

# Intérêt de la mesure biologique dans le suivi des performances de traitement des polluants « émergents » en eaux résiduaires municipales

■ D. DU PASQUIER<sup>1</sup>, G. LEMKINE<sup>1</sup>, K. MEYNEROL<sup>1</sup>, P. SAUVIGNET<sup>2</sup>, J. BORSATO<sup>3</sup>, A. GONCALVES<sup>4</sup>, V. ROCHER<sup>4</sup>

**Mots-clés :** micropolluants, perturbateurs endocriniens, mesure en ligne, tests biologiques, charbon en poudre activé, Actiflo Carb

**Keywords:** micro-pollutants, endocrine disrupters, on-line monitoring, bio-indicators, powdered activated carbon, Actiflo Carb

## Introduction

Les eaux usées municipales contiennent une quantité importante de micropolluants, dont un grand nombre présente des effets perturbateurs endocriniens [KUSK, 2011]. Le traitement biologique utilisé par les stations d'épuration permet d'abattre efficacement les concentrations de la majorité de ces molécules, mais son efficacité n'est pas totale et diffère selon les substances. Le pourcentage d'élimination, généralement compris entre 30 et 100 %, dépend des procédés intégrés dans la filière de traitement, mais surtout des propriétés physico-chimiques des molécules, et en particulier de leur hydrophobicité, de leur biodégradabilité et de leur volatilité [PETRIE, 2014 ; MAILLER, 2015 ; ROCHER, 2011]. Certaines molécules étant présentes dans les eaux usées à des concentrations supérieures au microgramme par litre, la conséquence est le rejet en sortie de station d'épuration d'eaux usées traitées encore contaminées par des molécules organiques. Ainsi, des effluents de stations d'épuration ayant encore un potentiel de perturbation endocrinienne sont rejetés dans le milieu naturel [KUSK, 2011]. Les normes de rejets ne sont pas encore clairement établies pour les composés organiques ayant une action endocrinienne, mais la

prise de conscience actuelle de l'importance du problème posé par ces molécules rend leur élimination critique avant rejet. Cette élimination nécessitera vraisemblablement une configuration impliquant un traitement tertiaire, voire quaternaire. Le contrôle du bon fonctionnement et l'optimisation de ces systèmes de traitement nécessitent de leur associer des indicateurs qui permettent de contrôler la qualité d'eau traitée vis-à-vis de ces substances. Le nombre de molécules différentes potentiellement impliquées, ainsi que la difficulté de prédire l'effet d'un mélange de plusieurs dizaines de molécules ayant des activités endocriniennes, rendent très complexes les approches basées sur la chimie analytique.

Les indicateurs basés sur le vivant (bio-indicateurs) peuvent remplir cette fonction grâce à leur capacité à fournir un résultat intégrant l'action de toutes les molécules présentes sous forme de mélange (effet « cocktail »). Pour rendre possible, et réaliste, la mise en place de bio-indicateurs sur le terrain, les méthodes utilisées doivent être sélectionnées par rapport à leur sensibilité, à leur fiabilité, à leur robustesse, à leur facilité de mise en œuvre et à leur temps de réponse vis-à-vis d'une contamination. Les modèles WatchFrog répondent à ce cahier des charges. Ces tests sont fondés sur l'utilisation de larves de poissons ou d'amphibiens qui « s'allument » (émission de fluorescence) quand une fonction biologique est modifiée. Les modèles utilisés dans cette étude détectent les perturbateurs endocriniens. La fluorescence des

<sup>1</sup> WatchFrog SA - 1, rue Pierre-Fontaine - 91000 Évry.

<sup>2</sup> Direction technique et performance - Veolia environnement SA - 1, rue Giovanni-Battista-Pirelli - 94410 Saint-Maurice.

<sup>3</sup> OTV LMP - 1, place Montgolfier - 94417 Saint-Maurice cedex.

<sup>4</sup> SIAAP - DDP - 82, avenue Kléber - 92700 Colombes.

larves augmente ou diminue lorsque des molécules présentes dans l'échantillon modifient le fonctionnement d'un axe endocrinien. Cette mesure est quantitative, plus l'effet endocrinien est important, plus la variation de fluorescence est importante [FINI, 2007]. Ces bio-indicateurs ont déjà été utilisés par de nombreuses stations d'épuration pour caractériser l'impact de leur rejet en matière de perturbation endocrinienne. Leur utilisation a permis notamment de montrer une présence dynamique de perturbateurs endocriniens sur certaines stations d'épuration [CASTILLO, 2013]. Jusqu'à alors, ces tests *in vivo* étaient réalisés au laboratoire et sur des prélèvements ponctuels. L'utilisation de ces tests en laboratoire fait d'ailleurs l'objet d'une norme expérimentale Afnor (XP T90-716-1 et XP T90-716-2). La petite taille et la robustesse de ces bio-indicateurs rendent possible une automatisation des équipements de lecture afin de pouvoir être utilisés en ligne (au fil de l'eau). Un instrument, la FrogBox, permettant d'exposer en continu les larves à un échantillon et de quantifier à intervalles réguliers leur émission de fluorescence a été développé [FINI, 2009]. La FrogBox offre ainsi la possibilité d'automatiser l'exposition à l'échantillon et la lecture des résultats *in vivo* sur site pour détecter un effet de perturbation des fonctions endocrines.

Dans ce contexte, le Syndicat interdépartemental pour l'assainissement de l'agglomération parisienne (Siaap), en partenariat avec Veolia et WatchFrog, a testé l'efficacité de l'association d'un procédé de traitement tertiaire : le procédé Actiflo Carb (Veolia Eau) avec des mesures de l'effet endocrinien par la FrogBox. Ce procédé de décantation tertiaire utilise la capacité de sorption d'un charbon actif – charbon actif en poudre (CAP), NORIT – vis-à-vis des micropolluants, ces derniers étant éliminés avec le charbon actif extrait. Il peut être éventuellement assisté d'une oxydation chimique à l'ozone injecté au sein du réacteur CAP. Les essais ont été effectués sur une unité mobile Actiflo Carb, d'une capacité de traitement de 50 à 100 m<sup>3</sup>/h, installée sur le site de traitement des eaux résiduaires urbaines de Seine Aval (Achères, Yvelines, capacité de traitement : 1,7 million de m<sup>3</sup>/jour – 6 millions d'équivalent-habitant) en sortie de traitement biologique (biofiltration). Cette étude a été réalisée d'avril à octobre 2013. Elle fait

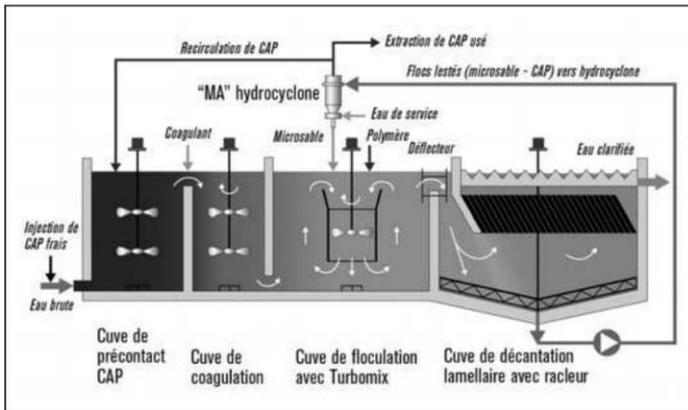
partie d'une étude plus globale qui avait pour principal objectif de tester la capacité du procédé à éliminer les micro et macropolluants pour définir les facteurs clés de l'exploitation et du dimensionnement de l'Actiflo Carb.

L'approche expérimentale a consisté à effectuer des mesures de la perturbation endocrinienne à l'aide de deux FrogBox placées en entrée et en sortie de l'unité de traitement Actiflo Carb pendant plusieurs mois. Deux types de perturbations endocriniennes ont été ciblés : les perturbations thyroïdiennes et œstrogéniques. Parallèlement à ces mesures, des campagnes hebdomadaires d'analyses chimiques ciblées ont été effectuées sur une centaine de micropolluants.

## 1. Matériel et méthodes

### 1.1. Descriptif du procédé de traitement tertiaire Actiflo Carb (Veolia)

Le procédé Actiflo est connu pour sa compacité parce qu'il fait appel à la technique des floccs lestés qui permet d'atteindre des vitesses de décantation élevées par rapport aux décanteurs lamellaires traditionnels. Le procédé Actiflo Carb associe les performances de floculation rapide de l'Actiflo avec les capacités d'adsorption du charbon actif en poudre (CAP). Les propriétés absorbantes du CAP offrent une solution efficace pour l'abatement des micropolluants en sortie de station en concentrant la pollution dans les boues. À son arrivée dans l'unité Actiflo Carb, l'eau traverse dans un premier temps une cuve de précontact où le CAP est à la fois injecté (CAP neuf) et recirculé (*figure 1*). Ce temps de contact (5 à 10 minutes environ) permet l'adsorption des micropolluants et des matières organiques. La cuve de coagulation est équipée d'un agitateur rapide permettant la mise en contact (environ 3 minutes) avec le coagulant avant le passage dans la cuve de floculation. C'est dans cette cuve de floculation qu'est injecté le polymère permettant la création des floccs ainsi que le microsable permettant de lester ces floccs. Le temps de séjour dans cette cuve est d'environ 6 minutes avant le passage dans la dernière zone de décantation. La phase décantation profite de la technologie Actiflo intégrant la présence de microsable au sein des floccs pour obtenir une vitesse de décantation élevée (jusqu'à 60-70 m/h). La boue décantée contient du



CAP : charbon actif en poudre.

Figure 1. Schéma de principe de l'Actiflo Carb

microsable et du charbon actif. Elle est recirculée vers un hydrocyclone pour récupérer le microsable en sous-verse et le réinjecter. La surverse est composée de boue et de charbon actif. Ce mélange va transiter par un bac qui aura pour fonction de réguler la purge d'une faible quantité de charbon actif, l'autre partie étant recirculée vers la cuve de précontact. La purge de CAP et donc l'apport de CAP neuf représentent 5 à 20 g/m<sup>3</sup> d'eau traitée.

## 1.2. Suivi de la perturbation endocrinienne

L'évaluation du niveau de perturbation endocrinienne est basée sur l'utilisation de petits organismes modèles aquatiques : têtards de l'amphibien Xénope et alevins du poisson Médaka. À ces organismes sont associés des marqueurs génétiques qui leur permettent d'être fluorescents lorsqu'ils sont en contact avec des molécules modifiant le fonctionnement des axes hormonaux [TSM, 2009, 2010, 2013]. Pour préciser le niveau de contamination de l'échantillon, la fluorescence des larves induite par l'échantillon d'eau à tester est comparée à celle de témoins négatifs (eau minérale) et positifs (eau dopée avec des hormones de référence). Les valeurs de fluorescence obtenues pour les témoins négatifs correspondent à une activité biologique naturelle normale des organismes vivants et ne sont pas le témoin d'une quelconque perturbation. Les valeurs de fluorescence obtenues pour les témoins positifs définissent le seuil de perturbation endocrinienne. Lorsque l'intensité de fluorescence induite par un échantillon est supérieure à ce seuil, il est probable qu'une exposition à cet échantillon entraîne des effets physiologiques nocifs

observables. La concentration de tri-iodothyronine (hormone thyroïdienne T3) utilisée pour le témoin positif du test thyroïdien est de 3,25 µg/L. Elle correspond à une dose physiologique trouvée dans le plasma des têtards lors de leur métamorphose, à l'état naturel [LELOUP, 1977]. Elle est décrite dans la littérature comme étant capable de provoquer des effets physiologiques nocifs observables : une accélération de la vitesse de métamorphose du xénope qui entraîne la mort des têtards s'ils y sont exposés à des stades non métamorphiques [YUN-BO SHI, 1998]. Pour le témoin positif du test œstrogénique, la concentration d'éthinylestradiol utilisée est de 488 ng/L. Elle est décrite dans la littérature comme étant capable de modifier la reproduction des poissons [SEKI, 2002].

Pour effectuer les mesures de perturbations endocriniennes en continu, deux FrogBox ont été alimentées à un débit de 100 mL/minute avec de l'eau avant et après traitement par l'Actiflo Carb. Avant d'être mise en contact avec les larves, l'eau a été préalablement filtrée (300 micromètres) et chauffée à 21 °C pour les têtards ou 26 °C pour les alevins. Les larves ont été exposées à l'échantillon en flux continu pendant 6 heures par jour avec une quantification de la fluorescence toutes les heures. La fluorescence des groupes témoins a été quantifiée quotidiennement en début et fin de journée. Chaque groupe expérimental est composé de 50 larves qui sont utilisées pendant 1 semaine.

Les tests d'évaluation de la perturbation endocrinienne en laboratoire ont été décrits précédemment ([CASTILLO 2013], normes Afnor XP T90-716-1 et XP T90-716-2).

## 1.3. Suivi analytique

Outre les paramètres de qualité générale (pollution carbonée [matière organique oxydable], azotée [azote réduit, nitrates, nitrites] et phosphorée [phosphore total, orthophosphates]), un panel d'environ 130 micropolluants, comprenant un grand nombre de résidus médicamenteux, mais également les principaux polluants prioritaires de la DCE, a été étudié. Au total, 20 campagnes d'analyses complètes ont été réalisées en entrée et en sortie de l'unité de traitement durant la période allant de mai à octobre 2013.

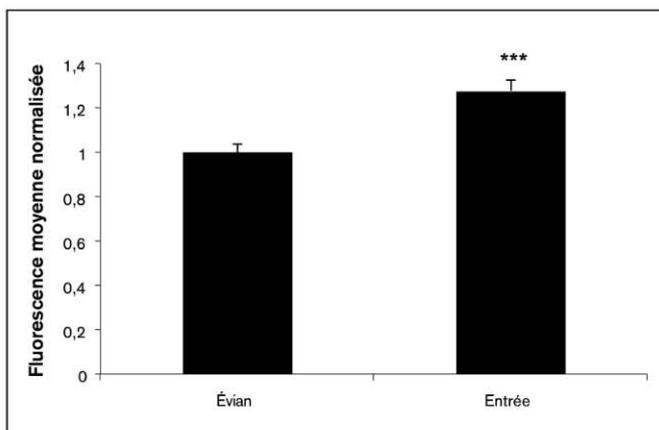
## 2. Résultats et discussion

### 2.1. Caractérisation du potentiel endocrinien en rejet de Step

Au cours de cette étude, deux types d'analyses biologiques de la perturbation endocrinienne ont été effectués : des analyses ponctuelles en laboratoire et des analyses en continu utilisant des FrogBox placées en amont et en aval du pilote de traitement tertiaire.

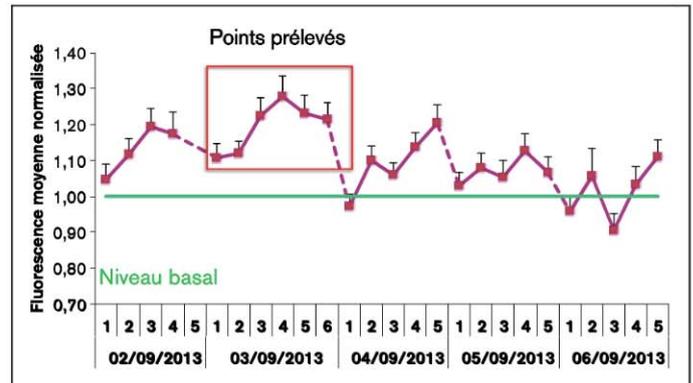
Les analyses en laboratoire ont été effectuées sur des échantillons composites correspondant au mélange de six prélèvements ponctuels réalisés à 1 heure d'intervalle. Ces prélèvements ont été réalisés aux moments où la fluorescence des larves est quantifiée par les FrogBox. La *figure 2* montre un résultat représentatif de l'analyse du potentiel de perturbation thyroïdienne d'un échantillon composite prélevé le lundi 9 septembre 2013. L'échantillon d'entrée induit une fluorescence moyenne des têtards 27 % plus élevée que celle des larves exposées à de l'eau d'Évian. Ce résultat montre que l'échantillon d'entrée présente un potentiel prothyroïdien. Cet effet a été retrouvé dans la majorité des échantillons ponctuels testés au laboratoire.

Chaque colonne représente la moyenne de fluorescence de 20 larves exposées pendant 72 h à l'échantillon, la barre d'erreur indique l'écart à la moyenne (SEM). Le groupe Évian et le groupe échantillon ont reçu un dopage avec 3,25 mg/L de T3.



\*\*\*Test statistique t-test :  $p < 0,001$ .

**Figure 2. Détection d'un effet prothyroïdien dans un échantillon composite en entrée du système de traitement Actiflo Carb.** Cas exemplaire du lundi 9 septembre représentatif des différents tests en laboratoire effectués pendant l'étude. L'échantillon est un composite de six prélèvements effectués au moment des lectures FrogBox



**Figure 3. Évolution de la perturbation thyroïdienne mesurée en continu en entrée du système de traitement Actiflo Carb par l'outil FrogBox.** Cas exemplaire de la semaine du 2 au 6 septembre représentatif des différents essais effectués sur toute la durée de l'étude

La *figure 3* représente un résultat de la cinétique de variations du potentiel thyroïdien au cours de la même semaine (semaine du 2 septembre 2013). Ce résultat est représentatif des résultats obtenus pour la majorité des semaines. Le graphique représente, pour chaque point de mesure, la fluorescence moyenne d'un groupe de 50 têtards exposés en continu à l'entrée du traitement tertiaire (courbe rouge) ainsi que le niveau de fluorescence basal obtenu en exposant des larves à de l'eau d'Évian (ligne verte). La fluorescence moyenne des larves est, dans la très grande majorité des cas, supérieure à celle du niveau de base indiquant un effet prothyroïdien de l'entrée du traitement tertiaire. Ce résultat confirme le résultat obtenu en laboratoire. L'effet endocrinien est variable dans le temps. Un effet prothyroïdien important est détecté le 3 septembre, mais cet effet est plus modéré les 5 et 6 septembre. L'effet mesuré est également dynamique au cours d'une même journée. Il est faible pour les deux premiers points de mesure le 3 septembre, augmente au cours de la journée, puis diminue.

Chaque point représente la moyenne de fluorescence de 50 têtards, la barre d'erreur indique l'écart à la moyenne (SEM). La ligne verte indique le niveau de base déterminé en exposant des larves à de l'eau d'Évian. Le rectangle rouge indique les points prélevés pour constituer l'échantillon composite dont l'analyse en laboratoire est présentée en *figure 1*.

L'avantage apporté par l'outil de mesure en continu est ici bien illustré. La détection de ces dynamiques avec des tests effectués en laboratoire aurait nécessité l'analyse d'échantillons correspondants à tous les points de lecture FrogBox. Au total, 25 prélèvements

et tests endocriniens auraient été nécessaires pour apporter autant d'informations que le suivi en continu effectué ici avec la FrogBox. L'existence de cette dynamique de présence des perturbateurs endocriniens démontre ainsi la nécessité des approches utilisant un suivi en continu.

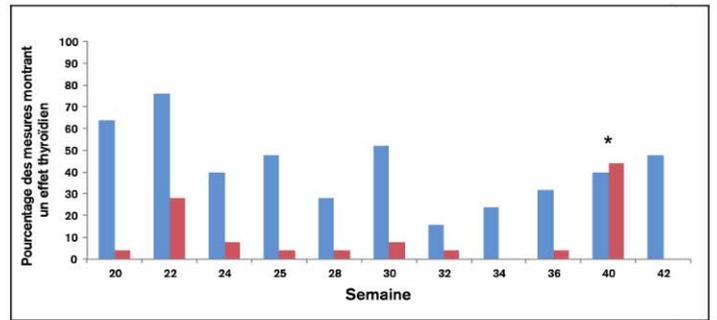
## 2.2. Efficacité du traitement tertiaire pour l'abattement des perturbateurs endocriniens

Nous avons effectué pendant 19 semaines des mesures quotidiennes sur l'entrée et la sortie de l'Actiflo Carb en utilisant la FrogBox. Ces mesures ont été réalisées en utilisant en alternance chaque semaine des têtards, permettant la détection des perturbateurs thyroïdiens, ou des alevins pour la détection des perturbateurs œstrogéniques. Pour l'interprétation des données, il faut noter que seules les variations de fluorescence supérieures à 12 % traduisent une action spécifique des molécules sur les axes endocriniens et sont considérées comme une réponse significative. Les augmentations de la fluorescence inférieures à 12 % peuvent être liées à la variabilité physiologique et ne sont pas spécifiques de l'action de polluants (données WatchFrog).

Le pourcentage des mesures pour lesquelles l'induction de fluorescence dépasse ce seuil de variation physiologique pour l'entrée et la sortie du traitement tertiaire a été déterminé chaque semaine en rapportant leur nombre par semaine au nombre de mesures effectuées (figures 4 et 5).

Les mesures d'effets thyroïdiens ont été réalisées sur 11 semaines. D'une semaine à l'autre, le pourcentage de mesures révélant un potentiel perturbateur présent dans l'eau d'entrée du traitement tertiaire varie de 16 à 76 % des mesures effectuées (barres bleues, figure 4). La fréquence des événements perturbateurs est notablement plus faible la première quinzaine du mois d'août (semaine 32) pendant la période de congés. Inversement, c'est pendant les semaines 20 et 22 (correspondant au mois de mai) que l'échantillon présente un effet thyroïdien avec la plus grande fréquence.

En comparaison, le pourcentage de mesures révélant un potentiel perturbateur présent dans l'eau de sortie du traitement tertiaire varie entre 0 et 28 % (barres rouges, figure 4). Il faut noter toutefois l'exclusion de la semaine 40 pour laquelle une absence d'abattement est constatée qui est à relier avec



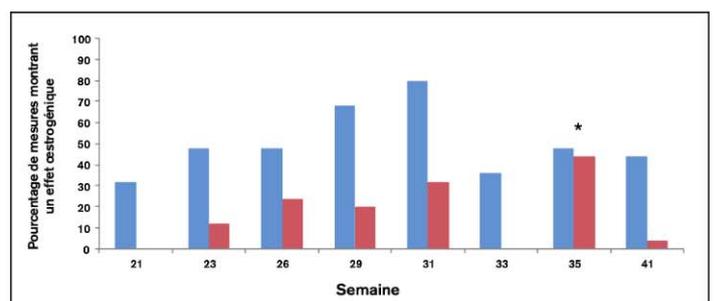
\*Semaine de fonctionnement du pilote en mode volontairement dégradé.

Figure 4. Mise en évidence de l'efficacité de l'Actiflo Carb sur la perturbation thyroïdienne par l'outil FrogBox sur période allant du 16 avril au 23 octobre 2013. Pour chaque semaine, le pourcentage des cas pour lesquels les mesures d'induction de fluorescence montrent un effet thyroïdien est indiqué pour l'entrée (barres bleues) et la sortie de l'Actiflo (barres rouges)

un fonctionnement volontairement dégradé du procédé lors de ces mesures (absence de dosage de réactifs dans le procédé). Ainsi, ce résultat en semaine 40 témoigne de la capacité de l'indicateur biologique à révéler un dysfonctionnement du traitement.

Les mesures des effets œstrogéniques ont été réalisées sur 8 semaines. Le pourcentage de mesures révélant un potentiel perturbateur présent dans l'eau d'entrée du traitement tertiaire varie de 32 à 80 % des mesures effectuées (barres bleues, figure 5). La fréquence des événements perturbateurs est faible pendant la première quinzaine du mois d'août (semaine 33). C'est pendant les semaines 29 et 31 (correspondant au mois de juillet) que l'échantillon présente l'effet œstrogénique le plus important.

Le pourcentage de mesures révélant un potentiel perturbateur présent dans l'eau de sortie du traitement tertiaire varie entre 0 et 32 % (barres rouges, figure 5). L'absence d'événement perturbateur en sortie est constatée les semaines 22 et 33 qui sont celles qui présentaient le pourcentage d'événements perturbateurs le plus faible en entrée. Une absence d'abat-



\*Semaine de fonctionnement du pilote en mode volontairement dégradé.

Figure 5. Mise en évidence de l'efficacité de l'Actiflo Carb sur la perturbation œstrogénique par l'outil FrogBox sur la période allant du 16 avril au 23 octobre 2013

tement est visible la semaine 35 qui est également à relier avec un fonctionnement volontairement dégradé du procédé avec un taux de renouvellement en CAP nul lors de ces mesures. Ainsi, le résultat de la semaine 35 témoigne également de la capacité de l'indicateur biologique à révéler un arrêt, voire même un dysfonctionnement du dosage de CAP au sein du procédé. Pour chaque semaine, le pourcentage des cas pour lesquels les mesures d'induction de fluorescence montrent la détection d'un effet œstrogénique est indiqué pour l'entrée (barres bleues) et la sortie de l'Actiflo (barres rouges).

Le *tableau I* présente une synthèse des mesures FrogBox effectuées sur l'ensemble de l'étude. Au total, 248 mesures ont été effectuées pour l'axe thyroïdien en entrée et en sortie du traitement tertiaire. Ces mesures ont révélé un effet thyroïdien dans 48 % des cas en entrée et 11 % des cas en sortie. Pour l'axe œstrogénique, 175 mesures ont été effectuées avec 58 % de cas montrant un effet endocrinien en entrée et 17 % en sortie. Il est nécessaire de considérer qu'il s'agit de la synthèse statistique tenant compte de l'ensemble des mesures, faites aussi bien avec un taux de renouvellement en CAP fort, moyen, faible, voire nul. Les mesures de fluorescence ont également été comparées avec le seuil de perturbation endocrinienne défini par les témoins positifs. Ce seuil correspond à la fluorescence obtenue avec une dose d'hormone provoquant des effets physiologiques nocifs observables (voir matériel et méthode). Lorsqu'il est dépassé, l'échantillon présente un effet perturbateur endocrinien avéré. Ce niveau n'a été dépassé qu'une fois lors des essais thyroïdiens (semaine 22) et une fois lors des essais œstrogéniques (semaine 26) au cours de cette étude. Dans les deux cas, il s'agissait de mesures en entrée, aucun dépas-

sement de ce seuil n'a été mesuré pour les sorties montrant l'efficacité du traitement tertiaire pour abattre ces pics de pollution.

L'abattement constaté entre le nombre de mesures révélant un effet endocrinien en entrée et en sortie du traitement tertiaire met en évidence l'efficacité de l'Actiflo Carb pour l'élimination des polluants endocriniens, mais aussi de manière plus fine l'impact du taux de CAP en renouvellement dans l'ouvrage de traitement. Les observations de dynamiques d'effets endocriniens, journalières mais aussi saisonnières, en sortie de station d'épuration sont en accord avec les connaissances actuelles sur le comportement des micropolluants. Plusieurs études ont déjà montré l'existence de variations dynamiques de présence de micropolluants au cours de la journée, de la semaine ou de l'année. Ces variations seraient liées aux activités humaines régulières, saisonnières ou occasionnelles [COUTU, 2013 ; ORT, 2014 ; EMKE, 2014].

### 2.3. Relations entre la perturbation endocrinienne et les micropolluants dosés

Des analyses physico-chimiques et chimiques ont été réalisées en parallèle des mesures biologiques. Le choix des molécules a été orienté sur les molécules les plus représentées dans les rejets de stations d'épuration. Néanmoins, la plupart des molécules suivies ont un effet endocrinien supposé ou démontré (*tableau II*).

Des campagnes d'analyses chimiques systématiques ont été effectuées sur un échantillon composite reconstitué à partir de prélèvements effectués conjointement aux six points de lecture FrogBox chaque mardi. Parmi les 109 micropolluants recherchés, 27 ont été détectés dans plus de la moitié des prélèvements (encadrements rouge et orange).

|  | Entrée Actiflo                  |  | Sortie Actiflo                  |  |
|--|---------------------------------|--|---------------------------------|--|
|  | Détection d'effets endocriniens | Dépassement du seuil de perturbation endocrinienne | Détection d'effets endocriniens | Dépassement du seuil de perturbation endocrinienne |
| <b>Axe thyroïdien :<br/>248 mesures</b>  | 119<br>(48 % des mesures)       | 1  | 27<br>(11 % des mesures)        | 0  |
| <b>Axe œstrogénique :<br/>75 mesures</b> | 101<br>(58 % des mesures)       | 1  | 30<br>(17 % des mesures)        | 0  |

Tableau I. Démonstration de l'effet de l'Actiflo Carb sur l'abattement des perturbateurs endocriniens par la FrogBox. Synthèse des tests utilisant l'outil FrogBox démontrant l'efficacité de l'Actiflo sur la perturbation endocrinienne sur la période allant du 16 avril au 23 octobre 2013. Les deux dépassements du seuil de perturbation endocrinienne sont éliminés par le procédé l'Actiflo Carb

| Toujours retrouvées           | Très souvent retrouvées | Retrouvées sporadiquement  |                                 |                     |               |
|-------------------------------|-------------------------|----------------------------|---------------------------------|---------------------|---------------|
| <b>Liste DCE</b>              |                         | <b>Médicaments humains</b> | <b>Médicaments vétérinaires</b> | <b>Hormones</b>     | <b>Divers</b> |
| <b>Naphtalène</b>             | Alachlore*              | Métronidazole              | Florfénicol                     | $\alpha$ œstradiol* | PFOA*         |
| <b>Acénaphthylène</b>         | Atrazine*               | Triméthoprime*             | Sulfanilamide                   | $\beta$ œstradiol*  | PFOS*         |
| <b>Acénaphthène</b>           | Chlorfenvinphos         | Ofloxacin*                 | Dicyclanil                      | Estrone*            |               |
| <b>Fluorène</b>               | Diuron*                 | Sulfaméthoxazole*          | Sulfadiazine                    | Estriol*            |               |
| <b>Phénanthrène</b>           | Isoproturon             | Ciprofloxacine*            | Sulfathiazole*                  | Noréthindrone*      |               |
| <b>Anthracène</b>             | Pentachlorophénol       | Roxithromycine*            | Marbofloxacine                  | Androstènedione*    |               |
| <b>Fluoranthène*</b>          | Simazine*               | Paracétamol                | Ampicilline                     | Gestodène*          |               |
| <b>Pyrène</b>                 | Trifluraline*           | Kétoprofène                | Norfloxacine                    | Testostérone*       |               |
| <b>Benzo[a]anthracène</b>     | HCH alpha*              | Diclofénaç*                | Tétracycline                    | Lévonorgestrel*     |               |
| <b>Chrysène*</b>              | HCH bêta*               | Ibuprofène*                | Oxytétracycline*                | Progestérone*       |               |
| <b>Benzo[b]fluoranthène*</b>  | HCH gamma*              | Naproxène                  | Sulfabenzamide                  |                     |               |
| <b>Benzo[k]fluoranthène*</b>  | HCH delta*              | Acide salicylique          | Danofloxacine                   |                     |               |
| <b>Benzo[a]pyrène*</b>        | Chlorpyrifos*           | Aténolol*                  | Enrofloxacine                   |                     |               |
| <b>Indéno[1,2,3-cd]pyrène</b> | Aldrine*                | Propranolol*               | Orbifloxacine                   |                     |               |
| <b>Dibenzo[a,h]anthracène</b> | Isodrine                | Fénofibrate*               | Difloxacine                     |                     |               |
| <b>Benzo[ghi]pérylène</b>     | Endosulfan alpha*       | Bézafibrate                | Sulfadiméthoxine*               |                     |               |
| <b>1,2,4-trichlorobenzène</b> | Endosulfan bêta*        | Fluvoxamine*               | Chlortétracycline*              |                     |               |
| <b>Hexachlorobutadiène</b>    | Dieldrine*              | Oxazépam*                  | Pénicilline G                   |                     |               |
| <b>Hexachlorobenzène*</b>     | Endrin*                 | Lorazépam*                 | Tylosine tartrate*              |                     |               |
| <b>BPA*</b>                   | DDE pp*                 | Carbamazépine*             | Érythromycine*                  |                     |               |
| <b>Nonylphénol*</b>           | DDD pp*                 | Furosémide*                | Monensin*                       |                     |               |
| <b>4-nonylphénol*</b>         | DDT op*                 | Éconazole*                 | Narasin                         |                     |               |
| <b>Octylphénol*</b>           | DDT pp*                 |                            | Sulfameter                      |                     |               |
| <b>Para-tert-octylphénol*</b> |                         |                            | Sulfadimérazine                 |                     |               |

Code couleur des familles de molécules

|               |                              |               |                         |                  |
|---------------|------------------------------|---------------|-------------------------|------------------|
| Alkylphénols  | Antidépresseur/anxiolytiques | Bêtabloquants | Herbicides/Insecticides | Perfluorés       |
| Analgésiques  | Antiépileptique              | Diurétique    | Hypolémiantes           | Solvants chlorés |
| Antibiotiques | Antifongiques                | HAP           | Hormones                |                  |

\* Molécules ayant un effet endocrinien supposé ou démontré.

DDE : dichlorodiphényl dichloroéthylène ; DDT : dichlorodiphényl trichloroéthane ; HCH : hexachlorocyclohexane ; PFOA : acide perfluorooctanoïque ; PFOS : acide perfluorooctane-sulfonique.

Tableau II. Liste des micropolluants dosés. Sont indiqués les micropolluants retrouvés dans tous les prélèvements analysés (cadres rouges), dans plus de la moitié des échantillons analysés (cadres orange) ou sporadiquement (cadres verts)

La figure 6 représente au cours du temps l'évolution moyenne des concentrations de ces 27 micropolluants le plus souvent retrouvés et la perturbation thyroïdienne mesurée dans l'eau d'entrée du traitement tertiaire.

Pour déterminer l'évolution moyenne des concentrations des micropolluants, la concentration individuelle de chaque micropolluant a été déterminée chaque semaine et a été normalisée sur sa valeur moyenne au cours de l'étude. La moyenne de ces concentrations individuelles normalisées a ensuite été déterminée pour chaque semaine. Cette approche permet d'étudier les variations de concentrations des micropolluants en s'affranchissant des différences de concentrations importantes qui existent entre les différentes molécules (de 4 à 1 000 ng/L). La fluores-

cence moyenne représente la moyenne des six mesures de fluorescence effectuées les mardis.

L'évolution moyenne des concentrations en micropolluants et les variations moyennes de fluorescence présentent des profils de variation similaires au cours de l'étude (courbes bleue et rouge, figure 6). Pour les deux mesures, les valeurs les plus basses sont observées au cours des mois de juin-juillet, puis elles augmentent la seconde moitié du mois d'août. Les évolutions de ces deux indicateurs divergent sur les prélèvements analysés en octobre. La perturbation thyroïdienne diminue légèrement alors que la concentration moyenne en micropolluants diminue beaucoup plus fortement

Ces observations montrent que les effets mesurés avec les FrogBox sont la résultante de variations

de concentrations en micropolluants dosés (ou se comportant comme les micropolluants dosés) et de variations d'autres molécules non recherchées par analyse chimique.

Pour mettre en relation plus précisément les mesures de fluorescence et les dosages de micropolluants, des analyses chimiques et physico-chimiques ont été effectuées sur des échantillons ponctuels prélevés conjointement à une mesure de fluorescence par la FrogBox. Les concentrations en micropolluants trouvées sont alors précisément celles auxquelles sont exposées les larves au moment de la mesure. Quatre échantillons ont été analysés : un pour lequel aucune induction de fluorescence n'a été détectée et trois présentant un effet prothyroïdien avec des inductions de fluorescence de 16, 21 et 23 %. La figure 7 indique la perturbation thyroïdienne, l'absorbance à 254 nm et la somme des concentrations des 27 micropolluants détectés pour les quatre échantillons analysés. On peut observer que, lorsque la concentration en micropolluants augmente, l'absorbance et la fluorescence augmentent conjointement. Une corrélation très significative est observée entre l'effet thyroïdien et la concentration totale des micropolluants dosés ( $Cor = 0,99$  ;  $p = 0,008$ ) ainsi qu'entre l'absorbance et l'effet thyroïdien ( $Cor = 0,95$  ;  $p = 0,04$ ). Si on regroupe les données des expériences présentées dans les figures 6 et 7, une corrélation significative est également observée entre l'effet thyroïdien et les variations moyennes des concentrations en micropolluants ( $Cor = 0,71$  ;  $p = 0,045$ ).

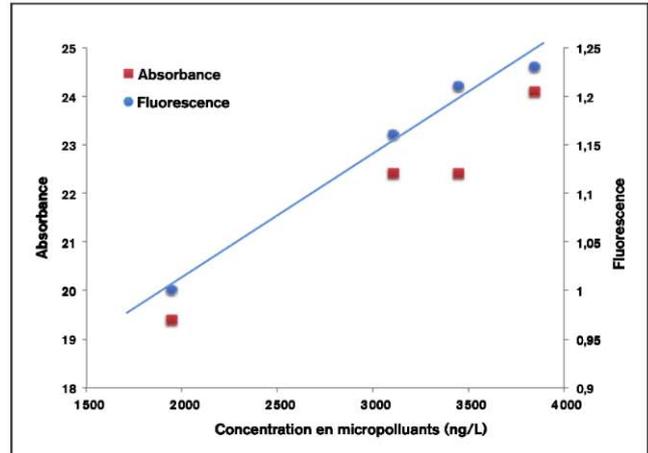


Figure 7. Les variations des effets thyroïdiens corrélient avec celles de la concentration en micropolluants

Le dosage des micropolluants choisis et l'absorbance corrélient donc avec l'effet thyroïdien. Plus les molécules organiques sont présentes en quantité importante, plus l'effet thyroïdien est marqué. Cette observation ne signifie pas que ce sont précisément certaines des molécules dosées qui sont responsables de l'effet thyroïdien et ne permet pas *a fortiori* d'identifier les molécules responsables. L'effet observé est celui du mélange des molécules dosées et non dosées. L'observation suggère que les molécules impliquées dans la perturbation thyroïdienne se comportent comme les molécules dosées et les molécules organiques détectées par l'absorbance en matière de présence dans l'eau brute et d'élimination par les traitements.

## Conclusions

La caractérisation systématique de l'effet endocrinien à l'aide de la FrogBox pendant plusieurs mois a permis de mettre en évidence l'existence de variations dynamiques du potentiel de perturbation endocrinienne au cours des jours, des semaines et des mois de cette étude. Les effets endocriniens les plus faibles ont été observés au cours de la première quinzaine du mois d'août lorsque l'activité économique est très fortement réduite. Les approches biologiques montrent ici tout leur intérêt. L'analyse chimique effectuée indépendamment des tests biologiques n'aurait pas apporté d'informations sur le caractère perturbateur endocrinien de l'eau traitée ni sur sa dynamique. En effet, dans une station d'épuration de cette importance plusieurs milliers de molécules sont présentes à des concentrations détectables et la connaissance de la

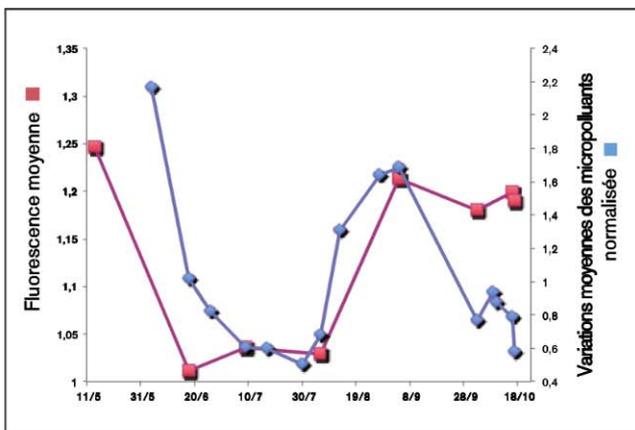


Figure 6. L'évolution de l'effet thyroïdien est liée à celle de la concentration en micropolluants dans les eaux de sortie de la station d'épuration. Sont indiquées les variations moyennes observées des 27 micropolluants le plus souvent retrouvés et de la fluorescence moyenne pour le biomarqueur de la perturbation thyroïdienne en FrogBox

concentration d'une centaine d'entre elles ne permet pas de modéliser l'effet sur les axes endocriniens. Seule l'utilisation de biomarqueurs qui intègrent l'action de toutes les molécules présentes a permis de déterminer quel est l'effet biologique de l'effluent.

La réalisation d'analyses chimiques en parallèle des mesures biologiques a permis de montrer que, sur cette station d'épuration, l'effet thyroïdien mesuré en FrogBox est corrélé à des micropolluants dont les concentrations suivent les mêmes variations que celles des micropolluants dosés et des molécules organiques détectées par l'absorbance. L'effet thyroïdien se comporte donc de manière intégrative de la pollution organique globale.

## Bibliographie

BASTIAN D., MALMS S., PINNEKAMP J. (2013) : *Elimination organischer Spurenstoffe durch den Einsatz des Actiflo Carb in der kommunalen Abwasserreinigung*. Diplom Arbeit Daniel Bastian Univ. Aachen.

CASTILLO L., SERIKI K., MATEOS S., LOIRE N., GUÉDON N., LEMKINE G.F., *et al.* (2013) : « In vivo endocrine disruption assessment of wastewater treatment plant effluents with small organisms ». *Water Sci Technol* ; 68(1) : 261-8.

COUTU S., WYRSCH V., WYNN H.K., ROSSI L., BARRY D.A. (2013) : « Temporal dynamics of antibiotics in wastewater treatment plant influent ». *Sci Total Environ* ; Aug 1 ; 458-460 : 20-6.

EMKE E., EVANS S., KASPRZYK-HORDERN B., DE VOOGT P. (2014) : « Enantiomer profiling of high loads of amphetamine and MDMA in communal sewage: a Dutch perspective ». *Sci Total Environ* ; 15 ; 487 : 666-72.

FINI J.B., LE MEVEL S., TURQUE N., PALMIER K., ZALKO D., CRAVEDI J.P., DEMENEIX B.A. (2007) : « An *in vivo* multiwell-based fluorescent screen for monitoring vertebrate thyroid hormone disruption ». *Environ Sci Technol* ; 41(16) : 5908-14.

FINI J.B., PALLUD-MOTHRÉ S., LE MÉVEL S., PALMIER K., HAVENS C.M., LE BRUN M., *et al.* (2009) : « An innovative continuous flow system for monitoring heavy metal pollution in water using transgenic *Xenopus laevis* tadpoles ». *Environ Sci Technol* ; 43(23) : 8895-900.

GONCALVES A., ROCHER V., ROUSSELOT O., BORSATO J., BOURSAUD L., SAUVIGNET P. (2014) : « Élimination des résidus médicamenteux dans les rejets de station d'épuration - Étude du procédé Actiflo Carb ». *JIE, recueil des conférences*, nov. 2014

KUSK K.O., KRÜGER T., LONG M., TAXVIG C., LYKKESFELDT A.E., FREDERIKSEN H., *et al.* (2011) : « Endocrine potency of wastewater: contents of endocrine disrupting chemicals and effects measured by *in vivo* and *in vitro* assays ». *Environ Toxicol Chem* ; 30(2) : 413-26.

LELOUP J., BUSCAGALIA M. (1977) : « La tri-iodothyronine : Hormone de la métamorphose des amphibiens ». *Academy of Science of the Czech Republic* ; 284 : 2261-2263.

Cette étude démontre également la pertinence de l'outil de mesure en ligne FrogBox pour la caractérisation de l'efficacité du traitement tertiaire. En analysant quotidiennement le potentiel endocrinien de l'eau d'entrée et de sortie de l'Actiflo Carb nous avons pu mettre en évidence son efficacité pour éliminer les molécules responsables des effets endocriniens.

## Remerciements

Les auteurs remercient Perrine Mèche et Céline Briand (Siaap, direction développement et prospective) et Arthur De Saint Hubert (Veolia) pour leur assistance technique à ce projet.

MAILLER R., GASPERI J., ROCHER V., GILBERT-PAWLIK S., GEARA-MATTA D., MOILLERON R., CHEBBO G. (2014) : « Biofiltration vs conventional activated sludge plants: what about priority and emerging pollutants removal? » *Environ Sci Pollut Res Int* ; 21(8) : 5379-90.

ORT C., VAN NUIJS A.L., BERSET J.D., BIJLSMA L., CASTIGLIONI S., COVACI A., *et al.* (2014) : « Spatial differences and temporal changes in illicit drug use in Europe quantified by wastewater analysis ». *Addiction* ; 109(8) : 1338-52.

PETRIE B., BARDEN R., KASPRZYK-HORDERN B. (2014) : « A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring ». *Water Res* ; 72 : 3-27.

ROCHER V., GASPERI J., AZIMI S., GILBERT S., PAFFONI C. (2011) : « Comportement des substances prioritaires sur les ouvrages de traitement des eaux usées. Cas de la décantation lamellaire et de la biofiltration ». *TSM* ; 3 : 20-34.

SAUVIGNET P., GAID K., DU PASQUIER D., LEMKINE G. (2012) : « Les réacteurs à CAP "Multiflo/Actiflo" : la solution pour l'élimination des perturbateurs endocriniens et substances dangereuses ». *L'eau l'industrie les nuisances* ; 353 : 68-75.

SEKI M., YOKOTA H., MATSUBARA H., TSURUDA Y., MAEDA M. (2002) : « Effect of ethinylestradiol on the reproduction and induction of vitellogenin and testis-ova in medaka (*Oryzias latipes*) ». *Environ Toxicol Chem* ; vol. 21, n° 8 : 1692-8.

TSM (2009) : « Dossier Eau et micropolluants : sources - impacts - maîtrise ». *TSM* ; 4 : 16-101.

TSM (2010) : Actualités des entreprises : « Les têtards fluos de Watchfrog pour suivre l'impact des polluants ». *TSM* ; 1/2 : 4-5.

TSM (2013) : Actualités des entreprises : « Veolia et Watchfrog industrialisent des tests biologiques en ligne ». *TSM* ; 11 : 10.

YUN-BO S. (1998) : *Amphibian metamorphosis: from morphology to molecular biology*. New York : Wiley-Liss Publications.

## Résumé

**D. DU PASQUIER, G. LEMKINE, K. MEYNEROL, P. SAUVIGNET, J. BORSATO, A. GONCALVES, V. ROCHER**  
**Intérêt de la mesure biologique dans le suivi des performances de traitement des polluants « émergents » en eaux résiduaires municipales**

Les effluents de stations d'épuration rejetés dans le milieu naturel contiennent des micropolluants ayant encore un potentiel de perturbation endocrinienne. L'élimination des effets de perturbation endocrinienne nécessite une configuration impliquant un traitement tertiaire, voire quaternaire. Le contrôle du bon fonctionnement et l'optimisation de ces systèmes de traitement nécessitent de leur associer des méthodes afin de contrôler la qualité d'eau traitée vis-à-vis de ces substances. Les bio-indicateurs sont actuellement la technique la plus adaptée, car ils permettent de caractériser le potentiel de perturbation endocrinienne d'un échantillon en intégrant les effets de toutes les molécules présentes.

Dans ce contexte, le Syndicat interdépartemental pour l'assainissement de l'agglomération parisienne (Siaap), en partenariat avec Veolia et WatchFrog, a testé l'efficacité de l'association d'un procédé de traitement tertiaire : le procédé Actiflo Carb (Veolia) avec des mesures de l'effet endocrinien par des biomarqueurs. Nous avons utilisé des larves de poissons ou d'amphibiens dont la fluorescence augmente ou diminue lorsque des molécules présentes dans l'échantillon affectent le fonctionnement

d'un axe endocrinien. Un instrument, la FrogBox, permettant d'exposer en continu ces larves et de quantifier à intervalles réguliers leur émission de fluorescence, a été utilisé pour l'exposition aux échantillons et la lecture des résultats sur site. Nous avons effectué pendant plusieurs mois des mesures à l'aide de deux FrogBox placées en entrée et en sortie de l'unité de traitement Actiflo Carb.

Nous avons mis en évidence l'existence de variations dynamiques du potentiel de perturbation endocrinienne au cours des jours, des semaines et des mois de cette étude. La réalisation d'analyses chimiques en parallèle des mesures biologiques a permis de montrer que, sur cette station d'épuration, l'effet thyroïdien mesuré en FrogBox est corrélé à des micropolluants dont les concentrations suivent les mêmes variations que celles des micropolluants dosés. Les résultats démontrent également la pertinence de l'outil de mesure en ligne FrogBox pour la caractérisation de l'efficacité du traitement tertiaire. En analysant quotidiennement le potentiel endocrinien de l'eau d'entrée et de sortie de l'Actiflo Carb, nous avons pu mettre en évidence son efficacité pour éliminer les molécules responsables des effets endocriniens.

## Abstract

**D. DU PASQUIER, G. LEMKINE, K. MEYNEROL, P. SAUVIGNET, J. BORSATO, A. GONCALVES, V. ROCHER**  
**Interest of bio-indicator for the performance monitoring of organic micro-pollutants removal from municipal wastewater with dedicated tertiary treatment processes**

Waste water treatment works discharges in the environment still contain micropollutants which have endocrine disruption capabilities. Removal of these endocrine disruptive compounds (EDC's) requires a tertiary if not quaternary treatment stage. The operation and adjustment of these processes needs to be based on means and methods enabling to monitor their performance.

Bio-indicators are currently the best possible method since it can provide a global information on the disruptive effect of these pollutants.

In this context, SIAAP, Veolia and Watchfrog have jointly investigated the effectiveness of such treatment process (Actiflo Carb) coupled with real time monitoring of the endocrine disruptive effect using bio-indicator (Watchfrog)

We have used fish sporne and tadpoes which generate fluorescent protein when their endocrine system is impacted by pollutants present in the sample. A

specific instrument called Frogbox, enables to monitor the fluorescence of these larvae real time and continuously. Over several months we have studied the performances of the Actiflo Carb process by positioning two Frogboxes (inlet and outlet of the process). We have demonstrated that the EDC potential varies greatly during the days and weeks of measurement. Chemical analysis of various micropollutants has enabled us to demonstrate that the disruptive effect on the Thyroid hormonal axis is well correlated with pollutants concentrations. These results demonstrate the usefulness of such tool not only to monitor the performance of the treatment process but also to provide real time indication of the potential impact on the environment. The efficiency of the Actiflo Carb process has also been demonstrated alongside with possible routes to optimise PAC consumption versus potential impact on biodiversity.

# Actiflo™ Carb, la solution pour traiter les micropolluants



## WATER TECHNOLOGIES

Actiflo™ Carb - un procédé de clarification à haute vitesse idéal pour les traitements d'affinage et de dépollution des eaux.

- > Adsorption maximale des matières organiques naturelles, des pesticides et des perturbateurs endocriniens
- > Traitement de pointe basé sur la recirculation du charbon actif en poudre
- > Souplesse d'exploitation et compacité
- > Intégration au sein d'installations existantes, permettant leur réhabilitation à coûts réduits

[www.veoliawatertechnologies.com/actiflo](http://www.veoliawatertechnologies.com/actiflo)

Ressourcer le monde

OTV  VEOLIA

## Télégestion des réseaux d'eaux usées

# SOFREL LT-US

Autosurveillance  
Débitmétrie  
Diagnostic permanent



Primé aux :



- Mesure de niveau en continu
- Détection de surverses
- Calculs de débits et volumes
- Archivage selon périodes variables
- Pilotage de préleveur autonome

### Un data logger pour environnements difficiles

- Cellule ultrasons gérée par le data logger
- Antenne GSM/GPRS haute performance
- Etanchéité IP68
- Communication sur site via Bluetooth
- Alimentation par pile (jusqu'à 8 ans d'autonomie)
- Transmission de données vers poste central de télégestion ou serveur web



[www.sofrel.com](http://www.sofrel.com)



Voir la vidéo de démonstration

## Matériels de contrôle des réseaux

### Thémis



Nouveau matériel permettant la réalisation des procédures d'autocontrôle de tous les modèles de test à l'air de type Mistral. Système autonome incluant pompe électrique, réserve et capteur de pression étalonné permettant d'effectuer le contrôle en 10 minutes de 1 à 4 consoles. Un rapport contenant les mesures est établi pour chacun des systèmes testés.

### Mistral NG



### Mistral TP



**Archimède** est un système permettant la réalisation d'essais d'étanchéité à l'eau des regards de visites, chambres et boîtes de branchement selon la méthode W de la norme NF EN1610. D'un concept totalement nouveau (brevet déposé), le système Archimède facilite la réalisation des essais auparavant compliqués à mettre en œuvre en s'affranchissant de la pose d'un obturateur et de l'ajout d'eau.

### Archimède



Brevet déposé

2, allée du Point du Jour - ZAC des Culs Baillets - 78700 Conflans Sainte Honorine  
**Tél. : +33 1 75 43 95 53 - Fax : +33 1 75 43 95 54 - [contact@createst-online.fr](mailto:contact@createst-online.fr)**



## MAC, le service d'Eau de Paris spécialisé dans le diagnostic des conduits enterrés, visitables ou non.

### Le service Mécanique d'Auscultation des Conduits (MAC) réalise :

- des inspections, des diagnostics, des expertises,
- des contrôles qualité des travaux de réhabilitation,
- des notes de calcul,
- des missions de maîtrise d'œuvre,
- des missions d'assistance à maîtrise d'ouvrage.



**Service Mac**  
 9-11, rue Berthollet  
 91100 CORBEIL-ESSONNES - France  
 Tél : + 33(0)1 69 22 19 19  
 Fax : + 33(0)1 64 96 99 99  
 E-mail : [mac@eaudeparis.fr](mailto:mac@eaudeparis.fr)  
[www.eaudeparis.fr](http://www.eaudeparis.fr)