEP sont souvent à la recherche d'outils pour estimer certains paramètres sans les mesurer. Ceci est d'autant plus important pour les micropolluants dont les analyses sont très complexes, nécessitant des équipements et des compétences particulières. Dans la

STEP étudiée, l'estimation serait possible supposant deux conditions qui sont tout à fait plausibles : que la station d'épuration fonctionne en régime stationnaire (comme ce fut le cas lors de nos mesures) et que le comportement de la population émettant les eaux usées reste constant. Si des changements technologiques au niveau de la station d'épuration ont lieu, de nouvelles corrélations devront être recherchées.



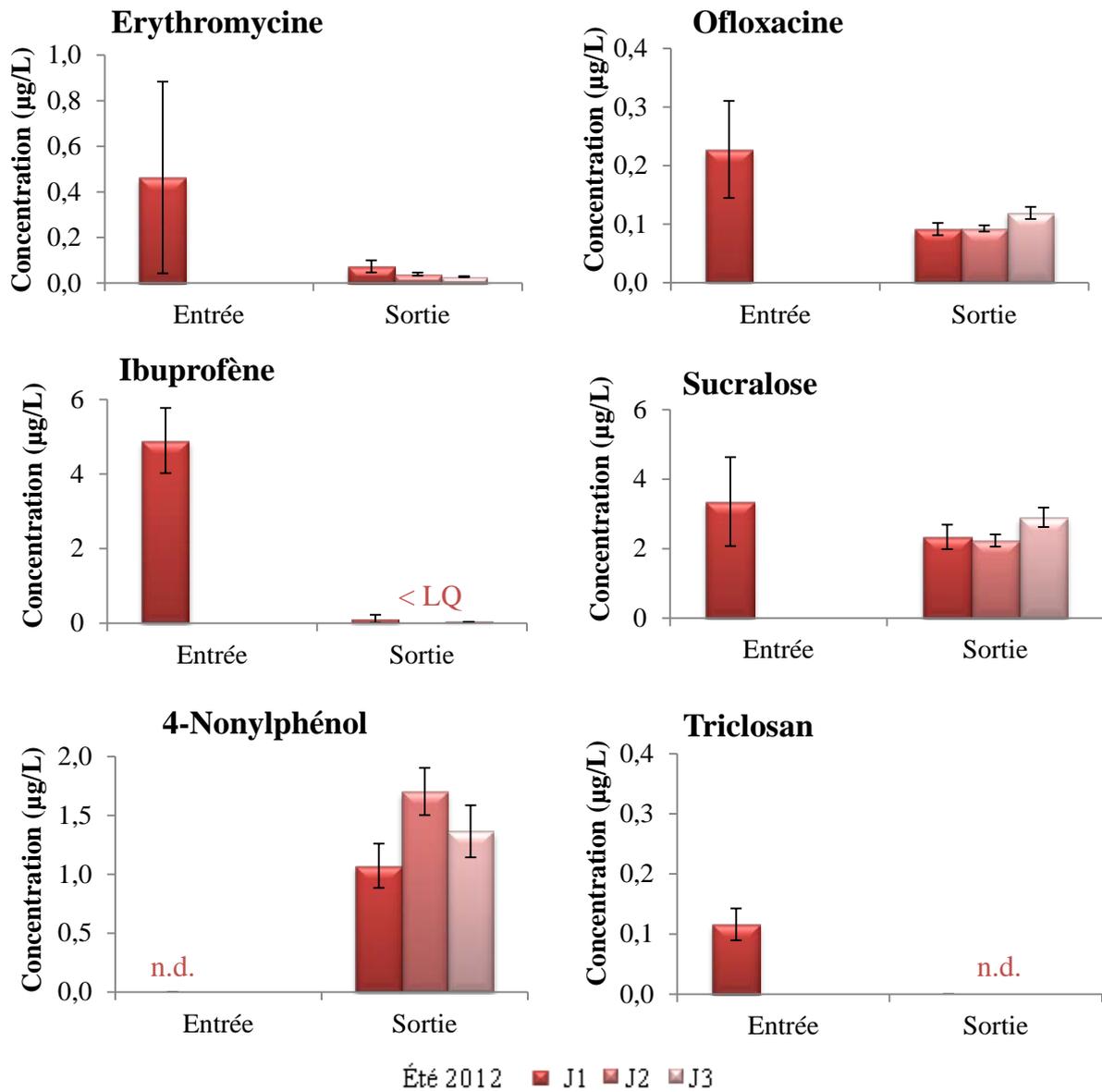
**Figure III-6 :** Concentrations en micropolluants mesurées et estimées à la sortie de la station d'épuration. Les valeurs calculées sont obtenues par les expressions du Tableau III-7.

### **III.1.2 Autres résultats**

#### *III.1.2.1 Prise en compte du temps de rétention hydrauliques de la STEP de Pont-à-Mousson*

Lors de la campagne de prélèvement réalisée à la station d'épuration en été 2012 les préleveurs ont été mis en place de façon à prélever pendant 24 h en entrée et 72 h en sortie de STEP, ceci dans le but de prendre en compte le temps de rétention hydraulique des eaux.

Nous avons noté que la concentration moyenne journalière de chaque micropolluant en sortie de STEP a très peu varié sur les trois jours de prélèvement (Figure III-7). De plus, les variations de concentrations en entrée de STEP, liées aux activités humaines et représentées par un fort écart-type sur la Figure III-7 (érythromycine, sucralose, ofloxacine), n'ont pas été observées dans l'eau épurée (toutes les mesures sont présentées en Annexe 12). Le passage de l'eau au travers du procédé d'épuration a un effet de lissage des concentrations.



**Figure III-7 :** Concentrations moyennes journalières lors de la campagne de prélèvement d'été 2012 à la STEP de Pont-à-Mousson. Prélèvements réalisés sur 24 h en entrée et 72 h (trois jours : J1, J2 et J3) en sortie de STEP.

### *III.1.3.1 Flux de micropolluants*

Les flux de micropolluants journaliers entrants et sortants de la station d'épuration de Pont-à-Mousson ont été calculés à l'aide des concentrations mesurées lors de différentes campagnes de prélèvement et des débits journaliers d'eau usée et épurée fournis par l'exploitant de la STEP (Tableau III-8). Le Tableau III-9 présente les flux journaliers moyens (moyenne des trois campagnes de prélèvement) et l'estimation des rejets annuels des micropolluants cibles dans les eaux épurées.

Les molécules bien éliminées par le procédé d'épuration, érythromycine, ibuprofène, ofloxacine, et triclosan sont rejetées dans les eaux de surface (via l'eau épurée) en faible quantité (en moyenne 0,3 à 2,3 g/j). Le sucralose (non biodégradable) et le 4-NP (« formé » au cours du procédé d'épuration) sont rejetés en quantités plus importantes, de l'ordre de 10 à 20 g/j ; à l'année ceci représenterait environ 6,0 kg et 4,7 kg respectivement. Les composés perfluorés, molécules non dégradées et qui semblent être produites par la dégradation de précurseurs au cours du traitement biologique, sont rejetés en moindre quantité du fait de leur faible concentration (dizaines de ng/L) ; aux alentours de la centaine de milligrammes par jour, soit à l'année environ 40 à 50 g.

**Tableau III-8 :** Concentrations moyennes journalières et flux journaliers (en g/j) des micropolluants dans la phase liquide en entrée et sortie de la STEP de Pont-à-Mousson, pour chaque campagne de prélèvement. Les débits d'eau sont indiqués en gras pour chaque campagne ( $\text{m}^3/\text{j}$ ).

Micropolluants	Entrée		Sortie	
	$C_{\text{eau usée}}$	Flux	$C_{\text{eau épurée}}$	Flux
	( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	( $\text{g j}^{-1}$ )	( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	( $\text{g j}^{-1}$ )
<b>Été 2011</b>		<b>5007 <math>\text{m}^3/\text{j}</math></b>		<b>5207 <math>\text{m}^3/\text{j}</math></b>
Érythromycine	0,3	1,4	< LQ (0,06)	0,3
Ibuprofène	4,5	22,3	0,1	0,7
4-NP	6,8	42,7	1,3	8,6
Ofloxacine	0,2	1,2	< LQ (0,05)	0,2
Sucralose	3,2	16,1	3,2	16,9
Triclosan	0,6	2,8	< LQ (0,12)	0,6
PFOA	$11,4 \cdot 10^{-3}$	0,06	$21,4 \cdot 10^{-3}$	0,11
PFOS	$20,8 \cdot 10^{-3}$	0,10	$13,0 \cdot 10^{-3}$	0,07
<b>Hiver 2011</b>		<b>5896 <math>\text{m}^3/\text{j}</math></b>		<b>5896 <math>\text{m}^3/\text{j}</math></b>
Érythromycine	0,2	1,2	< LQ (0,05)	0,2
Ibuprofène	6,8	40,2	0,2	1,1
4-NP	1,8	10,8	3,0	17,7
Ofloxacine	1,7	10,2	0,7	4,3
Sucralose	3,8	22,1	3,4	20,2
Triclosan	0,8	4,7	< LQ (0,13)	0,8
PFOA	$9,2 \cdot 10^{-3}$	0,05	$16,7 \cdot 10^{-3}$	0,10
PFOS	$15,4 \cdot 10^{-3}$	0,09	$34,2 \cdot 10^{-3}$	0,20
<b>Été 2012</b>		<b>5341 <math>\text{m}^3/\text{j}</math></b>		<b>5473 <math>\text{m}^3/\text{j}</math></b>
Érythromycine	0,5	2,5	< LQ (0,05)	0,4
Ibuprofène	4,9	26,2	0,1	0,6
4-NP	n.d.	0	1,4	5,9
Ofloxacine	0,2	1,2	0,1	0,5
Sucralose	3,4	17,9	3,5	12,8
Triclosan	< LQ (0,13)	0,6	n.d.	0
PFOA	-	-	-	-
PFOS	-	-	-	-

- : non mesuré

**Tableau III-9 :** Flux journaliers pour chaque campagne prélèvement et flux journaliers moyens, des micropolluants (en g/j) rejetés dans la phase liquide en sortie de la STEP de Pont-à-Mousson. Estimation des rejets annuels.

	Été 2011	Hiver 2011	Été 2012	Moyenne $\pm \sigma$	À l'année
Érythromycine	0,3	0,2	0,4	$0,3 \pm 0,1$	0,11 kg
Ibuprofène	0,7	1,1	0,6	$0,8 \pm 0,3$	0,33 kg
4-NP	8,6	17,7	5,9	$10,7 \pm 6,2$	4,7 kg
Ofloxacine	0,2	4,3	0,5	$1,7 \pm 2,3$	0,8 kg
Sucralose	16,9	20,2	12,8	$16,6 \pm 3,7$	6,0 kg
Triclosan	0,6	0,8	0	$0,5 \pm 0,4$	0,25 kg
PFOA	0,11	0,10	-	$0,105 \pm 0,009$	40 g
PFOS	0,07	0,20	-	$0,135 \pm 0,095$	50 g

- : non mesuré

## **III.2 PRÉSENCE DE MICROPOLLUANTS DANS LES EAUX USÉES URBAINES NANCÉIENNES ET LEUR DEVENIR EN STATION D'ÉPURATION**

Au total, trois campagnes de prélèvement sur 24 h ont été réalisées dans les égouts Nancéiens :

- été 2010 : analyse des PFC uniquement,
- été 2011 : analyse des huit molécules,
- hiver 2011 : analyse des huit molécules.

À la station d'épuration de Nancy-Maxéville quatre campagnes de prélèvement ont été réalisées :

- été 2010 : analyse des PFC uniquement,
- été 2011 : analyse des huit molécules,
- hiver 2011 : analyse des huit molécules,
- été 2012 : analyse des six molécules de la méthode « multi-résidus » uniquement.

### **III.2.1 Campagnes de prélèvement : mesures et étude statistique**

Cette section, présentée sous forme d'un article soumis, rassemble les résultats obtenus lors des campagnes de prélèvement dans les égouts et à la STEP de Nancy-Maxéville. La campagne réalisée en été 2010, avec la seule mesure des concentrations en PFC, est présentée en annexe (annexe 13).

Cette publication développe aussi l'étude statistique des concentrations mesurée en entrée et sortie de STEP.

Article soumis dans le journal *Water Research*, Mars 2013.

## Occurrence of household micropollutants in urban wastewater and their fate in a wastewater treatment plant. Statistical evaluation.

Laure Pasquini <sup>a,\*</sup>, Jean-François Munoz <sup>b</sup>, Marie-Noëlle Pons <sup>c</sup>, Jacques Yvon <sup>a</sup>, Xavier Dauchy <sup>b</sup>, Xavier France <sup>d</sup>, Nang Dinh Le <sup>c</sup>, Christian France-Lanord <sup>e</sup>, Tatiana Görner <sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Laboratoire Environnement et Minéralurgie - CNRS, Université de Lorraine, 15 Avenue du Charmois, 54501 Vandœuvre-lès-Nancy cedex, France*

<sup>b</sup> *Laboratoire d'Hydrologie de Nancy, ANSES, 40 rue Lionnois 54000 Nancy, France*

<sup>c</sup> *Laboratoire Réactions et Génie des Procédés - CNRS, Université de Lorraine, 1 rue Grandville, 54001 Nancy cedex, France*

<sup>d</sup> *GEMCEA, 149 rue Gabriel Péri, 54500 Vandœuvre-lès-Nancy, France*

<sup>e</sup> *Centre de Recherches Pétrographiques et Géochimiques – CNRS, Université de Lorraine, 15 rue Notre Dame des Pauvres, 54501 Vandœuvre-lès-Nancy cedex, France*

Article soumis à *Water Research*, Mars 2013

### Abstract.

The occurrence of eight micropollutants (erythromycin, ibuprofen, 4-nonylphenol, ofloxacin, sucralose, triclosan, perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS)) issued from household activities in urban wastewater and their fate in a biological wastewater treatment plant (WWTP) were investigated. The target compounds were assessed in liquid and in solid phases (sewage particulate matter and wasted activated sludge (WAS)) by liquid chromatography tandem mass spectrometry.

The analysis of sewage issued from two different urban catchments connected to the WWTP showed seasonal variations of the use of sucralose and a specific use of ofloxacin in the catchment with hospital.

In WWTP, ibuprofen and triclosan were removed from wastewater with efficiency higher than 90 % while ofloxacin was eliminated at only 25 %. Erythromycin, sucralose and PFOA were not removed from wastewater, the influent and effluent concentrations remaining at about 0.7 µg/L, 3 µg/L and 10 ng/L respectively. The behavior of PFOS and 4-nonylphenol was particular: their concentrations were larger at WWTP outlet than at its inlet. It was probably related to the degradation of their precursors during the biological treatment. 4-nonylphenol, ofloxacin, triclosan and perfluorinated compounds adsorbed on WAS (from 5 ng/kg for PFOA to 1.0 mg/kg for triclosan).

The measured micro and macropollution parameters were statistically evaluated by Principal Component Analysis and multiple linear regressions were established. The identified relations allowed to relate the micro and macropollutants concentrations entering and outgoing the WWTP.

*Keywords:* Household micropollutants; urban wastewater, wastewater treatment plant, sludge, statistical analysis.

## 1. Introduction

For the last decades, pharmaceuticals and their metabolites as well as various chemicals present in many products used in our everyday life have become a source of environmental pollution transported by urban wastewater. Indeed, even if removal mechanisms for conventional macropollution (organic matter, nitrogen and phosphorus) in wastewater treatment plants (WWTPs) are understood and effective, it is not the case for most of the micropollutants (Kümmerer 2001, Radjenović et al. 2009, Suarez et al. 2010, Richardson and Ternes 2011). The removal of compounds such as pharmaceuticals, personal care products or detergents is rarely checked by plant managers because few or no regulations exist concerning their release in water bodies. The scientific interest for the environmental impact of these molecules or their behavior in WWTPs appeared mainly ten years ago (Pasquini et al. 2012). However, many of them are thought to be a possible threat to environmental health and safety. Antibiotics released in the environment contribute to the increasing resistance potential of pathogenic bacteria (Baquero et al. 2008). Perfluorinated compounds are persistent and bio-accumulative (Prevedouros et al. 2006, Liu et al. 2011). They have shown, as well as alkylphenols, endocrine disrupting effects (Balch and Metcalfe 2006, Joensen et al. 2009). Weak androgenic and antiestrogenic potency has been detected for triclosan (Ishibashi et al. 2004, Liu et al. 2009). The presence of sweeteners may alter the feeding behavior of aquatic organisms (Loos et al. 2009). Therefore, it becomes important to determine the concentrations of these micropollutants in wastewater treatment systems in order to derive safe conclusions about their fate and possible threat they convey.

In our work, we studied eight micropollutants issued from different activities of our everyday life: erythromycin and ofloxacin (antibiotics), ibuprofen (anti-inflammatory drug), triclosan (biocide), 4-nonylphenol (4-NP, it is a mixture of branched isomers resulting from detergents degradation), sucralose (sweetener), and two perfluoroalkyl acids (PFAAs) (Buck et al. 2011), the perfluorooctanoic acid (PFOA) and the perfluorooctane sulfonate (PFOS). PFOA and PFOS are employed in industrial and domestic products as floor cleaning agents and paints, but also in the manufacturing of emulsifying agents (Ochoa-Herrera and Sierra-Alvarez 2008), non-adhesive surfacing, and waterproofing agent for textiles, leather, food packaging (Prevedouros et al. 2006). The target compounds were chosen for their occurrence in domestic use and according to their physico-chemical properties in order to observe their possible partitioning between water and sludge in the WWTP. Antibiotics (erythromycin and ofloxacin), 4-NP, triclosan and PFAAs are hydrophobic compounds known to adsorb on sludge during biological treatments (Lindström et al. 2002, Picó and Andreu 2007, Soares et al. 2008, Lillenberg et al. 2009). Ibuprofen and sucralose are hydrophilic compounds that should mostly remain in the aqueous phase.

Our study focused on quantifying the target compounds in the wastewater (in liquid and solid phase) of two urban areas and in the WWTP receiving wastewater from different catchments. The objective was *i*) to assess the occurrence of micropollutants released in two different types of urban areas, *ii*) to evaluate the elimination (biodegradation or adsorption on sludge) of these compounds from the wastewater, by biological treatment in an urban WWTP, and *iii*) to seek by statistical methods if there exist some relations between micropollution and macropollution entering and outgoing the studied WWTP.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Sampling sites

Wastewater samples from two urban catchments of Greater Nancy in the North-East of France were studied. The first catchment is residential with about 2100 housings, and a sanitary sewage network. The second one is a mixed catchment composed of hospital (about 1200 hospital beds), houses and administrations and with a combined sewage network. In both catchments sampling was performed directly in the sewer.

The studied WWTP has a capacity of 500 000 p.e. (population equivalent). It treats urban wastewater from 21 municipalities (400 000 p.e.) including the two previously described catchments, and industrial wastewater from a brewery (100 000 p.e.). Urban wastewater is subject to a pre-treatment (grit, sand and oil removal followed by primary settling), to a biological treatment (pre and post denitrification combined with a Biolift® technology), to a final clarification and to a tertiary treatment (phosphorus precipitation and sand filtering). The sludge wasted from the final clarifier and the primary sludge are combined to get digested. Digested sludge is dried after thickening. Industrial wastewater represents less than 10 % of the WWTP daily inlet flow. It is pretreated separately to reduce its load to the same level as the urban wastewater before joining both flows in the same biological treatment.

Samples were taken at the inlet (urban wastewater before pre-treatment) and outlet of the plant (treated wastewater) and in the recycle line from the final clarifier.

Table 1 summarizes the studied sampling locations and the analyzed matrices.

**Table 1. Sampling locations and sample matrices.**

Sampling location	Matrices
Residential catchment	Wastewater and suspended matter
Mixed catchment	Wastewater and suspended matter
WWTP:	
Inlet	Wastewater and suspended matter
Biological stage	Recycled sludge
Outlet	Treated water and dehydrated sludge

### 2.2. Samples collection

Several sampling campaigns were performed in winter and summer. The wastewater and treated water samples were collected by dry weather with an automatic sampler (ISCO 3700, Teledyne ISCO, USA) over 24h (1 liter per hour and per bottle) and the sludge samples were manually collected. Before applying extraction procedures (described in sections 2.3 and 2.4.), wastewater and sludge samples were stored in two different bottles: one part in HDPE (high density polyethylene) bottle for perfluorinated compounds analysis and one part in amber glass bottles for the six other compounds.

### 2.3. Analysis of wastewater conventional parameters

Several conventional wastewater pollution parameters were assessed. Soluble COD was measured (after filtration on 0.45 µm pore size) after its chemical oxidation by a sulfochromic mixture, by spectro-photocolorimetry (US EPA 1993). Ammonium content was determined by applying the Hach Nessler Method 8038 and measured on a Hach DR/2400

spectrophotometer (Hach Co., Colorado, USA) (error  $\pm 0.5$  N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> mg/L). Turbidity was measured by spectrophotometry at 450 nm and expressed in terms of formazin unit.

#### ***2.4. Isotopic tracing of water sources***

The infiltration of clear water into sanitary sewers can modify the sewage chemistry by simple dilution of wastewater components, or by addition of supplementary pollutants. Therefore the infiltration of clear water was controlled in all sampling campaigns. Hydrological processes occurring in the sewers can be described by the deuterium/hydrogen ratio analysis (Houhou et al. 2010). This approach allows the identification and the quantification of ground water or rainwater that may enter in the sewer. The sewer input is mostly supplied by tap water and is isotopically relatively stable throughout time. Depending on the season, ground water or rainwater runoff is usually different from that of the sewer input. As a consequent, infiltration of such water generates significant deviation of the water isotopic composition. In our campaigns measurements we have strictly verified that they were performed at constant D/H ratio and only measurements without water infiltration were considered for the study.

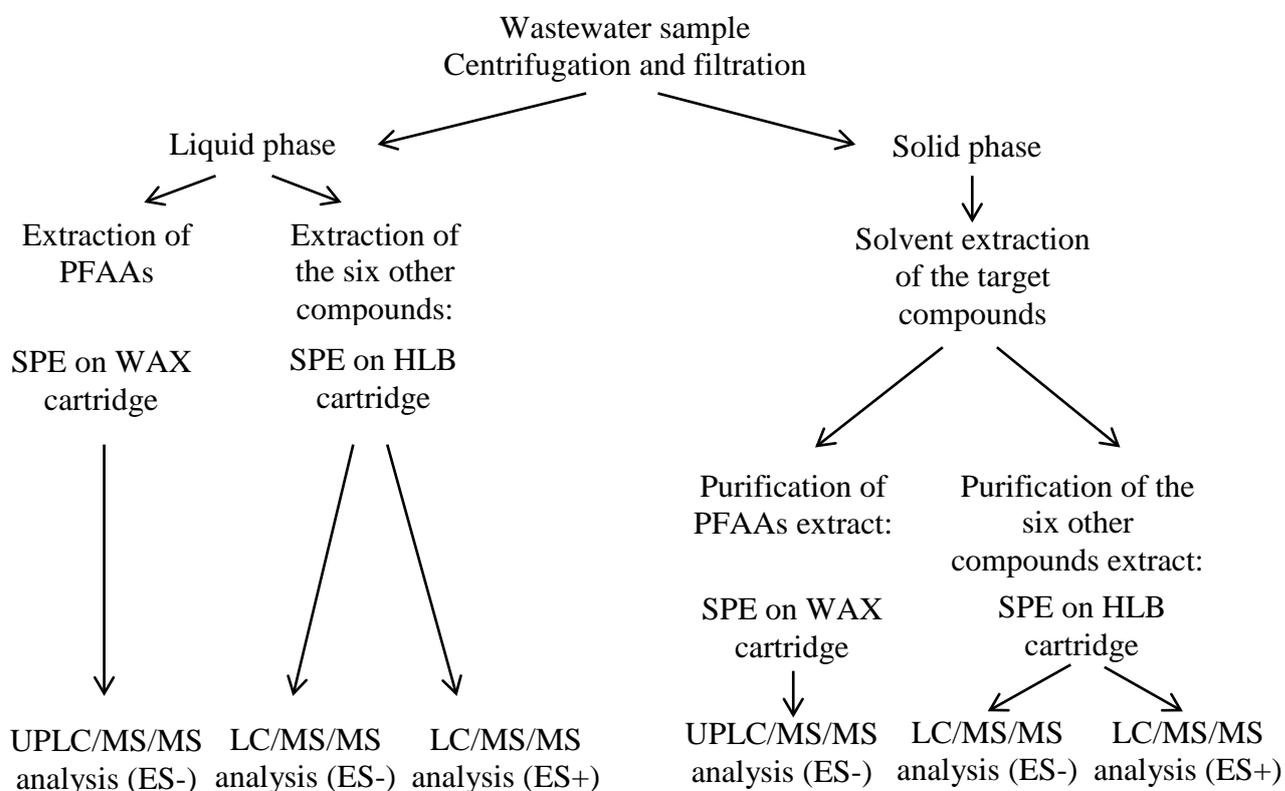
The hydrogen isotopic composition (D/H ratio) of water was measured with an Isoprime mass spectrometer coupled with an elemental analyzer using a chromium reducing reactor (Morrison et al. 2001). The results were reported in  $\delta$ -notation ( $\delta D$ ) which represents the permil deviation of the measured isotopic ratio (D/H<sub>sample</sub>) relative to a reference material (D/H<sub>SMOW</sub>).

$$\delta D = \left( \frac{D/H_{sample}}{D/H_{SMOW}} - 1 \right) \times 1000 \quad (1)$$

Standard materials were V-SMOW (Vienna Standard Mean Ocean Water)

## 2.5. Extraction of micropollutants from wastewater samples and analysis

For the extraction of the target compounds from liquid samples, two solid-phase extractions (SPE) were performed (figure 1).



**Figure 1. Schematic view of the extraction and analysis procedures of target compounds in wastewater and solid phases.**

Before extraction, wastewater was filtered through a cellulose nitrate filter (pore size 0.45  $\mu\text{m}$ , Sartorius Stedim Biotech GmbH, Gottingen, Germany) and pH was adjusted with NaOH (1 mol/L) or HCl (1 mol/L).

The method developed for the extraction of PFOA and PFOS from wastewater was based on that of Boiteux et al. (2012). It was performed with 300 mL of water sample and using WAX (Weak Anion eXchange, 6 cc, 150 mg) cartridges (Waters, USA). Wax cartridges were conditioned with 6 mL of methanol and  $2 \times 6$  mL of Milli-Q grade water at pH 4. The samples were loaded at a flow rate of 5 mL/min. The cartridges were then rinsed with 6 mL of Milli-Q water (pH 4) to remove any interference and they were dried under vacuum for 40 minutes. PFAAs were eluted from the cartridges with  $4 \times 1$  mL of  $\text{NH}_4\text{OH}$  0.1 % in methanol. Eluates were evaporated under a gentle stream of nitrogen at 37°C to a volume of 70  $\mu\text{L}$  and a mixture of methanol-Milli-Q water (30:70) was added to a final volume of 150  $\mu\text{L}$ . The extracts were then centrifuged (13 000 g, 10 minutes, 20°C) and the supernatant was used for analysis on Acquity UPLC<sup>®</sup>-MS/MS (Waters, USA) operating in negative electrospray ionization mode (ESI -).

The extraction of the six other compounds (three pharmaceuticals, 4-nonylphenol, triclosan and sucralose) was performed with 50 mL of water sample adjusted to pH 10, and using HLB (Hydrophilic-Lipophilic Balance) cartridges (Waters, USA) described previously (Pasquini et al. 2012). This procedure allows concentrating the target compounds to a final

volume of 250  $\mu$ L in acetonitrile-Milli-Q water (10:90). The extracts were then centrifuged (13 000 g, 10 minutes, 20°C) and the supernatant was used for analysis with a Thermo Scientific liquid chromatography Accela device connected to a Thermo Scientific mass spectrometer TSQ Quantum Ultra (USA).

LC-MS/MS conditions of the target compounds separation and analysis are presented in table 2. Analytes were detected using a multiple reaction monitoring mode, monitoring two parent-ions mass transitions.

**Table 2. Liquid chromatography and mass spectrometry conditions for the analysis of the different compounds.**

Compounds	Columns	Mobile phases	Device	Ionisation mode
PFOA PFOS	Acquity® BEH C18 50 x 2,1 mm Part. size 1,7 $\mu$ m	A : 2 mM ammonium acetate in water : MeOH (9/1)  B : Methanol	Acquity UPLC®, Xevo MS/MS	ESI -
Ibuprofen 4-nonylphenol Sucralose Triclosan	Hypersil Gold 150 x 2.1 mm Part. size 3 $\mu$ m	A: Water B: Acetonitrile	Accela HPLC, TSQ Quatum Ultra MS/MS	ESI -
Erythromycin, Ofloxacin	XTerra MS C18 100 x 2.1 mm Part. size 3.5 $\mu$ m	A: Water (0.1 % formic acid) B: Acetonitrile (0.1 % formic acid)	Accela HPLC, TSQ Quatum Ultra MS/MS	ESI +

## 2.6. Extraction of micropollutants from solid samples

The extraction of the target compounds from solid samples was performed according to the method of Yoo et al. (2009), adapted and validated on our molecules and samples (particulate matter and sludge) (Pasquini et al. 2012).

The solid was separated from the liquid phase by centrifugation (20 000 g, 40 minutes, 20°C). To 0.5 g of pellets was added 1 mL of NaOH (1 M) for the solid digestion, and it was then sonicated in a heated water bath during 30 minutes. The sample was then stored overnight (4°C in the dark). The next day, 1 mL of HCl (1 M) was added to the sample to neutralize the pH. 10 mL of ACN/MeOH (50/50) were added as extraction solvent and the mixture was shaken gently during 60 minutes. The slurry was separated by centrifugation (10 000 g, 20 minutes, 20 °C) and the supernatant was collected. This solvent-extraction step was repeated twice and the extracts were combined (about 20 mL). The combined extracts were cleaned-up by two different protocols (figure 1). For the analysis of PFOA and PFOS, 4 mL of the extract were diluted with 96 mL of Milli-Q water, adjusted at pH 4 and the SPE protocol with WAX cartridges was applied (as described above for wastewater samples). For the analysis of the six other compounds, 4 mL of the extract were diluted with 96 mL of

Milli-Q water, adjusted to pH 10 and the SPE protocol with HLB cartridges was applied (as described above for wastewater samples).

Analyzes were performed as described in the 2.3 part and results were given in mg of micropollutant by kg of centrifuged sludge.

## 2.7. Validation of analytical methods

A seven-point calibration curve was generated for each compound using standard solutions. The quantitative analysis of the target compounds was done by internal standard method with isotope-marked molecules, except for ofloxacin and 4-nonylphenol (external calibration). Limits of detection and quantification of each compound in liquid and solid phases are presented in table S1, in supplementary data.

To determine the recoveries of extraction methods of the eight compounds from liquid and solid phases, spiking procedures were performed on wastewater and sludge. Two levels of concentration were tested in wastewater, and the spiking experiments were repeated 10 times for each concentration. Sludge was spiked at one level of concentration, close to the limit of quantification of each compound, and the experiment was performed in triplicate. Non-spiked wastewater and sludge samples were also analyzed to determine possible background concentrations of these compounds.

In the liquid phase, recoveries ranging from 75 to 120 % were obtained for all of the compounds except for 4-NP which presented lower recoveries (30-60 %). In the solid phase, all of the target compounds presented good recoveries, ranging from 79 to 132 % (Pasquini et al. 2012). Table S2 (in the supplementary data) presents recoveries obtained for the extraction of perfluoroalkyl acids in wastewater and sludge.

**Table S1. Method detection limit (MDL) and method quantification limit (MQL) of the target compounds in wastewater and sludge.**

Compounds	Wastewater		Sludge	
	MDL ( $\mu\text{g/L}$ )	MQL ( $\mu\text{g/L}$ )	MDL ( $\mu\text{g/kg}$ )	MQL ( $\mu\text{g/kg}$ )
Erythromycin	0.05	0.10	27.5	55.0
Ibuprofen	0.05	0.15	27.5	55.0
4-Nonylphenol	0.10	0.30	55.0	165.0
Ofloxacin	0.05	0.10	27.5	55.0
Sucralose*	0.50	1.50	275	165.0
Triclosan	0.10	0.30	55.0	165.0
PFOA	0.001	0.004	2	8
PFOS	0.001	0.004	2	8

\* Higher concentration ranges and limits were validated because sucralose is present at high concentration in wastewater.

**Table S2. Mean recoveries (%) and relative standard deviation (RSD) of spiked wastewater and sludge samples with PFOA and PFOS.**

		% recovery (RSD)
<u>PFOA</u>	Wastewater	108 (1)
	Sludge	83 (5)
<u>PFOS</u>	Wastewater	90 (6)
	Sludge	98 (3)

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Analysis of wastewater conventional parameters

Two series of samplings were performed in the sewers in both urban catchments (mixed and residential) in summer and winter 2011 and three campaigns were performed at the WWTP in summer and winter 2011 and in summer 2012.

The measurement of conventional parameters (table 3) showed that wastewater from the mixed and residential catchments were very similar in terms of organic pollution (COD). However ammonium concentrations and turbidity were slightly higher in the residential catchment. No seasonal effect was observed on the wastewater composition. The wastewater at the inlet of the WWTP was less loaded, with lower concentrations of ammonium and COD and lower turbidity than in the catchments. This could be explained by the dilution due to water from non-domestic uses (commercial use, street washing...).

**Table 3. Conventional parameters of the studied wastewaters  $\pm$  daily standard deviation.**

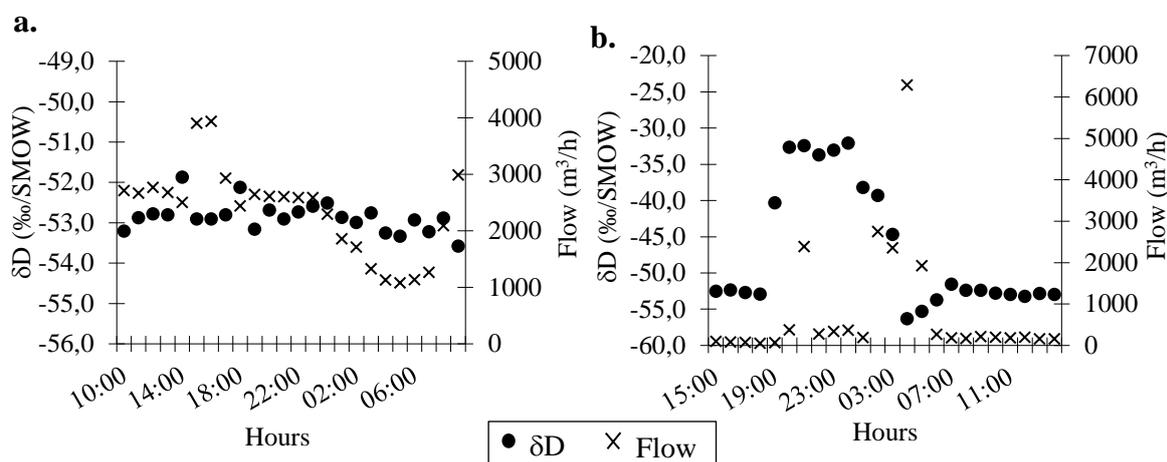
	COD (mg/L)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	Turbidity (NTU)	pH	$\sigma$ (mS/cm)
<u>Mixed catchment</u>					
Summer 2011	430 $\pm$ 85	51 $\pm$ 5	251 $\pm$ 29	7.5	1.09
Winter 2011	575 $\pm$ 158	74 $\pm$ 14	276 $\pm$ 45	7.4	1.54
<u>Residential catchment</u>					
Summer 2011	593 $\pm$ 188	85 $\pm$ 21	833 $\pm$ 261	7.3	1.04
Winter 2011	432 $\pm$ 98	94 $\pm$ 26	320 $\pm$ 123	7.2	1.28
<u>WWTP inlet</u>					
Summer 2011	189 $\pm$ 49	35 $\pm$ 8	199 $\pm$ 56	7.5	1.07
Winter 2011	109 $\pm$ 57	37 $\pm$ 10	264 $\pm$ 37	7.4	1.03
Summer 2012	155 $\pm$ 78	33 $\pm$ 8	126 $\pm$ 35	7.4	1.23

Table 4 presents the daily mean outlet concentrations in terms of conventional pollution parameters and removals. The outlet COD and turbidity values comply with the decree of June 22<sup>nd</sup> 2007 which imposes, in France, COD concentrations less than 125 mg/L at the outlet, and 90 % removal for suspended matter. These parameters indicate that the studied WWTP was operating with a good efficiency during the three sampling campaigns. We have also checked, in the WWTP database, outlet parameters one week before and one week after sampling campaigns to be sure that the WWTP was working under normal conditions and with stable performance. Thus measured values can be considered as representative of the WWTP characteristics and performances when it is operating without occasional problems.

**Table 4. Conventional parameters of the treated water (WWTP outlet)  $\pm$  daily standard deviation.**

	COD (mg/L)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	Turbidity (NTU)
<u>WWTP outlet</u>			
Summer 2011	45 $\pm$ 20	6 $\pm$ 2	14 $\pm$ 2
Winter 2011	59 $\pm$ 23	13 $\pm$ 1	16 $\pm$ 3
Summer 2012	39 $\pm$ 19	2 $\pm$ 1	3 $\pm$ 2

Hydrogen isotopic analyses of wastewaters proved that all samplings were made without infiltration of ground water or rainwater. In supplementary material, figure S1 a) shows an example of daily evolutions of  $\delta D$  values in wastewater entering the WWTP during dry weather condition.  $\delta D$  remained constant and the variations of the flow in the sewer were due to human activity. In contrast, figure S1 b) shows an example when a rainfall event occurred during the sampling campaign. The increase of the flow was accompanied with an increase of the  $\delta D$  and such samples were not considered for next studies.

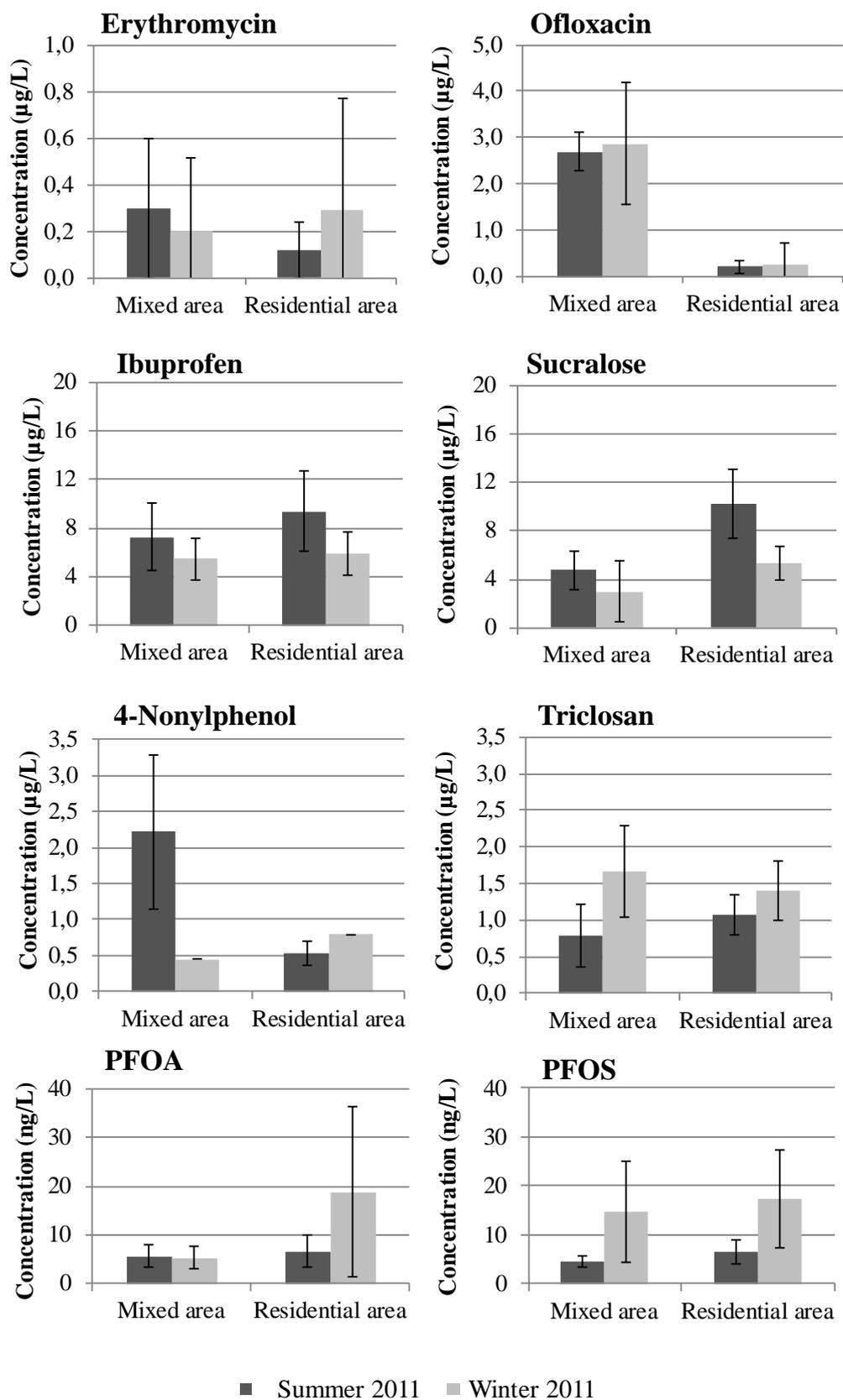


**Figure S1. Daily evolution of flow and  $\delta D$  of wastewater during sampling campaigns a) by dry weather and b) with a rainfall event.**

### 3.2. Occurrence of household micropollutants in urban wastewaters

Two series of samplings were performed in the sewers of the two studied urban catchment in summer and winter 2011. For each campaign, concentrations of the target compounds were hourly measured during 24 hours. Figure 2 presents the daily mean concentrations and their standard deviation. A large standard deviation results from extreme concentrations points during some hours in the day with an intensive human activity.

Concentrations of erythromycin, ibuprofen, triclosan, PFOA and PFOS were very similar in both urban catchments. However in some cases the wastewater reflected specific human activity and specific micropollutants release. In the mixed catchment, higher concentrations of ofloxacin were released than in the residential area. This is probably related to the presence of the hospital, where ofloxacin is used as prevention of respiratory infection in the postoperative and in serious urinary or bone infections. Sucralose was released at higher concentrations in the residential wastewaters in both campaigns, which can be linked to the more frequent use of low caloric (sugar-free) food at home. Sucralose exhibited also seasonal variations. Its concentrations were higher in summer than in winter, probably related to more frequent use of sodas in summer.



**Figure 2. Daily mean concentrations of the target compounds in the sewers of mixed and urban areas in summer and winter 2011 sampling campaigns. The mean values were calculated from 12 samples over 24 hours.**

### 3.3. Fate of household micropollutants in WWTP

Three series of samplings and measurements were performed in summer and winter 2011 and summer 2012 at the inlet and outlet of the WWTP. The concentrations of the eight micropollutants in WWTP were measured over 24 hours. The average concentrations in the liquid phase are shown on figure 3.

Two observations can be made: *i*) concentrations of the target compounds in inlet wastewater were equal or slightly lower than those measured in both sewers except for PFOS (known to be more used in industrial activities (Yu et al. 2009)). *ii*) Inlet concentrations of micropollutants were similar in winter and summer seasons, and very close removal efficiencies were found in all campaigns. The assessment of the urban micropollutants removal efficiency was made considering that the brewery wastewater did not contain pharmaceuticals, sucralose, triclosan and PFAAs. Measurements made by the brewery showed no trace of 4-NP.

Three types of removal efficiency for the studied micropollutants were observed: a) good or mean removal, b) no removal, and c) special behavior.

a) More than 90 % of ibuprofen and triclosan, were removed from wastewater during the treatment. Similar good removal efficiencies (up to 99 %) were also found elsewhere (Buser et al. 1999, Vanderford and Snyder 2006).

Ofloxacin concentrations varied slightly over seasons (from about 0.7 µg/L in summer 2011 to about 0.3 µg/L in summer 2012) but the removal efficiency remained systematically low of about 25 %. Low removal of ofloxacin in biological treatment processes from 25 to 50 % was already reported previously (Lee et al. 2007, Xu et al. 2007).

b) No elimination was observed for erythromycin, sucralose and PFOA. Concentrations of these compounds in water at the inlet and outlet of the plant were approximately the same: on average 0.2 µg/L of erythromycin, 3 µg/L of sucralose and 10 ng/L of PFOA were released in the outlet treated water. Other works (Gobel et al. 2004, Miège et al. 2008, Yu et al. 2009, Shivakoti et al. 2010, Buerge et al. 2011) have also reported low or no removal of these compounds in WWTPs. It is not surprising for sucralose and PFOA because both the molecules are not biodegradable (Kissa 2001, Brorström-Lundén et al. 2008). However the case of erythromycin is often discussed in literature because contradictory removal efficiencies have been observed. In some studies erythromycin was not eliminated from the water phases in WWTPs (Gobel et al. 2005, Miego et al. 2008). However, in some others erythromycin was highly biodegradable under aerobic conditions (but persistent in anoxic reactor) (Suarez et al. 2010). A very good biodegradation of erythromycin (ranging from 50 to 80 %) in a reactor with aerobic and anoxic periods was reported by Pasquini et al. (2012).

c) The behavior of 4-NP and PFOS deserves special attention. In the three sampling campaigns the concentrations of 4-NP were higher in the treated outlet water than in the inlet wastewater and the same phenomena was observed for PFOS during the summer 2011 campaign. The measured concentrations were above the method quantification limits, therefore it cannot be an analytical random. It has been reported (Rhoads et al. 2008, Vega Morales et al. 2009) that the degradation of nonylphenol ethoxylates into nonylphenol and N-ethylperfluorooctan sulfonamidoethanol (N-EtFOSE) into PFOS can take place during the biological process. These reactions can explain the increase of 4-nonylphenol and PFOS concentrations through the WWTP process.

This study allowed to obtain data about the influent and effluent concentrations of micropollutants in water, and to assess the elimination of the target compounds from the

liquid phase. To answer the question whether the micropollutants removal from liquid phase is due to biological degradation or due to the displacement of pollution to the solid phase, measurements were performed on particulate matter and sludge. The table 5 presents the concentrations of the target compounds in the particulate matter of the inlet wastewater, in activated sludge, and in dehydrated outlet sludge.

The analysis showed that ibuprofen was not adsorbed on solid phases (particulate matter and sludge). This suggests that ibuprofen elimination from the liquid phase was due to the degradation by the biological treatment (and not by adsorption on the sludge). Erythromycin and sucralose were neither adsorbed on the sludge nor eliminated from the liquid phase and consequently they were released by the WWTP effluent to the river.

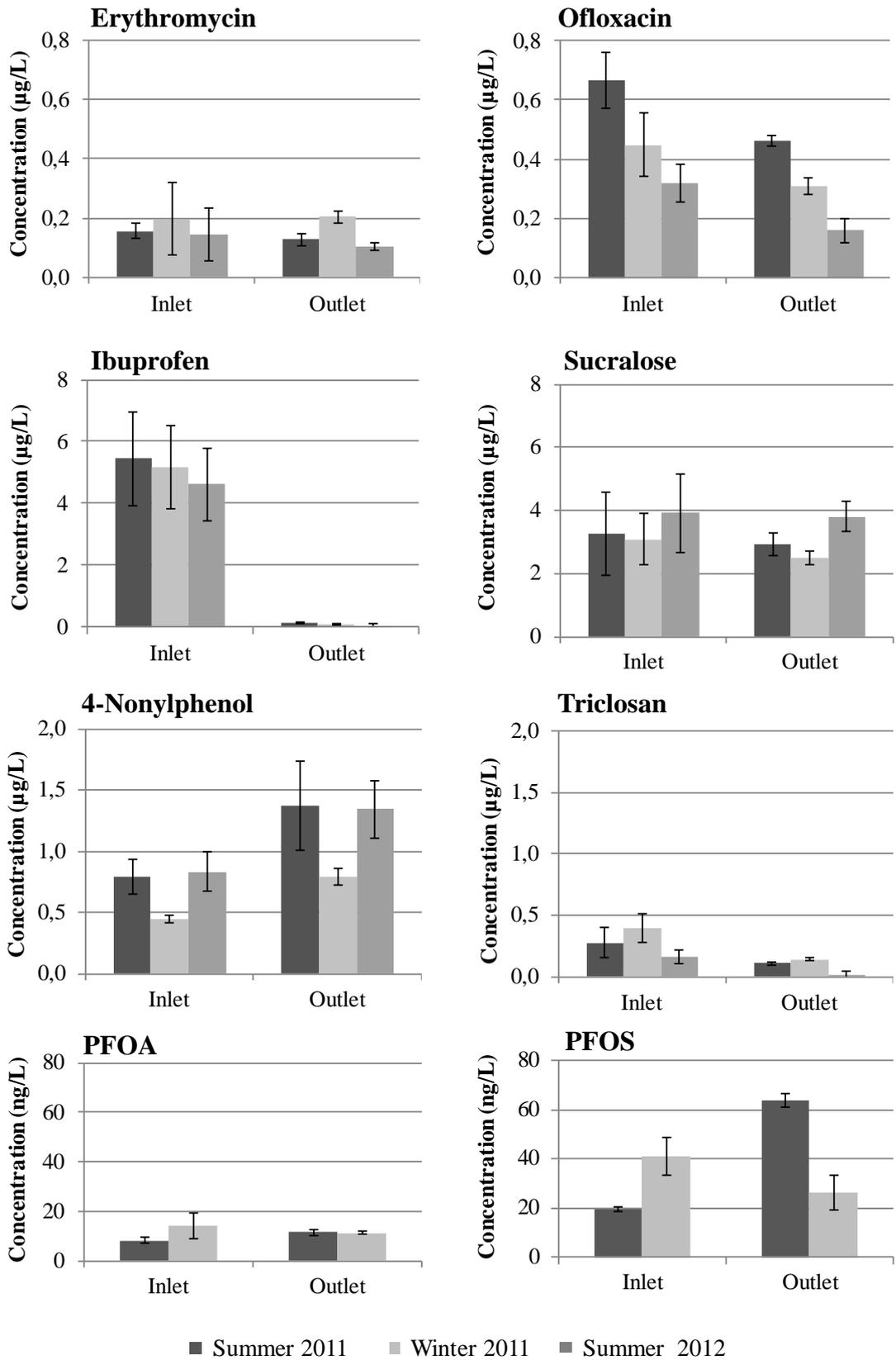
Ofloxacin, 4-nonylphenol, triclosan, PFOA and PFOS were adsorbed on solid phases, on the inlet particulate matter and the outlet sludge. It means that they enter the WWTP by the wastewater solid and liquid phases and they were adsorbed on the outlet dehydrated sludge. The inlet and outlet concentrations on the solids were rather similar (table 5) keeping in mind that the dehydrated sludge results from codigestion of primary sludge and wasted activated sludge.

According to literature, triclosan is essentially biodegraded (Singer et al. 2002) and ofloxacin is first quickly removed from the liquid phase by adsorption on solid phases (Cha et al. 2006, Lindberg et al. 2006), and then degraded by the biological treatment (Radjenovic et al. 2009, Li and Zhang 2010).

4-Nonylphenol is known to adsorb on solid matter and to be biodegraded in aerobic conditions (Topp and Starratt 2000, De Weert et al. 2008). Concentrations measured in this study were low (0.1 – 0.7 mg/kg), and much lower than those reported in literature which were from 1.0 mg/kg (Pothitou and Voutsas 2008) to 500 mg/kg (Lee and Peart 1995).

PFOA concentrations (10 ng/L) remained identical (inlet and outlet values) in liquid phase and was detected in solid phase at very low concentrations (under MQL = 8 ng/g). Thus PFOA seems to pass through the WWTP without being affected by the treatment process.

PFOS concentrations in the solid phase appeared to increase in the outlet sludge and during one campaign it increased also in the liquid phase. The PFOS concentration may increase because of the degradation of its precursors, therefore no conclusions may be done about their fate in the WWTP. PFOS, more hydrophobic than PFOA, was adsorbed on sludge at higher concentration than PFOA.



**Figure 3. Daily mean concentrations of the target compounds in the liquid phase at inlet and outlet of the WWTP for the three sampling campaigns. PFOA and PFOS were measured only in two campaigns (summer and winter 2011).**

**Table 5. Concentrations of the target compounds in the solid phases of WWTP influent (particulate matter of the inlet wastewater) and in activated sludge and outlet sludge.**

	Particulate matter ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Activated sludge ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Dehydrated sludge ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
<u>Summer 2011</u>			
4-Nonylphenol	95	166	n.a.
Ofloxacin	507	400	n.a.
Triclosan	265	383	n.a.
PFOA	< MQL	< MQL	n.a.
PFOS	< MQL	$97 \cdot 10^{-3}$	n.a.
Erythromycin	n.d.	n.d.	n.a.
Ibuprofen	n.d.	n.d.	n.a.
Sucralose	n.d.	n.d.	n.a.
<u>Winter 2011</u>			
4-Nonylphenol	793	115	1278
Ofloxacin	170	183	233
Triclosan	1002	415	974
PFOA	< MQL	< MQL	< MQL
PFOS	$8 \cdot 10^{-3}$	$18 \cdot 10^{-3}$	$25 \cdot 10^{-3}$
Erythromycin	n.d.	n.d.	n.d.
Ibuprofen	n.d.	n.d.	n.d.
Sucralose	n.d.	n.d.	n.d.
<u>Summer 2012</u>			
4-Nonylphenol	160	228	184
Ofloxacin	171	68	24
Triclosan	368	433	748
Erythromycin	n.d.	n.d.	n.d.
Ibuprofen	n.d.	n.d.	n.d.
Sucralose	n.d.	n.d.	n.d.

n.d.: not detected, under method detection limit (MDL)

MQL: method detection limit

n.a.: not analyzed

### **3.4. Multivariate statistical analysis**

Statistical methods can be a useful tool to seek empirical relationships in complex systems with many variables in order to describe or reveal some behaviors, properties or phenomena. Thanks to statistical methods it is then possible to look for a physical explanation to a system and describe for example the functioning of a WWTP (Avella et al. 2011). On the other hand, a change of correlation coefficients or non-suitability of new measures by the previously established model could be a relevant way to detect a modified functioning of the WWTP (Kiss et al. 2011).

#### **3.4.1. Normalized Principal Component Analysis (PCA)**

Concentrations of macro and micropollution measured over three campaigns at the WWTP were submitted to statistical analysis by PCA (Lebart et al. 1979). This statistical method is an observation tool that enables the description of the facts and relationships among measured variables. It is a projection method which allows the analysis of correlations among variables by displaying them on correlation circles. Only variables whose projections are far from the center are well statistically explained in the system and were considered here. Variables with projections close to each other are in normal correlation, those related by a 180° rotation are inversely correlated, and those related by a 90° rotation are independent. Statistically well explained variables are independent of unexplained ones. The correlations were calculated according to the Pearson coefficient. Therefore, it must be noted that the correlations used here seek to demonstrate linear relationships between variables. Accordingly, the lack of correlations does not necessarily mean that there are no relations between the variables.

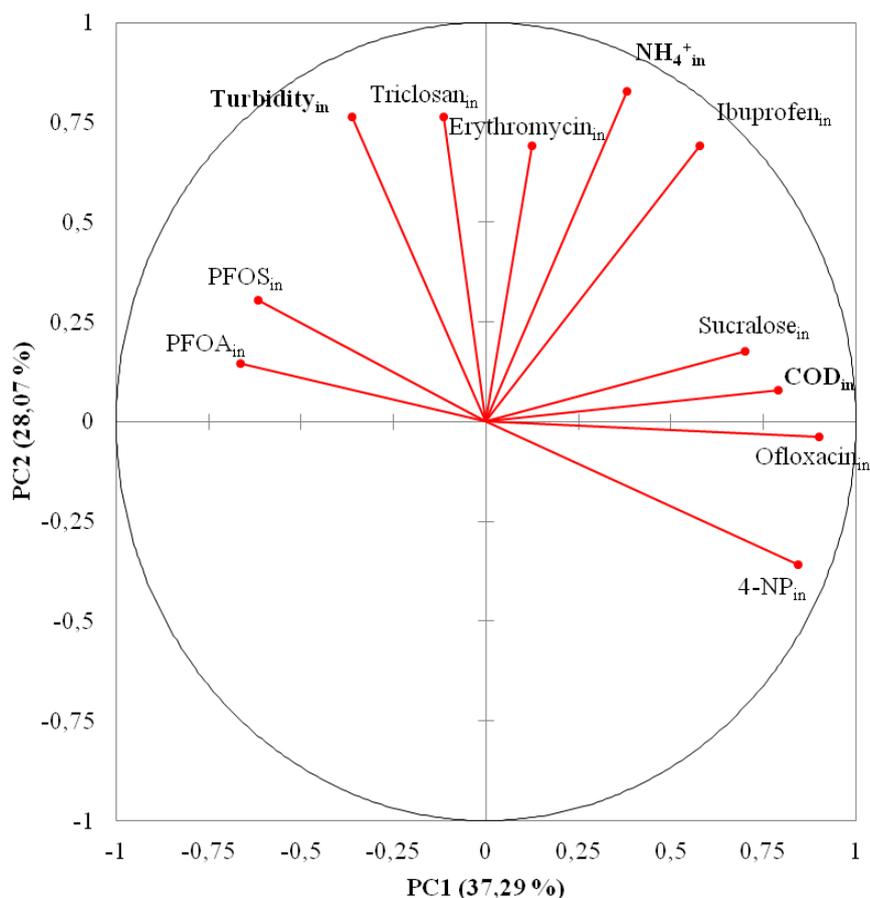
##### **3.4.1.1. Relations among macro and micropollution entering the WWTP**

The PCA of the measured concentrations of micro and macropollution in inlet wastewater is displayed in figure 4. The first three axes of principal components were considered, they explain 76.59 % of the variability of the data. The first two axes (PC1 & PC2) explaining the highest variability of the data, are presented here. The following positive correlations between macro and micropollution entering the WWTP were identified:

- Inlet triclosan concentration correlated with inlet turbidity
- Inlet ibuprofen and erythromycin concentrations correlated with inlet ammonium concentration
- Inlet sucralose and ofloxacin concentrations correlated with inlet COD
- Macropollution parameters not correlated together

PFOA, PFOS and 4-nonylphenol were independent from inlet macropollution parameters (their concentrations were not correlated with the inlet COD, ammonium concentration or turbidity). However PFOA was correlated with PFOS.

Once correlations among parameters were established, binary diagrams (not presented here) were used to confirm correlation between inlet micro and macropollution.



**Figure 4. Correlation circle of measured parameters (macro and micropollution) in inlet wastewater of the WWTP, obtained by PCA (PC1 & PC2).**

### 3.4.1.2. Relations between inlet and outlet micro and macropollution

The PCA of the concentrations of micro and macropollution in the inlet wastewater and outlet treated water is displayed in figure 5. The first two axes of principal components (57.59 %) are presented here. To explain more variability of the data, five axes should be considered (78.07 %).

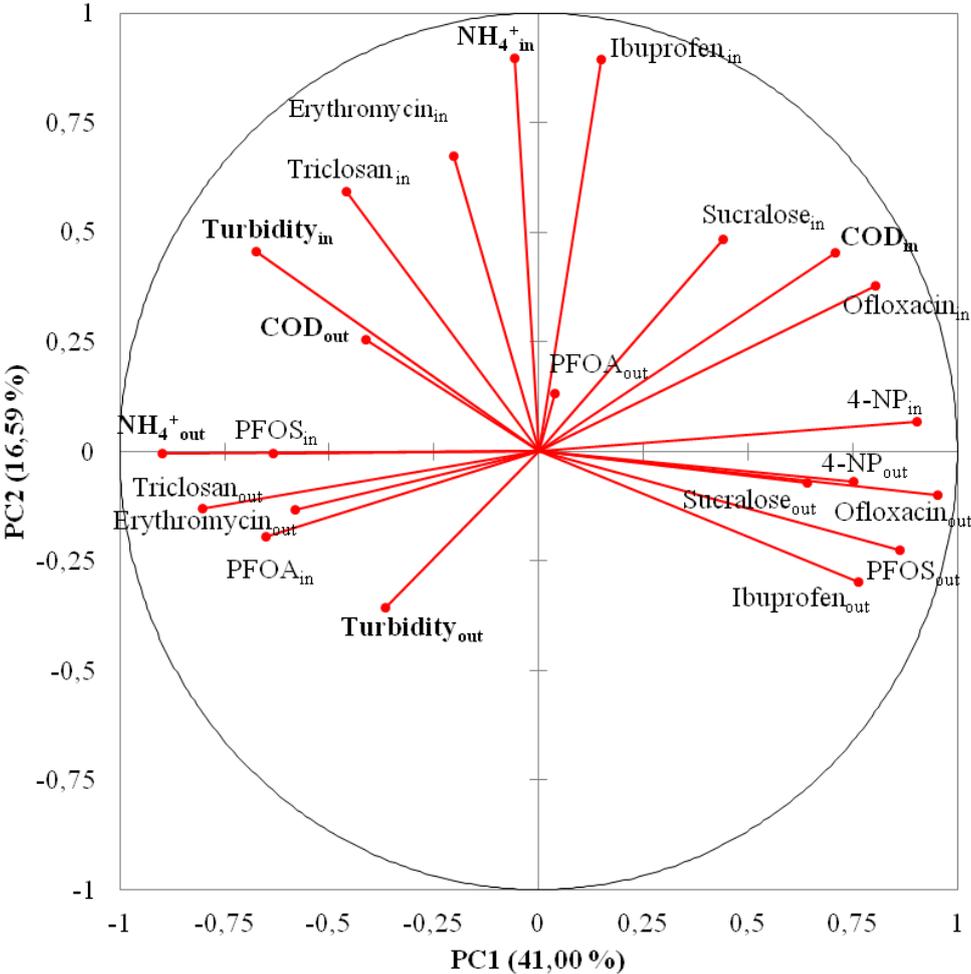
Two groups of parameters are opposed along the first axis (PC1), on the negative side  $\text{NH}_4^+$ out, Triclosanout, PFOAin, PFOSin and erythromycinout; on the positive side, 4-NP<sub>in</sub>, 4-NP<sub>out</sub>, Sucraloseout, Ofloxacinout, PFOSout and Ibuprofèneout. The second axis (PC2) is mainly driven by  $\text{NH}_4^+$ in, Ibuprofenin and Erythromycinin that constitutes a group independent of the first two groups.

Roughly, outlet macropollution parameters (COD,  $\text{NH}_4^+$ , and turbidity) are independent (90°) from inlet macropollution parameters. In the same way, ibuprofen and triclosan outlet concentrations were also independent from their inlet concentrations. This reflects the WWTP process efficiency: the entering macro and micropollutants (ibuprofen and triclosan) were well removed whatever their inlet concentrations (see table 3 and 4 for macropollution and figure 3 for micropollution).

Positive correlations were identified for ofloxacin and 4-NP:

- Outlet ofloxacin concentration correlated with inlet ofloxacin concentration. It reflects its partial removal with a constant yield.
- Outlet 4-nonylphenol correlated with its inlet concentration.

Outlet sucralose, PFOA, COD, turbidity and inlet PFOS were not well explained (near the center), and projections of these parameters were not well explained either considering axes of higher rank.



**Figure 5. Correlation circle of measured parameters (macro and micropollution concentrations) in inlet wastewater (with “in” index) and outlet treated water of the WWTP (with “out” index), obtained by PCA (PC1 & PC2)**

### 3.4.2. Multiple linear regression

Once correlations between micro and macropollution observed on correlation circles, the multiple linear regression (MLR) was used to describe and analyze them. MLR allows to explain quantitatively a variable (a micropollutant concentration) as function of other variables (macropollution parameters).

First, we tried to describe the pollution entering the WWTP, seeking relationships between micro and macropollution. In a second step, we looked if some relationships exist between the outlet micropollution and inlet micropollution and outlet macropollution. Finally, we examined if it was possible to describe the outlet micropollution as function of inlet and outlet macropollution (easily and daily measured at the WWTP).

#### 3.4.2.1. Relations between inlet micropollutants and inlet macropollutants concentrations

The MLR was used to try to describe inlet concentrations of one micropollutant by numerical expressions relating it to three (easy to measure) inlet macropollution variables: COD, ammonium concentration ( $\text{NH}_4^+$ ) and turbidity:

$$C \text{ micro}_{in}^{calc} = f(C \text{ macro}_{in}^M) \quad (1)$$

Where  $C \text{ micro}_{in}^{calc}$  is the calculated inlet concentration of micropollutant (in  $\mu\text{g/L}$  and  $\text{ng/L}$  for PFAAs), and  $C \text{ macro}_{in}^M$  is the measured macropollution, at the inlet of the WWTP, expressed in terms of COD ( $\text{mg/L}$ ),  $\text{NH}_4^+$  ( $\text{mg/L}$ ) and turbidity (NTU).

Considering the complexity of the system, only simple types of regressions were examined: linear, square, logarithm, and inverse functions were considered. The accuracy of numerical expressions to describe the parameters (the intensity of the relationships) was estimated by the correlation coefficient ( $r$ ) between the measured micropollutant concentrations and the values given by its regression model. The use of transformations (square, logarithm, and inverse) has not brought a significant increase in correlation degrees. Thus, only coefficients of linear expressions are presented here (table 6).

**Table 6. Structures of the linear regressions describing the inlet micropollutant concentrations as function of macropollution measured at the inlet of the WWTP, and correlation coefficients ( $r$ ) of the models.**

	Constant	COD <sub>in</sub>	$\text{NH}_4^+$ <sub>in</sub>	Turbidity <sub>in</sub>	$r$
Ibuprofen <sub>in</sub>	1.509	0.00225	0.08460	0.00087	0.744
Erythromycin <sub>in</sub>	0.026	0.00003	0.00213	0.00023	0.673
Ofloxacin <sub>in</sub>	0.078	0.00076	0.00371	0.00074	0.594
Triclosan <sub>in</sub>	-0.022	0.00017	-0.00035	0.00146	0.702
Sucralose <sub>in</sub>	0.721	0.00358	0.10180	-0.00608	0.748
4-NP <sub>in</sub>	0.807	0.00177	-0.00092	-0.00188	0.862
PFOA <sub>in</sub>	10.026	-0.02430	-0.02191	0.02138	0.583
PFOS <sub>in</sub>	29.438	-0.08608	-0.38320	0.11262	0.772

Figure 6 presents the measured and the calculated micropollutants concentrations. Full lines represent the margin of error of about twice the standard deviation, the 95 % confidence interval.

A good reliability was obtained for all of the expressions: the calculated values followed the same tendency as the measured values with about 95 % of probability. Nevertheless,

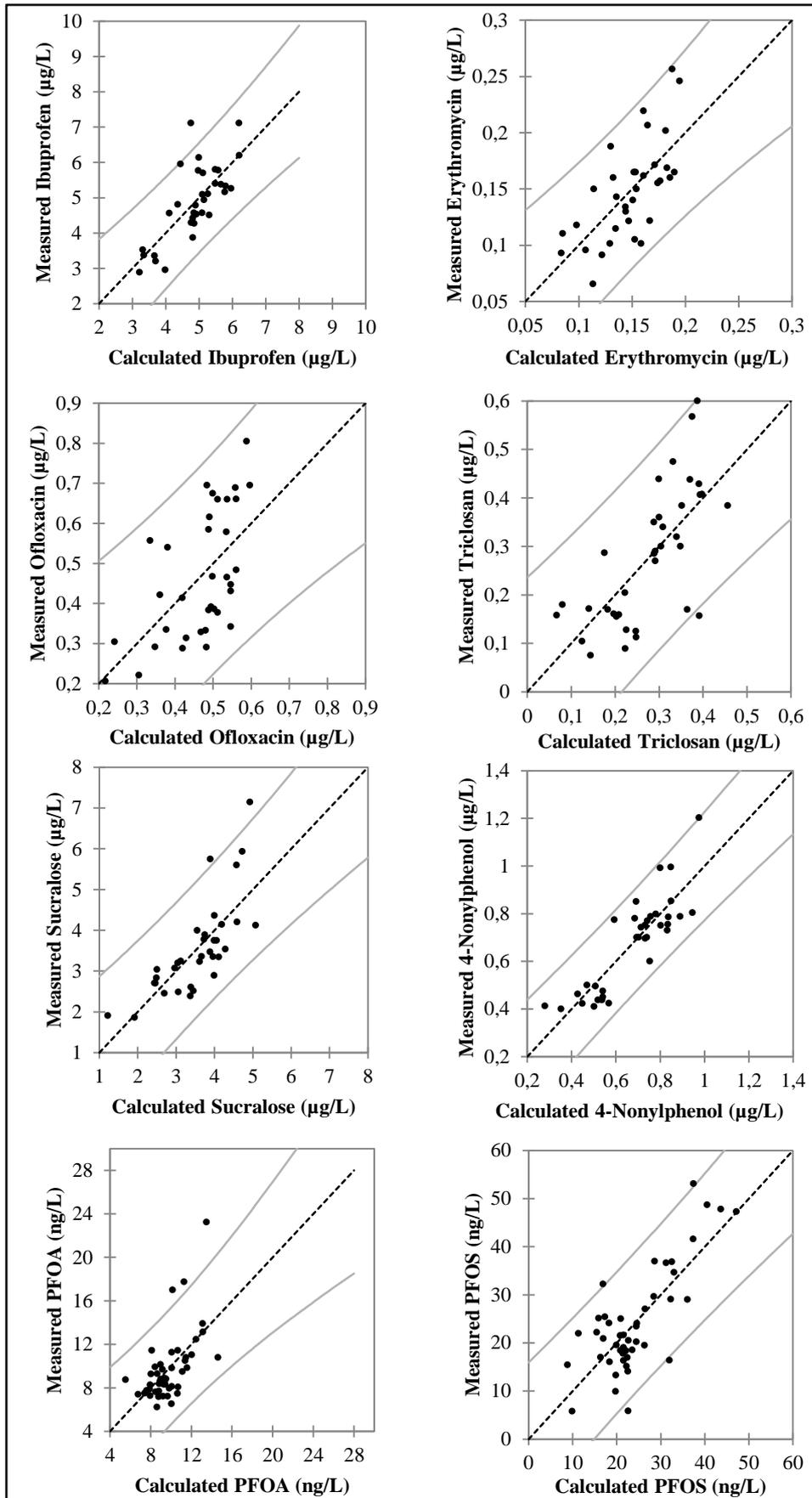
ofloxacin and PFOA present quite low regression coefficients which can be attributed to some extreme measured concentrations (pollution peaks).

Ibuprofen, PFOA and PFOS concentrations were essentially determined by a constant. It means that they enter the studied WWTP in quasi-constant concentration which is probably inherent to the human activity in this catchment area. This constant reflects also the fact that their mean inlet concentrations depend only slightly on the measured macropollution parameters.

Table 7 shows correlations coefficients between the micro and macropollution parameters (coefficients from the correlation matrix). It is interesting to notice that the correlations with ammonium concentration (which is essentially issued from urine) are strong for the micropollutants released in wastewater by the human body (erythromycin, ofloxacin, ibuprofen and sucralose).

**Table 7. Correlations between the micro and macropollution parameters. Maximum correlations bolded.**

	COD <sub>in</sub>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> <sub>in</sub>	Turbidity <sub>in</sub>
Ibuprofen <sub>in</sub>	0.407	<b>0.734</b>	0.368
Erythromycin <sub>in</sub>	0.241	<b>0.607</b>	0.551
Ofloxacin <sub>in</sub>	0.398	<b>0.492</b>	0.422
Triclosan <sub>in</sub>	0.080	0.368	<b>0.698</b>
Sucralose <sub>in</sub>	0.502	<b>0.631</b>	-0.006
4-NP <sub>in</sub>	0.546	-0.127	<b>-0.666</b>
PFOA <sub>in</sub>	<b>-0.410</b>	-0.014	0.382
PFOS <sub>in</sub>	<b>-0.503</b>	-0.174	0.487



**Figure 6. Measured and calculated micropollutants concentrations at the inlet of the WWTP. The calculated values were obtained by the expressions of table 6.**

### 3.4.2.2. Relations between outlet concentrations of micropollutants and measured inlet micropollution and outlet macropollution

The MLR was then used to describe outlet concentrations of one micropollutant by numerical expressions composed of the outlet measured macropollution variables (COD, ammonium concentration and turbidity) and the measured inlet micropollutant concentration:

$$C_{micro_{out}}^{calc} = f(C_{macro_{out}}^M, C_{micro_{in}}^M) \quad (2)$$

$C_{micro_{out}}^{calc}$  is the calculated concentration of micropollutant (in  $\mu\text{g/L}$ , and  $\text{ng/L}$  for PFAAs) at the outlet of the WWTP,  $C_{macro_{out}}^M$  is expressed in terms of COD ( $\text{mg/L}$ ),  $\text{NH}_4^+$  ( $\text{mg/L}$ ) and turbidity (NTU), and is measured at the outlet of the WWTP, and  $C_{micro_{in}}^M$  is the measured concentration of micropollutant (in  $\mu\text{g/L}$  or  $\text{ng/L}$ ) at the inlet of the WWTP.

Coefficients of linear numerical expressions of these models and correlations ( $r$ ) between the measured micropollutant concentrations and the values given by its regression model are presented below on table 7. Figure 7 shows the measured and the calculated micropollutants concentrations at the outlet of the WWTP. Full lines represent the margin of error of about twice the standard deviation, the 95 % confidence interval.

**Table 7. Structures of the linear regressions modeling the outlet micropollutant concentrations as function of macropollution measured at the outlet of the WWTP and micropollution measured at the inlet, and correlation coefficients ( $r$ ) of the models.**

	Constant	COD <sub>out</sub>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> <sub>out</sub>	Turbidity <sub>out</sub>	Micro <sub>in</sub>	$r$
Ibuprofen <sub>out</sub>	0.054	0.00059	-0.00585	0.00563	-0.00216	0.600
Erythromycin <sub>out</sub>	0.106	-0.00032	0.00298	0.00461	0.01395	0.776
Ofloxacin <sub>out</sub>	0.051	0.00202	-0.01614	0.01550	0.25100	0.847
Triclosan <sub>out</sub>	0.111	-0.00035	0.00481	-0.00096	0.00575	0.794
Sucralose <sub>out</sub>	3.012	0.00137	-0.03874	-0.00853	0.03256	0.535
4-NP <sub>out</sub>	1.114	-0.00487	-0.04359	0.02423	0.41776	0.772
PFOA <sub>out</sub>	12.226	-0.01250	0.12173	-0.05018	-0.05450	0.295
PFOS <sub>out</sub>	97.127	0.12052	-3.07105	-1.52455	-0.18616	0.764

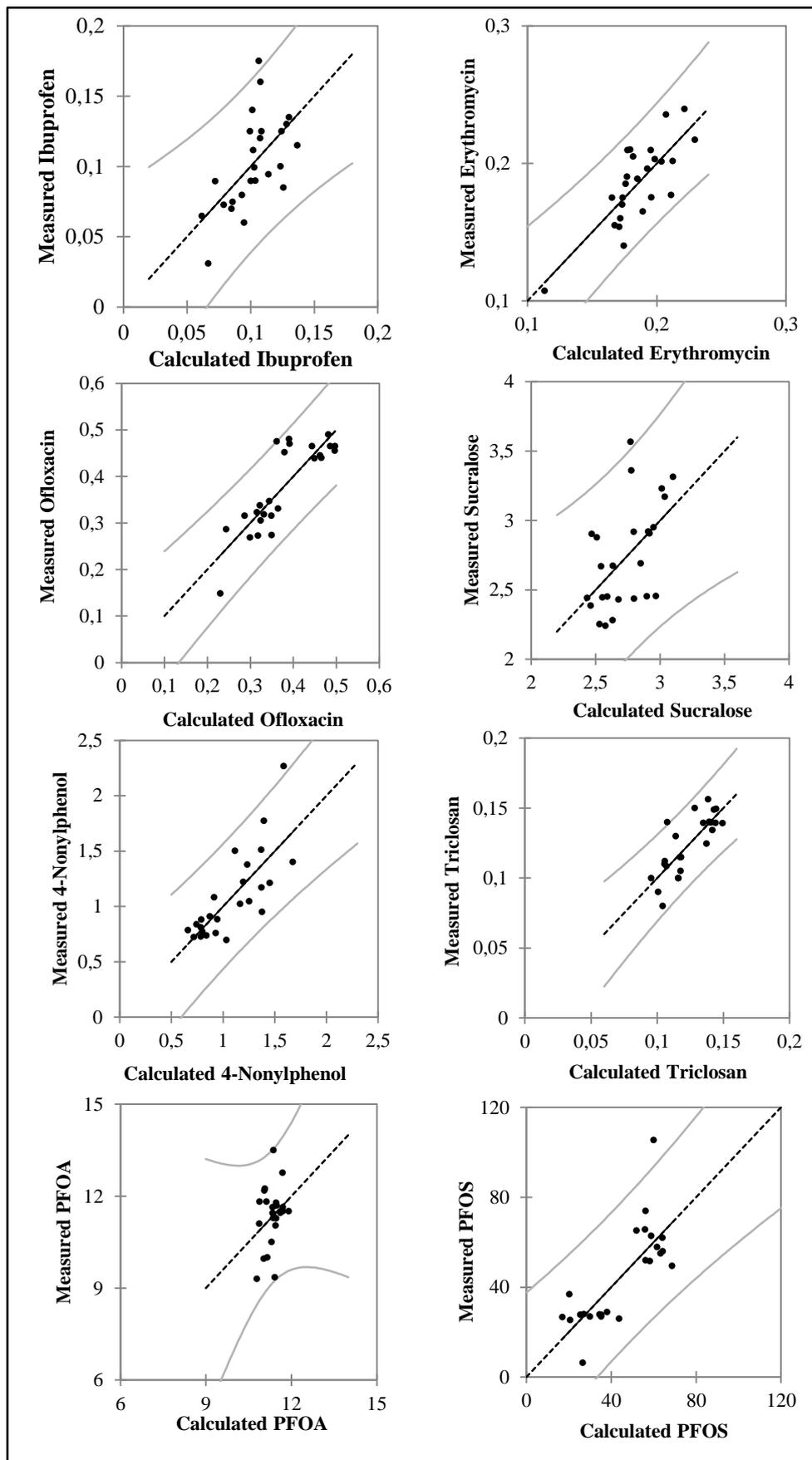
A good reliability was obtained by all of the expressions: according to the binary diagrams (measured function of calculated concentrations) (figure 7) all the points were in the 95 % confidence interval. However, sucralose and PFOA concentrations present low regression coefficients ( $r = 0.535$  and  $0.295$  resp.) resulting from weak links of these molecules concentrations with the used macro and micropollution parameters. The chosen parameters might be irrelevant for the modeling of these micropollutants which present low variability of concentrations.

The following observations can be made:

- Ibuprofen and triclosan (well eliminated from the liquid phase) outlet concentrations were not dependent on their inlet concentrations and were related slightly to  $\text{NH}_4^+$  concentration and turbidity. Their constants (0.05 and 0.11 resp.) correspond approximately to their mean outlet concentrations.
- Ofloxacin and 4-NP outlet concentrations were predominantly dependent on their inlet concentrations (it was also observed in PCA correlation circle). However, their behavior in the wastewater treatment process is radically different: ofloxacin was always eliminated at

approximately 25 % from wastewater while 4-nonylphenol concentration in liquid phase increased at the outlet of the WWTP by about 50 % (compared to the inlet wastewater concentration), whatever were their inlet concentrations.

- Erythromycin, sucralose, PFOA and PFOS, which were not removed from wastewater, were essentially determined by constants (respectively 0.10, 3.0, 12.2, and 97.1) which correspond approximately to their mean inlet (and also outlet) concentrations. These compounds are not at all depending on macropollution parameters.



**Figure 7. Measured and calculated micropollutants concentrations at the outlet of the WWTP. Calculated concentrations were obtained by the expressions of table 7.**

### 3.4.2.3. Relations between outlet micropollutants concentrations and measured inlet and outlet macropollution

The relations between the inlet micro and macropollution were successfully established in the studied WWTP by relation (1). Thus combining relations (2) and (1), we tried to assess if it would be possible to estimate the micropollution released in water bodies only by the measurement of inlet and outlet macropollution concentrations (daily measured in a WWTP).

$$C_{micro_{out}^{est}} = f(C_{macro_{out}^M}, C_{macro_{in}^M}) \quad (3)$$

Linear numerical expressions are given in table 8 and the figure 8 present the measured and the calculated micropollutants concentrations at the outlet of the WWTP. A good reliability was also obtained by all of the expressions: the calculated micropollutants concentrations follow the same tendency as the measured values (high regression coefficient, r).

**Table 8. Structures of the linear regressions describing the outlet micropollutant concentrations as function of macropollution measured at the inlet and outlet of the WWTP, and correlation coefficients (r) of the models.**

	Constant	COD <sub>out</sub>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> <sub>out</sub>	Turb. <sub>out</sub>	COD <sub>in</sub>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> <sub>in</sub>	Turb. <sub>in</sub>	r
Ibuprofen <sub>out</sub>	0.061	0.0005	-0.0054	0.0069	-0.0001	-0.0003	-0.0001	0.670
Ery <sub>out</sub>	0.078	-0.0002	0.0004	0.0052	-0.0001	-0.0007	0.0003	0.920
Ofloxacin <sub>out</sub>	-0.013	0.0025	-0.0168	0.0246	0.0005	-0.0006	-0.0001	0.882
Triclosan <sub>out</sub>	-0.038	0.0003	0.0020	0.0042	0.0000	-0.0005	0.0003	0.880
Sucralose <sub>out</sub>	4.225	-0.0062	-0.0101	-0.0468	0.0012	-0.0041	-0.0016	0.746
4-NP <sub>out</sub>	1.411	-0.0025	-0.0518	0.0323	0.0005	0.0023	-0.0016	0.776
PFOA <sub>out</sub>	12.380	0.0052	-0.0590	-0.0464	-0.0040	0.0017	0.0052	0.738
PFOS <sub>out</sub>	87.334	-0.0135	-1.1766	-0.1240	0.0736	-0.1717	-0.1446	0.837

This study allowed to draw correlations between the micropollutants outlet concentration of the studied WWTP and its inlet and outlet macropollution parameters. The obtained models need, of course, a validation on other sampling campaigns. However this approach seems to be a way to estimate the micropollutants outlet concentrations released in the receiving body measuring only macropollution parameters.

The WWTP operators are often searching tools to estimate some parameters without measuring them. This is even more important for micropollutants whose analyses are very complex, requiring special equipment and skills. In the studied WWTP, the estimation will be possible supposing two conditions which are quite plausible: the WWTP will work in stationary regime (as it was the case during our measurements) and the behavior of the population in the urban area draining wastewaters in the WWTP will remain non-changed. If some technological changes at the WWTP would occur, new correlations should be looked for.

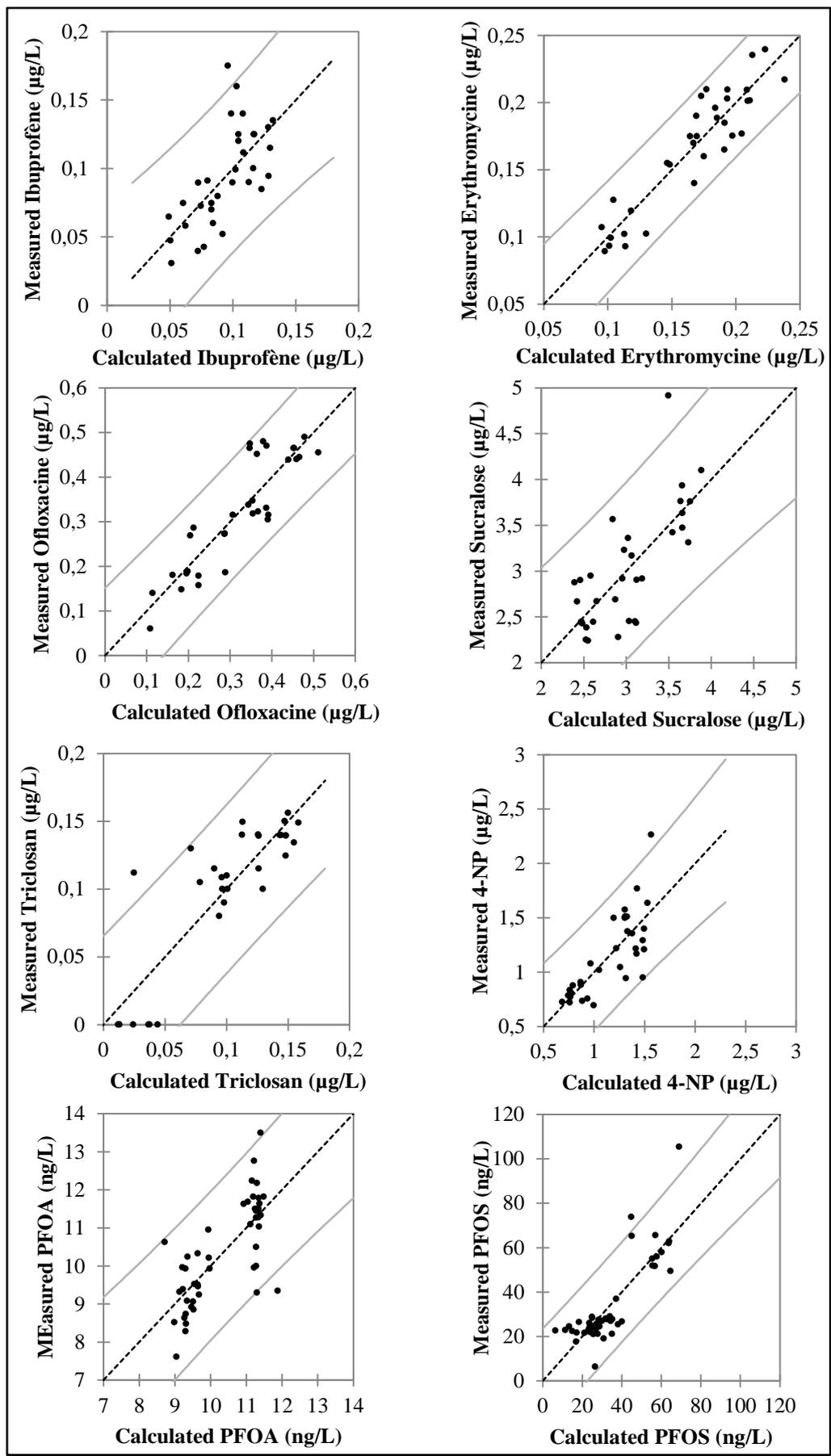


Figure 8. Measured and calculated micropollutants concentrations at the outlet of the WWTP. Calculated concentrations were obtained by MLR of measured inlet and outlet macropollution parameters (relations presented in Table 8).

#### **4. Conclusions**

The presence of eight micropollutants issued from domestic activity in the sewage of two urban areas reflected some specific human activities or seasonal behavior. The assessment of their fate in urban WWTP allowed to draw up an inventory of released micropollutants concentrations.

Though the biological treatment process achieved a significant removal of the macropollution and at least satisfactory removal rates for several micropollutants (ibuprofen, triclosan and ofloxacin), some micropollutants (erythromycin, 4-nonylphenol, sucralose and PFOA and PFOS) were not at all removed from the wastewater and were released in the receiving water body. Their outlet concentrations were low (several ng up to  $\mu\text{g/L}$ ), however, considering millions of  $\text{m}^3$  of treated water daily released by numerous of WWTPs, it appears necessary to answer the question whether these micropollutants (bioaccumulative and persistent) may have an impact on the aquatic environment.

Moreover, some micropollutants were more or less displaced to the solid phase. They adsorbed on it and were found in the outlet WWTP sludge. Thus, e.g. triclosan and ofloxacin, biologically active molecules, can impact the soil microbial activity through the land farming, and nondegradable PFAAs and 4-NP may enter again in the water circle.

The used statistical methods (APC and MLR) allowed diagnosis of the studied WWTP functioning relating the WWTP inlet and outlet micropollutants concentrations to inlet and outlet macropollution parameters. This statistical approach can be a useful tool to characterize any WWTP and could allow to estimate the micropollution outgoing from the WWTP without measuring it systematically (which is beyond the WWTP laboratory scopes).

#### **5. Acknowledgements**

We would like to thank Veolia group, operators of the WWTP in Nancy-Maxéville for allowing us access to the treatment plant, professor José Ragot from the CRAN (Centre de Recherche en Automatique de Nancy) for his valuable advices in statistics, as well as the Grand Nancy, the Zone Atelier Moselle and the Region Lorraine.

## References

- Avella, A.C., Gorner, T., Yvon, J., Chappe, P., Guinot-Thomas, P. and de Donato, P., 2011. A combined approach for a better understanding of wastewater treatment plants operation: Statistical analysis of monitoring database and sludge physico-chemical characterization. *Water Research* 45(3), 981-992.
- Balch, G. and Metcalfe, C., 2006. Developmental effects in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to nonylphenol ethoxylates and their degradation products. *Chemosphere* 62(8), 1214-1223.
- Baquero, F., Martínez, J.L. and Cantón, R., 2008. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Current Opinion in Biotechnology* 19(3), 260-265.
- Boiteux, V., Dauchy, X., Rosin, C. and Munoz, J.F., 2012. National Screening Study on 10 Perfluorinated Compounds in Raw and Treated Tap Water in France. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 63(1), 1-12.
- Brorström-Lundén, E., Svenson, A., Viktor, T., Woldegiorgis, A., Remberger, M. and Kaj, L., 2008. Measurement of surcalose in the Swedish screening program 2007. Swedish environmental research institute.
- Buck, R.C., Franklin, J., Berger, U., Conder, J.M., Cousins, I.T., de Voogt, P., Jensen, A.A., Kannan, K., Mabury, S.A. and van Leeuwen, S.P., 2011. Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the environment: terminology, classification, and origins. *Integrated Environment Assessment and Management* 7(4), 513-541.
- Buerge, I.J., Keller, M., Buser, H.R., Müller, M.D. and Poiger, T., 2011. Saccharin and other artificial sweeteners in soils: Estimated inputs from agriculture and households, degradation, and leaching to groundwater. *Environmental Science and Technology* 45(2), 615-621.
- Buser, H.R., Poiger, T. and Muller, M.D., 1999. Occurrence and environmental behavior of the chiral pharmaceutical drug ibuprofen in surface waters and in wastewater. *Environmental science & technology* 33(15), 2529-2535.
- Cha, J.M., Yang, S. and Carlson, K.H., 2006. Trace determination of beta-lactam antibiotics in surface water and urban wastewater using liquid chromatography combined with electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1115(1-2), 46-57.
- De Weert, J., De La Cal, A., Van den Berg, H., Murk, A., Langenhoff, A., Rijnaarts, H. and Grotenhuis, T., 2008. Bioavailability and biodegradation of nonylphenol in sediment determined with chemical and bioanalysis. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27(4), 778-785.
- Gobel, A., McArdell, C.S., Suter, M.J.F. and Giger, W., 2004. Trace determination of macrolide and sulfonamide antimicrobials, a human sulfonamide metabolite, and trimethoprim in wastewater using liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 76(16), 4756-4764.
- Gobel, A., Thomsen, A., McArdell, C.S., Alder, A.C., Giger, W., Theiss, N., Löffler, D. and Ternes, T.A., 2005. Extraction and determination of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in sewage sludge. *Journal of Chromatography A* 1085(2), 179-189.
- Houhou, J., Lartiges, B.S., France-Lanord, C., Guilmette, C., Poix, S. and Mustin, C., 2010. Isotopic tracing of clear water sources in an urban sewer: A combined water and dissolved sulfate stable isotope approach. *Water Research* 44(1), 256-266.
- Ishibashi, H., Matsumura, N., Hirano, M., Matsuoka, M., Shiratsuchi, H., Ishibashi, Y., Takao, Y. and Arizono, K., 2004. Effects of triclosan on the early life stages and reproduction of medaka *Oryzias latipes* and induction of hepatic vitellogenin. *Aquatic Toxicology* 67(2), 167-179.
- Joensen, U.N., Bossi, R., Leffers, H., Jensen, A.A., Skakkebaek, N.E. and Jørgensen, N., 2009. Do Perfluoroalkyl compounds impair human semen quality? *Environmental Health Perspectives* 117(6), 923-927.
- Kiss, A.M.N., Marx, B., Mourot, G., Schutz, G. and Ragot, J., 2011. Observers design for uncertain Takagi-Sugeno systems with unmeasurable premise variables and unknown inputs. Application to a wastewater treatment plant. *Journal of Process Control* 21(7), 1105-1114.
- Kissa, E. (2001) *Fluorinated surfactants and repellents*, Marcel Dekker, New York.

- Kümmerer, K., 2001. Drugs in the environment: Emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources - A review. *Chemosphere* 45(6-7), 957-969.
- Lebart, L., Morineau, A. and Fénelon, J.P. (1979) *Traitement des données statistiques*.
- Lee, H.B. and Peart, T.E., 1995. Determination of 4-nonylphenol in effluent and sludge from sewage treatment plants. *Analytical Chemistry* 67(13), 1976-1980.
- Lee, H.B., Peart, T.E. and Svoboda, M.L., 2007. Determination of ofloxacin, norfloxacin, and ciprofloxacin in sewage by selective solid-phase extraction, liquid chromatography with fluorescence detection, and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1139(1), 45-52.
- Li, B. and Zhang, T., 2010. Biodegradation and Adsorption of Antibiotics in the Activated Sludge Process. *Environmental science & technology* 44(9), 3468-3473.
- Lillenberg, M., Yurchenko, S., Kipper, K., Herodes, K., Pihl, V., Sepp, K., Löhmus, R. and Nei, L., 2009. Simultaneous determination of fluoroquinolones, sulfonamides and tetracyclines in sewage sludge by pressurized liquid extraction and liquid chromatography electrospray ionization-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1216(32), 5949-5954.
- Lindberg, R.H., Olofsson, U., Rendahl, P., Johansson, M.I., Tysklind, M. and Andersson, B.A.V., 2006. Behavior of fluoroquinolones and trimethoprim during mechanical, chemical, and active sludge treatment of sewage water and digestion of sludge. *Environmental science & technology* 40(3), 1042-1048.
- Lindström, A., Buerge, I.J., Poiger, T., Bergqvist, P.A., Müller, M.D. and Buser, H.R., 2002. Occurrence and environmental behavior of the bactericide triclosan and its methyl derivative in surface waters and in wastewater. *Environmental Science and Technology* 36(11), 2322-2329.
- Liu, C., Gin, K.Y.H., Chang, V.W.C., Goh, B.P.L. and Reinhard, M., 2011. Novel perspectives on the bioaccumulation of PFCs - The concentration dependency. *Environmental Science and Technology* 45(22), 9758-9764.
- Liu, F., Ying, G.G., Yang, L.H. and Zhou, Q.X., 2009. Terrestrial ecotoxicological effects of the antimicrobial agent triclosan. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72(1), 86-92.
- Loos, R., Gawlik, B.M., Boettcher, K., Locoro, G., Contini, S. and Bidoglio, G., 2009. Sucralose screening in European surface waters using a solid-phase extraction-liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry method. *Journal of Chromatography A* 1216(7), 1126-1131.
- Miège, C., Choubert, J.M., Ribeiro, C., Eusèbe, M. and Coquery, M., 2008. Removal efficiency of pharmaceuticals and personal care products with varying wastewater treatment processes and operating conditions - conception of a database and first results. *Water Science and Technology*.
- Miege, C., Choubert, J.M., Ribeiro, L., Eusebe, M. and Coquery, M., 2008. Removal efficiency of pharmaceuticals and personal care products with varying wastewater treatment processes and operating conditions - conception of a database and first results. *Water Science and Technology* 57(1), 49-56.
- Morrison, J., Brockwell, T., Merren, T., Fourel, F. and Phillips, A.M., 2001. On-line high-precision stable hydrogen isotopic analyses on nanoliter water samples. *Analytical Chemistry* 73(15), 3570-3575.
- Ochoa-Herrera, V. and Sierra-Alvarez, R., 2008. Removal of perfluorinated surfactants by sorption onto granular activated carbon, zeolite and sludge. *Chemosphere* 72(10), 1588-1593.
- Pasquini, L., Munoz, J.F., Rimlinger, N., Dauchy, X., France, X., Pons, M.N. and Gorner, T., 2012. Assessment of the fate of some household micropollutants in urban wastewater treatment plant. Accepted by *Chemical Papers*.
- Picó, Y. and Andreu, V., 2007. Fluoroquinolones in soil-risks and challenges. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387(4), 1287-1299.
- Pothitou, P. and Voutsas, D., 2008. Endocrine disrupting compounds in municipal and industrial wastewater treatment plants in Northern Greece. *Chemosphere* 73(11), 1716-1723.
- Prevedouros, K., Cousins, I.T., Buck, R.C. and Korzeniowski, S.H., 2006. Sources, fate and transport of perfluorocarboxylates. *Environmental Science and Technology* 40(1), 32-44.
- Radjenovic, J., Jelic, A., Petrovic, M. and Barcelo, D., 2009. Determination of pharmaceuticals in sewage sludge by pressurized liquid extraction (PLE) coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 393(6-7), 1685-1695.

- Radjenović, J., Petrović, M. and Barceló, D., 2009. Fate and distribution of pharmaceuticals in wastewater and sewage sludge of the conventional activated sludge (CAS) and advanced membrane bioreactor (MBR) treatment. *Water Research* 43(3), 831-841.
- Rhoads, K.R., Janssen, E.M.L., Luthy, R.G. and Criddle, C.S., 2008. Aerobic biotransformation and fate of N-ethyl perfluorooctane sulfonamidoethanol (N-EtFOSE) in activated sludge. *Environmental Science and Technology* 42(8), 2873-2878.
- Richardson, S.D. and Ternes, T.A., 2011. Water analysis: Emerging contaminants and current issues. *Analytical Chemistry* 83(12), 4616-4648.
- Shivakoti, B.R., Tanaka, S., Fujii, S., Kunacheva, C., Boontanon, S.K., Musirat, C., Seneviratne, S.T.M.L.D. and Tanaka, H., 2010. Occurrences and behavior of perfluorinated compounds (PFCs) in several wastewater treatment plants (WWTPs) in Japan and Thailand. *Journal of Environmental Monitoring* 12(6), 1255-1264.
- Singer, H., Müller, S., Tixier, C. and Pillonel, L., 2002. Triclosan: Occurrence and fate of a widely used biocide in the aquatic environment: Field measurements in wastewater treatment plants, surface waters, and lake sediments. *Environmental Science and Technology* 36(23), 4998-5004.
- Soares, A., Guieysse, B., Jefferson, B., Cartmell, E. and Lester, J.N., 2008. Nonylphenol in the environment: A critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters. *Environment International* 34(7), 1033-1049.
- Suarez, S., Lema, J.M. and Omil, F., 2010. Removal of Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs) under nitrifying and denitrifying conditions. *Water Research* 44(10), 3214-3224.
- Topp, E. and Starratt, A., 2000. Rapid mineralization of the endocrine-disrupting chemical 4-nonylphenol in soil. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19(2), 313-318.
- US EPA (1993) Method 410.4 The determination of chemical oxygen demand by semi-automated colorimetry.
- Vanderford, B.J. and Snyder, S.A., 2006. Analysis of pharmaceuticals in water by isotope dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Environmental Science and Technology* 40(23), 7312-7320.
- Vega Morales, T., Torres Padron, M.E., Sosa Ferrera, Z. and Santana Rodriguez, J.J., 2009. Determination of alkylphenol ethoxylates and their degradation products in liquid and solid samples. *Trac-Trends in Analytical Chemistry* 28(10), 1186-1200.
- Xu, W.H., Zhang, G., Li, X.D., Zou, S.C., Li, P., Hu, Z.H. and Li, J., 2007. Occurrence and elimination of antibiotics at four sewage treatment plants in the Pearl River Delta (PRD), South China. *Water Research* 41(19), 4526-4534.
- Yoo, H., Washington, J.W., Jenkins, T.M. and Laurence Libelo, E., 2009. Analysis of perfluorinated chemicals in sludge: Method development and initial results. *Journal of Chromatography A* 1216(45), 7831-7839.
- Yu, J., Hu, J., Tanaka, S. and Fujii, S., 2009. Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) in sewage treatment plants. *Water Research* 43(9), 2399-2408.

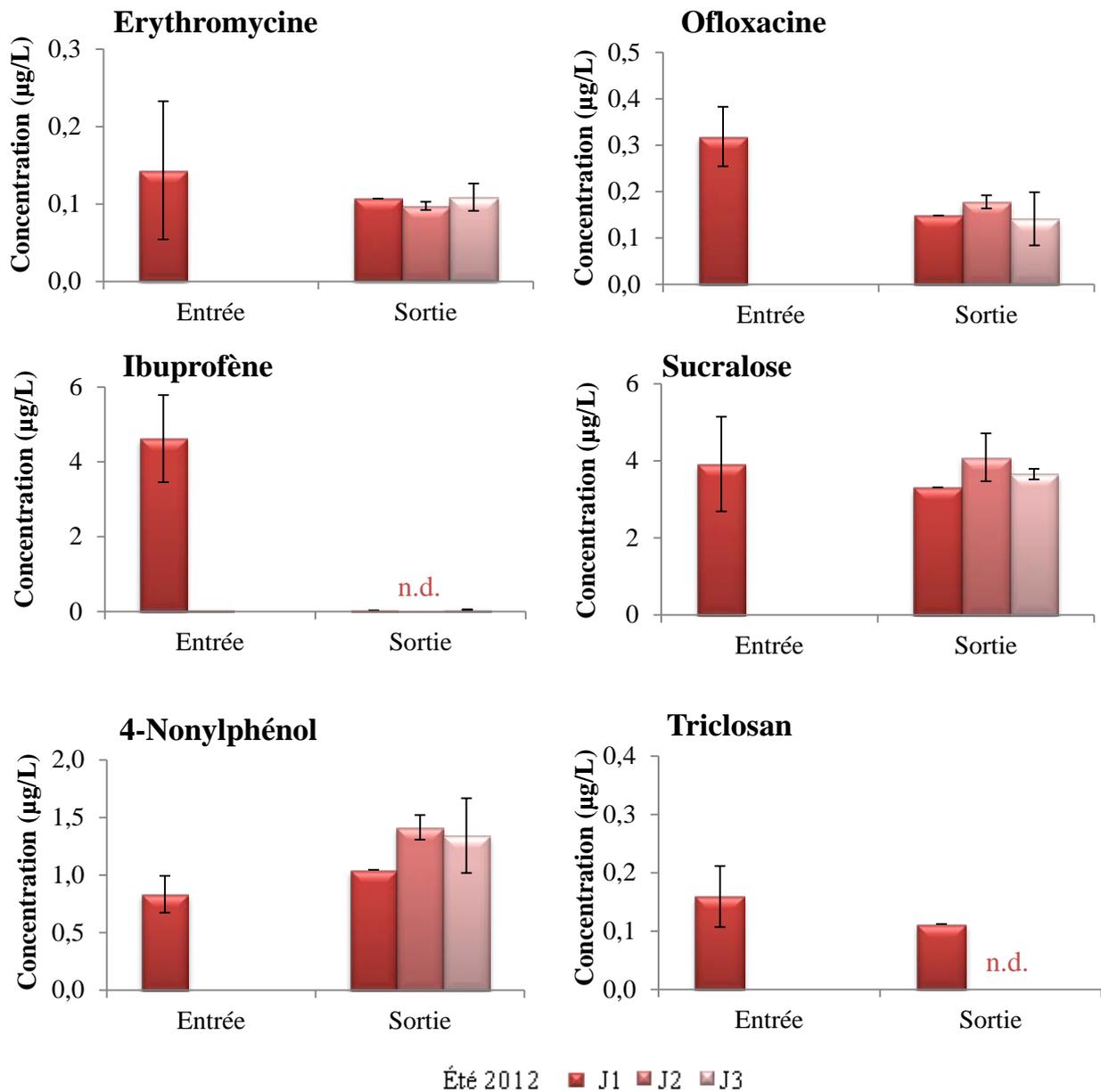
### **III.2.2 Autres résultats**

#### *III.2.2.1 Prise en compte du temps de rétention hydraulique de la STEP de Nancy-Maxéville*

Afin de prendre en compte le temps de rétention hydraulique des eaux au travers de la STEP, les prélèvements de la campagne d'été 2012 ont été effectués pendant 24 h en entrée et 72 h en sortie de STEP.

La concentration moyenne journalière de chaque micropolluant en sortie de STEP a très peu varié sur les trois jours de prélèvement (Figure III-8). De plus, les variations de concentrations en entrée de STEP, de l'érythromycine, du sucralose et de l'ibuprofène (représentées par un fort écart-type) dues à des fluctuations de concentration liées à l'activité humaine, n'ont pas été observées dans l'eau épurée (faible écart-type en sortie de STEP). Le passage de l'eau au travers du procédé d'épuration a un effet de lissage des concentrations.

La totalité des mesures est présentée en annexe 14.



**Figure III-8 :** Concentrations moyennes journalières lors de la campagne de prélèvement d'été 2012 à la STEP de Nancy-Maxéville. Prélèvements réalisés sur 24h en entrée et 72h en sortie de STEP.

### *III.2.2.2 Flux de micropolluants*

#### a. À la STEP de Nancy-Maxéville

Pour chaque campagne de prélèvement, les flux de micropolluants entrants et sortants de la station d'épuration de Nancy-Maxéville (Tableau III-10) ont été calculés à l'aide des concentrations en micropolluants mesurées en entrée et sortie de STEP et des débits horaires d'eau usée et d'eau épurée fournis par l'exploitant de la STEP. Le Tableau III-11 présente les flux journaliers de micropolluants mesurés pour chaque campagne de prélèvement, leur moyenne et l'estimation des rejets annuels des micropolluants cibles dans les eaux épurées.

Les molécules bien éliminées par le procédé d'épuration, ibuprofène et triclosan, sont rejetées dans les eaux de surface (via l'eau épurée) en faible quantité (en moyenne 8 à 9 g/j).

Les autres molécules étant peu ou non éliminées de la phase liquide au cours du procédé d'épuration, elles se trouvent rejetées en quantités plus importantes dans le milieu naturel : de 14 g/j pour l'ERY à 198 g/j pour le sucralose.

Les quantités approximatives rejetées par an par cette station d'épuration sont de l'ordre de 5 kg d'ERY, 10 kg d'OFL, 33 kg de 4-NP et 72 kg de sucralose.

Les composés perfluorés (non éliminés de la phase liquide) sont rejetés en moindre quantité du fait de leur faible concentration : aux alentours de quelques grammes par jour, soit à l'année environ 270 g de PFOA et 950 g de PFOS.

**Tableau III-10 :** Concentrations moyennes journalières et flux journaliers (en g/j) des micropolluants dans la phase liquide en entrée et sortie de la STEP de Nancy-Maxéville, pour chaque campagne de prélèvement. Les débits d'eau sont indiqués en gras pour chaque campagne (m<sup>3</sup>/j).

Micropolluants	Entrée		Sortie	
	C <sub>eau usée</sub>	Flux	C <sub>eau épurée</sub>	Flux
	(μg L <sup>-1</sup> )	(g j <sup>-1</sup> )	(μg L <sup>-1</sup> )	(g j <sup>-1</sup> )
<b>Été 2010</b>		<b>56412 m<sup>3</sup></b>		<b>69255 m<sup>3</sup> *</b>
PFOA	8,9 10 <sup>-3</sup>	0,52	9,4 10 <sup>-3</sup>	0,65
PFOS	19,7 10 <sup>-3</sup>	1,15	23,4 10 <sup>-3</sup>	1,62
<b>Été 2011</b>		<b>69450 m<sup>3</sup></b>		<b>67254 m<sup>3</sup></b>
Érythromycine	0,16	11,2	0,17	12,1
Ibuprofène	5,45	393,7	0,13	8,7
4-NP	0,79	69,8	1,37	120,0
Ofloxacine	0,67	47,2	0,46	32,0
Sucralose	3,27	341,3	2,92	202,4
Triclosan	0,28	21,5	< LQ (0,11)	7,3
PFOA	8,4 10 <sup>-3</sup>	0,57	11,5 10 <sup>-3</sup>	0,71
PFOS	19,3 10 <sup>-3</sup>	1,38	63,8 10 <sup>-3</sup>	3,94
<b>Hiver 2011</b>		<b>68454 m<sup>3</sup></b>		<b>66721 m<sup>3</sup></b>
Érythromycine	0,20	15,4	0,20	16,0
Ibuprofène	5,15	406,9	0,08	6,5
4-NP	0,44	36,5	0,79	61,0
Ofloxacine	0,45	35,7	0,31	23,9
Sucralose	3,09	246,9	2,50	194,2
Triclosan	0,39	32,0	< LQ (0,14)	11,0
PFOA	14,0 10 <sup>-3</sup>	0,87	11,3 10 <sup>-3</sup>	0,88
PFOS	55,1 10 <sup>-3</sup>	3,57	26,3 10 <sup>-3</sup>	2,09
<b>Été 2012</b>		<b>47854 m<sup>3</sup></b>		<b>70473 m<sup>3</sup> *</b>
Érythromycine	0,14	6,7	0,10	7,6
Ibuprofène	4,62	226,6	0,06	2,2
4-NP	0,83	40,4	1,34	73,7
Ofloxacine	0,32	15,8	0,16	10,5
Sucralose	3,92	195,3	3,81	233,4
Triclosan	< LQ (0,16)	7,4	< LQ (0,11)	7,9

\* Débit de sortie > débit entrée : la STEP a traité des eaux stockées en bassin tampon.

**Tableau III-11** : Flux journaliers moyens des micropolluants (en g/j) dans la phase liquide en sortie de la STEP de Nancy-Maxéville, et estimation des rejets annuels.

	Été 2010	Été 2011	Hiver 2011	Été 2012	Moyenne $\pm \sigma$	À l'année
Érythromycine	-	12,1	16,0	7,6	12 $\pm$ 4	5 kg
Ibuprofène	-	8,7	6,5	2,2	5,8 $\pm$ 3,3	3 kg
4-NP	-	120,0	61,0	73,7	85 $\pm$ 31	33 kg
Ofloxacine	-	32,0	23,9	10,5	22 $\pm$ 11	10 kg
Sucralose	-	202,4	194,2	233,4	210 $\pm$ 21	72 kg
Triclosan	-	7,3	11,0	7,9	9 $\pm$ 2	3 kg
PFOA	0,65	0,71	0,88	-	0,75 $\pm$ 0,12	270 g
PFOS	1,62	3,94	2,09	-	2,6 $\pm$ 1,2	950 g

- : non mesuré

#### b. Dans les égouts

Pour chaque campagne de prélèvement, les flux de micropolluants dans les égouts des zones résidentielle (Clairlieu) et mixte (Brabois) ont été calculés (Tableau III-12) à l'aide des concentrations en micropolluants, des débits horaires d'eau usée mesurés, et du nombre d'équivalents habitants. Ainsi, les flux ont été exprimés en mg/j/EH. Le nombre d'équivalents habitants a été calculé pour chaque site et chaque campagne de prélèvement en fonction du débit journalier et de la DCO moyenne journalière selon l'équation 4. La notion d'équivalent habitant permet d'associer une population équivalente à des masses journalières de polluants.

$$EH = \frac{\overline{DCO} \times V}{DCO_{th}} \quad \text{Équation 12}$$

Avec :  $\overline{DCO}$ , la DCO moyenne journalière ( $g/m^3$ ).

V, le volume d'eau usée rejetée dans la journée ( $m^3/j$ ).

$DCO_{th}$ , la production de DCO par habitant et par jour, correspondant à 135 g/hab/j.

Les deux zones étudiées ont présenté des flux journaliers très proches pour les micropolluants suivants : ibuprofène (environ 2 mg/j/EH), triclosan (0,2 à 0,5 mg/j/EH), 4-NP (0 à 0,8 mg/j/EH) et PFC (environ 1  $\mu$ g/j/EH) sauf pour la campagne d'hiver 2011, où PFOA et PFOS ont été rejetés en quantité légèrement plus importante dans la zone résidentielle (5 à 7  $\mu$ g/j/EH).

Les flux d'ERY ont été variables entre les deux zones et d'une campagne à une autre. Ils sont restés cependant du même ordre de grandeur, aux alentours de plusieurs dizaines de  $\mu$ g/j/EH (de 27 à 112  $\mu$ g/j/EH).

Nous avons pu noter des différences entre les deux zones étudiées : les rejets de sucralose ont été légèrement supérieurs à Clairlieu (zone résidentielle) (2 à 3 mg/j/EH contre 0,5 à 1,2

mg/j/EH à Brabois) et les rejets d'ofloxacin ont été beaucoup plus importants à Brabois. Les flux d'OFL ont été cinq à dix fois supérieurs dans la zone mixte que dans la zone résidentielle. Ceci est lié à son usage hospitalier.

**Tableau III-12 :** Flux journaliers (en g/j/EH) des micropolluants dans la phase liquide des sites de Clairlieu (zone résidentielle) et Brabois (zone mixte) pour chaque campagne de prélèvement. Les débits d'eau usée (m<sup>3</sup>/j) et le nombre d'EH sont indiqués en gras pour chaque campagne.

	Clairlieu (Résidentielle)	Brabois (Mixte)
Été 2010	<b>520 m<sup>3</sup>/j, 1860 EH</b>	<b>5857 m<sup>3</sup>/j*, 6310 EH</b>
PFOA	1,1 µg/j/EH	1,4 µg/j/EH
PFOS	1,0 µg/j/EH	1,2 µg/j/EH
Été 2011	<b>472 m<sup>3</sup>/j, 2000 EH</b>	<b>1450 m<sup>3</sup>/j, 4450 EH</b>
ERY	27,2 µg/j/EH	68,8 µg/j/EH
Ibuprofène	2,0 mg/j/EH	1,9 mg/j/EH
4-NP	0,2 mg/j/EH	0,8 mg/j/EH
OFL	57,3 µg/j/EH	699,0 µg/j/EH
Sucralose	2,7 mg/j/EH	1,2 mg/j/EH
Triclosan	0,2 mg/j/EH	0,2 mg/j/EH
PFOA	1,7 µg/j/EH	1,5 µg/j/EH
PFOS	1,2 µg/j/EH	1,1 µg/j/EH
Hiver 2011	<b>419 m<sup>3</sup>/j, 1330 EH</b>	<b>1576 m<sup>3</sup>/j, 6660 EH</b>
ERY	111,9 µg/j/EH	34,4 µg/j/EH
Ibuprofène	1,8 mg/j/EH	1,0 mg/j/EH
4-NP	0,0 mg/j/EH	0,0 mg/j/EH
OFL	94,3 µg/j/EH	479,2 µg/j/EH
Sucralose	2,1 mg/j/EH	0,5 mg/j/EH
Triclosan	0,5 mg/j/EH	0,3 mg/j/EH
PFOA	7,0 µg/j/EH	0,9 µg/j/EH
PFOS	5,3 µg/j/EH	2,6 µg/j/EH

\* Fort débit journalier lié à une entrée d'eau claire dans le réseau entre 16 h et 8 h le lendemain (confirmé par les analyses isotopiques, figure S1 de la publication soumise dans Water Research). Les concentrations diluées n'ont pas été prises en compte.

### III.3 COMPARAISON DES DEUX STATIONS D'ÉPURATION ÉTUDIÉES

Cette partie résume les concentrations moyennes en macro et micropolluants mesurées dans les deux STEP biologiques étudiées. Le but est de comparer les niveaux de concentrations entrantes dans les installations et l'efficacité d'épuration de chacune d'entre elles.

#### a. Comparaison de la macropollution

D'après le Tableau III-13, l'eau usée entrant à la STEP de PAM est plus chargée que l'eau usée entrant à la STEP de Nancy-Maxéville. La DCO et la concentration en ammonium mesurées lors des campagnes de prélèvement ont été en moyenne légèrement supérieures dans l'eau usée de Pont-à-Mousson. La macropollution (DCO, ammonium et turbidité) mesurée dans l'eau épurée était cependant du même ordre de grandeur dans les deux STEP. Ces deux STEP sont efficaces pour l'élimination de la macropollution. Leurs abattements, et leurs rejets dans le milieu naturel sont en accord avec l'arrêté du 22 juin 2007 qui fixe les concentrations maximales et les rendements minimaux à atteindre en STEP pour l'élimination de la pollution classique (voir partie I.3.2).

Les valeurs de DCO, concentration en ammonium, et matières en suspension sont régulièrement mesurées par les exploitants des deux stations d'épuration étudiées (quotidiennement à Nancy-Maxéville et de façon hebdomadaire à Pont-à-Mousson). Les valeurs enregistrées les sept à quinze jours avant et après nos campagnes de prélèvement ont été mises à notre disposition (Annexe 15). L'observation de ces données indique que nos prélèvements ont été réalisés en périodes de fonctionnement normal des deux STEP étudiées.

**Tableau III-13 :** Macropollution moyenne ( $\pm$  écart-type) en termes de DCO (mg/L), ammonium (mg/L), et turbidité (NTU), mesurée en entrée et sortie des deux STEP étudiées.

		Pont-à-Mousson			Nancy-Maxéville		
		Été 2011	Hiver 2011	Été 2012	Été 2011	Hiver 2011	Été 2012
DCO (mg/L)	Entrée	335 $\pm$ 64	234 $\pm$ 69	250 $\pm$ 91	189 $\pm$ 49	109 $\pm$ 57	155 $\pm$ 78
	Sortie	35 $\pm$ 15	41 $\pm$ 10	36 $\pm$ 8	45 $\pm$ 20	59 $\pm$ 23	39 $\pm$ 19
Ammonium (mg/L)	Entrée	50 $\pm$ 10	68 $\pm$ 14	35 $\pm$ 5	35 $\pm$ 8	37 $\pm$ 10	33 $\pm$ 8
	Sortie	6 $\pm$ 2	10 $\pm$ 2	3 $\pm$ 1	6 $\pm$ 2	13 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1
Turbidité (NTU)	Entrée	297 $\pm$ 215	215 $\pm$ 44	123 $\pm$ 32	199 $\pm$ 56	264 $\pm$ 37	126 $\pm$ 35
	Sortie	11 $\pm$ 2	12 $\pm$ 3	14 $\pm$ 4	14 $\pm$ 2	16 $\pm$ 3	3 $\pm$ 2

### b. Comparaison de la micropollution

Les concentrations moyennes des micropolluants dans les phases liquides (eau usée et eau épurée) des deux STEP sont résumées dans le Tableau III-14. L'efficacité d'élimination est symbolisée par un code couleur.

Nous pouvons constater que les niveaux de concentration des micropolluants en entrée des deux STEP étudiées ont été du même ordre de grandeur.

Nous avons pu observer que l'efficacité d'élimination des micropolluants de la phase liquide était similaire dans les deux stations d'épuration pour :

- l'ibuprofène et le triclosan, qui ont été éliminés de la phase liquide à plus de 70 %,
- le sucralose qui n'a pas du tout été éliminé de la phase liquide,
- et le 4-NP et les PFC qui n'ont pas été éliminés de la phase liquide, ou ont été « produits » par la dégradation de leurs précurseurs.

Les deux stations présentent cependant des différences au niveau de l'efficacité d'élimination des antibiotiques, érythromycine et ofloxacine, de la phase liquide. En effet, l'ERY est éliminé à plus de 90 % et l'OFL à plus de 60 % par la STEP de Pont-à-Mousson, tandis qu'ils ne sont pas ou très peu éliminés dans la STEP de Nancy.

Cette différence d'efficacité peut s'expliquer par plusieurs facteurs qui diffèrent dans les deux STEP étudiées : le temps de rétention hydraulique est très court à Nancy-Maxéville (environ 8 heures, contre 45 heures à Pont-à-Mousson), et les deux STEP ne possèdent pas les mêmes conditions de culture de la biomasse épuratrice (un procédé à culture libre à Pont-à-Mousson, un procédé à lit fixé fluidisé à Nancy-Maxéville). D'autres études sont nécessaires pour éclaircir ce point.

Parmi les huit micropolluants suivis, l'ibuprofène, le 4-NP et le triclosan ont été étudiés dans le projet AMPERES. Leur élimination par le procédé à boues activées et dans les traitements tertiaires a été évalué (Choubert et al. 2011, Soulier et al. 2011).

Cette étude, réalisée sur 21 STEP, a montré des rendements d'élimination très proches de ceux observés pour les deux STEP étudiées dans cette thèse. L'ibuprofène et le triclosan ont été très bien éliminés par les procédés à boues activées en aération prolongée (en moyenne 98 % pour l'ibuprofène et 99 % pour le triclosan). Les traitements tertiaires d'affinage (décantation rapide, filtration sur sable et lagunage) n'ont pas permis d'améliorer l'élimination de l'ibuprofène. Cependant, les traitements tertiaires avancés (osmose inverse,

**Tableau III-14 :** Concentrations moyennes en micropolluants ( $\pm$  écart-type) mesurées dans les phases liquides en entrée et sortie des deux STEP étudiées. Le rendement d'élimination est indiqué à l'aide du code couleur (légende sous le tableau).

		Pont-à-Mousson			Nancy-Maxéville		
		Été 2011	Hiver 2011	Été 2012	Été 2011	Hiver 2011	Été 2012
Erythromycine ( $\mu\text{g/L}$ )	Entrée	0,27 $\pm$ 0,15	0,20 $\pm$ 0,06	0,46 $\pm$ 0,42	0,16 $\pm$ 0,02	0,20 $\pm$ 0,12	0,14 $\pm$ 0,09
	Sortie	0,06 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,01	0,17 $\pm$ 0,02	0,20 $\pm$ 0,02	0,10 $\pm$ 0,01
Ibuprofène ( $\mu\text{g/L}$ )	Entrée	4,46 $\pm$ 1,13	6,82 $\pm$ 1,83	4,90 $\pm$ 0,88	5,45 $\pm$ 1,52	5,15 $\pm$ 1,34	4,62 $\pm$ 1,16
	Sortie	0,13 $\pm$ 0,05	0,19 $\pm$ 0,07	0,06 $\pm$ 0,07	0,13 $\pm$ 0,02	0,08 $\pm$ 0,02	0,06 $\pm$ 0,03
4-Nonylphénol ( $\mu\text{g/L}$ )	Entrée	6,83 $\pm$ 2,69	1,84 $\pm$ 1,01	n.d.	0,79 $\pm$ 0,14	0,44 $\pm$ 0,03	0,83 $\pm$ 0,16
	Sortie	1,33 $\pm$ 0,17	3,00 $\pm$ 0,95	1,38 $\pm$ 0,33	1,37 $\pm$ 0,37	0,79 $\pm$ 0,07	1,34 $\pm$ 0,24
Ofloxacine ( $\mu\text{g/L}$ )	Entrée	0,25 $\pm$ 0,09	1,73 $\pm$ 0,18	0,23 $\pm$ 0,08	0,67 $\pm$ 0,09	0,45 $\pm$ 0,11	0,32 $\pm$ 0,06
	Sortie	0,05 $\pm$ 0,01	0,73 $\pm$ 0,04	0,10 $\pm$ 0,02	0,46 $\pm$ 0,02	0,31 $\pm$ 0,03	0,16 $\pm$ 0,04
Sucralose ( $\mu\text{g/L}$ )	Entrée	3,22 $\pm$ 0,69	3,75 $\pm$ 0,86	3,35 $\pm$ 1,28	3,27 $\pm$ 2,90	3,09 $\pm$ 0,81	3,92 $\pm$ 1,23
	Sortie	3,24 $\pm$ 0,19	3,43 $\pm$ 0,31	2,49 $\pm$ 0,40	2,92 $\pm$ 0,37	2,50 $\pm$ 0,23	3,81 $\pm$ 0,48
Triclosan ( $\mu\text{g/L}$ )	Entrée	0,57 $\pm$ 0,23	0,80 $\pm$ 0,19	0,12 $\pm$ 0,03	0,28 $\pm$ 0,12	0,39 $\pm$ 0,12	0,16 $\pm$ 0,05
	Sortie	0,12 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,01	n.d.	0,11 $\pm$ 0,02	0,14 $\pm$ 0,01	0,01 $\pm$ 0,04
PFOA (ng/L)	Entrée	11,4 $\pm$ 17,0	9,2 $\pm$ 7,0		8,3 $\pm$ 1,0	14,0 $\pm$ 5,2	
	Sortie	21,4 $\pm$ 3,7	16,7 $\pm$ 2,1		11,5 $\pm$ 1,2	11,3 $\pm$ 0,8	
PFOS (ng/L)	Entrée	20,8 $\pm$ 31,5	15,4 $\pm$ 4,1		19,6 $\pm$ 2,6	41,2 $\pm$ 7,6	
	Sortie	13,0 $\pm$ 2,9	34,2 $\pm$ 8,4		63,8 $\pm$ 15,6	26,3 $\pm$ 6,9	

■ Non éliminé ou très faiblement éliminé (< 30 %)
 ■ Faiblement éliminé (30 à 70 %)
 ■ Bien éliminé (> 70 %)

n.d. : non détecté  
 non mesuré

ozone et charbon actif) ont permis une élimination complémentaire de l'ibuprofène de l'ordre de 70 %.

Le 4-NP a été éliminé à 84 % en moyenne par les boues activées. Cet abattement, non observé dans notre étude, n'a pas été amélioré par les procédés tertiaires d'affinage. Seuls les traitements par osmose inverse et charbon actif ont montré une efficacité supérieure à 70 % pour l'élimination du 4-NP.

Si l'on compare maintenant les flux de micropolluants rejetés quotidiennement par chaque STEP et par équivalent habitant (g/j/EH) (Tableau III-15), on peut noter que ces deux stations rejettent les même flux de micropolluants cibles excepté pour :

- l'érythromycine qui est non éliminée dans la STEP de Nancy-Maxéville et donc rejetée en plus grande quantité,
- le 4-NP qui est présent en plus grande quantité dans les effluents de la STEP de PAM, ceci étant probablement dû à une activité industrielle dans cette agglomération.

**Tableau III-15** : Flux de micropolluants moyens journaliers par équivalent habitant dans l'eau épurée en sortie des deux STEP étudiées.

Molécule	Flux moyens journaliers (g/j/EH)	
	Pont-à-Mousson	Nancy-Maxéville
Érythromycine	9,4 ± 3,1	30 ± 11
Ibuprofène	25 ± 8	15 ± 8
4-NP	335 ± 193	212 ± 78
Ofloxacine	52 ± 71	55 ± 27
Sucralose	519 ± 115	525 ± 52
Triclosan	15 ± 13	22 ± 5
PFOA	3,3 ± 0,2	1,9 ± 0,3
PFOS	4,2 ± 2,9	6,4 ± 3,1

c. Comparaison des études statistiques

L'exploitation statistique des résultats obtenus dans les deux STEP étudiées a montré qu'il existe des corrélations entre les concentrations en micro et macropolluants en entrée et en sortie de STEP. Ces relations ont été décrites par des modèles linéaires homogènes et les valeurs calculées ont suivi, avec 95% de probabilité (lignes grisées sur les graphiques), la même tendance que les valeurs mesurées.

Nous avons pu noter, en entrée de STEP, et d'après les matrices de corrélation entre micro et macropollution (Tableau III-16), que les corrélations avec la concentration en ammonium (qui est essentiellement issu des urines) sont fortes avec les concentrations des micropolluants rejetés dans les eaux usées via le corps humain. Ce phénomène, qui a été observé pour ibuprofène, érythromycine (sauf à Pont-à-Mousson), ofloxacine et sucralose, ne semble pas pour autant pouvoir être généralisé. En effet, à Pont-à-Mousson, la concentration en ammonium a été aussi fortement corrélée avec les concentrations en triclosan et PFOA.

**Tableau III-16 :** Corrélations entre les concentrations mesurées en entrée des deux STEP étudiées.

	STEP de Nancy-Maxéville			STEP de Pont-à-Mousson		
	DCO	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Turbidité	DCO	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Turbidité
Ibuprofène	0.407	<b>0.734</b>	0.368	-0,267	<b>0,647</b>	-0,216
Erythromycine	0.241	<b>0.607</b>	0.551	<b>0,365</b>	-0,118	0,144
Ofloxacine	0.398	<b>0.492</b>	0.422	-0,418	<b>0,715</b>	0,002
Triclosan	0.080	0.368	<b>0.698</b>	-0,020	<b>0,834</b>	0,238
Sucralose	0.502	<b>0.631</b>	-0.006	0,071	<b>0,455</b>	-0,228
4-NP	0.546	-0.127	<b>-0.666</b>	0,279	0,123	<b>0,295</b>
PFOA	<b>-0.410</b>	-0.014	0.382	-0,267	<b>0,647</b>	-0,216
PFOS	<b>-0.503</b>	-0.174	0.487	<b>0,365</b>	-0,118	0,144

De manière générale, et pour ces deux stations d'épuration, il est nécessaire de répéter les campagnes de prélèvement afin de tenter de valider chacun des modèles établis (et pour chaque STEP). Ceci, dans le but de pouvoir utiliser ces modèles en tant qu'outils d'estimation de la micropollution, par simples mesures de la macropollution, réalisées régulièrement dans toutes les STEP en France.



---

## **CHAPITRE IV. RÉSULTATS DES ÉTUDES MENÉES EN LABORATOIRE ET DISCUSSIONS**

---

Ce dernier chapitre, présenté en deux parties, rapporte les résultats des études menées en laboratoire ; d'une part sur l'impact des micropolluants sur le vivant, et ensuite sur le suivi cinétique des micropolluants cibles dans les boues activées.

## IV.1 IMPACT DES MICROPOLLUANTS SUR LE VIVANT

Cette section est présentée sous forme d'un article qui rassemble les résultats obtenus sur l'évaluation de l'impact des micropolluants cibles sur l'activité bactérienne. Il donne dans un premier temps les résultats des tests de toxicité effectués sur une souche bactérienne modèle (*Escherichia coli* MG1655). Le comportement de la biomasse en réacteur batch en présence des micropolluants à différentes concentrations est ensuite présenté et interprété.

Article accepté dans le journal *Science of the Total Environment*, Juin 2013.  
(463-464 (2013) 355-365)



## Impact of certain household micropollutants on bacterial behavior. Toxicity tests/study of extracellular polymeric substances in sludge



Laure Pasquini<sup>a,\*</sup>, Christophe Merlin<sup>b</sup>, Lucille Hassenboehler<sup>a</sup>, Jean-François Munoz<sup>c</sup>, Marie-Noëlle Pons<sup>d</sup>, Tatiana Görner<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire Environnement et Minéralurgie-CNRS, Université de Lorraine, 15 Avenue du Charmois, 54501 Vandœuvre-lès-Nancy Cedex, France

<sup>b</sup> Laboratoire de Chimie, Physique et Microbiologie pour l'Environnement-CNRS, Université de Lorraine, 15 Avenue du Charmois, 54501 Vandœuvre-lès-Nancy Cedex, France

<sup>c</sup> Laboratoire d'Hydrologie de Nancy, ANSES, 40 rue Lionnois, 54000 Nancy, France

<sup>d</sup> Laboratoire Réactions et Génie des Procédés-CNRS, Université de Lorraine, 1 Rue Grandville, 54001 Nancy Cedex, France

### HIGHLIGHTS

- Triclosan altered the bacterial growth at concentrations measured in wastewater.
- Some compounds induced an increase of bound EPS in flocs.
- High concentrations of erythromycin or ibuprofen stopped the macropollution removal.
- The studied micropollutants were mainly removed from wastewater by biodegradation.

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 25 March 2013

Received in revised form 31 May 2013

Accepted 4 June 2013

Available online xxxx

Editor: Damia Barcelo

#### Keywords:

Household micropollutants

Cytotoxicity tests

Sludge extracellular polymeric substances

Micropollutants removal

### ABSTRACT

The impact of eight household micropollutants (erythromycin, ofloxacin, ibuprofen, 4-nonylphenol, triclosan, sucralose, PFOA and PFOS (PFAAs)) on the laboratory bacterial strain *Escherichia coli* MG1655 and on activated sludge from an urban wastewater treatment plant was studied.

Growth-based toxicity tests on *E. coli* were performed for each micropollutants. The effect of micropollutants on activated sludge (at concentrations usually measured in wastewater up to concentrations disturbing the bacterial growth of *E. coli*) was examined in batch reactors and by comparison to a control reactor (without micropollutants). The bound extracellular polymeric substances (EPS) secreted by the sludge were measured by size exclusion chromatography and their overexpression was considered as an indicator of bacteria sensitivity to environmental changes. The chemical oxygen demand (COD) and the ammonium concentration were monitored to evaluate the biomass ability to remove the macropollution.

Some micropollutants induced an increase of bound EPS in activated sludge flocs at concentrations depending on the micropollutant: erythromycin from 100 µg/L, ofloxacin from 10 µg/L, triclosan from 0.5 µg/L, 4-nonylphenol from 5000 µg/L and PFAAs from 0.1 µg/L. This suggests that the biomass had to cope with new conditions. Moreover, at high concentrations of erythromycin (10 mg/L) and ibuprofen (5 mg/L) bacterial populations were no longer able to carry out the removal of macropollution.

Ibuprofen induced a decrease of bound EPS at all the studied concentrations, probably reflecting a decrease of general bacterial activity. The biomass was not sensitive to sucralose in terms of EPS production, however at very high concentration (1 g/L) it inhibited the COD decrease.

Micropollution removal was also assessed. Ibuprofen, erythromycin, ofloxacin, 4-nonylphenol and triclosan were removed from wastewater, mainly by biodegradation. Sucralose and PFOA were not removed from wastewater at all, and PFOS was slightly eliminated by adsorption on sludge.

© 2013 Published by Elsevier B.V.

### 1. Introduction

In everyday life we use a large number of pharmaceuticals and complex chemical products in different household activities. These

compounds, released in urban wastewater, are conveyed to wastewater treatment plants (WWTPs). WWTPs have been designed to eliminate macropollutants such as organic matter, nitrogen, phosphorus, and suspended solids. The removal of compounds such as pharmaceuticals, personal care products or detergents, present in low concentrations (µg/L, micropollutants) is not commonly investigated because few or no regulations exist for their release into water bodies.

\* Corresponding author. Tel.: +33 3 83 59 62 64; fax: +33 3 83 59 62 55.

E-mail address: [laure.pasquini@univ-lorraine.fr](mailto:laure.pasquini@univ-lorraine.fr) (L. Pasquini).

Scientific interest in their environmental impact or their behavior in WWTPs appeared began ten years ago, as reviewed by Pasquini et al. (2013), and some compounds are already thought to be a possible threat to environmental health and safety (Grice and Goldsmith, 2000; Baquero et al., 2008; Soares et al., 2008). The EU Parliament (2008) has established an initial list of just 41 substances or groups of substances as action priorities to ensure a “satisfactory chemical and biological status for surface and ground waters” by 2015. Some micropollutants, such as antibiotics or biocides present in soaps or in detergents are intended to have an effect on bacteria (Singer et al., 2002; Oo and Shah, 2012). Most of the WWTPs treating urban wastewater employ an activated sludge process as recently reviewed (Verlicchi et al., 2012). Therefore it appears necessary to answer the question whether domestically generated micropollutants (molecules biologically active or not) might have an impact on the biological action of activated sludge and affect the biological treatment efficacy. The possible adverse effects of pollutants towards bacteria are frequently studied using growth inhibition tests (see Schmitz et al. (1998) and Schneider et al. (2009) for instance) some of which are even standard procedures to assess water quality (EN ISO, 10712:1995, 1995). The micropollutant's impact on aquatic life is often studied by tests on algae, crustaceans, fishes... (Lussier et al., 2000; Isidori et al., 2005; Binelli et al., 2009).

The sludge from WWTP is a consortium of microorganisms and to our knowledge, only few studies have been performed on the impact of micropollutants on it. The WWTP biomass is a complex dynamic structure of bacteria embedded in a matrix of extracellular polymeric substances (EPS), composed of up to 90% of proteins and polysaccharides and secreted by microorganism metabolism (Wingender et al., 1999). Therefore the WWTP biomass behavior towards micropollutants can be examined by considering the EPS which constitute up to 70% of the sludge (Nielsen et al., 1997). This polymeric network enables microorganisms to live at high cell densities and to ensure their survival, adsorbing pollutants, nutrients and minerals (Finlayson et al., 1998; Flemming and Wingender, 2001). For example, bacteria in a biofilm were found to be thousand times more resistant to antibiotics than in liquid suspension (Everts, 2006). Microorganisms also release soluble microbial products (SMP) and both EPS and SMP have an excellent buffering action towards external changes (Huang et al., 2009). An overexpression of EPS or SMP can be considered as a response to stressful situations (Wingender et al., 1999), and an indicator of bacterial sensitivity to environmental changes (Aquino and Stuckey, 2004; Avella et al., 2010). This property has even been exploited to enhance production of EPS (with potentially interestingly biotechnological applications) by exposing bacteria to pollutants (Onbasli and Aslim, 2009). The study of EPS provides original information about the behavior of the biomass towards the presence of micropollutants, even at very low concentrations.

The phenomenon of overexpression of EPS or/and SMP was used here to investigate, in batch reactors, the impact of eight household micropollutants on the biomass from an urban WWTP. Preliminarily, cytotoxicity tests were made on the laboratory bacterial strain *Escherichia coli* MG1655 to check a relevant concentration range for the study of the target micropollutants. Two antibiotics (erythromycin and ofloxacin), an anti-inflammatory drug (ibuprofen), a biocide used in personal care products (triclosan), a detergent degradation product (4-nonylphenol), a widely used and persistent sweetener (sucralose) and two perfluoroalkyl acids (perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS)) were studied. Table 1 presents their concentrations reported in the influents of various wastewater treatment plants (WWTPs). These compounds were chosen because they are commonly used in a domestic context and for their specific physical and chemical properties (octanol/water partition coefficient  $\log K_{ow}$ , solubility in water and pKa) (Table 1) in order to observe their fate and possible partitioning in water and sludge in WWTP process. One of the molecules (4-NP) is on the

Water Framework Directive (EU Parliament, 2008) priority list; perfluorinated compounds are currently discussed to be part of the new priority list; other molecules are relevant on a social and research level for the preservation of the natural environment.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Cytotoxicity tests

Bacteria were routinely cultured at 37 °C with shaking (160 rpm) in 250 mL conical flasks filled with 50 mL of Lysogenic-Broth (LB Broth, Miller, Difco™). Growth inhibition tests were carried out on *E. coli* MG1655 as previously described (Schneider et al., 2009). Bacteria were pre-grown in LB medium without micropollutant until the cultures reached mid-log phase (optical density at 600 nm ( $OD_{600}$ ) of approximately 0.2). Cultures were then diluted by one-tenth in pre-warmed LB medium spiked with a range of micropollutant concentrations, and the  $OD_{600}$  was measured at intervals. For each growth, the doubling times of exponentially growing cultures were calculated from the slope of a regression curve, and compared to the one obtained for control cultures in the same medium without micropollutants ( $20 \pm 2$  min ( $n = 16$ ) for *E. coli* MG1655).

The toxicity of each compound was examined individually. The minimum concentrations were chosen so as to be close to those found in WWTP influents and effluents. Higher concentration levels (chosen based on micropollutant solubility) were also tested to estimate the toxicity threshold of the target compounds.

Although mixture effects can be significant according to some authors (Celandier, 2011; Wunder et al., 2013), they were not examined in our study.

The experiments with poor water soluble micropollutants required the use of an alcohol based solvent (ethanol or methanol). In these cases, the effects of the solvents were also checked. However no significant differences were observed when compared with a standard culture.

### 2.2. Sewage sludge behavior in batch reactors

The biological response of the sludge sampled in a municipal WWTP to the presence of micropollutants was examined in batch reactors. The experiments were based on the protocol of Avella et al. (2010). The concentrations were chosen to be under toxicity levels previously established by toxicity growth tests on *E. coli*. The studied concentrations ranged from those usually measured in municipal wastewater to much higher concentrations in order to observe any possible impact. The study was performed over 24 h and several parameters, reflecting biomass activity, were measured:

- The production of EPS
- The capacity of the biomass to degrade macropollution (measured by the chemical oxygen demand, COD and ammonium concentration).
- Micropollution removal estimated by the quantification of micropollutants in liquid and solid phases.

Wastewater and sludge came from the WWTP of Nancy-Maxéville (France, 500,000 population equivalent). Grab samples of the wastewater (2 L) were collected in the WWTP tank recovering wastewater from all the catchments of the agglomeration and grab samples of the sludge (1 L) were collected in the recycling line (where the sludge is more concentrated). Wastewater and sludge were mixed in order to obtain the same biomass concentration as those of the WWTP aeration tank (about 2.5 g/L). Four batch reactors (4 L) operated simultaneously for 24 h with the biological mixture. They were aerated with an air diffuser on their bottom (4–5 mg/L of dissolved oxygen) and no nutrients were added during the experiments. One reactor was used as a control (without micropollutants added) and three reactors

**Table 1**  
Concentrations of micropollutants commonly measured in wastewater (liquid phase) entering WWTPs.

Compound	$M_w$	$\log K_{ow}$	pKa	Solubility in water/(g L <sup>-1</sup> )	Concentrations usually measured in wastewater	References
Ibuprofen <sup>a</sup>	206	3.97	4.4	0.040	0.02–10 <sup>3</sup> µg/L	McArdell et al. (2003), Gobel et al. (2005) and Verlicchi et al. (2012)
Erythromycin <sup>b</sup>	733	3.06	8.9	1.000	10 <sup>-1</sup> –8.1 µg/L	Buser et al. (1999), Suarez et al. (2010) and Verlicchi et al. (2012)
4-Nonylphenol <sup>c</sup>	220	4.48	10.7	0.006	0.2–2.6 µg/L	Pothitou and Voutsas (2008) and Nie et al. (2009)
Ofloxacin <sup>d</sup>	361	-0.39	6.1	28.00	0.02–10 µg/L	Lindberg et al. (2005), Lee et al. (2007) and Verlicchi et al. (2012)
PFOA <sup>e</sup>	414	-	3.8	9.5	1–75 ng/L	Becker et al. (2008), Shivakoti et al. (2010)
PFOS <sup>f</sup>	500	-	<1.0	-	1–71 ng/L	Becker et al. (2008) and Shivakoti et al. (2010)
Sucralose <sup>g</sup>	397	-0.50	-	280.0	0.8–9.0 µg/L	Ferrer and Thurman (2010) and Buerge et al. (2011)
Triclosan <sup>h</sup>	289	4.76	8.1	0.010	0.02–9.07 µg/L	Gatidou et al. (2007), Wu et al. (2007) and Verlicchi et al. (2012)

–: not determined.

<sup>a</sup> Stuer-Lauridsen et al. (2000), Stephenson et al. (2006) and Völgyi et al. (2007).

<sup>b</sup> McFarland et al. (1997) and Qiang and Adams (2004).

<sup>c</sup> Vazquez-Duhalt et al. (2005).

<sup>d</sup> Barbosa et al. (1997) and Bhandari et al. (2009).

<sup>e</sup> Prevedouros et al. (2006) and Burns et al. (2008).

<sup>f</sup> Cheng et al. (2009).

<sup>g</sup> Jenner and Smithson (1989).

<sup>h</sup> US EPA (2008).

were spiked with increasing concentrations of micropollutants tested individually.

Macropollution parameters, COD and NH<sub>4</sub><sup>+</sup> concentration, were measured hourly over the 24 h of the experiment, except during the night. The soluble COD was determined after filtration (0.45 µm pore size) through chemical oxidation by a sulfochromic mixture, and measured with spectro-photocolorimetry (US EPA, 1993). The ammonium content was determined by the Hach Nessler Method 8038 and measured on a Hach DR/2400 spectrophotometer (Hach Co., Colorado, USA) (error ± 0.5 N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> mg/L).

Mixed liquor suspended solids (MLSS) were measured according to the 2540G protocol (Standard method, 2005) at the beginning (t = 0) and at the end of the experiments (t = 24 h) (error ± 0.2 g/L).

The levels of bound EPS and of SMP were assessed, and the liquid and solid phase micropollutant concentrations were determined as described in detail below.

### 2.3. EPS extraction and analysis

The biomass was separated from the supernatant by centrifugation (15 min at 4500 g). The supernatant containing SMP was directly analyzed and the settled biomass was subjected to EPS extraction using a DOWEX resin (Frolund et al., 1996) with an extraction time contact of 4 h (Avella et al., 2010).

The EPS and SMP were analyzed by High Pressure Size Exclusion Chromatography (HPSEC), according to the protocol of Avella et al. (2010), to estimate the molecular sizes of the chemical species present and their amounts. A Hewlett Packard 1100 series chromatograph, equipped with a Zorbax Bio series column (GF-250, 25 cm × 9.4 mm, Agilent technologies, France) and maintained at 25 °C, was used. The mobile phase was NaCl 0.2 M with a flow rate of 1 mL/min. The detection was carried out by a diode array UV detector at 215 nm. Prior to injection, all samples were filtered with 0.45 µm filters (Chromafil®).

The calibration was performed with standards of proteins (from 5730 to 670 000 Da, purchased from Sigma-Aldrich France) and polysaccharides (from 180 to 788 000 Da, Polymers Laboratories, France) as both are the main constituents of EPS.

Chromatograms were normalized according to the MLSS of each reactor (they are reported per gram of biomass).

The performance of the EPS analysis method was assessed. The EPS were extracted in triplicate and each extract was injected in triplicate to verify the high accuracy of the extraction method and of the analysis (variation around 7%).

### 2.4. Micropollutant analysis

The micropollutants present in the liquid and solid phases were extracted and analyzed as previously described (Boiteux et al., 2012; Pasquini et al., 2013). The target compounds were extracted from the liquid phase by Solid Phase Extraction (SPE). The extractions of the compounds from the solid phase were carried out by solvent-extraction followed by a cleanup of the extracts by SPE. Analyses were conducted using liquid chromatography tandem mass spectrometry. An Acquity UPLC®-MS/MS (Waters, USA) was used for the analysis of perfluorinated compounds and the other molecules were analyzed with a Thermo Scientific LC-MS/MS (Accela-TSQ quantum ultra) (USA).

Removal yields of the micropollutants from the liquid phase were calculated using the Eq. (1):

$$\text{Removal from liquid phase(\%)} = \left(1 - \frac{C_0}{C_{24h}}\right) \times 100 \quad (1)$$

where [C<sub>0</sub>] is the micropollutant initial concentration (t = 0) measured in the liquid phase, and [C<sub>24 h</sub>] is the micropollutant concentration measured after 24 h of experiment.

Adsorption of the micropollutants on the solid phase after 24 h, was expressed as a percentage of the initial amount spiked into each reactor. Adsorbed amount was calculated according to the following Eq. (2):

$$\text{Adsorption on solid phase(\%)} = \left(\frac{([C_{SR}] - [C_{CR}]) \times MLSS \times V}{m_{\text{micro}}}\right) \times 100. \quad (2)$$

**Table 2**

Toxicity tests: micropollutant concentrations and the lowest concentrations inducing toxicity on *E. coli* MG1655.

Micropollutants	Ranges of concentration tested	Minimum concentration inducing a toxicity
Erythromycin	0.001–10 <sup>5</sup> µg/L	10 <sup>5</sup> µg/L
Ibuprofen	0.001–10 <sup>7</sup> µg/L	10 <sup>6</sup> µg/L
4-Nonylphenol	0.001–10 <sup>5</sup> µg/L	10 <sup>5</sup> µg/L
Ofloxacin	0.01–2.10 <sup>5</sup> µg/L	100 µg/L
PFOA	0.1–10 <sup>5</sup> ng/L	-
PFOS	0.1–2.10 <sup>5</sup> ng/L	-
Sucralose	0.001–10 <sup>5</sup> µg/L	-
Triclosan	0.001–100 µg/L	0.1 µg/L

–: no toxicity observed for the tested concentrations.

**Table 3**  
Batch reactor experiments with sludge: micropollutant concentrations and the lowest concentrations inducing an effect on EPS production, and on the macropollution removal.

Micropollutants	Tested concentrations	Concentrations inducing effects		
		On the macropollution removal	On the production of bound EPS	
Sucralose	100–1,000,000 µg/L	1,000,000 µg/L	–	Fig. 1
Ibuprofen	100–5000 µg/L	5000 µg/L	≥ 100 µg/L	Fig. 2
Erythromycin	10–10,000 µg/L	10,000 µg/L	≥ 100 µg/L	Fig. 3
4-Nonylphenol	100–5000 µg/L	–	5000 µg/L	Fig. 4
Ofloxacin	1–50 µg/L	–	≥ 10 µg/L	Fig. 5
PFOA and PFOS	0.1–10 µg/L	–	≥ 0.1 µg/L	Fig. 6
Triclosan	0.1–1 µg/L	–	≥ 0.5 µg/L	Fig. 7

–: no effect observed.

$[C_{SR}]$  and  $[C_{CR}]$  are the concentrations of the micropollutants in sludge (µg/g) in the spiked and control reactors respectively after 24 h,  $V$  is the volume of the mixed liquor (3 L), and  $m_{micro}$  is the initial amount of micropollutants added to each reactor (g).

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Cytotoxicity tests

The toxicity evaluation was based on a comparison of the growth kinetics of *E. coli* MG1655 in the control LB and in the LB containing micropollutants. Micropollutant concentrations were considered as toxic when they slowed down bacterial growth, evidenced by an extended generation time or even a complete cessation of the growth.

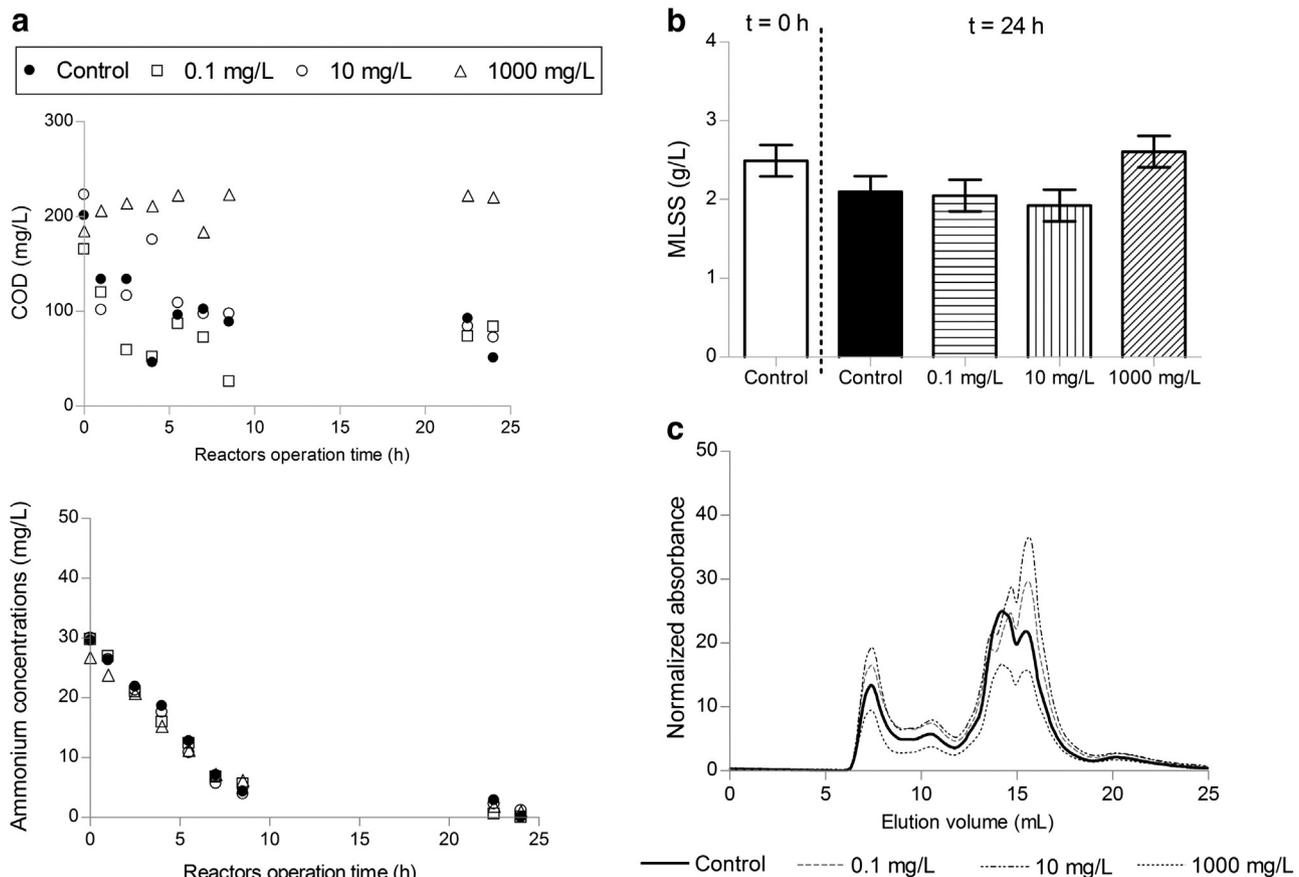
The range of micropollutant concentrations tested, and their toxicity levels for *E. coli* are presented in Table 2. A total absence of toxicity (growth in spiked conical flasks identical to the control) was observed in a large concentration range for sucralose (up to  $10^5$  µg/L), and for PFOA and PFOS (up to  $10^2$  µg/L). A toxic effect was observed for erythromycin and 4-NP at  $10^5$  µg/L, and for ibuprofen at  $10^6$  µg/L. In the case of ofloxacin and triclosan, a toxicity was observed at much lower concentrations (100 µg/L and 0.1 µg/L respectively).

In conclusion, no toxicity could be detected for *E. coli* for any of the target compounds at concentrations usually measured in municipal wastewater entering the WWTP except for triclosan (toxicity at 0.1 µg/L). Triclosan was previously measured in a range from 0.02 µg/L to 9.07 µg/L in wastewater (Gatidou et al., 2007; Wu et al., 2007; Verlicchi et al., 2012), this suggests that it might affect the WWTP biomass.

In the next part (Section 3.2), the triclosan concentration range exceeded the toxic concentration observed on *E. coli* (0.1 µg/L) because the limit of quantification for the analysis of triclosan in wastewater was 0.1 µg/L.

#### 3.2. Experiments with activated sludge in batch reactor

The absence of toxicity does not necessarily mean that there are no effects on the bacterial behavior. Micropollutants may induce stress or may interfere with indigenous bacterial physiology. The next study was performed on sludge (sampled in an urban WWTP) cultured in batch reactors. Two parameters reflecting biomass health in the presence of micropollutants were monitored: the production of EPS and the capacity to maintain macropollution removal. The ranges of tested micropollutant concentrations are given in Table 3.



**Fig. 1.** Sucralose: evolution over 24 h of different parameters in control reactor and reactors with different concentrations of sucralose a) COD and ammonium concentration, b) mixed liquor suspended solids, and c) normalized chromatograms of bound EPS.

### 3.2.1. Macropollution removal

Five molecules, ofloxacin, 4-NP, PFOA, PFOS and triclosan, did not alter the biomass capacity to degrade macropollution (Table 3) regardless of the tested concentrations. The organic matter and ammonium removal yields were identical in the control reactor and in the reactors spiked with various concentrations of these compounds (Figs. 4–7 part a). Furthermore no significant variations of the MLSS were observed between the control and the spiked reactors (Figs. 1–7 part b) (variations were included in the error bars of 0.2 g/L).

Ibuprofen (Fig. 2a) and erythromycin (Fig. 3a), at concentrations of 5000 µg/L and 10,000 µg/L respectively, inhibited the macropollution biodegradation: the COD and the ammonium concentration were only slightly reduced (70% and approximately 50% resp.). Thus at high concentration, these pharmaceuticals had an effect on the biomass ability to degrade macropollution.

The presence of sucralose at a very high concentration of 1000 mg/L inhibited organic matter removal (COD) but not that of ammonium (Fig. 1a) and the biomass content increased by about 20%. These extreme concentrations are not realistic; however it is interesting to observe that biomass behavior was affected in spite of the fact that such concentrations did not induce a toxicity effect on *E. coli*. It is quite difficult to draw a conclusion, because at such a high concentration, the effects observed could be linked to osmotic problems or the availability of water for bacteria.

### 3.2.2. Study of extracellular polymeric substances

The EPS study is an interesting tool for a better understanding of the biomass behavior. We examined the EPS bound in the biological flocs and the SMP released in the bulk. The EPS chromatograms

obtained in experiments with micropollutants at different concentrations and in a control reactor are presented in Figs. 1 to 7, part c. The areas of the chromatograms are a reflection of the EPS (or SMP) concentrations. They exhibit different peak maxima corresponding to large macromolecules (elution volume of approximately 8 mL corresponding to about 670,000 Da for protein and 212,000 Da for polysaccharide calibration), and small macromolecules (elution volume of 16 mL corresponding to 5730 Da for protein and 180 Da for polysaccharide calibration). The chromatograms for SMP are not presented here because they had only one peak with an elution time of 13 mL corresponding to medium sized molecules; and in most cases the SMP content did not exhibit any changes. The EPS chromatograms show that in all the experiments the EPS amount increased at least at very high micropollutant concentrations; and this was true even in the case of five molecules which did not inhibit the biomass' ability to remove macropollution (4-NP, ofloxacin, triclosan, PFOA and PFOS). A more intensive production of EPS in flocs may be due to a protection mechanism in order to maintain the functional integrity of the microorganisms at certain pollution levels.

The biomass was sensitive to the presence of the three biologically active molecules erythromycin, ofloxacin, and triclosan, which exhibited an effect on the microorganisms at different levels of concentration though the biomass sustained to degrade the macropollution.

The EPS chromatogram area increased in the presence of ofloxacin and triclosan at concentrations starting at 10 µg/L and 0.5 µg/L respectively (these concentration levels were reported in urban wastewater, sometimes even higher). The chromatogram's shape was not significantly different from that of the control reactor; therefore it can be considered that the total production of EPS was enhanced

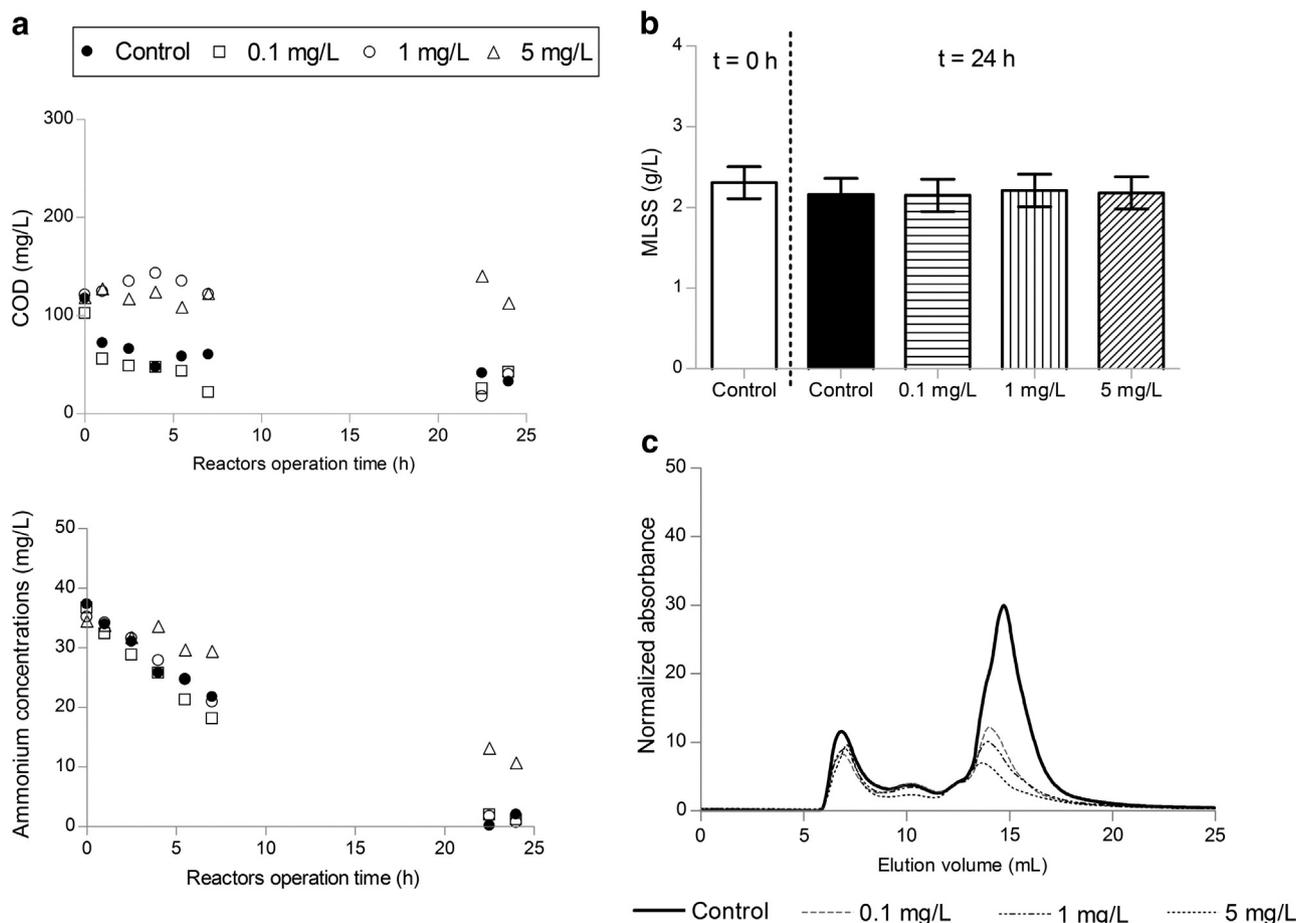
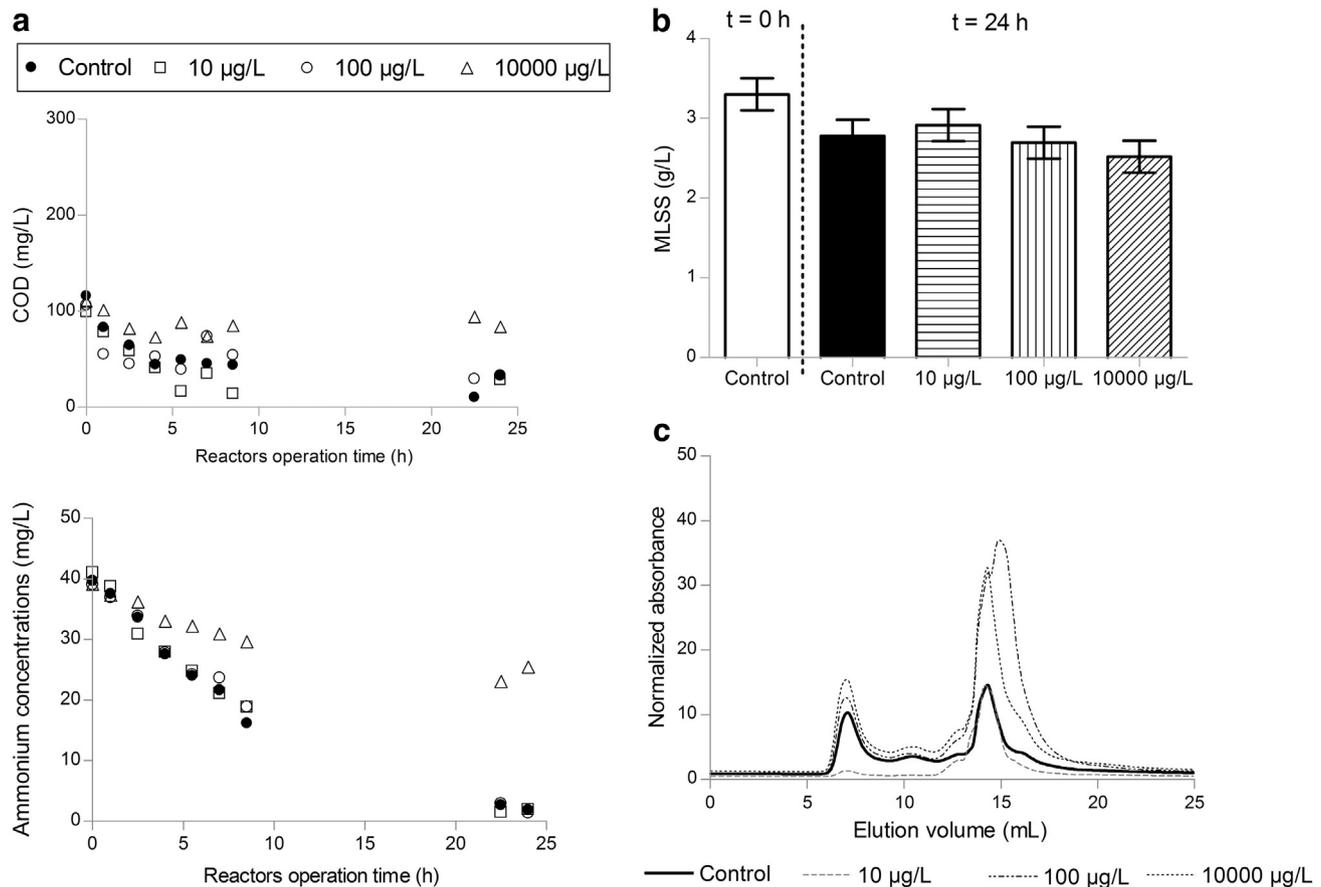


Fig. 2. Ibuprofen: evolution over 24 h of different parameters in control reactor and reactors with different concentrations of ibuprofen a) COD and ammonium concentration, b) mixed liquor suspended solids, and c) normalized chromatograms of bound EPS.



**Fig. 3.** Erythromycin: evolution over 24 h of different parameters in control reactor and reactors with different concentrations of erythromycin a) COD and ammonium concentration, b) mixed liquor suspended solids, and c) normalized chromatograms of bound EPS.

without cell lysis. Indeed cell lysis would have been evidenced by an increase of small macromolecule peaks.

Erythromycin already induced a slight modification of the EPS chromatogram at the lowest concentration (10 µg/L), and significantly higher EPS production was observed at much higher concentrations (100 and 1000 µg/L) with occurrence of more small macromolecule peaks.

All the experiments were repeated at least twice (wastewater and activated sludge both sampled in the WWTP several days later) and confirmed biomass sensitivity to erythromycin at the same levels of concentration and to ofloxacin at lowest concentrations (from 1 µg/L). Triclosan, which was toxic for *E. coli* MG1655 at 0.1 µg/L, induced an effect on biomass at a higher concentration (0.5 µg/L) and only during one of the experiments performed in triplicate. This confirmed that biomass can cope with the presence of toxics better than laboratory bacterial strain (Everts, 2006). However, the bacterial consortium may vary from one day to another according to the conditions at the WWTP and its capacity to cope with the presence of toxics may therefore also vary accordingly.

Ibuprofen deserves special attention: batch experiments with concentrations of 0.1, 1 and 5 mg/L were performed twice (6 experiments). In all cases, the EPS content was lower than the control reactor (Fig. 2c). Although no inhibition could be observed with these concentrations of ibuprofen on the growth kinetics of *E. coli* (Table 2), a possible effect on other bacterial species hosted by the biomass cannot be excluded. Nevertheless this remains relatively surprising since, to the best of our knowledge, ibuprofen is known to inhibit transcription factors and probably alter enzymatic activities (Tegeger et al., 2001) in eukaryotic cells. However no effect has ever been described regarding bacteria. Whatever the mechanism

involved, bacterial sensitivity to ibuprofen, even at low concentrations, is worth being considered. On the practical side, despite observing a decrease of EPS content appearing at 0.1 mg/L of ibuprofen, disruption of macropollution removal was observed only at the much higher concentration of 5 mg/L.

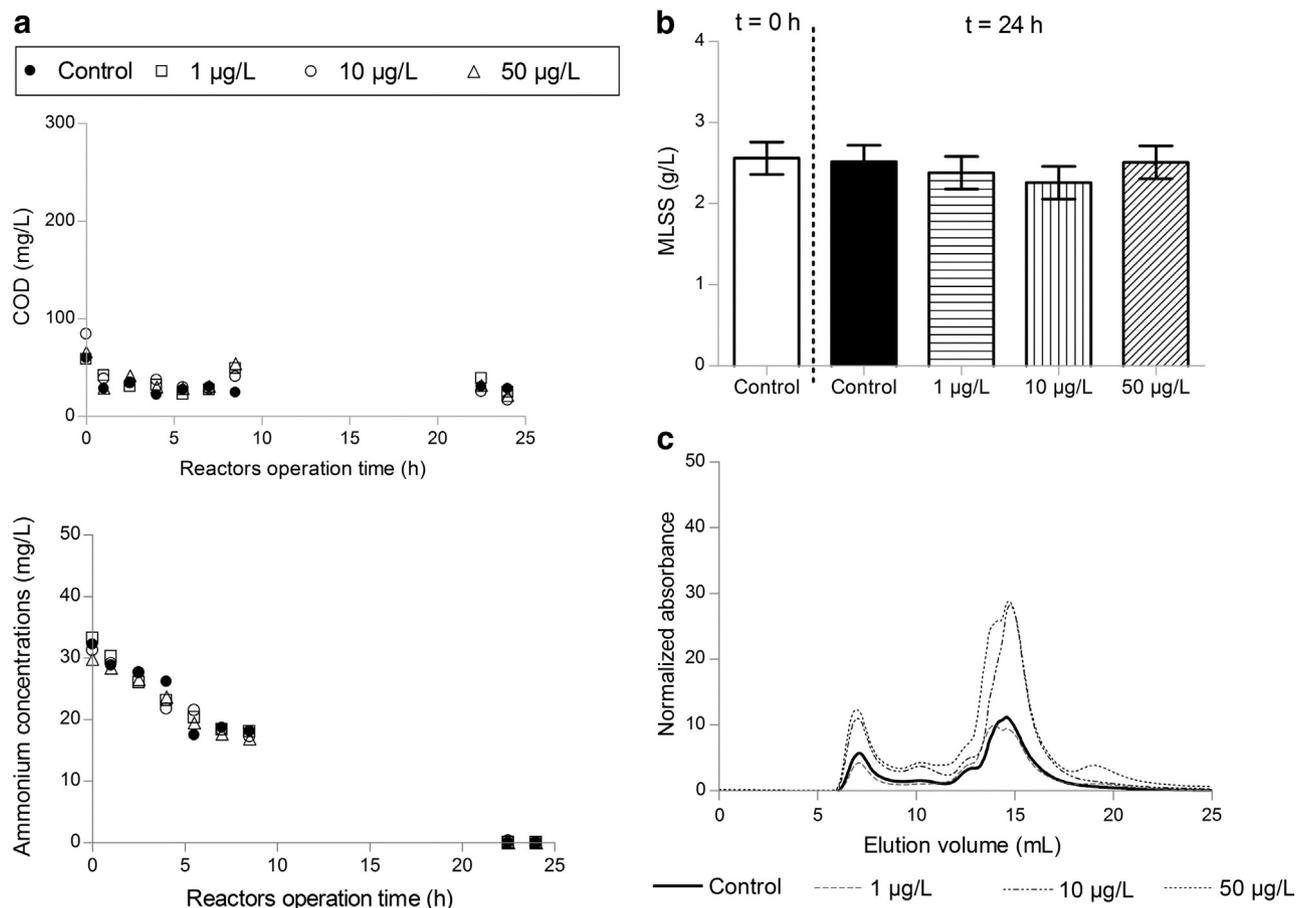
Though PFOA, PFOS and 4-NP, did not exhibit any impact on macropollution removal, they appeared to promote EPS production at concentrations of 1 and 10 µg/L for PFOA and PFOS and at 5000 µg/L for 4-NP. In fact, at concentrations a thousand times higher than those found in wastewater, the biomass seemed to be sensitive to these micropollutants.

Sucralose, which was non-toxic for *E. coli* at the studied concentrations, appeared to have an impact on the biomass at a very high concentration of 1000 mg/L; at this concentration the EPS content was lower than the control reactor, while the MLSS content was higher and organic matter removal was inhibited. However, for such extreme conditions, conclusions are rather difficult to draw.

### 3.2.3. Micropollutant removal

The capacity of the biomass to remove micropollutants, at different concentrations, from the liquid phase of the mixed liquors is presented in Fig. 8a. Some micropollutants were removed from the liquid phase but were found to be adsorbed onto the sludge at the end of the experiments (Fig. 8b).

Sucralose and PFOA were not removed from the liquid phase at all during the experiments and were not adsorbed onto the sludge (or only very slightly) (Table S1, in supplementary data). This observation is not surprising because these compounds are known to be non-biodegradable or poorly biodegradable (Kissa, 2001; Oppenheimer et al., 2011).



**Fig. 4.** Ofloxacin: evolution over 24 h of different parameters in control reactor and reactors with different concentrations of ofloxacin a) COD and ammonium concentration, b) mixed liquor suspended solids, and c) normalized chromatograms of bound EPS.

Ibuprofen and 4-NP were removed at more than 90% from the liquid phase. Since it was not adsorbed onto sludge, it can be considered as removed by biodegradation during the experiment as observed by Suarez et al. (2010).

Since 4-NP was only slightly adsorbed onto sludge (0.75 to 3.83 µg/g, Table S1), its removal from the liquid phase at nearly 100% can be mainly attributed to biodegradation. In our previous studies (Pasquini et al., 2013) the 4-NP removal in two WWTPs was examined. However it was not possible to assess its removal in an urban plant because 4-NP can be a by-product of the degradation of alkylphenol ethoxylates (Ying et al., 2003) and its concentration was sometimes higher at the WWTP outlet than at the inlet. In the present batch studies, no precursors or only a few of them were present in the reactor before starting the experiments, so this study indicates that the removal of 4-NP from the liquid phase is possible. This corroborates observations of Ying et al. (2008) who reported the elimination of 90% of the 4-NP entering a biological WWTP.

Erythromycin and ofloxacin were removed from the liquid phase with lower yields; 30% and 60% respectively. Erythromycin can be considered as having been biodegraded, because it was not found adsorbed onto sludge. Ofloxacin was both biodegraded and adsorbed onto sludge (around 10%) (0.24 to 0.67 µg/g, Table S1), as previously described in the literature (Li and Zhang, 2010).

The removal of triclosan depended on its initial concentrations in the reactor. The higher the concentration of triclosan was, the higher its rate of removal from the liquid phase was. According to Singer et al. (2002), it seems that triclosan is essentially biodegraded.

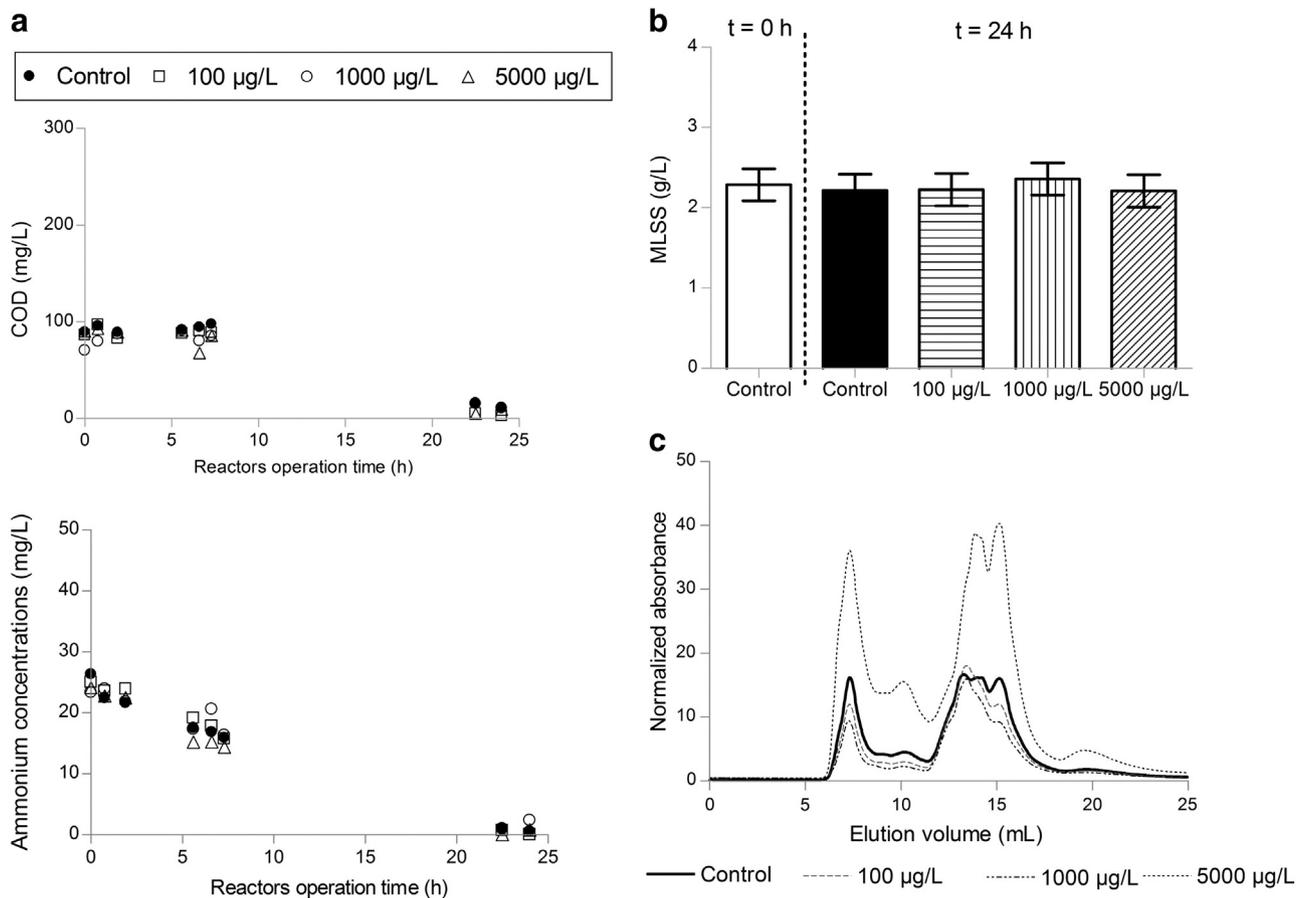
PFOS was removed from the liquid phase at around 30% which can be mainly attributed to its adsorption onto sludge (20% of the initial amount added in the reactors was found adsorbed onto sludge).

#### 4. Conclusion

The influence of eight micropollutants on the biomass of municipal activated sludge was studied in laboratory batch reactors. Bacterial sensitivity was evaluated by measuring the capacity of biomass to remove organic matter (COD) and ammonium, and by assessing the bound EPS content. As could be expected, activated sludge was mainly sensitive to pharmaceutical molecules (erythromycin, ofloxacin) and to the biocide, triclosan and this at concentrations up to a few µg/L: triclosan at 0.1 µg/L, ofloxacin and erythromycin at 10 µg/L; these concentrations are currently found in urban wastewater. The observed enhanced EPS production may indicate that the biomass had to cope with new conditions to maintain the functional integrity of the biomass which was preserved. The macropollution removal remained intact at those concentrations. The anti-inflammatory drug, ibuprofen appears to have a negative impact on the biomass by diminishing its activity.

Chemically stable PFOA and PFOS, as well as 4-NP, did not impact the macropollution removal capacity at concentrations of approximately a thousand times higher than those found in wastewater. However these compounds at high concentrations (1 µg/L and 5000 µg/L respectively), did induce a microbial response through enhanced EPS production.

All these results provide new elements to highlight the sludge dynamic and adaptation to environmental changes. Obviously, the observed biomass behavior cannot be generalized because activated sludge varies from one WWTP to another and according to the process, to the climatic conditions, to the age of the sludge, and so on. However it was showed here that pharmaceutical micropollutants may have an impact on the microbial consortium found in the studied



**Fig. 5.** 4-NP: evolution over 24 h of different parameters in control reactor and reactors with different concentrations of 4-NP a) COD and ammonium concentration, b) mixed liquor suspended solids, and c) normalized chromatograms of bound EPS.

WWTP at concentrations currently found in wastewater. The micro-pollutants in municipal wastewater are not only a threat to the natural environment through WWTP discharges when they are not sufficiently removed, but they may also interfere with the biological activity of wastewater treatment process.

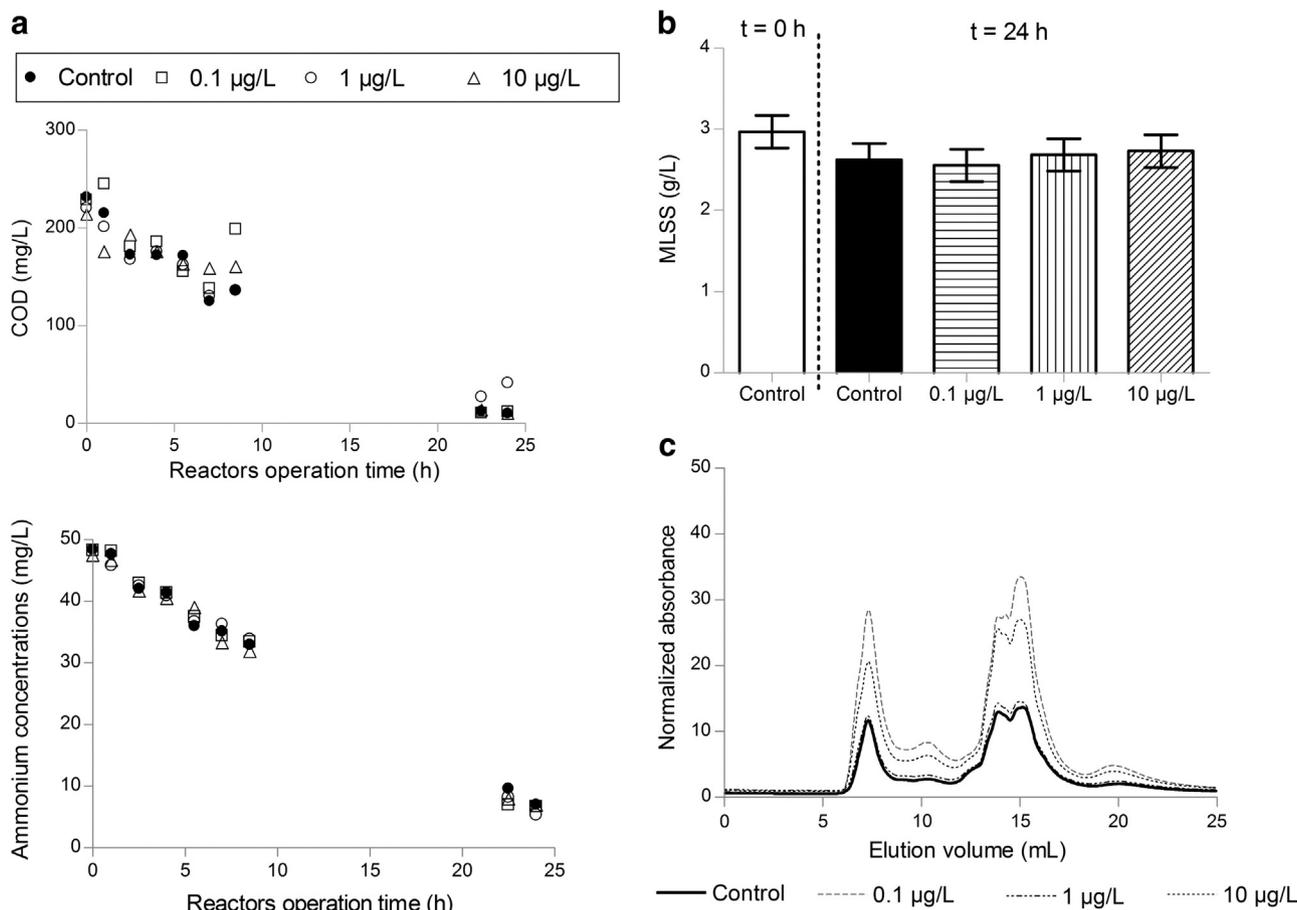
Supplementary data to this article can be found online at <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.06.018>.

## Acknowledgments

We would like to thank the Veolia group, operator of the WWTP in Nancy-Maxéville and the Grand Nancy for allowing us access to the treatment plant and to valuable information, and the Zone Atelier Moselle for funding. We thank also Timothée Daguinot and Grazielli Colla for their help in the experimentations.

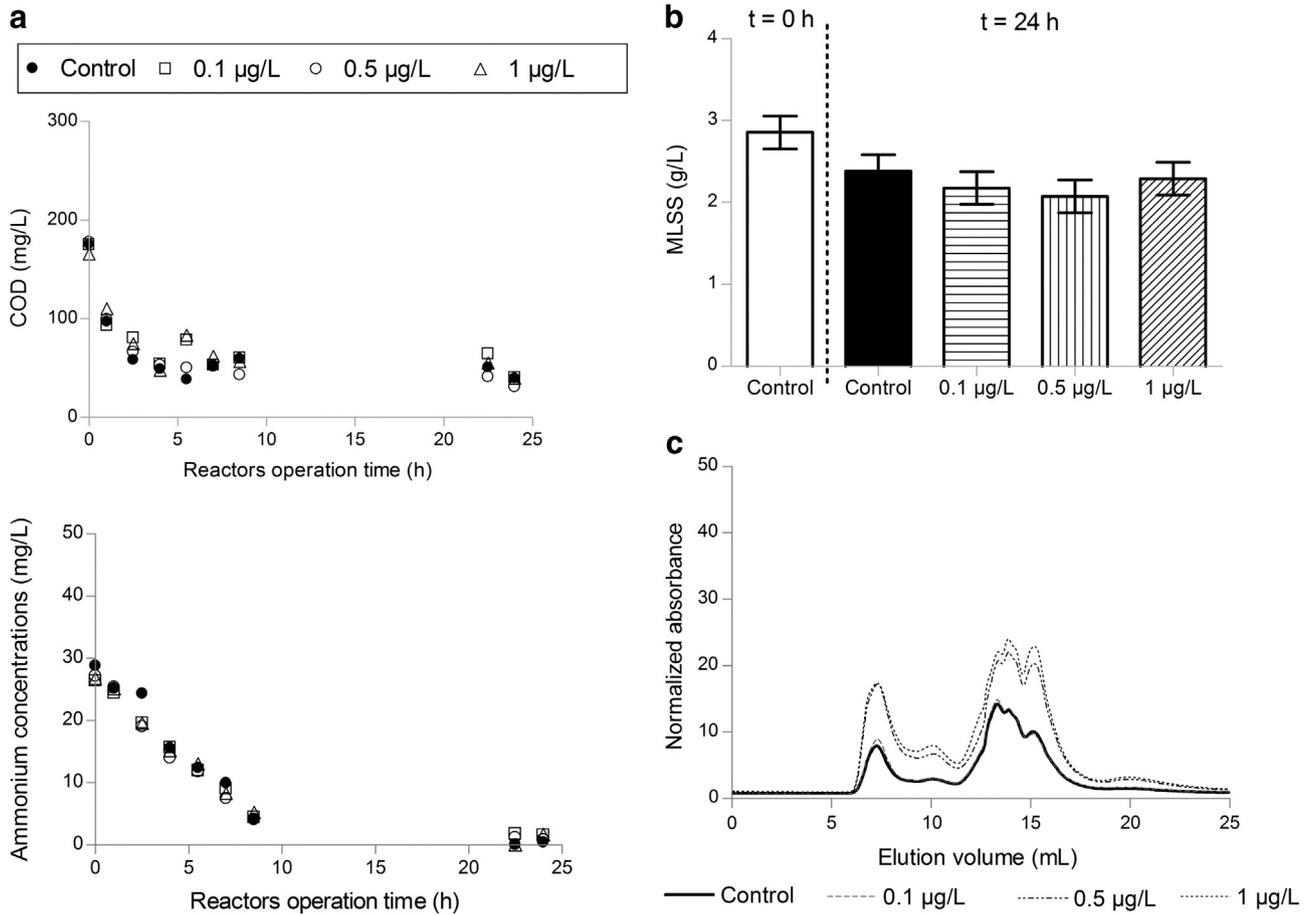
## References

- Aquino SF, Stuckey DC. Soluble microbial products formation in anaerobic chemostats in the presence of toxic compounds. *Water Res* 2004;38:255–66.
- Avella AC, Essendoubi M, Louvet JN, Gorner T, Sockalingum GD, Pons MN, et al. Activated sludge behaviour in a batch reactor in the presence of antibiotics: study of extracellular polymeric substances. *Water Sci Technol* 2010;61:3147–55.
- Baquero F, Martínez JL, Cantón R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Curr Opin Biotechnol* 2008;19:260–5.
- Barbosa J, Bergés R, Toro I, Sanz-Nebot V. Protonation equilibria of quinolone antibacterials in acetonitrile–water mobile phases used in LC. *Talanta* 1997;44:1271–83.
- Becker AM, Gerstmann S, Frank H. Perfluorooctanoic acid and perfluorooctane sulfonate in the sediment of the Roter Main river, Bayreuth, Germany. *Environ Pollut* 2008;156:818–20.
- Bhandari A, Surampalli RY, Adams CD, Champagne P, Ong SK, Tyagi RD, et al. Contaminants of emerging environmental concern. Reston, VA, USA: American Society of Civil Engineers; 2009.
- Binelli A, Cogni D, Parolini M, Riva C, Provini A. Cytotoxic and genotoxic effects of in vitro exposure to Triclosan and Trimethoprim on zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) hemocytes. *Comp Biochem Physiol C* 2009;150:50–6.
- Boiteux V, Dauchy X, Rosin C, Munoz JF. National screening study on 10 perfluorinated compounds in raw and treated tap water in France. *Arch Environ Contam Toxicol* 2012;63:1–12.
- Buerge IJ, Keller M, Buser HR, Müller MD, Poiger T. Saccharin and other artificial sweeteners in soils: Estimated inputs from agriculture and households, degradation, and leaching to groundwater. *Environ Sci Technol* 2011;45:615–21.
- Burns DC, Ellis DA, Li H, McMurdo CJ, Webster E. Experimental pK(a) determination for perfluorooctanoic acid (PFOA) and the potential impact of pK(a) concentration dependence on laboratory-measured partitioning phenomena and environmental modeling. *Environ Sci Technol* 2008;42:9283–8.
- Buser HR, Poiger T, Müller MD. Occurrence and environmental behavior of the chiral pharmaceutical drug ibuprofen in surface waters and in wastewater. *Environ Sci Technol* 1999;33:2529–35.
- Celander MC. Cocktail effects on biomarker responses in fish. *Aquat Toxicol* 2011;105:72–7.
- Cheng J, Psillakis E, Hoffmann MR, Colussi AJ. Acid dissociation versus molecular association of perfluoroalkyl oxoacids: environmental implications. *J Phys Chem A* 2009;113:8152–6.
- EN ISO 10712:1995. Water quality – *Pseudomonas putida* growth inhibition test (pseudomonas cell multiplication inhibition test). Comité Européen de Normalisation; 1995.
- Everts S. Bacterial conversations. *Chem Eng News* 2006;84:17–26.
- Ferrer I, Thurman EM. Analysis of sucralose and other sweeteners in water and beverage samples by liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2010;1217:4127–34.
- Finlayson JC, Liao B, Droppo IG, Leppard GG, Liss SN. The relationship between the structure of activated sludge flocs and the sorption of hydrophobic pollutants. *Water Sci Technol* 1998;37:353–7.
- Fleming HC, Wingender J. Relevance of microbial extracellular polymeric substances (EPS) – part I: structural and ecological aspects. *Water Sci Technol* 2001;43:1–8.
- Frolund B, Palmgren R, Keiding K, Nielsen PH. Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. *Water Res* 1996;30:1749–58.
- Gatidou G, Thomaidis NS, Stasinakis AS, Lekkas TD. Simultaneous determination of the endocrine disrupting compounds nonylphenol, nonylphenol ethoxylates, triclosan and bisphenol A in wastewater and sewage sludge by gas chromatography–mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2007;1138:32–41.



**Fig. 6.** PFOA and PFOS: evolution over 24 h of different parameters in control reactor and reactors with different concentrations of PFOA and PFOS a) COD and ammonium concentration, b) mixed liquor suspended solids, and c) normalized chromatograms of bound EPS.

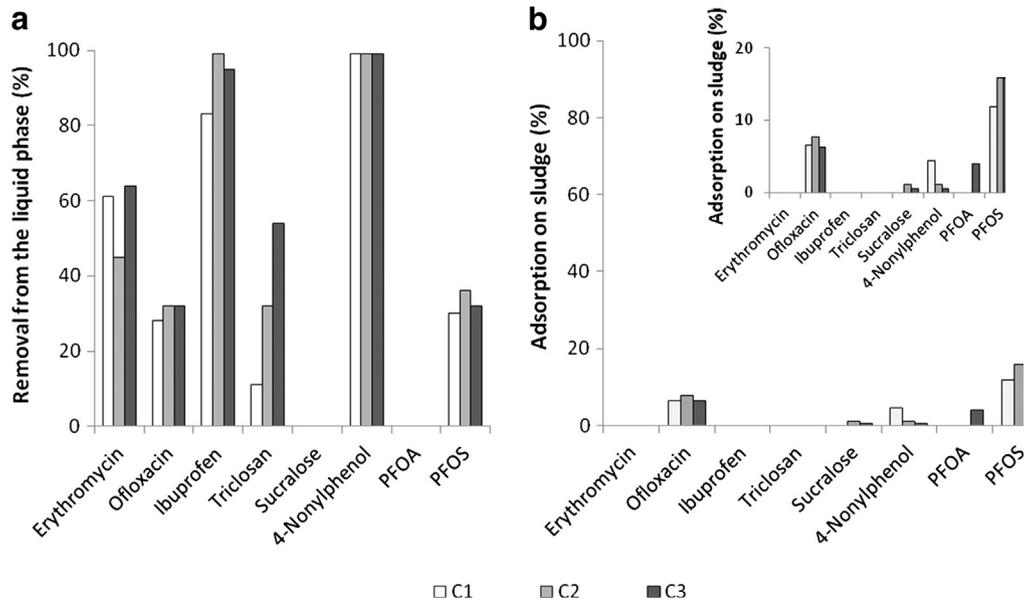
- Gobel A, Thomsen A, McArdeell CS, Joss A, Giger W. Occurrence and sorption behavior of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in activated sludge treatment. *Environ Sci Technol* 2005;39:3981–9.
- Grice HC, Goldsmith LA. Sucralose – an overview of the toxicity data. *Food Chem Toxicol* 2000;38:S1–6.
- Huang X, Sun BS, Sun JM, Zhang B. EPS, SMP and microbial biodiversity under the oligotrophic environment. *J Environ Sci (China)* 2009;30:1468–74.
- Isidori M, Lavorgna M, Nardelli A, Pascarella L, Parrella A. Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on non-target organisms. *Sci Total Environ* 2005;346:87–98.
- Jenner MR, Smithson A. Physicochemical properties of the sweetener sucralose. *J Food Sci* 1989;54:1646–9.
- Kissa E. Fluorinated surfactants and repellents. New York: Marcel Dekker; 2001.
- Lee HB, Peart TE, Svoboda ML. Determination of ofloxacin, norfloxacin, and ciprofloxacin in sewage by selective solid-phase extraction, liquid chromatography with fluorescence detection, and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2007;1139:45–52.
- Li B, Zhang T. Biodegradation and adsorption of antibiotics in the activated sludge process. *Environ Sci Technol* 2010;44:3468–73.
- Lindberg RH, Wennberg P, Johansson MI, Tysklind M, Andersson BAV. Screening of human antibiotic substances and determination of weekly mass flows in five sewage treatment plants in Sweden. *Environ Sci Technol* 2005;39:3421–9.
- Lussier SM, Champlin D, LiVolsi J, Poucher S, Pruell RJ. Acute toxicity of paronylphenol to saltwater animals. *Environ Toxicol Chem* 2000;19:617–21.
- McArdeell CS, Molnar E, Suter MJF, Giger W. Occurrence and fate of macrolide antibiotics in wastewater treatment plants and in the Glatt Valley Watershed, Switzerland. *Environ Sci Technol* 2003;37:5479–86.
- McFarland JW, Berger CM, Froshauer SA, Hayashi SF, Hecker SJ, Jaynes BH, et al. Quantitative structure–activity relationships among macrolide antibacterial agents: In vitro and in vivo potency against *Pasteurella multocida*. *J Med Chem* 1997;40:1340–6.
- Nie Y, Qiang Z, Zhang H, Adams C. Determination of endocrine-disrupting chemicals in the liquid and solid phases of activated sludge by solid phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2009;1216:7071–80.
- Nielsen PH, Jahn A, Palmgren R. Conceptual model for production and composition of exopolymers in biofilms. *Water Sci Technol* 1997;36:11–9.
- Onbasli D, Aslim B. Effects of some organic pollutants on the exopolysaccharides (EPSs) produced by some *Pseudomonas* spp. strains. *J Hazard Mater* 2009;168:64–7.
- Oo C, Shah B. Does erythromycin have anti-inflammatory effects independent of its antimicrobial action? *J Clin Pharmacol* 2012;52:613–4.
- Oppenheimer J, Eaton A, Badruzzaman M, Haghani AW, Jacangelo JG. Occurrence and suitability of sucralose as an indicator compound of wastewater loading to surface waters in urbanized regions. *Water Res* 2011;45:4019–27.
- EU Parliament. Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on environmental quality standards in the field of water policy, amending and subsequently repealing. *Off J Eur Union* 2008;L348:84–97.
- Pasquini L, Munoz JF, Rimlinger N, Dauchy X, France X, Pons MN, et al. Assessment of the fate of some household micropollutants in urban wastewater treatment plant. *Chem Pap* 2013;67:601–12.
- Pothitou P, Voutsas D. Endocrine disrupting compounds in municipal and industrial wastewater treatment plants in Northern Greece. *Chemosphere* 2008;73:1716–23.
- Prevedouros K, Cousins IT, Buck RC, Korzeniowski SH. Sources, fate and transport of perfluorocarboxylates. *Environ Sci Technol* 2006;40:32–44.
- Qiang Z, Adams C. Potentiometric determination of acid dissociation constants (pKa) for human and veterinary antibiotics. *Water Res* 2004;38:2874–90.
- Schmitz RPH, Eisentrager A, Dott W. Miniaturized kinetic growth inhibition assays with *Vibrio fischeri* and *Pseudomonas putida* (application, validation and comparison). *J Microbiol Methods* 1998;31:159–66.
- Schneider R, Wolpert C, Guilloteau H, Balan L, Lambert J, Merlin C. The exposure of bacteria to CdTe-core quantum dots: the importance of surface chemistry on cytotoxicity. *Nanotechnology* 2009;20.
- Shivakoti BR, Tanaka S, Fujii S, Kunacheva C, Boontanon SK, Musirat C, et al. Occurrences and behavior of perfluorinated compounds (PFCs) in several wastewater treatment plants (WWTPs) in Japan and Thailand. *J Environ Monit* 2010;12:1255–64.
- Singer H, Müller S, Tixier C, Pillonel L. Triclosan: occurrence and fate of a widely used biocide in the aquatic environment: field measurements in wastewater treatment plants, surface waters, and lake sediments. *Environ Sci Technol* 2002;36:4998–5004.
- Soares A, Guieysse B, Jefferson B, Cartmell E, Lester JN. Nonylphenol in the environment: a critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters. *Environ Int* 2008;34:1033–49.
- Standard method. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington, D.C., USA: American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation; 2005.
- Stephenson BC, Rangel-Yagui CO, Pessoa Jr A, Tavares LC, Beers K, Blankschtein D. Experimental and theoretical investigation of the micellar-assisted solubilization of ibuprofen in aqueous media. *Langmuir* 2006;22:1514–25.
- Stuer-Lauridsen F, Birkved M, Hansen LP, Lutzhoft HCH, Halling-Sorensen B. Environmental risk assessment of human pharmaceuticals in Denmark after normal therapeutic use. *Chemosphere* 2000;40:783–93.



**Fig. 7.** Triclosan: evolution over 24 h of different parameters in control reactor and reactors with different concentrations of triclosan a) COD and ammonium concentration, b) mixed liquor suspended solids, and c) normalized chromatograms of bound EPS.

Suarez S, Omil F, Lema JM. Fate and removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in a conventional activated sludge treatment process, 135. ; 2010, p. 255–65.  
 Tegeder I, Pfeilschifter J, Geisslinger G. Cyclooxygenase-independent actions of cyclooxygenase inhibitors. *FASEB J* 2001;15:2057–72.  
 US EPA. Method 410.4. The determination of chemical oxygen demand by semi-automated colorimetry; 1993.

US EPA. Reregistration eligibility decision for triclosan; 2008.  
 Vazquez-Duhalt R, Marquez-Rocha FJ, Ponce E, Licea AF, Viana MT. Nonylphenol, an integrated vision of a pollutant. *Appl Ecol Environ Res* 2005;4:1–25.  
 Verlicchi P, Al Aukidy M, Zambello E. Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment – A review. *Sci Total Environ* 2012;429:123–55.



**Fig. 8.** Removal of the micropollutants, at three levels of concentration (C1, C2 and C3), a) from the liquid phase and b) adsorption onto sludge (in % of the original amount spiked to reactors) after 24 h of experiment.

- Völgyi G, Ruiz R, Box K, Comer J, Bosch E, Takács-Novák K. Potentiometric and spectrophotometric pKa determination of water-insoluble compounds: validation study in a new cosolvent system. *Anal Chim Acta* 2007;583:418–28.
- Wingender J, Neu TR, Flemming HC. *Microbial extracellular polymeric substances*. Heidelberg: Springer; 1999.
- Wu JL, Lam NP, Martens D, Kettrup A, Cai Z. Triclosan determination in water related to wastewater treatment. *Talanta* 2007;72:1650–4.
- Wunder DB, Tan DT, LaPara TM, Hozalski RM. The effects of antibiotic cocktails at environmentally relevant concentrations on the community composition and acetate biodegradation kinetics of bacterial biofilms. *Chemosphere* 2013;90:2261–6.
- Ying GG, Kookana RS, Dillon P. Sorption and degradation of selected five endocrine disrupting chemicals in aquifer material. *Water Res* 2003;37:3785–91.
- Ying GG, Kookana RS, Kumar A. Fate of estrogens and xenoestrogens in four sewage treatment plants with different technologies. *Environ Toxicol Chem* 2008;27:87–94.

## IV.2 ÉLIMINATION DES MICROPOLLUANTS PAR LES BOUES ACTIVÉES ; SUIVI CINÉTIQUE EN LABORATOIRE

Dans cette partie nous nous intéressons au devenir des micropolluants cibles dans les boues activées en condition de laboratoire. Deux types de réacteurs batch, aux aérations différentes ont été testés : un réacteur fortement aéré par un bulleur (voir partie II.6.2.1) et un réacteur faiblement aéré, où l'agitation a été maintenue par un barreau aimanté.

L'expérimentation dans chaque réacteur a été réalisée à des jours différents. Dans chaque type de réacteur, 1L de boue épaisse a été dilué dans 2L d'eau usée (boue et eau ont été prélevées, le jour de chaque expérience, à la STEP de Nancy-Maxéville). Les réacteurs ont ensuite été dopés en micropolluants et les concentrations en micropolluants ont été suivies durant quatre heures dans les phases liquide et solide de chaque réacteur à température ambiante (à  $t = 0$  (après 5 minutes de mise en contact), 10 min, 30 min, 1 h, 2 h, 3 h et 4 h). Les niveaux de dopage choisis (Tableau IV-1) ont été supérieurs aux concentrations habituellement mesurées dans les eaux usées afin d'avoir des concentrations quantifiables par la méthode d'analyse même après quatre heures d'expérience.

**Tableau IV-1** : Niveaux de dopage en micropolluants dans les réacteurs étudiés.

Molécule	Concentration ajoutée
Ibuprofène	100 µg/L
Érythromycine	50 µg/L
4-Nonylphénol	100 µg/L
Ofloxacine	50 µg/L
Sucralose	500 µg/L
Triclosan	1 µg/L
PFOA - PFOS	160 ng/L

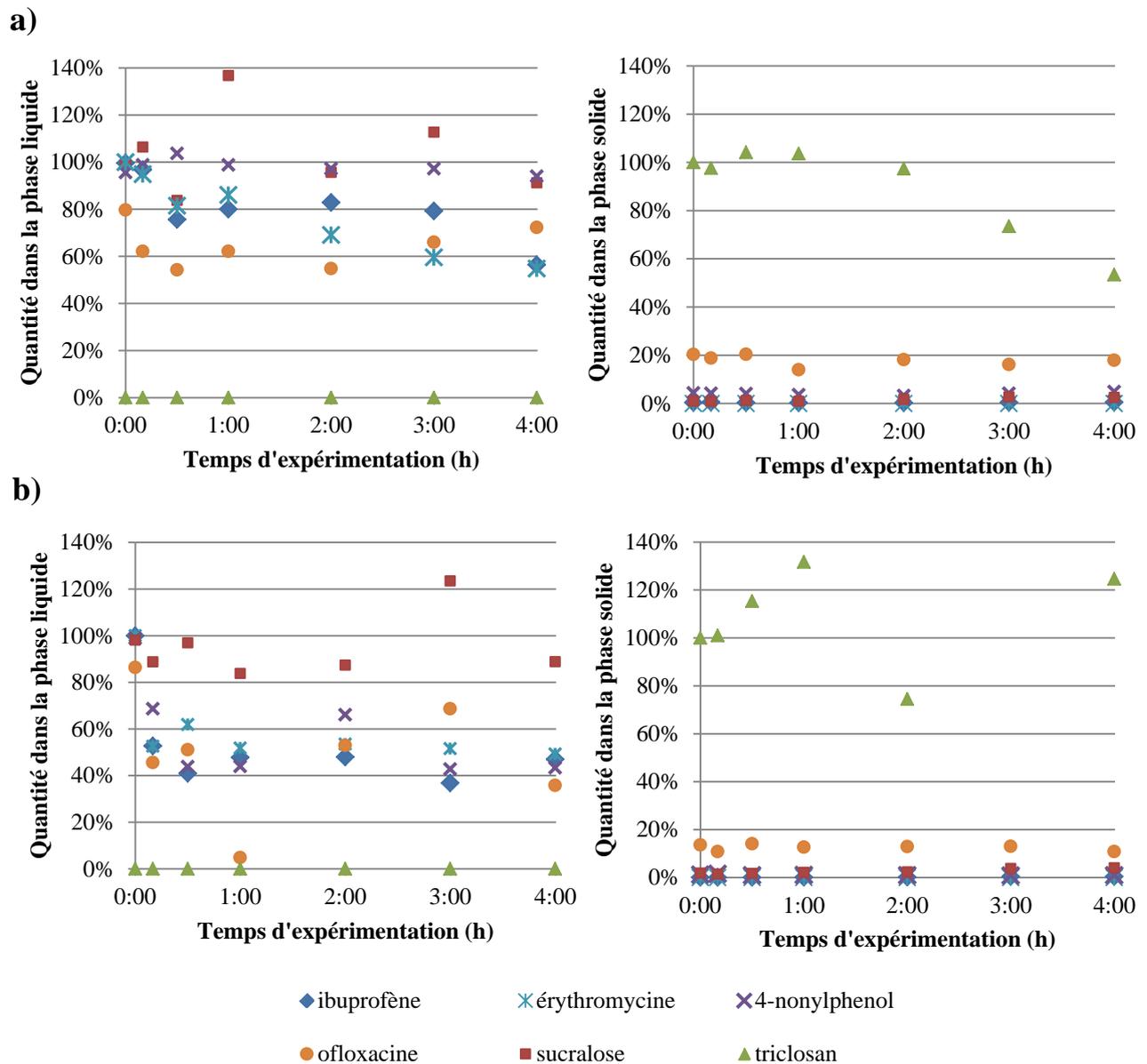
La répartition des six micropolluants, ERY, ibuprofène, 4-NP, OFL, triclosan et sucralose, dans les phases liquide et solide (en pourcentage) au cours des quatre heures d'expérimentation en réacteur batch aéré (a) et agité (b) est présentée sur la Figure IV-1. On peut observer que :

- La concentration en *sucralose* dans la phase liquide est restée constante dans les deux types de réacteurs. Il ne s'est quasiment pas adsorbé sur les boues. Nous pouvons en

déduire que le sucralose n'a pas été dégradé par la biomasse présente dans les réacteurs.

- Le 4-NP en réacteur batch fortement aéré est resté en totalité dans la phase liquide et ne s'est pas adsorbé sur la phase solide au cours des 4 heures. Cependant, dans le réacteur faiblement aéré, le 4-NP ne s'est pas adsorbé sur les boues et a été éliminé de la phase liquide (60 % en quatre heures). Le 4-NP semble avoir été biodégradé. Cette différence de comportement dans les deux types de réacteur peut être liée au fait que les aérations mises en place sont différentes. Dans le premier réacteur, fortement aéré (par un bulleur), les bactéries se développent en milieu aérobic constant, et dans le second réacteur les bactéries se développent en milieu plus ou moins aéré. Selon la littérature (Chang et al. 2004), les microorganismes anaérobiques semblent permettre une bonne élimination du 4-NP. Une seconde hypothèse serait que la boue utilisée lors des deux expériences étant différente, la biomasse n'a pas agi de la même façon.
- Les concentrations en ERY et ibuprofène, dans les deux réacteurs, ont diminué dans la phase liquide et ils n'ont pas été retrouvés adsorbés sur les boues. Nous pouvons en déduire qu'ils ont été éliminés par biodégradation, avec un niveau d'abattement entre et 40 et 60 % après 4 heures d'expérience.
- Le triclosan a été retrouvé adsorbé en totalité sur les matières solides des deux réacteurs à  $t = 0$  (le prélèvement à  $t = 0$  correspondant à un prélèvement après 5 minutes d'homogénéisation du système). Il a donc été éliminé très rapidement de la phase liquide par adsorption. Nous avons observé ensuite son élimination de la phase solide dans le réacteur fortement aéré uniquement (diminution de 50 %). Cette élimination peut être expliquée par la forte biodégradation de cette molécule en milieu aérobic (Veetil et al. 2012).
- L'OFL s'est adsorbé très rapidement sur les boues de STEP dans les deux types de réacteurs : jusqu'à 20 % de la quantité initiale ajoutée est passée dans la phase solide. La concentration dans la phase solide est ensuite restée constante au cours du temps tandis que la concentration dans phase liquide a diminué. Ce comportement d'adsorption suivi d'une biodégradation a été décrit par Li et Zhang (Li et Zhang 2010).
- Pour PFOA et PFOS seule l'expérience en réacteur faiblement aéré a été réalisée. La totalité des PFC ajoutée au mélange eau usée/boue est restée dans la phase liquide, même après 17 heures d'expérience. Aucune adsorption des PFC sur les boues n'a été

observée. Les PFC sont à la fois hydrophobes et lipophobes. Selon Lehmler (Lehmler 2005), en présence de deux phases différentes, les PFC forment une troisième phase, à l'interface des deux premières. Ainsi, l'adsorption des PFC est influencée par la teneur en carbone organique des matières solides (Higgins et Luthy 2006).



**Figure IV-1 :** Quantités de micropolluants (en %) retrouvées dans les phases liquide et solide des réacteurs batch a) fortement aéré, b) faiblement aéré.

---

## CONCLUSION GENERALE

---

La présence de nombreux micropolluants dans l'environnement mobilise l'attention des chercheurs, des politiques et du grand public essentiellement depuis une dizaine d'années. C'est une question de santé publique et de santé de l'environnement, face à une pression sur les ressources en eau qui s'accroît. En réponse à cette problématique, les autorités Européennes ont mis en place une nouvelle directive (DCE) et les scientifiques s'affairent, entre autre, à réaliser, par des campagnes de mesures, un état des lieux de la pollution des eaux de surface, souterraines, potables, ou encore des rejets de stations d'épuration. Dans ce contexte, ce travail de thèse s'articule autour de trois axes :

- le développement de méthodes d'analyse de huit micropolluants : érythromycine, ibuprofène, ofloxacine, 4-nonylphénol, sucralose, triclosan, PFOA et PFOS
- la mesure des concentrations en micropolluants dans les eaux usées urbaines et dans deux stations d'épuration biologiques
- et l'étude de l'impact de ces micropolluants sur la biomasse des STEP.

1. La difficulté d'analyser des concentrations extrêmement faibles (ng/L et µg/L) en micropolluants présents dans des matrices très complexes est un verrou scientifique important. La première étape de ce travail a donc été le développement de méthodes pour l'analyse des micropolluants cibles dans les matrices liquides (eau usée et eau épurée) et solides (matières en suspension et boue). Pour les micropolluants dans les phases liquides, deux protocoles d'extraction sur phase solide (SPE) ont été développés et validés sur matrice dopée. Pour les micropolluants dans les phases solides, un protocole d'extraction suivi de protocoles de purification (pour chaque famille de composés) ont été mis en place et validés sur matrice réelle dopée. La quantification des composés a été réalisée par LC-MS/MS

2. Une dizaine de campagnes de prélèvement sur 24 heures ont été réalisées sur la période 2010 – 2012 dans les eaux d'entrée et de sortie de deux stations d'épuration et dans les égouts de deux zones d'habitats (résidentielle et mixte). Ces mesures (réalisées par temps sec) ont permis de faire un état des lieux des concentrations des micropolluants cibles dans les eaux usées d'une petite et d'une grande agglomération (32 000 et 400 000 EH respectivement).

- i) Pour les huit micropolluants cibles, des niveaux de concentration voisins ont été mesurés en entrée des deux STEP. Les deux stations ont présenté la même efficacité d'élimination de la macropollution et des micropolluants ibuprofène et triclosan (tous deux bien éliminés, > 90 %). Les quatre molécules, sucralose, 4-NP, PFOA et PFOS, ne semblent pas avoir été éliminées dans les deux STEP étudiées. Enfin, l'efficacité d'élimination des deux antibiotiques, érythromycine et ofloxacin, a été supérieure à la STEP de Pont-à-Mousson (> 70 %) ; ils ont été peu ou pas éliminés à la STEP de Nancy-Maxéville.
- ii) Dans les deux STEP étudiées, certains micropolluants (ofloxacin, triclosan, 4-NP, PFOA et PFOS) ont été trouvés adsorbés sur les boues biologiques. Ainsi dans certains cas, l'élimination des micropolluants de la phase liquide s'est faite, au moins partiellement, par le déplacement vers la phase solide. La majorité des publications scientifiques sont consacrées à l'étude des micropolluants dans l'eau, il est cependant important de prendre en compte les boues qui peuvent, par leur épandage, relarguer ces micropolluants dans les sols et les eaux (de surface et souterraines).
- iii) Toutes les données des campagnes de mesures en STEP ont été soumises à une exploitation statistique. L'analyse statistique des concentrations en micro et macropolluants (DCO,  $\text{NH}_4^+$  et turbidité) mesurées en entrée des deux STEP indique qu'il existe des relations entre ces deux types de pollution, toutes deux liées à l'activité humaine. De façon générale, la concentration en molécules rejetées par le corps humain (médicaments, édulcorant...) semble être liée à la concentration en ammonium (principalement issu des urines) dans les eaux usées. L'analyse statistique des mesures en entrée et en sortie des STEP a permis d'établir des corrélations spécifiques pour chaque STEP. Néanmoins, d'autres campagnes sont nécessaires pour valider un modèle potentiellement utilisable pour l'estimation de la micropollution qui serait relarguée dans le milieu naturel par une STEP.
- iv) Les campagnes de prélèvement dans les égouts ont permis de mettre en évidence l'activité hospitalière dans la zone mixte de Brabois. En effet, les flux journaliers d'ofloxacin ont été très importants (dix fois supérieurs) comparé à ceux de la zone résidentielle. Il a aussi été observé une consommation plus importante de sucralose (aliments « sans sucres ») dans la zone résidentielle. Pour les six autres molécules issues de notre activité quotidienne, des flux journaliers (par équivalent habitant) comparables ont été mesurés.

3. Enfin, l'impact des micropolluants sur l'activité bactérienne a été étudié en laboratoire par des tests de toxicité sur une souche bactérienne modèle (*Escherichia coli*). Puis, la sensibilité de la biomasse de STEP vis à vis des micropolluants a été évaluée par l'analyse des substances polymériques extracellulaires (EPS) et le suivi de la capacité d'épuration des boues biologiques (paramètres classique DCO, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, turbidité).

- i) Les tests de croissance bactérienne d'*Escherichia coli* n'ont révélé aucune toxicité du sucralose, PFOA et PFOS à des concentrations jusqu'à dix mille fois supérieures à celles couramment mesurées dans les eaux usées urbaines. Les trois médicaments (érythromycine, ofloxacine et ibuprofène) et le 4-NP ont induit un effet toxique à des concentrations largement supérieures (cent fois pour l'ofloxacine et plus de dix mille fois pour les autres molécules) à celles mesurées dans les eaux usées. Et enfin, le bactéricide triclosan a induit une toxicité à 0,1 µg/L ; concentration couramment retrouvée dans les eaux usées.
- ii) L'exposition de la biomasse de STEP en réacteur batch aux micropolluants cibles a montré que la biomasse a été capable de dégrader la macropollution en présence des huit micropolluants à des concentrations couramment mesurées dans l'eau usée. Néanmoins, même à ces faibles concentrations, la biomasse a été sensible à la présence de certaines molécules (ofloxacine, triclosan, PFOA et PFOS), ce qui s'est traduit par une augmentation de la production des EPS (sécrétées naturellement par la biomasse et lui permettant de s'adapter à des conditions environnementales).

La biomasse a semblé « ignorer » la présence d'autres molécules comme sucralose et 4-nonylphénol à des concentrations jusqu'à 1000 fois supérieures à celles couramment présentes dans les eaux usées. De même, la biomasse n'a pas été sensible à la présence des deux composés pharmaceutiques érythromycine et ibuprofène à des concentrations jusqu'à 10 à 50 fois supérieures à celles présentes dans les eaux usées. Ces résultats sont à la fois rassurants et quelques peu alarmants. En effet, un facteur de dix reste faible et les risques sont existants si la pollution continue à s'accumuler dans le milieu naturel faute de sa non élimination, soit à la source (diminution de l'utilisation des micropolluants au quotidien), soit à l'aide des traitements des stations d'épuration.



---

## PERSPECTIVES

---

Ce travail de recherche s'est focalisé sur présence de huit micropolluants issus de l'activité domestique dans les eaux usées urbaines. De nouvelles connaissances ont été acquises et certaines suscitent des nouvelles interrogations et réflexions.

Nous avons pu constater dans les deux STEP biologiques que PFOA, PFOS et le 4-NP n'ont pas été éliminés, voire parfois leurs concentrations ont augmenté à la sortie des STEP. Pour expliquer ce phénomène, il serait nécessaire d'élargir l'étude à l'analyse des précurseurs des composés perfluorés (fluoro-télomères, sulfonamides d'alkyl-perfluorés, ...) et du 4-NP (alkylphénols éthoxylés) afin de mieux comprendre les mécanismes de formation de ces molécules au cours des procédés d'épuration.

Nous avons vu que les procédés biologiques des deux STEP étudiées ne permettent pas la même élimination des antibiotiques, érythromycine et ofloxacine. La biodégradation des antibiotiques, qui semble potentiellement réalisable, est aussi largement discutée dans la littérature. Il serait judicieux de mener des recherches pour savoir quels sont les paramètres des STEP qui favorisent l'élimination de ces antibiotiques.

L'analyse « classique » des micropolluants est le premier pas indispensable pour faire un état des lieux de la micropollution et pour mettre en évidence certains problèmes. Cette approche est très exigeante en temps, en matériel et en personnel. Le développement des échantillonneurs passifs est une voie qui permettrait, après validation, de remplacer les méthodes de mesures classiques pour donner une information sur l'accumulation des micropolluants en milieu naturel. L'optimisation et la validation de ce nouveau type d'échantillonnage seront sûrement longues car les eaux usées et le milieu naturel présentent des matrices hétérogènes très complexes et les problèmes physico-chimiques et techniques sont nombreux (adsorption/désorption sur les membranes, compétition, sélectivité, cinétique, colmatage, vieillissement...).

Parmi les procédés innovants tertiaires qui pourraient améliorer la performance d'élimination des micropolluants en STEP, la cavitation semble être très prometteuse. Elle ne nécessite aucun ajout de produit chimique, son principe d'action sur les molécules (pyrolyse

ou oxydation radicalaire) suscite l'optimisme et son fonctionnement est relativement simple (partie I.1.3.1). Possédant les méthodes d'analyse des micropolluants pour évaluer ses performances, nous avons prévu de faire quelques expérimentations avec l'IMFS (Institut de Mécanique des Fluides et des Solides) de Strasbourg qui possède un pilote à cavitation hydrodynamique. Le manque de temps nous a empêchés de réaliser ces expériences, néanmoins les quelques rares données de littérature incitent à développer les recherches sur ce procédé.

L'utilisation des méthodes statistiques semble être un outil intéressant pour mettre en évidence ou éclaircir certains phénomènes. Dans notre étude les analyses statistiques faites, certes, sur un nombre de mesures relativement restreint, indiquent qu'il existe des relations entre la micropollution et la macropollution dans les eaux usées. L'application de cette approche à d'autres banques de données pourrait apporter une meilleure compréhension des observations et, peut-être, apporter un modèle physique ou physicochimique.

La mesure des concentrations en micropolluants est complexe et nécessite des équipements et compétences particulières. Par contre, la mesure des paramètres de macropollution (DCO, ammonium, turbidité) est simple et est effectuée quotidiennement en stations d'épuration. Ainsi, en combinant mesures et modélisation sur une STEP entre la micropollution et macropollution en entrée et sortie, la méthode permettrait un calcul prédictif des concentrations en micropolluants à la sortie d'une STEP par la simple mesure de la macropollution. Ceci demanderait dans un premier temps de faire des campagnes de mesures pour caractériser une STEP, de valider les corrélations et ensuite supposerait un fonctionnement stationnaire de la STEP et du comportement de la population, des conditions tout à fait plausibles.

Nous avons pu voir lors de nos essais en laboratoire que la biomasse de STEP était sensible à la présence des micropolluants, même à des concentrations ne compromettant pas son pouvoir épurateur. L'étude des « effets cocktail » serait également intéressante.

Et enfin, au-delà des actions correctives (traitements) qui pourraient être développées en stations d'épuration, il faut mettre l'accent sur les actions préventives pouvant être mises en place afin de limiter les flux de micropolluants dans nos eaux usées.

## Références

- ADEME. (2012)** Les différents types de boues d'épuration et leurs traitements. <http://www.ademe.fr/partenaires/boues/pages/f15.htm>
- AFNOR. (1998)** Norme NF EN 1899-2: Qualité de l'eau - Détermination de la demande biochimique en oxygène après n jours (DBOn) - Partie 2 : méthode pour les échantillons non dilués.
- AFNOR. (2001)** Norme NF T90-101 : Qualité de l'eau - Détermination de la demande chimique en oxygène (DCO).
- AFNOR. (2009)** Norme ISO 25101: Water quality - Determination of perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) - Method for unfiltered samples using solid phase extraction and liquid chromatography tandem mass spectrometry.
- AFSSAPS. (2011)** Vente de médicaments aux officines et aux hôpitaux en France : chiffres clés 2010.
- Agence de l'Eau Rhin-Meuse. (2007)** Les procédés d'épuration des petites collectivités du bassin Rhin-Meuse. Eléments de comparaison techniques et économiques.
- Agence de l'Eau Rhin-Meuse. (2012)** Procédés d'épuration (fiche 3): le Lit Bactérien. [http://www.eau-rhin-meuse.fr/tlch/procedes\\_epuration/F03\\_lit\\_bacterien.pdf](http://www.eau-rhin-meuse.fr/tlch/procedes_epuration/F03_lit_bacterien.pdf)
- Ahel, M., Giger, W. et Koch, M. (1994)** Behaviour of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment - I. Occurrence and transformation in sewage treatment. *Water Research*, 28, 1131-1142.
- American Academy of Microbiology. (2009)** Antibiotic Resistance: an ecological perspective of an old problem.
- American Public Health Association, American Water Works Association et Water Environment Federation (2005)** Standard methods for the examination of water and wastewater. 21st Ed. Washington, D.C., USA.
- Aquino, S. F. et Stuckey, D. C. (2004)** Soluble microbial products formation in anaerobic chemostats in the presence of toxic compounds. *Water Research*, 38, 255-266.
- Ardern, E. et Lockett, W. (1914)** Experiments on the oxidation of sewage without the aid of filters. *Journal of the Society of Chemical Industry*, 33, 523-539.
- Avella, A. C., Essendoubi, M., Louvet, J. N., Gorner, T., Sockalingum, G. D., Pons, M. N., Manfait, M. et de Donato, P. (2010)** Activated sludge behaviour in a batch reactor in the presence of antibiotics: study of extracellular polymeric substances. *Water Science and Technology*, 61, 3147-3155.
- Avella, A. C., Gorner, T., Yvon, J., Chappe, P., Guinot-Thomas, P. et de Donato, P. (2011)** A combined approach for a better understanding of wastewater treatment plants operation: Statistical analysis of monitoring database and sludge physico-chemical characterization. *Water Research*, 45, 981-992.
- Baird, I. M., Shephard, N. W., Merritt, R. J. et Hildick-Smith, G. (2000)** Repeated dose study of sucralose tolerance in human subjects. *Food and Chemical Toxicology*, 38, S123-S129.
- Bannach, G., Almeida, R. R., Lacerda, L. G., Schnitzler, E. et Ionashiro, M. (2009)** Thermal stability and thermal decomposition of sucralose. *Eclética Química*, 34, 21-26.
- Barbosa, J., Bergés, R., Toro, I. et Sanz-Nebot, V. (1997)** Protonation equilibria of quinolone antibacterials in acetonitrile-water mobile phases used in LC. *Talanta*, 44, 1271-1283.
- Barles, S. (1999)** La ville délétère. *collection milieux, Champ Vallon*, 7-11.

- Basheer, C. et Lee, H. K. (2004)** Analysis of endocrine disrupting alkylphenols, chlorophenols and bisphenol-A using hollow fiber-protected liquid-phase microextraction coupled with injection port-derivatization gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1057, 163-169.
- Becker, A. M., Gerstmann, S. et Frank, H. (2008)** Perfluorooctanoic acid and perfluorooctane sulfonate in the sediment of the Roter Main river, Bayreuth, Germany. *Environmental Pollution*, 156, 818-820.
- Becue, A. et Nguyen, R. (2005)** Etude de l'analyse des Alkylphénols. Ineris.
- Bennie, D. T. (1999)** Review of the environmental occurrence of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates. *Water Quality Research Journal of Canada*, 34, 79-122.
- Bhandari, A., Surampalli, R. Y., Adams, C. D., Champagne, P., Ong, S. K., Tyagi, R. D. et Zhang, T. C. (2009)**. *Contaminants of emerging environmental concern*, Reston, VA, USA: American Society of Civil Engineers.
- Blattner, F. R., Plunkett, G., Bloch, C. A., Perna, N. T., Burland, V., Riley, M., ColladoVides, J., Glasner, J. D., Rode, C. K., Mayhew, G. F., Gregor, J., Davis, N. W., Kirkpatrick, H. A., Goeden, M. A., Rose, D. J., Mau, B. et Shao, Y. (1997)** The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science*, 277, 1453-&.
- Boiteux, V., Dauchy, X., Rosin, C. et Munoz, J. F. (2012)** National Screening Study on 10 Perfluorinated Compounds in Raw and Treated Tap Water in France. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 63, 1-12.
- Bonot, S. (2010)** Persistance et dissémination du plasmide pB10, vecteur de gènes de résistance aux antibiotiques, dans des biomasses issues de stations d'épuration d'eaux usées urbaines Université Henri Poincare, Nancy 1.
- Bott, C. B. et Love, N. G. (2002)** Investigating a mechanistic cause for activated-sludge deflocculation in response to shock loads of toxic electrophilic chemicals. *Water Environment Research*, 74, 306-315.
- Boxall, A. B., Fogg, L. A., Blackwell, P. A., Kay, P., Pemberton, E. J. et Croxford, A. (2004)** Veterinary medicines in the environment. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 180, 1-91.
- Braeutigam, P., Franke, M., Schneider, R. J., Lehmann, A., Stolle, A. et Ondruschka, B. (2012)** Degradation of carbamazepine in environmentally relevant concentrations in water by Hydrodynamic-Acoustic-Cavitation (HAC). *Water Research*, 46, 2469-2477.
- Brorström-Lundén, E., Svenson, A., Viktor, T., Woldegiorgis, A., Remberger, M. et Kaj, L. (2008)** Measurement of sucralose in the Swedish screening program 2007. *Swedish environmental research institute*.
- Brown, S., Devin-Clarke, D., Doubrava, M. et O'Connor, G. (2009)** Fate of 4-nonylphenol in a biosolids amended soil. *Chemosphere*, 75, 549-554.
- Brun, G. L., Bernier, M., Losier, R., Doe, K., Jackman, P. et Lee, H. B. (2006)** Pharmaceutically active compounds in Atlantic Canadian sewage treatment plant effluents and receiving waters, and potential for environmental effects as measured by acute and chronic aquatic toxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25, 2163-2176.
- Brusick, D., Grotz, V. L., Slesinski, R., Kruger, C. L. et Hayes, A. W. (2010)** The absence of genotoxicity of sucralose. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 3067-3072.
- Buerge, I. J., Keller, M., Buser, H. R., Müller, M. D. et Poiger, T. (2011)** Saccharin and other artificial sweeteners in soils: Estimated inputs from agriculture and households, degradation, and leaching to groundwater. *Environmental Science and Technology*, 45, 615-621.
- Burns, D. C., Ellis, D. A., Li, H., McMurdo, C. J. et Webster, E. (2008)** Experimental pK(a) Determination for Perfluorooctanoic Acid (PFOA) and the Potential Impact of

- pK(a) Concentration Dependence on Laboratory-Measured Partitioning Phenomena and Environmental Modeling. *Environmental science & technology*, 42, 9283-9288.
- Buser, H. R., Poiger, T. et Muller, M. D. (1999)** Occurrence and environmental behavior of the chiral pharmaceutical drug ibuprofen in surface waters and in wastewater. *Environmental Science & Technology*, 33, 2529-2535.
- Canosa, P., Morales, S., Rodríguez, I., Rubí, E., Cela, R. et Gómez, M. (2005)** Aquatic degradation of triclosan and formation of toxic chlorophenols in presence of low concentrations of free chlorine. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 383, 1119-1126.
- Cemagref (2008)** Traiter la pollution par les boues activées. [http://www.cemagref.fr/Informations/Actualites/08/O/traiter\\_lapollution\\_VF.pdf](http://www.cemagref.fr/Informations/Actualites/08/O/traiter_lapollution_VF.pdf).
- Cha, J. M., Yang, S. et Carlson, K. H. (2006)** Trace determination of beta-lactam antibiotics in surface water and urban wastewater using liquid chromatography combined with electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1115, 46-57.
- Chang, B. V., Chiang, F. et Yuan, S. Y. (2005)** Anaerobic degradation of nonylphenol in sludge. *Chemosphere*, 59, 1415-1420.
- Chang, B. V., Yu, C. H. et Yuan, S. Y. (2004)** Degradation of nonylphenol by anaerobic microorganisms from river sediment. *Chemosphere*, 55, 493-500.
- Cheng, J., Psillakis, E., Hoffmann, M. R. et Colussi, A. J. (2009)** Acid Dissociation versus Molecular Association of Perfluoroalkyl Oxoacids: Environmental Implications. *Journal of Physical Chemistry A*, 113, 8152-8156.
- Choubert, J. M., Martin-Ruel, S., Budzinski, H., Miège, C., Esperanza, M., Soulier, C., Lagarrigue, C. et Coquery, M. (2011)** Evaluer les rendements des stations d'épuration. Apports méthodologiques et résultats pour les micropolluants en filières conventionnelles et avancées. *Techniques, Sciences et Méthodes*, 1/2.
- Chu, S. et Metcalfe, C. D. (2007)** Simultaneous determination of triclocarban and triclosan in municipal biosolids by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1164, 212-218.
- Coelho, A., Mendez-Arriaga, F., Sans, C., Dezotti, M., Esplugas, S. et Gimenez, J. (2009)** Comparison of Emerging NSAID Pollutants Degradation in Aqueous Media by O(3)/UV-VIS Processes. *Journal of Advanced Oxidation Technologies*, 12, 164-169.
- D'Eon, J. C., Crozier, P. W., Furdui, V. I., Reiner, E. J., Laurence Libelo, E. et Mabury, S. A. (2009)** Observation of a commercial fluorinated material, the polyfluoroalkyl phosphoric acid diesters, in human sera, wastewater treatment plant sludge, and paper fibers. *Environmental Science and Technology*, 43, 4589-4594.
- Daughton, C. G. et Ternes, T. A. (1999)** Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Agents of subtle change? *Environmental Health Perspectives*, 107, 907-938.
- Dayan, A. D. (2007)** Risk assessment of triclosan Irgasan (R) in human breast milk. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 125-129.
- De Weert, J., De La Cal, A., Van den Berg, H., Murk, A., Langenhoff, A., Rijnaarts, H. et Grotenhuis, T. (2008)** Bioavailability and biodegradation of nonylphenol in sediment determined with chemical and bioanalysis. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27, 778-785.
- Degrémont. (2005)** *Memento Technique de l'Eau*. France: Lavoisier SAS. 1748.
- Deneux-Mustin, S., Lartiges, B. S., Villemin, G., Thomas, F., Yvon, J., Bersillon, J. L. et Snidaro, D. (2001)** Ferric chloride and lime conditioning of activated sludges: An electron microscopic study on resin-embedded samples. *Water Research*, 35, 3018-3024.

- Dinglasan, M. J. A., Ye, Y., Edwards, E. A. et Mabury, S. A. (2004)** Fluorotelomer alcohol biodegradation yields poly- and perfluorinated acids. *Environmental Science and Technology*, 38, 2857-2864.
- Downard, S. R. et Taylor, R. M. (2007)** An assessment of Spain's Programa AGUA and its implications for sustainable water management in the province of Almería, southeast Spain. *Journal of Environmental Management*, 82, 277-289.
- Duchène, P. (2005)** Cent ans de procédés d'épuration des eaux résiduaires. *Techniques, Sciences et Méthodes*, 11, 35-44.
- Esperanza, M., Miège, C., Budzinski, H., Coquery, M., Bruchet, A., Choubert, J. M. et Martin-Ruel, S. (2009)** Concentration et flux de micropolluants dans les eaux usées et les boues de station d'épuration. Flux en entrée et sortie de STEP et évaluation de l'impact sur les milieux récepteurs. *Journée de restitution technique du projet de recherche AMPERES*.
- European Commission. (2011)** Technical Guidance For Deriving Environmental Quality Standards. In *Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC)*.
- Falandysz, J., Taniyasu, S., Gulkowska, A., Yamashita, N. et Schulte-Oehlmann, U. (2006)** Is fish a major source of fluorinated surfactants and repellents in humans living on the Baltic coast? *Environmental Science and Technology*, 40, 748-751.
- Farré, M., Ferrer, I., Ginebreda, A., Figueras, M., Olivella, L., Tirapu, L., Vilanova, M. et Barceló, D. (2001)** Determination of drugs in surface water and wastewater samples by liquid chromatography-mass spectrometry: Methods and preliminary results including toxicity studies with *Vibrio fischeri*. *Journal of Chromatography A*, 938, 187-197.
- FEA, F. E. A. (2011)** Drinking Water Commission of the German Ministry of Health at the Federal Environment Agency: Provisional evaluation of PFT in drinking water with the guide substances perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS) as examples. <http://www.umweltbundesamt.de/uba-info-presse-e/hintergrund/pft-in-drinking-water.pdf>
- Ferrer, I. et Thurman, E. M. (2010)** Analysis of sucralose and other sweeteners in water and beverage samples by liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217, 4127-4134.
- Flamm, W. G., Blackburn, G. L., Comer, C. P., Mayhew, D. A. et Stargel, W. W. (2003)** Long-term food consumption and body weight changes in neotame safety studies are consistent with the allometric relationship observed for other sweeteners and during dietary restrictions. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 38, 144-156.
- Flemming, H. C. et Leis, A. (2001)** Extracellular polymeric substances - the construction material of biofilms - Selected proceedings of the 1st IWA International Conference on Microbial Extracellular Polymeric Substances, held in Mulheim, Germany, 18-20 September 2000 - Preface. *Water Science and Technology*, 43, VII-IX.
- Flemming, H. C., Wingender, J., Moritz, R., Borchard, W. et Mayer, C. (1999)** Physico-chemical properties of biofilms - A short review. In *Biofilms in the Aquatic Environment*, eds. C. W. Keevil, A. Godfree, D. Holt & C. Dow, 1-12. Cambridge: Royal Soc Chemistry.
- Flippin, J. L., Huggett, D. et Foran, C. M. (2007)** Changes in the timing of reproduction following chronic exposure to ibuprofen in Japanese medaka, *Oryzias latipes*. *Aquatic Toxicology*, 81, 73-78.
- Franke, M., Braeutigam, P., Wu, Z. L., Ren, Y. Z. et Ondruschka, B. (2011)** Enhancement of chloroform degradation by the combination of hydrodynamic and acoustic cavitation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18, 888-894.

- Frolund, B., Palmgren, R., Keiding, K. et Nielsen, P. H. (1996)** Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. *Water Research*, 30, 1749-1758.
- Garnier, C., Gorner, T., Lartiges, B. S., Abdelouhab, S. et de Donato, P. (2005)** Characterization of activated sludge exopolymers from various origins: A combined size-exclusion chromatography and infrared microscopy study. *Water Research*, 39, 3044-3054.
- Gasperi, J., Lorgeoux, C., Gourlay, C., Kuhn, E. et Moilleron, R. (2007)** Alkylphénols et Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques dans les eaux du bassin de l'Orge Aval. Quantification et faisabilité du suivi de la contamination par échantillonnage passif. Rapport d'activité 2007, PIREN Seine.
- Gatidou, G., Thomaidis, N. S., Stasinakis, A. S. et Lekkas, T. D. (2007)** Simultaneous determination of the endocrine disrupting compounds nonylphenol, nonylphenol ethoxylates, triclosan and bisphenol A in wastewater and sewage sludge by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1138, 32-41.
- Gebbink, W. A. et Letcher, R. J.** Comparative tissue and body compartment accumulation and maternal transfer to eggs of perfluoroalkyl sulfonates and carboxylates in Great Lakes herring gulls. *Environmental Pollution*, 162, 40-47.
- Gebbink, W. A. et Letcher, R. J. (2012)** Comparative tissue and body compartment accumulation and maternal transfer to eggs of perfluoroalkyl sulfonates and carboxylates in Great Lakes herring gulls. *Environmental Pollution*, 162, 40-47.
- George, V., Arora, S., Wadhwa, B. K. et Singh, A. K. (2010)** Analysis of multiple sweeteners and their degradation products in lassi by HPLC and HPTLC plates. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 47, 408-413.
- Gilbert-Pawlik, S. (2011)** Devenir des polybromodiphényléthers et des alkylphénols dans les filières de traitement des eaux usées. Cas des fonctionnements optimisés par temps sec et dégradés par temps de pluie. Ecole des Ponts ParisTech: Université de Paris-Est.
- Gobel, A., McArdell, C. S., Suter, M. J. F. et Giger, W. (2004)** Trace determination of macrolide and sulfonamide antimicrobials, a human sulfonamide metabolite, and trimethoprim in wastewater using liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 76, 4756-4764.
- Gobel, A., Thomsen, A., McArdell, C. S., Joss, A. et Giger, W. (2005)** Occurrence and sorption behavior of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in activated sludge treatment. *Environmental science & technology*, 39, 3981-3989.
- Gogate, P. R. et Pandit, A. B. (2000)** Engineering design methods for cavitation reactors II: Hydrodynamic cavitation. *Aiche Journal*, 46, 1641-1649.
- Golet, E. M., Xifra, I., Siegrist, H., Alder, A. C. et Giger, W. (2003)** Environmental exposure assessment of fluoroquinolone antibacterial agents from sewage to soil. *Environmental science & technology*, 37, 3243-3249.
- Grice, H. C. et Goldsmith, L. A. (2000)** Sucralose - An overview of the toxicity data. *Food and Chemical Toxicology*, 38, S1-S6.
- Grotz, V. L. (2008)** Sucralose and migraine. *Headache*, 48, 164-165.
- Guo, R., Sim, W. J., Lee, E. S., Lee, J. H. et Oh, J. E. (2010)** Evaluation of the fate of perfluoroalkyl compounds in wastewater treatment plants. *Water Research*, 44, 3476-3486.
- Heckmann, L. H., Callaghan, A., Hooper, H. L., Connon, R., Hutchinson, T. H., Maund, S. J. et Sibly, R. M. (2007)** Chronic toxicity of ibuprofen to *Daphnia magna*: Effects on life history traits and population dynamics. *Toxicology Letters*, 172, 137-145.

- Higgins, C. P., Field, J. A., Criddle, C. S. et Luthy, R. G. (2005)** Quantitative determination of perfluorochemicals in sediments and domestic sludge. *Environmental Science and Technology*, 39, 3946-3956.
- Higgins, C. P. et Luthy, R. G. (2006)** Sorption of perfluorinated surfactants on sediments. *Environmental science & technology*, 40, 7251-7256.
- Hirsch, A. R. (2007)** Migraine triggered by sucralose - A case report. *Headache*, 47, 447-447.
- Hirsch, R., Ternes, T., Haberer, K. et Kratz, K. L. (1999)** Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *Science of the Total Environment*, 225, 109-118.
- Houhou, J., Lartiges, B. S., France-Lanord, C., Guilmette, C., Poix, S. et Mustin, C. (2010)** Isotopic tracing of clear water sources in an urban sewer: A combined water and dissolved sulfate stable isotope approach. *Water Research*, 44, 256-266.
- Hsieh, K. M., Murgel, G. A., Lion, L. W. et Shuler, M. L. (1994)** Interaction of microbial biofilms with toxic trace-metal. I. observation and modeling of cell-growth, attachment, and production of extracellular polymer. *Biotechnology and Bioengineering*, 44, 219-231.
- Hu, J. Y., Chen, X., Tao, G. et Kekred, K. (2007)** Fate of endocrine disrupting compounds in membrane bioreactor systems. *Environmental Science & Technology*, 41, 4097-4102.
- Huang, G. L., Hou, S. G., Wang, L. et Sun, H. W. (2007)** Distribution and fate of nonylphenol in an aquatic microcosm. *Water Research*, 41, 4630-4638.
- Huppert, N., Würtele, M. et Hahn, H. H. (1998)** Determination of the plasticizer N-butylbenzenesulfonamide and the pharmaceutical Ibuprofen in wastewater using solid phase microextraction (SPME). *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 362, 529-536.
- Jahnke, A., Gandrass, J. et Ruck, W. (2004)** Simultaneous determination of alkylphenol ethoxylates and their biotransformation products by liquid chromatography/electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1035, 115-122.
- James, M. O., Li, W. J., Summerlot, D. P., Rowland-Faux, L. et Wood, C. E. (2010)** Triclosan is a potent inhibitor of estradiol and estrone sulfonation in sheep placenta. *Environment International*, 36, 942-949.
- Jenkins, D., Richard, M. G. et Daigger, G. T. (1993)** *Manual on the causes and control of activated sludge bulking and foaming*. Lewis Publishers. 193p.
- Jenner, M. R. et Smithson, A. (1989)** Physicochemical Properties of the Sweetener Sucralose. *Journal of Food Science*, 54, 1646-1649.
- Joensen, U. N., Bossi, R., Leffers, H., Jensen, A. A., Skakkebaek, N. E. et Jørgensen, N. (2009)** Do Perfluoroalkyl compounds impair human semen quality? *Environmental Health Perspectives*, 117, 923-927.
- Joshi, R. K. et Gogate, P. R. (2012)** Degradation of dichlorvos using hydrodynamic cavitation based treatment strategies. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19, 532-539.
- Joss, A., Keller, E., Alder, A. C., Gobel, A., McArdell, C. S., Ternes, T. et Siegrist, H. (2005)** Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment. *Water Research*, 39, 3139-3152.
- Judd, S. (2008)** The status of membrane bioreactor technology. *Trends in Biotechnology*, 26, 109-116.
- KEMI. (2006)** Perfluorinated substances and their uses in Sweden. Report from the Swedish Chemicals Agency. 1-58.
- Kiss, A. M. N., Marx, B., Mourot, G., Schutz, G. et Ragot, J. (2011)** Observers design for uncertain Takagi-Sugeno systems with unmeasurable premise variables and unknown

- inputs. Application to a wastewater treatment plant. *Journal of Process Control*, 21, 1105-1114.
- Kissa, E. (2001)** *Fluorinated surfactants and repellents*. New York: Marcel Dekker.
- Kummerer, K., Al-Ahmad, A. et Mersch-Sundermann, V. (2000)** Biodegradability of some antibiotics, elimination of the genotoxicity and affection of wastewater bacteria in a simple test. *Chemosphere*, 40, 701-710.
- Lapidou, C. S. et Rittmann, B. E. (2002)** A unified theory for extracellular polymeric substances, soluble microbial products, and active and inert biomass. *Water Research*, 36, 2711-2720.
- Lau, C., Butenhoff, J. L. et Rogers, J. M. (2004)** The developmental toxicity of perfluoroalkyl acids and their derivatives. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 198, 231-241.
- Lebart, L., Morineau, A. et Fénelon, J. P. (1979)** *Traitement des données statistiques*. Dunod.
- Lee, H. B. et Peart, T. E. (1995)** Determination of 4-nonylphenol in effluent and sludge from sewage treatment plants. *Analytical Chemistry*, 67, 1976-1980.
- Lee, H. B., Peart, T. E. et Svoboda, M. L. (2007)** Determination of ofloxacin, norfloxacin, and ciprofloxacin in sewage by selective solid-phase extraction, liquid chromatography with fluorescence detection, and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1139, 45-52.
- Legrand, V., Hourdet, D., Audebert, R. et Snidaro, D. (1998)** Deswelling and flocculation of gel networks: Application to sludge dewatering. *Water Research*, 32, 3662-3672.
- Lehmler, H. J. (2005)** Synthesis of environmentally relevant fluorinated surfactants - a review. *Chemosphere*, 58, 1471-1496.
- Lein, N. P. H., Fujii, S., Tanaka, S., Nozoe, M. et Tanaka, H. (2008)** Contamination of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in surface water of the Yodo River basin (Japan). *Desalination*, 226, 338-347.
- Lenz, K., Beck, V. et Fuerhacker, M. (2004)** Behaviour of bisphenol A (BPA), 4-nonylphenol (4-HP) and 4-nonylphenol ethoxylates (4-NP1EO, 4-NP2EO) in oxidative water treatment processes. *Water Science and Technology*, 50, 141-147.
- Li, B. et Zhang, T. (2010)** Biodegradation and Adsorption of Antibiotics in the Activated Sludge Process. *Environmental Science & Technology*, 44, 3468-3473.
- Lindberg, R. H., Olofsson, U., Rendahl, P., Johansson, M. I., Tysklind, M. et Andersson, B. A. V. (2006)** Behavior of fluoroquinolones and trimethoprim during mechanical, chemical, and active sludge treatment of sewage water and digestion of sludge. *Environmental science & technology*, 40, 1042-1048.
- Lindberg, R. H., Wennberg, P., Johansson, M. I., Tysklind, M. et Andersson, B. A. V. (2005)** Screening of human antibiotic substances and determination of weekly mass flows in five sewage treatment plants in Sweden. *Environmental Science and Technology*, 39, 3421-3429.
- Liu, F., Ying, G. G., Yang, L. H. et Zhou, Q. X. (2009)** Terrestrial ecotoxicological effects of the antimicrobial agent triclosan. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 86-92.
- Loos, R., Gawlik, B. M., Boettcher, K., Locoro, G., Contini, S. et Bidoglio, G. (2009)** Sucralose screening in European surface waters using a solid-phase extraction-liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry method. *Journal of Chromatography A*, 1216, 1126-1131.
- Loos, R., Hanke, G., Umlauf, G. et Eisenreich, S. J. (2007a)** LC-MS-MS analysis and occurrence of octyl- and nonylphenol, their ethoxylates and their carboxylates in

- Belgian and Italian textile industry, waste water treatment plant effluents and surface waters. *Chemosphere*, 66, 690-699.
- Loos, R., Wollgast, J., Huber, T. et Hanke, G. (2007b)** Polar herbicides, pharmaceutical products, perfluorooctanesulfonate (PFOS), perfluorooctanoate (PFOA), and nonylphenol and its carboxylates and ethoxylates in surface and tap waters around Lake Maggiore in Northern Italy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387, 1469-1478.
- Lores, M., Llompart, M., Sanchez-Prado, L., Garcia-Jares, C. et Cela, R. (2005)** Confirmation of the formation of dichlorodibenzo-p-dioxin in the photodegradation of triclosan by photo-SPME. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 381, 1294-1298.
- Louvet, J. N., Giammarino, C., Potier, O. et Pons, M. N. (2010)** Adverse effects of erythromycin on the structure and chemistry of activated sludge. *Environmental Pollution*, 158, 688-693.
- Loyo-Rosales, J. E., Schmitz-Afonso, I., Rice, C. P. et Torrents, A. (2003)** Analysis of octyl- and nonylphenol and their ethoxylates in water and sediments by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 75, 4811-4817.
- LPO France. (2011)** Découverte de la station de lagunage à rochefort. [www.charente-maritime.lpo.fr](http://www.charente-maritime.lpo.fr)
- Martin-Ruel, S., Choubert, J. M., Esperanza, M., Budzinski, H., Miège, C. et Coquery, M. (2009)** Efficacité d'élimination des procédés de traitement pour les substances prioritaires émergentes. *Journée de restitution technique du projet de recherche AMPERES*.
- Martin, J. W., Ellis, D. A., Mabury, S. A., Hurley, M. D. et Wallington, T. J. (2006)** Atmospheric chemistry of perfluoroalkanesulfonamides: Kinetic and product studies of the OH radical and Cl atom initiated oxidation of N-ethyl perfluorobutanesulfonamide. *Environmental science & technology*, 40, 864-872.
- Mawhinney, D. B., Young, R. B., Vanderford, B. J., Borch, T. et Snyder, S. A. (2011)** Artificial sweetener sucralose in U.S. drinking water systems. *Environmental Science and Technology*, 45, 8716-8722.
- McArdell, C. S., Molnar, E., Suter, M. J. F. et Giger, W. (2003)** Occurrence and fate of macrolide antibiotics in wastewater treatment plants and in the Glatt Valley Watershed, Switzerland. *Environmental science & technology*, 37, 5479-5486.
- McFarland, J. W., Berger, C. M., Froshauer, S. A., Hayashi, S. F., Hecker, S. J., Jaynes, B. H., Jefson, M. R., Kamicker, B. J., Lipinski, C. A., Lundy, K. M., Reese, C. P. et Vu, C. B. (1997)** Quantitative structure-activity relationships among macrolide antibacterial agents: In vitro and in vivo potency against *Pasteurella multocida*. *Journal of Medicinal Chemistry*, 40, 1340-1346.
- McMaster, M. E. (2001)** A review of the evidence for endocrine disruption in Canadian aquatic ecosystems. *Water Quality Research Journal of Canada*, 36, 215-231.
- MDH, M. D. o. H. (2008)** Health Risk Limits for Perfluorochemicals - Report to the Minnesota Legislature 2008. <http://www.health.state.mn.us/divs/eh/hazardous/topics/pfcs/finalreport011508.pdf>
- Mead, R. N., Morgan, J. B., Avery, G. B., Kieber, R. J., Kirk, A. M., Skrabal, S. A. et Willey, J. D. (2009)** Occurrence of the artificial sweetener sucralose in coastal and marine waters of the United States. *Marine Chemistry*, 116, 13-17.
- Meesters, R. J. W. et Schröder, H. F. (2002)** Simultaneous determination of 4-nonylphenol and bisphenol A in sewage sludge. *Analytical Chemistry*, 74, 3566-3574.
- Melzer, D., Rice, N., Depledge, M. H., Henley, W. E. et Galloway, T. S. (2010)** Association between serum perfluorooctanoic acid (PFOA) and thyroid disease in the U.S.

- National Health and Nutrition Examination Survey. *Environmental Health Perspectives*, 118, 686-692.
- Mendez-Arriaga, F., Esplugas, S. et Gimenez, J. (2008a)** Photocatalytic degradation of non-steroidal anti-inflammatory drugs with TiO<sub>2</sub> and simulated solar irradiation. *Water Research*, 42, 585-594.
- Mendez-Arriaga, F., Esplugas, S. et Gimenez, J. (2010)** Degradation of the emerging contaminant ibuprofen in water by photo-Fenton. *Water Research*, 44, 589-595.
- Mendez-Arriaga, F., Torres-Palma, R. A., Petrier, C., Esplugas, S., Gimenez, J. et Pulgarin, C. (2008b)** Ultrasonic treatment of water contaminated with ibuprofen. *Water Research*, 42, 4243-4248.
- Meng, F. G., Chae, S. R., Drews, A., Kraume, M., Shin, H. S. et Yang, F. L. (2009)** Recent advances in membrane bioreactors (MBRs): Membrane fouling and membrane material. *Water Research*, 43, 1489-1512.
- Metcalf Eddy (2003)** Wastewater engineering, treatment and reuse. 4th edition. Mc Graw Hill Ed., 1819p.
- Miege, C., Choubert, J. M., Ribeiro, L., Eusebe, M. et Coquery, M. (2008)** Removal efficiency of pharmaceuticals and personal care products with varying wastewater treatment processes and operating conditions - conception of a database and first results. *Water Science and Technology*, 57, 49-56.
- Minten, J., Adolfsson-Erici, M., Bjorlenius, B. et Alsberg, T. (2011)** A method for the analysis of sucralose with electrospray LC/MS in recipient waters and in sewage effluent subjected to tertiary treatment technologies. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 91, 357-366.
- Morales, S., Canosa, P., Rodríguez, I., Rubí, E. et Cela, R. (2005)** Microwave assisted extraction followed by gas chromatography with tandem mass spectrometry for the determination of triclosan and two related chlorophenols in sludge and sediments. *Journal of Chromatography A*, 1082, 128-135.
- Morlock, G. E., Schuele, L. et Grashorn, S. (2011)** Development of a quantitative high-performance thin-layer chromatographic method for sucralose in sewage effluent, surface water, and drinking water. *Journal of Chromatography A*, 1218, 2745-2753.
- Morrison, J., Brockwell, T., Merren, T., Fourel, F. et Phillips, A. M. (2001)** On-line high-precision stable hydrogen isotopic analyses on nanoliter water samples. *Analytical Chemistry*, 73, 3570-3575.
- Murphy, C. D., Schaffrath, C. et O'Hagan, D. (2003)** Fluorinated natural products: the biosynthesis of fluoroacetate and 4-fluorothreonine in *Streptomyces cattleya*. *Chemosphere*, 52, 455-461.
- Naile, J. E., Khim, J. S., Wang, T., Chen, C., Luo, W., Kwon, B. O., Park, J., Koh, C. H., Jones, P. D., Lu, Y. et Giesy, J. P. (2010)** Perfluorinated compounds in water, sediment, soil and biota from estuarine and coastal areas of Korea. *Environmental Pollution*, 158, 1237-1244.
- Nie, Y., Qiang, Z., Zhang, H. et Adams, C. (2009)** Determination of endocrine-disrupting chemicals in the liquid and solid phases of activated sludge by solid phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216, 7071-7080.
- Oppenheimer, J., Eaton, A., Badruzzaman, M., Haghani, A. W. et Jacangelo, J. G. (2011)** Occurrence and suitability of sucralose as an indicator compound of wastewater loading to surface waters in urbanized regions. *Water Research*, 45, 4019-4027.
- Pan, Y. Y., Shi, Y. L., Wang, Y. W., Cai, Y. Q. et Jiang, G. B. (2010)** Investigation of perfluorinated compounds (PFCs) in mollusks from coastal waters in the Bohai Sea of China. *Journal of Environmental Monitoring*, 12, 508-513.

- Parolini, M., Binelli, A., Cogni, D., Riva, C. et Provini, A. (2009)** An in vitro biomarker approach for the evaluation of the ecotoxicity of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). *Toxicology in Vitro*, 23, 935-942.
- Pasquini, L., Munoz, J. F., Rimlinger, N., Dauchy, X., France, X., Pons, M. N. et Gorner, T. (2013)** Assessment of the fate of some household micropollutants in urban wastewater treatment plant. *Chemical Papers*, 67, 601-612.
- Post, G. B., Louis, J. B., Cooper, K. R., Boros-Russo, B. J. et Lippincott, R. L. (2009)** Occurrence and Potential Significance of Perfluorooctanoic Acid (PFOA) Detected in New Jersey Public Drinking Water Systems. *Environmental science & technology*, 43, 4547-4554.
- Pothitou, P. et Voutsas, D. (2008)** Endocrine disrupting compounds in municipal and industrial wastewater treatment plants in Northern Greece. *Chemosphere*, 73, 1716-1723.
- Prevedouros, K., Cousins, I. T., Buck, R. C. et Korzeniowski, S. H. (2006)** Sources, fate and transport of perfluorocarboxylates. *Environmental Science and Technology*, 40, 32-44.
- Qiang, Z. et Adams, C. (2004)** Potentiometric determination of acid dissociation constants (pKa) for human and veterinary antibiotics. *Water Research*, 38, 2874-2890.
- Qin, X. F. (2011)** What Caused the Recent Worldwide Increase of Inflammatory Bowel Disease: Should Sucralose Be Added as a Suspect? *Inflammatory Bowel Diseases*, 17, E139-E139.
- Racault, Y. et Boutin, C. (2004)** Le lagunage naturel en France. Etat de l'art et tendances. *Ingénieries-EAT*, n° spécial 2004, p. 77-86.
- Radjenovic, J., Petrovic, M. et Barcelo, D. (2009)** Fate and distribution of pharmaceuticals in wastewater and sewage sludge of the conventional activated sludge (CAS) and advanced membrane bioreactor (MBR) treatment. *Water Research*, 43, 831-841.
- Rahn, A. et Yaylayan, V. A. (2010)** Thermal degradation of sucralose and its potential in generating chloropropanols in the presence of glycerol. *Food Chemistry*, 118, 56-61.
- Rapport ANSES. (2010)** Rapport sur la campagne nationale d'occurrence des composés alkyls perfluorés dans les eaux destinées à la consommation humaine. Ressources en eaux brutes et eaux traitées. Laboratoire d'Hydrologie de Nancy.
- Rapport ANSES. (2011)** Campagne nationale d'occurrence des résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine. Ressources en eaux brutes et eaux traitées. Laboratoire d'Hydrologie de Nancy.
- Rebattet, C. (2009)** Traitement par cavitation hydrodynamique d'effluents pollués par des solvants chlorés (projet CAVHYTE). Grenoble INP, Ylec Consultants, SITA Remediation (SUEZ Environnement).
- Renner, R. (2001)** Growing concern over perfluorinated chemicals. *Environmental Science and Technology*, 35, 154A-160A.
- Rhoads, K. R., Janssen, E. M. L., Luthy, R. G. et Criddle, C. S. (2008)** Aerobic biotransformation and fate of N-ethyl perfluorooctane sulfonamidoethanol (N-EtFOSE) in activated sludge. *Environmental Science and Technology*, 42, 2873-2878.
- Richardson, S. D. (2010)** Environmental mass spectrometry: Emerging contaminants and current issues. *Analytical Chemistry*, 82, 4742-4774.
- Rittman, B. et McCarty, P. (2001)** *Environmental Biotechnology: Principles and Applications*. New York: Mc-Graw Hill.
- Rodier, J. (1996)** *L'analyse de l'eau*. Dunod. 899-904.
- Ruel, S. M., Choubert, J. M., Esperanza, M., Miège, C., Madrigal, P. N., Budzinski, H., Le Ménach, K., Lazarova, V. et Coquery, M. (2011)** On-site evaluation of the

- removal of 100 micro-pollutants through advanced wastewater treatment processes for reuse applications. *Water Science and Technology*, 63, 2486-2497.
- Santos, J. L., Aparicio, I. et Alonso, E. (2007)** Occurrence and risk assessment of pharmaceutically active compounds in wastewater treatment plants. A case study: Seville city (Spain). *Environment International*, 33, 596-601.
- Sarmah, A. K., Meyer, M. T. et Boxall, A. B. A. (2006)** A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere*, 65, 725-759.
- Scheurer, M., Storck, F. R., Brauch, H. J. et Lange, F. T. (2010)** Performance of conventional multi-barrier drinking water treatment plants for the removal of four artificial sweeteners. *Water Research*, 44, 3573-3584.
- Scheytt, T., Mersmann, P., Lindstädt, R. et Heberer, T. (2005)** Determination of sorption coefficients of pharmaceutically active substances carbamazepine, diclofenac, and ibuprofen, in sandy sediments. *Chemosphere*, 60, 245-253.
- Seifrtová, M., Aufartová, J., Vytlačilová, J., Pena, A., Solich, P. et Nováková, L. (2010)** Determination of fluoroquinolone antibiotics in wastewater using ultra high-performance liquid chromatography with mass spectrometry and fluorescence detection. *Journal of Separation Science*, 33, 2094-2108.
- Sezonov, G., Joseleau-Petit, D. et D'Ari, R. (2007)** Escherichia coli physiology in Luria-Bertani broth. *Journal of Bacteriology*, 189, 8746-8749.
- Shivakoti, B. R., Tanaka, S., Fujii, S., Kunacheva, C., Boontanon, S. K., Musirat, C., Seneviratne, S. T. M. L. D. et Tanaka, H. (2010)** Occurrences and behavior of perfluorinated compounds (PFCs) in several wastewater treatment plants (WWTPs) in Japan and Thailand. *Journal of Environmental Monitoring*, 12, 1255-1264.
- Sinclair, E., Mayack, D. T., Roblee, K., Yamashita, N. et Kannan, K. (2006)** Occurrence of perfluoroalkyl surfactants in water, fish, and birds from New York State. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 50, 398-410.
- Singer, H., Müller, S., Tixier, C. et Pillonel, L. (2002)** Triclosan: Occurrence and fate of a widely used biocide in the aquatic environment: Field measurements in wastewater treatment plants, surface waters, and lake sediments. *Environmental Science and Technology*, 36, 4998-5004.
- Skutlarek, D., Exner, M. et Färber, H. (2006)** Perfluorinated surfactants in surface and drinking waters. *Environmental Science and Pollution Research*, 13, 299-307.
- Soares, A., Guieysse, B., Jefferson, B., Cartmell, E. et Lester, J. N. (2008)** Nonylphenol in the environment: A critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters. *Environment International*, 34, 1033-1049.
- Soulier, C., Gabet, V., Lardy, S., LeMenach, K., Pardon, P., Esperanza, M., Miège, C., Choubert, J. M., Martin, S., Bruchet, A., Coquery, M. et Budzinski, H. (2011)** Zoom sur les substances pharmaceutiques : présence, partition, devenir en station d'épuration. *Techniques, Sciences et Méthodes*, 1/2, 63 - 77.
- Spellman, F. (2009)** *Handbook of water and wastewater treatment plant operations*. T. F. group.
- Sponza, D. T. (2003)** Investigation of extracellular polymer substances (EPS) and physicochemical properties of different activated sludge flocs under steady-state conditions. *Enzyme and Microbial Technology*, 32, 375-385.
- Stavarakakis, C., Colin, R., Faur, C., Hequet, V. et Le Cloirec, P. (2008)** Analysis and behaviour of endocrine disrupting compounds in wastewater treatment plant. *Analyse et comportement de perturbateurs endocriniens en station d'épuration d'eaux usées domestiques*, 39, 145-155.

- Steinle-Darling, E. et Reinhard, M. (2008)** Nanofiltration for trace organic contaminant removal: Structure, solution, and membrane fouling effects on the rejection of perfluorochemicals. *Environmental science & technology*, 42, 5292-5297.
- Stephenson, B. C., Rangel-Yagui, C. O., Pessoa Jr, A., Tavares, L. C., Beers, K. et Blankschtein, D. (2006)** Experimental and theoretical investigation of the micellar-assisted solubilization of ibuprofen in aqueous media. *Langmuir*, 22, 1514-1525.
- Stuer-Lauridsen, F., Birkved, M., Hansen, L. P., Luthoft, H. C. H. et Halling-Sorensen, B. (2000)** Environmental risk assessment of human pharmaceuticals in Denmark after normal therapeutic use. *Chemosphere*, 40, 783-793.
- Suarez, S., Lema, J. M. et Omil, F. (2010a)** Removal of Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs) under nitrifying and denitrifying conditions. *Water Research*, 44, 3214-3224.
- Suarez, S., Omil, F. et Lema, J. M. (2010b)** Fate and removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in a conventional activated sludge treatment process. *Water Pollution X*, 135, 255-265.
- Tardiff, R. G., Carson, M. L., Sweeney, L. M., Kirman, C. R., Tan, Y. M., Andersen, M., Bevan, C. et Gargas, M. L. (2009)** Derivation of a drinking water equivalent level (DWEL) related to the maximum contaminant level goal for perfluorooctanoic acid (PFOA), a persistent water soluble compound. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 2557-2589.
- Thiele-Bruhn, S. (2003)** Pharmaceutical antibiotic compounds in soils - a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science-Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung Und Bodenkunde*, 166, 145-167.
- Tixier, C., Singer, H. P., Oellers, S. et Müller, S. R. (2003)** Occurrence and fate of carbamazepine, clofibric acid, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen, and naproxen in surface waters. *Environmental Science and Technology*, 37, 1061-1068.
- Tolls, J. (2001)** Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: A review. *Environmental science & technology*, 35, 3397-3406.
- Topp, E. et Starratt, A. (2000)** Rapid mineralization of the endocrine-disrupting chemical 4-nonylphenol in soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19, 313-318.
- UNESCO (2009)** Troisième rapport mondial des Nations Unies sur la mise en valeur des ressources en eau : L'eau dans le monde qui change. [http://webworld.unesco.org/water/wwap/wwdr/wwdr3/pdf/Overview\\_web\\_Fr.pdf](http://webworld.unesco.org/water/wwap/wwdr/wwdr3/pdf/Overview_web_Fr.pdf).
- Union Européenne (2001)** Livre Blanc : Stratégie pour la future politique dans le domaine des substances chimiques. [http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/fr/com/2001/com2001\\_0088fr01.pdf](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/fr/com/2001/com2001_0088fr01.pdf).
- US EPA. (1993)** Method 410.4 The determination of chemical oxygen demand by semi-automated colorimetry.
- US EPA. (2008)** Reregistration Eligibility Decision for Triclosan.
- US EPA. (2009)** Provisional Health Advisories for Perfluorooctanoic Acid (PFOA) and Perfluorooctane Sulfonate (PFOS). [http://water.epa.gov/action/advisories/drinking/upload/2009\\_01\\_15\\_criteria\\_drinking\\_pha-PFOA\\_PFOS.pdf](http://water.epa.gov/action/advisories/drinking/upload/2009_01_15_criteria_drinking_pha-PFOA_PFOS.pdf).
- Vanderford, B. J. et Snyder, S. A. (2006)** Analysis of pharmaceuticals in water by isotope dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Environmental Science and Technology*, 40, 7312-7320.
- Vazquez-Duhalt, R., Marquez-Rocha, F. J., Ponce, E., Licea, A. F. et Viana, M. T. (2005)** Nonylphenol, an integrated vision of a pollutant. *Applied Ecology and Environmental Research*, 4, 1-25.

- Vecitis, C. D., Park, H., Cheng, J., Mader, B. T. et Hoffmann, M. R. (2008)** Enhancement of perfluorooctanoate and perfluorooctanesulfonate activity at acoustic cavitation bubble interfaces. *Journal of Physical Chemistry C*, 112, 16850-16857.
- Veetil, P. G. P., Nadaraja, A. V., Bhasi, A., Khan, S. et Bhaskaran, K. (2012)** Degradation of Triclosan under Aerobic, Anoxic, and Anaerobic Conditions. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 167, 1603-1612.
- Vega Morales, T., Torres Padron, M. E., Sosa Ferrera, Z. et Santana Rodriguez, J. J. (2009)** Determination of alkylphenol ethoxylates and their degradation products in liquid and solid samples. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 28, 1186-1200.
- Veolia. (2012)** La valorisation des boues d'épuration. <http://www.veoliaeau.com/solutions/assainissement/valorisation-boues/>
- Viberg, H. et Fredriksson, A. (2011)** Neonatal exposure to sucralose does not alter biochemical markers of neuronal development or adult behavior. *Nutrition*, 27, 81-85.
- Völgyi, G., Ruiz, R., Box, K., Comer, J., Bosch, E. et Takács-Novák, K. (2007)** Potentiometric and spectrophotometric pKa determination of water-insoluble compounds: Validation study in a new cosolvent system. *Analytica Chimica Acta*, 583, 418-428.
- Wilhelm, M., Bergmann, S. et Dieter, H. H. (2010)** Occurrence of perfluorinated compounds (PFCs) in drinking water of North Rhine-Westphalia, Germany and new approach to assess drinking water contamination by shorter-chained C4-C7 PFCs. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 213, 224-232.
- Wilhelm, M., Kraft, M., Rauchfuss, K. et Holzer, J. (2008)** Assessment and management of the first German case of a contamination with perfluorinated compounds (PFC) in the region Sauerland, North Rhine-Westphalia. *Journal of Toxicology and Environmental Health-Part a-Current Issues*, 71, 725-733.
- Wingender, J., Neu, T. R. et Flemming, H. C. (1999)** Microbial Extracellular Polymeric Substances. *Springer, Heidelberg*.
- Wu, J. L., Lam, N. P., Martens, D., Kettrup, A. et Cai, Z. (2007)** Triclosan determination in water related to wastewater treatment. *Talanta*, 72, 1650-1654.
- Xu, W. H., Zhang, G., Li, X. D., Zou, S. C., Li, P., Hu, Z. H. et Li, J. (2007)** Occurrence and elimination of antibiotics at four sewage treatment plants in the Pearl River Delta (PRD), South China. *Water Research*, 41, 4526-4534.
- Ying, G. G., Kookana, R. S. et Dillon, P. (2003)** Sorption and degradation of selected five endocrine disrupting chemicals in aquifer material. *Water Research*, 37, 3785-3791.
- Ying, G. G., Kookana, R. S. et Kumar, A. (2008)** Fate of estrogens and xenoestrogens in four sewage treatment plants with different technologies. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27, 87-94.
- Yokota, H., Seki, M., Maeda, M., Oshima, Y., Tadokoro, H., Honjo, T. et Kobayashi, K. (2001)** Life-cycle toxicity of 4-nonylphenol to medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20, 2552-2560.
- Yoo, H., Washington, J. W., Jenkins, T. M. et Laurence Libelo, E. (2009)** Analysis of perfluorinated chemicals in sludge: Method development and initial results. *Journal of Chromatography A*, 1216, 7831-7839.
- Yu, J., Hu, J., Tanaka, S. et Fujii, S. (2009)** Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) in sewage treatment plants. *Water Research*, 43, 2399-2408.

---

## ANNEXES

---

ANNEXE 1 : Liste des substances analysées au cours du projet AMPERES. ....	233
ANNEXE 2 : Liste des molécules étudiées par l'ANSES pour leur potentiel suivi lors de la campagne sur les résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine. ....	236
ANNEXE 3 : Liste des molécules qui seront suivies lors de la campagne exploratoire sur la présence de micropolluants émergents dans les eaux de surface et souterraines (ONEMA). ....	240
ANNEXE 4 : Liste des substances prioritaires de la Directive Cadre sur l'Eau. ....	246
ANNEXE 5 : Normes de qualité environnementales (NQE) à retenir pour les substances et familles de substances prioritaires de la DCE. ....	248
ANNEXE 6 : Tableau annexé au décret du 20 avril 2005 relatif au programme national d'action contre la pollution des milieux aquatiques par certaines substances dangereuses. ....	248
ANNEXE 7 : Gammes d'étalonnage des 6 molécules de la méthode multi-résidus. ....	253
ANNEXE 8 : Gammes d'étalonnage des deux composés perfluorés. ....	254
ANNEXE 9 : Validation des gammes d'étalonnage des huit molécules étudiées. ....	255
ANNEXE 10 : Tests de stabilité des composés cibles. ....	264
ANNEXE 11 : Représentation par diagrammes binaires des corrélations observées par l'ACP de la micro et de la macropollution mesurées en entrée de la STEP de Pont-à-Mousson. ....	265
ANNEXE 12 : Mesure des concentrations des six micropolluants en entrée (24 h) et en sortie (72 h) de la STEP de Pont-à-Mousson lors de la campagne d'été 2012. ....	266
ANNEXE 13 : Mesure des concentrations en PFOA et PFOS durant 24 h à Nancy (égouts et STEP) lors de la campagne d'été 2010. ....	267
ANNEXE 14 : Mesure des concentrations des six micropolluants en entrée (24 h) et en sortie (72 h) de la STEP de Nancy-Maxéville lors de la campagne d'été 2012. ....	268
ANNEXE 15 : Paramètres classiques (DCO, ammonium, matières en suspension) mesurés par les opérateurs en entrée et sortie des deux STEP étudiées, avant et après nos campagnes de prélèvement. ....	269

**ANNEXE 1 : Liste des substances analysées au cours du projet AMPERES.**

Composé	Famille
Estrone (E1) deconj.	Hormones
17a-estradiol (Ea2) deconj.	Hormones
17b-estradiol (Eb2) deconj.	Hormones
Estriol (E3) deconj.	Hormones
Ethinylestradiol (EE2) deconj.	Hormones
oxprénolol	Pharma – Betabloquants
métoprolol	Pharma – Betabloquants
timolol	Pharma – Betabloquants
propranolol	Pharma – Betabloquants
nadolol	Pharma – Betabloquants
bêtaxolol	Pharma – Betabloquants
bisoprolol	Pharma – Betabloquants
acébutolol	Pharma – Betabloquants
aténolol	Pharma – Betabloquants
sotalol	Pharma – Betabloquants
sulfaméthoxazole	Pharma – Antibiotiques
roxithromycine	Pharma – Antibiotiques
cafeine	Autres
carbamazepine	Pharma – Antidépresseur
diazepam	Pharma – Antidépresseur
nordiazepam	Pharma – Antidépresseur
Amitriptyline	Pharma – Antidépresseur
doxepine	Pharma – Antidépresseur
imipramine	Pharma – Antidépresseur
ibuprofene	Pharma - Analgesique. anti inflammatoire
paracetamol	Pharma - Analgesique. anti inflammatoire
ketoprofene	Pharma - Analgesique. anti inflammatoire
naproxene	Pharma - Analgesique. anti inflammatoire
aspirine	Pharma - Analgesique. anti inflammatoire
diclofenac	Pharma - Analgesique. anti inflammatoire
gemfibrozil	Pharma - Hypolipemiant
clenbuterol	Pharma - Bronchodilatateur
salbutamol	Pharma – Bronchodilatateur
terbutaline	Pharma – Bronchodilatateur
Théophylline	Autres
Alprazolam	Pharma – Antidépresseur
Bromazépam	Pharma – Antidépresseur
Fluoxétine	Pharma – Antidépresseur
tributyl phosphates	Autres
Benzothiazoles	Autres
4-tert-butylphénol	Alkylphénols
4-NP (Nonylphenols)	Alkylphénols
4-t-OP (Octylphenols)	Alkylphénols

Composé	Famille
4-NP1EO (Nonylphenols poly-ethoxylates)	Alkylphénols
4-NP2EO (Nonylphenols poly-ethoxylates)	Alkylphénols
alkylphenol-polyethoxy-phenoxyacetiques acides	Alkylphénols
Pentachlorophénol	Chlorophénols
Monochlorophénols	Chlorophénols
Trichlorophénols	Chlorophénols
Tetrachlorophénols	Chlorophénols
2-bromophénol	Bromophénols
2,4-dibromophénol	Bromophénols
2,4,6-tribromophénol	Bromophénols
Monobutylétain	Pesticide organoétain
Dibutylétain	Pesticide organoétain
Tributylétain	Pesticide organoétain
Mercure	Métaux
Lithium	Métaux
Bore	Métaux
Aluminium	Métaux
Titane	Métaux
Vanadium	Métaux
Chrome	Métaux
Fer	Métaux
Nickel	Métaux
Cobalt	Métaux
Zinc	Métaux
Arsenic	Métaux
Selenium	Métaux
Rubidium	Métaux
Molybdène	Métaux
Argent	Métaux
Cadmium	Métaux
Étain	Métaux
Antimoine	Métaux
Baryum	Métaux
Thallium	Métaux
Plomb	Métaux
Uranium	Métaux
Benzène	COV
1,2-Dichloroéthane	COV
Dichlorométhane	COV
Trichlorométhane	COV
Tétrachlorure de carbone	COV
Trichloroéthylène	COV
Tétrachloroéthylène	COV
Glyphosate	Pesticide

Composé	Famille
AMPA	Pesticide
BDE	DPEB
Pentabromodiphénylether	DPEB
Octabromodiphénylether	DPEB
Decabromodiphénylether	DPEB
Hexabromodiphénylether	DPEB
Tétabromodiphénylether	DPEB
Tribromodiphénylether	DPEB
Bisphénol-A	Polymère phenol
Triclosan	Biocide
C <sub>10-13</sub> chloroalcane	Oganique Chloré
Hexachlorobutadiène	Oganique Chloré
Hexachlorobenzène	Oganique Chloré
Pentachlorobenzène	Oganique Chloré
Trichlorobenzène	Oganique Chloré
Anthracène	HAP
Fluoranthène	HAP
Naphtalène	HAP
Benzo(a)pyrène	HAP
Benzo(b)fluoranthène	HAP
Benzo(g,h,i)perylène	HAP
Benzo(k)fluoranthène	HAP
Indeno(1,2,3-cd)pyrène	HAP
Di(2-éthylhexyl)phthalate (DEHP)	Phtalate
Alachlore	Pesticide organochloré
Endosulfan	Pesticide organochloré
Hexachlorocyclohexane	Pesticide organochloré
Aldrine	Pesticide organochloré
DDT	Pesticide organochloré
Dieldrine	Pesticide organochloré
Endrine	Pesticide organochloré
Isodrine	Pesticide organochloré
Chlorfenvinphos	Pesticide organophosphoré
Chlorpyrifos	Pesticide organophosphoré
Trifluraline	Pesticide triazine
Atrazine	Pesticide triazine
Simazine	Pesticide triazine
Diuron	Pesticide urée
Isoproturon	Pesticide urée

**ANNEXE 2 :** Liste des molécules étudiées par l'ANSES pour leur potentiel suivi lors de la campagne sur les résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine.

	Liste initiales des molécules	Famille	Retenues par hiérarchisation	Analysables
Médicaments Humains (208)	Lévonorgestrel	Hormones (15/28)		
	Estradiol			
	Progestérone			
	Ethinylestradiol			
	Lévothyroxine			
	Gestodène			
	Cyprotérone			
	Désogestrel			
	Promestriène			
	Chlormadinone			
	Noresthistérone			
	Dydrogéstérone			
	Promeésgestrone			
	Nomégestol			
	Drospirénone			
	Hydroxycarbamide	Anti-cancéreux (16/59)		
	Cytarabine			
	Cyclophosphamide			
	Bléomycine			
	Fluorouracil			
	Pipobroman			
	Capécitabine			
	Gemcitabine			
	Carboplatine			
	Ifosfamide			
	Raltitrexed			
	Raloxifène			
	Procarbazine			
Tamoxifène				
Epirubicine				
Paracétamol	Divers (7/22)			
Metformine				
Ranitidine				
Furosémide				
Oméprazole				
Hydrochlorothiazide				
Caféine				

	Liste initiales des molécules	Famille	Retenues par hiérarchisation	Analysables
Médicaments Humains	Estrone (Estradiol)	Métabolites (12)		
	Acide salicylique (aspirine)			
	10, 11 époxy-carbamazépine (carbamazépine)			
	4 aminophénol (paracétamol)			
	Moutarde isophosphoramide (ifosfamide)			
	Acroléine (ifosfamide et cyclophosphamide)			
	Moutarde phosphoramide (cyclophosphamide)			
	Hydroxy ibuprofène (ibuprofène)			
	Carboxy ibuprofène (ibuprofène)			
	Dopamine (lévodopa)			
	Ramiprilate (ramipril)			
	Moutarde phénylacétique (chlorambucil)			
	Médicaments Vétérinaires		Dihydrostreptomycine sulfate	Antibiotiques (26/62)
Ampicilline				
Neomycine				
Gentamicine				
Apramycine				
Oxytétracycline				
Cefquinone sulfate				
Tylosine				
Spectinomycine				
Benzylpenicilline procaine				
Ibafloxacin				
Ceftiofur				
Chlortétracycline				
Lincomycine				
Bacitracine				
Tilmicosine				
Danofloxacin				
Acide clavulanique				
Florfenicol				
Erythromycine				
Triméthoprime				
Doxycycline				
Clindamycine				
Cephalexine				
Sulfadimérazine				

	Liste initiales des molécules	Famille	Retenues par hiérarchisation	Analysables
Médicaments Vétérinaires	Colistine	Antibiotique		
	Pipérazine	Antiparasitaires (15/40)		
	Lévamisole			
	Dicyclanil			
	Clorsulon			
	Parconazole			
	Metrifonate			
	Triclabendazole			
	Fenbendazole			
	Closantel			
	Amitraz			
	Dimpylate			
	Oxfendazole			
	Phoxim			
	Flubendazole			
	Albendazole			
	Amprolium	Anticoccidiens (11/12)		
	Semduramicine			
	Narasin			
	Maduramicine			
	Monensin			
	Salinomycine			
	Lasalocide			
	Toltrazuril			
	Robenidine			
	Diclazuril			
	Nicarbazine			
	Decoquinate			
	Altrénogest	Hormones (1/1)		

Liste finale des molécules suivies par l'ANSES lors de la campagne sur les résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine.

<b>Composé</b>	<b>Famille</b>
Alténogets	Hormones - Vétérinaires
Amlodipine	Cardiovasculaires - Humains
Amoxicilline	Antibiotiques - Humains
Ampicilline	Antibiotiques - Vétérinaires
Aténolol	Cardiovasculaires - Humains
Caféine	Autre
Carbamazépine	Neuroleptique - Humains
Cyclophosphamide	Anticancéreux - Humains
Danofloxacin	Antibiotiques - Vétérinaires
Dicyclanil	Antiparasitaires - Vétérinaires
Doxycycline	Antibiotiques - Humains
Epoxy-carbamazépine	Neuroleptique métabolite
Erythromycine	Antibiotiques - Humains
Fluvoxamine	Neuroleptique - Humains
Ifosfamide	Anticancéreux - Humains
Kétoprofène	AINS
Lévamisole	Antiparasitaires - Vétérinaires
Lévonorgestrel	Hormones - Humains
Lincomycine	Antibiotiques - Vétérinaires
Losartan	Cardiovasculaires - Humains
Métrifonate	Antiparasitaires - Vétérinaires
Naftidrofuryl	Cardiovasculaires - Humains
Ofloxacin	Antibiotiques - Humains
Oxazépan	Neuroleptique - Humains
Paracétamol	Autres
Parconazole	Antiparasitaires - Vétérinaires
Progestérone	Hormones - Humains
Ramipril	Cardiovasculaires - Humains
Ramiprilate	Cardiovasculaires métabolite - Humains
Ranitidine	Autres
Sulfadimérazine	Antibiotiques - Vétérinaires
Trimétazidine	Cardiovasculaires - Humains
Tylosine	Antibiotiques - Vétérinaires
Hydroxyibuprofène	AINS métabolite - Humains
Acide salicylique	AINS métabolite - Humains
Clorsulon	Antiparasitaires - Vétérinaires
Diclofénac	AINS - Humains
17B-Extradiol	Hormones - Humains
Estrone	Hormones métabolites - Humains
Florfénicol	Antibiotiques - Vétérinaires
Furosémide	Autres
Hydrochlorotiazine	Autres
Ibuprofène	AINS - Humains
Pravastatine	Cardiovasculaires - Humains
Gadolinium	PC

**ANNEXE 3 : Liste des molécules qui seront suivies lors de la campagne exploratoire sur la présence de micropolluants émergents dans les eaux de surface et souterraines (ONEMA).**

Catégorie d'usage	Nom Molécules Eaux de surface	Code CAS	Code Sandre
Antioxydants (5 molécules)	2,6-di-tert-butyl-4-phenylphenol	2668-47-5	7099
	2,6-Di-tert-butylphenol	128-39-2	7134
	3,5-Di-tert-butylphenol	1138-52-9	7135
	4-sec-Butyl-2,6-di-tert-butylphenol	17540-75-9	7101
	Irganox 1076	2082-79-3	7129
Biocides (11 molécules)	Dichlorodiphenyldichloroethane-p,p' (TDE)	72-54-8	1144
	Dichlorodiphenyldichloroethylene-o,p' (2,4'-DDE)	3424-82-6	1145
	Dichlorodiphenyldichloroethylene-p,p' (DDE 44')	72-55-9	1146
	Difethialone	104653-34-1	2983
	Fosfamidone	13171-21-6	1238
	hexachlorophene	70-30-4	5776
	Isobenzan (Telodrin)	297-78-9	1265
	methoprene	40596-69-8	5653
	Monocrotophos	6923-22-4	1880
	Permethrin	52645-53-1	1523
tetramethrine	7696-12-0	5921	
Retardateurs de flamme (11 molécules)	2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-Decabromodiphenyl ether (BDE-209)	1163-19-5	1815
	2,2',3,4,4',5',6-Heptabromodiphenyl ether (BDE-183)	207122-16-5	2910
	2,2',3,4,4'-pentabromodiphenylether (BDE-85)	182346-21-0	2914
	2,2',4,5'-Tetrabromodiphenylether (BDE-49)	60044-24-8	7085
	2,2',6,6'-Tetrachlorobisphenol A	79-95-8	7098
	2,3',4,4'-Tetrabromodiphenylether (BDE-66)	84303-45-7	2918
	3,4-Dibromodiphenylether (BDE-12)	83694-71-7	7127
	4,4'-Dibromodiphenylether (BDE-15)	2050-47-7	2804
	Hexabromobiphenyl	36355-01-8	1922
	Hexabromocyclododecane (HBCDD) Somme (alpha, beta, gamma)	25637-99-4	7128
Tetrabromo bisphenol A (TBBPA)	79-94-7	7131	
Produits industriels	Decahydronaphtalene (Dekalin)	91-17-8	7117
Organoplombs (3 molécules)	diethylPb	Lead metabolites	7020
	Tetraethyl lead	78-00-2	3362
	triethylPb	Lead metabolites	7022
HAP et produits de combustion (19 molécules)	1-Methylpyrene	2381-21-7	7111
	1-Nitropyrene	5522-43-0	7125
	3-Methylcholanthrene	56-49-5	7100
	6-Methylchrysene	1705-85-7	7112
	Anthanthrene	191-26-4	7102
	Benzo(e)pyrene	192-97-2	1460
	Benzo(g,h,i)fluoranthene	203-12-3	3002
	Benzo(j)fluoranthene	205-82-3	1733
	benzo[c]phenanthrene	195-19-7	7114
	Chrysene, 1-methyl-	3351-28-8	7116
	coronene	191-07-1	7095
	Dibenzo (a,l) pyrene	191-30-0	7091
	Dibenzo(a,c)anthracene	215-58-7	7105
	Dibenzo(a,e)pyrene	192-65-4	7093
	Dibenzo(a,h)pyrene	189-64-0	7092
	Dibenzo(a,i)pyrene	189-55-9	7094
dibenzo(a,j)anthracene	224-41-9	7106	
Dibenzothiophene	132-65-0	3004	
Triphenylene	217-59-4	7124	
Composés d'alkyles perfluorés et produits de transformation (6 molécules)	N-ethylperfluorooctanesulfonamide (N-EtFOSA)	4151-50-2	6662
	N-methylperfluorooctanesulfonamide (N-MeFOSA)	31506-32-8	7089
	Perfluorodecanoic acid (PFDA)	335-76-2	6509
	Perfluorododecanoic acid (PFDoA)	307-55-1	6507
	Perfluoro-n-undecanoic acid (PFUnA)	2058-94-8	6510
Perfluorooctane sulfonamide (PFOSA)	754-91-6	6548	

Catégorie d'usage	Nom Molécules Eaux de surface	Code CAS	Code Sandre
Produits de soins corporels (4 molécules)	4-Methylbenzylidene camphor	36861-47-9	6536
	Ethyl-paraben	120-47-8	6644
	Methyl-paraben	99-76-3	6695
	Propyl-paraben	94-13-3	6693
Pesticides (67 molécules)	1,2,3,4,6,7-Hexachloronaphthalene	103426-96-6	7109
	3,4-dichloroaniline	95-76-1	1586
	Acetochlor	34256-82-1	1903
	alpha-cypermethrin	67375-30-8	1812
	Benfluralin	1861-40-1	1112
	Carbendazim	10605-21-7	1129
	Carbofuran	1563-66-2	1130
	Chlordecone	143-50-0	1866
	Chlorthal-dimethyl	1861-32-1	2966
	Cyromazine	66215-27-8	2897
	Deltamethrin	52918-63-5	1149
	Dichlorodiphenyldichloroethane-o,p' (o,p'-DDD) (mitotane)	53-19-0	1143
	Dicofol	115-32-2	1172
	Dimethoate	60-51-5	1175
	dimoxystrobine	149961-52-4	5748
	Endosulfan	115-29-7	1178
	Exitiazox	78587-05-0	1876
	Fenarimol	60168-88-9	1185
	Fenazaquin	120928-09-8	2742
	Fenchlorvos	299-84-3	1186
	Fenpropatrin	39515-41-8	1188
	Fenthion	55-38-9	1190
	Fluazifop-p-butyl	79241-46-6	1404
	Flubenzimine	37893-02-0	1488
	Flusilazole	85509-19-9	1194
	Foramsulfuron	173159-57-4	2806
	Fosthiazate	98886-44-3	2744
	Imidaclopride	138261-41-3	1877
	Iprodione	36734-19-7	1206
	Isoxaflutole	141112-29-0	1945
	Lambda cyhalothrine	91465-08-6	1094
	leptophos	21609-90-5	5785
	Malathion	121-75-5	1210
	Methomyl	16752-77-5	1218
	Methoxychlor	72-43-5	1511
	Metolachlor + S-Metolachlor (somme isomères)	51218-45-2 + 87392-12	à créer
	Metolachlor ESA (metolachlor ethylsulphonic acid)	171118-09-5	6854
	Metolachlor OXA (metolachlor oxalinic acid)	152019-73-3	6853
	Mirex	2385-85-5	5438
	Monolinuron	1746-81-2	1227
	Norflurazon	27314-13-2	1669
	Omethoate	1113-02-6	1230
	Parathion-ethyl	56-38-2	1232
	Parathion methyl	298-00-0	1233
	Pendimethalin	40487-42-1	1234
	phoxime	14816-18-3	1665
	Piperonyl butoxide	51-03-6	1709
Prochloraz	67747-09-5	1253	
Procymidon	32809-16-8	1664	
profluralin	26399-36-0	5823	
Prometryn	7287-19-6	1254	
Propachlore	1918-16-7	1712	
Propazine	139-40-2	1256	
Pymétrozine	123312-89-0	5416	
Pyriproxyfen	95737-68-1	5499	
Quizalofop	76578-12-6	2609	
Quizalofop ethyl p	100646-51-3	6637	
Spinosad	168316-95-8	5610	
Spiroxamine	118134-30-8	2664	
Tau-fluvalinate (somme isomères)	102851-06-9	119	

Catégorie d'usage	Nom Molécules Eaux de surface	Code CAS	Code Sandre
Pesticides	Tebufenozide	112410-23-8	1895
	Terbutryn	886-50-0	1269
	Thiram	137-26-8	1718
	trans-nonachlor	39765-80-5	7097
	Triadimenol	55219-65-3	1280
	Triclocarban	101-20-2	6989
	Triclosan	3380-34-5	5430
	Trifloxystrobin	141517-21-7	2678
Médicaments (39 molécules)	17-beta-Estradiol	50-28-2	5397
	7,12-Dimethylbenz(a)anthracene	57-97-6	6164
	Acetazolamide	59-66-5	7136
	Amiodarone	1951-25-3	6716
	astemizole	68844-77-9	7113
	Beta-sitosterol	83-46-5	7090
	bithionol	97-18-7	7104
	Carbamazepine	298-46-4	5296
	chlorpromazine	50-53-3	7115
	Clotrimazole	23593-75-1	5360
	Cyclophosphamide	50-18-0	6733
	Dextropropoxyphene	469-62-5	7137
	Diazepam	439-14-5	5372
	Diethylstilbestrol	56-53-1	2628
	Diosgenin/(20R,25R)-Spirost-5-en-3beta-ol	512-04-9	7118
	Drospirenone	67392-87-4	6757
	Econazole	27220-47-9	7119
	Estrone	53-16-7	5396
	flunarizine	52468-60-7	7120
	Fluphenazine	69-23-8	7138
	Hydroxyprogesterone caproate	630-56-8	7121
	Ketoprofen	22071-15-4	5353
	Lorazepam	846-49-1	5374
	Mestranol	72-33-3	7139
	miconazole	22916-47-8	7130
	midazolam	59467-70-8	7140
	Niflumic acid	4394-00-7	6870
	Norethindrone	68-22-4	5401
	Ofloxacin	82419-36-1	6533
	Oxazepam	604-75-1	5375
oxyclozanide	2277-92-1	7107	
penfluridol	26864-56-2	7096	
Phloroglucinol	108-73-6	7141	
pimozide	2062-78-4	7122	
prochlorperazine	58-38-8	7108	
Sulfamethazine	57-68-1	6525	
Sulfamethoxazole	723-46-6	5356	
Tamoxifen	10540-29-1	5833	
timiperone	57648-21-2	7132	
Plastifiants (6 molécules)	Benzylbutylphthalate (BBP)	85-68-7	1924
	Bisphenol A	80-05-7	2766
	Diethyl phtalate (DEP)	84-66-2	1527
	Diisobutyl phtalate	84-69-5	5325
	Di-n-butylphthalate (DBP)	84-74-2	1462
	Dipentyl phtalate	131-18-0	2450
Tensioactifs (4 molécules)	4-Nonylphenol/di-ethoxylate/2-(2-(4-Nonylphenoxy)ethoxy)ethanol/(NPE2Ogrou2p0)	427-84-3	5346
	4-Nonylphenol mono-ethoxylate (NPE1O)	104-35-8	5345
	4-Octylphenol-monoethoxylate et le 4-Octylphenol-diethoxylate.	26636-32-8	6233
	octylphénol technique	140-66-9	à créer
Antisalissures	Dibutyltin compounds - Dibutyltin oxide	818-08-6	7074
	Diphenyltin compounds - Diphenylstannane - Diphenyltin dihydride	1011-95-7	2887
		1011-95-8	2887
	Monophenyltin compounds - Monophenyltin - Phenylstannane	2406-68-0	2889
		2406-68-1	2889
	Triphenyltin compounds - Triphenyltin acetate (Fentin acetate)	900-95-8	6372

Catégorie d'usage	Nom Molécules Eaux souterraines	Code CAS	Code Sandre
Produits industriels (9 molécules)	Benzo(b)fluoranthene	205-99-2	1116
	Pentachlorophenol	87-86-5	1235
	Perfluoroheptanoic acid (PFHpA)	375-85-9	5977
	Perfluoro-n-undecanoic acid (PFUnA)	2058-94-8	6510
	Perfluorooctane sulfonate (PFOS)	1763-23-1	6560
	Perfluorooctanoic acid (PFOA)	335-67-1	5347
	3,4-dichloroaniline	95-76-1	1586
	Benzo(a)pyrene	50-32-8	1115
	Fluoranthene	206-44-0	1191
Plastifiants (3 molécules)	Benzylbutylphthalate (BBP)	85-68-7	1924
	Bisphenol A	80-05-7	2766
	Di-n-butylphthalate (DBP)	84-74-2	1462
Produits de soins corporels (3 molécules)	Triclosan	3380-34-5	5430
	Caffeine	58-08-2	6519
	Galaxolide	1222-05-5	6618
Médicaments (61 molécules)	Levonorgestrel	797-63-7	6770
	Acetaminophen (paracetamol)	103-90-2	5354
	Amoxicilline	26787-78-0	6719
	Ampicilline	69-53-4	6759
	Ciprofloxacin	85721-33-1	6540
	Clarithromycin	81103-11-9	6537
	Doxycycline	564-25-0	6791
	Erythromycin-H2O	114-07-8	6522
	Lincomycin	859-18-7	6570
	Norfloxacin	70458-96-7	6761
	Ofloxacin	82419-36-1	6533
	Oxytetracycline	79-57-2	6850
	Penicillin G	61-33-6	6752
	Sulfadiazine	68-35-9	6758
	Sulfathiazole	72-14-0	6572
	Trimethoprim	738-70-5	5357
	Sulfamethazine	57-68-1	6525
	Tylosine	1401-69-0	6523
	Cyclophosphamide	50-18-0	6733
	Sulfamethoxazole	723-46-6	5356
	Carbamazepine	298-46-4	5359
	Valproic Acid	99-66-1	6787
	Fluoxetine	54910-89-3	5373
	Metformine	657-24-9	6755
	Carbamazepine 10,11-epoxide	36507-30-9	6725
	Losartan	114798-26-4	6699
	Sotalol	3930-20-9	5424
	Diclofenac	15307-86-5	5349
	Ibuprofen	15687-27-1	5350
	Ketoprofen	22071-15-4	5353
	Naproxen	22204-53-1	5351
	Ifosfamide	3778-73-2	6727
	Metronidazole	443-48-1	6731
	Acetylsalicylic acid	50-78-2	6735
	Alprazolam	28981-97-7	5370
	Bromazepam	1812-30-2	5371
	Diazepam	439-14-5	5372
	Lorazepam	846-49-1	5374
	Oxazepam	604-75-1	5375
	Atenolol	29122-68-7	5361
	Metoprolol	37350-58-6	5362
Propranolol	525-66-6	5363	
Furosemide	54-31-9	5364	
17 beta-Estradiol	50-28-2	5397	
4-androstenedione	63-05-8	5385	
Norethindrone	68-22-4	5400	
Estrone	53-16-7	5396	
Ethinylestradiol	57-63-6	2629	
Progesterone	57-83-0	5402	

Catégorie d'usage	Nom Molécules Eaux souterraines	Code CAS	Code Sandre
Pesticides (116 molécules)	Azoxystrobine	131860-33-8	1951
	Biphenyl	92-52-4	1584
	Captane	133-06-2	1128
	Carbendazime	10605-21-7	1129
	Cyprodinil	121552-61-2	1359
	Difenoconazole	119446-68-3	1905
	Fenarimol	60168-88-9	1185
	Fenpropidine	67306-00-7	1700
	Folpel	133-07-3	1192
	Imazalil	35554-44-0	1704
	Iprodione	36734-19-7	1206
	Prochloraz	67747-09-5	1253
	Procymidon	32809-16-8	1664
	Propiconazole	60207-90-1	1257
	Pyrimethanil	53112-28-0	1432
	Tebuconazole	107534-96-3	1694
	Triadimenol	55219-65-3	1280
	Trifloxystrobin	141517-21-7	2678
	Acetochlor	34256-82-1	1903
	Alachlor	15972-60-8	1101
	Ametryne	834-12-8	1104
	Aminotriazole	61-82-5	1105
	asulame	3337-71-1	1965
	Atrazine	1912-24-9	1107
	Azaconazole	60207-31-0	2014
	Bifenox	42576-02-3	1119
	Bromacil	314-40-9	1686
	Chloroxuron	1982-47-4	1683
	Chlorsulfuron	64902-72-3	1353
	Chlortoluron	15545-48-9	1136
	Clofentezine	74115-24-5	1868
	Clomazone	81777-89-1	2017
	Cyproconazole	94361-06-5	1680
	Cyromazine	66215-27-8	2897
	Deethylatrazine	6190-65-4	1108
	Diflufenican	83164-33-4	1814
	Dimetachlor	50563-36-5	2546
	Diuron	330-54-1	1177
	Fluazifop-P-butyl	79241-46-6	1404
	Flurochloridone	61213-25-0	1675
	Fluroxypyr	69377-81-7	1765
	Glyphosate	1071-83-6	1506
	Hexaconazole	79983-71-4	1405
	Hexazinone	51235-04-2	1673
	Irgarol	28159-98-0	1935
	Isoproturon	34123-59-6	1208
	Isoxaben	82558-50-7	1672
	Isoxaflutole	141112-29-0	1945
	Linuron	330-55-2	1209
	Metazachlor	67129-08-2	1670
Metconazole	125116-23-6	1879	
Metolachlor	51218-45-2	1221	
Métolachlor	51218-45-2	1221	
Métribuzin	21087-64-9	1225	
Oxadiazon	19666-30-9	1667	
Pendimethalin	40487-42-1	1234	
Piclorame	01/02/1918	1708	
Propachlor	1918-16-7	1712	
Propanil	709-98-8	1532	
Prosulfocarbe	52888-80-9	1092	
Quizalofop	76578-12-6	2609	
S-Metolachlor	87392-12-9	2974	
Terbuthylazine désethyl	30125-63-4	2045	
Terbutryne	886-50-0	1269	
Trifluraline	1582-09-8	1289	

Catégorie d'usage	Nom Molécules Eaux souterraines	Code CAS	Code Sandre
Pesticides	Endosulfan	115-29-7	1743
	Ethoprophos	13194-48-4	1495
	Fenamiphos	22224-92-6	1499
	Fenclorophos	299-84-3	1186
	Fenitrothion	122-14-5	1187
	Fenthion	55-38-9	1190
	Fipronil	120068-37-3	2009
	Fosthiazate	98886-44-3	2744
	isazofos	42509-80-8	1976
	Malathion	121-75-5	1210
	Methomyl	16752-77-5	1218
	Monocrotophos	6923-22-4	1880
	Parathion éthyl	56-38-2	1232
	Parathion méthyl	298-00-0	1233
	Phosalone	2310-17-0	1237
	Phoxime	14816-18-3	1665
	Piperonyl butoxyde	51-03-6	1709
	Propoxur	114-26-1	1535
	Pymetrozine	123312-89-0	5416
	Pyrimiphos-méthyl	29232-93-7	1261
	Tebufenozide	112410-23-8	1895
	Terbuphos	13071-79-9	1267
	Hexythiazox	78587-05-0	1876
	Chlorfenvinphos	470-90-6	1464
	Imidaclopride	138261-41-3	1877
	Aminomethylphosphonic acid (AMPA)	1066-51-9	2083
	N,N-dimethyl-N'-p-tolylsulfamide (DMST)	66840-71-9	6824
	6-deisopropyl atrazine (=DIA)	1007-28-9	1109
	Acetochlor ESA (t-sulfonic acid)	187022-11-3	6856
	Acetochlor OXA (t-oxanilic acid)	194992-44-4	6862
	Alachlor ESA	142363-53-9	6800
	Alachlor OXA	171262-17-2	6855
	Metolachlor ESA (metalachlor ethylsulphonic acid)	171118-09-5	6854
	Metolachlor OXA (metalachlor oxanilic acid)	152019-73-3	6853
	Quizalofop éthyl	76578-14-8	2070
	Quizalofop éthyl p	100646-51-3	6637
	Fipronil sulfide	120067-83-6	6261
	Fipronil sulfone	120068-36-2	6260
	Anthraquinone	84-65-1	2013
	Deltamethrin	52918-63-5	1149

**ANNEXE 4 : Liste des substances prioritaires de la Directive Cadre sur l'Eau.**

Numéro	CAS <sup>(1)</sup>	Nom de la substance	Identifiée comme substance dangereuse prioritaire
(1)	15972-60-8	Alachlore	
(2)	120-12-7	Anthracène	X
(3)	1912-24-9	Atrazine	
(4)	71-43-2	Benzène	
(5)	Non applicable	Diphenylether bromé <sup>(2)</sup>	X <sup>(3)</sup>
	32534-81-9	Pentabromodiphenylether (congénère n° 28, 47, 99, 100, 153, 154)	
(6)	7440-43-9	Cadmium et ses composés	X
(7)	85535-84-8	Chloroalcanes, C <sub>10-13</sub> <sup>(2)</sup>	X
(8)	470-90-6	Chlorfenvinphos	
(9)	2921-88-2	Chlorpyrifos (chlorpyrifos-ethyl)	
(10)	107-06-2	1,2-dichloroethane	
(11)	75-09-2	Dichlorométhane	
(12)	117-81-7	Di(2-éthylexyl)phtalate (DEHP)	
(13)	330-54-1	Diuron	
(14)	115-29-7	Endosulfan	X
(15)	206-44-0	Fluoranthène <sup>(4)</sup>	
(16)	118-74-1	Hexachlorobenzène	X
(17)	87-68-3	Hexachlorobutadiène	X
(18)	608-73-1	Hexachlorocyclohexane	X
(19)	34123-59-6	Isoproturon	
(20)	7439-92-1	Plomb et ses composés	
(21)	7439-97-6	Mercure et ses composés	X
(22)	91-20-3	Naphtalène	
(23)	7440-02-0	Nikel et ses composés	
(24)	25154-52-3	Nonylphénol	X
	104-40-5	(4-nonylphénol)	X
(25)	1806-26-4	Octylphénol	
	140-66-9	(4-(1,1',3,3'-tetraméthylbutyl)-phénol)	
(26)	608-93-5	Pentachlorobenzène	X
(27)	87-86-5	Pentachlorophénol	
(28)	Non applicable	Hydrocarbures polyaromatiques	X
	50-32-8	(Benzo(a)pyrène)	X
	205-99-2	(Benzo(b)fluoranthène)	X
	191-24-2	(Benzo(g,h,i)perylène)	X
	207-08-9	(Benzo(k)fluoranthène)	X
	193-39-5	(Indeno(1,2,3-cd)pyrène)	X
(29)	122-34-9	Simazine	
(30)	Non applicable	Composés du tributylétain	X
	36643-28-4	(Cation tributylétain)	X
(31)	12002-48-1	Trichlorobenzène	
(32)	67-66-3	Trichlorométhane	
(33)	1582-09-8	Trifluralin	

<sup>(1)</sup> CAS : Chemical Abstracts Service.

<sup>(2)</sup> Ces groupes de substances incluent normalement un nombre considérable de composés individuels. A l'heure actuelle, aucun paramètre indicatif approprié ne peut être donné.

<sup>(3)</sup> Seulement le pentabromobiphenylether (numero CAS 32534-81-9)

(<sup>4</sup>) Le fluoranthène figure dans la liste en tant qu'indicateur d'autres hydrocarbures aromatiques polycycliques plus dangereux.

Substances sujettes à une révision pour leur possible identification comme substance prioritaires ou substances prioritaires dangereuses

Numéro CAS	Nom de la substance
1066-51-9	AMPA
25057-89-0	Bentazon
80-05-7	Bisphenol-A
115-32-2	Dicofol
60-00-4	EDTA
57-12-5	Cyanide libre
1071-83-6	Glyphosate
7085-19-0	Mecoprop (MCPP)
81-15-2	Musc xylène
1763-23-1	Acide perfluorooctane sulfonique (PFOS)
124495-18-7	Quinoxyfen (5,7-dichloro-4-(p-fluorophenoxy)quinoline)
	Dioxins
	PCB

**ANNEXE 5 : Normes de qualité environnementales (NQE) à retenir pour les substances et familles de substances prioritaires de la DCE.**

N°	Substance	NQE-MA Eaux intérieures (µg/L)	NQE-CMA Eaux intérieures (µg/L)	NQE-MA Autres eaux de surface (µg/L)	NQE-CMA Autres eaux de surfaces (µg/L)
(1)	Alachlore	0,3	0,7	0,3	0,7
(2)	Anthracène	0,1	0,4	0,1	0,4
(3)	Atrazine	0,6	2,0	0,6	2,0
(4)	Benzène	10	50	8	50
(5)	Diphenylether bromé	0,0005	/	0,0002	/
(6)	Cadmium et ses composés * Valeur selon dureté de l'eau	0,08 *	0,45 *	0,2 *	/
(7)	Chloroalcanes, C <sub>10-13</sub>	0,4	1,4	0,4	1,4
(8)	Chlorfenvinphos	0,1	0,3	0,1	0,3
(9)	Chlorpyrifos (chlorpyrifos-ethyl)	0,03	0,1	0,003	0,1
(10)	1,2-dichloroethane	10	/	10	/
(11)	Dichlorométhane	20	/	20	/
(12)	Di(2-éthylexyl)phtalate (DEHP)	1,3	/	1,3	/
(13)	Diuron	0,2	1,8	0,2	1,8
(14)	Endosulfan	0,005	0,01	0,0005	0,004
(15)	Fluoranthène <sup>(4)</sup>	0,1	1	0,1	1
(16)	Hexachlorobenzène	0,01	0,05	0,01	0,05
(17)	Hexachlorobutadiène	0,1	0,6	0,1	0,6
(18)	Hexachlorocyclohexane	0,02	0,04	0,002	0,02
(19)	Isoproturon	0,3	1,0	0,3	1,0
(20)	Plomb et ses composés	7,2	/	7,2	/
(21)	Mercure et ses composés	0,05	0,07	0,05	0,07
(22)	Naphtalène	2,4	/	2,4	/
(23)	Nikel et ses composés	20	/	20	/
(24)	Nonylphénol	0,3	2,0	0,3	2,0
(25)	Octylphénol	0,1	/	0,1	/
(26)	Pentachlorobenzène	0,007	/	0,0007	/
(27)	Pentachlorophénol	0,4	1	0,4	1
(28)	(Benzo(a)pyrène)	0,05	0,1	0,05	0,1
	(Benzo(b)fluoranthène)	Σ=0,03	/	Σ=0,03	/
	(Benzo(g,h,i)perylène)	/	/	/	/
	(Benzo(k)fluoranthène)	Σ=0,002	/	Σ=0,002	/
	(Indeno(1,2,3-cd)pyrène)	/	/	/	/
(29)	Simazine	1	4	1	4
(30)	Composés du tributylétain	0,0002	0,0015	0,0002	0,0015
(31)	Trichlorobenzène	0,4	/	0,4	/
(32)	Trichlorométhane	2,5	/	2,5	/
(33)	Trifluralin	0,03	/	0,03	/

MA : moyenne annuelle ; CMA concentration maximale admissible

**ANNEXE 6 : Tableau annexé au décret du 20 avril 2005 relatif au programme national d'action contre la pollution des milieux aquatiques par certaines substances dangereuses.**

N° UE (*)	LISTES	N° CAS (Chemical Abstract Services)
Liste dite « Liste I » (18 substances)		

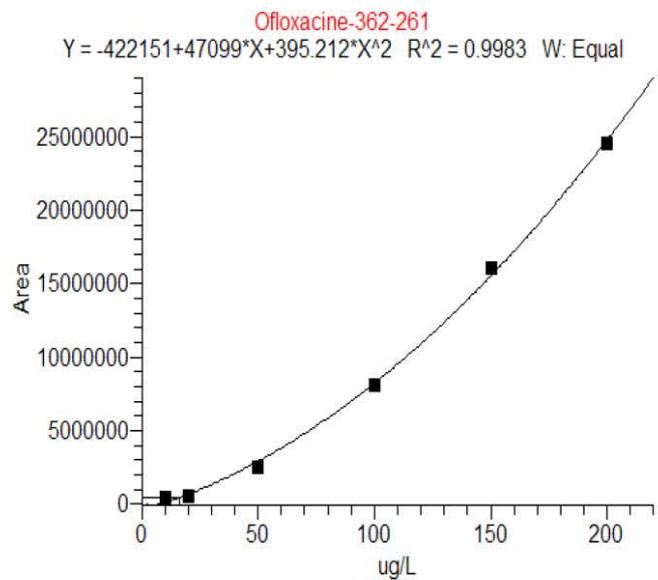
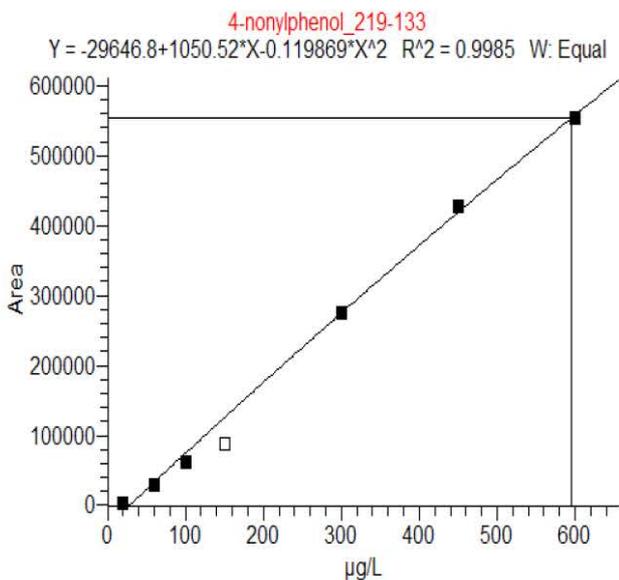
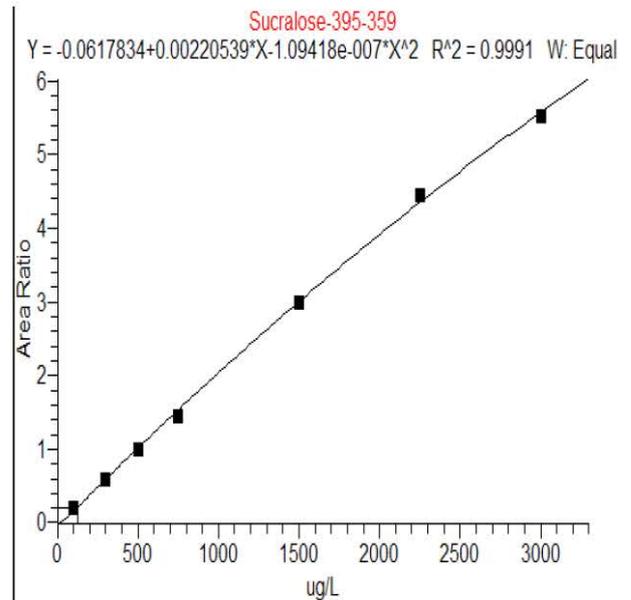
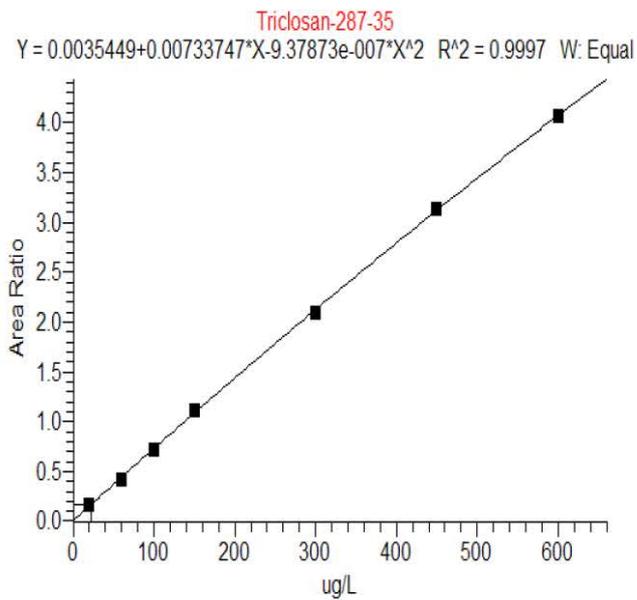
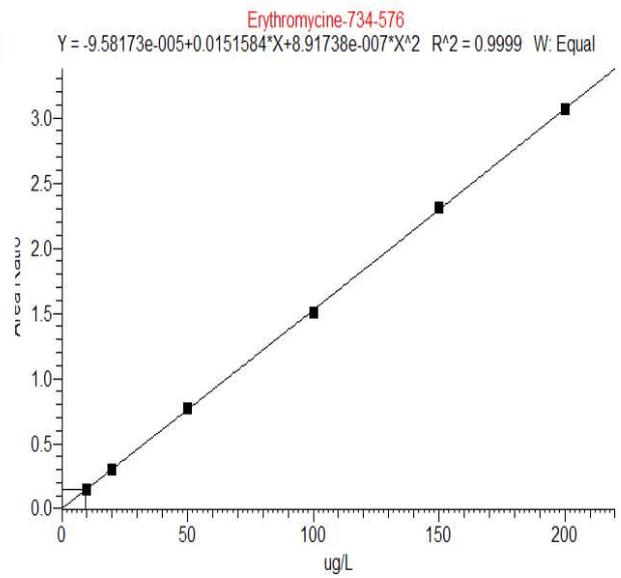
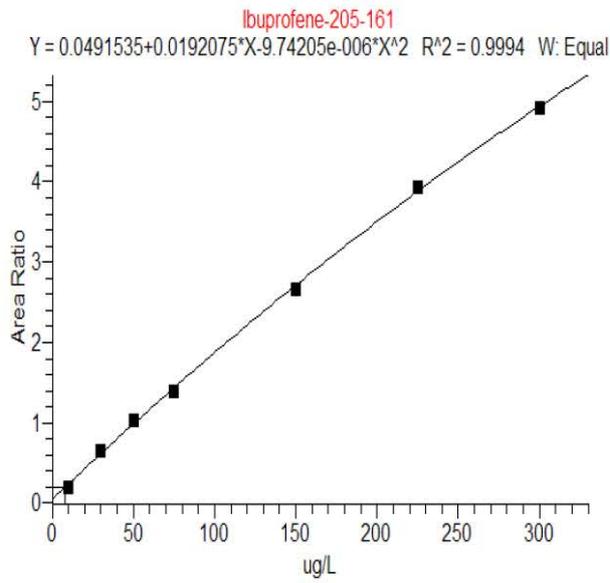
1	Aldrine	309-00-2
12	Cadmium et composés	7440-43-9
13	Tétrachlorure de carbone	56-23-5
23	Chloroforme	67-66-3
46	DDT (y compris les métabolites DDD et DDE)	50-29-3
59	1,2-dichloroéthane	107-06-2
71	Dieldrine	60-57-1
77	Endrine	72-20-8
83	Hexachlorobenzène	118-74-1
84	Hexachlorobutadiène	87-68-3
85	Hexachlorocyclohexane (y compris tous les isomères et Lindane)	s.o
92	Mercure et composés	7439-97-6
102	Pentachlorophénol	87-86-5
111	Tétrachloroéthylène	127-18-4
117	Trichlorobenzène	12002-48-1
118	1,2,4-trichlorobenzène	120-82-1
121	Trichloroéthylène	79-01-6
130	Isodrine	465-73-6
Liste dite « Liste des 15 substances potentiellement en liste I, maintenant en liste II »		
5	Azinphos-éthyl	2642-71-9
6	Azinphos-méthyl	86-50-0
70	Dichlorvos	62-73-7
76	Endosulfan	115-29-7
80	Fenitrothion	122-14-5
81	Fenthion	55-38-9
89	Malathion	121-75-5
100	Parathion (y compris Parathion-méthyl)	56-38-2
106	Simazine	122-34-9
115	Oxyde de tributylétain	56-35-9
124	Trifluraline	1582-09-8
125	Acétate de triphényl étain (acétate de fentine)	900-95-8
126	Chlorure de triphenylétain (chlorure de fentine)	639-58-7
127	Hydroxyde de triphenylétain (hydroxyde de fentine)	76-87-9
131	Atrazine	1912-24-9
Liste dite « Liste II de 99 substances »		
2	2-amino-4-chlorophénol	95-85-2
3	Anthracène	120-12-7
4	Arsenic et composés minéraux	s.o.
7	Benzène	71-43-2
8	Benzidine	92-87-5
9	Chlorure de benzyle (alpha-chlorotoluène)	100-44-7
10	Chlorure de benzylidène (alpha, alpha-dichlorotoluène)	98-87-3
11	Biphényle	92-52-4

14	Hydrate de chloral	302-17-0
15	Chlordane	57-74-9
16	Acide chloroacétique	79-11-8
17	2-chloroaniline	95-51-2
18	3-chloroaniline	108-42-9
19	4-chloroaniline	106-47-8
20	Mono-chlorobenzène	108-90-7
21	1-chloro-2,4-dinitrobenzène	97-00-7
22	2-chloroéthanol	107-07-3
24	4-chloro-3-méthylphénol	59-50-7
25	1-chloronaphtalène	90-13-1
26	Chloronaphtalènes	s.o.
27	4-chloronitroaniline	89-63-4
28	1-chloro-2-nitrobenzène	89-21-4
29	1-chloro-3-nitrobenzène	88-73-3
30	1-chloro-4-nitrobenzène	121-73-3
31	4-chloro-2-nitrotoluène	89-59-8
32	Chloronitrotoluènes (autres que 4-chloro-2-nitrotoluène)	s.o.
33	2-chlorophénol	95-57-8
34	3-chlorophénol	108-43-0
35	4-chlorophénol	106-48-9
36	Chloroprène (2-chloro-1,3-butadiène)	126-99-8
37	3-chloropropène	107-05-1
38	2-chlorotoluène	95-49-8
39	3-chlorotoluène	108-41-8
40	4-chlorotoluène	106-43-4
41	2-chloro-p-toluidine	615-65-6
42	Chlorotoluidines (autres que 2-chloro-p-toluidine)	s.o.
43	Coumaphos	56-72-4
44	2,4,6-trichloro-1,3,5-triazine	108-77-0
45	2,4-D (dont sels de 2,4-D et esters de 2,4-D)	94-75-7
47	Demeton (dont Demeton-O, Demeton-S, Demeton-S-méthyl et Demeton-S-méthyl-sulphone)	298-03-3
48	1,2-dibromoéthane	106-93-4
49	ichlorure de dibutylétain	D 683-18-1
50	Oxyde de dibutylétain	818-08-6
51	Sels de dibutylétain (autres que dichlorure de dibutylétain et oxyde de dibutylétain)	s.o.
52	Dichloroanilines	95-76-1
53	1,2-dichlorobenzène	95-50-1
54	1,3-dichlorobenzène	541-73-1
55	1,4-dichlorobenzène	106-46-7
56	Dichlorobenzidines	s.o.
57	Dichloro-di-is.o.propyl éther	108-60-1

58	1,1-dichloroéthane	75-34-3
60	1,1-dichloroéthylène	75-35-4
61	1,2-dichloroéthylène	540-59-0
62	Dichlorométhane	75-09-2
63	Dichloronitrobenzènes	s.o.
64	2,4-dichlorophénol	120-83-2
65	1,2-dichloropropane	78-87-5
66	1,3-dichloropropan-2-ol	96-23-1
67	1,3-dichloropropène	542-75-6
68	2,3-dichloropropène	78-88-6
69	Dichloroprop	120-36-5
72	Diéthylamine	109-89-7
73	Diméthoate	60-51-5
74	Diméthylamine	124-40-3
75	Disulfoton	298-04-4
78	Epichlorohydrine	106-89-8
79	Ethylbenzène	100-41-4
82	Heptachlore (dont heptachlore époxyde)	76-44-8
86	Hexachloroéthane	67-72-1
87	Is.o.propyl benzène	98-83-9
88	Linuron	330-55-2
90	Mcpa	94-74-6
91	Mecoprop	93-65-2
93	Methamidophos	10265-92-6
94	Mevinphos	7786-34-7
95	Monolinuron	1746-81-2
96	Naphthalène	91-20-3
97	Ométhoate	1113-02-6
98	Oxy-demeton-methyl	301-12-2
99	Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) (particulièrement 3,4-benzopyrène et 3,4- benzofluoranthène)	s.o. (50-32-8 et 205-99-2)
101	PCB (dont PCT)	s.o.
103	Phoxime	14816-18-3
104	Propanil	709-98-8
105	Pyrazon	1698-60-8
107	2,4,5-T (dont sels de 2,4,5-T et esters de 2,4,5-T)	93-76-5
108	Tétrabutylétain	1461-25-2
109	1,2,4,5-tétrachlorobenzène	95-94-3
110	1,1,2,2-tétrachloroéthane	79-34-5
112	Toluène	108-88-3
113	Triazophos	24017-47-8
114	Phosphate de tributyle	126-73-8
116	Trichlorfon	52-68-6
119	1,1,1-trichloroéthane	71-55-6

120	1,1,2-trichloroéthane	79-00-5
122	Trichlorophénols	95-95-4
123	1,1,2-tri-chloro-tri-fluoro-éthane	76-13-1
128	Chlorure de vinyle (chloroéthylène)	75-01-4
129	Xylènes	1330-20-7
132	Bentazone	25057-89-0
Liste dite « Liste II second tiret de la directive 76/464 » (métalloïdes et métaux, autres substances...)		
	Zinc	7440-66-6
	Cuivre	7440-50-8
	Nickel	7440-02-0
	Chrome	7440-47-3
	Plomb	7439-92-1
	Sélénium	7782-49-2
	Arsenic	7440-38-2
	Antimoine	7440-36-0
	Molybdène	7439-98-7
	Titane	7440-32-6
	Etain	7440-31-5
	Barium	7440-39-3
	Beryllium	7440-41-7
	Bore	7440-42-8
	Uranium	7440-61-1
	Vanadium	7440-62-2
	Cobalt	7440-48-4
	Thallium	7440-28-0
	Tellurium	13494-80-9
	Argent	7440-22-4
	Phosphore total	s.o.
	Cyanure	57-12-5
	Fluorure	16984-48-8
	Ammoniaque	7664-41-7
	Nitrite	14797-65-0
<p>(*) N° UE : le nombre mentionné correspond au classement par ordre alphabétique issu de la communication de la Commission au Conseil du 22 juin 1982. s.o. : sans objet.</p>		

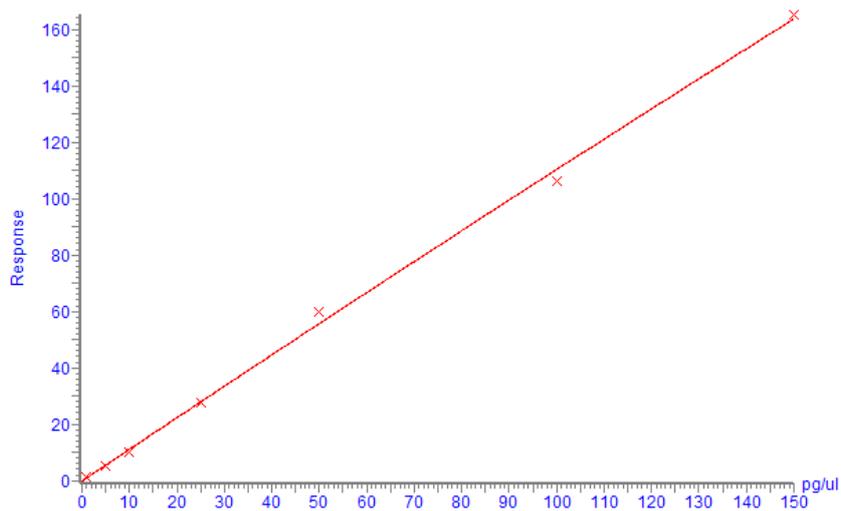
**ANNEXE 7 : Gammes d'étalonnage des 6 molécules de la méthode multi-résidus.**



## ANNEXE 8 : Gammes d'étalonnage des deux composés perfluorés.

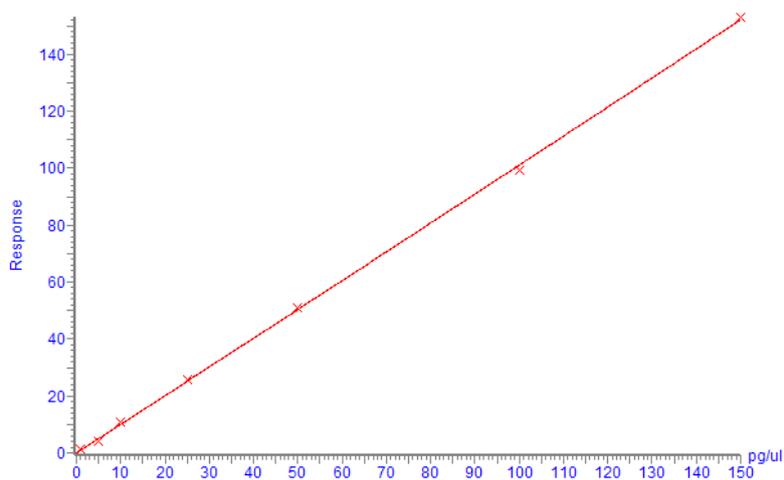
### PFOA

Compound name: PFOA  
Coefficient of Determination:  $R^2 = 0.998174$   
Calibration curve:  $-0.000240647 * x^2 + 1.12867 * x + -0.180708$   
Response type: Internal Std ( Ref 2 ), Area \* ( IS Conc. / IS Area )  
Curve type: 2nd Order, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



### PFOS

Compound name: PFOS  
Coefficient of Determination:  $R^2 = 0.998945$   
Calibration curve:  $7.05438e-005 * x^2 + 1.00372 * x + 0.0047787$   
Response type: Internal Std ( Ref 4 ), Area \* ( IS Conc. / IS Area )  
Curve type: 2nd Order, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



**ANNEXE 9 : Validation des gammes d'étalonnage des huit molécules étudiées.**

## Ibuprofène - Etude de l'étalonnage de la méthode - Modèle polynomial

Tableau de signal :

	niveau en µg/L	J1	J2	J3	J4	J5
N1	10	8,8	10,0	9,9	13,4	8,8
N2	30	30,7	33,9	28,7	29,9	27,8
N3	50	49,2	48,0	47,8	47,5	48,4
N4	75	72,0	67,4	72,5	72,5	78,7
N5	150	164,0	162,9	156,6	148,2	158,8
N6	225	210,1	214,9	231,7	231,6	213,2
N7	300	304,9	303,1	292,8	296,9	304,0

Tableau des grandeurs retrouvées :

Jours	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 6	Niv 7
	10	30	50	75	150	225	300
J1	8,8	30,7	49,2	72,0	164,0	210,1	304,9
J2	10,0	33,9	48,0	67,4	162,9	214,9	303,1
J3	9,9	28,7	47,8	72,5	156,6	231,7	292,8
J4	13,4	29,9	47,5	72,5	148,2	231,6	296,9
J5	8,8	27,8	48,4	78,7	158,8	213,2	304,0

Représentation graphique des grandeurs retrouvées par rapport aux grandeurs théoriques et à la droite  $\hat{X} = X$

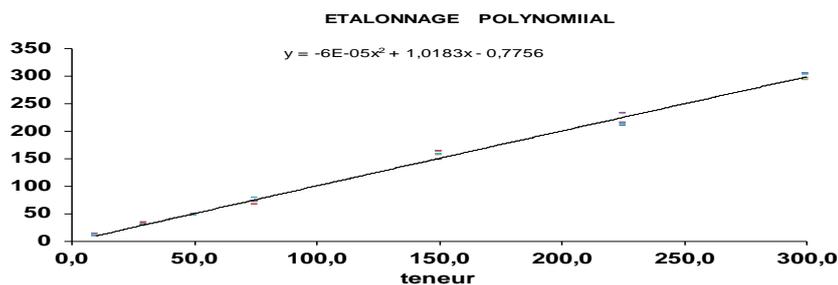


Tableau des biais absolus par rapport aux valeurs théoriques

Jour différent	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 6	Niv 7
	10	30	50	75	150	225	300
J1	-1,2	0,7	-0,8	-3,0	14,0	-14,9	4,9
J2	0,0	3,9	-2,0	-7,6	12,9	-10,1	3,1
J3	-0,1	-1,3	-2,2	-2,5	6,6	6,7	-7,2
J4	3,4	-0,1	-2,5	-2,5	-1,8	6,6	-3,1
J5	-1,2	-2,2	-1,6	3,7	8,8	-11,8	4,0
Moyenne des biais	0,2	0,2	-1,8	-2,4	8,1	-4,7	0,3
Ecart type des biais	1,9	2,3	0,7	4,0	6,3	10,5	5,3

Tableau des biais relatifs par rapport aux valeurs théoriques

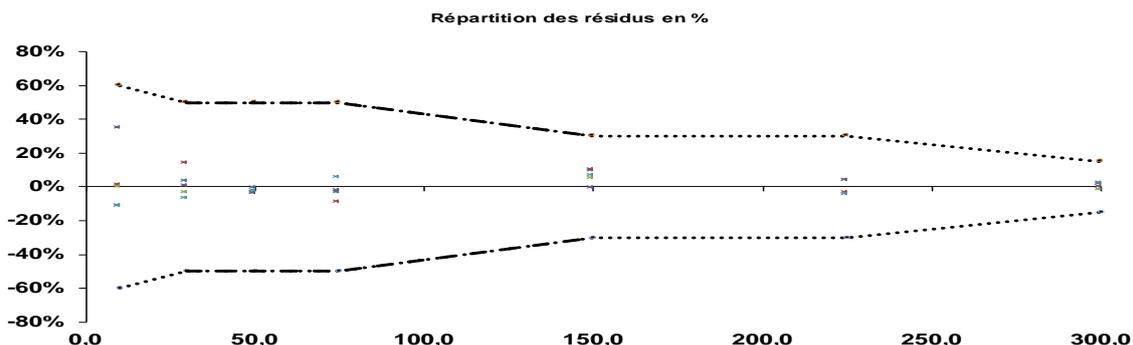
Jour différent	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 6	Niv 7
	10	30	50	75	150	225	300
J1	-12,0%	2,3%	-1,6%	-4,0%	9,3%	-6,6%	1,6%
J2	0,0%	13,0%	-4,0%	-10,1%	8,6%	-4,5%	1,0%
J3	-1,0%	-4,3%	-4,4%	-3,3%	4,4%	3,0%	-2,4%
J4	34,0%	-0,3%	-5,0%	-3,3%	-1,2%	2,9%	-1,0%
J5	-12,0%	-7,3%	-3,2%	4,9%	5,9%	-5,2%	1,3%
EMA	60,0%	50,0%	50,0%	50,0%	30,0%	30,0%	15,0%

Nombre de niveaux	7
Nombre de gammes	5

Etude de la fonction d'étalonnage de la méthode d'analyse avec un test d'adéquation

Sources de variation	Sommes des carrés d'écart	Degrés de liberté	Variance	Critère calculé	Valeur critique au risque alpha = 1%
Modèle	373,30	7	53,33	5,71	3,36
Expérimentale	261,28	28	9,33		
Totale	634,58	35			

Etude de la fonction d'étalonnage de la méthode d'analyse avec des EMAétalonnage



## Erythromycine - Etude de l'étalonnage de la méthode - Modèle polynomial

Tableau de signal :

	niveau en µg/L	J1	J2	J3	J4	J5
N1	10	10,2	10,7	10,5	10,4	11,3
N2	20	20,2	19,8	20,8	20,5	19,3
N3	50	50,5	49,9	48,1	47,4	50,5
N4	100	97,7	97,8	99,3	103,1	95,2
N5	150	152,8	152,9	152,2	148,2	156,0
N6	200	199,0	198,9	199,0	200,4	197,8

Tableau des grandeurs retrouvées :

Jour différent	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 6
	10	20	50	100	150	200
J1	10,2	20,2	50,5	97,7	152,8	199,0
J2	10,7	19,8	49,9	97,8	152,9	198,9
J3	10,5	20,8	48,1	99,3	152,2	199,0
J4	10,4	20,5	47,4	103,1	148,2	200,4
J5	11,3	19,3	50,5	95,2	156,0	197,8

Représentation graphique des grandeurs retrouvées par rapport aux grandeurs théoriques et à la droite  $\hat{X} = X$

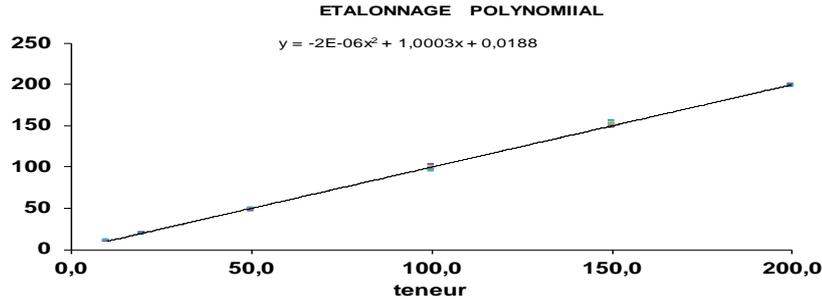


Tableau des biais absolus par rapport aux valeurs théoriques

Jour différent	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 6
	10	20	50	100	150	200
J1	0,2	0,2	0,5	-2,3	2,8	-1,0
J2	0,7	-0,2	-0,1	-2,2	2,9	-1,1
J3	0,5	0,8	-1,9	-0,7	2,2	-1,0
J4	0,4	0,5	-2,6	3,1	-1,8	0,4
J5	1,3	-0,7	0,5	-4,8	6,0	-2,2
Moyenne des biais	0,6	0,1	-0,7	-1,4	2,4	-1,0
Ecart type des biais	0,4	0,6	1,4	2,9	2,8	0,9

Tableau des biais relatifs par rapport aux valeurs théoriques

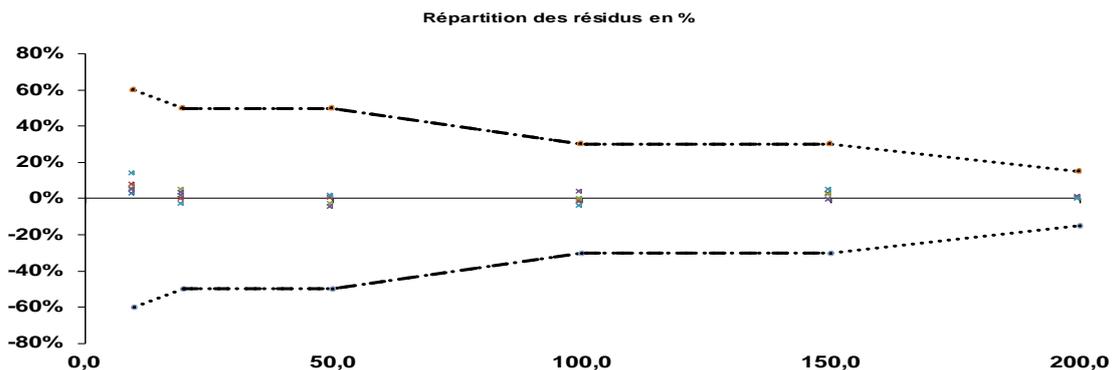
Jour différent	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 6
	10	20	50	100	150	200
J1	2,0%	1,0%	1,0%	-2,3%	1,9%	-0,5%
J2	7,0%	-1,0%	-0,2%	-2,2%	1,9%	-0,5%
J3	5,0%	4,0%	-3,8%	-0,7%	1,5%	-0,5%
J4	4,0%	2,5%	-5,2%	3,1%	-1,2%	0,2%
J5	13,0%	-3,5%	1,0%	-4,8%	4,0%	-1,1%
EMA	60,0%	50,0%	50,0%	30,0%	30,0%	15,0%

Nombre de niveaux	6
Nombre de gammes	5

Etude de la fonction d'étalonnage de la méthode d'analyse avec un test d'adéquation

Sources de variation	Sommes des carrés d'écarts	Degrés de liberté	Variance	Critère calculé	Valeur critique au risque alpha = 1%
Modèle	43,39	6	7,23	2,31	3,67
Expérimentale	75,18	24	3,13		
Totale	118,57	30			

Etude de la fonction d'étalonnage de la méthode d'analyse avec des EMA



#### 4-Nonylphénol - Etude de l'étalonnage de la méthode - Modèle polynomial

Tableau de signal :

	niveau en µg/L	J1	J2	J3	J4	J5
N1	20	28,9	38,7	35,1	36,4	37,0
N2	60	60,1	61,0	61,8	58,7	52,8
N3	100	92,6	87,0	95,3	84,6	84,4
N4	150	137,3	124,8	122,2	165,6	79,5
N5	300	317,3	312,7	309,7	315,8	301,1
N6	450	443,1	471,4	464,9	456,5	459,8
N7	600	600,6	584,9	591,0	592,7	594,8

Tableau des grandeurs retrouvées :

Jour différent	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 6	Niv 7
		20	60	100	150	300	450
J1	28,9	60,1	92,6	137,3	317,3	443,1	600,6
J2	38,7	61,0	87,0	124,8	312,7	471,4	584,9
J3	35,1	61,8	95,3	122,2	309,7	464,9	591,0
J4	36,4	58,7	84,6	165,6	315,8	456,6	592,7
J5	37,0	52,8	84,4	79,5	301,1	459,8	594,8

Représentation graphique des grandeurs retrouvées par rapport aux grandeurs théoriques et à la droite  $\hat{X} = X$

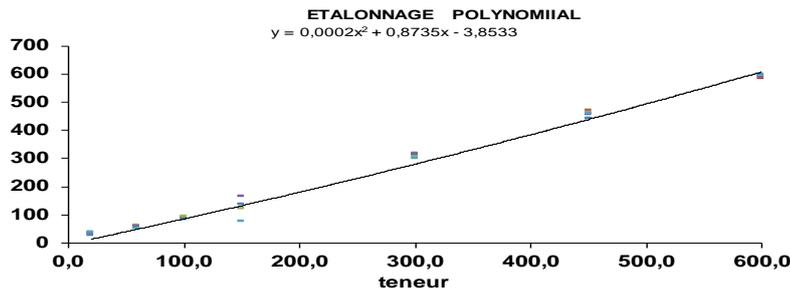


Tableau des biais absolus par rapport aux valeurs théoriques

Jour différent	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 6	Niv 7
		20	60	100	150	300	450
J1	8,9	0,1	-7,4	-12,7	17,3	-6,9	0,6
J2	18,7	1,0	-13,0	-25,2	12,7	21,4	-15,1
J3	15,1	1,8	-4,7	-27,8	9,7	14,9	-9,0
J4	16,4	-1,3	-15,4	15,6	15,8	6,6	-7,3
J5	17,0	-7,2	-15,6	-70,5	1,1	9,8	-5,2
Moyenne des biais	15,2	-1,1	-11,2	-24,1	11,3	9,2	-7,2
Ecart type des biais	3,8	3,6	4,9	31,1	6,4	10,6	5,7

Tableau des biais relatifs par rapport aux valeurs théoriques

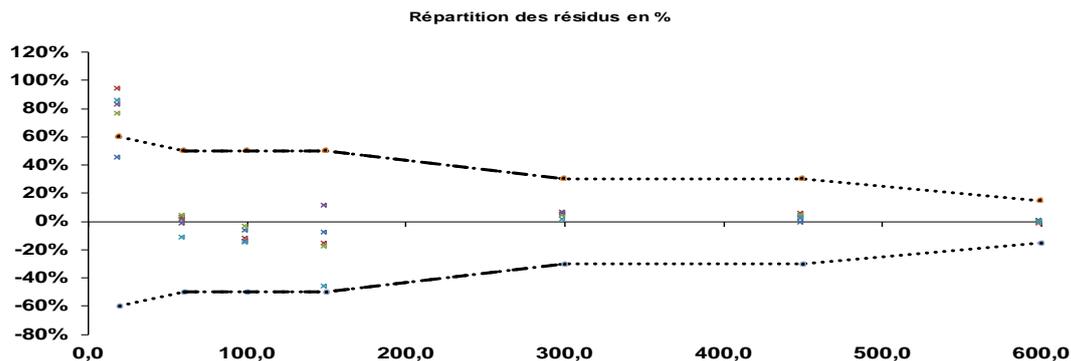
Jour différent	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 6	Niv 7
		20	60	100	150	300	450
J1	44,5%	0,2%	-7,4%	-8,5%	5,8%	-1,5%	0,1%
J2	93,5%	1,7%	-13,0%	-16,8%	4,2%	4,8%	-2,5%
J3	75,5%	3,0%	-4,7%	-18,5%	3,2%	3,3%	-1,5%
J4	82,0%	-2,2%	-15,4%	10,4%	5,3%	1,5%	-1,2%
J5	85,0%	-12,0%	-15,6%	-47,0%	0,4%	2,2%	-0,9%
EMA	60,0%	50,0%	50,0%	50,0%	30,0%	30,0%	15,0%

Nombre de niveaux	7
Nombre de gammes	5

Etude de la fonction d'étalonnage de la méthode d'analyse avec un test d'adéquation

Sources de variation	Sommes des carrés d'écart	Degrés de liberté	Variance	Critère calculé	Valeur critique au risque alpha = 1%
Modèle	5343,54	7	763,36	5,04	3,36
Expérimentale	4243,78	28	151,56		
Totale	9587,32	35			

Etude de la fonction d'étalonnage de la méthode d'analyse avec des EMA



**Ofloxacin - Etude de l'étalonnage de la méthode - Modèle polynomial**

Tableau de signal :

	niveau en µg/L	J1	J2	J3	J4	J5
N1	10	13,8	12,6	12,7	7,2	11,4
N2	20	18,4	16,2	20,2	21,2	19,2
N3	50	40,4	51,3	46,5	54,3	46,8
N4	100	92,9	99,8	86,2	99,6	91,5
N5	150	157,4	182,5	151,6	147,7	162,2
N6	200	197,7	219,1	199,4	201	195,1

Tableau des grandeurs retrouvées :

Jour différent	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 6
	10	20	50	100	150	200
J1	13,800	18,400	40,400	92,900	157,400	197,700
J2	12,600	16,200	51,300	99,800	152,500	179,100
J3	12,700	20,200	46,500	86,200	151,600	199,400
J4	7,200	21,200	54,300	99,600	147,700	201,000
J5	11,400	19,200	46,800	91,500	162,200	195,100

Représentation graphique des grandeurs retrouvées par rapport aux grandeurs théoriques et à la droite  $\hat{X} = X$

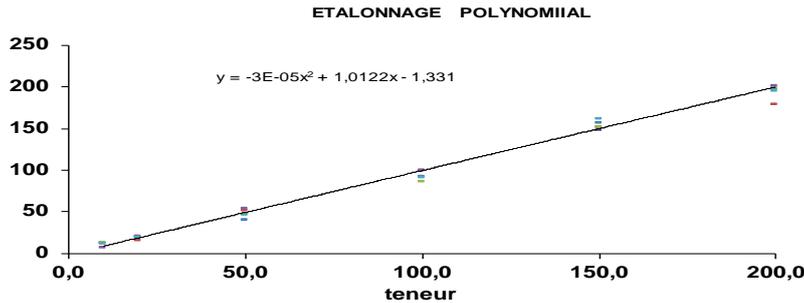


Tableau des biais absolus par rapport aux valeurs théoriques

Jour différent	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 6
	10	20	50	100	150	200
J1	3,800	-1,600	-9,600	-7,100	7,400	-2,300
J2	2,600	-3,800	1,300	-0,200	2,500	-20,900
J3	2,700	0,200	-3,500	-13,800	1,600	-0,600
J4	-2,800	1,200	4,300	-0,400	-2,300	1,000
J5	1,400	-0,800	-3,200	-8,500	12,200	-4,900
Moyenne des biais	1,540	-0,960	-2,140	-6,000	4,280	-5,540
Ecart type des biais	2,571	1,905	5,290	5,773	5,615	8,860

Tableau des biais relatifs par rapport aux valeurs théoriques

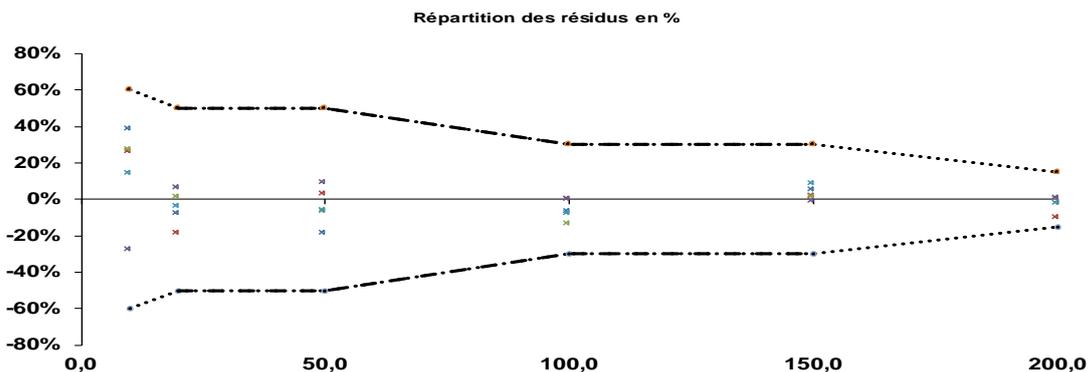
Jour différent	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 6
	10	20	50	100	150	200
J1	38,00%	-8,00%	-19,20%	-7,10%	4,93%	-1,15%
J2	26,00%	-19,00%	2,60%	-0,20%	1,67%	-10,45%
J3	27,00%	1,00%	-7,00%	-13,80%	1,07%	-0,30%
J4	-28,00%	6,00%	8,60%	-0,40%	-1,53%	0,50%
J5	14,00%	-4,00%	-6,40%	-8,50%	8,13%	-2,45%
EMA	60,00%	50,00%	50,00%	30,00%	30,00%	15,00%

Nombre de niveaux	6
Nombre de gammes	5

Etude de la fonction d'étalonnage de la méthode d'analyse avec un test d'adéquation

Sources de variation	Sommes des carrés d'écarts	Degrés de liberté	Variance	Critère calculé	Valeur critique au risque alpha = 1%
Modèle	310,96	6	51,83	3,02	3,67
Expérimentale	412,28	24	17,18		
Totale	723,24	30			

Etude de la fonction d'étalonnage de la méthode d'analyse avec des EMA



## Sucralose - Etude de l'étalonnage de la méthode - Modèle polynomial

Tableau de signal :

	niveau en µg/L	J1	J2	J3	J4	J5
N1	100	109,4	79,9	109,3	92,4	53,9
N2	300	281,5	313,0	270,2	315,1	285,4
N3	500	498,2	494,4	464,0	510,2	514,5
N4	750	764,3	735,5	770,3	731,0	814,6
N5	1500	1633,9	1619,4	1652,9	1489,8	1538,8
N6	2250	2243,2	2104,7	2070,3	2268,4	2152,3
N7	3000	3003,6	3053,6	3060,9	2993,0	3038,6

Tableau des grandeurs retrouvées :

Jour différent	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 6	Niv 7
	100	300	500	750	1500	2250	3000
J1	109,4	281,5	498,2	764,3	1633,9	2243,2	3003,6
J2	79,9	313,0	494,4	735,5	1616,4	2104,7	3053,6
J3	109,3	270,2	464,0	770,3	1652,9	2070,3	3060,9
J4	92,4	315,1	510,2	731,0	1489,8	2268,4	2993,0
J5	53,9	285,4	514,5	814,6	1538,8	2152,3	3038,6

Représentation graphique des grandeurs retrouvées par rapport aux grandeurs théoriques et à la droite  $\hat{X} = X$

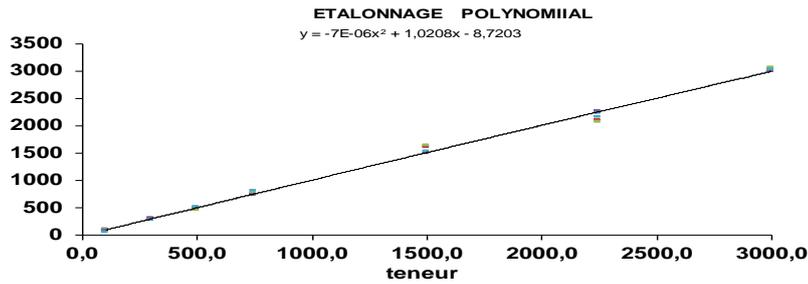


Tableau des biais absolus par rapport aux valeurs théoriques

Jour différent	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 6	Niv 7
	100	300	500	750	1500	2250	3000
J1	9,4	-18,5	-1,8	14,3	133,9	-6,8	3,6
J2	-20,1	13,0	-5,6	-14,5	116,4	-145,3	53,6
J3	9,3	-29,8	-36,0	20,3	152,9	-179,7	60,9
J4	-7,6	15,1	10,2	-19,0	-10,2	18,4	-7,0
J5	-46,1	-14,6	14,5	64,6	38,8	-97,7	38,6
Moyenne des biais	-11,0	-7,0	-3,7	13,1	86,4	-82,2	29,9
Ecart type des biais	23,2	20,0	19,8	33,5	69,2	85,9	30,2

Tableau des biais relatifs par rapport aux valeurs théoriques

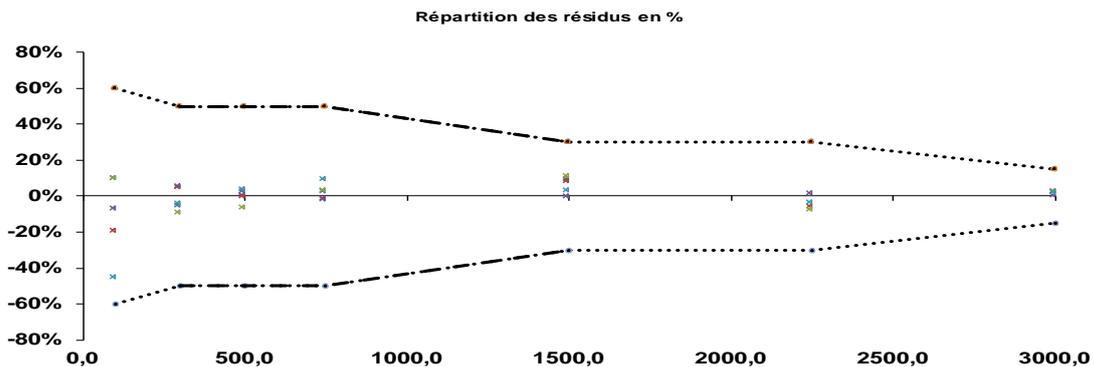
Jour différent	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 6	Niv 7
	100	300	500	750	1500	2250	3000
J1	9,4%	-6,2%	-0,4%	1,9%	8,9%	-0,3%	0,1%
J2	-20,1%	4,3%	-1,1%	-1,9%	7,8%	-6,5%	1,8%
J3	9,3%	-9,9%	-7,2%	2,7%	10,2%	-8,0%	2,0%
J4	-7,6%	5,0%	2,0%	-2,5%	-0,7%	0,8%	-0,2%
J5	-46,1%	-4,9%	2,9%	8,6%	2,6%	-4,3%	1,3%
EMA	60,0%	50,0%	50,0%	50,0%	30,0%	30,0%	15,0%

Nombre de niveaux	7
Nombre de gammes	5

Etude de la fonction d'étalonnage de la méthode d'analyse avec un test d'adéquation

Sources de variation	Sommes des carrés d'écart	Degrés de liberté	Variance	Critère calculé	Valeur critique au risque alpha = 1%
Modèle	39072,89	7	5581,84	5,39	3,36
Expérimentale	29001,34	28	1035,76		
Totale	68074,23	35			

Etude de la fonction d'étalonnage de la méthode d'analyse avec des EMAétalonnage



## Triclosan - Etude de l'étalonnage de la méthode - Modèle polynomial

Tableau de signal :

niveau en µg/L	J1	J2	J3	J4	J5
N1	20	16,9	18,0	26,6	16,4
N2	60	67,3	58,7	62,4	57,6
N3	100	97,2	106,4	97,1	102,9
N4	150	160,9	146,1	148,2	157,4
N5	300	310,2	312,1	317,1	296,7
N6	450	454,1	432,2	433,2	447,1
N7	600	596,2	607,9	605,2	604,9

Tableau des grandeurs retrouvées :

Jour différent	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 6	Niv 7
	20	60	100	150	300	450	600
J1	24,2	67,3	97,2	160,9	310,2	454,1	596,2
J2	16,9	58,7	106,4	146,1	312,1	432,2	607,9
J3	18,0	62,4	97,1	148,2	317,1	433,2	605,2
J4	26,6	51,7	98,1	148,2	315,6	435,0	604,9
J5	16,4	57,6	102,9	157,4	296,7	447,1	601,9

Représentation graphique des grandeurs retrouvées par rapport aux grandeurs théoriques et à la droite  $\hat{X} = X$

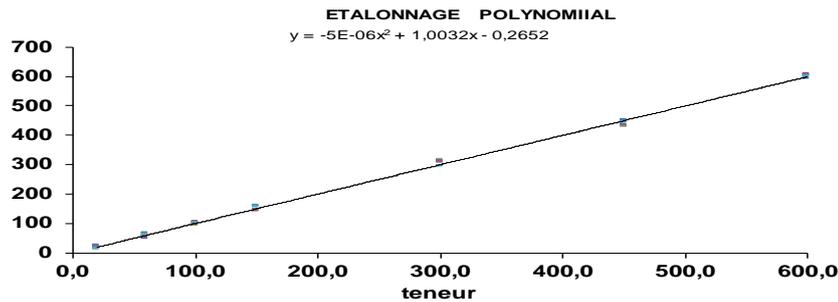


Tableau des biais absolus par rapport aux valeurs théoriques

Jour différent	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 6	Niv 7
	20	60	100	150	300	450	600
J1	4,2	7,3	-2,8	10,9	10,2	4,1	-3,8
J2	-3,1	-1,3	6,4	-3,9	12,1	-17,8	7,9
J3	-2,0	2,4	-2,9	-3,3	17,1	-16,8	5,2
J4	6,6	-8,3	-1,9	-1,8	15,6	-15,0	4,9
J5	-3,6	-2,4	2,9	7,4	-3,3	-2,9	1,9
Moyenne des biais	0,4	-0,5	0,3	1,9	10,3	-9,7	3,2
Ecart type des biais	4,7	5,8	4,1	6,8	8,1	9,8	4,5

Tableau des biais relatifs par rapport aux valeurs théoriques

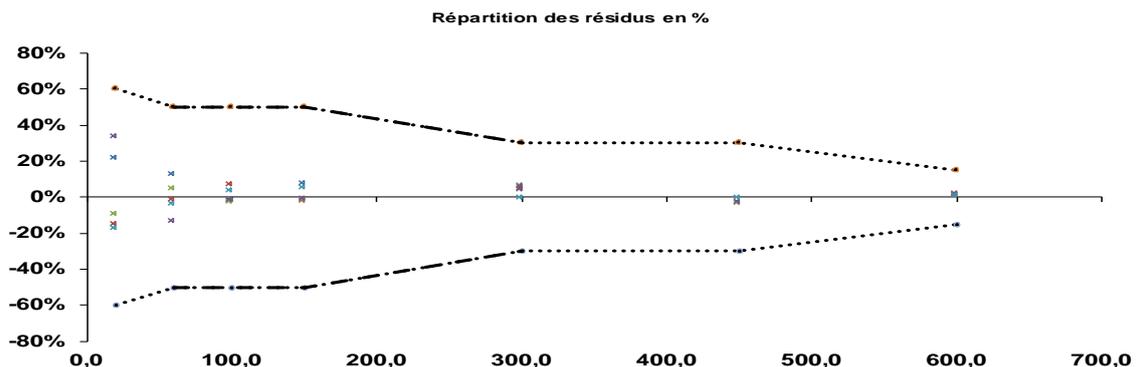
Jour différent	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5	Niv 6	Niv 7
	20	60	100	150	300	450	600
J1	21,0%	12,2%	-2,8%	7,3%	3,4%	0,9%	-0,6%
J2	-15,5%	-2,2%	6,4%	-2,6%	4,0%	-4,0%	1,3%
J3	-10,0%	4,0%	-2,9%	-2,2%	5,7%	-3,7%	0,9%
J4	33,0%	-13,8%	-1,9%	-1,2%	5,2%	-3,3%	0,8%
J5	-18,0%	-4,0%	2,9%	4,9%	-1,1%	-0,6%	0,3%
EMA	60,0%	50,0%	50,0%	50,0%	30,0%	30,0%	15,0%

Nombre de niveaux	7
Nombre de gammes	5

Etude de la fonction d'étalonnage de la méthode d'analyse avec un test d'adéquation

Sources de variation	Sommes des carrés d'écart	Degrés de liberté	Variance	Critère calculé	Valeur critique au risque alpha = 1%
Modèle	554,39	7	79,20	3,00	3,36
Expérimentale	738,02	28	26,36		
Totale	1292,41	35			

Etude de la fonction d'étalonnage de la méthode d'analyse avec des EMA



## PFOA - Etude de l'étalonnage de la méthode - Modèle polynomial

Tableau des grandeurs retrouvées : **ETALONNAGE INTERNE (injection 10 µl)**

Jour différent	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5
	1	10	50	100	200
18/03/10	1,1	9,3	49,7	101,7	199,2
30/03/10	0,9	10,2	46,7	104,1	198,7
15/04/10	1,1	8,7	47,4	107,3	196,0
07/05/10	1,1	8,8	51,7	100,2	199,5
11/05/10	1,0	10,9	51,0	97,6	201,0

Représentation graphique des grandeurs retrouvées par rapport aux grandeurs théoriques et à la droite  $\hat{X} = X$

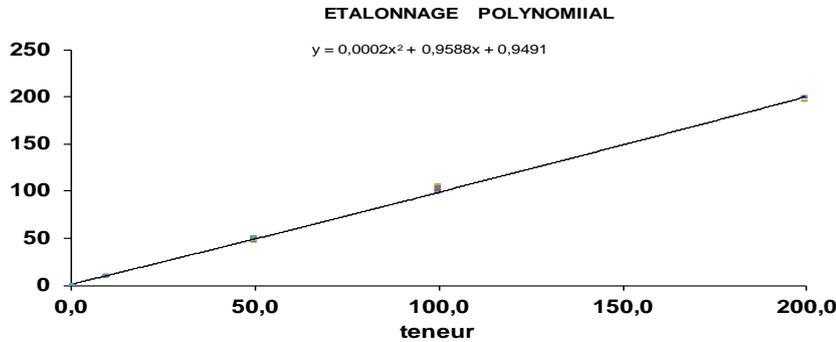


Tableau des biais absolus par rapport aux valeurs théoriques

Jour différent	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5
	1	10	50	100	200
18/03/2010	0,1	-0,7	-0,3	1,7	-0,8
30/03/2010	-0,1	0,2	-3,3	4,1	-1,3
15/04/2010	0,1	-1,3	-2,6	7,3	-4,0
07/05/2010	0,1	-1,2	1,7	0,2	-0,5
11/05/2010	0,0	0,9	1,0	-2,4	1,0
Moyenne des biais	0,0	-0,4	-0,7	2,2	-1,1
Ecart type des biais	0,1	0,9	2,2	3,7	1,8

Tableau des biais relatifs par rapport aux valeurs théoriques

Jour différent	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5
	1	10	50	100	200
18/03/2010	10,0%	-7,0%	-0,6%	1,7%	-0,4%
30/03/2010	-10,0%	2,0%	-6,6%	4,1%	-0,7%
15/04/2010	10,0%	-13,0%	-5,2%	7,3%	-2,0%
07/05/2010	10,0%	-12,0%	3,4%	0,2%	-0,3%
11/05/2010	0,0%	9,0%	2,0%	-2,4%	0,5%

Nombre de niveaux	5
Nombre de gammes	5

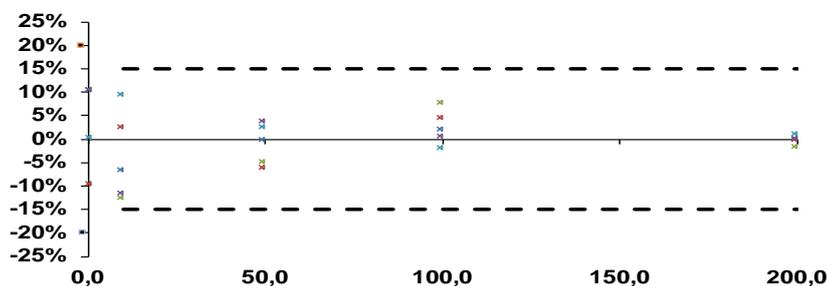
Etude de la fonction d'étalonnage de la méthode d'analyse avec un test d'adéquation

Sources de variation	Sommes des carrés d'écarts	Degrés de liberté	Variance	Critère calculé	Valeur critique au risque alpha = 1%
Modèle	33,37	5	6,67	1,46	4,10
Expérimentale	91,14	20	4,56		
Totale	124,51	25			

Etude de la fonction d'étalonnage de la méthode d'analyse avec des EMAétalonnage

EMAétalonnage 20% pour l'étalon situé à la LQ  
 EMAétalonnage 15% pour les autres étalons de l'étalonnage

Répartition des résidus en %



## PFOS - Etude de l'étalonnage de la méthode - Modèle polynomial

Tableau des grandeurs retrouvées : **ETALONNAGE INTERNE (injection 10 µl)**

Jour différent	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5
	1	10	50	100	200
18/03/10	1,0	9,9	49,2	101,4	199,4
30/03/10	1,1	9,8	50,7	99,9	199,8
15/04/10	1,0	9,8	51,3	98,6	200,4
07/05/10	1,0	9,8	49,7	100,9	199,5
11/05/10	1,0	11,5	51,7	95,1	201,8

Représentation graphique des grandeurs retrouvées par rapport aux grandeurs théoriques et à la droite

$$\hat{X} = X$$

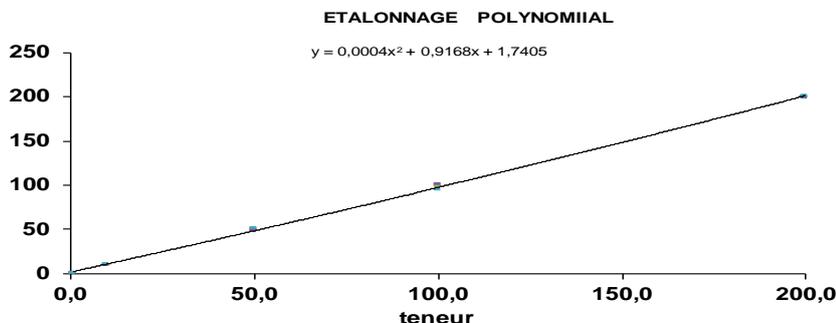


Tableau des biais absolus par rapport aux valeurs théoriques

Jour différent	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5
	1	10	50	100	200
18/03/10	0,0	-0,1	-0,8	1,4	-0,6
30/03/10	0,1	-0,2	0,7	-0,1	-0,2
15/04/10	0,0	-0,2	1,3	-1,4	0,4
07/05/10	0,0	-0,2	-0,3	0,9	-0,5
11/05/10	0,0	1,5	1,7	-4,9	1,8
Moyenne des biais	0,0	0,2	0,5	-0,8	0,2
Ecart type des biais	0,0	0,8	1,1	2,5	1,0

Tableau des biais relatifs par rapport aux valeurs théoriques

Jour différent	Niv 1	Niv 2	niv 3	Niv 4	Niv 5
	1	10	50	100	200
18/03/10	0,0%	-1,0%	-1,6%	1,4%	-0,3%
30/03/10	10,0%	-2,0%	1,4%	-0,1%	-0,1%
15/04/10	0,0%	-2,0%	2,6%	-1,4%	0,2%
07/05/10	0,0%	-2,0%	-0,6%	0,9%	-0,3%
11/05/10	0,0%	15,0%	3,4%	-4,9%	0,9%

Nombre de niveaux	5
Nombre de gammes	5

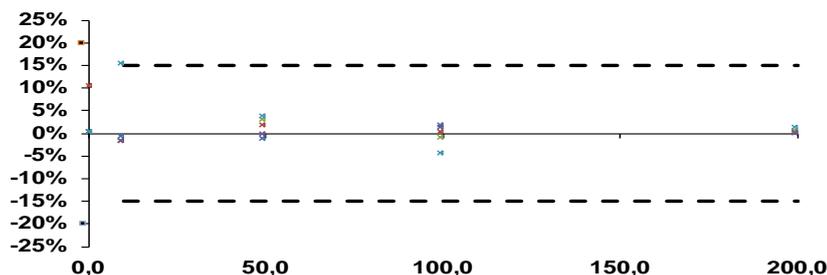
Etude de la fonction d'étalonnage de la méthode d'analyse avec un test d'adéquation

Sources de variation	Sommes des carrés d'écarts	Degrés de liberté	Variance	Critère calculé	Valeur critique au risque alpha = 1%
Modèle	5,01	5	1,00	0,56	4,10
Expérimentale	35,98	20	1,80		
Totale	40,99	25			

Etude de la fonction d'étalonnage de la méthode d'analyse avec des EMAétalonnage

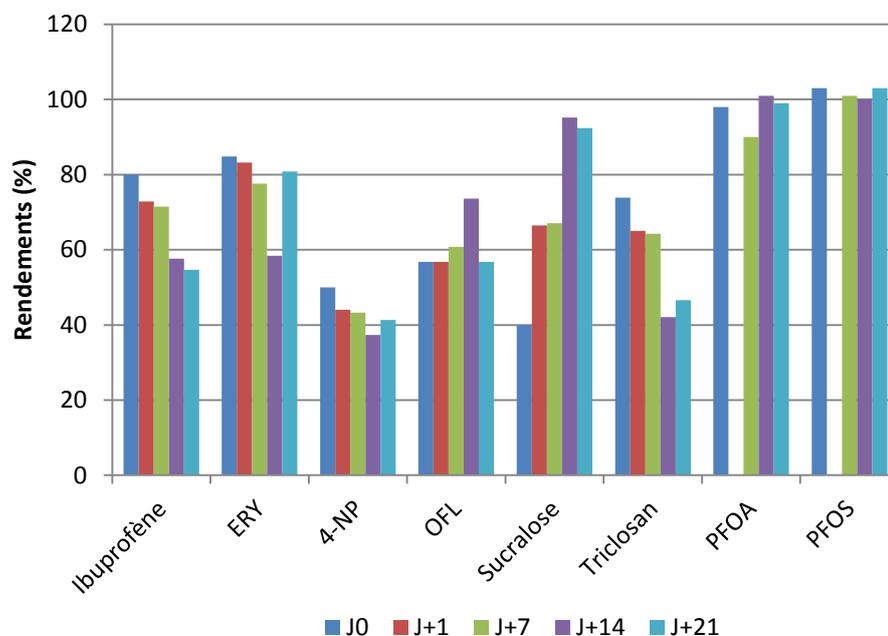
EMAétalonnage 20% pour l'étalon situé à la LQ  
 EMAétalonnage 15% pour les autres étalons de l'étalonnage

Répartition des résidus en %



## ANNEXE 10 : Tests de stabilité des composés cibles.

Nous avons choisi de vérifier la stabilité des échantillons dans les conditions de stockage les plus simples au laboratoire, c'est à dire une conservation au réfrigérateur (4°C) de l'eau usée et des extraits. Nous avons testé la stabilité des molécules dans l'eau usée après 1 jour, 7 jours, 14 jours et 21 jours de stockage (rendements présentés sur la figure ci-dessous). Tous les extraits ont été analysés en même temps, le 22<sup>ème</sup> jour.



Nous avons observé que :

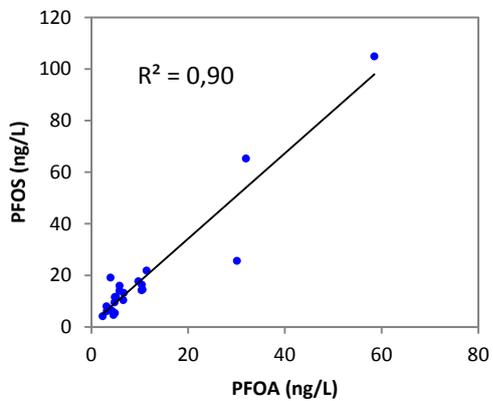
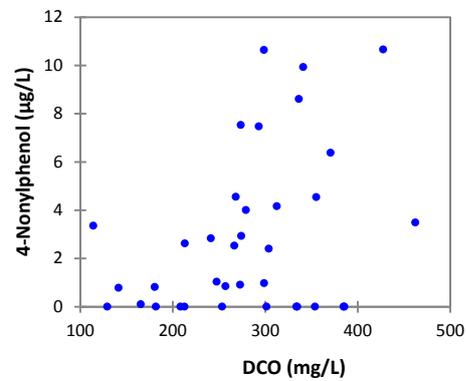
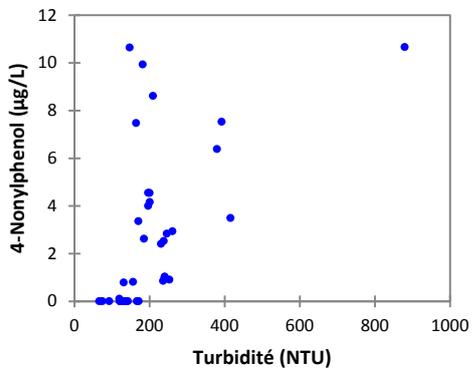
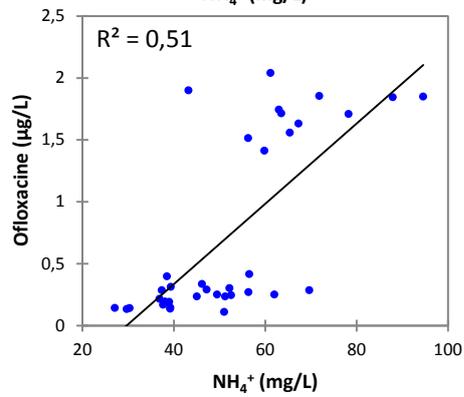
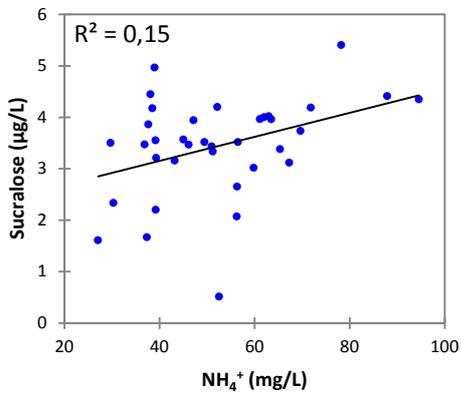
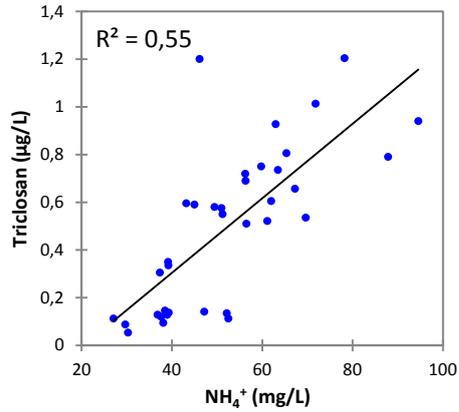
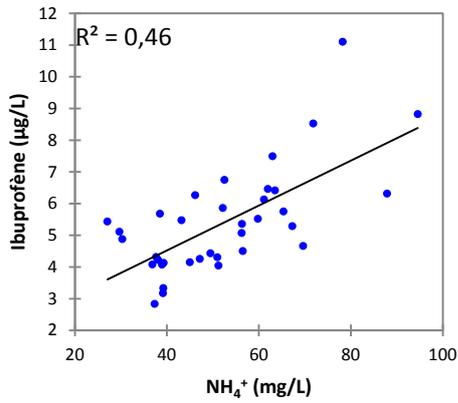
- Erythromycine, ofloxacine, PFOA et PFOS sont stables dans l'eau usée et dans l'extrait (eau/ACN, 90 : 10).
- Ibuprofène, 4-NP, et triclosan disparaissent (dégradation/adsorption ?) dans l'eau usée et restent stables dans l'extrait.
- Le sucralose est stable dans l'eau usée (rendement supérieurs à 90 % à J+14 et J+21). Il semble cependant être éliminé dans le vial (adsorption ?). Il est donc nécessaire d'effectuer l'analyse du sucralose dans les 7 jours.

Suite à ces essais, il a été choisi pour la méthode multi-résidus :

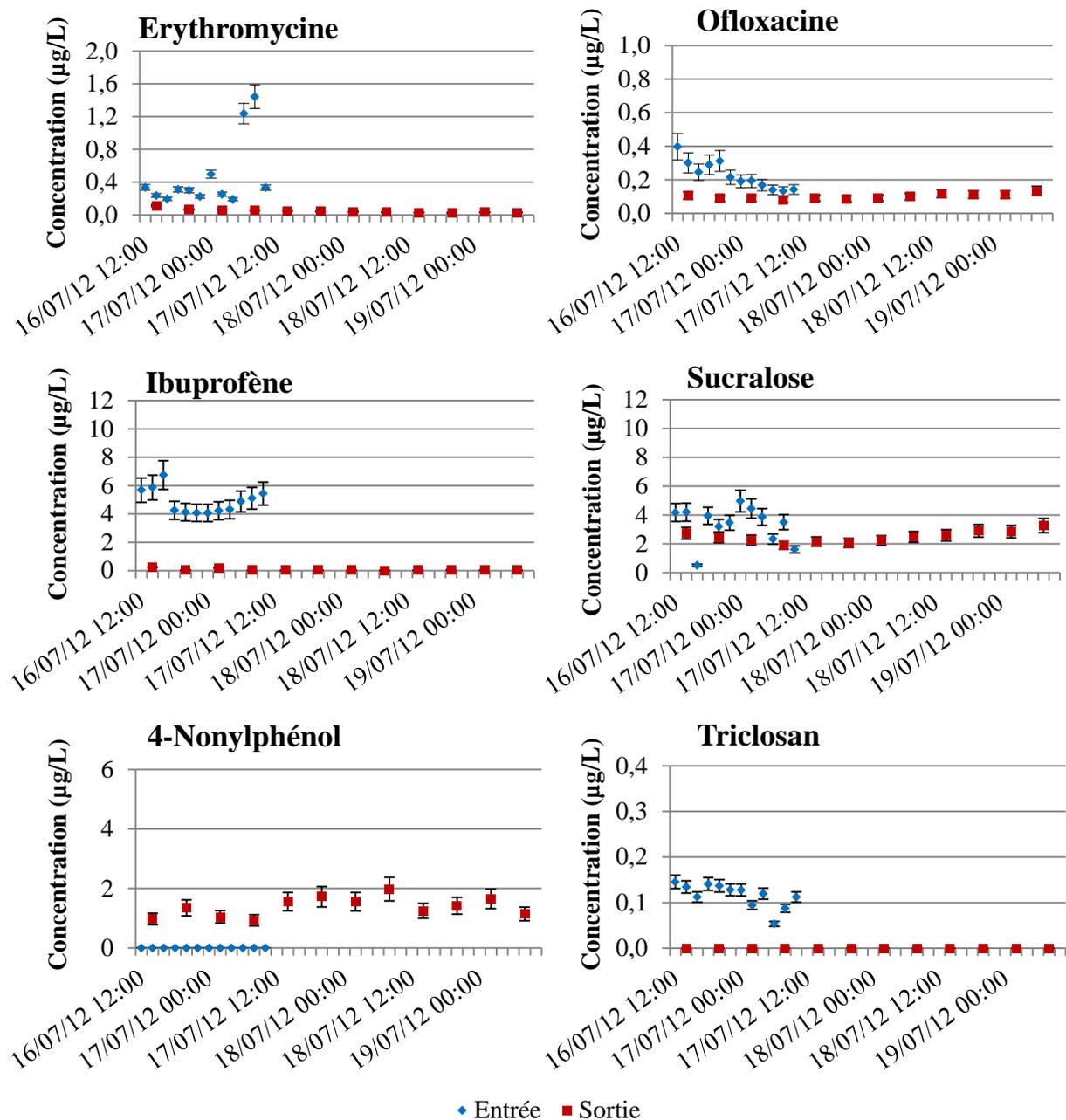
- d'ajouter les étalons internes aux échantillons immédiatement après leur réception et filtration
- d'effectuer les extractions dans les 24 heures
- d'effectuer les analyses dans les 48 heures

Les PFC étant très stables, les extractions de PFOA et PFOS ont été réalisées dans les 5 jours et les analyses dans les 15 jours.

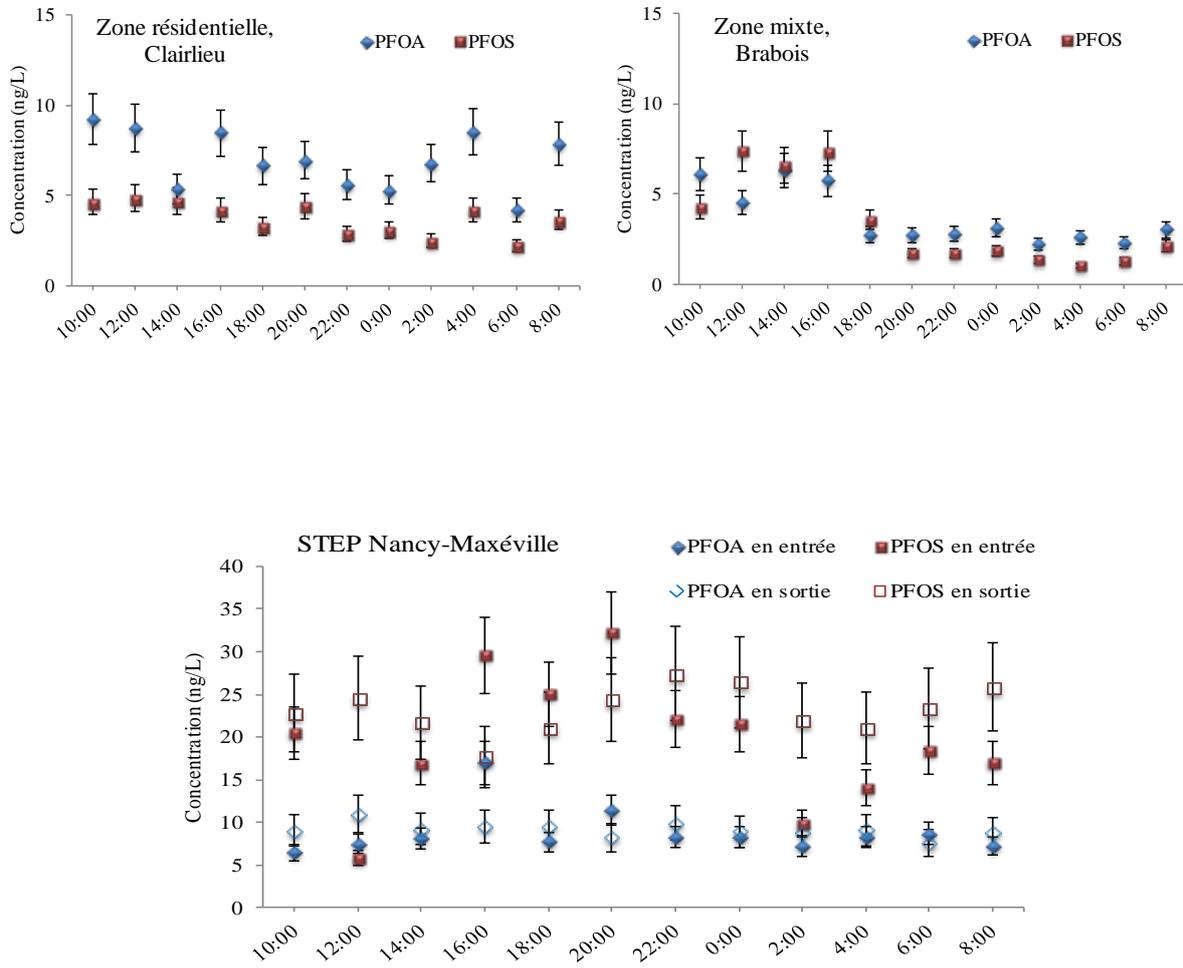
**ANNEXE 11 : Représentation par diagrammes binaires des corrélations observées par l'ACP de la micro et de la macropollution mesurées en entrée de la STEP de Pont-à-Mousson.**



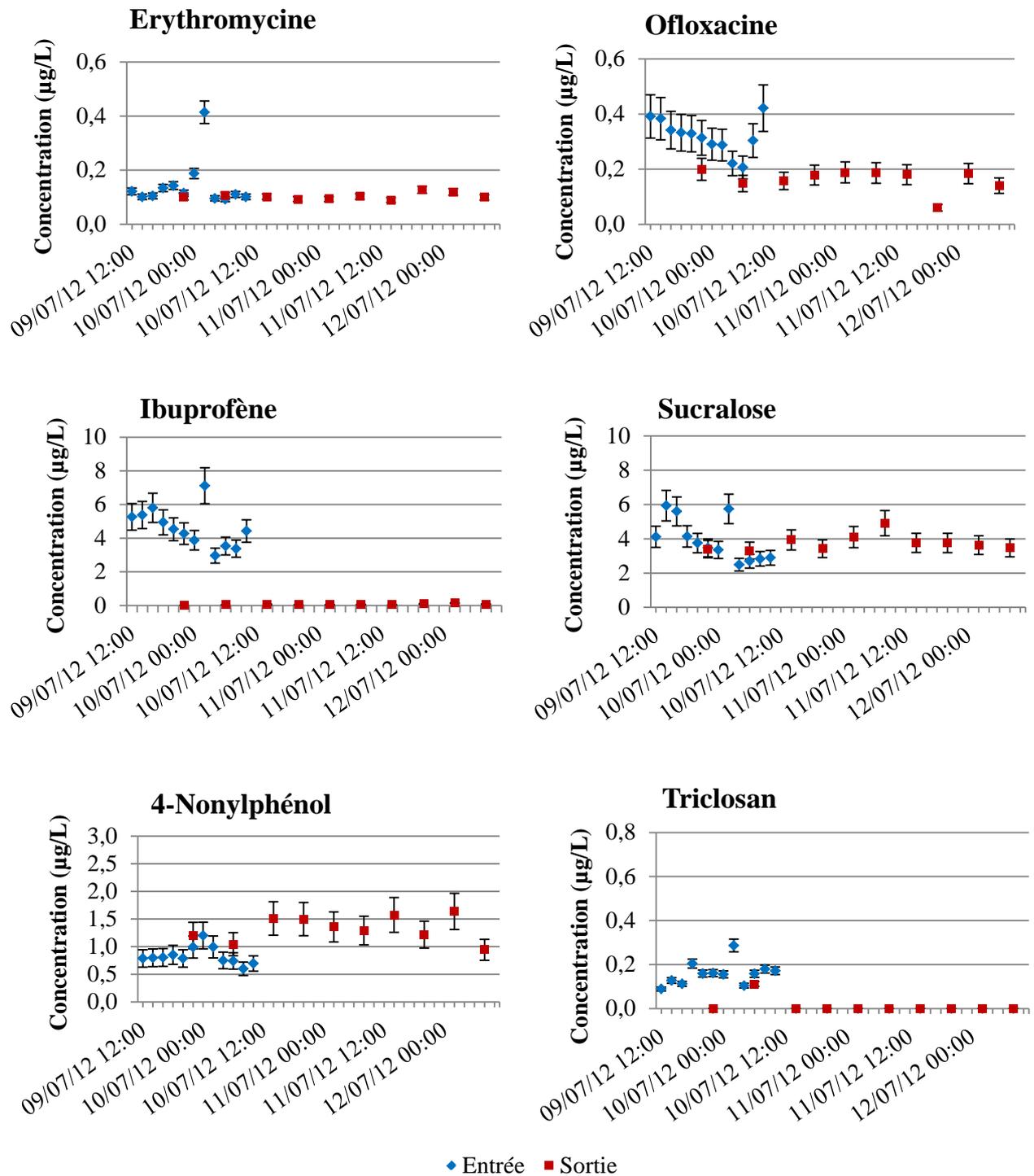
**ANNEXE 12 : Mesure des concentrations des six micropolluants en entrée (24 h) et en sortie (72 h) de la STEP de Pont-à-Mousson lors de la campagne d'été 2012.**



**ANNEXE 13 : Mesure des concentrations en PFOA et PFOS durant 24 h à Nancy (égouts et STEP) lors de la campagne d'été 2010.**



**ANNEXE 14 : Mesure des concentrations des six micropolluants en entrée (24 h) et en sortie (72 h) de la STEP de Nancy-Maxéville lors de la campagne d'été 2012.**



**ANNEXE 15 :** Paramètres classiques (DCO, ammonium, matières en suspension) mesurés par les opérateurs en entrée et sortie des deux STEP étudiées, avant et après les dates de **nos campagnes de prélèvement** (marquées par \*).

**STATION D'EPURATION DE PONT-A-MOUSSON**

Été 2011	Entrée			Sortie		
	DCO (mg/L)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	MES (mg/L)	DCO (mg/L)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	MES (mg/L)
09/03/2011	255	35	160	16	7,0	3,0
16/03/2011	385		150	41		4,0
23/03/2011	505	43	190	32	3,3	3,0
* 29/03/2011	590		240	7,5		4,4
07/04/2011	550	42	230	36	6,7	4,8
12/04/2011	555		190	58		17,0
20/04/2011	450	51	180	38	2,5	17,0

Hiver 2011	Entrée			Sortie		
	DCO (mg/L)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	MES (mg/L)	DCO (mg/L)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	MES (mg/L)
03/11/2011	355	40	140	31	13,0	5,2
09/11/2011	590		290	30		3,2
* 14/11/2011						
23/11/2011	580	63	400	39	8,8	12,0
28/11/2011	510	51	210	36	4,7	4,4

Été 2012	Entrée			Sortie		
	DCO (mg/L)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	MES (mg/L)	DCO (mg/L)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	MES (mg/L)
06/07/2012	185		180	8		1,0
11/07/2012	375	37	120	20	0,7	3,0
* 16/07/2012						
20/07/2012	295		120	8		2,0
26/07/2012	430	41	150	23	1,3	3,0

### STATION D'EPURATION DE NANCY-MAXEVILLE

Été 2010	Entrée			Sortie		
	DCO (mg/L)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	MES (mg/L)	DCO (mg/L)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	MES (mg/L)
23/06/2010	585	25,9	316	44	18,5	7,2
24/06/2010	561	26,8	220	47	21,2	8,0
25/06/2010	388	25,7	266	35	23,9	8,5
26/06/2010	448	26,8	252	35	22,1	6,2
27/06/2010	417	26,3	242	37	27,2	11,8
28/06/2010	441	25,5	200	38	25,1	7,4
29/06/2010	396	25,8	230	36	28,0	7,2
* 30/06/2010	655	27,9	272	48	19,6	9,0
01/07/2010	476	25,9	206	39	19,6	5,0
02/07/2010	381	26,7	190	33	16,7	2,8
03/07/2010	350	23,7	164	34	15,4	3,6
04/07/2010	284	24,3	176	36	15,7	2,6
05/07/2010	515	26,7	239	28	15,5	3,6
06/07/2010	602	22,3	235	31	16,5	4,4
07/07/2010	516	26,0	254	29	16,2	8,4

Été 2011	Entrée			Sortie		
	DCO (mg/L)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	MES (mg/L)	DCO (mg/L)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	MES (mg/L)
20/06/2011	512	30,7	237	36	6,3	6,2
21/06/2011	493	26,6	186	32	7,3	8,6
22/06/2011	361	16,6	236	29	3,1	6,4
23/06/2011	344	16,7	249	19	1,5	7,2
24/06/2011	351	32,6	163	12	1,9	2,0
25/06/2011	371	35,1	174	18	2,9	2,3
26/06/2011	371	35,1	174	33	2,6	6,2
* 27/06/2011	390	31,4	200	40	3,5	6,4
28/06/2011	425	29,0	164	32	5,0	4,4
29/06/2011	307	20,7	180	37	4,5	7,0
30/06/2011	374	32,8	214	36	5,2	6,2
01/07/2011	509	31,6	190	22	5,1	2,4
02/07/2011	493	32,0	196	24	4,9	2,2
03/07/2011	412	34,1	180	17	4,2	2,0
04/07/2011	505	31,6	174	40	5,9	6,2

**STATION D'EPURATION DE NANCY-MAXEVILLE**

Hiver 2011	Entrée			Sortie		
	DCO (mg/L)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	MES (mg/L)	DCO (mg/L)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	MES (mg/L)
17/10/2011	522	38,0	229	28	14,7	6,2
18/10/2011	486	21,7	243	25	17,0	7,2
19/10/2011	311	13,4	161	29	7,9	6,8
20/10/2011	344	24,7	204	29	9,5	3,8
21/10/2011	270	27,7	170	24	12,9	4,0
22/10/2011	260	29,1	116	20	13,5	4,0
23/10/2011	407	30,7	180	26	12,5	4,2
* 24/10/2011	395	32,3	244	22	10,7	5,4
25/10/2011	286	15,9	152	39	7,0	9,8
26/10/2011	422	26,8	186	19	5,5	3,2
27/10/2011	439	33,6	240	20	7,6	4,0
28/10/2011	476	33,4	216	12	8,3	5,6
29/10/2011	447	32,6	182	11	8,5	2,0
30/10/2011	748	41,3	353	17	10,8	6,6
31/10/2011	630	35,5	394	22	12,3	4,0

Été 2012	Entrée			Sortie		
	DCO (mg/L)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	MES (mg/L)	DCO (mg/L)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	MES (mg/L)
02/07/2012	223	23,0	129	33,6	3,4	5,9
03/07/2012	305	24,1	165	17,0	3,0	6,0
04/07/2012	315	26,9	174	21,0	2,2	4,0
05/07/2012	420	19,0	306	37,0	3,0	9,6
06/07/2012	340	26,0	204	13,0	1,4	3,6
07/07/2012	281	25,8	200	13,0	1,5	4,8
08/07/2012	292	18,7	126	18,0	1,0	7,4
* 09/07/2012	274	29,1	139	22,0	0,3	4,6
10/07/2012	298	28,2	162	25,0	1,0	4,8
11/07/2012	420	24,3	272	29,0	3,0	5,8
12/07/2012	327	19,6	148	37,3	2,2	6,4
13/07/2012	218	9,8	162	11,3	1,7	5,6
14/07/2012	128	10,8	74	9,6	0,8	6,7
15/07/2012	129	13,6	96	20,0	0,5	2,0
16/07/2012	273	20,5	115	31,0	0,8	6,6



## Résumé

### **Micropolluants issus de l'activité domestique dans les eaux urbaines et leur devenir en station d'épuration.**

Ce travail a permis d'acquérir de nouvelles connaissances sur la micropollution issue de l'activité domestique. Un état des lieux a été réalisé sur la présence de certains micropolluants dans les eaux usées (dans les phases liquide et solide) de deux zones urbaines, résidentielle et mixte (habitats, hôpital, administrations), et dans deux stations d'épuration (STEP) biologiques. Les micropolluants étudiés ont été choisis selon leurs usages et en fonction de leurs propriétés physico-chimiques afin de mieux appréhender leur répartition entre les phases liquides et solides.

Dans un premier temps, les méthodes d'extraction et d'analyse des micropolluants dans les matrices liquides (eau usée et eau traitée) et solides (matières en suspension et boue) ont été développées et validées.

Les prélèvements d'eaux usées dans les égouts des deux zones urbaines ont mis en évidence différents usages de certains composés en fonction de la zone urbaine et de la saison (été ou hiver).

Les mesures des concentrations en micropolluants en entrée et en sortie de STEP dans les eaux et les boues ont permis d'évaluer leurs rendements d'élimination et ont révélé une différence d'efficacité entre les deux STEP biologiques. Une étude statistique a montré qu'il existe des corrélations entre les concentrations en micropolluants et en macropolluants (DCO, ammonium, et turbidité) en entrée et en sortie de chacune des STEP étudiées.

L'effet des micropolluants sur l'activité bactérienne a été examiné en conditions de laboratoire par des tests de toxicité sur *Escherichia coli* et par des expériences sur la biomasse de STEP en réacteur batch.

**Mots clés :** micropolluants domestiques, eau usée, station d'épuration, biodégradation, adsorption, activité bactérienne.

## Abstract

### **Occurrence of some household micropollutants in urban wastewater and their fate in wastewater treatment plant.**

This work allowed to acquire new knowledge on micropollution issued from household activities. The occurrence of some micropollutants in urban wastewater (liquid and solid phases) of two urban areas, residential and mixed (houses, hospital, administrations), and in two biological wastewater treatment plants (WWTPs) was assessed. The studied micropollutants were chosen according to use and as function of their physical and chemical properties in order to consider their partitioning between liquid and solid phases.

Firstly, the methods for the extraction and the analysis of micropollutants in liquid and solid matrices (wastewater and treated water, suspended matter and sludge) were developed and validated.

Wastewater sampling in the sewers of the two urban catchments showed some differences of the use of certain compounds according to the catchment and to the season (summer or winter).

Measurements of micropollutant concentrations at the inlet and outlet of the plants, on water and sludge, allowed to assess their removal yields and revealed a difference of efficiency of the two biological WWTPs. A statistical treatment showed that there are some correlations between concentrations of micro and macropollutants (COD, ammonium and turbidity) at the inlet and at the outlet of each studied WWTPs.

The effect of the target micropollutants on bacterial activity was evaluated under laboratory conditions, by toxicity tests on *Escherichia coli*, and by experiments on biological sludge in batch reactors.

**Keywords:** household micropollutants, wastewater, wastewater treatment plant, biodegradation, adsorption, bacterial activity.