

# Efficacité de la désinfection chimique par acide performique

Désinfection des rejets d'usines d'épuration

**Ouvrage collectif**

Coordinateurs

Vincent Rocher et Sam Azimi



# Efficacité de la désinfection chimique par acide performique

## Désinfection des rejets d'usines d'épuration



© Olivier ROFLE

Ouvrage collectif

Coordinateurs  
Vincent Rocher et Sam Azimi

SIAAP



# CHEZ LE MÊME ÉDITEUR

## Ouvrages :

Le Lexique six Langues de l'Eau, collectif, 2001  
La nature juridique de l'eau, Arnaud Gaonac'h, 1999  
Planète Eau: repères pour demain, Jean-Luc Redaud, 2000  
Histoire illustrée de 5000 ans d'hygiène publique, Maurice Paquier, 2001  
Plages en Ville, baignades en Marne, Thomas Deschamps, 2004  
L'eau en France: quelle stratégie pour demain? Jacques Oudin, 2004  
La guerre de l'eau aura-t-elle lieu? Nguyen Tien-Duc, 2004  
L'eau potable et l'assainissement, Jean-Luc Martin-Lagardette, 2004  
Environnement et politiques locales, un nouveau défi? Régis Morvan, 2006  
Les cours d'eau et le droit, Philippe Marc, 2006  
Les agences de l'eau: quarante ans de politique de l'eau, JL Nicolazo, JL Redaud, 2007  
L'eau dans son environnement rural, Jacques Bordet, 2007  
L'eau... Une histoire peu ordinaire, Raoul Caruba, 2008  
Le renouveau du droit public fluvial, Guy Arzul, 2008  
La prise en charge des dettes d'eau des usagers démunis en France, Henri Smets, 2008  
Le vade-mecum de l'eau, Jean-Luc Martin-Lagardette, 2009  
De l'eau potable à un prix abordable, Henri Smets, 2009  
Regard juridique sur la double nature de l'eau, Marie-Agnès Bordonneau, 2009  
Les principes du droit et de l'administration des Eaux, Dante A. Caponera, 2010  
L'accès à l'assainissement, un droit fondamental, Henri Smets, 2010  
Le droit à l'eau: une urgence humanitaire, Bernard Drobenko, 2010  
La mise en oeuvre du droit à l'eau: les solutions à Paris, Henri Smets, 2011  
Le Conseil Mondial de l'Eau, René Coulomb, 2011  
Théorie et pratique du droit de l'eau, Alan Saout, 2011  
La tarification progressive de l'eau potable, Henri Smets, 2011  
Dérèglement climatique et ressources en eau, Nguyen Tien-Duc, 2012  
Le droit à l'eau potable et à l'assainissement en Europe, Henri Smets, 2012  
Le droit à l'eau: une urgence humanitaire 2<sup>ème</sup> édition, Bernard Drobenko, 2012  
La protection juridique des cours d'eau, Aude Farinetti, 2012  
La part fixe dans la tarification de l'eau des ménages, Henri Smets 2012  
Les nouveaux tarifs de l'eau potable, Henri Smets 2013  
La recherche des fuites d'eau, Alex Gaspar, 2013  
Les sources du droit à l'eau en droit international, Marie-Catherine Petersmann, 2013  
Territoires, villes et campagnes face à l'étalement urbain et au changement climatique, 2013  
L'eau, entre réglementation et marché, sous la coordination de Max Falque, 2014  
Le filtre planté de roseaux, guide d'exploitation, 2014  
La traversée de la pluie, Guy Bédriot, 2014  
L'accès à l'eau: un nouveau droit de l'Homme? Franck Duhautoy, 2015  
Le statut juridique de l'eau à l'épreuve des exigences environnementales, Julia Gudefin, 2015  
Balade écologique au fil de la Seine, Bernard Vedry, 2015  
La loi sur l'eau de 1964: bilans et perspectives, Collectif, 2015  
Le recouvrement des factures d'eau, Henri Smets, 2016  
Qualité microbiologique des eaux en agglomération parisienne, Vincent Rocher, Sam Azimi, 2016  
Histoires d'eau: le versant vert de l'eau française, André Paulus, 2016  
La police de l'eau - Réglementer les usages des eaux, A. Mergéy, F. Mynard, 2017  
Le climat en suivant la pluie, Guy Bédriot, 2017  
Evolution de la qualité de la Seine en lien avec les progrès de l'assainissement de 1970 à 2015, Vincent Rocher, Sam Azimi, 2017  
Le code de l'eau, 4<sup>ème</sup> édition, 2017  
Hydrodiplomatie et nexus - Eau - Energie, Fadi Georges, 2019  
Les aérojecteurs et les transferts pneumatiques d'effluents, Gérard Bocquaire, 2020  
L'introduction au droit de l'eau 3<sup>ème</sup> édition, Bernard Drobenko, 2022

## Périodiques :

L'eau, L'industrie, les Nuisances (mensuel)  
Le Guide de l'Eau, collectif, 2023/2024

ISBN: 979-10-91089-47-0

Copyright Éditions Johonet, 2023 Paris

Il est interdit de reproduire intégralement ou partiellement le présent ouvrage (Loi du 11 mars 1957) sans l'autorisation de l'éditeur ou du centre Français d'exploitation du droit de copie.

# Sommaire

---

<b>Préface</b> .....	<b>V</b>
<b>Contributeurs</b> .....	<b>VII</b>
<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>XIII</b>
<b>Introduction générale</b> .....	<b>XVII</b>
<b>Partie 1 – Évaluation de l’efficacité de la désinfection chimique à l’échelle du laboratoire</b> .....	<b>1</b>
<b>Chapitre 1</b>	
<b>Performances de désinfection et facteurs d’influence</b> .....	<b>3</b>
1. Introduction .....	3
2. Description du désinfectant étudié .....	5
3. Efficacité du PFA par rapport à d’autres produits chimiques .....	9
4. Influence de la dose de PFA sur l’efficacité d’élimination des bactéries indicatrices fécales .....	11
5. Influence de la qualité de la matrice sur l’élimination des bactéries indicatrices fécales .....	15
6. Efficacité du PFA sur les autres micro-organismes .....	27

## Chapitre 2

<b>Reviviscence et viabilité des bactéries indicatrices fécales après une désinfection au PFA</b> .....	33
1. Introduction.....	33
2. Reviviscence des bactéries indicatrices fécales après désinfection au PFA.....	35
3. Viabilité des bactéries indicatrices fécales après désinfection au PFA.....	40

## Chapitre 3

<b>Effets du PFA sur la matière organique et résiduelle dans les eaux traitées</b> .....	45
1. Introduction.....	45
2. Effets du PFA sur la matière organique soluble.....	46
3. Instabilité du PFA après injection.....	54

## Chapitre 4

<b>Devenir des micropolluants et formation de sous-produits lors de la désinfection de rejets d'usines d'épuration par le PFA</b> .....	61
1. Introduction.....	62
2. Recherche par analyse ciblée des sous-produits de désinfection.....	65
3. Suivi par analyse non-ciblée du devenir des micropolluants.....	78

<b>Partie 2 – Évaluation de l'efficacité de la désinfection chimique à l'échelle industrielle (Usine d'épuration Seine Valenton)</b> .....	91
--	----

## Chapitre 1

<b>Description technique des essais industriels menés à l'usine d'épuration Seine Valenton</b> .....	93
1. Introduction.....	93
2. Présentation de l'usine Seine Valenton.....	94
3. Mise en œuvre des essais à l'échelle industrielle.....	95
4. Suivi de l'efficacité et de l'évaluation environnementale.....	97
5. Paramètres étudiés.....	98

## Chapitre 2

<b>Suivi <i>in situ</i> des bactéries indicatrices fécales à l'aide du système d'instrumentation microbiologique rapide ALERT (Fluidion®)</b> .....	105
1. Introduction .....	106
2. Description de la technologie ALERT .....	107
3. Méthode de validation .....	109
4. Validation en laboratoire.....	110
5. Validation sur le terrain.....	116

## Chapitre 3

<b>Évaluation de l'efficacité de la désinfection à l'échelle industrielle</b> .....	119
1. Introduction .....	120
2. Élimination des bactéries indicatrices fécales au rejet de Seine Valenton.....	120
3. Efficacité de la désinfection sur les autres micro-organismes .....	124
4. Impact du PFA sur les paramètres de qualité conventionnels et production de sous-produits réactionnels.....	126
5. Influence de la variabilité journalière des concentrations en bactéries indicatrices fécales sur l'efficacité de désinfection .....	129
6. Influence de la qualité des effluents sur l'élimination des bactéries indicatrices fécales.....	131
7. Prédiction de l'efficacité de la désinfection par approche mathématique.....	135

## **Partie 3 – Évaluation de l'innocuité environnementale de la désinfection sur les eaux de surface**..... 147

### Chapitre 1

<b>Description des modèles biologiques utilisés</b> .....	149
1. Introduction .....	150
2. Description des panels biologiques utilisés pour évaluer la toxicité générale.....	150
3. Description des panels biologiques utilisés pour évaluer la perturbation endocrinienne.....	154

## Chapitre 2

<b>Application des modèles biologiques pour l'évaluation de l'innocuité environnementale de la désinfection</b> .....	161
1. Introduction.....	162
2. Tests d'innocuité en laboratoire.....	162
3. Tests d'innocuité à l'échelle industrielle.....	170

## **Partie 4 – Retours d'expérience d'autres municipalités utilisant le procédé de désinfection par acide performique** ... 181

### Chapitre 1

<b>Cas de Biarritz (France)</b> .....	183
1. Introduction.....	183
2. Présentation de l'usine d'épuration Marbella.....	184
3. Efficacité de la désinfection sur les bactéries indicatrices fécales.....	187
4. Bilan écologique sur le rejet de l'usine d'épuration.....	189
5. Suivi d'un bioindicateur : la moule commune.....	191

### Chapitre 2

<b>Cas de Venise (Italie)</b> .....	195
1. Introduction.....	195
2. Les grandes étapes pour l'évaluation de l'efficacité et de l'innocuité du PFA.....	196
3. Description technique.....	198
4. Efficacité de la désinfection au PFA par rapport à d'autres réactifs....	201
5. Capacité de réutilisation des eaux usées traitées.....	208
6. Maintien des performances au cours du temps.....	210
7. Impact sur les paramètres conventionnels et production de sous-produits réactionnels.....	211
8. Performances globales du PFA.....	216

## **Conclusion générale**..... 219

## **Liste des figures**..... 223

## **Liste des tableaux**..... 229

## **Références**..... 233

# Préface

---

Écrire un livre n'est pas une tâche facile, comme le savent tous ceux qui en ont déjà écrit un. Au-delà du contenu, un certain nombre de questions s'imposent avant d'être en mesure de raconter une histoire... Un livre pour dire quoi? À qui? Sous quelle forme? Et une fois les réponses à ces questions obtenues, une dernière persiste : comment raconter l'histoire? Raymond Queneau illustre très bien la difficulté à y répondre en rapportant de 99 manières différentes un fait des plus simples : un homme qui prend le bus (Exercices de style, Raymond Queneau. 1947).

Concernant le thème de l'accès à l'eau, de son utilisation et, plus particulièrement sur le thème de la baignade en milieu urbain, les choix et les manières de raconter l'histoire sont encore plus complexes. Il n'y a pas 99, mais des milliers de manières différentes d'appréhender le sujet et de raconter cette histoire d'intérêt primordial pour chacun d'entre nous. Chacune de ces possibilités est juste, chacune répond à de nombreuses questions et peut alimenter des réflexions... Mais chacune laisse un certain nombre de questions en suspens. Choisir, c'est renoncer.

En qualité d'instance publique chargée du traitement des eaux usées, notre rôle est de raconter l'histoire de la désinfection d'un point de vue technique. Une technologie a été choisie et testée, de l'échelle laboratoire à l'échelle industrielle... d'une idée à sa transformation en résultat opérationnel. Nous avons tenté de répondre à toutes les questions que pourraient se poser les gestionnaires du monde de l'eau, avec l'œil d'un opérateur et d'un utilisateur final. Sans biais sur les résultats, sans prise de position, l'objectif de notre récit est de donner, de manière factuelle, des éléments de réponse sur l'élaboration de protocoles,

l'évaluation de l'efficacité de la technologie et la vérification de son innocuité vis-à-vis de l'environnement. Ainsi, le lecteur peut, à loisir, lire l'intégralité ou une partie de l'ouvrage selon ses propres questionnements, attentes et objectifs... pour raconter sa propre histoire !

Afin de traiter l'ensemble de ces sujets et de répondre à toutes ces questions, nous avons rassemblé toutes les compétences nécessaires, permettant à 23 co-auteurs de s'exprimer. Cette manière de procéder présente de nombreux avantages, puisque la compétence collective est bien supérieure à la somme des compétences individuelles ; c'est pourquoi tous les co-auteurs sont cités au début de l'ouvrage, quelle que soit leur contribution spécifique à chaque chapitre. Seule la partie quatre comporte le nom des contributeurs au début des chapitres, car les travaux correspondants ont été réalisés par ailleurs et leurs résultats ajoutés à l'ouvrage afin de compléter la vision globale.

En espérant que vous prendrez autant de plaisir à lire ce livre que nous en avons eu à l'écrire...

Bonne lecture !

**Vincent Rocher et Sam Azimi**

# Contributeurs

---

## Coordination



Sam Azimi et Vincent Rocher © SIAAP

**Vincent Rocher** est Directeur Innovation au sein du Syndicat interdépartemental pour l'assainissement de l'agglomération parisienne (SIAAP). Suite à des études universitaires dans le domaine de l'environnement, et l'obtention de sa thèse de doctorat sur le devenir des micropolluants dans le système d'assainissement, il a rejoint la Direction Recherche et Développement du SIAAP en 2004 en tant que chargé d'études et d'expertises. Ainsi, durant près de 15 ans, il a réalisé des

études et mené des projets scientifiques sur les thématiques liées au traitement des eaux et à la valorisation des produits issus de l'assainissement. Aujourd'hui Directeur Innovation, Vincent Rocher coordonne et déploie la politique innovation du SIAAP pour accompagner le monde de l'assainissement dans ses évolutions futures et faire émerger des solutions innovantes pour répondre aux problématiques du présent.

**Sam Azimi** co-dirige la Direction Innovation du SIAAP. À la suite de sa thèse de doctorat sur le transfert des polluants en milieu urbain obtenue en 2004, Sam Azimi a rejoint le SIAAP au sein de l'équipe d'encadrement de deux usines d'épuration successivement. Chargé de la mise en service et de l'exploitation des installations, il a ainsi acquis une parfaite maîtrise des procédés de traitement des eaux et des boues et a su mettre en œuvre des actions d'optimisation de performance et de sobriété des installations. Au sein de la Direction Innovation, l'une de ses missions est de garantir le lien entre les activités scientifiques et techniques et les besoins opérationnels des installations industrielles.

Les coordinateurs tiennent à remercier l'ensemble des personnes qui ont participé à l'élaboration de cet ouvrage collectif et qui sont présentées en détails ci-après.

## Co-auteurs

### SYNDICAT INTERDÉPARTEMENTAL POUR L'ASSAINISSEMENT DE L'AGGLOMÉRATION PARISIENNE (SIAAP)

**Romain Mailler** responsable d'un service Recherche et Développement (R&D) au sein de la Direction Innovation jusqu'en mai 2021.

**Marcos Oliveira Filho** responsable d'un service R&D au sein de la Direction Innovation.

**Sabrina Guérin-Rechdaoui** responsable d'un service R&D au sein de la Direction Innovation.

**Anthony Marconi** responsable adjoint d'un service R&D au sein de la Direction Innovation.

**Perrine Mèche** technicienne de recherche au sein de la Direction Innovation jusqu'en septembre 2021.

**Sébastien Pichon** technicien d'étude au sein de la Direction Technique.

**Jean Bernier** responsable d'un service R&D au sein de la Direction Innovation jusqu'en août 2021.

**Jérôme Roy** directeur de trois usines d'épuration jusqu'en octobre 2021.

## UNIVERSITÉ PARIS EST-CRÉTEIL

**Gilles Varrault** professeur de chimie au sein du Laboratoire Eau, Environnement et Systèmes Urbains.

**Angélique Goffin** maître de conférence au sein du Laboratoire Eau, Environnement et Systèmes Urbains.

**Julien Le Roux** maître de conférence au sein du Laboratoire Eau, Environnement et Systèmes Urbains.

**Nina Huynh** doctorante au sein du Laboratoire Eau, Environnement et Systèmes Urbains jusqu'en avril 2022.

**Maolida Nihemaiti** post-doctorante au sein du Laboratoire Eau, Environnement et Systèmes Urbains jusqu'en décembre 2019.

## UNIVERSITÉ DE PAU ET DES PAYS DE L'ADOUR

**Thierry Pigot** professeur des Universités au sein de l'Institut des Sciences Analytiques et de Physico-Chimie pour l'Environnement et les Matériaux (IPREM UMR CNRS 5254).

**Thomas Paulin** ingénieur de recherche au sein de l'Institut des Sciences Analytiques et de Physico-Chimie pour l'Environnement et les Matériaux (IPREM UMR CNRS 5254).

## SORBONNE UNIVERSITÉ

**Jean-Marie Mouchel** professeur des Universités au sein de l'unité Milieux Environnementaux, Transferts et Interactions dans les hydrosystèmes et les Sols (METIS).

## LABORATOIRE WATCHFROG

**David Du Pasquier** responsable de l'équipe de R&D.

## TAME-WATER

**Laurent Paulic** directeur des études jusqu'en janvier 2022.

## FLUIDION S.A.

**Dan Angelescu** PDG et directeur R&D.

**Vaizanne Huynh** ingénieur des opérations jusqu'en août 2020.

**Andreas Hausot** directeur de l'ingénierie.

## VERITAS S.p.A.

**Patrizia Ragazzo** responsable du département R&D Europe au sein du service intégré de l'eau en Italie.

**Nicoletta Chiucchini** ingénieur chimiste au sein du département R&D Europe du service intégré de l'eau en Italie.

## Direction éditoriale

**Géraldine Izambart**, responsable du service Gestion Innovation au sein de la Direction Innovation du SIAAP, **Pauline Rey-Brahmi**, responsable adjointe du service, et **Mathieu Gallais**, secrétaire technique, ainsi que les membres de l'équipe, ont assuré l'intégralité de la réalisation éditoriale du présent ouvrage.

## Contributeurs

En plus des co-auteurs, un certain nombre de contributeurs ont apporté une aide significative dans la réalisation du projet, notamment lors des essais à l'échelle industrielle, décrits dans la partie 2.

**Marc Hamon** (SIAAP Seine amont – QHSE) et **Fabrice Aubé, André Lévy** et **Bruno Kembellec** (SIAAP – Direction du Système d'Assainissement et du Réseau), pour la mise en place du matériel d'échantillonnage.

**Sylvain Fouillaud** et **Sébastien Lahaie** (SIAAP Seine amont – laboratoire) pour l'exploitation et la maintenance du matériel d'échantillonnage.

**Jean-Baptiste Tonnerieux** (SIAAP Seine amont – Responsable projet), **Xavier Le Tallec** et **Hafida Hadjami** (SIAAP Seine Valenton – Équipe optimisation process) pour la coordination du projet sur le terrain.

**Sébastien Riello** et **Julien Gervais** (SIAAP Seine Valenton – Service Exploitation) pour l'adaptation de l'exploitation de l'usine aux besoins du projet et pour le traitement de toutes les données.

**Jean-Louis Thénard, Mathieu Paillard, Nicolas Gillon, Victoria Deng** et **Marc Fontaine** (SIAAP – Direction du Système d'Assainissement et du Réseau) pour l'adaptation de la régulation des effluents en entrée usine lors des essais.

Par ailleurs, nous tenons à exprimer nos remerciements à **Eden Galot**, stagiaire, ainsi qu'aux techniciens d'analyse du SIAAP pour leur contribution à la campagne d'expérimentations de ce projet (**Partie 1 – Chapitre 1**).

Les auteurs souhaitent également remercier **Patricia Aubeuf-Prieur** de la société KEMIRA pour son assistance dans le cadre du protocole de fabrication d'acide performique en laboratoire et lors des essais grandeur nature (**Parties 1 et 2**). De même, les auteurs tiennent à remercier la plateforme PRAMMICS et OSU-EFLUVE (UMS 3563) pour avoir permis d'accéder aux équipements analytiques, et en particulier **Emmanuelle Mebold** pour son assistance dans le cadre des analyses (**Partie 1 – Chapitre 4**). Ces analyses ont été financées par une subvention publique de l'Agence nationale de la recherche (ANR) au titre du programme JCJC (projet WaterOmics, ANR-17-CE34-0009-01). Des fonds ont été reçus de la part du septième programme-cadre de l'Union européenne (FP7/2007-2013)

## Contributeurs

au titre de la convention de subvention de la REA n° PCOFUND-GA-2013-609102, par l'intermédiaire du programme PRESTIGE coordonné par Campus France. La mise au point du Système ALERT (**Partie 2 – Chapitre 2**) a été partiellement financée par le programme « Prototypes technologiques » parrainé par la Région Île-de-France. L'aide financière et technique apportée par la Ville de Biarritz et toute la Communauté d'Agglomération du Pays Basque a été grandement appréciée (**Partie 1 – Chapitre 2** et **Partie 4 – Chapitre 1**), de même que l'assistance technique assurée par le personnel de l'usine d'épuration (SUEZ).

# Liste des abréviations

---

ACP = amplification en chaîne par polymérase  
ABTS = 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)  
ADN = acide désoxyribonucléique  
AHT = acide hydroxytéréphtalique  
AOX = halogène organique adsorbable  
ARN = acide ribonucléique  
AT = acide téréphtalique  
bax = Bcl-2 X  
BCAN = bromochloroacétonitrile  
bd2 = bêta-défensine 2  
BIF = bactéries indicatrices fécales  
cas8 = protéase caspase 8  
CAT = catalase  
CF = coliforme fécal  
CIA = critère d'information Akaike  
CIB = critère d'information bayésien  
COD = carbone organique dissous  
COT = carbone organique total  
Cox1 = cyclooxygénase 1  
DBAN = dibromoacétonitrile  
DBCM = dibromochlorométhane  
DBO = demande biochimique en oxygène

#### Liste des abréviations

DBO5 = demande biochimique en oxygène à 5 jours  
DCBM = dichlorobromométhane  
DCE = directive cadre sur l'eau  
DCM = dichlorométhane  
DCO = demande chimique en oxygène  
DN = dénitrification  
DP = déphosphatation biologique  
EB = eaux brutes prétraitées  
EC = *Escherichia coli*  
ED = eaux décantées  
EE2 = éthinylestrodiol  
EF = *Enterococcus faecalis*  
ef1 = facteur d'allongement  
EH = équivalent-habitant  
EM = longueur d'onde d'émission  
EQS = erreur quadratique moyenne  
ET = eaux traitées  
EX = longueur d'onde d'excitation  
FA = ion formiate  
FIV = facteur d'inflation de la variance  
HAN = haloacétonitrile  
HRMS = spectrométrie de masse haute résolution  
HYP = hypochlorite de chlore  
IA = indice de concordance  
IC = indice de confiance  
IC<sub>2</sub> = indice de condition de Walne & Mann  
IP = iodure de propidium  
LB = *lysogeny broth*  
LOOCV = *leave-one-out cross validation*  
LQ = limite de quantification  
MEE = matrice d'excitation-émission  
MES = matières en suspension  
MOD = matière organique dissoute  
MUF = fluorescent 4-méthylumbelliféryl  
MUG = 4-méthylumbelliféryl-β-D-glucuronide

N = nitrification  
NDBA = N-nitrosodibutylamine  
NDEA = N-nitrosodiéthylamine  
NDMA = N-nitrosodiméthylamine  
NDPA = N-nitrosodipropylamine  
NDPhA = N-nitrosodiphénylamine  
NMEA = N-nitrosométhyléthylamine  
NMOR = N-nitrosomorpholine  
NPIP = N-nitrosopiperidine  
NPP = nombre le plus probable  
NPYR = N-nitrosopyrrolidine  
NTK = azote total Kjeldahl  
NTU = *Nephelometric Turbidity Unit*  
OCDE = Organisation de coopération et de développement économiques  
ONP = ortho-nitrophénol  
ONPG = ortho-nitrophényl- $\beta$ -galactoside  
PAA = acide peracétique  
PCR = réaction en chaîne par polymérase  
PFA = acide performique  
pH = potentiel hydrogène  
PT = phosphore total  
qPCR = PCR quantitative  
rad51 = recombinaise RAD51  
rpl7 = gène de protéine ribosomale L7  
RUTP = rejets urbains de temps de pluie  
SARL = société à responsabilité limitée  
SEC = usine Seine centre  
SEV = usine Seine Valenton  
SIAAP = Syndicat interdépartemental pour l'assainissement de l'agglomération parisienne  
SMC = somme des moindres carrés  
SodCu = superoxyde dismutases à cuivre-zinc  
SodMn = superoxyde dismutases à manganèse  
SPD = sous-produit de désinfection  
SPE = extraction en phase solide

Liste des abréviations

SSR = spores de bactéries anaérobies sulfitoréductrices  
THM = trihalométhane  
TO = thiazole orange  
UFC = unité formant colonie  
UPLC = chromatographie liquide ultra-haute performance  
UR = unité Raman  
US-EPA = *Environmental Protection Agency* américaine  
UV = rayonnement ultraviolet  
VNC = viable mais non cultivable  
YPD = *yeast extract peptone dextrose*  
17MT = 17 $\alpha$ -Méthyltestostérone

# Introduction générale

---

En réponse aux enjeux environnementaux et sociétaux des cinquante dernières années, le visage de l'assainissement francilien a fortement évolué. Concrètement, et en point d'orgue d'une évolution qui s'est amorcée au début du siècle dernier, trois grandes phases ont jalonné la fin du XX<sup>ème</sup> et le début du XXI<sup>ème</sup> siècle.

À partir des années 1970 et sur une durée de près de dix ans, une révolution industrielle majeure a donné lieu à un développement conséquent des capacités de traitement des eaux résiduaires urbaines, avec notamment l'extension de l'usine d'épuration de Seine aval. Sur cette période, la part des eaux usées collectées passe alors de 40 à 80 % et en 1980, seules 10 % des eaux collectées sont déversées en Seine sans traitement.

Dans la continuité, une deuxième phase cruciale de dix ans démarre dans les années 1980. Durant celle-ci, bien que les volumes d'eaux usées introduits dans les réseaux d'assainissement augmentent pour atteindre près d'un milliard de mètres cubes en 1990, l'augmentation des capacités de traitement se poursuit. Le processus de décentralisation du traitement est alors initié avec la construction de l'usine Seine Valenton (SEV, 2,6 millions EH) qui amorce également la mise en œuvre du traitement de l'azote.

Les résultats obtenus dans le cadre d'intenses activités de recherche permettent d'irriguer les changements opérés lors de la troisième phase de cette évolution, se déroulant de 1990 à nos jours. Grâce aux vagues d'investissements successives, le constat de l'année 2013 est sans appel : 98 % des volumes d'eau introduits dans le système d'assainissement subissent un traitement. Cette troisième phase et ses progrès technologiques ont également permis d'améliorer significativement la qualité de traitement en éliminant la quasi-totalité

de la pollution carbonée, azotée et phosphorée dans les eaux rendues au milieu naturel (Rocher & Azimi, 2017).

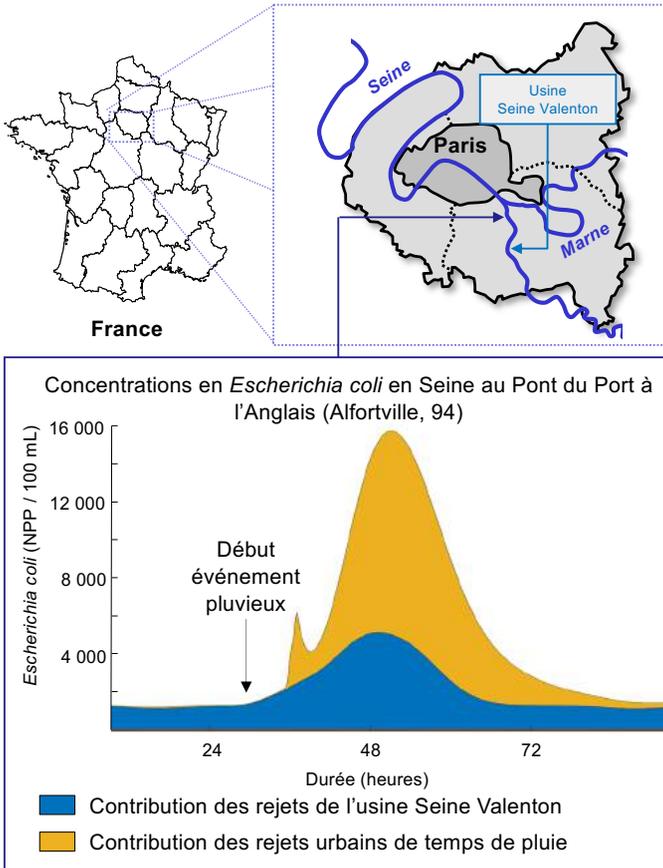
C'est logiquement que ces changements industriels ont contribué à réduire les rejets de nutriments dans la Seine et à restaurer sa qualité physico-chimique et microbiologique. Aujourd'hui, les niveaux de concentration en oxygène dans le fleuve sont très bons et les concentrations en azote et en phosphore sont bien plus faibles qu'avant. Ces conditions favorisent la réapparition de nombreuses espèces de poissons, rendant à l'eau une vie perdue depuis plus d'un siècle. En outre, durant les quinze dernières années, le niveau de contamination microbiologique de la Seine a diminué d'un facteur 2 en amont de l'agglomération parisienne et d'un facteur supérieur à 10 en aval (Rocher & Azimi, 2016).

Le système d'assainissement francilien est aujourd'hui confronté à de nouveaux enjeux environnementaux et sociétaux. L'amélioration de la qualité sanitaire des eaux de Seine, associée à l'évolution des attentes sociales en faveur d'un usage récréatif de l'eau et complété par le souhait de la Ville de Paris d'ouvrir la Seine à la baignade, ont logiquement placé la question de la qualité microbiologique au centre des débats. La candidature de Paris aux Jeux Olympiques et Paralympiques de 2024 a accéléré cette volonté de reconquête de la Seine.

À ce jour, la réglementation relative à la baignade (Directive 2006/7/CE, 2006 et arrêté du 22 septembre 2008) porte sur deux types de bactéries indicatrices fécales (BIF) : *Escherichia coli* et entérocoques intestinaux. Il s'agit donc d'identifier, de quantifier et d'éradiquer les principales voies d'apport de ces BIF pour donner à la Seine une qualité d'eau compatible avec la baignade.

Dans cette perspective, différentes solutions ont été imaginées à l'échelle de l'agglomération parisienne sous forme de scénarii pour lesquels les impacts sur la qualité du fleuve ont été testés à l'aide d'un modèle mathématique, le modèle ProSe. Cet outil de simulation, calibré et validé pour la Seine francilienne permet de simuler des flux de nutriments et de BIF aux différents points kilométriques du fleuve (Laborie *et al.*, 2016 ; Poulin *et al.*, 2009). L'un des principaux résultats issu de ce travail itératif a été la mise en exergue de l'influence des conditions météorologiques, et notamment du temps de pluie, dans le choix des stratégies à déployer. Cela s'explique par le contexte très imperméabilisé de l'agglomération parisienne et son système d'assainissement reposant principalement sur un réseau unitaire dans sa zone centrale. Si par temps sec, le transport et le traitement de l'intégralité des effluents produits par l'agglomération est possible, ce n'est pas le cas en temps de pluie. L'apport d'eau excédentaire se traduit par des rejets d'effluents non traités directement vers le milieu naturel, les Rejets Urbains de Temps de Pluie (RUTP) comportant jusqu'à  $5,5 \times 10^6$  NPP/100 mL d'*Escherichia coli* (Rocher & Azimi, 2016). Dans ce cas de figure, les RUTP sont

les principales voies d'apport de bactéries dans la Seine comme présenté sur la **Figure 1** qui montre les concentrations en *Escherichia coli* en Seine, au point du pont du Port à l'Anglais situé à l'aval du rejet de l'usine SEV. Suite à un événement pluvieux, l'apport des bactéries liées au rejet de l'usine d'épuration est alors de l'ordre de 4 fois inférieur à celui des RUTP.



**FIGURE 1. Contribution des apports de l'usine Seine Valenton et des rejets urbains de temps de pluie à la concentration en bactéries indicatrices fécales (*Escherichia coli*) de la Seine sur le site du pont du Port à l'Anglais situé à l'aval**

S'agissant du temps sec, et dans tous les scénarios étudiés, la réduction des bactéries présentes dans des effluents rejetés par les usines d'épuration situées en amont des zones de baignade, dont l'usine SEV, est apparue comme nécessaire. Dans le cas des *Escherichia coli* par exemple, la concentration médiane à l'aval du rejet de SEV est estimée à environ 1200 NPP/100 mL alors

qu'elle est de 890 NPP/100 mL à l'amont ; les rejets de l'usine d'épuration apportant des concentrations comprises entre  $5 \times 10^3$  et  $50 \times 10^3$  NPP/100 mL (Rocher & Azimi, 2016). Bien qu'il ait été montré que les installations conventionnelles de traitement des eaux usées offraient un abattement bactérien satisfaisant de plus de 2 unités logarithmiques, des procédés de traitement complémentaires demeurent nécessaires pour réduire de manière significative ces apports.

Pour accompagner les décideurs dans l'atteinte de cet objectif, le Service public de l'assainissement francilien (SIAAP) a intégré cette thématique de recherche dans sa démarche **inneauvation**. **Inneauvation** associe le SIAAP à des organismes de recherche dans l'objectif de produire une innovation publique à vocation industrielle dans le secteur de l'assainissement ([www.inneauvation.fr](http://www.inneauvation.fr)). C'est au sein de Mocopée, programme dédié à l'usine d'épuration qu'une action de recherche a été lancée afin d'étudier les solutions innovantes permettant de réduire les concentrations bactériennes dans les rejets d'usine d'épuration. Parmi les technologies disponibles à ce jour pour désinfecter les rejets d'eaux usées, la désinfection chimique semblait constituer une solution bien adaptée en raison de son efficacité en matière d'élimination bactérienne, sa flexibilité opérationnelle et sa sobriété énergétique. Plusieurs produits chimiques sont connus pour réaliser cette désinfection dont l'acide performique (PFA), récemment testé et mis en œuvre à l'échelle industrielle par différentes collectivités. C'est ce contexte qui a incité le SIAAP à réaliser des essais au PFA pour désinfecter les rejets de son usine d'épuration de Seine Valenton. Une étude de plus de deux ans a ainsi été menée, ainsi que des expériences depuis le laboratoire jusqu'à l'échelle industrielle, pour obtenir nos propres réponses concernant l'efficacité du produit et l'absence d'impact environnemental associé. Cet ouvrage présente l'ensemble des résultats au sein de trois parties distinctes :

- Évaluation de l'efficacité de la désinfection chimique par acide performique à l'échelle du laboratoire ;
- Évaluation de l'efficacité de la désinfection chimique par acide performique à l'échelle industrielle sur l'usine d'épuration Seine Valenton ;
- Évaluation de l'innocuité environnementale de la désinfection sur les eaux de surface.

Une quatrième partie, présentant les retours d'expérience de Biarritz (France) et Venise (Italie), deux villes ayant déjà mis en œuvre la technologie de désinfection par acide performique, vient compléter cette vision d'ensemble.

# Partie 1

Évaluation de l'efficacité  
de la désinfection chimique  
à l'échelle du laboratoire

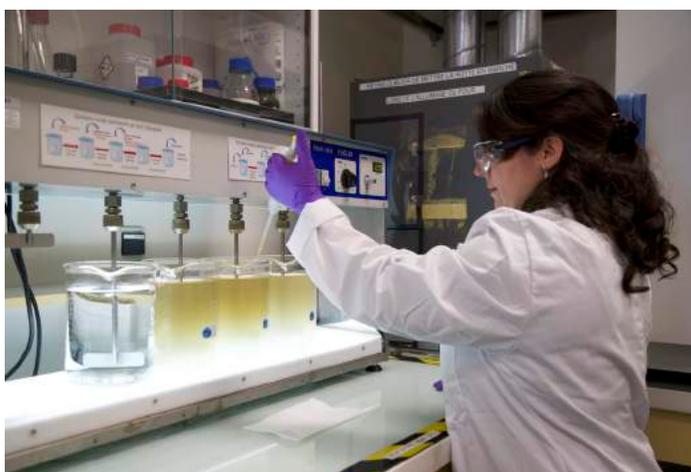
---



# Chapitre 1

## Performances de désinfection et facteurs d'influence

---



© SIAAP

### 1. INTRODUCTION

L'acide performique (PFA) a fait l'objet d'essais en laboratoire (Chhetri *et al.*, 2014 ; Gehr *et al.*, 2009 ; Karpova *et al.*, 2013 ; Luukkonen *et al.*, 2015) et à l'échelle industrielle (Chhetri *et al.*, 2015 ; Ragazzo *et al.*, 2013, 2017) pour la désinfection d'eaux usées traitées ou partiellement traitées. Cette technique, une fois déployée, présente plusieurs avantages opérationnels : elle est efficace à un dosage de PFA relativement faible, ne nécessite aucun produit annexe nocif, et le PFA peut être produit sur site juste avant injection en plus d'être rapidement consommé post-injection (Karpova *et al.*, 2013 ; Luukkonen *et al.*, 2015 ; Ragazzo *et al.*, 2013). En outre, cette méthode pourrait facilement n'être utilisée que l'été (période de baignade), puis inutilisée le reste de l'année. Un projet pluridisciplinaire a ainsi

été mené à l'échelle de la totalité de l'aire urbaine parisienne pour étudier la possibilité de déployer une unité de désinfection au PFA au sein d'une usine SIAAP.

L'objectif premier de ce projet était d'étudier, en laboratoire, la désinfection d'eaux usées au PFA et les facteurs influant sur son efficacité, puis de valider ce choix avant de procéder à des essais à l'échelle industrielle. Différentes expériences ont donc été menées pour : valider le choix du PFA par rapport à l'acide peracétique (PAA), quantifier précisément le rapport entre concentration  $\times$  durée d'exposition ( $C \times t$ ) et la réduction des bactéries indicatrices fécales (BIF) au sein des rejets ciblés, évaluer l'impact de la qualité de l'eau, et notamment des particules, sur l'efficacité du PFA, évaluer la faisabilité et les effets de la désinfection au PFA d'eaux usées partiellement traitées, et enfin recueillir des informations concernant les effets du PFA sur les autres types de pathogènes. Ce premier chapitre présente l'ensemble des expériences et des résultats associés à ce projet.

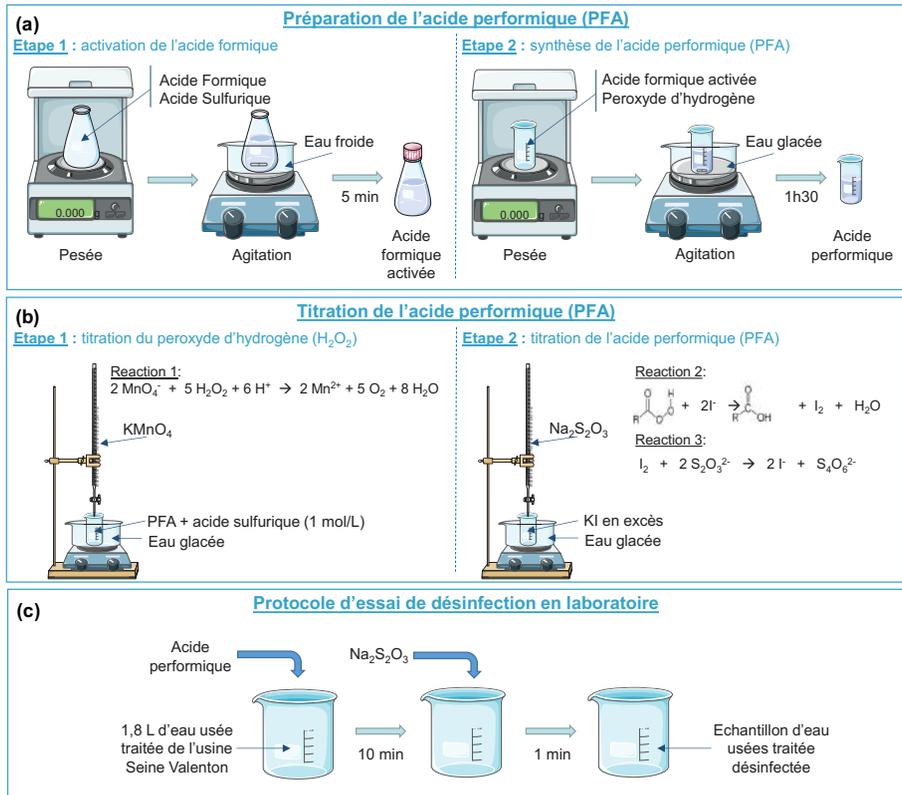
Une pré-étude méthodologique réalisée en laboratoire pour maîtriser le protocole de désinfection par PFA est d'abord présentée. Le PFA étant instable, il doit être produit peu avant les expérimentations. Il est donc nécessaire de maîtriser le protocole de fabrication et de posséder une méthode de vérification de la concentration en PFA du produit pour maîtriser les doses injectées. De plus, l'ajout d'un oxydant fort dans l'eau usée ainsi que l'utilisation de thiosulfate pour stopper la réaction après le temps de contact voulu (méthode sélectionnée pour les essais de désinfection) peuvent potentiellement impacter la mesure des paramètres globaux de qualité des eaux. Il est donc important de qualifier ou de quantifier ces interférences. Les premiers résultats présentés dans ce chapitre portent donc sur l'évaluation de la fabrication et de la titration en laboratoire du PFA et l'évaluation de la stabilité au stockage du PFA fabriqué en laboratoire. Sont ensuite présentées les expérimentations réalisées en laboratoire pour caractériser finement les performances de désinfection des eaux usées traitées par le PFA, ainsi que l'étude des facteurs d'influence de ces performances. Les résultats présentés portent sur l'inter-comparaison du PFA avec d'autres désinfectants, l'étude de l'influence de la dose en PFA appliquée en rejet d'usine d'épuration, l'étude de l'influence de la qualité de la matrice de désinfection sur l'efficacité du PFA, et l'effet du PFA sur d'autres micro-organismes, non visés par la réglementation baignade.

Ces résultats de laboratoire, outre pour la compréhension des processus de désinfection, étaient nécessaires au SIAAP pour mettre en œuvre les essais industriels de désinfection sur l'usine de Seine Valenton (SEV, 2,6 millions EH), notamment leur dimensionnement, et pour apporter les éléments techniques nécessaires à leur autorisation.

## 2. DESCRIPTION DU DÉSINFECTANT ÉTUDIÉ

### 2.1. Fabrication du PFA

La fabrication de l'acide performique se déroule en deux étapes selon le protocole de préparation du fabricant (KEMIRA) et telles que décrites par Luukkonen *et al.* (2015). Le **Figure 2a** synthétise ces deux principales étapes de préparation.



**FIGURE 2. Synthèse des principales étapes de préparation du PFA (a), de titration du PFA (b) et du protocole de désinfection (c)**

La première étape consiste à catalyser un acide carboxylique qui, dans le cas du PFA, est de l'acide formique. Sous hotte et en milieu froid, la catalyse se fait par l'ajout d'acide sulfurique à une concentration massique d'environ 10 %. Cette étape est exothermique et l'acide formique catalysé doit être maintenu en agitation quelques minutes pour refroidir. L'acide formique catalysé peut être conservé à température ambiante durant une année.

La 2<sup>ème</sup> étape consiste à synthétiser le PFA par ajout de peroxyde d'hydrogène à l'acide formique catalysé en quantité équivalente en masse (1/1). Cette réaction lente nécessite une agitation pendant au moins une heure. Durant cette période de maturation, la concentration massique en eau oxygénée diminue au profit de celle du PFA. La solution finale est ainsi composée de PFA, de peroxyde d'hydrogène et d'acide formique avec des proportions respectivement de 13,5, 20 et 30,9 % environ.

Une fois préparée, la concentration exacte de PFA contenu dans la solution est contrôlée par dosage. La solution de PFA est ensuite directement entreposée à -18 °C à l'abri de la lumière pendant une durée maximale de 3 semaines.

Afin de vérifier la répétabilité du protocole de préparation en laboratoire, cinq solutions de PFA ont été préparées sur cinq jours différents et dosées (triplicats) à l'aide de la méthode colorimétrique décrite ci-dessous. Pour l'ensemble des titrations réalisées ( $n = 12$ ), la concentration massique moyenne obtenue était de  $12,18 \pm 0,94 \%$ , ce qui correspond à une faible variabilité de la méthode de préparation (coefficient de variation = 8 %).

## 2.2. Titration colorimétrique du PFA

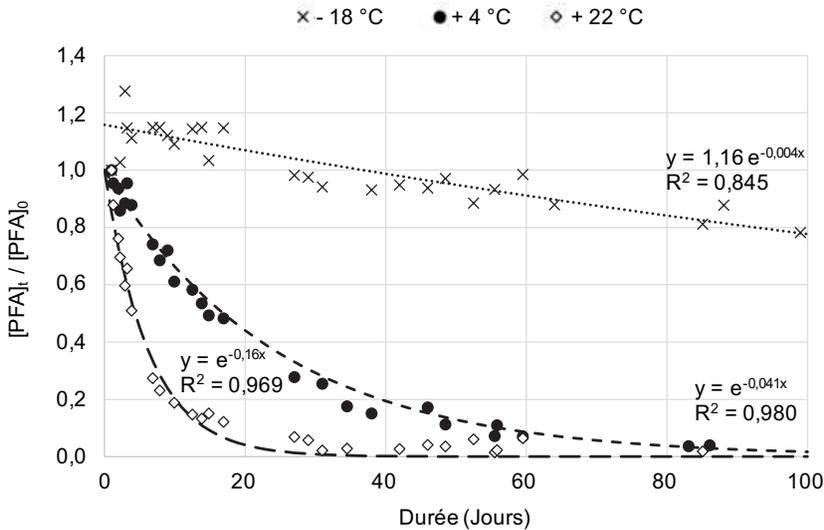
Le protocole de dosage du PFA utilisé lors des essais est la titration colorimétrique par redox (**Figure 2b**). Il s'agit de la méthode de référence, qui permet de doser précisément le peroxyde d'hydrogène et le PFA contenu dans la solution. Dans une première étape, une quantité connue de réactif est mélangée à de l'acide sulfurique dilué. Le dosage de l'eau oxygénée est ensuite réalisé par ajout de permanganate de potassium. La coloration rose persistante permet de déterminer le volume d'équivalence.

Dans une seconde étape, l'ajout de l'iodure de potassium transforme le PFA en acide carboxylique en quantité stœchiométrique (une mole d'iode par mole d'acide carboxylique). Pour terminer, l'iode est dosé avec du thiosulfate en présence d'amidon, ce qui entraîne la décoloration de la solution une fois l'équivalence atteinte.

Afin de confirmer la répétabilité de cette technique de titration, cinq titrages d'une solution de PFA ont été effectués le même jour. Cette évaluation a également été réalisée à différents jours pour différentes solutions de PFA. La concentration massique moyenne obtenue pour le PFA a été évaluée à  $11,73 \pm 0,80 \%$  ( $19,79 \pm 0,65 \%$  pour le peroxyde d'hydrogène) avec une faible variabilité de la méthode (coefficient de variation de 7 % (3 % pour le peroxyde d'hydrogène)).

### 2.3. Cinétique de décomposition du PFA

Pour évaluer la cinétique de décomposition, la concentration en PFA a été contrôlée dans l'une des préparations stockées à l'abri de la lumière à trois températures différentes (-18, +4 et +22 °C) sur une période de 150 jours (**Figure 3**).



**FIGURE 3. Cinétique de décomposition du PFA à différentes températures**

Dans les trois scénarios étudiés, la décomposition du PFA suit une cinétique de pseudo-premier ordre ( $y = A e^{-kx}$ ). L'influence de la température de stockage apparaît clairement avec une durée de conservation plus longue à basse température (hausse de la constante K en lien avec la hausse de la température : 0,004 à -18 °C, 0,041 à 4 °C, et 0,16 à 22 °C). Le PFA a un comportement particulier lorsqu'il est stocké à -18 °C, avec une hausse de la concentration lors des trois premiers jours (28 %), suivie d'une cinétique de décomposition de pseudo-premier ordre. La concentration initiale en PFA est de nouveau atteinte au bout de 20 à 30 jours. On peut supposer que la formation de PFA se poursuit lorsque la solution est conservée à une température inférieure à 0 °C. Le temps de demi-vie du PFA est donc de 210, 17 et 4,5 jours, respectivement, à -18 °C, 4 °C et 22 °C. Plus concrètement, si l'utilisation du PFA n'est pas impactée tant que sa concentration reste au-delà de 90 % de la concentration initiale, alors une préparation de PFA peut être conservée pendant une durée maximale de 63, 2,5 et 0,5 jours, respectivement à -18 °C, 4 °C et 22 °C. Par sécurité, les préparations de PFA ont été titrées avant chaque utilisation.

## 2.4. Description d'une méthode de désinfection expérimentale au PFA en laboratoire

Des essais de désinfection en laboratoire ont été menés sur des lots de deux litres dans des conditions de brassage vigoureux (200 tr/min) afin de garantir l'homogénéité de chaque lot. Un Jar Test qui sert normalement à la réalisation d'essais en lots de coagulation-floculation a été utilisé : 1,8 L de l'échantillon d'eaux usées est d'abord versé dans le bain ; les étapes suivantes sont le brassage et l'injection d'un volume donné de solution contenant le désinfectant à la dose ciblée. Après le temps de contact souhaité, 20 mg/L de thiosulfate sont ajoutés pour interrompre la réaction de désinfection, le brassage est arrêté et les échantillons sont sortis pour analyse. Pour tous les essais de désinfection en laboratoire, le temps de contact à respecter est de dix minutes. Cette méthode est résumée par la **Figure 2c**.

Les échantillons de rejets distincts ont été prélevés plusieurs heures avant les essais à l'usine SEV. L'usine SEV traite chaque jour 600 000 m<sup>3</sup> d'eaux usées provenant de la partie Est de l'aire urbaine de Paris. En conditions normales (temps sec), les procédés de traitement consistent en un prétraitement (dégrillage, dessablage et déshuilage), suivi d'une unité de décantation primaire et d'un bassin biologique avec procédé à boues activées en aération prolongée pour terminer par un traitement complet du carbone, de l'azote (nitrification et dénitrification) et du phosphore. Une unité de déphosphatation physico-chimique retraits une partie des eaux pour optimiser le niveau d'élimination du phosphore. En conditions dégradées (temps de pluie ou dérivation interne en raison d'une capacité de traitement insuffisante), les eaux usées excédentaires sont directement acheminées vers l'unité de déphosphatation physico-chimique pour éliminer les particules et le phosphore. Les rejets d'usine dans la Seine peuvent consister en des eaux totalement traitées ou en un mélange d'eaux totalement et partiellement traitées. Une description complète des opérations de l'usine SEV se trouve en **Partie 2 – Chapitre 1**.

Différents paramètres ont été mesurés pour la majorité de ces expériences en laboratoire : les matières en suspension totales (MES), le carbone organique dissous (COD), la demande chimique en oxygène (DCO) et la demande biochimique en oxygène (DBO), l'azote total Kjeldahl (NTK), le phosphore total (PT) et enfin les bactéries indicatrices fécales (BIF) *Escherichia coli* et entérocoques intestinaux (en NPP/100 mL). Ces analyses ont été réalisées selon les méthodologies suivantes : NF EN 872 pour les MES, NF EN 1484 pour le COD, ISO 15,705 pour la DCO, NF EN 1899 pour la DBO, NF EN 25,663 pour le NTK, NF EN ISO 6878 pour le PT, NF EN ISO 9308-3 pour *Escherichia coli*, et NF EN ISO 7899-1 pour les entérocoques intestinaux.

Par ailleurs, des essais préliminaires ont été réalisés pour déterminer la meilleure méthode analytique de quantification des ions  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$  et  $\text{PO}_4^{3-}$  étant

donné que la méthode conventionnelle utilisant une colonne de cadmium n'était pas adaptée. En effet, la présence potentielle de concentrations résiduelles en PFA était susceptible d'endommager la colonne. Ces analyses ont été réalisées selon les méthodologies suivantes : NF EN ISO 11732 pour  $\text{NH}_4^+$ , NF EN ISO 10304-1 pour  $\text{NO}_3^-$  et  $\text{NO}_2^-$  et NF EN ISO 15681-2 pour  $\text{PO}_4^{3-}$ . Un impact significatif d'excès de thiosulfate sur la quantification de la DCO, la DBO et du COD avait été observé ; ces paramètres ont ensuite été analysés en sous-échantillons sans thiosulfate.

### 3. EFFICACITÉ DU PFA PAR RAPPORT À D'AUTRES PRODUITS CHIMIQUES

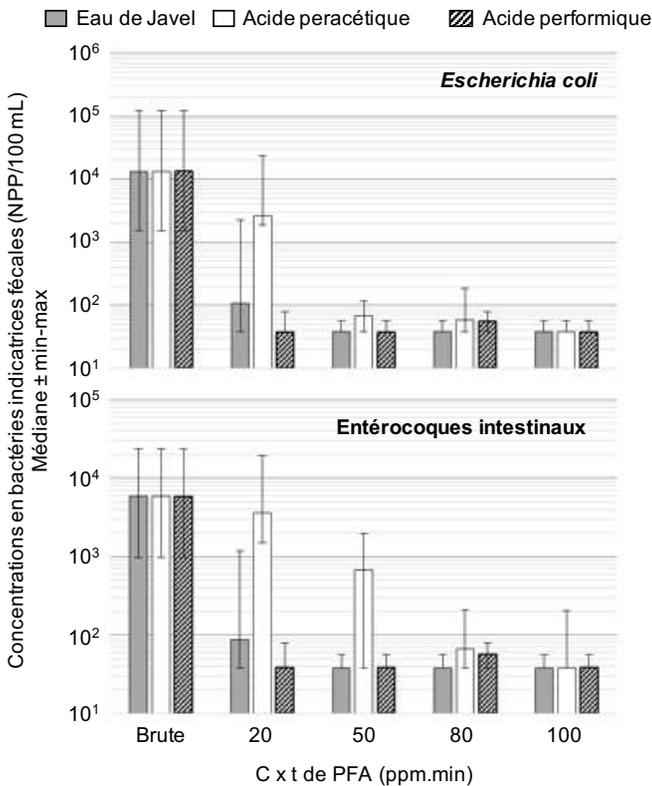
Le PFA a été comparé à l'acide peracétique (CAS 79-21-0) et l'hypochlorite (CAS 7681-52-9), deux désinfectants à usage courant. Une étude initiale des écrits existants a effectivement permis l'identification du PFA et de l'acide peracétique (PAA) comme des alternatives prometteuses pour la désinfection d'eaux usées (Chhetri *et al.*, 2014, 2015, 2018 ; Luukkonen & Pehkonen, 2017 ; Luukkonen *et al.*, 2015 ; Ragazzo *et al.*, 2013). Ces expériences initiales visaient à comparer leur efficacité en matière de désinfection sur des rejets de l'usine SEV, mais également à estimer la dose globale requise pour atteindre un abattement de BIF donné. L'hypochlorite a été adopté comme référence en matière de désinfection, bien que son utilisation dans le milieu naturel n'ait pas été étudiée.

L'acide peracétique (VWR 1.07222.1000, concentration massique de 38-40 %) et l'hypochlorite (Nectra 156031, concentration massique de 10 %) sont des solutions commercialisées par VWR, tandis que le PFA a été directement produit en laboratoire conformément à la méthode de préparation décrite plus tôt (**Figure 2a**). La solution de PFA a été produite et dosée le jour même des expériences de désinfection afin de déterminer avec précision le volume de PFA à injecter.

Les trois produits ont été testés simultanément sur six échantillons distincts de rejets de l'usine SEV, sauf aux concentrations de 5, 8 et 10 ppm, qui ont été testées sur les trois premiers échantillons seulement. Les eaux usées traitées ont été prélevées quelques heures avant chaque essai de désinfection (14 novembre, 28 novembre, 5 décembre, 19 décembre et 20 décembre 2017, et 15 janvier 2018). La méthode de désinfection expérimentale en laboratoire décrite plus tôt a été appliquée. Pour chaque essai, quatre concentrations de désinfectant ont été testées simultanément (2, 5, 8 et 10 ppm) avec un temps de contact de 10 minutes. La qualité des échantillons d'eau a été évaluée avant l'étape de désinfection dans le but de respecter les normes de qualité décrites dans le **Partie 2** de cet ouvrage. La qualité globale des six échantillons de rejets de l'usine SEV était normale, avec des concentrations moyennes de :  $6,5 \pm 2,8$  mg/L pour les MES,

5,7 ± 1,0 mg C/L pour le COD, 21 ± 4 mg O<sub>2</sub>/L pour la DCO, 2,1 ± 1,4 mg O<sub>2</sub>/L pour la DBO<sub>5</sub>, 1,4 ± 0,5 mg N/L pour le NTK, et 1,1 ± 0,8 mg P/L pour le PT. De même, les concentrations d'*Escherichia coli* et d'entérocoques intestinaux dans les échantillons étaient proches de celles que l'on rencontre habituellement dans ce type d'eaux, avec des concentrations médianes ± min-max respectives de : 13288 ± 1690-123603 et 5887 ± 1929-23655 NPP/100 mL (Rocher & Azimi, 2016).

La **Figure 4** présente les résultats des six essais de désinfection réalisés pour comparer les effets du PFA, du PAA et de l'hypochlorite sur les rejets de l'usine SEV avec un temps de contact de 10 minutes. Les concentrations médianes d'*Escherichia coli* et d'entérocoques intestinaux sont indiquées, avec les concentrations minimales et maximales observées représentées par les barres d'erreur. Ces valeurs ont été calculées à partir de six essais, sauf pour le PFA à 5,8 et 10 ppm (trois essais).



**FIGURE 4.** Concentrations en bactéries indicatrices fécales (*Escherichia coli* et entérocoques intestinaux - NPP/100 mL) avant et après désinfection par différents réactifs utilisés à différentes concentrations avec un temps de contact de 10 min (C x t en ppm.min)

Ces résultats d'essais indiquent que l'efficacité de désinfection du PFA sur les BIF est supérieure à celle du PAA à une dose limite comparable. Avec une concentration de 2 ppm, les concentrations résiduelles d'*Escherichia coli* et d'entérocoques intestinaux dans les eaux usées désinfectées correspondent à  $38 \pm <38-78$  NPP/100 mL (concentration médiane  $\pm$  min-max) pour le PFA, contre  $2625 \pm 1855-23695$  et  $3596 \pm 1511-19,701$  NPP/100 mL pour le PAA. Cette différence d'efficacité à 2 ppm est significative (test de Mann-Whitney) tant pour *Escherichia coli* que pour les entérocoques intestinaux, avec des valeurs  $p$  de 0,004. Ainsi, il faut davantage de PAA que de PFA pour atteindre un taux d'élimination de BIF donné. On peut également conclure que l'efficacité de désinfection du PFA est comparable à celle de l'hypochlorite à dose identique, bien qu'après 10 minutes de désinfection à 2 ppm, les concentrations en BIF soient légèrement supérieures avec l'hypochlorite. À titre d'exemple, les concentrations résiduelles d'*Escherichia coli* dans les eaux usées désinfectées sont de :  $38 \pm <38-78$  NPP/100 mL (concentration médiane + min-max) pour le PFA, et  $108 \pm <38-2253$  NPP/100 mL pour l'hypochlorite. À 2 ppm, la différence d'efficacité entre ces deux produits devient insignifiante (essai de Mann-Whitney) tant pour *Escherichia coli* que pour les entérocoques intestinaux, avec des valeurs  $p$  de 0,177.

Karpova(2013) a observé des tendances similaires, concluant que 0,5 ppm de PFA a la même efficacité que 1 ppm de PAA et 8 ppm de dichlore ( $Cl_2$ ) pour réduire la concentration de coliformes fécaux dans les eaux usées biologiquement traitées. Le fait qu'une dose de PFA inférieure soit requise par rapport aux autres produits chimiques est communément admis dans la littérature scientifique (Luukkonen & Pehkonen, 2017). Plus récemment, Ragazzo *et al.* (2020) ont affirmé que pour un temps de contact typique de désinfection (20-30 min) avec des doses définies pour garantir le respect de la limite actuelle d'*Escherichia coli* présent dans les effluents (5 000 UFC/100 mL), le PAA et l'hypochlorite nécessitent des valeurs  $C \times t$  respectives trois et quatre fois supérieures au PFA en moyenne.

Ces résultats préliminaires mettent en lumière la pertinence du recours au PFA pour désinfecter les rejets de l'usine SEV, et son efficacité pour éliminer les BIF à des doses relativement faibles, ce qui permettrait effectivement de limiter la quantité de produits chimiques injectés dans la Seine en plus de présenter l'avantage d'être produit sur site en raison de son instabilité.

#### **4. INFLUENCE DE LA DOSE DE PFA SUR L'EFFICACITÉ D'ÉLIMINATION DES BACTÉRIES INDICATRICES FÉCALES**

Étant donné le haut niveau de désinfection du PFA obtenu avec une dose et un temps de contact réduits, plusieurs essais de désinfection ont été réalisés

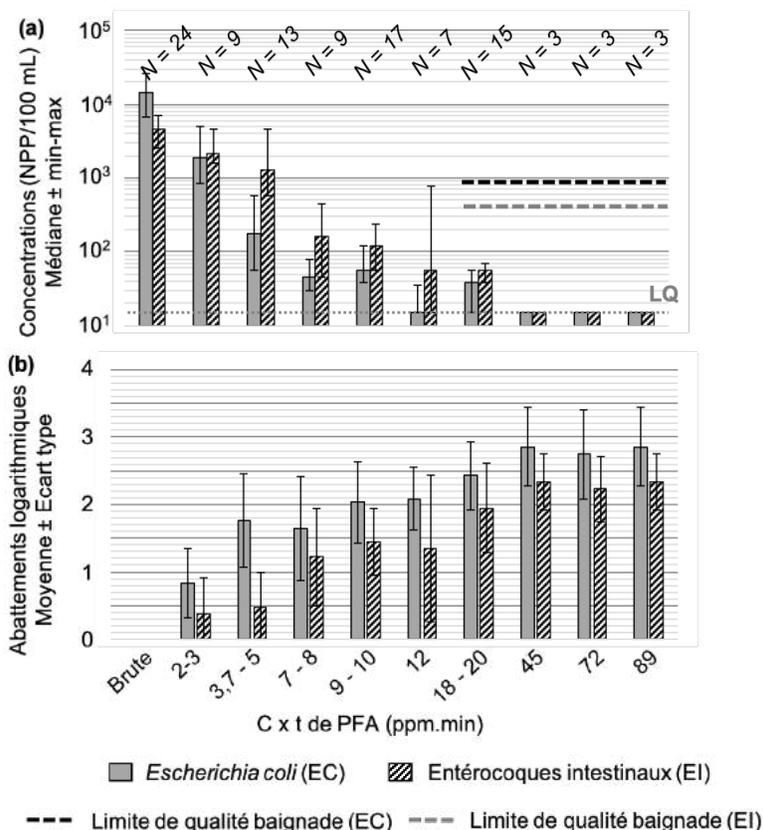
sur des rejets de l'usine SEV à différentes doses avec un temps de contact de 10 minutes afin d'étudier le rapport dose/efficacité pour *Escherichia coli* et les entérocoques intestinaux. Ici, l'objectif était de déterminer le rapport  $C \times t$  de PFA requis pour atteindre un taux d'élimination des BIF donné et définir la variabilité due aux variations de la qualité des eaux.

Au total, 24 échantillons distincts de rejets de l'usine SEV ont été prélevés pour les essais de désinfection au PFA, dont les six échantillons précédemment présentés, entre le 14 novembre 2017 et le 13 février 2019. La méthode de désinfection expérimentale en laboratoire décrite plus tôt a été appliquée. Les échantillons de rejets de l'usine SEV ont été prélevés plusieurs heures avant chaque essai de désinfection et différentes doses de PFA ont été appliquées selon les échantillons, donnant ainsi 9 valeurs pour l'intervalle de concentration de 0,2-0,3 ppm, 13 pour l'intervalle 0,35-0,50 ppm, 9 pour l'intervalle 0,7-0,8 ppm, 16 pour l'intervalle 0,9-1,0 ppm, 8 pour 1,2 ppm, 15 pour l'intervalle 1,8-2,0 ppm et enfin 3 valeurs supérieures à 4,5, 7,2 et 8,9 ppm de PFA. La qualité des échantillons d'eaux usées a été évaluée avant la phase de désinfection afin de vérifier le respect des normes de qualité décrites plus tôt. La qualité et la variabilité globales des 24 échantillons de rejets de l'usine SEV étaient relativement normales, avec des concentrations moyennes de :  $8,7 \pm 5,5$  mg/L pour les MES,  $5,8 \pm 0,8$  mg C/L pour le COD,  $23 \pm 8$  mg  $O_2$ /L pour la DCO,  $2,0 \pm 1,2$  mg  $O_2$ /L pour la DBO5,  $1,1 \pm 0,7$  mg N/L pour le NTK, et  $1,2 \pm 0,7$  mg P/L pour le PT. De même, les concentrations d'*Escherichia coli* et d'entérocoques intestinaux présentes dans les échantillons étaient proches de celles que l'on rencontre habituellement dans ce type d'eaux, avec des concentrations médianes  $\pm$  min-max respectives de :  $14\,290 \pm 1\,690$ - $678\,750$  et  $4\,630 \pm 707$ - $62\,969$  NPP/100 mL (Rocher & Azimi, 2016). La variabilité de la qualité des eaux provient des différences entre les conditions d'exploitation de l'usine au cours de la période d'échantillonnage (dérivation interne, temps sec ou pluie, etc.).

#### 4.1. Graphique illustrant l'efficacité du PFA sur les rejets de l'usine SEV

La **Figure 5** présente les résultats des 24 essais de désinfection réalisés au PFA sur les rejets de l'usine SEV avec un temps de contact de 10 minutes. La **Figure 5a** détaille la concentration médiane d'*Escherichia coli* ou d'entérocoques intestinaux, avec les concentrations minimale et maximale illustrées par les barres d'erreur. La **Figure 5b** montre l'élimination logarithmique moyenne des deux types de BIF, l'écart-type étant indiqué par les barres d'erreur. Les limites de qualité (900 NPP/100 mL pour *Escherichia coli* et 330 NPP/100 mL pour les entérocoques intestinaux) prévues par la réglementation européenne en matière

d'eaux de baignade récréative (directive 2006/7/CE du 15 février 2006 concernant la gestion de la qualité des eaux de baignade, abrogeant la directive 76/160/CEE 2006) sont données à titre indicatif avec la limite de quantification des bactéries.



**FIGURE 5. Concentrations (a) et abattements (b) des bactéries indicatrices fécales (*Escherichia coli* et entérocoques intestinaux) avant et après désinfection par acide performique (PFA) injecté à différentes concentrations avec un temps de contact de 10 min (C x t en ppm.min)**

On observe clairement une forte influence de la dose de PFA avec un temps de contact de 10 minutes. La hausse de la dose de PFA appliquée entraîne une hausse de l'abattement des BIF jusqu'aux concentrations comprises entre 1,8 et 4,5 ppm (ce qui correspond à une dose C x t de 18-45 ppm.min), seuil à partir duquel les concentrations médianes des deux bactéries atteignent les limites de quantification pour ce type d'eaux usées traitées. Par ailleurs, l'efficacité du PFA est plus importante sur *Escherichia coli* que sur les entérocoques intestinaux ; la dose de PFA nécessaire est donc inférieure pour ces bactéries. Cette

sensibilité supérieure d'*Escherichia coli* au PFA s'observe en particulier pour les faibles doses de PFA : les baisses de concentration sont plus prononcées d'une dose à l'autre pour *Escherichia coli* et les valeurs d'élimination logarithmique sont supérieures. Par exemple, la concentration médiane d'*Escherichia coli* passe de 14 290 NPP/100 mL en eaux brutes à 179 NPP/100 mL dans les eaux désinfectées avec 0,35-0,5 ppm de PFA, contre une réduction de 4 630 à 1 305 NPP/100 mL seulement pour les entérocoques intestinaux à la même dose de PFA. Les éliminations logarithmiques sont toujours plus importantes pour *Escherichia coli* que pour les entérocoques intestinaux lorsque les concentrations de PFA sont comprises entre 1,8 et 2,0 ppm de PFA. Après quoi, les limites de quantification commencent à être atteintes. C'est notamment le cas pour les concentrations de PFA comprises entre 0,35 et 0,5 ppm, qui donnent des éliminations logarithmiques respectives de 0,66 à 2,85 pour *Escherichia coli* et de 0 à 1,71 pour les entérocoques intestinaux. En dessous de cette dose, l'écart entre les éliminations logarithmiques s'explique par des concentrations initiales supérieures d'*Escherichia coli* et des limites de quantification similaires. Dans la littérature scientifique, une efficacité du PFA comparable pour la désinfection d'eaux usées traitées a été mentionnée. Karpova (2013) a obtenu un abattement de près d'1 log pour *Escherichia coli* avec l'application d'une dose de 4-5 ppm.min de PFA en laboratoire sur des effluents biologiquement traités. Cet abattement est de 0,5 à 2,0 log pour les entérocoques intestinaux. De même, Luukkonen (2015) avait obtenu, en laboratoire, un abattement de 3,3 log pour *Escherichia coli* avec une concentration initiale de 29 200 UFC/100 mL et une dose de 15 ppm.min de PFA, contre 2,5 log pour les entérocoques intestinaux avec une concentration initiale de 1840 UFC/100 mL. Suite à cela, des essais à l'échelle industrielle visant la désinfection de rejets d'usine d'épuration au PFA ont également été réalisés à Venise (voir **Partie 4 - Chapitre 2** de cet ouvrage et Ragazzo *et al.*, 2013). Ces essais démontrent qu'une dose de 23 ppm.min ou moins de PFA donne des abattements respectifs d'*Escherichia coli* et des entérocoques intestinaux entre 2 et 4,2 et entre 0,7 et 3,2 log. Ils démontrent également qu'une dose de 60 ppm.min de PFA garantit des abattements systématiquement supérieurs à 3 log. Dans le cadre de ces essais, une plus grande sensibilité d'*Escherichia coli* au PFA a été observée.

En outre, une forte variabilité de la concentration résiduelle et des abattements logarithmiques a été observée pour une dose de PFA donnée. Par exemple, les concentrations résiduelles d'*Escherichia coli* et d'entérocoques intestinaux variaient respectivement entre <15 et 1541 NPP/100 mL et entre 38 et 20 488 NPP/100 mL pour une concentration de PFA entre 0,35 et 0,5 ppm. Pour

une concentration entre 0,9 et 1,0 ppm de PFA, ces taux variaient entre <15 et 419 NPP/100 mL et entre <15 et 2 720 NPP/100 mL. Par conséquent, l'abattement logarithmique pour une dose de PFA donnée est extrêmement variable : environ 1 log d'un échantillon à l'autre. Cette variabilité reflète probablement l'impact des variations de la qualité des rejets d'usine sur l'efficacité de la désinfection au PFA. Sur les 24 échantillons, 12 ont effectivement été prélevés au cours d'opérations nominales de l'usine SEV (aucun dépassement de la capacité de débit nominale et aucune dérivation interne), contrairement aux 12 autres, pour lesquels l'usine SEV affichait une activité partiellement dégradée (dépassement de la capacité et/ou dérivation interne). Cette différence a donné lieu à des variations de : MES entre 2 et 25 mg/L, DCO entre 6 et 42 mg O<sub>2</sub>/L, COD entre 3,9 et 7,0 mg C/L, NTK entre <0,3 et 2,8 mg N/L, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> entre <0,3 et 1,3 mg N/L, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> entre 13,1 et 18,9 mg N/L, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> entre 0,02 et 0,32 mg N/L, et PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> entre <0,1 et 7,4 mg P/L.

Ainsi, pour la désinfection des rejets de l'usine SEV, une dose C × t de 9 à 12 ppm.min de PFA semble être une bonne cible, sachant que dans cet intervalle, les concentrations d'*Escherichia coli* et d'entérocoques intestinaux sont généralement inférieures aux objectifs de la réglementation européenne pour la baignade récréative (respectivement 900 et 330 NPP/100 mL). Concernant la régulation de la concentration de PFA appliquée en fonction du temps de contact (dose) et de la qualité des eaux, un objectif de 10 ppm.min pourrait être envisagé pour les eaux de 'bonne qualité', contre 20 ppm.min en cas de qualité altérée. Toutefois, les paramètres de qualité donnant lieu à une variabilité des résultats, ceux-ci doivent être davantage étudiés afin de moduler adéquatement la dose de PFA à injecter en fonction de la qualité des eaux.

## 5. INFLUENCE DE LA QUALITÉ DE LA MATRICE SUR L'ÉLIMINATION DES BACTÉRIES INDICATRICES FÉCALES

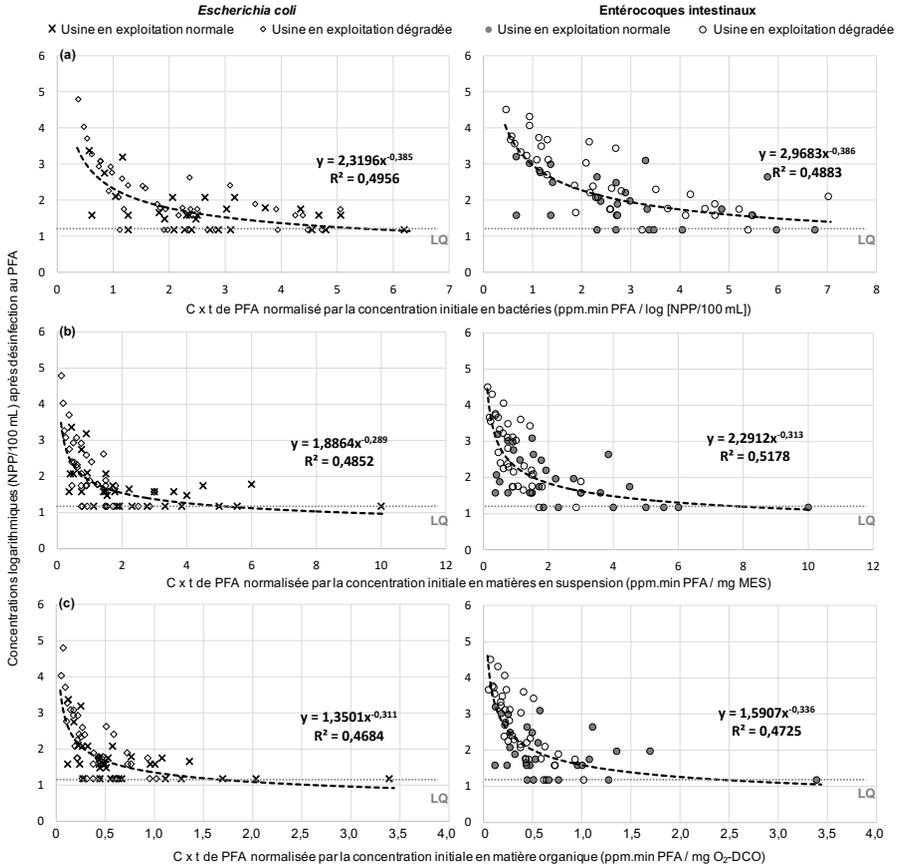
### 5.1. Normalisation de l'efficacité du PFA sur la qualité des rejets de l'usine SEV

Comme observé dans la partie précédente, une forte variabilité de l'efficacité de désinfection du PFA a été constatée, reflétant une variabilité de la qualité des rejets de l'usine SEV. Pour identifier les causes soupçonnées de dégradation des paramètres de qualité, des tests de corrélation statistique (Spearman,  $\alpha = 0,05$ ) ont été pratiqués entre les paramètres de qualité de l'eau et la concentration bactérienne résiduelle ou l'abattement logarithmique avec une dose C × t de PFA de soit 7 à 9 ppm.min (n = 15), soit 9 à 12 ppm.min (n = 18). Dans les deux cas, aucune

corrélation significative (valeur  $p < 0,05$ ) n'a été observée entre les abattements logarithmiques des deux types de bactérie et les MES, la DCO, le COD et les concentrations bactériennes initiales. Pour une dose  $C \times t$  de PFA de 7 à 9 ppm.min, la concentration résiduelle d'*Escherichia coli* présentait une corrélation statistique avec les MES ( $r = 0,773$  – valeur  $p = 0,001$ ), la DCO ( $r = 0,542$  – valeur  $p = 0,039$ ) et la concentration initiale d'*Escherichia coli* ( $r = 0,703$  – valeur  $p = 0,005$ ). Le seul paramètre présentant une corrélation statistique avec la concentration résiduelle d'entérocoques intestinaux était la DCO ( $r = 0,572$  – valeur  $p = 0,028$ ). Pour une dose  $C \times t$  de PFA supérieure de 9 à 12 ppm.min, l'unique corrélation statistiquement significative constatée concernait la concentration résiduelle d'*Escherichia coli* et les MES ( $r = 0,637$  – valeur  $p = 0,006$ ). Ceci indiquerait que l'efficacité de désinfection du PFA pour réduire la quantité d'*Escherichia coli* et d'entérocoques intestinaux dépend des concentrations initiales de bactéries, des MES et de la DCO des eaux.

Au regard de cette conclusion, les résultats des 24 essais de désinfection ont été représentés de différentes manières sur la **Figure 6**, qui compare la concentration résiduelle des deux types de bactéries au bout de 10 minutes de désinfection avec le rapport  $C \times t$  de PFA normalisé. La phase de normalisation a été réalisée en divisant le rapport  $C \times t$  appliqué par les concentrations bactériennes, les MES ou la DCO initiales, ces paramètres étant corrélés à la concentration bactérienne résiduelle après désinfection.

## Efficacité de la désinfection chimique par acide performique



**FIGURE 6. Concentrations logarithmiques en bactéries indicatrices fécales après désinfection à l'acide performique (PFA) injecté à différentes concentrations et différents temps de contact normalisés en fonction de la concentration initiale en bactéries (a), de la concentration initiale en matières en suspension (b) et de la concentration initiale en matière organique (c). Le temps de contact a été de 10 min pour l'ensemble des tests (C x t en ppm.min)**

D'abord, la **Figure 6** démontre la cohérence des phases de normalisation : aucune différence notable ne peut en effet être observée entre les échantillons issus de rejets d'une activité altérée et ceux issus d'une activité normale de l'usine SEV. Ces normalisations intègrent la variabilité normale de la qualité de l'usine et peuvent ainsi être utilisées indépendamment des conditions en amont.

D'un point de vue logique, la concentration bactérienne résiduelle après désinfection présente une corrélation significative (Spearman,  $\alpha = 0,05$ ) avec le C x t de PFA normalisé et la concentration bactérienne initiale, tant pour *Escherichia coli* ( $r = -0,604$  – valeur  $p < 0,0001$ ) que pour les entérocoques

intestinaux ( $r = -0,735$  – valeur  $p < 0,0001$ ), suivant une loi de puissance décroissante. Plus la concentration bactérienne initiale est élevée, plus la concentration résiduelle après désinfection est importante pour un  $C \times t$  donné. Par ailleurs, la variabilité de la concentration résiduelle d'entérocoques intestinaux est sensiblement supérieure à celle d'*Escherichia coli*. Si l'on se fie aux doses normalisées de cette figure, qui tiennent compte de la variabilité des eaux des effluents, la dose de PFA requise dans les rejets de l'usine SEV pour atteindre les objectifs qualité de 900 et 330 NPP/100 mL peut être estimée à environ 1,5 ppm.min par unité de concentration logarithmique d'*Escherichia coli*, et à environ 4 ppm.min par unité de concentration logarithmique d'entérocoques intestinaux.

Aucune mesure instantanée en continu des BIF n'étant réalisable, il serait judicieux de recourir à un substitut pour réguler l'injection de PFA. Étant donné le constat que les MES et la DCO présentent une corrélation avec les concentrations bactériennes résiduelles, ces deux paramètres ont été testés durant la phase de normalisation. Pour tous les deux, les concentrations résiduelles présentaient une corrélation significative avec le  $C \times t$  normalisé de PFA appliqué pour *Escherichia coli* ( $r = -0,690$  – valeur  $p < 0,0001$  pour les MES et  $r = -0,643$  – valeur  $p < 0,0001$  pour la DCO) ainsi que pour les entérocoques intestinaux ( $r = -0,706$  – valeur  $p < 0,0001$  pour les MES et  $r = -0,643$  – valeur  $p < 0,0001$  pour la DCO), suivant une loi de puissance décroissante. D'après ces doses normalisées, un  $C \times t$  normalisé d'1 ppm.min de PFA/mg MES ou de 0,5 ppm.min de PFA/m O<sub>2</sub>-DCO s'avère suffisant pour garantir une réduction de la concentration d'*Escherichia coli* en dessous des objectifs qualité de 900 NPP/100 mL. Les MES étant faciles à estimer en flux continu et de manière instantanée grâce à une sonde de turbidité et la DCO grâce à une sonde de fluorescence 3D (Goffin *et al.*, 2018), ces deux paramètres font de bons substituts pour réguler l'injection de PFA, à condition que les corrélations mathématiques pour les rejets de l'usine SEV entre les MES et la turbidité ou entre la DCO et la fluorescence 3D soient bien établies. Une analyse plus approfondie de la prévisibilité de la performance du PFA pour l'atteinte des paramètres de qualité des eaux usées est réalisée à l'échelle industrielle dans la **Partie 2 – Chapitre 3**.

## 5.2. Rôle des MES dans l'efficacité du PFA

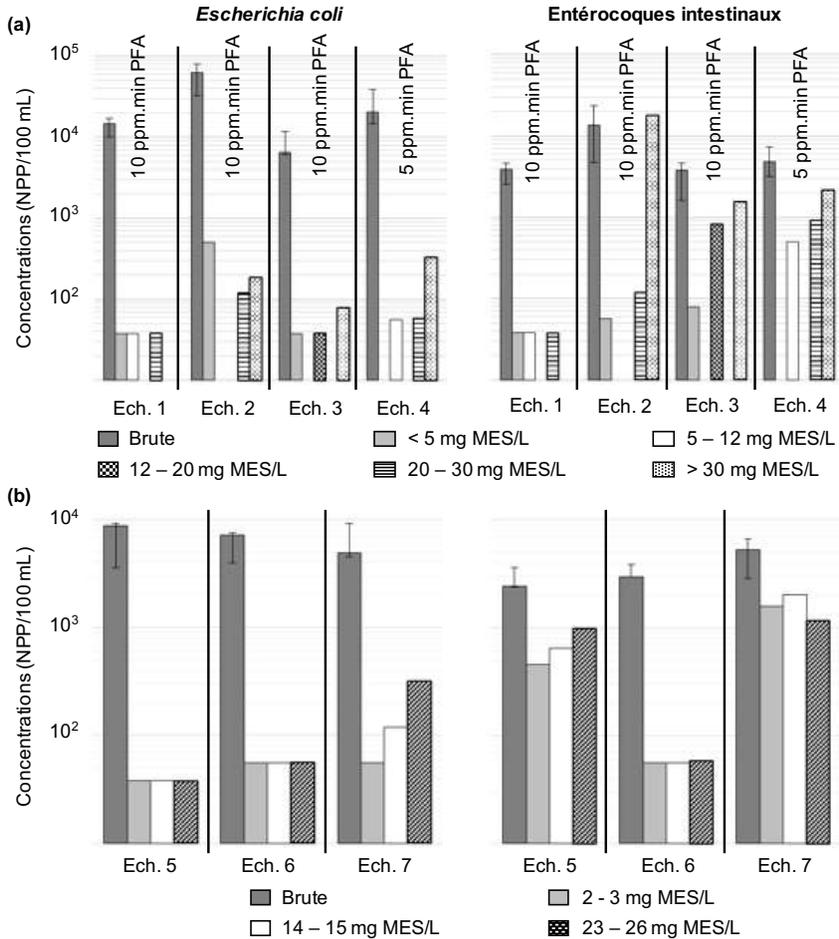
L'impact des MES seules n'est pas directement observable en comparant les essais au PFA réalisés sur différents échantillons étant donné que les concentrations bactériennes initiales augmentent avec la concentration de MES dans les rejets de l'usine SEV, tout comme d'autres paramètres de

qualité. La teneur en MES observée dans le cadre des 24 essais de désinfection réalisés présente effectivement une forte corrélation avec les concentrations d'*Escherichia coli* ( $r = 0,773$  – valeur  $p = 0,001$ ) et d'entérocoques intestinaux ( $r = 0,637$  – valeur  $p = 0,006$ ). Ainsi, il est impossible de déterminer directement si la corrélation entre l'efficacité de désinfection et les MES est uniquement due à la hausse de la quantité de bactéries, ou si les MES elles-mêmes ont un effet protecteur contre les BIF.

Pour isoler l'effet des MES, des tests spécifiques en laboratoire ont été menés au sein d'échantillons d'eaux auxquels on a ajouté différentes quantités de MES prélevées sur des échantillons de rejets de l'usine SEV grâce à une décantation en laboratoire. Pour chaque essai, les MES ont été prélevées au sein d'un même échantillon d'eau utilisé pour des essais de désinfection.

Ces essais ont été réalisés en ajoutant des MES brutes (24-31 octobre 2018, 7 novembre 2018 et 30 janvier 2019) ou des MES traitées à l'autoclave (7 novembre 2019 et 6-13 février 2019). Il a été supposé qu'ajouter des MES traitées à l'autoclave augmenterait la teneur en MES sans toutefois augmenter la teneur en bactéries, permettant ainsi d'isoler l'effet d'une modification de la teneur en MES afin de déterminer si les MES peuvent protéger les bactéries contre le PFA. Les essais ont été réalisés avec un temps de contact de 10 minutes à une concentration de 1,0 ppm de PFA (ce qui correspond à une dose  $C \times t$  de 10 ppm.min), à l'exception de l'essai réalisé le 30 janvier 2019, pour lequel une concentration inférieure de 0,5 ppm (dose  $C \times t$  de 5 ppm.min) a été appliquée afin d'exacerber les tendances. La qualité globale des six échantillons de rejets de l'usine SEV (juste avant l'ajout des MES) était normale, avec des concentrations moyennes de :  $13 \pm 8$  mg/L pour les MES,  $6,2 \pm 0,4$  mg C/L pour le COD, et  $26 \pm 7$  mg  $O_2$ /L pour la DCO.

La **Figure 7** illustre les résultats de ces essais particuliers réalisés : (a) avec des MES brutes, et (b) avec des MES traitées à l'autoclave.



**FIGURE 7. Évaluation de l'influence de la concentration initiale en matières en suspension (MES) sur l'efficacité de la désinfection à l'acide performique (PFA). Les gammes de concentration en MES ont été fixées à l'aide d'ajout de matières en suspension brutes (a) et de matières en suspensions autoclavées (b)**

L'ajout des MES n'a entraîné aucune variation majeure des concentrations de BIF dans les échantillons avec des MES brutes. Pour ces échantillons, les concentrations initiales étaient très similaires sur les différents échantillons, avec une variabilité inférieure à un facteur 2 ou 3, ce qui est plutôt faible vu la méthode analytique adoptée pour la quantification bactérienne. Par exemple, les concentrations d'*Escherichia coli* pour les échantillons du 24 octobre 2018 étaient respectivement de 13 800, 17 100, 10 100 et 15 700 NPP/100 mL pour des concentrations en MES respectives de 2, 7, 9 et 24 mg/L. De même, les concen-

trations d'entérocoques intestinaux observées dans ces mêmes échantillons étaient respectivement de 3150, 4630, 4520 et 2560 NPP/100 mL. Ainsi, les concentrations bactériennes initiales peuvent être considérées comme comparables pour les échantillons de chaque journée de prélèvement.

La **Figure 7a** illustre deux types de comportements pour *Escherichia coli*. Pour les échantillons du 24 octobre 2018 et du 31 octobre 2018, aucune influence négative claire de la concentration en MES ne peut être observée, puisque la concentration bactérienne résiduelle n'augmente pas avec la teneur en MES dans l'échantillon à une dose de 10 ppm.min de PFA. Pour les échantillons du 7 novembre 2018 et du 30 janvier 2019, on observe une hausse de la concentration bactérienne résiduelle au-delà de 20 à 30 mg/L de MES. Ce phénomène semble plus prononcé sur l'échantillon du 30 janvier 2019, sans doute à cause du  $C \times t$  de PFA inférieur (5 ppm.min). Pour les entérocoques intestinaux, on constate un effet négatif de la teneur en MES dans l'échantillon à désinfecter, sauf sur l'échantillon du 24 octobre 2018. On observe une hausse de la concentration bactérienne résiduelle suivant une hausse de la teneur en MES à une dose de 10 ppm.min de PFA à partir de 20-30 mg/L aussi bien pour l'échantillon du 31 octobre 2018 que pour celui du 30 janvier 2019, et à partir de 12-20 mg/L pour l'échantillon du 7 novembre 2018.

Concernant les essais réalisés avec ajout de MES traitées par autoclave, on peut observer exactement le même phénomène que pour l'effet de l'ajout de MES sur la variation des concentrations bactériennes initiales, qui peut être considérée comme comparable sur les échantillons de chaque journée de prélèvement.

Les résultats obtenus avec des MES traitées par autoclave (**Figure 7b**) sont très cohérents vis-à-vis de ceux avec des MES brutes. Les essais avec ajout de MES brutes et traitées par autoclave ont été réalisés le 7 novembre 2018. À cette date, aucune influence négative des MES traitées par autoclave sur la concentration résiduelle d'*Escherichia coli* n'a été observée jusqu'aux concentrations de 23-26 mg/L de MES, alors qu'on observe bien une influence à partir de 30 mg/L avec les MES brutes. De même, l'effet négatif des MES traitées par autoclave n'a pu être observé sur la concentration résiduelle d'entérocoques intestinaux à partir d'une concentration de 14-15 mg/L de MES, tandis que cela a été le cas à partir d'une concentration de 12-20 mg/L de MES brutes. Pour les autres essais avec MES traitées par autoclave (6 février 2019 et 13 février 2019), aucune influence des MES traitées par autoclave n'a été constatée lors des essais du 6 février 2019, que ce soit pour *Escherichia coli* ou pour les entérocoques intestinaux, mais une hausse de la concentration résiduelle d'*Escherichia coli* a été détectée lors des essais du 13 février 2019 à partir de 14-15 mg/L de MES.

Ces résultats tendent à confirmer que la concentration en MES dans les eaux usées à désinfecter constitue un paramètre clé. En effet, cette concentration peut engendrer un effet négatif sur l'efficacité de la désinfection au PFA puisque la teneur en MES augmente même si les concentrations bactériennes initiales sont stables. De plus, la sensibilité des entérocoques intestinaux aux hausses de la teneur en MES semble être supérieure à celle d'*Escherichia coli*, bien que le mécanisme précis expliquant cet effet n'ait pas encore été clairement identifié. Ainsi, d'autres expériences doivent être menées pour confirmer cet effet et déterminer si les MES protègent véritablement les bactéries contre le PFA ou si les MES rongent une fraction du PFA, réduisant ainsi la dose réelle appliquée.

### 5.3. Efficacité du PFA pour éliminer les bactéries indicatrices fécales dans les eaux usées brutes et décantées

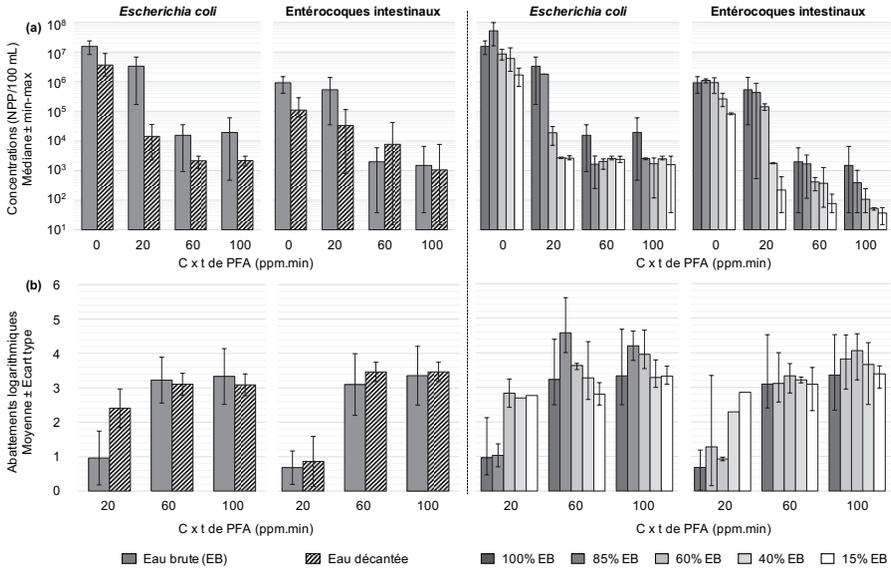
Plusieurs essais de désinfection au PFA ont été réalisés au sein d'eaux partiellement traitées afin d'étudier l'évolution du rapport  $C \times t$  de PFA requis pour atteindre un abattement donné avec une application de PFA au sein d'eaux usées de qualité extrêmement altérée. Quelques études ont porté sur l'efficacité de la désinfection au PFA d'eaux usées décantées (Gehr *et al.*, 2009) ou de rejets unitaires de temps de pluie (Chhetri *et al.*, 2014, 2015; McFadden *et al.*, 2017; Tondera *et al.*, 2016), mais cette solution est rarement envisagée pour réduire l'apport de bactéries indicatrices fécales dans le fleuve.

Ces expériences ont été réalisées à l'aide de la même méthode de désinfection en laboratoire que celle décrite plus tôt (**Figure 2c**) sur des échantillons distincts d'eaux usées brutes et d'eaux usées décantées (effluents à décantation lamellaire physico-chimique) provenant de l'usine Seine Centre (SEC, Hauts-de-Seine, 900 000 EH). Cette usine traite chaque jour 240 000 m<sup>3</sup> d'eaux usées parisiennes grâce à des procédés de prétraitement, de décantation lamellaire physico-chimique et de biofiltration en trois phases servant à éliminer la pollution au carbone et à l'azote. L'organisation de cette usine est présentée en détails dans Rocher *et al.* (2012). Les eaux usées brutes ont également été diluées avec de l'eau distillée afin de créer des échantillons de rejets unitaires artificiels. Quatre dilutions contenant respectivement 15, 40, 60 et 85 % d'eaux usées ont été appliquées. On considère que les échantillons comportant 40 % d'eaux usées brutes simulent le débit initial d'un rejet unitaire, et que 15 % des échantillons simulent les rejets typiques (Chhetri *et al.*, 2014; Passerat *et al.*, 2011).

Les essais de désinfection au PFA ont été réalisés sur cinq échantillons différents pour les eaux usées décantées (25 mars 2019 et 2, 6, 9 et 13 mai 2019) et sept pour les eaux usées brutes et les eaux usées brutes diluées (11, 13 et 18 décembre 2018 et 2, 6, 9 et 13 mai 2019). Pour chaque essai, un temps de contact de 10 minutes a été respecté à des concentrations de PFA de 2, 6 et 10 ppm, donnant lieu à des doses de PFA  $C \times t$  de 20 à 100 ppm.min. Concernant les eaux usées brutes diluées, trois échantillons (11, 13 et 18 décembre 2018) correspondaient à 60 % ou 85 % d'eaux usées et quatre échantillons (2, 6, 9 et 13 mai 2019) correspondaient à 15 % ou 40 % d'eaux usées. La qualité globale des sept échantillons d'eaux usées brutes (avant dilution) était normale, avec des concentrations moyennes de :  $190 \pm 68$  mg/L pour les MES,  $24,9 \pm 14,1$  mg C/L pour le COD,  $356 \pm 101$  mg  $O_2$ /L pour la DCO,  $121 \pm 63$  mg  $O_2$ /L pour la DBO5,  $38,7 \pm 6,1$  mg N/L pour le NTK, et  $3,8 \pm 0,8$  mg P/L pour le PT. La qualité globale des cinq échantillons d'eaux usées décantées de SEC était normale, avec des concentrations moyennes de :  $35 \pm 10$  mg/L pour les MES,  $31,3 \pm 17,3$  mg C/L pour le COD,  $161 \pm 49$  mg  $O_2$ /L pour la DCO,  $48,7 \pm 12,2$  mg  $O_2$ /L pour la DBO5,  $37,5 \pm 7,5$  mg N/L pour le NTK, et  $1,5 \pm 0,8$  mg P/L pour le PT.

La **Figure 8** présente les résultats des essais de désinfection au PFA effectués sur des eaux usées brutes, décantées et brutes diluées provenant de l'usine SEC. Les résultats de gauche comparent les eaux usées brutes et décantées, et ceux de droite les résultats des eaux usées brutes diluées. Dans les deux cas, les concentrations médianes en bactéries sont indiquées en haut de la figure avec des barres d'erreur représentant les valeurs min et max, tandis que les abattements logarithmiques et les écarts-types sous forme de barres d'erreur sont représentés au bas de la figure.

Performances de désinfection et facteurs d'influence



**FIGURE 8. Concentrations (a) et abattements (b) des bactéries indicatrices fécales (*Escherichia coli* et entérocoques intestinaux) avant et après désinfection par acide performique (PFA) injecté à différentes concentrations avec un temps de contact de 10 min (C x t en ppm.min). Les figures de gauche présentent les résultats sur des eaux non traitées (Eau brute) et partiellement traitées (Eau décantée) et les figures de droites présentent les résultats pour des eaux reconstituées à différentes qualités en fonction de la part d'eau brute contenue**

S'agissant des eaux usées partiellement traitées, les concentrations initiales d'*Escherichia coli* et d'entérocoques intestinaux sont – logiquement – supérieures à celles des rejets de l'usine SEV (2-3 log pour *Escherichia coli* et 1-2 log pour les entérocoques intestinaux).

Pour les eaux usées brutes, un C x t de 100 ppm.min est insuffisant pour réduire les concentrations des deux bactéries en dessous des limites de 330 et 990 NPP/100 mL requises pour atteindre la qualité d'eaux de baignade. La hausse du C x t dans ce type d'eaux permet d'augmenter l'abattement logarithmique de  $0,96 \pm 0,78$  à 20 ppm.min à  $3,23 \pm 0,67$  à 60 ppm.min et à  $3,33 \pm 0,81$  à 100 ppm.min pour *Escherichia coli*, et de  $0,68 \pm 0,48$  à 20 ppm.min à  $3,10 \pm 0,89$  à 60 ppm.min et à  $3,35 \pm 0,85$  à 100 ppm.min pour les entérocoques intestinaux.

Pour les eaux usées décantées, un C x t de 100 ppm.min est insuffisant pour réduire les concentrations des deux bactéries en dessous des limites de 330 et 990 NPP/100 mL requises pour atteindre la qualité d'eaux de baignade. La hausse du C x t dans ce type d'eaux permet d'augmenter l'abattement logarithmique de  $2,41 \pm 0,56$  à 20 ppm.min à  $3,10 \pm 0,32$  à 60 ppm.min et à  $3,09 \pm 0,31$  à 100 ppm.min pour *Escherichia coli*, et de  $0,86 \pm 0,73$  à 20 ppm.min à  $3,46 \pm 0,28$

à 60 ppm.min et à  $3,46 \pm 0,28$  à 100 ppm.min pour les entérocoques intestinaux. Les abattements logarithmiques sont donc comparables (pour des doses de 60 et 100 ppm.min) ou légèrement supérieurs (pour 20 ppm.min) dans les eaux usées décantées par rapport aux eaux usées brutes, mais les concentrations bactériennes résiduelles sont inférieures du fait des concentrations initiales moins élevées. Un  $C \times t$  supérieur à 100 ppm.min est donc requis pour désinfecter efficacement des eaux usées brutes ou décantées, contre un  $C \times t$  de 10-20 ppm.min pour les rejets de l'usine SEV.

À la connaissance des auteurs, la littérature scientifique ne recense aucun résultat concernant l'efficacité du PFA sur les eaux usées brutes. En revanche, des expériences similaires ont été menées par Gehr *et al.* (2009) sur des effluents traités de manière physico-chimique (10-100 mg/L de MES et 37-238 mg O<sub>2</sub>/L de DCO). Sur des échantillons, avec un temps de contact de 10 minutes, des abattements des coliformes fécaux d'environ 3 log ont été obtenus avec une dose de 5 ppm.min de PFA, légèrement supérieurs à 3 log avec 20 ppm.min et jusqu'à 6 log avec 40 ppm.min. Sur prototype, avec un temps de contact de 45 minutes, des abattements moyens des coliformes fécaux de 0,5 log pour une dose de 45-50 ppm.min de PFA, de 2,5 log pour 90-135 ppm.min, de 3 log pour 135-180 ppm.min et jusqu'à 5,5 log pour 225-270 ppm.min. Pour les entérocoques intestinaux, des abattements de 4 à 6 log ont été observés pour un temps de contact de 45 minutes pour une dose de 225-270 ppm.min de PFA.

En ce qui concerne les rejets unitaires de temps de pluie artificiels, les concentrations initiales d'*Escherichia coli* et d'entérocoques intestinaux ont toutes deux chuté avec la dilution d'eaux usées brutes, affichant un écart maximal de près d'1 log entre les concentrations au sein d'eaux usées à 100 % et 15 % brutes.

Pour *Escherichia coli*, la hausse du taux de dilution a entraîné une hausse de la concentration résiduelle à une dose de 20 ppm.min de PFA, avec des concentrations médianes respectives de : 3 332 461, 1792 500, 18 863, 2 695 et 2 598 NPP/100 mL pour des eaux usées brutes à 100, 85, 60, 40 et 15 %. Toutefois, à 60 et 100 ppm.min, les concentrations bactériennes résiduelles étaient similaires avec les différents taux de dilution, soit autour de 1000-3 000 NPP/100 mL. Ces valeurs étaient corrélées à une hausse de l'abattement logarithmique au sein d'eaux usées de 85 % à 100 % brutes et dans des eaux usées davantage diluées pour un  $C \times t$  de 20 ppm.min, passant d'environ 1 log à un peu moins de 3 log, contrairement aux doses de 60 et 100 ppm.min, pour lesquelles le taux de réduction logarithmique s'est stabilisé entre 3 et 4,5 log.

Pour les entérocoques intestinaux, une chute de la concentration résiduelle obtenue en haussant le taux de dilution a pu être observée pour les trois  $C \times t$ . Par exemple, les concentrations médianes au-delà d'une dose de 100 ppm.min

de PFA étaient respectivement de 1495, 391, 107, 54 et 37 NPP/100 mL pour des eaux usées brutes à 100, 85, 60, 40 et 15 %. Comme pour *Escherichia coli*, l'abattement logarithmique des entérocoques intestinaux a augmenté avec une dose de 20 ppm.min de PFA, passant de 1 à 3 log, mais est resté stable à 60 et 100 ppm.min, entre 3 et 4 log.

Par conséquent, pour les deux bactéries, et sauf en cas de faible  $C \times t$  de 20 ppm.min, l'abattement logarithmique était relativement stable pour les différents taux de dilution, et la concentration initiale inférieure due à la dilution a permis d'améliorer les concentrations bactériennes résiduelles.

Plusieurs études ont été réalisées sur la désinfection de rejets urbains de temps de pluie (RUTP) au PFA (Chhetri *et al.*, 2014, 2015 ; McFadden *et al.*, 2017 ; Tondera *et al.*, 2016). En particulier, Chhetri *et al.* (2014) ont mené des essais de désinfection en laboratoire sur des eaux usées brutes diluées (brutes à 5, 15 et 40 %) et ont obtenu des abattements logarithmiques comparables aux abattements observés avec les eaux usées brutes diluées de SEC. Les taux d'élimination des entérocoques intestinaux étaient respectivement de 1 et 3,5 log pour une dose de 40 et 80 ppm.min de PFA au sein d'eaux usées brutes à 40 %, ce qui correspond au premier rinçage. Pour les eaux usées brutes à 5 %, qui correspondent au maximum d'un événement de déversement, les taux de réduction étaient plus importants, soit respectivement de 4 et 3,5 log pour *Escherichia coli* et les entérocoques intestinaux pour une dose de 20 ppm.min de PFA, ou jusqu'à 5 log pour 80 ppm.min. Tondera *et al.* (2016) ont étudié l'application du PFA à l'échelle industrielle sur des RUTP avec un  $C \times t$  considérablement supérieur à la présente étude, et des concentrations de PFA comprises entre 12 et 24 ppm pour un temps de contact maximal de 30 minutes. Des réductions bactériennes de 100-1000 UFC/100 mL ont été obtenues tant pour *Escherichia coli* (concentration initiale : 106 UFC/100 mL) que pour les entérocoques intestinaux (concentration initiale : 106 UFC/100 mL). Les abattements logarithmiques associés étaient de :  $3,1 \pm 1,7$  log pour *Escherichia coli*, et de  $2,6 \pm 1,5$  log pour les entérocoques intestinaux. Des abattements comparables ont été observés par Chhetri *et al.* (2015) à l'échelle industrielle avec des concentrations initiales comparables, des concentrations de PFA inférieures comprises entre 4 et 8 ppm et un temps de contact de 20 minutes (Ce qui correspond à des doses de PFA  $C \times t$  comprises entre 80 et 160 ppm.min). Ces auteurs ont également recommandé de réguler la dose de PFA injectée en fonction de la qualité de l'eau, puis d'appliquer un traitement dans les 60 minutes suivant un événement à une dose de PFA supérieure que le reste du RUTP.

Concernant la dose  $C \times t$  de PFA requise pour parvenir à une désinfection efficace, une dose de 100 ppm.min était insuffisante pour abaisser la concentration

médiane d'*Escherichia coli* en dessous de la limite de qualité d'eaux de baignade de 900 NPP/100 mL pour tous types d'eaux usées brutes diluées. En revanche, les concentrations résiduelles obtenues avec une dose de 100 ppm.min de PFA variaient entre 38 et 3 050 NPP/100 mL sur les eaux usées brutes à 15 % lors de deux des quatre essais où les concentrations étaient inférieures à 900 NPP/100 mL après désinfection. À l'inverse, une dose  $C \times t$  comprise entre 60 et 100 ppm.min a suffi à abaisser la concentration médiane d'entérocoques intestinaux en dessous de la limite de qualité d'eaux de baignade de 330 NPP/100 mL pour les eaux usées diluées comportant 60 % maximum d'eaux usées brutes. Pour des eaux usées brutes à 15 %, un  $C \times t$  de 20 ppm.min semble permettre une réduction de la concentration médiane d'entérocoques intestinaux sous la barre des 330 NPP/100 mL. Ainsi, on peut émettre l'hypothèse qu'une dose  $C \times t$  de PFA d'environ 100 ppm.min serait nécessaire pour désinfecter les rejets unitaires parisiens, soit 5 à 10 fois plus que pour les rejets de l'usine SEV. Par conséquent, dans le cas d'une injection de PFA en flux continu avec des temps de contact très limités, soit entre 1 et 5 minutes, et considérant l'hypothèse selon laquelle la concentration et le temps auraient le même effet sur l'efficacité de la désinfection, la dose de PFA nécessaire serait comprise entre 20 et 100 ppm, ce qui représente une quantité significative de carbone pénétrant dans le fleuve, théoriquement entre 15,8 et 79 mg C/L respectivement (1 ppm de PFA apportant 0,79 ppm de C). Pour limiter cette quantité de carbone à un seuil de 1 à 2 mg C/L, comme c'est le cas au sein des rejets de l'usine SEV, il faudrait ériger des réservoirs de contact grand volume dédiés pour garantir un temps de contact compris entre 50 et 100 minutes.

En plus d'un  $C \times t$  sensiblement supérieur, qui impliquerait d'importants temps de contact ou le rejet d'importantes quantités de carbone dans le fleuve, la désinfection au PFA d'eaux usées non biologiquement traitées pourrait entraîner un risque plus important de créer des sous-produits puisque les eaux usées brutes ou décantées et les rejets unitaires de temps de pluie contiennent une quantité supérieure de particules et de matières organiques. Les **Chapitres 3 et 4 de la Partie 1** fournissent de plus amples informations à ce sujet.

## 6. EFFICACITÉ DU PFA SUR LES AUTRES MICRO-ORGANISMES

Outre *Escherichia coli* et les entérocoques intestinaux, des analyses de bactériophages F spécifiques et de spores de bactéries anaérobies sulfitoréductrices (SSR) ont par ailleurs été menées dans le cadre de cinq essais de désinfection

au PFA (11-18 septembre 2018, 30 janvier 2019 et 6-12 février 2019) afin d'obtenir des informations sur l'efficacité du PFA sur d'autres pathogènes. Pour rappel, ces essais ont été réalisés avec des concentrations de PFA comprises entre 0,8 et 2 ppm pour un temps de contact de 10 minutes sur des échantillons de rejets de l'usine SEV. Ces deux paramètres ont été analysés conformément aux normes ISO 10705-3 et NF EN ISO 10705-1 pour les bactériophages F spécifiques, et à la norme NF EN 26461-2 pour les spores de bactéries anaérobies sulfitoréductrices. Les concentrations observées avant et après désinfection ainsi que les taux de réduction logarithmiques sont présentés dans le **Tableau 1**.

**TABLEAU 1. Concentrations (UFC/100 mL) et abattements logarithmiques (Unités log) des spores de bactéries anaérobies sulfitoréductrices (SSR) et des bactériophages ARN-f pour différents échantillons (Ech.) avant et après désinfection par acide performique (PFA) injecté à différentes concentrations avec un temps de contact de 10 min (C x t en ppm.min)**

	SSR				bactériophages F spécifiques			
	Concentrations			Abattement	Concentrations		Abattement	
	UFC/100 mL			U log	UFC/100 mL		U log	
Désinfection ppm.min	0	8-12	20	8-20	8-12	20	8-20	
<b>Ech. 1</b>	80	7	2	1,06-1,60	33	30	-	
<b>Ech. 2*</b>	5200	89	<1	1,77 - >3,72	33	<30	>0,04	
<b>Ech. 3*</b>	6400	4700		0,13	<30	<30	?	
<b>Ech. 4</b>	6400	6500		-	<30	<30	?	
<b>Ech. 5</b>	2170	5000		-	<30	<30	?	
<b>Ech. 6</b>	1800	1500	675	0,08-0,43				
<b>Ech. 7</b>	5000	6300	5900	-				
<b>Médiane</b>	5000	4700	339		<30	<30	<30	

\*Echantillons réalisés lors d'une période de fonctionnement dégradé de l'usine Seine Valenton (temps de pluie)

Des SSR ont été détectées dans les sept échantillons de rejets de l'usine SEV, avec une concentration médiane de 5000 UFC/100 mL, tandis que des bactériophages F spécifiques ont été détectés dans seulement deux des cinq échantillons étudiés, avec une concentration proche de la limite de quantification de 30 UFC/100 mL. L'activité de l'usine SEV (normale ou altérée) n'a eu aucun impact sur les concentrations initiales de ces pathogènes. Ces concentrations correspondaient à la plage de données mesurées sur les rejets de l'usine SEV par le SIAAP au cours de la période 2014-2017, avec

des valeurs médianes  $\pm$  min-max de  $860 \pm 4-2700$  UFC/100 mL pour les SSR (n = 27 valeurs) et de  $150 \pm 14-7800$  UFC/100 mL pour les bactériophages F spécifiques (n = 27 valeurs), bien qu'elles se situent en haut de la plage pour les SSR et en bas pour les bactériophages F spécifiques.

L'application de PFA selon un rapport C  $\times$  t limité de 8-20 ppm.min semble n'exercer que peu, voire aucun effet sur les SSR dans cinq des sept essais, avec des abattements logarithmiques inférieurs à 0,5, mais des abattements meilleurs (entre 1 et 4 log) ont été obtenus dans les mêmes conditions aux deux autres essais. L'effet du PFA sur les bactériophages F spécifiques n'a pas pu être déterminé à la lumière des très faibles concentrations initiales proches de la limite de quantification. L'effet du PFA sur les autres pathogènes outre *Escherichia coli* et les entérocoques intestinaux dans les rejets de l'usine SEV est donc incertain, et des expériences complémentaires devraient être menées.

S'agissant de l'abattement des bactéries, la plupart des études ont démontré l'efficacité du PFA. Ainsi, Tondera *et al.* (2016) ont notamment démontré des abattements des coliformes fécaux *Aeromonas spp.* et *Clostridium perfringens* correspondant à 1,8 à 3,1 log dans les rejets unitaires de temps de pluie à une concentration de 12 à 24 ppm de PFA pour un temps de contact de 30 minutes (dose C  $\times$  t de 360-720 ppm.min). La bonne efficacité du PFA sur les coliformes fécaux a également été démontrée dans la majeure partie des publications (Gehr *et al.*, 2009; Karpova *et al.*, 2013; Luukkonen & Pehkonen, 2017; Ragazzo *et al.*, 2013). Par ailleurs, Karpova *et al.* (2013) ont observé un abattement logarithmique de *Salmonella spp.* de 3 log pour un C  $\times$  t de 20 ppm.min.

En ce qui concerne les spores et les kystes, tels que *Clostridium spp.* ou *Giardia spp.*, ceux-ci ont été identifiés comme étant plus récalcitrants au PFA (Karpova *et al.*, 2013) ou au PAA (Luukkonen & Pehkonen, 2017). Une dose C  $\times$  t de PFA de 10 ppm.min appliquée à un rejet d'usine d'épuration donne effectivement un abattement limité de moins de 1 log pour *Clostridium spp.* et *Giardia spp.* (Karpova *et al.* 2013). Dans les rejets unitaires de temps de pluie, Tondera *et al.* (2016) n'ont observé aucun taux d'élimination significatif de *Giardia lamblia* malgré un C  $\times$  t important de 360-720 ppm.min. Gehr *et al.* (2009) ont eux observé des taux d'élimination de *Clostridium* de 1-2 log avec un C  $\times$  t de PFA de 450-540 ppm.min au sein d'effluents traités par voie physico-chimique. Dans l'ensemble, l'efficacité de la désinfection au PFA est plus importante qu'avec le PAA sur *Clostridium* (Mora *et al.*, 2018).

Quant aux bactériophages, il a été observé que les bactériophages MS2 et à ADN étaient plus sensibles au PFA que les entérocoques intestinaux et *Escherichia coli* (Karpova *et al.*, 2013). En effet, ces auteurs ont signalé des

abattements des bactériophages MS2 et ADN de 1 log pour un  $C \times t$  limité de PFA de 17-22 ppm.min. Gehr *et al.* (2009), quant à eux, ont observé des taux d'élimination de bactériophages F spécifiques de 1-2 log avec un  $C \times t$  de PFA de 450-540 ppm.min au sein d'effluents traités par voie physico-chimique. Des abattements logarithmiques de coliphages somatiques correspondant à  $2,7 \pm 1,6$  ont été relevés au sein de rejets unitaires de temps de pluie par Tondera *et al.* (2016) avec un  $C \times t$  de PFA très élevé de 360-720 ppm.min. Au sein de rejets d'usines d'épuration, Karpova *et al.* (2013) ont observé des taux d'élimination plus importants de coliphages somatiques, correspondant à 4 log, avec un  $C \times t$  sensiblement inférieur de 10 ppm.min.

S'agissant de virus humains du type adénovirus, polyomavirus, norovirus, rotavirus et entérovirus, il n'existe aucune donnée pour le PFA, mais il a été constaté que le PAA était inefficace. Tondera *et al.* (2016) ont démontré que les virus n'étaient pas inactivés par le PAA, même avec un  $C \times t$  important de 120-240 ppm.min. Toutefois, Luukkonen & Pehkonen (2017) ont indiqué que le mécanisme d'inactivation des virus par le PAA pouvait endommager la surface du virus, et notamment l'enveloppe protéinique des sites nécessaires pour infecter les cellules hôtes. Ces informations n'ont pas été signalées pour le PFA.

Ainsi, ces éléments indiquent que pour les virus, les spores, les kystes ou les bactériophages présents dans les rejets d'usines d'épuration, un  $C \times t$  de PFA plus important que pour *Escherichia coli* et les entérocoques intestinaux serait requis pour permettre leur élimination.

## Points clés

- Au sein des rejets de l'usine Seine Valenton (SEV), le rapport  $C \times t$  pour l'acide performique (PFA) nécessaire pour atteindre un taux de désinfection donné est 2 à 4 fois inférieur à celui de l'acide peracétique, donnant ainsi un risque considérablement moins important de pénétration de carbone dans le fleuve.
- Les essais de désinfection au PFA en laboratoire réalisés sur les rejets de l'usine SEV indiquent qu'un rapport  $C \times t$  de PFA de 10-20 ppm.min est suffisant pour garantir une réduction des concentrations d'*Escherichia coli* et d'entérocoques intestinaux en-dessous des seuils respectifs de 900 et 300 NPP/100 mL. Les entérocoques intestinaux sont plus résistants au PFA qu'*Escherichia coli* dans les eaux usées.
- Les concentrations résiduelles d'*Escherichia coli* et d'entérocoques intestinaux après désinfection avec un rapport  $C \times t$  de PFA donné

sont corrélées aux concentrations bactériennes initiales, mais également aux matières en suspension (MES) et à la demande chimique en oxygène (DCO), qui constituent de bons substituts pour réguler la dose de PFA injectée.

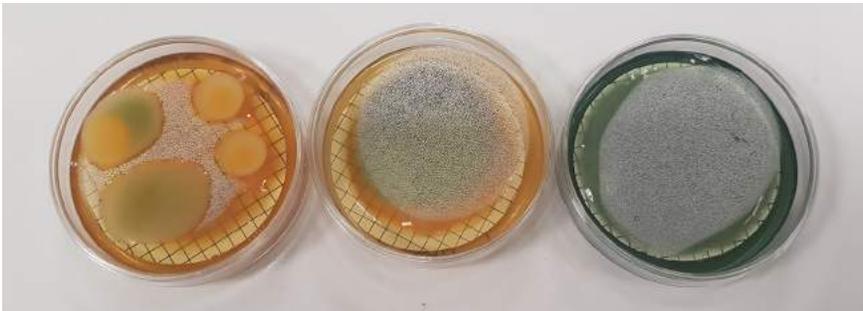
- La teneur en MES a un impact sur l'efficacité de la désinfection au PFA puisqu'elle augmente la concentration bactérienne initiale et a un effet intrinsèque au-delà de 20 mg/L de MES.
- Le PFA est efficace pour éliminer les bactéries indicatrices fécales des rejets unitaires de temps de pluie ou d'eaux usées partiellement traitées, mais avec un rapport  $C \times t$  de 100 ppm.min minimum. Ceci signifie qu'il faut un important dosage de PFA, et donc injecter d'importantes quantités de carbone dans le fleuve ou augmenter les temps de contact, en plus d'augmenter les risques d'évolution des matières organiques et de formation de sous-produits.
- Les informations disponibles concernant l'effet du PFA sur les autres pathogènes sont limitées, mais le peu d'écrits existants indiquent, tout comme les résultats des essais sur les rejets de l'usine SEV, un effet limité avec un  $C \times t$  de 10-20 ppm.min sur les spores, les kystes, les bactériophages et les virus humains. Ce point devrait néanmoins faire l'objet d'études plus approfondies.



# Chapitre 2

## Reviviscence et viabilité des bactéries indicatrices fécales après une désinfection au PFA

---



© Thierry Pigot, UPPA

### 1. INTRODUCTION

L'efficacité bactéricide de l'acide performique (PFA) sur les germes de contamination fécale est aujourd'hui bien documentée et est démontrée dans cet ouvrage (cf. **Partie 1 – Chapitre 1**). Or, dans le cadre d'un traitement tertiaire de désinfection, il est important d'évaluer le potentiel de reviviscence des germes présents dans les eaux traitées. Ce point est particulièrement important lorsqu'une réutilisation des eaux usées est envisagée. L'inactivation bactérienne peut en effet entraîner comme réaction première la production de bactéries viables mais non cultivables, et différents processus de réparation peuvent réactiver leur capacité de reproduction après un certain temps (généralement plusieurs heures). Ce phénomène a été étudié dans le cadre de procédés de désinfection connus et utilisés à l'échelle industrielle pendant plusieurs années

(UV-C, chloration, ozone) ou dans le cadre de procédés d'oxydation avancée (ex. : photocatalyse, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

Le phénomène de réparation cellulaire dans le cadre d'une désinfection d'eaux usées par UV-C a été attesté par plusieurs études (Bohrerova & Linden, 2007; Bohrerova *et al.*, 2015). Ce procédé de désinfection, dépendant de la dose d'UV, semble s'arrêter après une durée de 24 heures de rayonnements (Oguma *et al.*, 2002) et plusieurs mécanismes de réparation des bactéries ont été identifiés, dans l'obscurité pour certains, et photoinitiés pour d'autres (Shang *et al.*, 2009).

De même, l'ozonation d'un effluent secondaire donne lieu à une reviviscence des *Escherichia coli* et des coliformes (Malvestiti & Dantas, 2018). Habituellement, la présence des radicaux hydroxyles, générés principalement par l'association de l'ozone et du peroxyde d'hydrogène (O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), empêche la reviviscence bactérienne. En revanche, en présence de certaines espèces chimiques, telles les nitrates ou les carbonates, les radicaux sont inhibés et la reviviscence favorisée. Ce phénomène de reviviscence peut être empêché par effet synergique de l'ozonation associée à une photocatalyse (Mecha *et al.*, 2017) alors qu'un traitement tertiaire par photocatalyse seule (TiO<sub>2</sub>/UV-A) n'empêche rien (Biancullo *et al.*, 2019).

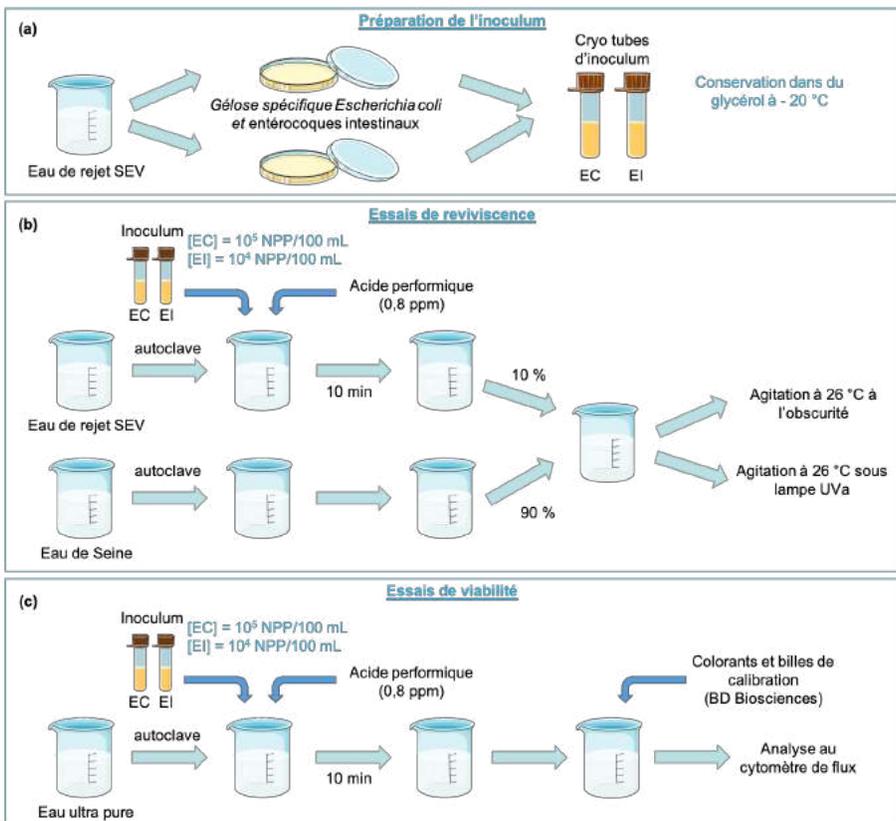
Dans le cadre de la chloration, une reviviscence bactérienne peut se produire, en particulier lorsque les doses appliquées sont faibles (Li *et al.*, 2013), mais cela dépend amplement des micro-organismes étudiés. À titre de comparaison, plusieurs études ont indiqué que la reviviscence bactérienne était plus lente lors d'une désinfection photoinitiée au peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/soleil) qu'avec la chloration (Fiorentino *et al.*, 2015; Giannakis *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2013).

Pour la désinfection aux peracides, des résultats obtenus récemment avec de l'acide peracétique (PAA) ont montré qu'avec une dose adaptée, la reviviscence des cellules planctoniques ou de biofilms était empêchée (Zhang *et al.*, 2019b). Cette dose dépend de la quantité de matières organiques dissoutes (MOD) présentes dans les eaux usées. Pour ces micro-organismes, la chloration requiert des doses plus faibles pour empêcher la reviviscence mais est bien plus sensible à la présence de MOD. Zhang *et al.* (2019a) ont également démontré que si, utilisés en quantités suffisantes, le PAA et le chlore empêchaient tous deux la reviviscence bactérienne, ils étaient inefficaces face au plasmide intégré dans l'ADN des bactéries. À notre connaissance, aucune donnée n'a été publiée concernant le PFA sur le plan de ces expériences.

Par conséquent, ce chapitre a deux objectifs : étudier le potentiel de reviviscence des bactéries (*Escherichia coli* et entérocoques intestinaux) dans un milieu traité à l'acide performique et fournir des informations concernant l'état des bactéries après désinfection.

## 2. REVIVISCENCE DES BACTÉRIES INDICATRICES FÉCALES APRÈS DÉSINFECTION AU PFA

La procédure expérimentale adoptée pour étudier la reviviscence bactérienne est synthétisée **Figure 9** ; elle a été adaptée à partir d'études antérieures (Fiorentino *et al.*, 2015 ; Zhou *et al.*, 2017). La **Figure 9a** présente la préparation de deux inocula bactériens (*Escherichia coli* et entérocoques intestinaux) à partir d'eaux issues de rejets de l'usine SEV et d'un milieu de culture restrictif gélosé. Une fois ces souches isolées, elles ont été conservées à -20 °C dans un mélange composé de 30 % de glycérol pour 70 % de bouillon de culture.



EC = *Escherichia coli* - EI = Entérocoques intestinaux

**FIGURE 9. Protocoles expérimentaux de préparation (a) des inocula, (b) de réalisation des essais de reviviscence et (c) des tests de viabilité**

Les bactéries ont d'abord été mises en culture dans de la gélose, puis dans un milieu liquide une fois la souche suffisamment développée. Le résultat était une

solution en phase exponentielle décroissante dont la concentration bactérienne a pu être estimée par une mesure d'absorbance à 600 nm (0,1 unité d'absorbance =  $10^7$  bactéries/mL). La suspension bactérienne a ensuite été diluée à une concentration bactérienne correspondant aux concentrations habituelles des rejets de SEV (Rocher & Azimi, 2016) : entre  $10^5$  et  $10^6$  NPP/100 mL pour *Escherichia coli* et entre  $10^4$  et  $10^5$  NPP/100 mL pour les entérocoques intestinaux.

Cette étape du protocole expérimental permet de travailler à partir d'une concentration bactérienne contrôlée composée de souches pures, mais issues de véritables échantillons de rejets de SEV.

Le contrôle cinétique de la reviviscence bactérienne a été réalisé soit par dénombrement à l'aide de microplaques, soit en utilisant de la gélose. Les analyses à la gélose ont été privilégiées sur les échantillons traités au PFA, puisque cette méthode a un plus faible niveau de quantification ( $LQ < 3$  NPP/100 mL). Les plaques microtitres ont été utilisées pour les échantillons de référence non traités présentant des concentrations bactériennes supérieures à  $10^3$  NPP/100 mL. Le point initial a été mesuré avec les deux méthodes pour vérifier qu'elles donnaient des résultats équivalents.

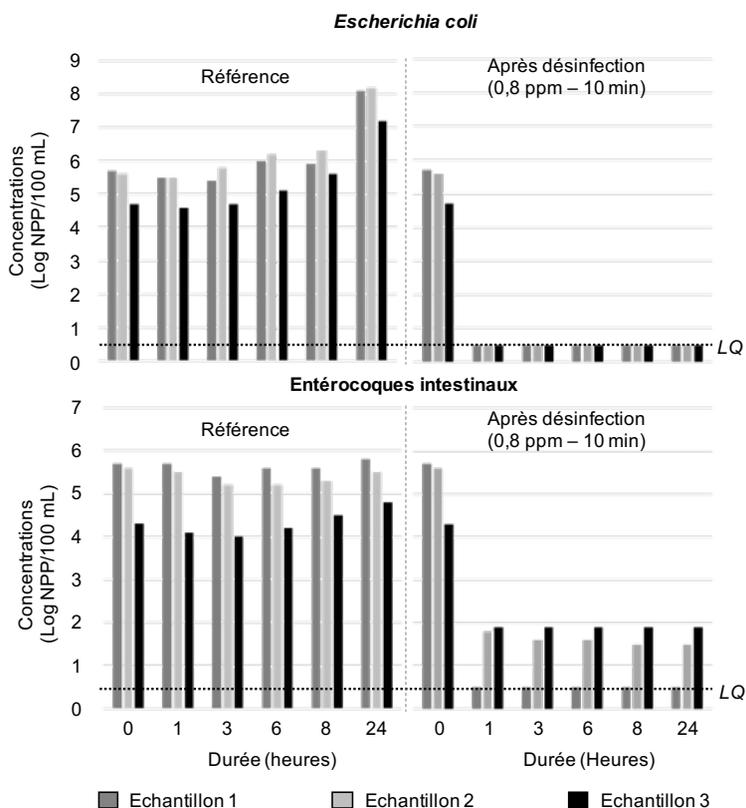
L'étape présentée par la **Figure 9b** est l'introduction d'inoculum bactérien contenant des *Escherichia coli* et des entérocoques intestinaux dans des eaux de rejet traitées par autoclave, cela afin d'obtenir des concentrations réalistes. Une partie de cette suspension bactérienne a été traitée au PFA selon une concentration de 0,8 ppm pendant 10 min (ce qui correspond à une dose  $C \times t$  de 8 ppm.min), et une autre partie a été utilisée comme témoin. L'échantillon traité au PFA a ensuite été mélangé à des eaux de Seine traitées par autoclave (mélange v/v 10/90) afin de mieux simuler le mélange réel des rejets de SEV et des eaux de Seine en sortie d'usine dans un cas défavorable pour la Seine. Une comptabilisation des bactéries cultivables selon les méthodes standards a été réalisée à différents intervalles après la désinfection (jusqu'à 24 heures) sur les deux échantillons.

Deux conditions d'expérimentation ont été appliquées lors des essais :

- Une reviviscence à température ambiante en conditions d'éclairage de laboratoire, sous une température constante (26 °C). Cette expérience a été réalisée en triple.
- Une reviviscence en conditions de rayonnements simulant le spectre solaire (lampes à lumière visible + lampes UV-A) à température ambiante (26 °C). Cette expérience a été réalisée en double. Ces expériences ont été menées dans une chambre à température contrôlée équipée de quatre néons fluorescents. La distance entre les néons et l'échantillon a

été réglée de manière à ce que la puissance lumineuse soit comparable à celle des rayons du soleil (soit entre 4 et 6 mW.cm<sup>-2</sup> dans la plage d'UV-A). Les mesures ont été contrôlées par un spectroradiomètre (CAS 120, Instrument Systems).

Le résultat des essais sous éclairage de laboratoire est illustré sur la **Figure 10**. Au temps initial (t = 0 h), les trois histogrammes correspondent aux concentrations initiales de bactéries indicatrices fécales (BIF) au sein des échantillons non désinfectés. Aux autres temps (t = 1, 3, 6, 8 et 24 h), les histogrammes présentés à gauche correspondent à l'évolution des échantillons témoins non désinfectés, et les histogrammes sur la droite correspondent à ces mêmes échantillons désinfectés à une dose de 8 ppm.min de PFA. Chaque couleur correspond ainsi à une série d'expérience.



**FIGURE 10.** Évolution des concentrations logarithmiques (log NPP/100 mL) des bactéries indicatrices fécales (*Escherichia coli* et entérocoques intestinaux) sur une durée de 24 heures avant et après désinfection à l'acide performique à une concentration de 0,8 ppm avec un temps de contact de 10 min en conditions d'éclairage de laboratoire.

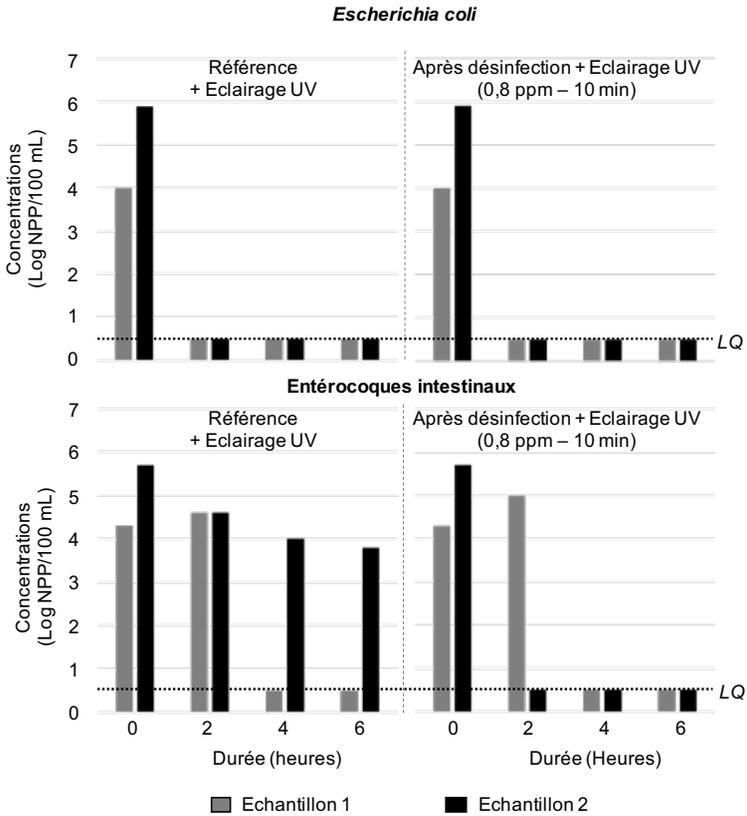
Pour les *Escherichia coli*, les concentrations des trois échantillons non désinfectés (correspondant aux prélèvements des 10 juillet 2018, 17 juillet 2018 et 25 septembre 2018) ont augmenté sur les 24 heures de suivi. Ce résultat indique que les conditions appliquées aux expériences favorisent la croissance bactérienne au sein des échantillons témoins. Ce phénomène est moins visible pour les entérocoques intestinaux.

S'agissant des *Escherichia coli*, l'ajout de 0,8 ppm de PFA a donné des résultats systématiquement inférieurs au seuil de quantification. Aucune bactérie cultivable n'a été quantifiée, cela même après 24 heures, ce qui montre l'absence de reviviscence. Il est à noter que dans les conditions contrôlées de l'expérience, l'efficacité d'élimination des *Escherichia coli* est très bonne et en accord avec les études menées par ailleurs (Ragazzo et al., 2013).

De même pour les entérocoques intestinaux, l'efficacité de désinfection obtenue avec 0,8 ppm de PFA est très bonne. Pour tous les échantillons traités, les concentrations sont inférieures à 80 NPP/100 mL dès la première heure après traitement et restent stables jusqu'à 24 heures après ; voire une légère diminution est constatée pour l'un d'entre eux (échantillon 2). Ainsi, aucune reviviscence des entérocoques intestinaux n'est observée après traitement au PFA.

À date, il s'agit des premiers résultats d'expériences portant sur la reviviscence d'*Escherichia coli* et d'entérocoques intestinaux après une désinfection d'eaux usées au PFA. Comme décrit précédemment, les récents résultats publiés concernent le PAA et ont montré une reviviscence inhibée des bactéries planctoniques et de biofilm après désinfection (Zhang et al., 2019b).

Les résultats de reviviscence bactérienne en conditions de rayonnements simulant le spectre solaire sont illustrés par la **Figure 11**.



**FIGURE 11. Évolution des concentrations logarithmiques (log NPP/100 mL) des bactéries indicatrices fécales (*Escherichia coli* et entérocoques intestinaux) sur une durée de 6 heures avant et après désinfection à l'acide performique à une concentration de 0,8 ppm avec un temps de contact de 10 min en conditions de rayonnements simulant le spectre solaire**

Au temps initial (t = 0 h), les histogrammes correspondent aux concentrations initiales de BIF au sein des échantillons témoins non désinfectés. Aux autres temps (t = 2, 4 et 6 h), les histogrammes présentés à gauche correspondent aux échantillons témoins non désinfectés, et les histogrammes à droite correspondent à ces mêmes échantillons désinfectés à une dose de 8 ppm.min de PFA. Chaque couleur correspond ainsi à une série d'expérience. Il est à noter que pour l'expérience 1 (histogrammes gris), la puissance lumineuse UV-A est de 8 mW.cm<sup>-2</sup> tandis que pour l'expérience 2 (histogrammes noir), la puissance lumineuse UV-A est de 4 mW.cm<sup>-2</sup>.

Avant même la désinfection, les UV-A ont exercé un impact important sur *Escherichia coli* avec une désinfection totale. Les rayonnements solaires simulés ont eu un effet subléthal sur les populations d'*Escherichia coli* dès

2 heures d'exposition, entraînant une perte de la cultivabilité et la formation de cellules viables, mais non cultivables (Muela *et al.*, 2000). Dans ces conditions de rayonnement, la présence de MOD colorées dans la matrice des eaux semble favoriser la formation de dérivés réactifs de l'oxygène tel l'oxygène singulet ou l'anion superoxyde, dont les propriétés bactéricides sont connues (Häder *et al.*, 2015 ; Maraccini *et al.*, 2016).

Les effets de la lumière sur les entérocoques intestinaux sont moins apparents, ces derniers présentant une meilleure résistance aux rayonnements UV-A. La baisse des concentrations sur les échantillons non désinfectés apparaît après une période de latence de 4 heures suivi d'une diminution.

Après ajout de PFA, la concentration bactérienne reste toujours inférieure à la limite de quantification après 4 heures de rayonnements. De plus, que ce soit pour les *Escherichia coli* ou les entérocoques intestinaux, aucune reviviscence n'a été observée lors de cette étude au-delà de 6 heures d'exposition.

### 3. VIABILITÉ DES BACTÉRIES INDICATRICES FÉCALES APRÈS DÉSINFECTION AU PFA

La détermination de la viabilité bactérienne après désinfection a été réalisée par mesure cytométrique qui permet d'observer l'effet d'un traitement biocide ou de comparer différents traitements biocides (Whitton *et al.*, 2018). Le dénombrement par cytométrie en flux a été effectué avec le dispositif BD Accuri C6 (BD Biosciences – Becton Dickinson, France SAS, Grenoble, France). Ce dispositif est équipé d'un détecteur de dispersion et de trois détecteurs d'intensité de fluorescence différente (I1, I2 et I3).

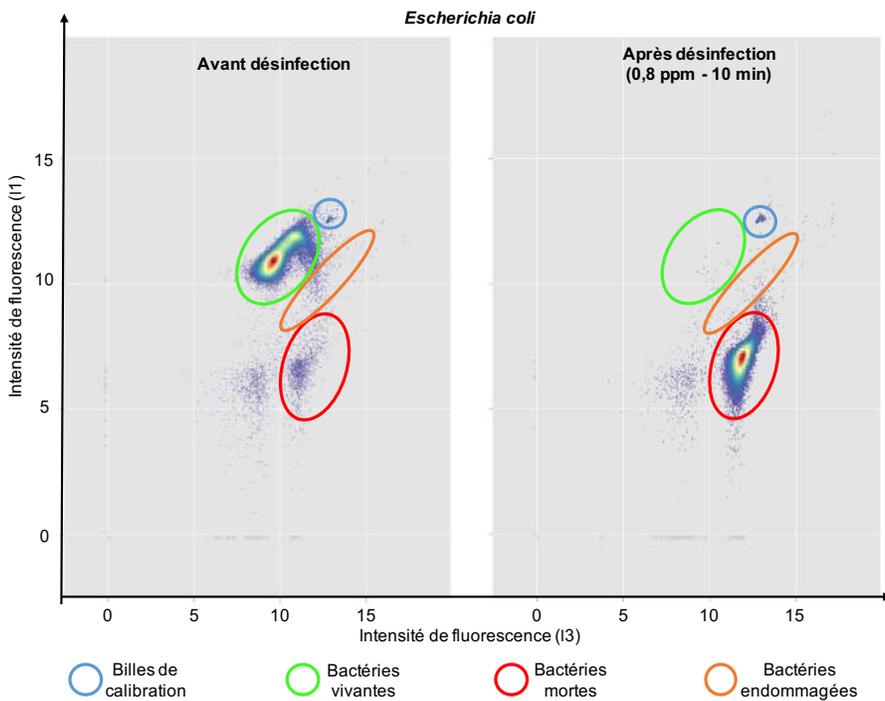
Les analyses de viabilité ont été réalisées à l'aide du kit BD *Cell viability* fourni par BD Biosciences et contenant quatre solutions, à savoir :

- Une solution « billes multicolores » pour assurer le fonctionnement des différents détecteurs du système ;
- Une solution de billes d'étalonnage pour une détermination quantitative des objets analysés ;
- Une solution de thiazole orange (TO) (500 µL à une concentration de 42 µmol/L dans du diméthylsulfoxyde) pour répondre aux détecteurs I1 et I2 et colorer toutes les cellules ;
- Une solution d'iodure de propidium (IP) (500 µL à une concentration de 4,3 mmol/L dans de l'eau) pour répondre à I3 et colorer les cellules lysées.

Après réalisation de 7 étapes de contrôle, l'analyse des échantillons par cytométrie a pu être menée grâce à l'ajout de 5 µL de chaque colorant et de 50 µL de

billes d'étalonnage dans 500  $\mu$ L de chaque échantillon (suspension bactérienne traitée avec 0,8 ppm d'acide performique et suspension non traitée). L'interface logicielle BD Accuri™ C6 Plus a permis d'accéder rapidement aux fonctions de collecte, d'analyse et aux statistiques et les données brutes ont été analysées à l'aide du programme R (Williams, 2011).

La **Figure 12** montre les représentations dérivées de la cytométrie en flux sur une suspension de germes d'*Escherichia coli*, avant et après désinfection avec 0,8 ppm de PFA pendant 10 min ; la concentration initiale d'*Escherichia coli* était d'environ  $10^5$  NPP/100 mL.

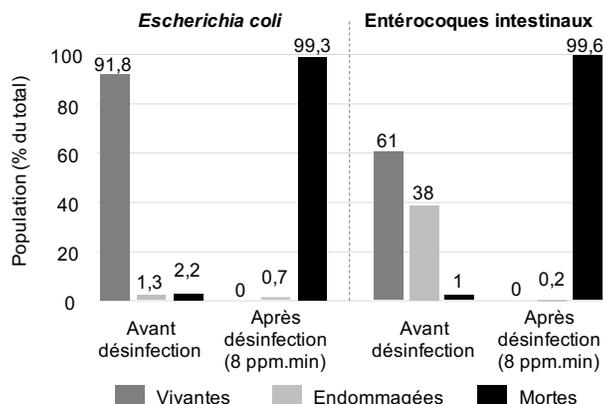


**FIGURE 12. Intensités de fluorescence des *Escherichia coli* obtenues par cytométrie de flux avant et après désinfection à l'acide performique à une concentration de 0,8 ppm avec un temps de contact de 10 min**

Du fait des propriétés d'émission des colorants, le meilleur moyen de distinguer les populations est de suivre les intensités de fluorescence sur I1 et I3.

- Une haute intensité sur I1 couplée avec une faible intensité sur I3 correspond à des bactéries viables ;
- Une hausse de l'intensité sur I3 correspond à des bactéries qui ont déjà été lysées.

La **Figure 13** présente ces mêmes résultats en pourcentages de bactéries détectées, classées comme mortes, vivantes ou endommagées.



**FIGURE 13. État des populations bactériennes (*Escherichia coli* et entérocoques intestinaux) obtenues par cytométrie de flux (en pourcentage de la population totale) avant et après désinfection à l'acide performique à une concentration de 0,8 ppm avec un temps de contact de 10 min ( $C \times t$  en ppm.min)**

Sur la **Figure 12**, la représentation de gauche indique l'état de la population bactérienne d'*Escherichia coli* avant désinfection.

Une importante intensité de fluorescence sur I1 et une faible intensité de fluorescence sur I3 sont observées, ce qui montre une population composée d'une majorité de bactéries vivantes. Après désinfection avec 0,8 ppm de PFA (partie droite de l'illustration), une faible intensité de fluorescence apparaît sur I1 et une forte intensité de fluorescence sur I3, ce qui signifie que les bactéries *Escherichia coli* sont en majorité mortes (99,3 % d'entre elles, cf. **Figure 13**). Des résultats quasi-identiques ont été obtenus sur une suspension d'entérocoques intestinaux (99,6 % de bactéries mortes après un traitement au PFA).

Les **Figure 12** et **Figure 13** révèlent que le PFA cause des dommages irréversibles aux cellules des BIF et, de surcroît, que ces cellules ne sont pas dans un état «viable mais non cultivable» (VNC) après désinfection. Il semble effectivement que les populations entières d'*Escherichia coli* et d'entérocoques intestinaux soient lysées après désinfection au PFA, cela dès la dose de 8 ppm.min, alors que la majeure partie était dans un état vivant ou endommagé avant désinfection. Ces résultats tendent à concorder avec les expériences de reviviscence décrite précédemment dans ce chapitre, ainsi qu'avec des résultats antérieurs obtenus avec le PAA (Antonelli *et al.*, 2013). S'agissant du PAA, plusieurs observations effectuées par microscopie électronique indiquent même qu'outre les dommages aux cellules, des trous apparaissent au centre des cellules (Zhang *et al.*, 2019b);

ces résultats étant attribués à des réactions entre le PAA et les composants cellulaires. Concernant le PFA, sa capacité à oxyder les ponts disulfures (S-S) de l'acide cystéique  $\text{RSO}_3^-$  et la fonction sulfure de la méthionine sur le sulfone de méthionine dans les résidus protéiniques pourrait contribuer à expliquer son effet irréversible sur les bactéries (Voet & Voet, 1995).

## Points clés

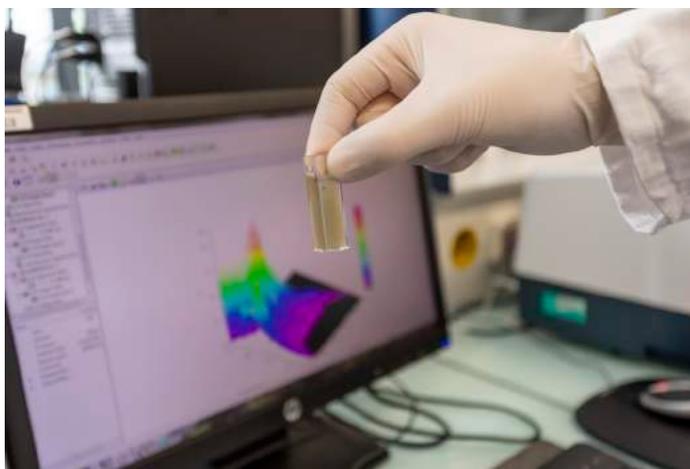
- L'acide performique (PFA) permet une désinfection des eaux usées, sans reviviscence au-delà de 24 heures.
- Les rayonnements solaires ultraviolets, identifiés dans la littérature comme susceptible d'atténuer les effets des désinfectants, n'ont donné lieu à aucune reviviscence au bout de 6 heures ; voire ont même optimisé les effets de désinfection.
- L'analyse par cytométrie en flux a montré que les cellules bactériennes étaient inactivées de manière irréversible.
- Le PFA agit de manière irréversible sur les composants membranaires des cellules, probablement par le biais d'une oxydation des fonctions chimiques présentes dans les protéines (disulfure, sulfure) et dans les acides gras non saturés (double pont C = C).



# Chapitre 3

## Effets du PFA sur la matière organique et résiduelle dans les eaux traitées

---



© SIAAP

### 1. INTRODUCTION

Ce chapitre vise à présenter les résultats obtenus concernant l'impact de l'acide performique (PFA) sur les matières organiques rejetées par l'usine Seine Valenton (SEV, Val-de-Marne, 2,6 millions EH) et son devenir dans les eaux usées et dans les eaux de la Seine après traitement. En premier lieu, la hausse du carbone organique dissous (COD) entraînée par l'injection de PFA est quantifiée et comparée à l'apport théorique de la solution de PFA. Ensuite, l'effet du PFA sur la nature de la matière organique des eaux usées est évalué par fluorescence 3D. Enfin, le

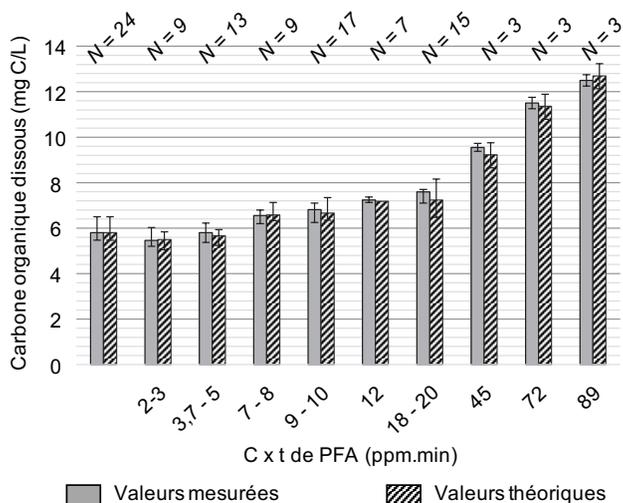
devenir du PFA après injection est étudié tant sur le plan quantitatif que qualitatif. La cinétique de décomposition du PFA est déterminée dans les rejets de l'usine SEV et dans les eaux de la Seine, tout comme la demi-vie du PFA. Les produits de décomposition du PFA sont ensuite mesurés par chromatographie liquide avec détection par conduction et détection UV afin de vérifier que seul de l'acide formique et du  $H_2O_2$  sont formés.

## 2. EFFETS DU PFA SUR LA MATIÈRE ORGANIQUE SOLUBLE

### 2.1. Hausse de la concentration de carbone organique dissous

L'injection de PFA dans un rejet d'usine d'épuration entraîne l'injection de COD. En théorie, la teneur en COD dans la solution de PFA préparée correspond à 0,79 ppm C/ppm de PFA injecté (0,19 provenant du PFA et 0,60 provenant de l'acide formique résiduel), comme décrit **Partie 1 – Chapitre 1**. Pour vérifier cette affirmation, les valeurs de COD obtenues à partir des 24 essais de désinfection au PFA en laboratoire sur des échantillons de rejets de l'usine SEV présentés **Partie 1 – Chapitre 1** sont représentées sur la **Figure 14**. Cette figure indique les concentrations moyennes de COD mesurées et leurs écarts-types sous forme de barres d'erreur pour chaque rapport  $C \times t$ , ainsi que les valeurs moyennes et les écarts-types pour les concentrations théoriques de COD. Ces concentrations théoriques ont été obtenues en ajoutant les 0,79 ppm C/ppm de PFA injecté aux valeurs de COD initiales.

Efficacité de la désinfection chimique par acide performique



**FIGURE 14. Concentrations en carbone organique dissous (mg C/L) mesurées et calculées de manière théorique avant et après désinfection à l'acide performique à différentes concentrations avec un temps de contact de 10 min (C x t en ppm.min). N représente le nombre de réplicats**

Les concentrations en COD mesurées après désinfection concordent particulièrement bien avec celles qui ont été obtenues en ajoutant les 0,79 ppm C/ppm de PFA injecté aux valeurs de COD initiales. Les deux séries sont donc significativement comparables (Mann-Whitney,  $p = 0,8397$ ). Par ailleurs, la hausse moyenne du COD calculé obtenue à partir de mesures réelles équivaut à 0,79 ppm C/ppm de PFA injecté. La légère différence observée entre les mesures réelles et les valeurs théoriques sur la **Figure 14** peut s'expliquer par la variabilité de la méthode analytique du COD. Ainsi, cela confirme que l'injection d'une préparation de PFA pour atteindre une concentration comprise entre 1 et 2 ppm entraîne une hausse limitée (0,79 et 1,58 mg C/L) du COD.

En comparaison, lorsque l'on injecte 8 ppm de PAA dans un rejet de l'usine SEV, ce qui correspond à la concentration requise pour obtenir la même réduction bactérienne que 2 ppm de PFA (cf. **Partie 1 – Chapitre 1**), on obtient une hausse théorique minimale du COD de 2,53 mg C/L, puisqu'1 ppm de PAA contient 0,32 mg C/L. Cette hausse est valable à condition que la préparation de PAA ne contienne aucun autre composé organique. Puisque des concentrations élevées de 10 ppm de PFA et plus sont requises pour désinfecter les eaux usées parisiennes partiellement traitées ou les rejets unitaires de temps de pluie avec un temps de contact de 10 minutes (cf. **Partie 1 – Chapitre 1**), la hausse de COD dans ce scénario serait très importante, à savoir 7,9 mg C/L minimum.

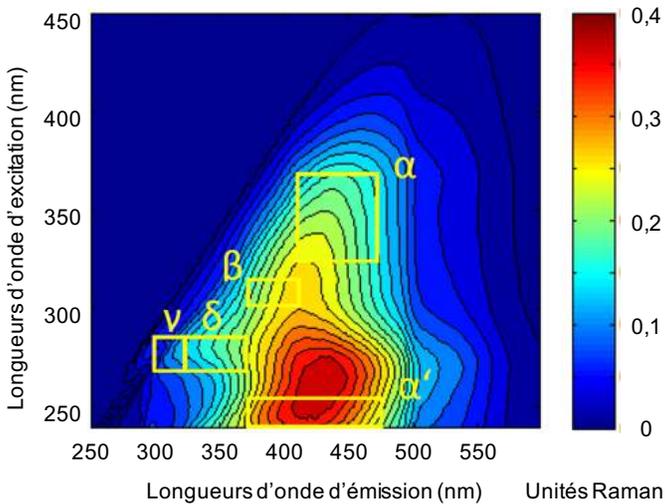
## 2.2. Modifications de la qualité de la matière organique dissoute

Le protocole analytique décrit ci-dessous a été mis en pratique pour les essais d'ajout de PFA réalisés aux dates suivantes : 4 septembre 2018, 11 septembre 2018, 18 septembre 2018, 30 octobre 2018 et 6 novembre 2018. Avant l'analyse par spectrométrie de fluorescence 3D, les échantillons sélectionnés prélevés au sein d'eaux provenant de rejets de l'usine SEV (avec et sans PFA) ont été filtrés à 0,45 µm (GF/F, fibre de verre, Whatman®). Des mesures par spectrométrie de fluorescence ont été réalisées à l'aide d'un spectromètre de fluorescence 3D (Jasco FP-8300, Japon) équipé d'une lampe au xénon 150 W servant de source d'excitation. Ce dispositif se contrôle via le logiciel Spectra Manager II. Les mesures ont été effectuées dans une cuve en quartz d'1 cm à une température contrôlée de 20 °C afin d'éviter l'extinction de la fluorescence thermique (Watras *et al.*, 2011). Les spectres de fluorescence (matrice d'excitation-émission, MEE) ont été mesurés pour des longueurs d'onde d'excitation (EX) comprises entre 240 et 550 nm tous les 5 nm et pour des longueurs d'onde d'émission (EM) entre 260 et 700 nm avec un intervalle de mesure de 2 nm. Les largeurs des créneaux d'émission et d'excitation étaient réglées sur 5 nm, avec une fréquence de balayage de 1000 nm/min.

Pour éviter les effets de filtres internes dus aux espèces très absorbantes présentes dans les échantillons, les espèces ont été diluées avec une eau ultra-pure pour obtenir une absorbance de 0,05 cm<sup>-1</sup> à 254 nm avant l'analyse de la fluorescence (Alberts & Takács, 2004 ; Lakowicz, 2010). L'absorbance obtenue à 254 nm a été mesurée dans une cuve en quartz standard d'1 cm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible (UviLine 9400, Seconam – Xylem S.A.S., White Plains, USA). Les mesures de la MEE (blancs et échantillons) ont été normalisées par l'aire du pic du Raman de l'eau ultra-pure à une excitation de 350 nm (mesurée chaque jour d'analyse), permettant ainsi d'accéder aux données de fluorescence sous forme d'unités Raman (UR) (Determann *et al.*, 1998 ; Lawaetz & Stedmon, 2009). Par ailleurs, une MEE d'eau ultra-pure (blanc) a été extraite des MEE de l'échantillon mesurées le même jour. Les MEE obtenues ont été tracées à l'aide du logiciel Matlab® R2013b (Mathworks, Natick MA, USA). Le protocole de traitement des données par bandes de fluorescence a été appliqué à cette étude, puisque le nombre d'échantillons n'était pas suffisamment important pour procéder à une approche de décomposition mathématique des MEE en composants fluorescents (analyse PARallel FACTor analysis). La méthodologie de traitement des spectres par bandes de fluorescence consiste à extraire une valeur maximale d'intensité de fluorescence observée au sein d'une partie délimitée du spectre de fluorescence. Toutes les délimitations de ces zones et les types de matière organique dissoute (MOD) associés ont été compilés dans le **Tableau 2** et sont représentés sur la **Figure 15**.

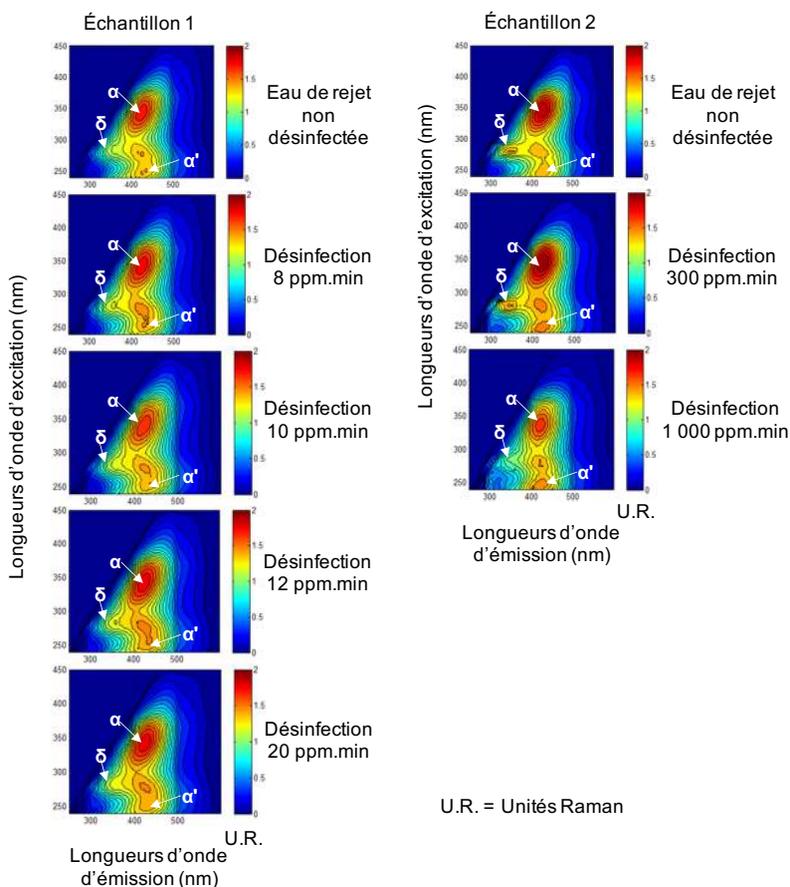
**TABEAU 2. Localisation spectrale des bandes de fluorescence d'intérêt de la matière organique dissoute et interprétation**

Fluorophores (Parlanti <i>et al.</i> , 2000)	Longueur d'onde d'excitation nm	Longueur d'onde d'émission nm	Type de composés
$\alpha'$	230 - 260	380 - 480	Substances type humiques + matériel plus récent
$\alpha$	330 - 370	420 - 480	Substances type humiques
$\beta$	310 - 320	380 - 420	matériel récent + composantes biologiques
$\gamma$	270 - 280	300 - 320	Type-Tyrosine
$\delta$	270 - 280	320 - 380	Type-Tryptophane



**FIGURE 15. Exemple d'un spectre de fluorescence en 3 dimensions (spectre 3D) avec identification des bandes de fluorescence d'intérêt**

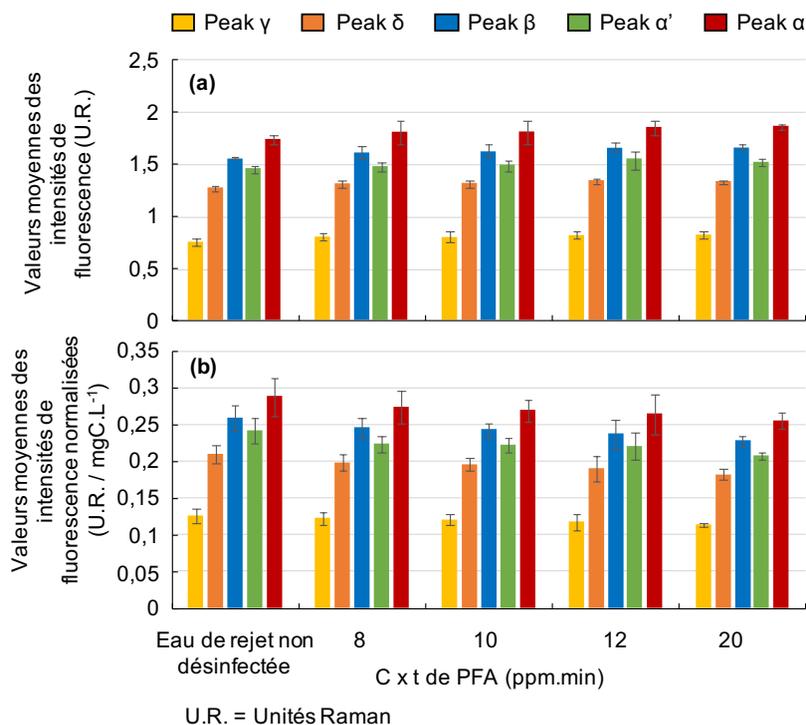
Les analyses de spectrométrie de fluorescence 3D ont été effectuées sur des échantillons de rejets de l'usine SEV avec les doses de PFA suivantes : 0, 8, 10, 12, 20, 300 et 1000 ppm.min. La **Figure 16** présente un exemple des spectres MEE 3D obtenus lors de deux campagnes d'essais de désinfection.



**FIGURE 16. Spectres de fluorescence 3D obtenus pour 2 échantillons d'eau de rejet de l'usine SEV avant et après désinfection par l'acide performique à différentes concentrations avec un temps de contact de 10 min (C x t en ppm.min)**

Pour tous les spectres liés aux rejets de l'usine SEV, qu'ils soient exposés ou non à une concentration de PFA (Figure 16), il semblerait qu'on puisse observer une signature de fluorescence similaire. Les intensités de fluorescence maximales mesurées sont associées à une MOD de type substances humiques, dont on connaît la résistance accrue à la biodégradation (Parlanti *et al.*, 2000) et qui se situe dans la région de la longueur d'onde d'excitation-émission appelée « bande  $\alpha$  » (EX/EM 330-370/420-480 nm). On observe également d'autres zones d'intérêt présentant des intensités de fluorescences inférieures : « bande  $\alpha'$  » (EX/EM 230-260/380-480 nm) associée à des composés de type substances humiques mélangées à des MOD récentes, et « bande  $\delta$  » liée aux composés de type tryptophanes/protéines de la MOD fluorescentes.

Étant donné que la qualité et la quantité de fluorescence de la MOD indiquent des intensités de fluorescence très similaires entre les trois campagnes d'essais de désinfection menées (résultats non fournis, écart-type relatif inférieur à 4 %), seuls les résultats moyens seront abordés ici. Si l'on compare les intensités de fluorescence moyennes (**Figure 17a**) obtenues pour les rejets de l'usine SEV non désinfectés et désinfectés à différentes concentrations de PFA (dose de PFA : 0-20 ppm.min), un niveau similaire d'intensité de fluorescence a été observé (écart-type relatif : 3 % pour tous les pics). Il est toutefois à noter qu'entre les rejets de l'usine SEV non désinfectés et désinfectés avec une dose de PFA de 20 ppm.min, on constate une légère hausse (moins de 9 %) de l'intensité de fluorescence moyenne pour toutes les bandes de fluorescence ( $\alpha$  : 1,73 à 1,85 UR ;  $\beta$  : 1,56 à 1,66 UR ;  $\alpha'$  : 1,45 à 1,51 UR ;  $\delta$  : 1,26 à 1,32 UR ;  $\gamma$  : 0,75 à 0,82 UR). La qualité de la MOD fluorescente des rejets de l'usine SEV (**Figure 17b**) est principalement de type substances humiques ( $\alpha$  : 0,29 UR mg C.L<sup>-1</sup> ;  $\beta$  : 0,26 UR mg C.L<sup>-1</sup> ;  $\alpha'$  : 0,24 UR mg C.L<sup>-1</sup>), suivis de contributions inférieures des composés fluorescents de type protéiques ( $\delta$  : 0,21 UR mg C.L<sup>-1</sup> ;  $\gamma$  : 0,12 UR mg C.L<sup>-1</sup>). On observe une légère baisse (environ 15 %) de l'intensité de fluorescence moyenne normalisée selon le COD pour tous les pics entre les échantillons non désinfectés et désinfectés traités avec une dose de 20 ppm.min de PFA (**Figure 17b**). Cet écart est principalement dû à une hausse du COD moyen mesuré (COD : 6,0 à 7,3 mg C.L<sup>-1</sup>, +27 %) entraînée par l'ajout de PFA. Ce phénomène a également été démontré dans la partie précédente de ce même chapitre.

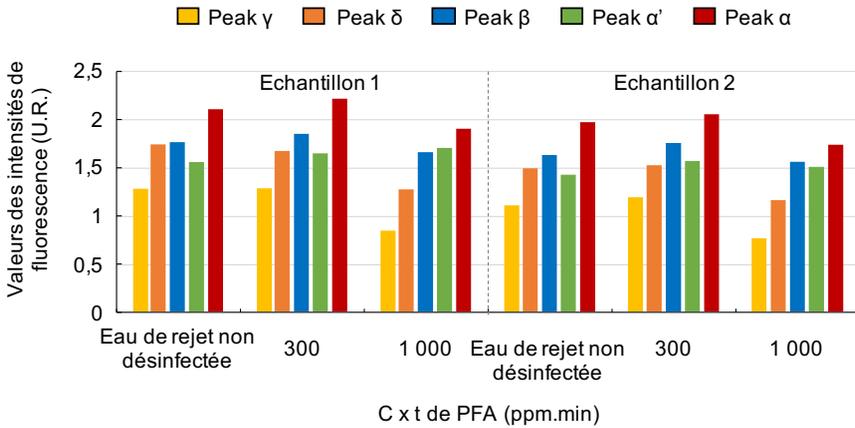


**FIGURE 17. Valeurs moyennes (n=3) d'intensités de fluorescence des différentes bandes (γ, δ, β, α', α) avant et après désinfection par l'acide performique à différentes concentrations avec un temps de contact de 10 min (C x t en ppm.min). La figure (a) présente les valeurs moyennes et la figure (b) présente les valeurs moyennes normalisées par la concentration initiale en carbone organique dissous**

À la lumière de ces résultats, toutes les modifications de la nature des MOD fluorescentes issues des rejets de l'usine SEV observées correspondaient à des doses de traitement au PFA comprises entre 0 et 20 ppm.min. Il est également à noter que l'ajout de PFA injecte du COD non fluorescent dans la solution, ce qui entraîne une chute des intensités de fluorescence totales relevées par gramme de carbone dans la solution. En outre, il a été démontré que cette plage de dose de PFA (0-20 ppm.min) n'exerçait aucune influence sur la quantité totale de MOD fluorescente observée dans les rejets de l'usine SEV.

Des essais de désinfection de rejets de l'usine SEV avec des concentrations de PFA de 300 et 1000 ppm.min ont été réalisés pour déterminer l'impact de taux de traitement élevés sur la signature de fluorescence des MOD. Les intensités de fluorescence obtenues lors de deux campagnes menées (30 octobre et 6 novembre 2018) sont indiquées **Figure 18**.

Efficacité de la désinfection chimique par acide performique



**FIGURE 18. Valeurs d'intensités de fluorescence des différentes bandes ( $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\beta$ ,  $\alpha'$ ,  $\alpha$ ) avant et après désinfection par l'acide performique à des concentrations très élevées avec un temps de contact de 10 min ( $C \times t$  en ppm.min)**

Les campagnes du 30 octobre et du 6 novembre 2018 affichent une nature similaire de MOD fluorescente (**Figure 18**) principalement liée à des composés fluorescents de type substances humiques (intensité de fluorescence moyenne de  $\alpha$  : 2,02 UR), suivie des autres types de MOD ( $\beta$  : 1,69 UR ;  $\delta$  : 1,60 UR ;  $\alpha'$  : 1,48 UR ;  $\gamma$  : 1,19 UR). Notons que contrairement aux précédentes campagnes menées (**Figure 17**), les rejets de l'usine SEV non désinfectés mesurés contiennent davantage de composés fluorescents de type « protéine tryptophane ». Les essais de désinfection réalisés à une dose de 300 ppm.min de PFA sur les rejets de l'usine SEV n'ont eu aucun impact significatif sur la quantité moyenne de MOD fluorescentes observée, contrairement à l'échantillon non désinfecté (écart-type relatif : moins de 5 % pour tous les pics). Pour une dose de 1000 ppm.min, on détecte principalement des chutes de l'intensité de fluorescence pour les composés fluorescents de type « protéines » ( $\gamma$  : -33 %, 1,19 à 0,80 UR ;  $\delta$  : -25 %, 1,62 à 1,20 UR), par rapport aux autres composants fluorescents mesurés ( $\alpha$  : -11 %, 2,03 à 1,80 UR ;  $\beta$  : -5 %, 1,69 à 1,60 UR ;  $\alpha'$  : +8 %, 1,49 à 1,60 UR). Ce phénomène pourrait s'expliquer par le fait que les précédentes études avaient été réalisées au PAA (acide peracétique). Une étude menée par Henao *et al.* (2018) a révélé que les protéines étaient les molécules organiques qui avaient l'impact le plus important sur la demande instantanée de PAA en raison de leur action de dénaturation protéinique. De même, l'étude de Zhang *et al.* (2016) relative à l'action du PAA sur les composés solubles extracellulaires dérivés de boues, issus d'un bioréacteur à membranes alimenté par des eaux usées, a également mis en lumière une chute de la fluorescence des composés de type « protéine ». L'action oxydante du PAA

entraînerait ainsi la dégradation des composés fluorescents de type protéines en molécules plus petites et potentiellement non fluorescentes. Avec l'ajout de PFA à des doses importantes (au-delà de 1000 ppm.min), les résultats obtenus pour les composés de type « protéine » semblent être parfaitement cohérents. Néanmoins, il est à noter que cette plage de dose de PFA (300-1000 ppm.min) a uniquement été testée à des fins expérimentales et ne sera pas appliquée à des conditions d'activité réelles de traitement au PFA.

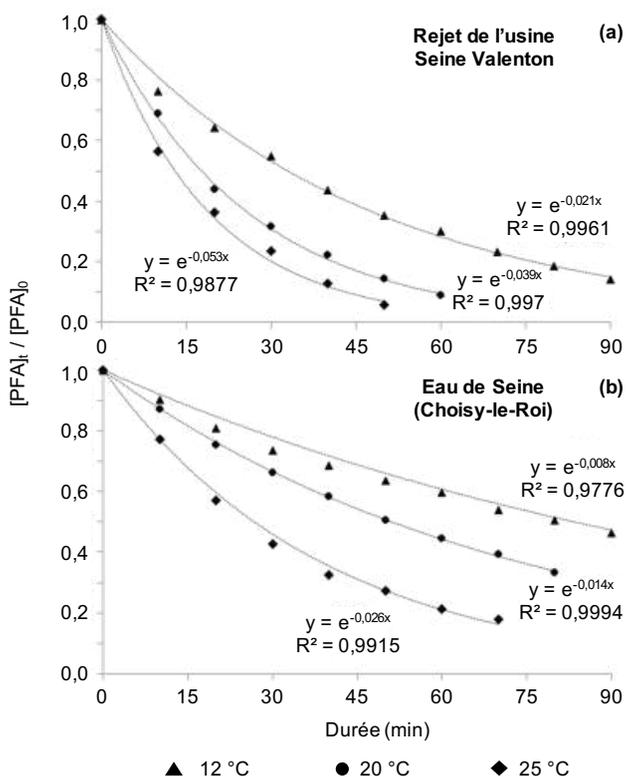
### 3. INSTABILITÉ DU PFA APRÈS INJECTION

La cinétique de décomposition à long terme a été évaluée par un suivi sur la durée de la concentration de PFA pour une matrice donnée à laquelle du PFA a été ajouté (eaux issues de rejets de SEV, non filtrées ou filtrées à 0,45 µm ; ou eaux de la Seine filtrées à 0,45 µm). La matrice étudiée a été placée au sein d'une chambre à température contrôlée pendant au moins une nuit. Plusieurs températures ont été étudiées : 12, 20 et 25 °C. Le PFA a été introduit dans un litre d'eau à une concentration comprise entre 1,5 et 2 ppm. Des échantillons standards ont ensuite été prélevés toutes les 10 minutes, et la concentration de PFA a été déterminée de manière indirecte par dosage de l'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) (ABTS). Il s'agit d'un réactif coloré dont l'intensité de coloration dépend de la quantité de PFA. La méthode ABTS, adaptée à partir du dosage de l'acide peracétique (Pinkernell *et al.*, 1997), permet de réaliser un contrôle à haute fréquence des concentrations de PFA et donc de déterminer de faibles concentrations. Ainsi, elle est adaptée à l'étude de la décomposition du PFA et au suivi de son évolution après désinfection des eaux usées. L'absorbance peut être mesurée au niveau de deux longueurs d'onde différentes : 415 nm pour les échantillons de travail incolores, et 732 nm pour les échantillons de travail colorés. La limite de quantification est de 0,05 ppm (à 415 nm, passage de lumière d'1 cm). Les échantillons ont été entreposés dans la chambre à température contrôlée jusqu'à la fin des mesures de l'absorbance. Le suivi cinétique a été poursuivi pendant 90 minutes.

Des expériences complémentaires ont ensuite été réalisées sur des échantillons de rejets bruts de l'usine SEV en vue de déterminer l'effet des bactéries indicatrices fécales sur la cinétique de décomposition du PFA sur les 10 premières minutes. Une concentration de PFA de 1-1,2 ppm a été ajoutée à trois échantillons distincts, et la concentration de PFA a été relevée à plusieurs reprises à l'aide de la méthode ABTS, avec des temps de contact compris entre 30 secondes et 10 minutes. Les expériences ont été réalisées sur des échantillons bruts et filtrés (0,45 µm).

### 3.1. Cinétique de décomposition à long terme

La **Figure 19** présente l'évolution de la concentration de PFA dans les rejets d'eaux usées de l'usine SEV (a) et dans les eaux de la Seine (b). Dans les deux cas, la cinétique de décomposition a été étudiée à trois températures : 12, 20 et 25 °C. Pour préserver l'homogénéité des échantillons et empêcher toute perturbation potentielle des mesures de l'absorbance due à la présence de MES, les échantillons ont été filtrés à 0,45 µm.



**FIGURE 19. Cinétiques de décomposition de l'acide performique au temps t ( $[PFA]_t$ ) par rapport à la concentration initiale ( $[PFA]_0$ ) à différentes températures dans les eaux de rejet de l'usine d'épuration (a) et dans les eaux de Seine (b)**

Chacune des cinétiques a été correctement paramétrée sous forme de cinétique de pseudo-premier ordre ( $R^2 > 0,97$ ). Les résultats ont permis de déterminer la demi-vie en minutes pour les deux matrices à chacune des trois températures. Le **Tableau 3** synthétise ces résultats. Pour chaque matrice, la cinétique établie à 20 °C a été réalisée en triple. L'incertitude a été estimée à 10 % et appliquée aux différentes températures étudiées. Pour les deux matrices analysées, la

décomposition s'accélère à mesure que la température augmente. Dans les rejets de l'usine SEV, la demi-vie était comprise entre 33 minutes (12 °C) et 13 minutes (25 °C), tandis que dans les eaux de la Seine, elle variait entre 87 minutes (12 °C) et 29 minutes (25 °C). À titre de comparaison, Luukkonen *et al.* (2015) avaient obtenu une demi-vie de 58 minutes à 15 °C dans des eaux usées finlandaises traitées par décantation physico-chimique, traitement biologique et filtration tertiaire, selon une cinétique de pseudo-premier ordre.

**TABLEAU 3. Évaluation des temps de demi-vie ( $t_{1/2}$  en min) de l'acide performique (concentration initiale de 2,5 ppm) dans les eaux de rejet de l'usine d'épuration et dans les eaux de surface (Seine). Certains échantillons ont été filtrés à 0,45 µm**

Qualité d'eau	Echantillons	Température °C	Filtration (0,45 µm)	$t_{1/2}$ min
<b>Eau de rejet de l'usine d'épuration</b>	Echantillon 1	12	Oui	33
		20		17
		25		13
	Echantillon 2	20	Oui	29
			Non	29
			Non	33
Echantillon 3		Non	33	
<b>Eau de surface (Seine)</b>	Echantillon 1	12	Oui	87
		20		53
		25		29

Il est à noter que la demi-vie du PFA dans les eaux de la Seine est inférieure à 1 heure l'été (avec une température de l'eau proche de 20 °C). De plus, le PFA est en grande partie décomposé dans le canal de rejet de l'usine puisque la durée de séjour hydraulique dans ce canal se situe entre 10 et 20 minutes.

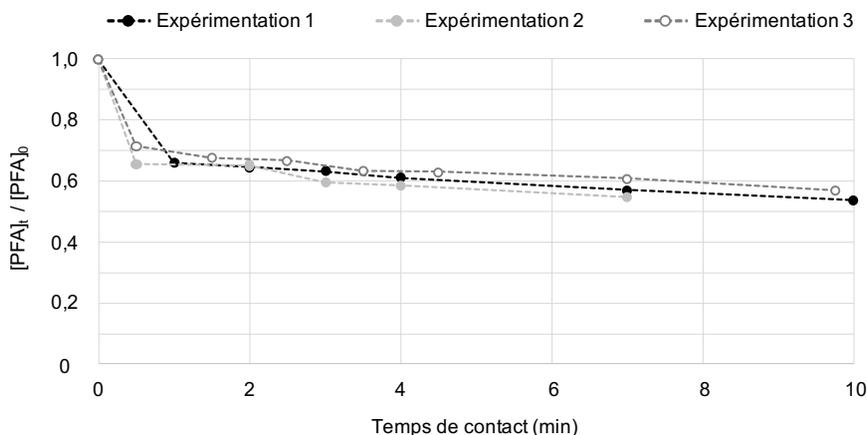
Ces résultats confirment la nature instable du PFA par rapport à d'autres peracides, dont le PAA, puisque la demi-vie du PAA varie entre 18 minutes dans les effluents primaires et 710 minutes dans les eaux du robinet (Luukkonen & Pehkonen, 2017).

Précisons également que la décomposition du PFA dans les eaux usées affiche une variabilité plutôt significative à 20 °C (demi-vie entre 17 et 33 minutes). Ce constat pourrait probablement s'expliquer par les variations de la qualité des eaux évacuées (conductivité, MES, COD). Néanmoins, les faibles concentrations de MES ne semblent pas exercer d'influence majeure sur la décomposition du PFA, comme le corroborent la même demi-vie obtenue sur les échantillons filtrés et non filtrés (29 minutes).

Cette réaction de décomposition est plutôt courante et peut être modélisée par la loi d'Arrhenius ( $k = A + B \times (1/T)$ ,  $k$  = constante de pseudo-premier ordre). Le facteur  $B$  de ce modèle est directement lié à l'énergie d'activation  $E_a$  de la réaction étudiée ( $B = -E_a/R$ ,  $R$  = constante de gaz parfait), soit l'énergie nécessaire pour qu'ait lieu cette réaction chimique. Dans ce cas, l'énergie d'activation peut être estimée à 57,8 kJ/mol pour la décomposition dans les eaux de la Seine, et à 51,3 kJ/mol pour la décomposition dans les eaux de l'usine. Ces valeurs restent relativement faibles et concordent avec la nature instable de l'acide performique ; elles relèvent de la plage de valeurs obtenue par différents auteurs ayant étudié la décomposition de l'acide performique durant le processus de synthèse du PFA : 72,6 kJ/mol (Filippis et al., 2009) et 52 kJ/mol (Santacesaria et al., 2017).

### 3.2. Cinétique de décomposition à court terme en présence de bactéries indicatrices fécales

La **Figure 20** décrit l'évolution de la concentration en PFA mesurée par la méthode ABTS au sein des trois échantillons bruts (non traités par autoclave et non filtrés) des rejets de l'usine SEV. Les concentrations d'*Escherichia coli* et d'entérocoques intestinaux observées dans ces échantillons étaient de respectivement 18 400 et 6 870 NPP/100 mL pour l'Expérience 1 ; 40 600 et 11 200 NPP/100 mL pour l'Expérience 2 ; et 51 700 et 13 800 NPP/100 mL pour l'Expérience 3. Les teneurs en MES respectives étaient de 2,10 et 12 mg/L, et la concentration initiale de PFA était de 1-1,2 ppm.



**FIGURE 20.** Cinétiques de décomposition de l'acide performique au temps  $t$  ( $[PFA]_t$ ) par rapport à la concentration initiale ( $[PFA]_0$  - 1 à 1,2 ppm) dans les eaux de rejet de l'usine Seine Valenton

Les cinétiques de décomposition du PFA obtenues sont comparables pour les trois échantillons, avec une consommation initiale instantanée du PFA de 30-35 %, suivie d'une faible chute de la concentration. La concentration de PFA diminue de 40-50 % au bout de 10 minutes en présence de bactéries indicatrices fécales. Par extrapolation, il est possible d'évaluer la demi-vie entre 19 et 24 minutes, ce qui est amplement comparable à la demi-vie déterminée avec les échantillons traités par autoclave. Ceci indique que la présence de bactéries indicatrices fécales ne modifie pas de manière significative la cinétique de décomposition du PFA dans les eaux usées traitées. En se basant sur ses résultats, la concentration initiale de PFA calculée est réduite de 58-69 % au bout de 20 minutes, de 73-87 % au bout de 30 minutes, et de 90 % au bout de 50 minutes. Ce calcul est particulièrement intéressant sachant que le temps de contact du PFA observé à l'usine SEV lors des essais à l'échelle industrielle (voir le **Partie 2** de cet ouvrage) se situait entre 20 et 50 minutes, avec une moyenne de 30 minutes.

### 3.3. Analyse et devenir des sous-produits de la décomposition du PFA

La décomposition de l'acide performique a été suivie d'une chromatographie liquide avec détection conductive (détection des espèces ionisées de type « acides ») et détection UV (pour la détection du  $H_2O_2$ ) d'une solution contenant environ 100 ppm de PFA, soit une concentration 100 fois supérieure à celle qui est employée pour générer des conditions favorables à la détection d'éventuels sous-produits. Les seuls composés détectés étaient l'acide formique et le peroxyde d'hydrogène. Ces résultats corroborent l'ensemble des études publiées sur la décomposition de l'acide performique, qui ont toutes établi que les seuls produits stables observés étaient l'acide formique, le peroxyde d'hydrogène et le  $CO_2$  (Filippis *et al.*, 2009 ; Leveneur *et al.*, 2014 ; Santacesaria *et al.*, 2017 ; Sun *et al.*, 2011).

Durant la décomposition expérimentale du PFA, la formation de radicaux hydroxyles a également été étudiée en ajoutant de l'acide téréphtalique (AT) à une solution de PFA. L'AT réagit particulièrement aux radicaux hydroxyles en formant un composé fluorescent : l'acide hydroxytéréphtalique (AHT) (Barreto *et al.*, 1994). Aucun signal de fluorescence de l'AHT n'ayant été détecté, on peut conclure que la décomposition du PFA ne se fait pas par rupture homolytique du pont O-O du peroxyde et que, par conséquent, aucun radical hydroxyle n'est créé lors du processus de décomposition du PFA.

Ce résultat concorde avec la faible réactivité du PFA aux MOD et aux micropolluants organiques (cf. ce chapitre et **Partie 1 – Chapitre 4**) puisqu'on sait que les radicaux hydroxyles réagissent aux MOD et à de nombreux composés organiques (Wenk *et al.*, 2011).

## Points clés

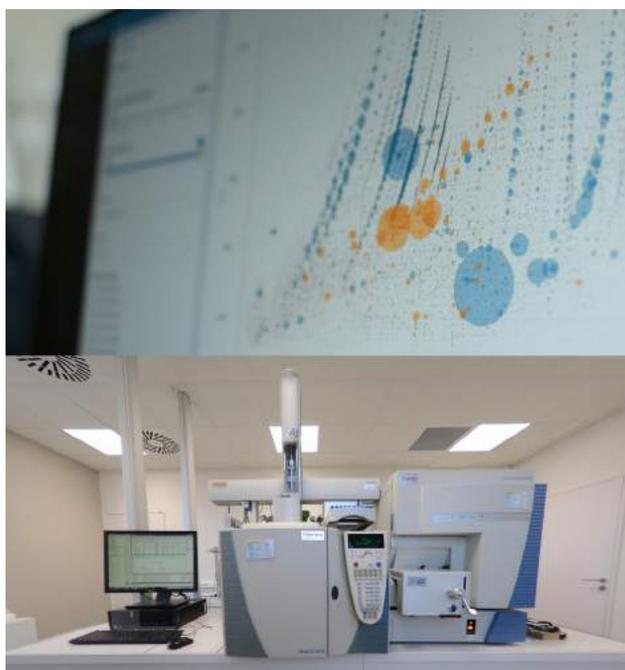
- La hausse de la teneur en carbone organique dissous dans les eaux usées relevée suite à l'injection d'acide performique (PFA) correspond à 0,78 ppm C/ppm de PFA injecté, ce qui confirme la théorie.
- La fluorescence 3D met en lumière l'impact négligeable du PFA sur la qualité et la quantité des matières organiques fluorescentes avec une dose de PFA conventionnelle. On observe une baisse de la teneur en matières organiques fluorescentes « similaires aux protéines » avec une dose très importante de PFA (1000 ppm.min).
- La cinétique de décomposition du PFA dans les eaux des rejets de l'usine Seine Valenton et les eaux de la Seine suit un processus de pseudo-premier ordre avec une demi-vie de  $26 \pm 9$  minutes dans les eaux usées et de 53 minutes dans les eaux de la Seine à 20 °C, faisant suite à une réduction instantanée de 30-35 %.
- La température accélère de manière significative la décomposition du PFA, mais les MES et les bactéries indicatrices fécales n'altèrent pas la cinétique de décomposition.
- Les produits issus de la décomposition du PFA sont l'acide formique et le  $H_2O_2$ , aucun autre produit n'ayant été détecté.



# Chapitre 4

Devenir des micropolluants  
et formation de sous-produits  
lors de la désinfection de rejets  
d'usines d'épuration par le PFA

---



© Julien Le Roux, LEESU

## 1. INTRODUCTION

Aujourd'hui, il est bien documenté que les désinfectants couramment utilisés dans les filières de traitement des eaux (ex. : chlore libre, monochloramine, dioxyde de chlore, ozone) peuvent réagir avec les matières organiques naturelles et les ions inorganiques (ex. : chlorure, bromure, iodure) et ainsi générer des sous-produits de désinfection (SPD). La formation de SPD est indésirable, nombre de SPD étant classés cancérigènes et mutagènes (Wagner & Plewa, 2017). Depuis que la formation de chloroforme à partir de matières organiques chlorées a été découverte dans les années 1970, plus de 600 SPD ont été identifiés lors de la désinfection d'eaux (Richardson *et al.*, 2007). Or, une grande partie des SPD générés lors des processus de désinfection demeure inconnue. Il a été établi que les SPD identifiés représentaient moins de 50 % des halogènes organiques totaux lors de la chloration (Krasner *et al.*, 2006). Des essais *in vitro* sur cellules mammaliennes ont démontré que les SPD azotés (ex. : haloacétonitriles, HAN) sont plus cytotoxiques et génotoxiques que les trihalométhanes (THM) et les acides haloacétiques, qui se forment couramment et sont régulés dans l'eau potable (Plewa *et al.*, 2008). En règle générale, les SPD bromés et iodés sont également plus toxiques que leurs analogues chlorés (Richardson *et al.*, 2007).

Les N-nitrosamines sont une catégorie de SPD azotés émergents particulièrement préoccupants en raison de leur nature extrêmement cancérigène. La N-nitrosodiméthylamine (NDMA), la N-nitrosamine la plus fréquemment détectée, présente un risque cancérigène important : pour une solution de concentration de 0,7 ng/L de NDMA, le risque de cancer est d'une chance pour un million (Mitch *et al.*, 2003). Du fait de sa forte polarité, elle passe facilement au travers des membranes d'osmose inverse utilisées dans les filières de récupération d'eaux usées, nécessitant par conséquent le recours à la photolyse UV pour son élimination au sein des eaux produites (Mitch *et al.*, 2003). Des études antérieures ont démontré que la majeure partie des N-nitrosamines provient de l'azote organique dissous présent dans les eaux usées, et en particulier d'amines secondaires et tertiaires (Schreiber & Mitch, 2007). Les amines tertiaires présentes dans les composés anthropiques (ex. : produits pharmaceutiques, pesticides) (Le Roux *et al.*, 2011) et les polymères de coagulation à base d'amine (Park *et al.*, 2009) ont été identifiés comme étant des précurseurs majeurs des N-nitrosamines. Les N-nitrosamines sont généralement présentes à de faibles niveaux (de l'ordre du nanogramme par litre) dans l'eau potable, c'est pourquoi leur détection requiert des techniques analytiques robustes (ex. : pré-concentration, spectrométrie de masse en tandem) pour atteindre des seuils de détection bas (Alexandrou *et al.*, 2018). Malgré leur concentration et leur fréquence généralement faibles, des niveaux supérieurs à 1000 ng/L ont été relevés dans des eaux usées (Bond *et al.*, 2011). Le recours à la chloramination en

tant que processus de désinfection est connu pour constituer une source majeure de formation de N-nitrosamines. La chloration au point de rupture (*breakpoint*, en particulier en présence d'ions nitrite), l'ozonation de composés contenant des groupements diméthylamine et le traitement solaire d'eaux contenant des nitrites sont également réputés pour générer des N-nitrosamines (Shah & Mitch, 2012).

L'acide peracétique (PAA) et l'acide performique (PFA) suscitent un intérêt croissant pour remplacer les désinfectants à base de chlore (Henao *et al.*, 2018). Des études antérieures ont indiqué que d'importantes concentrations de PAA (30 mg/L) entraînaient la formation de sous-produits bromés, dont du bromoforme, du dibromochlorométhane et des phénols bromés au sein de solutions enrichies en ions bromure (Dell'Erba *et al.*, 2007 ; Shah *et al.*, 2015). Le PAA réagit lentement avec les ions chlorure, bromure et iodure dans l'eau et génère des oxydants secondaires (acides hypochloreux (HClO), hypobromeux (HBrO) et hypoiodeux (HIO)) selon les équations (1)-(3) (valeurs *k* adaptées à partir de (Shah *et al.*, 2015)) :



Ces oxydants secondaires peuvent ensuite réagir avec la matière organique et générer des sous-produits halogénés. Le HBrO est extrêmement réactif avec les groupements riches en électrons (ex. : noyaux aromatiques activés, amines), avec des constantes cinétiques de deuxième ordre allant jusqu'à trois ordres de grandeur de plus que celles de HClO, et forme de surcroît des SPD bromés (Heeb *et al.*, 2014).

De plus, le  $\text{H}_2\text{O}_2$  résiduel présent dans les solutions de peracide peut également jouer un rôle d'oxydant ; il a été constaté qu'en conditions acides, le  $\text{H}_2\text{O}_2$  génère également du HBrO selon l'équation (4) (Dell'Erba *et al.*, 2007) :



Cependant, le  $\text{H}_2\text{O}_2$  résiduel présent dans l'eau agit également comme un puits pour les oxydants secondaires ; le  $\text{H}_2\text{O}_2$  réduit respectivement HClO et HBrO en ions chlorure et bromure (Équations (5) et (6)) (Held *et al.*, 1978 ; Shah *et al.*, 2015) :



La présence d' $\text{H}_2\text{O}_2$  en excès dans l'eau pourrait donc réduire la formation de SPD en consommant les oxydants secondaires.

Comme le PAA, le PFA est un puissant oxydant (Chhetri *et al.*, 2014) potentiellement susceptible de réagir avec les matières organiques et les halogénures inorganiques présents dans les eaux usées. À notre connaissance, peu

de données existent sur la formation potentielle de SPD lors de la désinfection d'eaux usées par le PFA. Une étude antérieure a révélé qu'aucun SPD (ex. : bromoforme, seuil de détection : 0,5 µg/L) n'a été détecté dans des eaux usées désinfectées au PFA (1 mg/L) et contenant 0,4 mg/L d'ion bromure (Ragazzo *et al.*, 2013). Quelques études ont évalué la formation de N-nitrosamines lors de la désinfection au PAA, mais aucune sur la désinfection au PFA. Il a également été démontré qu'en présence de 100 µg/L de précurseurs aminés, 5 mg/L de PAA ne produit pas de N-nitrosamines excédant le seuil de détection avec un temps de contact de 7 jours, à l'exception de 8 ng/L de NDPA (West *et al.*, 2016).

Ces dernières années, les méthodes analytiques non-ciblées ont suscité un certain intérêt pour le suivi de l'évolution de composés organiques dans l'environnement ou lors des processus de traitement de l'eau grâce à l'évolution de la spectrométrie de masse haute résolution (HRMS). L'objectif d'une analyse non-ciblée est de détecter le plus d'ions possible par HRMS afin d'obtenir une vue d'ensemble des composés organiques présents dans un échantillon et d'identifier des molécules inconnues. À partir de la masse précise de chaque ion détecté, il est possible d'attribuer des formules moléculaires et de retrouver les structures moléculaires en les recherchant dans des bases de données de spectres de masse, et finalement en injectant l'étalon analytique correspondant (le cas échéant) (Schymanski *et al.*, 2015). Les chromatogrammes obtenus suite à des analyses non-ciblées contiennent de nombreux composés, ce qui engendre la production de jeux de données volumineux qui nécessitent l'utilisation d'outils statistiques pour être étudiés. Ces outils sont couramment employés dans les études métabolomiques (Boccard *et al.*, 2010 ; Ramadan *et al.*, 2006) pour : traiter un nombre important de variables, dégager des tendances (ex. : hausse d'un signal dans le temps) ou identifier des molécules dans des échantillons spécifiques, par exemple en recherchant les composés responsables de la différenciation entre des groupes d'échantillons (Poulin & Pohnert, 2019 ; Schollée *et al.*, 2016). Ces méthodes ont été employées pour évaluer l'évolution de composés organiques dans les processus de traitement des eaux usées (ex. : traitement conventionnel ou avancé, de type ozonation ou adsorption sur charbon actif) (Bergé *et al.*, 2018 ; Merel *et al.*, 2017 ; Nürenberg *et al.*, 2019).

Le criblage suspect est une autre approche qui se situe entre les analyses ciblées et non-ciblées. Comme pour les analyses ciblées, une liste limitée de composés suspects est définie, sur la base de critères comme la survenue au sein d'études antérieures ou dans certains mécanismes de transformation (Schymanski *et al.*, 2015). Toutefois, contrairement à l'analyse ciblée, aucun étalon de référence n'est requis pour le criblage suspect, ce qui permet de rechercher des composés qui ne sont pas disponibles dans le commerce (Krauss *et al.*, 2010). Par conséquent, la confirmation définitive et la quantification ne

peuvent avoir lieu lors du criblage suspect, bien que les informations relatives à la structure et à la formule moléculaire s'avèrent en effet utiles pour indiquer la présence de composés d'intérêt dans un échantillon.

Ce chapitre porte sur une étude ayant comme objectif premier d'évaluer la formation de SPD lors de la désinfection au PFA de rejets d'usines de traitement des eaux usées, en laboratoire et à l'échelle industrielle. Trois catégories de SPD connus ont été ciblées : les THM, HAN et les N-nitrosamines. Les composés organiques halogénés adsorbables (AOX) ont également été analysés. Le deuxième objectif de l'étude consistait à caractériser l'évolution des micropolluants organiques avant et après désinfection par PFA via une analyse HRMS. En premier lieu, une approche non-ciblée a été mise en place pour la caractérisation globale de chaque échantillon, avec notamment le nombre total de pics et leur intensité globale, ainsi que le temps de rétention moyen et le rapport  $m/z$  moyen de chaque pic. En second lieu, un criblage suspect a été réalisé à partir d'une liste de 201 micropolluants organiques (ex. : pesticides, produits pharmaceutiques, médicaments) ayant déjà été détectés antérieurement dans des eaux usées brutes et/ou traitées (Bergé *et al.*, 2018 ; Mailler *et al.*, 2016, 2017).

## 2. RECHERCHE PAR ANALYSE CIBLÉE DES SOUS-PRODUITS DE DÉSINFECTION

Les échantillons d'effluents ont été prélevés entre septembre 2018 et décembre 2018 au sein de l'usine Seine Valenton (SEV) et de l'usine Seine centre (SEC). Les eaux traitées (ET) à l'usine SEV correspondant à l'arrivée du pilote de PFA (cf. **Partie 2 – Chapitre 2**) ont été prélevées le 11 septembre 2018, le 18 septembre 2018 et le 6 novembre 2018, puis utilisées pour les expériences de désinfection en laboratoire. Des eaux brutes prétraitées (EB) et des eaux décantées (ED) ont été prélevées le 11 décembre 2018 à l'usine SEC (cf. **Partie 1 – Chapitre 1**) et utilisées en laboratoire. Des essais de désinfection à l'échelle industrielle ont été menés sur site à l'usine SEV ; les échantillons ont été prélevés avant (ET SEV) et après désinfection au PFA (eaux désinfectées, ED SEV) le 26 septembre 2018, le 10 octobre 2018 et le 24 octobre 2018. Les conditions expérimentales applicables à chaque échantillon sont indiquées **Partie 2 – Chapitre 1** pour les échantillons d'essai de désinfection à l'échelle industrielle. Pour les essais en laboratoire, 1, 2, 30 et 100 ppm de PFA ont été injectés dans des échantillons d'ET. Un échantillon a été traité par 1 ppm de PFA après injection de 2 mg N/L d'ions nitrite, et les EB et ED de l'usine SEC ont été traitées avec 10 ppm de PFA.

Tous les produits chimiques utilisés étaient de qualité analytique et sans purification complémentaire. Un mélange d'étalons de composés organiques chlorés

et de SPD, comportant quatre trihalométhanes(chloroforme, dichlorobromométhane, dibromochlorométhane et bromoforme), ainsi que trois haloacétonitriles (dichloroacétonitrile, chlorobromoacétonitrile et dibromoacétonitrile), du dichloropropanone et de la chloropicrine, a été acheté auprès de LGC Standards SARL (Molsheim, France)(100 ng/μL de chaque composé dans l'acétone). Du décafluorobiphényl(99 %) nous a été fourni par Sigma-Aldrich Inc. (St. Louis, MO, USA). De l'acétate d'éthyle, du méthyl tert-butyl éther, du nitrate de sodium(99,99 %) et de l'acide nitrique(v/v 70 %) ont été fournis par Merck KGaA(Darmstadt, Allemagne).

Du 2,4,6-trichlorophénol(98 %) a été acheté auprès d'Acros(Thermo-Fisher Scientific Inc., Waltham, WA, USA). La solution HCl standard(0,01 mol/L) utilisée pour le contrôle de la cellule de dosage d'AOX-200 a été fournie par Mitsubishi Chemical Analytech (Japon). Le charbon actif pour les mesures d'AOX a été acheté auprès d'Envirotech (Allemagne).

Le dichlorométhane (DCM) de grade GC-MS a été acheté auprès de Merck KGaA (Darmstadt, Allemagne). Un mélange standard de N-nitrosamines, composé de N-nitrosodibutylamine (NDBA), N-nitrosodiéthylamine (NDEA), N-nitrosodiméthylamine (NDMA), N-nitrosodiphénylamine (NDPhA), N-nitrosodipropylamine (NDPA), N-nitrosométhyléthylamine (NMEA), N-nitrosomorpholine (NMOR), N-nitrosopiperidine (NPIP), N-nitrosopyrrolidine (NPYR)(avec 2 000 μg/mL de chaque analyte dans du DCM) et Toluène-d8(2 000 μg/mL dans du DCM) a été acheté auprès d'Agilent Technologies Inc. (Santa Clara, CA, USA). Les N-nitrosodiméthylamine-d8(NDMA-d8) et N-nitrosodipropylamine-d14(NDPA-d14)(1 mg/mL) ont toutes deux été fournies par Cambridge Isotope Laboratories Inc. (Tewksbury, Royaume-Uni). Les cartouches SPE de charbon de coco ont été fournies par Sigma-Aldrich Inc. (Saint-Louis, MO, USA), et l'eau ultra-pure produite par Milli-Q IQ 7000 Merck KGaA (Darmstadt, Allemagne)).

## 2.1. Composés organohalogénés absorbables et autres sous-produits halogénés

Les AOX ont été analysés suivant la norme NF-EN-ISO-9562 avec la méthode par agitation. 50 mg de charbon actif (Envirotech, Allemagne) et 5 mL de nitrate de sodium(0,2 mol/L, Merck) ont été ajoutés à 100 mL d'échantillon acidifié (à pH=2) avec de l'acide nitrique(v/v 70 %, Merck) et agités pendant 1 heure. Le charbon a ensuite été récupéré par filtration dans un fritté en céramique puis rincé avec une solution de nitrate(25 mL, 0,01 mol/L). Les AOX ont été transformés en halogénures d'hydrogène par combustion de charbon(950 °C) avec un analyseur AOX-200(Mitsubishi Chemical Analytech, Japon). Les halogénures produits ont été récupérés et mesurés dans une cellule de titration. La limite de quantification de la cellule est de 0,7 μg pour une solution de HCl. Le rendement d'extraction

des AOX a été estimé, à l'aide d'un standard analytique (2,4,6-trichlorophenol, 50 µg/L) extrait dans les mêmes conditions, à 100,6 %.

Les THM et les HAN ont été analysés après extraction liquide-liquide d'après la méthode EPA 551. Les échantillons (50-100 mL) ont été transvasés dans des bouteilles en verre ambré de 120 mL contenant 10 g de NaCl. 50 µL de décafluorobiphényl (10 mg/L dans de l'acétone) ont été ajoutés comme étalon interne et 3-6 mL d'acétate d'éthyle ont été ajoutés en tant que solvant organique d'extraction pour la majorité des échantillons. Le flacon a été agité à la main vigoureusement pendant 4 min, puis laissé reposer pendant 2 min pour séparer les phases aqueuses et organiques. Environ 2-3 mL d'extrait organique ont été transvasés dans un vial et évaporés sous flux de N<sub>2</sub>. Pour finir, 200 µL d'extrait concentré ont été transvasés dans un vial et conservés à 4 °C jusqu'à leur analyse.

La quantification des SPD a été réalisée en mode ionisation électronique à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse (Trace GC Ultra, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, WA, USA) couplé à un spectromètre de masse triple-quadrupôle (TSQ Quantum, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA). 1 µL d'extrait a été injecté (température d'injecteur : 200 °C) en mode *pulsed splitless*. Les composés ont été séparés sur une colonne Rxi® 5Sil MS (60 m × 250 µm × 0,25 µm) (Restek, France). Le four a été maintenu à 35 °C pendant 9 min, avec une montée à 125 °C de 10 °C/min, puis une hausse à 220 °C de 25 °C/min, et enfin maintenu pendant 2 min. La durée totale du programme d'analyse était de 23,8 min. Les courbes d'étalonnage des SPD étaient comprises entre 50 et 500 µg/L dans le solvant, correspondant à une limite de quantification de 0,1 µg/L dans les échantillons d'eau avant extraction. Les SPD ont été quantifiés en mode *single ion monitoring*.

Le **Tableau 4** illustre les concentrations d'AOX et de SPD relevées dans différentes qualités d'eau transitant en usine d'épuration (SEV ou SEC) avant et après désinfection au PFA dans le cadre d'expériences en laboratoire et d'essais à l'échelle industrielle.

Durant tous les essais de désinfection (en laboratoire et sur site), plus de 30 µg/L d'AOX étaient déjà présents dans les échantillons d'eaux usées avant désinfection. En laboratoire, la désinfection des échantillons d'eaux usées à l'aide de concentrations en PFA de 2 et 30 ppm (ce qui correspond à des doses C × t respectives de 20 et 300 ppm.min) a entraîné une hausse de la concentration d'AOX de 5 à 10 µg/L. La désinfection des échantillons d'eaux usées brutes et décantées (décembre 2018) avec 10 ppm de PFA n'a produit aucune quantité significative d'AOX. Une forte concentration de 100 ppm de PFA (dose C × t = 1000 ppm.min, novembre 2018) a considérablement augmenté la quantité d'AOX formés, passant de 45 à 339 µg/L, ce qui indique que des ions halogénure (probablement des ions bromure) peuvent être intégrés à la matière organique en réaction avec de fortes doses de PFA.

**TABLEAU 4. Formation des composés halogénés de différents types d'échantillons (eau brute, eau décantée, eau traitée) avant et après désinfection à l'acide performique (PFA) à différentes concentrations avec un temps de contact de 10 min (C x t en ppm.min) (...)**

Echantillons <sup>a</sup>	PFA ppm.min	AOX µg/L	Autres composés halogénés <sup>b</sup> µg/L
Eau traitée n°1	-	39,4	n.a <sup>c</sup>
Eau traitée n°1 + 2 ppm PFA	20	48,7	n.a
Eau traitée n°2	-	32,0	n.d <sup>d</sup>
Eau traitée n°2 + 2 ppm PFA	20	43,4	n.d
Eau traitée n°3	-	31,2	n.d
Eau traitée n°3 + 1,2 ppm PFA	32,1	44,6	n.d
Eau traitée n°4	-	43,9	n.d
Eau traitée n°4 + 0,8 ppm PFA	28,3	49,9	n.d
Eau traitée n°5	-	47,2	BCAN (0,34), DBAN (0,69)
Eau traitée n°5 + 2,5 ppm PFA	74,2	54,8	DBCM (0,07), BCAN (0,43), DBAN (1,1)

<sup>a</sup> Les échantillons 3, 4 et 5 sont issus des essais réalisés à l'échelle industrielle et les temps de contact ne sont pas maîtrisés.  
<sup>b</sup> DBCM : dibromochlorométhane ; DBCM : dibromochlorométhane ; TBM : bromoforme ; DCAN : dichloroacétonitrile ; BCAN : bromochloroacétonitrile ; DBAN : dibromoacétonitrile ; TCAN : trichloroacétonitrile ; DCP : dichloropropanone ; TCNM : chloropicrine  
<sup>c</sup> n.a : non analysé  
<sup>d</sup> n.d : non détecté

**TABLEAU 4. Formation des composés halogénés de différents types d'échantillons (eau brute, eau décantée, eau traitée) avant et après désinfection à l'acide performique (PFA) à différentes concentrations avec un temps de contact de 10 min (C x t en ppm.min) (Fin)**

Echantillons <sup>a</sup>	PFA ppm.min	AOX µg/L	Autres composés halogénés <sup>b</sup> µg/L
Eau traitée n°6	-	45,0	n.d
Eau traitée n°6 + 1 ppm PFA	10	40,6	n.d
Eau traitée n°6 + 2 ppm PFA	20	48,9	n.d
Eau traitée n°6 + 30 ppm PFA	300	49,2	DBCM(0,02), BCAN(0,14)
Eau traitée n°6 + 100 ppm PFA	1000	338,7	DCBM(2,35), DBCM(1,39), TBM(0,03), DCAN(8,25), BCAN(1,96), DBAN(0,55), TCAN(0,73), DCP(3,41), TCNM(1,83)
Eau traitée n°6 + 2 mg-N/L of NO <sub>2</sub> + 1 ppm PFA	10	32,6	BCAN(0,15), DBAN(0,10)
Eau brute n°7	-	41,7	DBCM(0,34), TBM(0,23)
Eau brute n°7 + 10 ppm PFA	100	39,5	DBCM(0,43), TBM(0,36), DBAN(0,16)
Eau décantée n°8	-	42,9	DBCM(0,34), TBM(0,24), DBAN(0,14)
Eau décantée n°8 + 10 ppm PFA	100	39,9	DBCM(0,29), TBM(0,26), DBAN(0,12)

<sup>a</sup> Les échantillons 3, 4 et 5 sont issus des essais réalisés à l'échelle industrielle et les temps de contact ne sont pas maîtrisés.

<sup>b</sup> DCBM : dichlorobromométhane ; DBCM : dibromochlorométhane ; TBM : bromoforme ; DCAN : dichloroacétonitrile ; BCAN : bromochloroacétonitrile ; DBAN : dibromoacétonitrile ; TCAN : trichloroacétonitrile ; DCP : dichloropropanone ; TCNM : chloropicrine

<sup>c</sup> n.a : non analysé

<sup>d</sup> n.d : non détecté

Le **Tableau 5** présente la concentration en ions bromure dans les effluents de l'usine SEV avant et après désinfection à l'échelle industrielle (août à octobre 2018). Des ions bromure étaient présents dans l'effluent, à raison de 100 à 250 µg/L, et leur concentration présentait d'importantes variations au fil du temps. Une baisse d'environ 10-40 % de la concentration de bromure a été observée après traitement au PFA sur les échantillons d'août-septembre (mais non octobre), qui pourrait être attribuée à la réactivité des ions bromure avec le PFA (par exemple en formant HBrO de la même manière qu'à partir du PAA, cf. Équation (2)).

**TABLEAU 5. Concentrations en ions bromure avant et après désinfection à l'acide performique à différentes concentrations et avec un temps de contact de 10 min (C x t en ppm.min)**

Echantillons	PFA ppm.min	Concentrations en ions bromure	
		µg/L	
		Avant injection	Après injection
Echantillon 1	31,2	100	90
Echantillon 2	31,6	120	50
Echantillon 3	36,4	250	160
Echantillon 4	22,1	170	170
Echantillon 5	73,8	170	170

Parmi les THM réglementés, le chloroforme n'a été détecté dans aucun des échantillons. Aucun autre SPD halogéné n'a été détecté dans les échantillons de rejet d'usines d'épuration, que ce soit avant ou après désinfection à de faibles doses de PFA ( $C \times t = 10-30$  ppm.min). Avec de plus hautes doses de PFA ( $C \times t = 74, 300$  et  $1000$  ppm.min) et au sein d'eaux usées brutes et décantées désinfectées, le dichlorobromométhane (DCBM), le dibromochlorométhane (DBCM), le bromoforme, le bromochloroacétonitrile (BCAN) et le dibromoacétonitrile (DBAN) étaient les SPD les plus fréquemment détectés. Dans la majorité des échantillons où des SPD ont été détectés (hormis celui à  $1000$  ppm.min de PFA), les concentrations de SPD relevées étaient inférieures à  $1$  µg/L. Les concentrations les plus élevées correspondaient à la dose de  $1000$  ppm.min de PFA (DCBM =  $2,4$  µg/L, DBCM =  $1,4$  µg/L, BCAN =  $2,0$  µg/L, DBAN =  $0,6$  µg/L), concordant avec les hautes concentrations d'AOX relevées dans cet échantillon. Des SPD chlorés ont également été formés (trichloroacétonitrile =  $0,7$  µg/L, dichloropropanone =  $3,4$  µg/L, chloropicrine =  $1,8$  µg/L), le dichloroacétonitrile correspondant à la concentration la plus élevée de tous les SPD ( $8,25$  µg/L). Comme l'illustrent les équations (1) et (2), la constante cinétique des ions chlorure avec le PAA est inférieure de quatre

ordres de grandeur par rapport à celle des ions bromure. Les constantes cinétiques du PFA avec les ions halogénure ne sont pas connues. Toutefois, nos résultats indiquent la possibilité que des SPD bromés puissent être en priorité formés lors de la désinfection au PFA via la formation de HBrO en tant qu'intermédiaire, suivi de la formation de HClO et de SPD chlorés à des doses plus élevées de PFA, ce qui nécessite toutefois confirmation. Par ailleurs, la constante cinétique de la formation de HIO lors de la réaction du PAA avec les ions iodure se situe respectivement environ trois et sept ordres de grandeur au-dessus de celle de HBrO et de HClO (Équation (3)). D'autres études sont donc requises pour déterminer la formation potentielle de HIO et de SPD iodés, qui pourraient être favorisés par la désinfection au PFA. La forte réactivité observée à 1000 ppm.min concorde également avec les résultats obtenus à l'aide de la spectrométrie de fluorescence 3D (cf. **Partie 1 – Chapitre 3**), indiquant une modification significative de la matrice organique. En particulier, une importante baisse de substances de type protéinique a été observée, ces substances étant des précurseurs majeurs de SPD azotés tels que les HAN (Bond *et al.*, 2011).

Une injection de 2 mg N/L d'ions nitrite avec une dose de PFA de 10 ppm.min a entraîné la formation accrue de deux SPD (BCAN = 0,15 µg/L, DBAN = 0,10 µg/L) qui n'avaient pas été détectés en l'absence de nitrite supplémentaire (novembre 2018), bien que leurs concentrations demeurent très faibles. Pour confirmer l'effet des ions nitrite sur la formation de SPD halogénés, il faudrait mener des expériences complémentaires avec différentes concentrations de nitrite et de PFA.

De faibles concentrations de DBCM, de bromoforme et de DBAN (0,4 µg/L) ont été relevées au sein d'eaux brutes et décantées. Une faible hausse de ces concentrations de SPD a été observée après désinfection des eaux brutes avec 100 ppm.min de PFA, mais les concentrations demeureraient inférieures à 0,5 µg/l.

Lors de la désinfection industrielle de l'effluent d'usine, aucun SPD n'a été détecté avec les doses de PFA les plus faibles (26 septembre 2018 et 10 octobre 2018,  $C \times t = 32,1$  et  $28,3$  ppm.min, respectivement), mais des SPD bromés ont été détectés à une dose supérieure ( $C \times t = 74,2$  ppm.min), ce qui corrobore les résultats obtenus lors des essais en laboratoire menés à des doses élevées (>100 ppm.min). En particulier, une hausse de ~0,4 µg/L de la concentration en DBAN a été relevée. Comme pour les expériences en laboratoire, les concentrations d'AOX ont augmenté de 6-13 µg/L et n'étaient pas considérablement plus importantes avec la dose de PFA la plus élevée ( $C \times t = 74,2$  ppm.min) par rapport aux deux autres doses ( $C \times t = 32,1$  et  $28,3$  ppm.min).

Globalement, les faibles doses de PFA généralement employées pour désinfecter les rejets d'usines d'épuration (soit ~20-30 ppm.min) n'ont entraîné la

formation d'aucune quantité détectable de SPD halogénés, et les concentrations observées à des doses supérieures (>70 ppm.min) étaient systématiquement faibles par rapport à d'autres processus d'oxydation et inférieures aux seuils réglementaires établis pour l'eau potable (THM totaux <100 µg/L). En comparaison, la chloration d'eau de rejet de l'usine SEC (2 ppm pendant 10 min en batch, mars 2018) a donné lieu à la formation de ~150 µg/L d'AOX, contre <10 µg/L d'AOX formés à partir de PFA à une dose similaire.

## 2.2. N-nitrosamines

La méthode d'extraction et de détection des N-nitrosamines a été adaptée à partir de la méthode US EPA 521 et d'une méthode par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (GC-MS/MS) (Yoon *et al.*, 2012). 100 µL de NDMA-d8 et de NDPA-d14 (500 µg/L dans du DCM) ont été ajoutés comme étalons internes d'extraction dans 500 mL d'échantillon filtré (GF/F, 0,7 µm de diamètre de pore). Les N-nitrosamines ont été extraites à l'aide de cartouches d'extraction sur phase solide au charbon de coco (6 g, Sigma-Aldrich Inc., Saint-Louis, MO, USA) à l'aide d'un appareil automatique Dionex™ AutoTrace (ThermoFisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) avec un débit de 10 mL/min. Les cartouches ont été conditionnées avec 5 mL de DCM, 5 mL de méthanol et 10 mL d'eau ultra-pure. Après extraction, les cartouches ont été séchées pendant 30 min sous flux de N<sub>2</sub>. 12 mL de DCM ont été utilisés pour éluer les analytes. L'éluat a été concentré par évaporation sous flux de N<sub>2</sub> jusqu'à ~1 mL. 900 µL de l'extrait concentré ont été transférés avec précision dans des vials de GC-MS et conservés à -20 °C jusqu'à leur analyse. 45 µL de l'étalon d'injection (toluène-d8, 2 mg/L dans du DCM) ont été ajoutés à l'extrait avant injection dans le GC-MS/MS.

Les neuf N-nitrosamines (NDBA, NDEA, NDMA, NDPhA, NDPA, NMEA, NMOR, NPIP et NPYR), 2 000 µg/mL de chaque dans du DCM), les deux étalons internes (NDMA-d6 et NDPA-d14) et un étalon d'injection (toluène-d8) ont tous été analysés en mode ionisation d'électrons à l'aide d'un chromatographe gazeux (Trace GC Ultra, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) couplé à un spectromètre de masse triple-quadrupôle (TSQ Quantum, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA). 1 µL d'extrait a été injecté (température d'injecteur : 250 °C) en mode *pulsed splitless*. La séparation chromatographique a été réalisée dans une colonne Rxi® 5Sil MS (60 m × 250 µm × 0,25 µm) (Restek, France). Le four a été maintenu à 45 °C pendant 3 minutes, avec une montée à 130 °C de 25 °C/min, puis augmenté à 230 °C à raison de 12 °C/min, avant d'être maintenu à cette température pendant 1 min. La durée totale du programme d'analyse était de 15,7 minutes.

Les solutions d'étalonnage des N-nitrosamines ont été préparées sur une plage de concentrations de 5-100 µg/L. Les étalons internes NDMA-d6 et NDPA-d14 ont été ajoutés à chaque solution étalon à raison de 50 µg/L. Le toluène-d8 a également été ajouté à 100 µg/L. Les N-nitrosamines ont été quantifiées en mode *selected reaction monitoring* avec l'argon (6.0) comme gaz de collision. Les paramètres de détection (énergie de collision pour chaque composé) ont été optimisés en injectant une solution étalon de 5 mg/L de N-nitrosamines. Le **Tableau 6** présente les paramètres analytiques sélectionnés pour chaque N-nitrosamine (durée de rétention, ions parents et produits, et énergies de collision). Les limites de quantification des N-nitrosamines étaient comprises entre 0,1 et 6 ng/L.

**TABLEAU 6. Liste des composés non-halogénés (N-nitrosamines) analysés et paramètres analytiques associés à leur détection par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (GC-MS/MS)**

Composés <sup>a</sup>	TR <sup>b</sup> min	Ion parent	Ions produits (Energie de collision) <sup>c</sup>
N-nitrosodiméthylamine-d6 (NDMA-d6)	6,68	80	50(10), 46(20)
N-nitrosodiméthylamine (NDMA)	6,70	74	44(5), 42(15)
Toluène-d8	6,94	98	70(15), 98(10)
N-nitrosométhylethylamine (NMEA)	7,50	88	71(5), 43(10)
N-nitrosodiéthylamine (NDEA)	8,15	102	85(5), 44(10)
N-nitrosodipropylamine-d14 (NDPA-d14)	9,68	144	126(5), 50(10)
N-nitrosodipropylamine (NDPA)	9,76	130	113(5), 43(10)
N-nitrosopyrrolidine (NPYR)	9,76	100	55(5), 43(10)
N-nitrosomorpholine (NMOR)	9,79	116	86(5), 56(10)
N-nitrosopiperidine (NPIP)	10,23	114	84(5), 42(15)
N-nitrosodibutylamine (NDBA)	11,57	158	99(10), 141(5)
N-nitrosodiphénylamine (NDPhA)	15,25	168	167(20), 166(25)

<sup>a</sup> NDMA-d6 utilisé comme étalon interne de quantification pour la NDMA ; NDPA-d14 utilisé comme étalon interne de quantification pour les autres composés ; Toluène-d8 utilisé comme étalon interne d'extraction pour vérifier la stabilité analytique et calculer le rendement d'extraction.

<sup>b</sup> TR = Temps de rétention ;

<sup>c</sup> Le premier ion de la liste est utilisé comme ion de quantification, le second comme ion de confirmation.

La performance de la méthode (des extractions sur phase solide aux analyses GC-MS/MS) a été évaluée sur la base du taux de récupération de la NDMA-d6, qui a été introduit dans chaque échantillon d'eaux usées avec une concentration connue (100 ng/L) en prenant le toluène-d8 comme étalon interne d'injection. Le taux de récupération moyen était de 76,5 %, ce qui concorde avec les taux obtenus avec la méthode US EPA 521 (77,2 %) pour la majorité des N-nitrosamines avec des cartouches de charbon de coco similaires.

Le **Tableau 7** indique les concentrations en N-nitrosamines dans les rejets d'usines d'épuration avant et après traitement au PFA. Parmi les neuf N-nitrosamines ciblées, la NMEA, la NPYR et la NDPhA n'ont été détectées dans aucun échantillon. Moins de 5 ng/L de NDEA, NDPA, NPIP et de NDBA ont été détectés dans la majorité des échantillons. 19 et 17 ng/L de NDEA et 27 et 30 ng/L de NDMA étaient respectivement présents dans les échantillons d'eaux brutes et décantées (décembre 2018). La NDMA était la N-nitrosamine la plus abondante détectée dans les échantillons de rejets (eaux usées traitées) (19-33 ng/L, moyenne : 28 ng/L), suivie de la NMOR (6-18 ng/L, moyenne : 11 ng/L), à des niveaux couramment observés dans la littérature. La NDMA et la NMOR sont généralement les N-nitrosamines les plus présentes dans les eaux usées non traitées et traitées (Gerrity *et al.*, 2015 ; Krauss *et al.*, 2009). Les produits industriels, tels que le caoutchouc, les pneus et les teintures, sont des sources potentielles de NDMA et de NMOR (Lee & Oh, 2016). Les produits ménagers (ex. : lessive, produit vaisselle) contiennent de la morpholine (précurseur de la NMOR) sous forme d'impuretés (Glover *et al.*, 2019).

L'analyse statistique (test t) menée suggère l'absence de différence significative entre les concentrations de N-nitrosamines après désinfection au PFA pour tous les taux de concentration, même avec la dose maximale employée (1000 ppm.min). L'ajout de 2 mg/L d'ions nitrite lors de la désinfection d'eaux traitées au PFA ( $C \times t = 10$  ppm.min) a cependant entraîné une hausse significative du niveau de NMOR, passant de 14 à 162 ng/L (novembre 2018). En conditions acides, l'ion nitrite est connu pour réagir avec les amines secondaires en générant des N-nitrosamines, bien que ce mécanisme de nitrosation soit très lent à pH neutre (Mirvish, 1975). Toutefois, des études ont démontré que certains composés carbonylés (ex. : formaldéhyde) pouvaient catalyser la nitrosation à un pH plus élevé (6,4-11) en créant un adduit aldéhyde sur les amines secondaires (Keefer & Roller, 1973). Le PFA contient également un groupe carbonyle dans sa structure, qui pourrait lui faire catalyser une réaction de nitrosation en cas d'ajout de nitrite. Comme l'illustre le **Tableau 7**, une légère hausse de toutes les autres N-nitrosamines (sauf la NPIP) est observée dès que l'on ajoute des ions nitrite (novembre 2018) dans une bien moindre mesure en comparaison avec la NMOR. Ce phénomène peut éventuellement être lié à la présence de taux importants de précurseurs de NMOR (morpholine) par rapport aux autres précurseurs de N-nitrosamines.

La concentration de NDMA a atteint 30 ng/L après ajout de 2 mg N/L d'ions nitrite avec 10 ppm.min de PFA, contre 21 ng/L au sein des échantillons avant et après désinfection sans l'ajout d'ions nitrite.

Les N-nitrosamines détectées lors des essais de désinfection par PFA à l'échelle industrielle (26 septembre 2018, 10 octobre 2018 et 24 octobre 2018) ont corroboré les résultats obtenus en laboratoire. Les concentrations de toutes les N-nitrosamines sont restées faibles (<19 ng/L), sauf pour la NDMA, qui a atteint 31-33 ng/L dans les effluents désinfectés et non désinfectés. Comme pour les tests en laboratoire, aucune NMEA, NPYR ou NDPhA n'a été détectée. La concentration de certaines N-nitrosamines (NDEA et NDBA) a parfois connu une légère hausse après désinfection au PFA sans que cela soit systématique sur les trois campagnes d'échantillonnage. En particulier, cela n'a pas été le cas lors de la campagne réalisée à la dose la plus élevée de PFA (74,2 ppm.min). Pour déterminer l'impact potentiel des ions nitrite sur la formation de N-nitrosamines, comme observé lors des essais en laboratoire, il aurait été utile de vérifier les concentrations en nitrite dans les trois échantillons d'eaux traitées afin de dégager un éventuel lien avec les hausses de la NDEA et de la NDBA constatées, mais cela n'a malheureusement pas été le cas lors des essais à l'échelle industrielle. La NMOR n'a connu aucune hausse significative lors des essais à l'échelle industrielle, ce qui signifie que soit ses précurseurs n'étaient

**TABLEAU 7. Concentrations en composés non-halogénés (N-nitrosamines) dans différents types d'échantillons (eau brute, eau décantée, eau traitée) avant et après désinfection à l'acide performique à différentes concentrations et avec un temps de contact de 10 min (C x t en ppm.min) (...)**

Echantillons <sup>a</sup>	PFA ppm.min	N-nitrosamines <sup>b</sup> ng/L							
		NDMA	NDEA	NDPA	NMOR	NPIP	NDBA		
Eau traitée n°1	-	30	3,5	2,6	11	1,1	4,3		
Eau traitée n°1 + 2 ppm PFA	20	25	1,0	0,2	9,8	0,7	1,7		
Eau traitée n°2	-	31	3,0	1,5	13	2,1	7,7		
Eau traitée n°2 + 2 ppm PFA	20	22	2,2	0,3	12	1,2	2,8		
Eau traitée n°3	-	32	14	0,6	11	1,6	6,7		
Eau traitée n°3 + 1,2 ppm PFA	32,1	31	11	1,5	14	2,4	19		
Eau traitée n°4	-	31	4,9	1,5	18	3,2	5,2		
Eau traitée n°4 + 0,8 ppm PFA	28,3	31	6,5	0,7	19	3,1	11		
Eau traitée n°5	-	33	3,9	1,8	15	3,2	6,6		
Eau traitée n°5 + 2,5 ppm PFA	74,2	33	5,3	0,5	13	1,7	6,7		

<sup>a</sup> Les échantillons 3, 4 et 5 sont issus des essais réalisés à l'échelle industrielle et les temps de contact ne sont pas maîtrisés.

<sup>b</sup> NDMA : N-nitrosodiméthylamine ; NDEA : N-nitrosodéthylamine ; NDPA : N-nitrosodipropylamine ; NMOR : N-nitrosomorpholine ; NPIP : N-nitrosopiperidine ; NDBA : N-nitrosodibutylamine

**TABLEAU 7. Concentrations en composés non-halogénés (N-nitrosamines) dans différents types d'échantillons (eau brute, eau décantée, eau traitée) avant et après désinfection à l'acide performique à différentes concentrations et avec un temps de contact de 10 min (C x t en ppm.min) (Fin)**

Echantillons <sup>a</sup>	PFA ppm.min	N-nitrosamines <sup>b</sup> ng/L							
		NDMA	NDEA	NDPA	NMOR	NPIP	NDBA		
Eau traitée n°6	-	21	1,5	1,5	10	1,1	5,6		
Eau traitée n°6 + 1 ppm PFA	10	21	2,1	0,8	14	1,2	2,8		
Eau traitée n°6 + 2 ppm PFA	20	24	3,9	0,8	8,8	1,9	2,7		
Eau traitée n°6 + 30 ppm PFA	300	24	2,0	0,2	9,1	1,4	2,8		
Eau traitée n°6 + 100 ppm PFA	1000	19	2,8	1,9	11	2,1	8,8		
Eau traitée n°6 + 2 mg-N/L of NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> + 1 ppm PFA	10	30	4,9	1,0	162	1,2	3,4		
Eau brute n°7	-	27	19	0,3	7,2	4,5	2,6		
Eau brute n°7 + 10 ppm PFA	100	33	23	0,2	6,4	8,6	2,9		
Eau décantée n°8	-	30	17	0,4	7,4	6,2	1,8		
Eau décantée n°8 + 10 ppm PFA	100	28	18	0,6	7,8	12,5	1,9		

<sup>a</sup> Les échantillons 3, 4 et 5 sont issus des essais réalisés à l'échelle industrielle et les temps de contact ne sont pas maîtrisés.

<sup>b</sup> NDMA : N-nitrosodiméthylamine; NDEA : N-nitrosodéthylamine; NDPA : N-nitrosodipropylamine; NMOR : N-nitrosomorpholine; NPIP : N-nitrosopiperidine; NDBA : N-nitrosodibutylamine

pas présents dans l'effluent, soit la concentration en nitrite était insuffisante pour provoquer une nitrosation.

Dans l'ensemble, aucun changement significatif de la concentration en NDMA n'a été relevé après désinfection au PFA, toutes doses confondues. Ceci indique que les eaux traitées d'usines d'épuration ne contenaient pas de précurseurs de NDMA ni d'ions nitrite en concentration suffisantes, mais également que le PFA ne produit aucune quantité significative de NDMA, la N-nitrosamine la plus cancérigène, au contact d'eaux usées.

### 3. SUIVI PAR ANALYSE NON-CIBLÉE DU DEVENIR DES MICROPOLLUANTS

Tous les échantillons prélevés pour la quantification des SPD ont également été utilisés pour des analyses non-ciblées. Les échantillons ont été filtrés à l'aide de filtres en fibre de verre avec des diamètres de pores respectifs de 2,7 et 0,7  $\mu\text{m}$  (Whatman GF/D et GF/F). 1 litre de chaque échantillon a été acidifié à pH 6 à l'acide sulfurique (98 %); 40  $\mu\text{L}$  d'une solution d'étalons internes (bisphénol A-d6, 4-n-octylphénol-d17, 4-octylphénol-diéthoxylate et propylparaben-d4) a été ajouté à chaque échantillon. L'extraction en phase solide (SPE) est la technique la plus couramment utilisée pour concentrer les molécules et garantir leur détection par HRMS (Hogenboom *et al.*, 2009; Müller *et al.*, 2011; Singer *et al.*, 2016). De nombreuses études ont eu recours à des cartouches dites *universelles* pour la SPE (ex. : OASIS HLB) afin de retenir un grand nombre de molécules (Ibáñez *et al.*, 2008). L'utilisation combinée de différentes cartouches offre une méthode alternative pour capturer diverses substances dotées de caractéristiques physico-chimiques distinctes (Singer *et al.*, 2016). Les échantillons étudiés ici ont été extraits à l'aide d'un instrument SPE automatique (AutoTrace, Dionex Corporation, Sunnyvale, CA, USA) et de cartouches contenant un mélange de quatre phases différentes (Oasis HLB - Water, ENV+ - Biotage, Strata X-AW - Phenomenex et Strata X-CW - Phenomenex). Les cartouches ont été conditionnées avec 10 mL de méthanol, puis 10 mL d'eau ultra-pure. Après extraction de l'échantillon, les cartouches ont été séchées sous un léger flux d'azote pendant 30 minutes. Les substances ont ensuite été éluées avec 6 mL d'un mélange de méthanol/acétate d'éthyle (50-50) contenant 1,43 % d'ammoniaque (35 %) et 3 mL d'un mélange méthanol/acétate d'éthyle (50-50) contenant 1,7 % d'acide formique. L'extrait a été évaporé sous un flux d'azote et reconstitué à l'aide de 1 mL d'eau ultra-pure et de méthanol (80/20). Tous les extraits ont ensuite été filtrés à l'aide de filtres en polytétrafluoroé-

thylène (0,2 µm) et transvasés dans des vials pour analyse. Un échantillon d'eau ultra-pure (« échantillon témoin d'extraction ») a été extrait dans les mêmes conditions que les autres échantillons.

Les échantillons ont été analysés par chromatographie liquide ultra-haute performance (UPLC) couplée à un spectromètre de mobilité ionique et un spectromètre de masse haute résolution de type temps de vol (IMS-QTOF) (Vion (Waters Corporation, Milford, MA, USA)). Les analytes ont été séparés sur une colonne ACQUITY UPLC-BEH C1 (2,1 × 100 mm, 1,7 µm, Water). 10 µl de chaque échantillon a été injecté avec un débit de 0,45 mL/min. La phase mobile était constituée de : (A) eau ultra-pure + 0,1 % d'acide formique, et (B) acétonitrile + 0,1 % d'acide formique. Le gradient était isocratique à 1 minute avec 98 % de (A), une diminution linéaire de 25 minutes à 2 % de (A), isocratique à 5 minutes avec 2 % de (A), avec un temps d'équilibration de 4 minutes avec 98 % de (A). La colonne UPLC et les échantillons ont été respectivement maintenus à 40 et 10 °C.

Le processus d'ionisation a été réalisé avec une source de type *electrospray* en mode d'ionisation positive et négative avec les paramètres suivants : tension capillaire de 0,80 kV (2,50 kV en mode d'ionisation négative), température source de 120 °C (100 °C en mode d'ionisation négative), température de désolvatation à 500 °C (250 °C en mode d'ionisation négative), débit de cône gazeux de 50 L/h, et débit gazeux de désolvatation 1000 L/h (600 L/h en mode d'ionisation négative). L'acquisition a été réalisée en mode *data-independent* pour obtenir des spectres en basse (6 eV) et haute (rampe de 20-56 eV) énergie de collision, en vue d'obtenir les précurseurs et les fragments dans un même temps. Cette acquisition a été effectuée entre 50 et 1000 *m/z* avec un temps de balayage de 0,2 seconde.

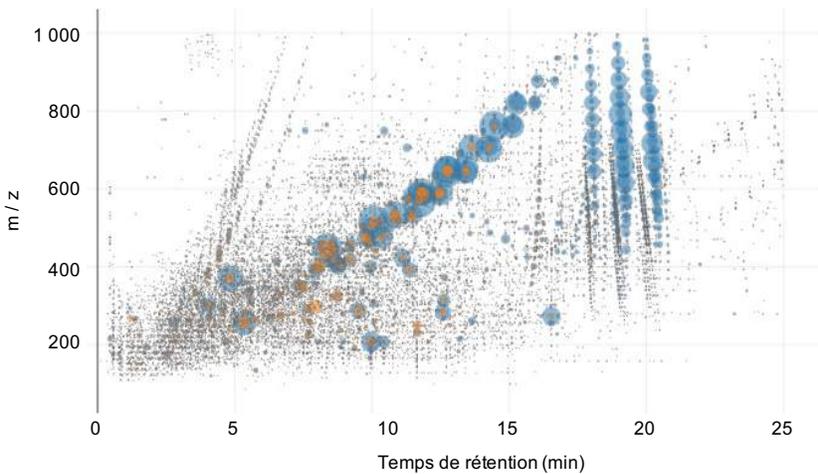
Chaque échantillon a été injecté en triplicata et de manière randomisée afin de limiter la variabilité intra-séquence due à la variabilité analytique des instruments. Des échantillons témoins (blancs de phase mobile) ont été injectés tout au long de la séquence, de même qu'un échantillon composite (*pool*) composé de volumes équivalents de chaque échantillon injecté lors de la séquence. Cet échantillon composite a servi à évaluer la dérive analytique lors de la séquence. Le logiciel UNIFI (Waters) a été utilisé pour l'acquisition et le prétraitement des données, et notamment pour la détection 4D des pics, le regroupement des isotopes et adduits, et l'alignement des marqueurs détectés entre les différents échantillons. Une liste de marqueurs a ainsi été générée par UNIFI, avec pour chaque marqueur sa masse exacte (rapport *m/z*), son temps de rétention, son temps de dérive ionique (mobilité ionique - *drift time*) et son intensité dans chaque échantillon. Cette liste a été exportée sous forme de fichier .csv pour analyse ultérieure via le logiciel « R » (R Core Team, 2019) afin de produire des statistiques globales (nombre total de marqueurs, intensité totale, temps de rétention moyen, rapport

$m/z$  moyen) et des visualisations à des fins de comparaison d'échantillons. Les marqueurs qui étaient uniques ou communs à des groupes d'échantillons ont ensuite été isolés afin de produire des diagrammes d'Euler à l'aide des paquets *limma* (Ritchie *et al.*, 2015) et *venneuler* (v1.1-0 ; Wilkinson, 2011).

### 3.1. Caractérisation globale par analyse non-ciblée

Un nombre total de marqueurs de 114 576 et 114 490 a été obtenu par UNIFI parmi les 23 échantillons, respectivement en mode d'ionisation positive et négative. Les marqueurs détectés dans tous les échantillons ont été utilisés pour étudier les différences entre échantillons en visualisant les empreintes chromatographiques selon leur temps de rétention, leur rapport  $m/z$  et leur intensité (**Figure 21**). Le graphique indique une baisse systématique de l'intensité des marqueurs après traitement de chaque type d'échantillon au PFA. Des modifications des types de molécule étaient également visibles : de nombreux marqueurs de haute intensité observés à des temps de rétention supérieurs à 15 minutes et des masses moléculaires importantes (400  $m/z$ ) ont disparu, tandis que d'autres marqueurs présentant des temps de rétention plus courts (5-12 min) et des masses moléculaires inférieures (200-400  $m/z$ ) ont affiché une intensité accrue. Ce constat était encore plus prononcé à des doses de PFA supérieures (300 et 1000 ppm.min, données non présentées), ce qui indique que le PFA peut dégrader des composés modérément hydrophobes avec une masse moléculaire importante et, dans une moindre mesure, produire des molécules de faible masse moléculaire qui sont également plus hydrophiles. Ce type de transformation de composés organiques est caractéristique d'autres processus d'oxydation (ex. : chloration, ozonation). Ces informations révèlent qu'outre son pouvoir désinfectant, le PFA est capable de réduire la concentration de nombreux composés organiques tout en modifiant, dans une certaine mesure, la nature des molécules présentes dans les effluents. Il est à noter que les rejets d'usines d'épuration prélevés le 18 septembre 2018 (ET SEV) présentaient une empreinte digitale très différente (non présentée), avec de très grands pics autour de 8 minutes, 400  $m/z$  et quasiment aucune différence (hormis une légère baisse de l'intensité) après un traitement au PFA avec 20 ppm.min. Ces résultats ont été attribués à la qualité altérée de l'eau due à un contournement de l'étape d'élimination tertiaire du phosphore opéré sur l'usine SEV lors d'un épisode de précipitations le 18 septembre 2018 (cf. **Partie 1 – Chapitre 1**). Dans cet échantillon, le phosphore total était de 2,5 mg P/L, contre 0,8-1,0 mg P/L en conditions nominales (ET SEV entre le 11 septembre 2018 et le 6 novembre 2018). Le fait de ne pas passer par l'étape de coagulation normalement opérée pour éliminer le phosphore pourrait également altérer la qualité de

l'eau du fait de la présence de matières colloïdales capables d'influer de manière négative sur l'efficacité du PFA, ce qui entraînerait une diminution de la dégradation des composés organiques. La présence de colloïdes peut également impacter l'étape de préparation des échantillons (SPE), ce qui se reflète dans la forte variabilité observée entre les différentes empreintes chromatographiques des répliques de cet échantillon (variations plus importantes entre l'intensité des marqueurs des trois injections).



**FIGURE 21. Empreinte chromatographique (spectrométrie de masse haute résolution - UPLC-IMS-QTOF) des composés organiques contenus dans les eaux traitées avant (cercles bleus) et après (cercles oranges) désinfection à l'acide performique à 2 ppm avec un temps de contact de 10 min. La taille du cercle est proportionnelle à l'intensité du marqueur.**

Une caractérisation globale de chaque échantillon a été réalisée afin d'obtenir des données moyennes sur chaque empreinte chromatographique : temps de rétention moyen, rapport  $m/z$  moyen des marqueurs détectés, et nombre total et intensité totale (somme des intensités de chaque marqueur) de tous les marqueurs détectés. Cette phase de caractérisation a d'abord été réalisée sans filtre préalable (aucun seuil en matière d'intensité) pour chaque échantillon d'eaux traitées, avant toute désinfection au PFA (ensemble des six échantillons d'ET SEV) et après désinfection au PFA, soit à l'échelle industrielle (trois échantillons d'ED SEV), soit en laboratoire avec 20 ppm.min de PFA (ET SEV + 2 ppm PFA). La moyenne des résultats obtenus pour les six échantillons avant et après désinfection au PFA a été calculée et synthétisée dans le **Tableau 8**. Le rapport  $m/z$  moyen a chuté après traitement au PFA, corroborant ainsi le constat antérieur de masses moléculaires globalement plus faibles pour les

composés organiques détectés après oxydation. Les temps de rétention et le nombre total de marqueurs sont restés stables dans l'ensemble, mais l'intensité totale a légèrement diminué (passant de  $4,8 \times 10^8$  à  $4,1 \times 10^8$ ), ce qui vient confirmer la réduction globale des intensités de pointe visuellement observée au niveau des empreintes chromatographiques (**Figure 21**). Ces paramètres ont également été calculés d'après les marqueurs détectés uniquement avant ou après désinfection au PFA (en éliminant les marqueurs communs présents à la fois avant et après traitement au PFA). Ce calcul vient clairement confirmer le fait que les molécules disparues après traitement au PFA présentaient une masse moléculaire supérieure aux composés organiques formés après ajout du PFA, mais la légère hausse globale des temps de rétention moyens ne corrobore pas l'idée attendue de la formation de produits de dégradation plus hydrophiles. Le nombre de molécules apparaissant après traitement (2 119) était supérieur à celui des composés disparus (1799), mais leur intensité globale était moins importante ( $4,1 \times 10^7$  contre  $4,5 \times 10^7$ ).

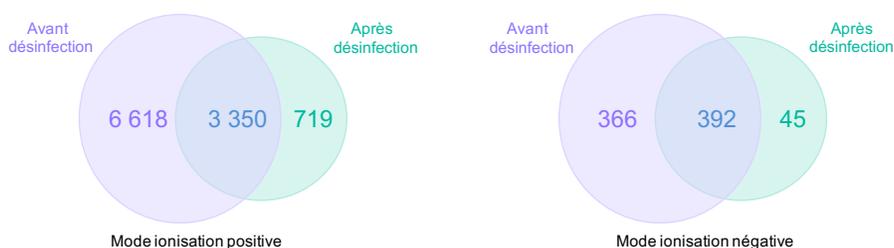
**TABLEAU 8. Valeurs caractéristiques des marqueurs d'intensité obtenus avant et après désinfection par acide performique à 2 ppm avec un temps de contact de 10 min. Toutes les valeurs sont obtenues après analyse de 6 échantillons réalisées en 3 réplicats (18 empreintes). Les paramètres ont été calculés pour l'ensemble des marqueurs détectés dans chacune des 18 empreintes (tous les marqueurs) et pour les marqueurs détectés exclusivement avant ou après désinfection (marqueurs uniques)**

	Avant désinfection		Après désinfection (2 ppm.min)	
	Tous les marqueurs	Marqueurs uniques	Tous les marqueurs	Marqueurs uniques
<b>Temps de rétention moyen (min)</b>	8,96	10,26	9,09	11,03
<b>Moyenne du ratio m/z</b>	434,4252	505,4057	405,3870	441,2656
<b>Nombre total de marqueurs</b>	11608	1799	11634	2119
<b>Nombre de marqueur avec intensité &gt; 10 000</b>	7369	1792	6222	1303
<b>Intensité total des marqueurs</b>	$4,8 \times 10^8$	$4,5 \times 10^7$	$4,1 \times 10^8$	$4,1 \times 10^7$
<b>Intensité total des marqueurs dont intensité &gt; 10 000</b>	$4,6 \times 10^8$	$6,0 \times 10^7$	$3,8 \times 10^8$	$5,5 \times 10^7$

Un seuil d'intensité (>10 000) a été appliqué afin de filtrer les plus petits pics d'intensité proche du bruit (les valeurs d'intensité des marqueurs étaient comprises entre 50 et  $41 \times 10^6$ , et les pics d'intensité >10 000 étaient principalement présents dans les échantillons témoins/blancs). Après application de

ce seuil, près de 60 % des marqueurs étaient encore présents. Le nombre total de ces marqueurs a légèrement diminué (passant de 7369 à 6222, cf. **Tableau 8**) après traitement au PFA, tout comme leur intensité totale. S'agissant des marqueurs uniques, le nombre de marqueurs formés après traitement au PFA (1303) était inférieur au nombre de marqueurs totalement décomposés (1792), et leur intensité globale légèrement plus faible.

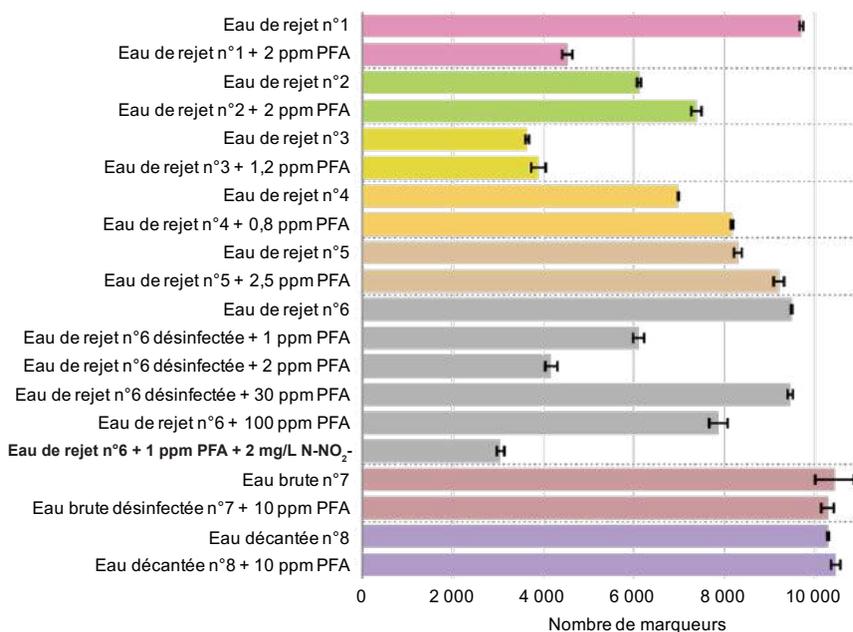
Les diagrammes d'Euler (**Figure 22**) permettent de visualiser le nombre de marqueurs exclusivement présents avant ou après désinfection au PFA (marqueurs uniques du **Tableau 8**), ainsi que le nombre de marqueurs présents à la fois avant et après traitement (sans indication de leur intensité). On observe une chute manifeste du nombre de marqueurs après traitement (dose de 20 ppm.min de PFA) dans les modes d'ionisation positive et négative. Une faible proportion de nouveaux pics a donc été générée durant le traitement et peut être catégorisée comme produits de décomposition (~18 et ~10 % de tous les pics présents après traitement au PFA en mode d'ionisation négative et positive). Une part importante des marqueurs initialement présents dans les rejets d'usines d'épuration étaient toujours présents après traitement au PFA (~34 et ~52 % en mode d'ionisation négative et positive). Des diagrammes d'Euler similaires ont été obtenus à partir d'autres échantillons (données non présentées), confirmant ainsi les observations qualitatives tirées des empreintes chromatographiques des marqueurs (**Figure 21**), qui indiquent que le traitement au PFA réduit le nombre de composés organiques détectés dans les échantillons.



**FIGURE 22. Diagramme d'Euler représentant le nombre total de marqueurs d'intensité supérieure à 1000 détectés dans un échantillon d'eau traitée avant (violet) et après (vert) désinfection à l'acide performique à 2 ppm avec un temps de contact de 10 min. Les résultats sont présentés en mode d'ionisation positive et négative obtenu par spectrométrie de masse haute résolution (UPLC-IMS-QTOF). La taille des cercles est proportionnelle au nombre de marqueurs.**

La diminution légère du nombre moyen de marqueurs sur l'ensemble des échantillons après désinfection au PFA (**Tableau 8**) est détaillée pour chaque échantillon dans la **Figure 23**.

Devenir des micropolluants et formation de sous-produits  
lors de la désinfection de rejets d'usines d'épuration par le PFA



**FIGURE 23. Nombre total de marqueurs d'intensité supérieure à 10 000 détectés en mode d'ionisation positive par spectrométrie de masse haute résolution (UPLC-IMS-QTOF) de différents types d'échantillons (eau brute, eau décantée, eau traitée) avant et après désinfection à l'acide performique (PFA) à différentes concentrations et avec un temps de contact de 10 min. Les barres d'erreur décrivent l'écart-type obtenu pour l'analyse des 3 réplicats**

Certains échantillons (ex. : 11 septembre 2018 ou 6 novembre 2018) ont présenté une chute nette du nombre de marqueurs, tandis que tous les autres échantillons ont montré soit une baisse légère, soit aucune baisse (en particulier le 18 septembre 2018, le 10 octobre 2018 et le 24 octobre 2018). Ces différences peuvent être attribuées aux dérivations opérées au niveau de l'usine lors des précipitations du 18 septembre 2018, du 26 septembre 2018 et du 10 octobre 2018, ainsi qu'aux variations de la matrice des eaux de rejet. Toutefois, une hausse du nombre de marqueurs a également été relevée le 24 octobre 2018 à une date où aucune dérivation n'avait eu lieu, ce qui indique que d'autres facteurs inconnus pourraient avoir joué un rôle. Ces résultats prouvent que la réactivité du PFA avec les molécules organiques peut être très variable en fonction des conditions sous-jacentes (ex. : qualité de la matrice des eaux usées, présence d'ions inorganiques, température). Dans la plupart des cas, l'impact du PFA sur le nombre et l'intensité des marqueurs était très limité. Le 6 novembre 2018, le nombre de marqueurs a chuté avec une hausse de la concentration de PFA à 1 et 2 ppm, mais est à nouveau remonté pour des concentrations de PFA supérieures (30 et 100 ppm de PFA).

Ce constat peut être attribué à la formation d'autres produits de décomposition. Ces produits ont effectivement été observés pour la plage inférieure de masses moléculaires et de temps de rétention au niveau des empreintes chromatographiques, et concordent avec la présence accrue d'AOX et de SPD halogénés analysés dans ces échantillons. Néanmoins, le nombre de marqueurs n'excédait pas celui des rejets d'usines d'épuration initiaux. La présence d'ions nitrite a semblé réduire le nombre de marqueurs détectés après traitement au PFA à une concentration de 1 ppm, ce qui reste incertain. Enfin, la désinfection d'eaux usées brutes (EB SEC) et décantées (ED SEC) (11 décembre 2018) n'a révélé aucune différence notable sur le nombre de marqueurs détectés.

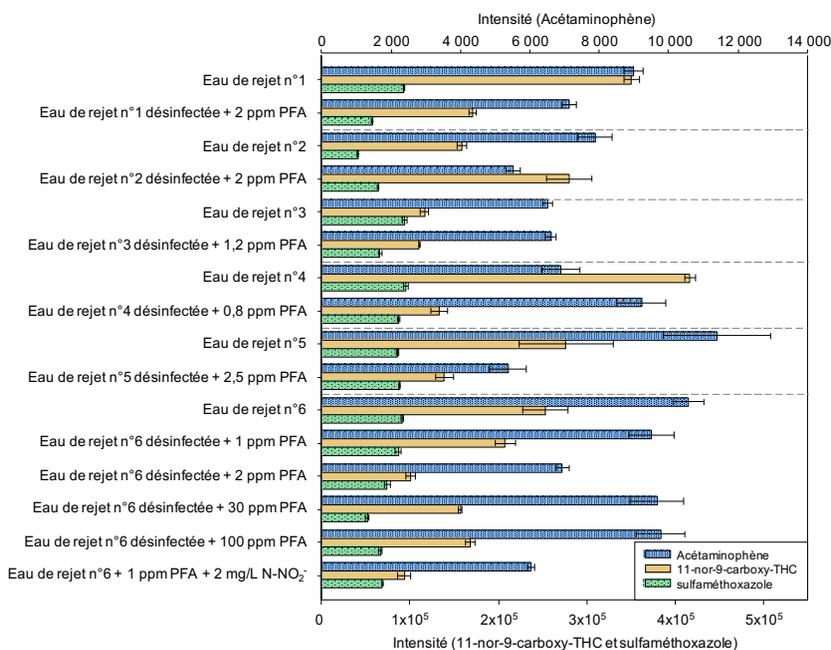
Des résultats similaires ont été obtenus en calculant l'intensité totale des marqueurs dans chaque échantillon (données non présentées), démontrant ainsi que la concentration globale des molécules était en légère baisse après désinfection au PFA, mais également que les molécules produites lors d'un traitement au PFA ne possédaient pas une intensité élevée. La réduction globale limitée du nombre de marqueurs, ainsi que la formation limitée de composés organiques avec des temps de rétention courts (molécules plus hydrophiles) décrites plus tôt concordent avec la faible réactivité du PFA vis-à-vis de la formation de SPD, ainsi qu'avec l'impact limité relevé sur la matrice de matières organiques par le biais de mesures de spectrofluorimétrie (**Partie 1 – Chapitre 3**).

### 3.2. Identification et devenir des micropolluants caractérisés par criblage suspect

Un criblage suspect a été réalisé sur le même jeu de données obtenu par analyse non-ciblée via UPLC-IMS-QTOF. Une bibliothèque a été créée dans le logiciel UNIFI, recensant 201 micropolluants organiques avec leur masse exacte (rapport  $m/z$ ), ainsi que leur structure moléculaire (Bergé *et al.*, 2018 ; Mailler *et al.*, 2016, 2017). Lors du traitement de données effectué par UNIFI, les molécules de la bibliothèque ont été recherchées dans tous les chromatogrammes selon leur masse exacte, avec une tolérance de 5 ppm. Les faux-positifs ont été éliminés d'après plusieurs critères, dont : la forme du pic détecté, son temps de rétention (d'après la rétention attendue dans la colonne BEH-C18) et une correspondance de fragments (comparaison de fragments obtenus au sein de spectres à haute énergie avec des fragments générés *in silico* par UNIFI, ainsi qu'avec des fragments trouvés dans des bibliothèques en accès libre).

Une grande partie des molécules listées a été détectée dans au moins un échantillon (comme le révèle le nombre de molécules détectées dans l'échantillon composite). Aucune différence significative n'a été relevée entre les nombres de molécules détectées avant et après la désinfection au PFA, même aux doses

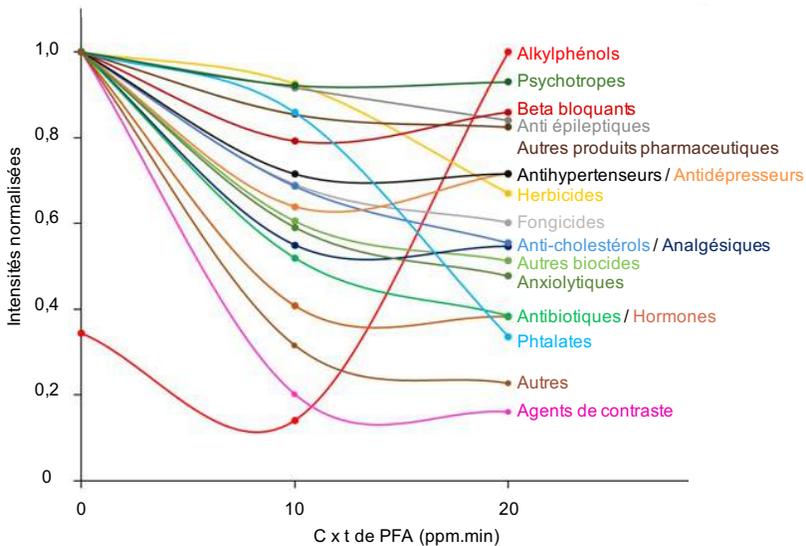
les plus élevées (300 et 1000 ppm.min). L'intensité des molécules sélectionnées a été isolée et corrigée par les signaux des étalons internes (intensité du propylparabène-d4 dans chaque échantillon) afin de compenser tout écart entre les échantillons. La **Figure 24** décrit l'évolution des produits pharmaceutiques acétaminophène (paracétamol) et sulfaméthoxazole, ainsi que celle du 11-nor-9-carboxy-tétrahydrocannabinol, principal métabolite de la substance psychoactive tétrahydrocannabinol (THC) dans les échantillons. Ces molécules ont été détectées à une fréquence élevée et en concentrations relativement élevées au sein d'eaux usées brutes (acétaminophène > 100 µg/L, sulfaméthoxazole > 500 ng/L) et d'eaux usées traitées (Guillossou *et al.*, 2019). Ces trois molécules ont affiché une baisse d'intensité dans la plupart des échantillons désinfectés. Ces résultats illustrent la dégradation modérée des micropolluants organiques par le PFA, et indiquent que la majorité des molécules était toujours détectée même après traitement au PFA.



**FIGURE 24. Occurrence de l'acétaminophène, du 11-nor-9-carboxy-tétrahydrocannabinol (métabolite du THC) et du sulfaméthoxazole détectés par spectrométrie de masse haute résolution (UPLC-IMS-QTOF) avec identification des marqueurs d'intensité avant et après désinfection à l'acide performique (PFA) à différentes concentrations et avec un temps de contact de 10 min. Les intensités sont normalisées avec l'intensité du propylparabène-d4 en guise d'étalon interne. Les barres d'erreur décrivent l'écart-type obtenu pour l'analyse des 3 réplicats.**

Les intensités de chaque composé organique ont été moyennées par catégorie de molécules, puis normalisées et comparées en fonction des doses croissantes

de PFA (0, 10 et 20 ppm.min) utilisées pour la désinfection des échantillons des rejets d'usines d'épuration du 6 novembre 2018 (**Figure 25**). De nouveau, la majorité des familles de molécules a présenté une légère baisse d'intensité moyenne à 10 ppm.min et est restée relativement constante avec l'augmentation de la dose de PFA jusqu'à 20 ppm.min. Certaines catégories (ex. : agents de contraste iodés, hormones, antibiotiques) affichaient des taux d'élimination plus importants, avec une intensité moyenne réduite de plus de 50 %. Les alkylphénols affichaient une légère baisse à une dose de 10 ppm.min de PFA, mais une importante hausse pour 20 ppm.min de PFA. Ce comportement pourrait être attribué à la décomposition d'alkylphénols à longue chaîne et de leurs éthoxylates présents dans les eaux usées traitées (provenant de produits agricoles, industriels et ménagers, Bergé *et al.*, 2012), qui pourraient réagir avec le PFA en produisant les alkylphénols simples (4-nonylphénol et 4-tert-octylphénol) listés et utilisés dans le cadre de cette approche de criblage suspect. Tous ces résultats doivent toutefois être pris en compte à titre d'informations qualitatives et restent à confirmer par des analyses ciblées des micropolluants organiques (quantification précise au moyen d'étalons analytiques et de courbes d'étalonnage).



**FIGURE 25. Evolution des intensités des différentes catégories de micropolluants lors de la désinfection par acide performique à différentes concentrations durant un temps de contact de 10 min (10 et 20 ppm.min), détectées par spectrométrie de masse haute résolution (UPLC-IMS-QTOF). Les intensités sont normalisées avec l'intensité du propylparabène-d4 en guise d'étalon interne et sont divisées par l'intensité maximale obtenue pour chaque catégorie de composés.**

## Points clés

- La désinfection des rejets d'usines d'épuration à des doses modérées d'acide performique (PFA) (10-30 ppm.min) n'a pas généré de quantité détectable de sous-produits de désinfection halogénés (SPD) connus (ex. : trihalométhanes (THM), haloacétonitriles). Les concentrations en composés organohalogénés adsorbables (AOX) ont généralement augmenté de 5-10 µg/L en partant de concentrations initiales de 30-40 µg/L dans les rejets d'usines d'épuration. Les doses de PFA supérieures (>70 ppm.min) ont généré de faibles concentrations de SPD halogénés (dichlorobromométhane, dibromochlorométhane, bromoforme, bromochloroacétonitrile et dibromoacétonitrile), qui se situaient bien en-dessous du seuil réglementaire requis pour l'eau potable (normes de l'Union européenne : total THM = 100 µg/L).
- De faibles concentrations de N-nitrosamines ont été détectées dans les rejets d'usines d'épuration, la N-nitrosodiméthylamine étant la plus abondante (jusqu'à 33 ng/L). Dans l'ensemble, aucune modification majeure de la concentration des N-nitrosamines n'a été relevée après désinfection au PFA, toutes doses confondues, ce qui indique que les eaux traitées d'usines d'épuration ne comportaient aucune concentration significative de précurseurs de N-nitrosamines et/ou que le PFA n'est pas capable de produire des N-nitrosamines. Une hausse majeure de la concentration en N-nitrosomorpholine (NMOR) a toutefois été relevée en présence d'ions nitrite (2 mg N/L) à une faible dose de PFA (10 ppm.min). Ce résultat est à confirmer par des études mécanistiques réalisées avec des précurseurs de NMOR (ex. : morpholine).
- Les analyses non-ciblées par spectrométrie de masse haute résolution (HRMS) ont révélé une faible réactivité du PFA avec les composés organiques. Une décomposition des molécules organiques a été observée même à de faibles doses de PFA, sans toutefois que ce dernier soit mis en cause dans la production d'un nombre important de nouvelles molécules (produits de décomposition), ce qui corrobore sa faible propension à former des SPD. Les doses de PFA supérieures ont toutefois augmenté le nombre de molécules détectées par HRMS par rapport aux faibles doses en générant des produits de décomposition, mais cette production n'a jamais excédé le nombre et l'intensité totale des signaux observés dans les rejets d'usines d'épuration initiaux.
- Les micropolluants organiques sélectionnés pour un criblage suspect n'ont été que légèrement décomposés par les doses courantes de PFA (10-30 ppm.min). La majeure partie des catégories de micropolluants a montré une faible réactivité au PFA. Certaines catégories (ex. : agents de contraste radio, alkylphénols) ont révélé une réactivité plus importante.

- Des travaux à venir sur des jeux de données de HRMS seront consacrés à l'identification de molécules inconnues propres aux eaux usées désinfectées au PFA par le biais d'outils statistiques (ex. : analyse en composantes principales, analyse discriminante orthogonale des moindres carrés partiels) en vue d'identifier d'éventuels produits de décomposition d'intérêt.
- La faible réactivité globale du PFA employé à faible dose vis-à-vis de la décomposition des composés organiques et de la formation de SPD concorde avec la faible réactivité du PFA avec la matrice organique observée par spectrométrie de fluorescence (**Partie 1 – Chapitre 3**).



# Partie 2

Évaluation de l'efficacité  
de la désinfection chimique  
à l'échelle industrielle  
(Usine d'épuration Seine Valenton)

---



# Chapitre 1

## Description technique des essais industriels menés à l'usine d'épuration Seine Valenton

---



© Olivier ROFLE

### 1. INTRODUCTION

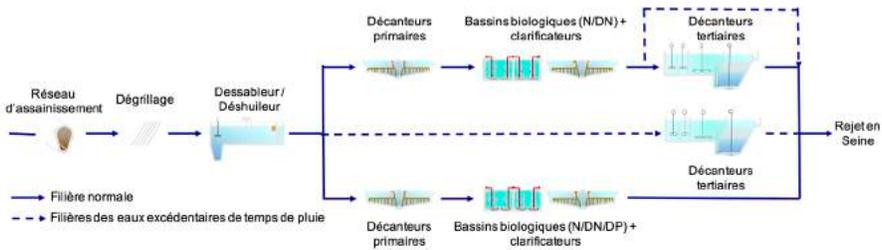
La première partie du présent ouvrage a synthétisé les principaux résultats relatifs à l'efficacité de la désinfection par acide performique (PFA). Si cette première étape a permis de valider, à l'échelle laboratoire, les performances de cette solution innovante pour désinfecter des eaux usées traitées, une étape d'essais en environnement réel s'est avérée essentielle pour valider la technologie.

Pour ce faire, la technologie KemConnect™ DEX de la société KEMIRA, permettant de produire du PFA *in situ*, a été installée au rejet de l'usine Seine Valenton du SIAAP (SEV, 2,6 millions EH).

Ce chapitre présente la description technique de cette phase de pré-déploiement réalisée sur l'usine SEV en 2018 avec notamment une présentation de la filière de traitement de l'usine, les conditions de désinfection, les protocoles de prélèvement et les paramètres analytiques étudiés.

## 2. PRÉSENTATION DE L'USINE SEINE VALENTON

L'usine SEV, située à 15 km au sud-est de Paris dans le département du Val-de-Marne (94), traite notamment les eaux usées du Val-de-Marne, de la vallée de la Bièvre, et de certaines communes des vallées de l'Orge, de l'Yvette et de l'Yerres avant de rejeter les eaux traitées dans la Seine, au niveau d'Alfortville en amont de Paris. Elle possède une capacité de traitement de 600 000 m<sup>3</sup>/j en temps sec et peut traiter les eaux excédentaires de temps de pluie jusqu'à 1 500 000 m<sup>3</sup>/j grâce à des décanteurs tertiaires dédiés (**Figure 26**).



**FIGURE 26. Description des filières de traitement de l'usine Seine Valenton du SIAAP (Val-de-Marne)**

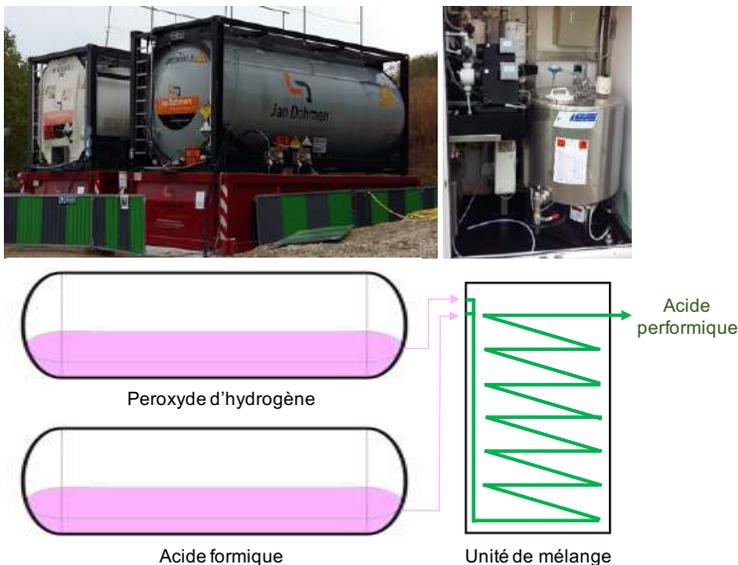
Les eaux usées brutes sont d'abord prétraitées par dégrillage, dessablage et déshuilage. Ensuite, les eaux usées prétraitées sont réparties entre deux filières de traitement parallèles, Valenton 1 et Valenton 2. En condition de temps sec, Valenton 1 traite les eaux usées prétraitées par décantation primaire avant un traitement biologique par boues activées à faible charge avec nitrification (N) et dénitrification (DN), suivi d'un traitement physico-chimique tertiaire avec ajout de coagulant, floculant et micro-sables. Valenton 2 traite également les eaux usées prétraitées par décantation primaire suivi d'un traitement biologique par boues activées à faible charge avec nitrification (N) et dénitrification (DN) mais intègre également une déphosphatation biologique (DP).

Par temps de pluie, lorsque le débit d'eaux usées excède 11,5 m<sup>3</sup>/s, les eaux excédentaires sont envoyées directement sur les unités de décantation lamellaire

physico-chimique tertiaire et au-delà de  $21 \text{ m}^3/\text{s}$ , une partie des eaux prétraitées est directement rejetée en Seine.

### 3. MISE EN ŒUVRE DES ESSAIS À L'ÉCHELLE INDUSTRIELLE

Le procédé de désinfection testé est le KemConnect™ DEX proposé par la société KEMIRA. Cette technologie repose sur le principe d'une production *in situ* et une injection immédiate de PFA ; l'instabilité du réactif réduisant fortement sa durée d'efficacité. L'acide performique est obtenu par un mélange équimassique de peroxyde d'hydrogène et d'acide formique catalysé. Le procédé est ainsi composé des deux cuves de stockage des précurseurs et d'une unité de brassage (**Figure 27**).



**FIGURE 27. Principe de fonctionnement de l'unité d'injection de l'acide performique (KemConnect™ DEX, KEMIRA)**

Le produit final contient environ 13,5 % d'acide performique par unité de masse, 20 % de peroxyde d'hydrogène et 30,9 % d'acide formique résiduel.

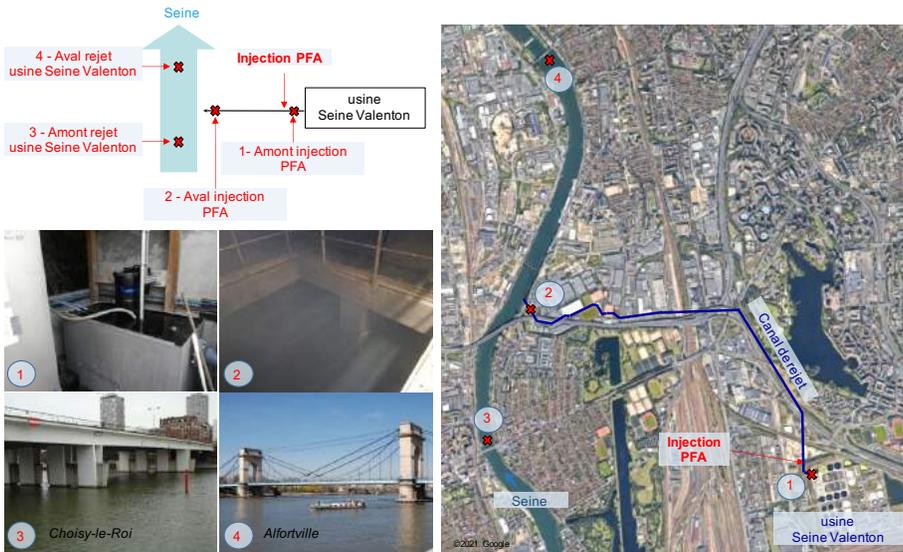
Les essais ont été réalisés entre la fin du mois d'août et la fin du mois d'octobre 2018, sur une durée totale de 10 semaines. Durant cette période, cinq semaines ont été consacrées à l'évaluation de l'efficacité de la désinfection avec injection de PFA, et cinq autres à une évaluation témoin sans injection de PFA. La dose de PFA injectée lors des essais est donnée dans le **Tableau 9**.

**TABLEAU 9. Conditions d'injection de l'acide performique (PFA) au rejet de l'usine d'épuration Seine Valenton du SIAAP**

Semaines	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Valeur de consigne en PFA (ppm)	1	0	1,2	0	1,2	0	0,8	0	2	0
Concentration injectée en PFA (ppm)	0,8-1,0	0	0,8-1,2	0	1,2	0	0,8	0	2,1-2,5	0
Temps de contact (min)	22-31	19-56	25-39	25-36	27-38	20-54	22-35	24-37	28-34	23-40
C * t (ppm.min)	17-31	0	16-39	0	32-45	0	18-28	0	60-74	0

## 4. SUIVI DE L'EFFICACITÉ ET DE L'ÉVALUATION ENVIRONNEMENTALE

Tout au long des 10 semaines, le même protocole de prélèvement a été appliqué pour les effluents rejetés par l'usine SEV et les eaux de Seine. La **Figure 28** donne la description des points de prélèvement en amont et en aval de l'injection de l'acide performique et en amont et en aval du rejet en Seine de l'usine d'épuration Seine Valenton.



**FIGURE 28. Description des points de prélèvement en amont et en aval de l'injection de l'acide performique (PFA) et en amont et en aval du rejet en Seine de l'usine d'épuration Seine Valenton**

Les échantillons prélevés en amont (**Figure 28 - n°1**) et en aval (**Figure 28 - n°2**) de l'injection de PFA ont servi à évaluer l'efficacité du traitement. Les échantillons prélevés en aval ont été recueillis à l'extrémité du canal de rejet de l'usine (situé à 3,65 km du lieu d'injection du PFA). Ce protocole de prélèvement a permis de respecter un temps de contact entre les effluents traités et le PFA compris entre 22 et 38 min avant rejet en Seine, en fonction des conditions hydrauliques (**Tableau 9**). Des échantillons propres à chaque point ont été prélevés trois fois par jour, trois jours par semaine (les mardis, mercredis et jeudis) à l'aide d'une perche télescopique pour le point en amont, et d'une pompe pour le point en aval ; en respectant un intervalle de 30 min entre le prélèvement des échantillons en amont et en aval.

Deux points de prélèvement ont été ciblés en Seine, en amont et en aval du point de rejet de l'usine, afin de vérifier l'innocuité des effluents désinfectés sur le milieu naturel. Ces points correspondent à deux sites de l'observatoire MeSeine de suivi de la qualité de la Seine : Choisy-le-Roi (PK 622 440, 1500 m en amont du rejet de l'usine) et pont du Port-à-l'Anglais (PK 626 152, 2 500 m en aval du point de rejet) (**Figure 28** – respectivement points n°3 et n°4). Pour chaque point, le prélèvement est constitué d'un mélange à volumes équivalents de 3 sous-échantillons (rive droite, centre, rive gauche). Les prélèvements ont été effectués une fois par semaine (les mercredis).

Il est à noter qu'en fonction des conditions météorologiques et du mode d'exploitation du système d'assainissement, des rejets urbains de temps de pluie peuvent avoir lieu par l'intermédiaire des déversoirs d'orage présents entre ces deux points de prélèvement.

## 5. PARAMÈTRES ÉTUDIÉS

Les paramètres analysés sont représentés dans le **Tableau 10** avec des indications concernant leur fréquence et le type d'eaux dans lequel ils ont été relevés.

Afin d'évaluer les performances d'élimination des paramètres microbiologiques, les *Escherichia coli* et les entérocoques intestinaux ont été analysés dans tous les échantillons issus du canal de rejet (en amont et en aval de l'injection d'acide performique), tandis que les spores de bactéries anaérobies sulfitoréductrices et les bactériophages ARN-F spécifiques n'ont été analysés qu'une fois par semaine (les mardis). Sur ces échantillons, des analyses spécifiques d'AOX, de bromure et de bromates ont également été réalisées.

En complément, les paramètres conventionnels de suivi de la qualité des eaux usées, tels les Matières en suspension (MES), le carbone organique (DCO et DBO) et le phosphore (Pt et orthophosphates), ainsi que le pH, la conductivité et la turbidité ont également été mesurés sur l'ensemble des échantillons.

Toutes les analyses ont été réalisées par le Laboratoire accrédité COFRAC du SIAAP ou le Laboratoire CARSO et ce, dans le respect des méthodes de référence. Les méthodes analytiques, les limites de quantification et les incertitudes analytiques estimées sont reportées dans le **Tableau 11**.

En complément de ce suivi analytique, les données d'exploitation de l'usine SEV ont été récupérées et traitées. Il s'agit notamment du débit de rejet au moment du prélèvement, le niveau d'eau et la géométrie du canal de rejet, ainsi que des informations concernant le modes d'exploitation internes de l'usine, susceptibles de modifier la qualité des rejets.

Pour la Seine, le jeu de données associé comprend le débit journalier de cette partie du fleuve recueilli à partir de la banque de données en ligne HYDRO (<http://hydro.eaufrance.fr>), les précipitations sur la zone d'apport de l'usine ainsi que la température des eaux de la Seine relevée au niveau du point de contrôle d'Alfortville, disponible dans la banque de données du réseau MeSeine.

TABLEAU 10. Nombre de prélèvements journaliers pour chaque paramètre analysé durant les 10 semaines d'essais à l'échelle industrielle (...)

Composés	Seine											
	Canal rejet SEV					Amont et aval rejet SEV <sup>a</sup>						
	Amont injection <sup>a</sup>					Aval injection <sup>a</sup>						
	Toutes les semaines		Semaines avec injection			Toutes les semaines		Toutes les semaines				
Ma	Me	Je	Ma	Me	Je	Ma	Me	Je	Ma	Me	Je	
<i>Escherichia coli</i>	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1
Entérocoques intestinaux	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1
Spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices	1						1					
Bacteriophages ARN-f	1						1					
Matières en suspension (MES)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1
Carbone organique dissous (COD)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1
Demande chimique en oxygène (DCO)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1
Demande biochimique en oxygène (DB05)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1
Azote total Kjeldhal (NTK)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1
Azote ammoniacal (N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1
Azote nitreux (N-NO <sub>2</sub> )	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1

<sup>a</sup> Description des points de prélèvement (Figure 2B)

Ma : Mardi ; Me : Mercredi ; Je : Jeudi.

TABLEAU 10. Nombre de prélèvements journaliers pour chaque paramètre analysé durant les 10 semaines d'essais à l'échelle industrielle (Fin)

Composés	Seine											
	Canal rejet SEV					Amont et aval rejet SEV <sup>a</sup>						
	Amont injection <sup>a</sup>					Aval injection <sup>a</sup>						
	Toutes les semaines		Semaines avec injection			Toutes les semaines		Toutes les semaines				
Ma	Me	Je	Ma	Me	Je	Ma	Me	Je	Ma	Me	Je	
Azote nitrique (N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1
Phosphore total (Pt)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1
Orthophosphates (P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> )	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1
pH	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1
Conductivité	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1
Turbidité	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1
Composés organiques halogénés (AOX)	1						1	0	0	0	0	
Ions bromates	1						1					
Ions bromures	1						1					
Couleur												1
Ions chlorures												1
Ions sulfates												1

<sup>a</sup> Description des points de prélèvement (Figure 2B)  
Ma : Mardi ; Me : Mercredi ; Je : Jeudi.

TABLEAU 11. Méthodes analytiques, limites de quantification et incertitudes analytiques estimées pour la détermination des paramètres (...)

Paramètres	Méthodes	Limites de quantification	Incertitudes analytiques
Azote ammoniacal (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	NF EN ISO 11732 (Août 2005)	0,3 mg N/L	0,3 à 1,2 = 40 % > 1,2 = 10 %
	NF EN ISO 11732 (Août 2005)	0,01 mg NH <sub>4</sub> /L	0,010 à 0,025 = 50 % > 0,025 = 20 %
Composés organiques halogénés (AOX)	NF EN ISO 9562 (Mars 2005)	10 µg/L Cl	> 10 = 35 %
	ISO 10705-3 / NF EN ISO 10705-1	30 UFPP/100 mL	n.d. <sup>a</sup>
Ions bromates	ISO 10304-1	5 µg/L	n.d. <sup>a</sup>
Ions bromures	Méthode interne	50 µg/L	n.d. <sup>a</sup>
Azote total Kjeldhal (NTK)	NF EN 25663 (janvier 1994)		0,5 à 2 = 60 % > 2 = 15 %
	ou Méthode interne	0,5 mg N/L	ou 0,5 à 1,5 = 60 % > 1,5 = 20 %
Carbone organique dissous (COD)	NF EN 1484 (Juillet 1997)	0,3 mg C/L (Méthode chimique) ou 3 mg/L (méthode thermique)	0,3 à 0,8 = 40 % > 0,8 = 15 % ou 3 à 12 = 60 % > 12 = 15 %
	NF ISO 15923-1 (Janvier 2014)	5 mg C/L	5 à 20 = 40 % > 20 = 10 %
Ions chlorures	NF EN ISO 10304-1 (Juillet 2009)	1 mg Cl/L	1 à 1,5 = 15 % > 1,5 = 10 %
	NF EN 27888 (Janvier 1994)	30 mS/m	> 30 = 10 %
Conductivité	NF EN ISO 7887	0 mg Pt/L	0 à 15 = ± 4,5 mg Pt/L > 15 = 30 %
	NF EN 1899-1 (Mai 1998) ou NF EN 1899-2 (Mai 1998)	3 mg O <sub>2</sub> /L ou 0,5 mg O <sub>2</sub> /L	3 à 4 = 40 % > 4 = 30 % ou 0,5 à 6 = 30 %
Demande biochimique en oxygène (DBO5)	ISO 15705 (Novembre 2002)	4 mg O <sub>2</sub> /L	4 à 6,3 = 55 % 6,3 à 40 = 35 % 40 à 60 = 50 % > 60 = 25 %

n.d. : non déterminé

TABLEAU 11. Méthodes analytiques, limites de quantification et incertitudes analytiques estimées pour la détermination des paramètres (Fin)

Paramètres	Méthodes	Limites de quantification	Incertitudes analytiques
<i>Escherichia coli</i>	NF EN ISO 9308-3 (Mars 1999)	56 NPP/100 mL 38 NPP/100 mL 15 NPP/100 mL	n.d. <sup>a</sup>
	NF EN ISO 7899-1 (Mars 1999)	56 NPP/100 mL 38 NPP/100 mL 15 NPP/100 mL	n.d. <sup>a</sup>
	NF EN 872 (Juin 2005)	2 mg/L	2 à 6 = 60 % > 6 = 20 %
Matières en suspension (MES)	NF EN ISO 13395 (Octobre 1996)	0,4 mg N/L	0,4 à 1,4 = 35 % > 1,4 = 10 %
	NF EN ISO 10304-1 (Juillet 2009)	0,5 mg NO <sub>3</sub> /L	0,5 à 1,5 = 30 % > 1,5 = 10 %
Azote nitrique (N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	NF EN ISO 13395 (Octobre 1996)	0,02 mg N/L	0,02 à 0,09 = 45 % > 0,09 = 10 %
	NF EN ISO 10304-1 (Juillet 2009)	0,01 mg NO <sub>2</sub> /L	0,01 à 0,4 = 40 % > 0,4 = 10 %
Azote nitreux (N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	NF EN ISO 15681-2 (Juin 2005)	0,1 mg P/L	0,1 à 0,4 = 40 % > 0,4 = 10 %
	NF EN ISO 15681-2 (Juin 2005)	0,02 mg PO <sub>4</sub> /L	0,02 à 0,08 = 40 % > 0,08 = 10 %
Orthophosphates (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> )	NF EN ISO 10523 (Mai 2012)	-	10 %
	Méthode interne	0,3 mg P/L	0,3 à 1,1 = 55 % > 1,1 = 15 %
Spores de bactéries sulfito-réductrices	NF EN 26461-2 (Juillet 1993)	200 UFC/100 mL 34 UFC/100 mL 10 UFC/100 mL	n.d. <sup>a</sup>
	Méthode interne	10 mg/L	10 à 25 = 25 % > 25 = 10 %
	NF EN ISO 10304-1 (Juillet 2009)	1 mg/L	1 à 1,5 = 15 % > 1,5 = 10 %
Ions sulfates	NF EN ISO 7027-1 (Août 2016)	0,5 FNU	> 0,5 = 30 %
	Méthode interne	0,5 FNU	> 0,5 = 30 %
Turbidité	NF EN ISO 7027-1 (Août 2016)	0,5 FNU	> 0,5 = 30 %
	Méthode interne	0,5 FNU	> 0,5 = 30 %

<sup>a</sup> n.d. : non déterminé



# Chapitre 2

Suivi *in situ* des bactéries indicatrices fécales à l'aide du système d'instrumentation microbiologique rapide ALERT (Fluidion®)

---



© SIAAP

## 1. INTRODUCTION

Contrôler la qualité microbiologique des eaux superficielles est nécessaire dans les zones où des contacts directs avec l'homme peuvent créer un risque sanitaire. Ce contrôle se fait généralement par le biais de mesures de concentrations de bactéries indicatrices fécales (BIF) viables et cultivables. Ces bactéries ne sont généralement pas considérées comme des vecteurs de maladies en elles-mêmes, mais constituent des marqueurs et des indicateurs d'une remarquable précision (Prüss, 1998). En fonction des pays, le choix de BIF spécifiques aux fins de ce suivi peut varier : les entérocoques intestinaux sont souvent suivis dans les milieux marins tandis que les coliformes thermotolérants et les coliformes totaux génériques sont utilisés dans certaines parties du monde ou pour certaines matrices d'eau. Pour la protection de la santé publique générale en eau douce, ce sont les *Escherichia coli* qui sont privilégiées (Edberg *et al.*, 2000).

La quantification de ces bactéries peut être réalisée selon deux méthodes, la NF EN ISO 9308-2 utilisant le Quanti-Tray® du laboratoire IDEXX et la méthode miniaturisée NF EN ISO 9308-3 utilisant une microplaque (la plus pratiquée par les laboratoires accrédités). Les deux sont basées sur la méthode statistique du nombre le plus probable (NPP) après incubation de minimum 18 heures à 36 °C (Quanti-Tray®) ou 36 heures à 44 °C (microplaque). Or, dans le cadre de la surveillance de la qualité d'une masse d'eau au quotidien, des méthodes avec des temps de réponse plus courts sont nécessaires afin de répondre à un besoin opérationnel. Diverses techniques de quantification des *Escherichia coli* existent (Lopez-Roldan *et al.*, 2013 ; Noble & Weisberg, 2005) allant de la simple mesure de la turbidité aux techniques de quantification qPCR utilisant l'amplification en chaîne par polymérase (ACP) de l'ADN (Bergeron *et al.*, 2011) ou encore par les méthodes enzymatiques utilisant des substrats spécifiques (Heery *et al.*, 2016 ; Baudart *et al.*, 2009). Certaines ont été implémentées sur des appareils utilisables sur site et permettent, par exemple, une surveillance de l'eau de boisson en quasi-continu (Nakache *et al.*, 2000 ; Miles *et al.*, 2011). C'est dans ce contexte que la miniaturisation et l'intégration des systèmes fluidiques dans des instruments complexes et prenant en compte les contraintes du milieu naturel prend son sens (Angelescu, 2011).

La gamme de systèmes ALERT Fluidion® destinés à la surveillance de contamination microbiologique utilise une nouvelle technologie pour un suivi en temps réel du dénombrement bactérien. Il s'agit d'une technologie associant un milieu de croissance sélective des bactéries souhaitées à des substrats d'enzymes liés à des chromogènes et/ou des fluorogènes spécifiques produits par le métabolisme bactérien. Cette technologie permet une quantification

*in situ* et automatisée des *Escherichia coli* avec un temps de réponse variant entre 2 et 12 heures (un temps de réponse court correspondant à une forte concentration) et une limite de détection de 4 bactéries/100 mL en eau douce. La plage de mesures est de  $5 \times 10^5$  bactéries/100 mL et ne nécessite pas de dilution en cascade des échantillons, ce qui permet de couvrir cinq ordres de grandeur de concentration en une seule mesure. Des résultats détaillés d'étalonnage et de validation métrologique pour le dénombrement d'*Escherichia coli* en eaux douces superficielles ont déjà été publiés par le passé (Angelescu et al., 2019). Le fait que cette technologie ne demande ni transport, ni conditionnement ni préparation des échantillons est un avantage certain : cela simplifie la logistique et élimine les risques d'altération des échantillons et d'erreurs humaines que l'on retrouve dans les techniques actuelles, tout en fournissant des informations rapides et fiables sur la qualité des eaux afin de permettre une prise de décisions efficace. La technologie ALERT a été employée aux fins de nombreuses applications dans le monde, de la surveillance d'eaux de mer à la surveillance écologique *in situ* de flux extrêmement pollués (Angelescu et al., 2018b), y compris lors d'études portées sur l'identification de sources menées par des instances de régulation (Cronin et al., 2018 ; Loewenthal et al., 2018) et des organisations à but non lucratif (Angelescu & Saison, 2020), et déployées sur diverses plateformes, notamment en conjonction avec des drones aquatiques commandés à distance (Angelescu & Hausot, 2019).

Le système ALERT a été déployé pour suivre les essais à l'échelle industrielle de la désinfection et les résultats sont présentés dans le chapitre suivant. Aussi, l'objectif de ce chapitre est de présenter les résultats de la validation de cette technologie pour le suivi des concentrations en *Escherichia coli* dans les effluents rejetés par les usines d'épuration.

Pour se faire, les procédures d'étalonnage et de validation ont été menées à partir d'un grand nombre d'échantillons provenant d'usines de traitement des eaux usées modernes. Les résultats obtenus avec le système ALERT ont été comparés avec les résultats obtenus par microplaques (NF ISO 9308-3:1998) par un laboratoire tiers accrédité pour la recherche et le dénombrement des *Escherichia coli*.

## 2. DESCRIPTION DE LA TECHNOLOGIE ALERT

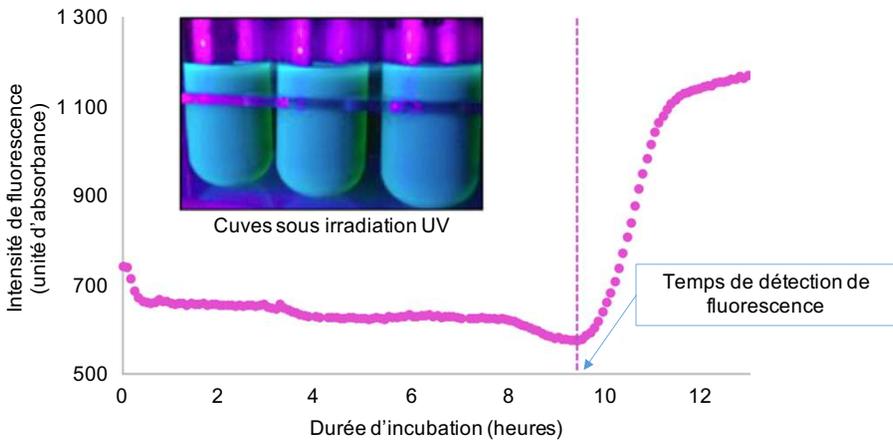
La technologie ALERT de Fluidion® repose sur un système automatisé capable d'assurer, directement sur le terrain l'ensemble du protocole de quantification bactérienne : prélèvement, brassage des bioréactifs, incubation, analyse

optique multispectre en temps réel (absorbance/fluorescence), correction de la turbidité, analyse des signaux, quantification bactérienne, transmission des données sans fil, et génération automatique de notifications.

Le bioréactif utilisé dans les systèmes contient un mélange de milieu de croissance sélective et de 4-méthylumbelliféryl- $\beta$ -D-glucuronide (MUG), qui peut être hydrolysé en fluorescent 4-méthylumbelliféryl (MUF) par l'enzyme  $\beta$ -glucuronidase présente dans les bactéries *Escherichia coli* (à noter : MUG est le substrat utilisé dans les méthodes standards de test d'*Escherichia coli*). Le bioréactif utilisé contient également de l'ortho-nitrophényl- $\beta$ -galactoside (ONPG), un autre indicateur bactérien métabolisé par tous types de coliformes dans l'échantillon et transformé en ortho-nitrophénol (ONP), entraînant l'apparition d'une coloration jaune. Pendant l'étape de culture sélective (incluant une incubation à 37,0 °C), le métabolisme bactérien transforme progressivement le MUG en MUF et génère une large fluorescence à 385 nm lorsqu'il est excité, avec des pics d'émission avoisinant les 460 nm. La croissance des organismes non ciblés n'est pas stimulée lors de cette étape de culture, ce qui rend cette méthode extrêmement sélective pour les *Escherichia coli* cultivables, contrairement aux tests rapides ne se basant que sur l'activité enzymatique et s'effectuant sans culture.

Le système comporte 7 bioréacteurs individuels, chacun étant capable d'incuber individuellement un échantillon et de réaliser des mesures optiques à l'aide d'une bague de capteur optique. Cette bague de capteur comporte trois LED agencés de manière à exciter la fluorescence du MUF (excitation à 385 nm), à mesurer l'absorbance d'ONP (430 nm) et à compenser la turbidité de l'échantillon (610 nm), ainsi qu'une photodiode couplée à un filtre optique passe-bas bloquant les UV d'excitation. Le signal de fluorescence est mesuré à intervalles réguliers (toutes les 5 min) et les données peuvent être transférées en temps réel par réseau mobile.

La **Figure 29** présente un exemple de signal. La courbe présente une forme de plateau suivie d'une hausse nette de la fluorescence quelques heures après le début des mesures. Le temps de détection de fluorescence mesuré est ensuite utilisé, après un calibrage spécifique, pour calculer le nombre de bactéries présentes dans l'échantillon original.



**FIGURE 29. Exemple de signal de fluorescence obtenu avec le système ALERT. La durée d'incubation nécessaire à l'obtention du pic de fluorescence (ligne pointillée) est automatiquement interprétée pour fournir une quantification des *Escherichia coli*. La photo présente les cuves d'incubation sous illumination ultra-violette après incubation**

### 3. MÉTHODE DE VALIDATION

La méthode de référence (NF EN ISO 9308-3 par microplaques) nécessite de réaliser plusieurs dilutions de l'échantillon à analyser selon un protocole qui dépend de la gamme de concentration attendue ; les 96 puits, contenant le réactif sont inoculés avec les différentes dilutions d'échantillons, puis incubés. Le nombre de puits positifs à chaque dilution est comptabilisé, et un tableau de nombre probable de présence est utilisé pour déterminer la concentration bactérienne et l'intervalle de confiance correspondant. La série de dilutions utilisée dans cette étude a été adaptée à l'analyse d'eaux usées : six dilutions ont été effectuées (1/2, 1/20, 1/200, 1/2 000, 1/20 000 et 1/200 000) et la plage de mesures obtenue atteignait  $6,7 \times 10^8$  NPP/100 mL environ.

Plusieurs échantillons ont été analysés en utilisant à la fois la technologie ALERT de Fluidion® et la méthode de référence dans le but d'obtenir puis valider une fonction d'étalonnage correspondant aux mesures d'eaux usées. Les échantillons ont été prélevés au sein de l'usine « Seine centre » ( du SIAAP à Colombes (SEC, 900 000 EH), laquelle traite chaque jour 240 000 m<sup>3</sup> d'eaux usées. La filière de traitement des eaux de cette usine est complète : une étape de prétraitement (dégrillage, dessablage et déshuilage/dégraissage) est suivie d'une décanta-

tion primaire physico-chimique (élimination des matières en suspension et du phosphore), puis d'un traitement biologique par biofiltration (décarbonation, nitrification, dénitrification). Une partie des effluents passe également par une étape de traitement tertiaire sur charbon actif avant rejet en Seine. Le processus de traitement est efficace pour éliminer le carbone, l'azote et le phosphore, avec une efficacité globale comprise entre 70 et 94 %. L'étape de nitrification permet également une réduction significative des BIF, avec un abattement d'*Escherichi coli* de trois ordres de grandeur (de  $10^7$  NPP/100 mL après l'étape de décantation à  $10^4$  NPP/100 mL dans l'effluent final). La part des effluents sortant du traitement par charbon actif présentait une charge bactérienne plus basse, voire en-dessous des limites de détection en laboratoire (Mailler, 2015).

Pour obtenir un éventail suffisamment large de concentrations de BIF, un total de 125 échantillons a été prélevé à l'issue des cinq étapes distinctes du processus de traitement : décantation primaire (26 échantillons), décarbonation (24 échantillons), nitrification (24 échantillons), dénitrification (32 échantillons), et traitement tertiaire au charbon actif ou effluents traités (19 échantillons). Les échantillons ont été prélevés dans des récipients stériles en polypropylène, homogénéisés, puis divisés en deux parties. La première partie a été analysée immédiatement avec le système ALERT, tandis que la seconde a été traitée au thiosulfate de sodium (20 mg/L), puis envoyée en laboratoire accrédité pour analyse par la méthode de référence le même jour.

#### 4. VALIDATION EN LABORATOIRE

La phase d'essai initiale de l'étude a consisté à analyser 49 échantillons issus de toutes les étapes de traitement à l'aide du protocole d'eaux superficielles conçu auparavant (Angelescu et al., 2019). Pour les échantillons avec une forte concentration (phases de décantation primaire et décarbonation), les courbes des signaux de fluorescence ont souvent révélé un comportement anormal, le signal de fluorescence augmentant de manière linéaire immédiatement après prélèvement, sans le plateau habituel observé **Figure 29**. Ce phénomène se retrouve souvent dans les échantillons qui contiennent des concentrations très importantes d'enzymes MUF libres non présentes dans les cellules d'*Escherichi coli*, même avant que le métabolisme bactérien ne débute sa production. De tels échantillons peuvent entraîner des erreurs majeures de quantification ; c'est pourquoi il a été décidé de modifier le protocole en ajoutant une étape de dilution à 1/4 des échantillons d'eaux usées, permettant ainsi de réduire les concentrations d'enzymes initiales et de récupérer des courbes de réponse

des signaux normales. Ce protocole d'usine ajusté a été adopté pour tout le reste de l'étude.

Lors de la phase d'échantillonnage, 41 échantillons issus de toutes les étapes de traitement ont été analysés en parallèle à l'aide de la technologie ALERT et de la méthode de référence en laboratoire. La détection a été réalisée de manière automatique ; les temps de détection de fluorescence  $t_{\text{fluo}}$  correspondant aux échantillons analysés variaient entre 4,25 et 8,50 heures, les temps plus courts correspondant aux concentrations supérieures. La concentration en laboratoire C a été comparée à  $t_{\text{fluo}}$  sur une échelle logarithmique : une corrélation linéaire a été constatée, mais l'évolution de l'étalonnage, réalisé en eaux superficielles, s'est avérée différente (**Figure 30**).

Un nouvel étalonnage propre aux échantillons d'eaux usées (étalonnage usine) a donc été établi entre C (mesuré en NPP/100 mL) et  $t_{\text{fluo}}$  (mesuré en heures), soit :  $\log(C) = a \times t_{\text{fluo}} + b$ , a et b étant dérivés d'une régression des moindres carrés (**Figure 30a**). Le nouvel étalonnage (ligne en pointillée), ainsi que l'ancien étalonnage (ligne pleine grise) sont représentés sur la courbe.

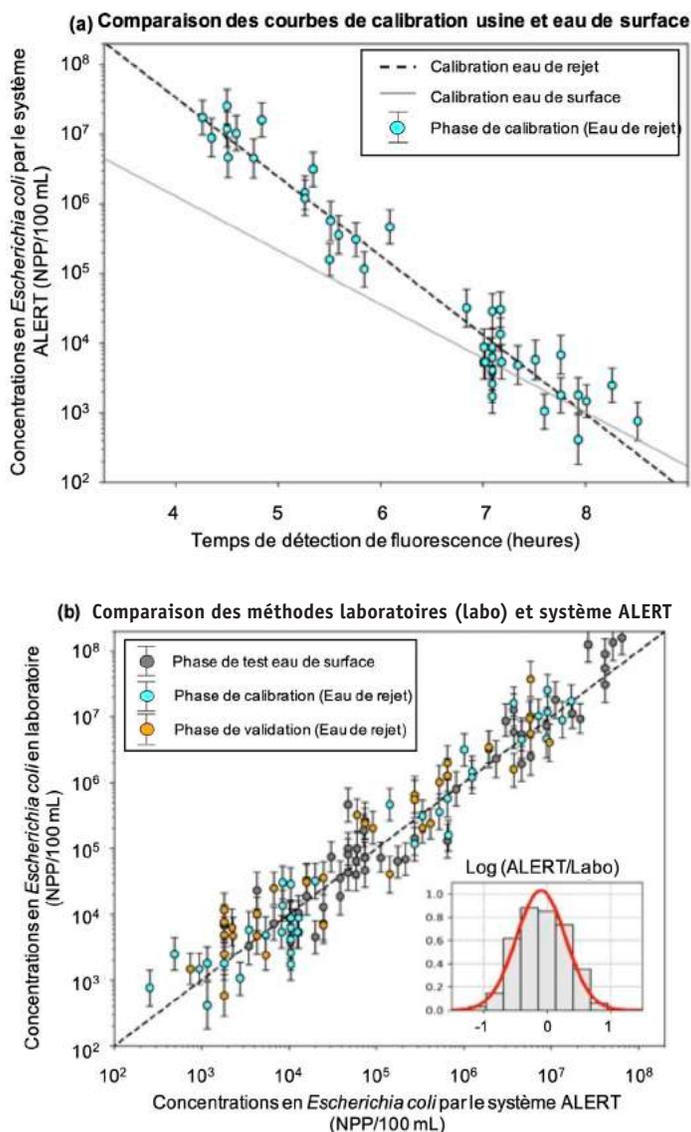


FIGURE 30. (a) Comparaison de l'intensité de fluorescence obtenue par le système ALERT avec les concentrations en *Escherichia coli* dans les eaux de rejet d'usine d'épuration. La droite en pointillée noire représente la droite de calibration qui en découle et la droite grise représente la courbe de calibration dans les eaux de surface. (b) Comparaison des concentrations en *Escherichia coli* obtenues par le système ALERT avec la méthode de référence en laboratoire pour les différentes phases (test, calibration, validation). L'insert représente la dispersion de la corrélation.

Lors de la phase de validation, 35 échantillons supplémentaires ont été analysés à l'aide du nouveau protocole/étalonnage de l'usine, et les résultats ont été comparés à la méthode de référence en laboratoire. La **Figure 30b** présente les points, séparés par phase (essai, étalonnage, validation), après retrait de tous les points aberrants de la phase d'essai. Les barres d'erreur correspondent aux intervalles de confiance de 95 % communiqués par le laboratoire pour les mesures de référence. Tous les résultats concordent étroitement avec la courbe d'étalonnage, ce qui indique une bonne correspondance sur plus de cinq ordres de grandeur, avec un coefficient global de corrélation de Pearson de 88,9 % d'après un calcul basé sur les valeurs des mesures réelles et non sur les valeurs de logarithme décimal. 46 % des résultats ALERT diffèrent de moins d'un facteur deux par rapport aux mesures de référence en laboratoire, et 93 % de moins d'un facteur cinq.

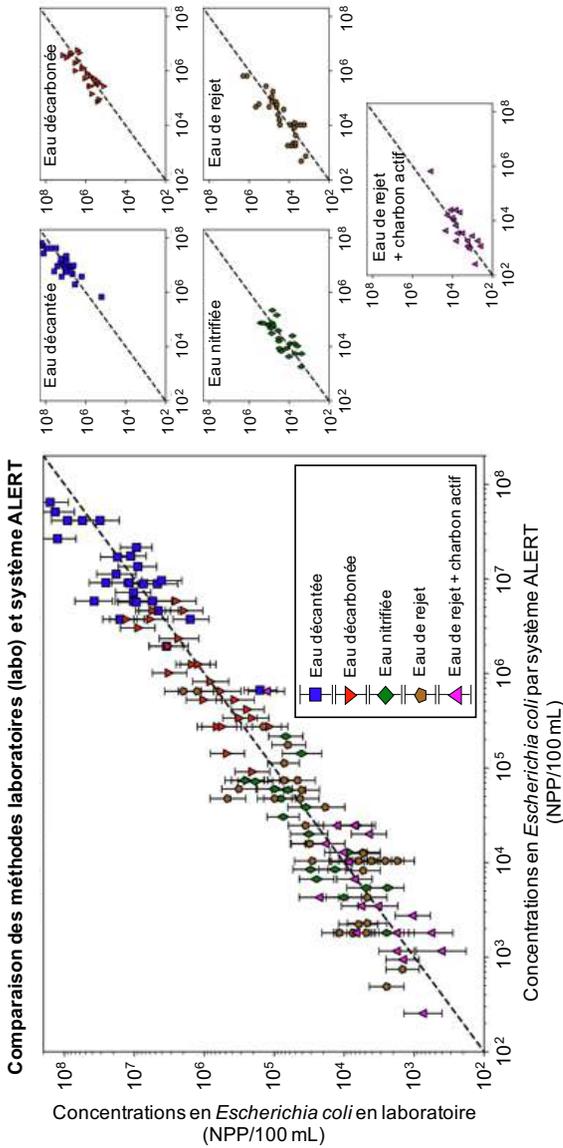
L'histogramme présenté dans l'encart de la **Figure 30b** est symétrique et peut être approximé par une distribution log-normale centrée sur 0 (ligne rouge), ce qui implique que la méthode de mesure via le système ALERT Fluidion® n'introduit aucune erreur systématique après étalonnage. L'écart-type moyen ( $\sigma_{\text{ALERT-LAB}}$ ) de la distribution des différences log sur toute la plage de mesures est :  $\sigma_{\text{ALERT-LAB}} = 0,387$  Unités log, ce qui combine l'incertitude de la méthode de référence en laboratoire avec celle de la méthode ALERT (qui joue le rôle de variables

normales indépendantes) :  $\sigma_{\text{ALERT-LAB}} = \sqrt{\sigma_{\text{ALERT}}^2 + \sigma_{\text{LAB}}^2}$ . L'écart-type statistique moyen de toute la plage de concentrations mesurée avec la méthode de référence peut être calculé à partir des intervalles de confiance de 95 % donnés par le laboratoire, donnant ainsi : IC = 0,304 Unités log, avec IC l'indice de confiance en unités logarithmiques (Unités log). L'écart-type statistique moyen en laboratoire se calcule comme suit :  $\sigma_{\text{LAB}} = \text{IC}/1,96 = 0,156$  Unités log (en supposant une distribution normale). Il en découle une limite supérieure de l'écart-type moyen des mesures d'usine avec ALERT comme suit :  $\sigma_{\text{ALERT}} = \sqrt{\sigma_{\text{ALERT-LAB}}^2 - \sigma_{\text{LAB}}^2} = 0,354$  Unités log.

Notons qu'il est probable qu'il s'agisse d'une surestimation de l'incertitude réelle des mesures puisque l'écart-type réel en laboratoire est considérablement supérieur à l'intervalle de confiance purement statistique associé à la méthode de référence, qui tient compte des incertitudes liées à la dégradation des échantillons lors du transport ou aux erreurs d'homogénéisation. Comme il a déjà été estimé (Angelescu *et al.*, 2019), l'incertitude réelle en laboratoire obtenue par comparaison de doublons de mesures pourrait se situer bien au-dessus, ce qui donnerait une valeur inférieure pour  $\sigma_{\text{ALERT}}$ . Malheureusement, les doublons de mesure n'étaient pas accessibles dans le contexte de cette étude.

Il est à noter une différence importante entre les méthodes ALERT et de référence : la première mesure l'activité réelle de toutes les bactéries viables et cultivables dans le volume d'échantillonnage (sans nécessiter l'homogénéisation des échantillons), tandis que la seconde divise le volume d'échantillonnage en un nombre fini d'aliquotes (puits de microplaques) et évalue le nombre d'aliquotes positives aux bactéries étudiées. Si un échantillon entièrement homogénéisé devrait en théorie donner des résultats équivalents quelle que soit l'une des deux méthodes utilisées, en réalité, l'efficacité de l'homogénéisation en laboratoire peut varier selon la nature de la contamination et s'avérer imparfaite. Cela peut se traduire en la présence de particules accumulant un grand nombre de bactéries dans certaines aliquotes, restant toutefois comptabilisées comme des positifs uniques. La technologie ALERT, quant à elle, mesure la charge bactérienne viable et cultivable totale, qui peut être un paramètre plus pertinent pour représenter les impacts sanitaires potentiels d'une eau contaminée. Comme le montre cette étude, bien que les mesures réalisées via ALERT présentent une bonne corrélation avec les résultats de référence dans la grande majorité des cas, des différences peuvent apparaître sur les échantillons comportant une grande fraction de bactéries agglutinées sur des particules que la méthode NPP peut sous-estimer.

La **Figure 31** ci-dessous présente les échantillons analysés lors des phases d'étalonnage et de validation du protocole usine, avec des codes couleur représentant les phases de traitement au cours desquelles chaque échantillon a été prélevé (cf. légende). Les encadrés de droite illustrent les résultats obtenus pour chaque phase de traitement. On peut constater que le nouveau protocole conçu pour la technologie ALERT est capable de mesurer précisément tous les types d'échantillons d'eaux usées testés et ce, quelles que soient leur origine et leur concentration.



**FIGURE 31.** Comparaison des concentrations en *Escherichia coli* obtenues par le système ALERT avec la méthode de référence en laboratoire pour l'ensemble des échantillons (gauche) et pour chaque type d'échantillon de manière distincte (droite). Les données regroupent à chaque fois les phases de calibration et de validation.

L'un des objectifs ultimes de ces travaux est de concevoir une méthode rapide pour évaluer la qualité des eaux superficielles en vue d'activités récréatives. Afin d'évaluer la qualité de la méthode rapide ALERT, les lignes directrices normalisées de l'*Environmental Protection Agency* américaine, (US-EPA, 2014) ont été appliquées. Selon l'US-EPA, les critères reposent sur le calcul de l'indice de concordance (IA) entre les méthodes et la valeur  $R^2$ , calculée à l'aide du logarithme décimal des mesures obtenues grâce à chaque méthode. La concordance entre les deux méthodes (Rapide et de référence) est suffisante lorsque  $IA \geq 0,7$  et si ce critère n'est pas respecté, la valeur  $R^2$  permet alors d'estimer le niveau de corrélation entre les deux méthodes. Si  $R^2 > 0,6$ , alors la méthode alternative peut être appliquée, mais avec de nouvelles limites numériques qui nécessitent d'être dérivées.

Appliquée à toutes les données obtenues, les valeurs obtenues sont  $IA = 0,98$  et  $R^2 = 0,92$ , ce qui est supérieur aux seuils requis par les lignes directrices normalisées. Ces valeurs indiquent donc une excellente concordance entre les deux méthodes d'après les critères de l'EPA américaine pour l'évaluation de la qualité des eaux récréatives.

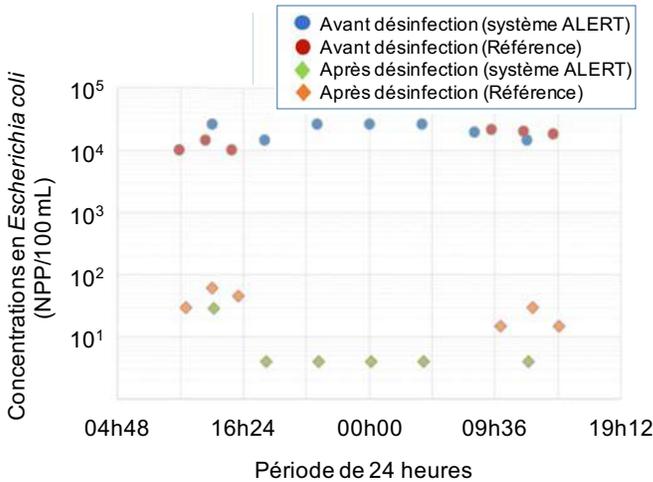
## 5. VALIDATION SUR LE TERRAIN

La validation de la méthode ALERT sur le terrain a consisté à déployer de manière opérationnelle le système au rejet de l'usine Valenton lors des essais de désinfection. Du PFA a été injecté au rejet de l'usine et en amont du canal de rejet en Seine (**Partie 2 – Chapitre 1, Figure 28**) avec un temps de transit supérieur à 10 minutes. Deux systèmes ALERT ont été utilisés pour contrôler la concentration bactérienne *in situ* en temps quasi-réel en amont de la désinfection (**Figure 28 – n°1**) et après la désinfection (**Figure 28 – n°2**) afin de déterminer l'abatement d'*Escherichia coli* sur des périodes de 24 heures. Trois autres échantillons ont été prélevés manuellement à ces deux emplacements au début et à la fin de la période de 24 heures aux fins de réaliser une vérification en laboratoire par méthode de référence.

Sept mesures ont été effectuées par chacun des systèmes ALERT pré et post-désinfection lors de l'expérience avec injection de désinfectant, à intervalles de 4 heures. Un délai de 10 minutes a été respecté entre le début des mesures pré et post-désinfection afin de tenir compte du temps de transit de l'effluent entre les deux points. Trois échantillons ont également été prélevés manuellement à chaque point, au début et à la fin de la période de mesures de 24 heures, puis ont été transmis à un laboratoire accrédité pour faire mesurer la teneur en *Escherichia coli* à l'aide de la méthode de référence. Les résultats sont présentés sous forme de série chronologique (**Figure 32**) et synthétisés dans le **Tableau 12**.

**TABLEAU 12. Données statistiques des concentrations et abattement en *Escherichia coli* obtenues avant et après désinfection par le système ALERT et la méthode de référence en laboratoire**

	Système ALERT			Méthode de référence		
	Avant désinfection	Après désinfection	Abattement log	Avant désinfection	Après désinfection	Abattement log
	NPP/100 mL	NPP/100 mL		NPP/100 mL	NPP/100 mL	
<b>Valeur max</b>	14574	4		10 100	15	
<b>Valeur min</b>	26272	29		21600	61	
<b>Moyenne</b>	21947	8	3,4	15917	33	2,7



**FIGURE 32. Concentrations en *Escherichia coli* mesurées sur différents échantillons avant et après désinfection par le système ALERT et par la méthode de référence en laboratoire**

Les mesures obtenues par la méthode ALERT et la méthode de référence en laboratoire ont donné des concentrations similaires pré et post-désinfection, avec des facteurs d'abattement respectifs de 3,4 et 2,7 Unités log.

### Points clés

- La technologie ALERT a été testée au sein de différentes matrices d'eaux usées. Une gamme d'étalonnage adaptée a ainsi pu être développée et validée par comparaisons avec la méthode de référence en laboratoire.
- La méthode ALERT permettait de déterminer précisément les concentrations d'*Escherichia coli* sur plus de cinq ordres de grandeur,

correspondant à toutes les phases de traitement des eaux usées. De plus, le protocole ALERT en usine d'épuration ne nécessitait qu'une seule dilution initiale à 1/4 (contre six dilutions requises pour la méthode de référence).

- La temps d'analyse des échantillons dans le cadre de cette étude était compris entre 4,25 et 8,50 heures, les durées les plus courtes correspondant aux concentrations bactériennes les plus élevées (comparées aux 24-72 heures requises pour obtenir les résultats de la méthode de référence).

# Chapitre 3

## Évaluation de l'efficacité de la désinfection à l'échelle industrielle

---



© KEMIRA

## 1. INTRODUCTION

La phase de pré-déploiement avait pour objectif de confirmer, à l'échelle industrielle, l'efficacité de l'acide performique (PFA) pour abattre les bactéries indicatrices fécales (BIF). Cette phase a été réalisée avec l'installation d'unités permettant la désinfection de la totalité des effluents sortant de l'usine d'épuration Seine Valenton (SEV, 2,6 millions EH). La description technique complète des essais et la méthode de suivi haute fréquence de la qualité microbiologique (*Escherichia coli*) sont fournies respectivement au premier et second chapitre de cette partie. Ce troisième chapitre synthétise l'ensemble des résultats générés lors de ces essais.

La présentation des résultats est scindée en 6 parties pour faciliter l'accès aux différentes informations. Les 3 premières parties abordent les notions d'efficacité de l'acide performique pour l'élimination des micro-organismes et son impact sur la qualité des effluents. Ainsi, les parties 1 et 2 présentent respectivement l'efficacité du PFA pour l'élimination des bactéries indicatrices fécales (*Escherichia coli* et entérocoques intestinaux) et d'autres pathogènes (spores de bactéries anaérobies sulfitoréducteurs et phages ARN-F spécifiques) et la 3<sup>ème</sup> partie aborde l'impact du PFA sur les paramètres conventionnels et la formation de sous-produits réactionnels.

Un second bloc, constitué des parties 4 et 5, apporte un regard sur l'influence de la qualité des effluents sur l'efficacité de la désinfection. La partie 4 se focalise sur la variabilité journalière des concentrations en bactéries (*Escherichia coli*) et la partie 5 sur celle des matières en suspension contenues dans les effluents à désinfecter.

Enfin, l'ensemble des résultats obtenus nous a permis de réaliser une approche statistique pour initier une méthode mathématique de prédiction de la qualité des effluents désinfectée, objet de la 6<sup>ème</sup> partie du présent chapitre.

## 2. ÉLIMINATION DES BACTÉRIES INDICATRICES FÉCALES AU REJET DE SEINE VALENTON

La qualité et la variabilité globales des rejets de l'usine SEV se situaient dans une plage de fonctionnement normale et proviennent des différentes conditions d'exploitation de l'usine au cours de la période d'échantillonnage (temps sec, temps pluie, etc.) et sont données dans le **Tableau 13**.

**TABLEAU 13. Valeurs moyennes des paramètres physico-chimiques mesurés au rejet de l'usine d'épuration Seine Valenton avant et après désinfection**

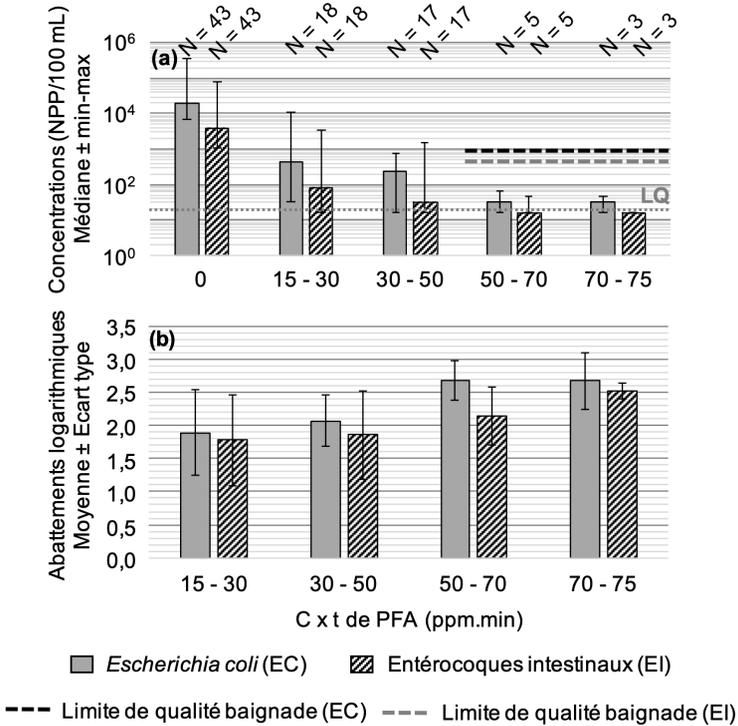
	<b>Avant désinfection (Moyenne ± Ecart type)</b>	<b>Après désinfection (Moyenne ± Ecart type)</b>
<b>Matières en suspension (mg/L)</b>	5,0 ± 3,9	5,4 ± 3,8
<b>Carbone organique dissous (mg C/L)</b>	6,5 ± 0,5	7,7 ± 0,6
<b>Demande chimique en oxygène (mg O<sub>2</sub>/L)</b>	22 ± 5	24 ± 5
<b>Demande biochimique en oxygène (mg O<sub>2</sub>/L)</b>	1,9 ± 1,5	2,5 ± 1,6
<b>Azote total Kjeldhal (mg N/L)</b>	1,4 ± 0,6	1,4 ± 0,5
<b>Azote ammoniacal (mg N/L)</b>	0,4 ± 0,2	0,3 ± 0,2
<b>Azote nitrique (mg N/L)</b>	14,6 ± 2,1	15,2 ± 2,1
<b>Azote nitreux (mg N/L)</b>	0,05 ± 0,04	0,04 ± 0,03
<b>Phosphore total (mg P/L)</b>	0,9 ± 0,5	0,9 ± 0,4
<b>Orthophosphates (mg P/L)</b>	0,6 ± 0,5	0,6 ± 0,3
<b>pH</b>	7,07 ± 0,11	7,26 ± 0,09
<b>Conductivité (µS/cm)</b>	1100 ± 121	1103 ± 122

Les composés, décrits par Ragazzo *et al.* (2013) et capables de réagir avec le PFA tels l'ammoniaque, le nitrite et la DCO, étaient présents en quantité limitée dans l'effluent. De même, les concentrations d'*Escherichia coli* et d'entérocoques intestinaux étaient similaires à ce qui est rencontré normalement dans ce type d'échantillons (Rocher & Azimi, 2016), avec des concentrations logarithmiques médianes (min-max) respectivement de 4,27 (3,84-5,55) et 3,56 (3,03-4,93) NPP/100 mL.

Les concentrations contenues dans les échantillons utilisés pour des essais en laboratoire étaient du même ordre de grandeur avec des valeurs moyennes de 8,7 ± 5,5 mg/L pour les MES, 5,8 ± 0,8 mg C/L pour le COD, 23 ± 8 mg O<sub>2</sub>/L pour la DCO, 2,0 ± 1,2 mg O<sub>2</sub>/L pour la DB05, 1,1 ± 0,7 mg N/L pour le NTK et 1,2 ± 0,7 mg P/L pour le PT. De même, s'agissant des bactéries, les concentrations mesurées en phase de pré-déploiement sont sensiblement comparables aux concentrations logarithmiques relevées lors des essais en laboratoire avec 4,16 (3,23-5,83) (test de Mann-Whitney, valeur  $p = 0,180$ ) et 3,67 (2,85-4,80) NPP/100 mL (test

de Mann-Whitney, valeur  $p = 0,533$ ) respectivement pour *Escherichia coli* et entérocoques intestinaux.

La **Figure 33** synthétise l'ensemble des résultats issus des 43 campagnes réalisées lors de la phase de pré-déploiement et représente les concentrations médianes et les abattements moyens des bactéries indicatrices fécales au rejet de l'usine d'épuration SEV avant et après désinfection pour différents intervalles de concentrations et temps de contact ( $C \times t$  en ppm.min). Les limites de qualité suffisantes (900 NPP/100 mL pour *Escherichia coli* et 330 NPP/100 mL pour les entérocoques intestinaux) prévues par la réglementation européenne régissant les eaux de baignade récréative (directive 2006/7/CE du 15 février 2006 sur la gestion de la qualité des eaux de baignade et abrogeant la directive 76/160/CEE, 2006) sont représentés à titre indicatif. Lors de ces campagnes, la dose réelle de PFA appliquée variait entre 0,61 et 2,48 ppm (valeur médiane : 1,20 ppm) et, en fonction du débit des rejets de l'usine SEV, le temps de contact (équivalent au temps de rétention hydraulique) dans le tunnel de rejet était compris entre 19,4 et 56,1 min (valeur médiane : 29,6 min), donnant des valeurs  $C \times t$  situées entre 16 et 74 ppm.min (valeur médiane : 32 ppm.min). Quatre plages de rapports  $C \times t$  sont illustrées : 15-30, 30-50, 50-70, et 70-75 ppm.min. La température de l'eau est caractéristique de la période estivale, avec une moyenne et un écart-type de  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ .



**FIGURE 33. Concentrations médianes (a) et abattements moyens (b) des bactéries indicatrices fécales au rejet de l'usine d'épuration Seine Valenton avant et après désinfection à l'acide performique (PFA) pour différents intervalles de concentrations et temps de contact (C x t en ppm.min). N représente le nombre de réplicats et LQ représente la limite de quantification.**

Confortant les résultats obtenus en laboratoire, la **Figure 33** montre une capacité de l'acide performique à désinfecter les effluents à de faibles concentrations. Pour des doses comprises entre 15 et 30 ppm.min, les concentrations résiduelles en sortie du canal de rejet de l'usine sont inférieures à 10<sup>3</sup> NPP/100 mL pour les *Escherichia coli* et à 10<sup>2</sup> NPP/100 mL pour les entérocoques intestinaux. Ces concentrations résiduelles diminuent avec l'augmentation de la dose et sont proches des limites de quantification lorsque le C x t est supérieur à 50 ppm.min. Logiquement, l'abattement médian, autour de 2 log pour des doses comprises entre 15 et 50 ppm.min, dépasse 2,5 log au-delà de 50 ppm.min.

Comparés aux abattements obtenus en laboratoire, l'échelle industrielle présente des valeurs légèrement inférieures pour les *Escherichia coli* et similaires pour les entérocoques intestinaux. Pour des doses de PFA similaires (de l'ordre de 15-30 ppm.min), l'abattement moyen des *Escherichia coli* est

de  $2,3 \pm 0,6$  en laboratoire, valeur supérieure au  $1,9 \pm 0,7$  obtenue à l'échelle industrielle (test de Student,  $p = 0,033$ ). Pour les entérocoques intestinaux, l'abattement est de  $1,7 \pm 0,6$  en laboratoire, valeur égale au  $1,8 \pm 0,7$  obtenue à l'échelle industrielle (test de Student,  $p = 0,996$ ).

### 3. EFFICACITÉ DE LA DÉSINFECTION SUR LES AUTRES MICRO-ORGANISMES

Le **Tableau 14** détaille les résultats obtenus lors des cinq campagnes de prélèvement au cours desquelles les spores de bactéries anaérobies sulfitoréductrices et les phages ARN F spécifiques ont été quantifiés. Les abattements des *Escherichai coli* et des entérocoques intestinaux sont indiqués pour comparaison.



Les cinq campagnes étudiées couvrent l'ensemble des conditions de fonctionnement de la désinfection. Les concentrations de PFA (0,8-2,2 ppm) et les doses (22,1-73,8 ppm.min) appliquées couvrent l'intégralité des modes d'exploitation des unités de désinfection et les concentrations de MES relevées sont représentatifs des conditions d'activité nominales de l'usine SEV. Les valeurs observées pour les bactéries indicatrices fécales confirment la représentativité de ces campagnes. Pour ces paramètres, les concentrations étaient de l'ordre de 4,0 à 4,7 pour les *Escherichia coli* et 3,2 à 4,1 pour les entérocoques intestinaux et les abattements ont été estimés respectivement entre 1,4 et 2,3 log et entre 1,1 et 2,5 log.

S'agissant des spores de bactéries anaérobies sulfitoréductrices, les résultats obtenus lors de cette phase de pré-déploiement industrielle sont mitigés. Seules deux campagnes de mesures ont permis de calculer des abattements et ses derniers ont été estimés entre 0,11 et 0,14 log. Ces résultats se distinguent des résultats obtenus lors des essais laboratoire avec notamment des concentrations initiales de spores de l'ordre de 4 à 5 fois plus faibles. La présence de matières en suspension (MES) dans les rejets de l'usine semble avoir une influence sur la présence de cette forme sporulée étant donné que sa concentration est multipliée par six lorsque la concentration en MES augmente. Cependant, et malgré cette augmentation des concentrations initiales, il n'a pas été possible de calculer d'abattement pour l'écrasante majorité des campagnes.

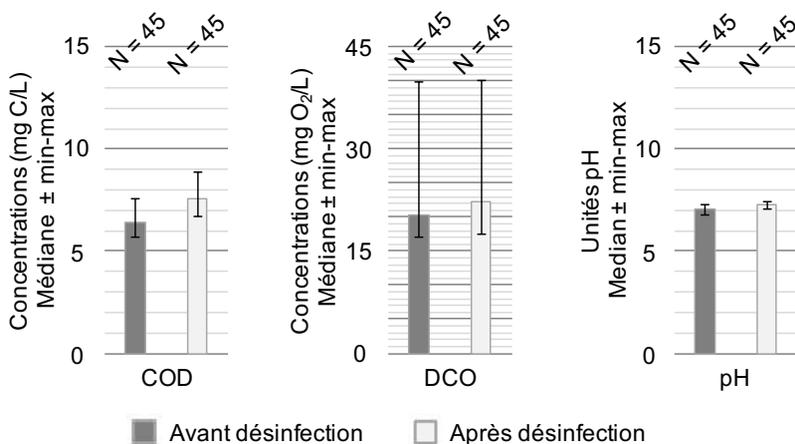
Concernant les phages ARN-F spécifiques, il est également difficile de tirer des conclusions sur la base des résultats obtenus étant donné que ces derniers n'ont été quantifiés qu'au sein d'une seule campagne, et à une faible concentration de 170 UFP/100 mL. Dans tous les cas, les concentrations après désinfection ont été inférieures aux limites de quantifications. Ce résultat concorde avec les résultats obtenus en laboratoire.

#### 4. IMPACT DU PFA SUR LES PARAMÈTRES DE QUALITÉ CONVENTIONNELS ET PRODUCTION DE SOUS-PRODUITS RÉACTIONNELS

Outre les mesures des micro-organismes, les paramètres de qualité conventionnels ont été mesurés dans les rejets de l'usine SEV, en amont et en aval de la désinfection, afin d'évaluer les éventuels impacts de l'acide performique sur la qualité de l'eau. Les concentrations moyennes et les écarts-types sont recensés dans le **Tableau 13**.

Dans l'ensemble, il a été observé une stabilité pour les paramètres tels la conductivité, les MES, les formes azotées (NTK,  $N-NH_4^+$ ,  $N-NO_3^-$ ,  $N-NO_2^-$ ) et le phosphore (PT et  $P-PO_4^{3-}$ ). S'agissant de la matière organique, une hausse a été observée pour le COD et la DCO de même que pour le pH. D'un point de vue statistique, l'absence d'effet de la désinfection au PFA sur les matières en suspension (test de Mann-Whitney, valeur  $p = 0,192$ ) et sur la conductivité (test de Mann-Whitney, valeur  $p = 0,910$ ) est significative et les augmentations du COD (test de Student, valeur  $p = 8 \times 10^{-19}$ ), de la DCO (test de Mann-Whitney, valeur  $p = 0,001$ ) et du pH (test de Mann-Whitney, valeur  $p = 0,0001$ ) sont également notables.

Les évolutions respectives du COD, de la DCO et du pH sont représentées dans la **Figure 34**. Une hausse moyenne du COD de 1,2 mg C/L, de la DCO de 2 mg  $O_2$ /L et de 0,19 unités pH est constatée pour une dose de PFA moyenne de  $1,2 \pm 0,5$  ppm. L'ajout du réactif induit, de par son atome de carbone, une augmentation du carbone organique dissous et de la DCO contenue dans les effluents. Cette faible augmentation reste dans la gamme d'incertitude des méthodes analytiques de mesure de ces paramètres dans les eaux résiduaires urbaines et dans les eaux de surface (COD : incertitude comprise entre 0,45 et 1,8 mg C/L sur la gamme 0,8 - 12 mg C/L / DCO : incertitude comprise entre 2,2 et 14 mg  $O_2$ /L sur la gamme 6,3 - 40 mg  $O_2$ /L). La hausse du COD ou de la DCO a également été rapportée dans la littérature (Luukkonen & Pehkonen, 2017), associée à une légère hausse de l'oxygène dissous due à la décomposition de peracides.



**FIGURE 34 . Concentrations médianes en carbone organique dissous (COD), demande chimique en oxygène (DCO) et pH au rejet de l'usine d'épuration Seine Valenton avant et après désinfection à l'acide performique (PFA) injecté à différentes concentrations et différents temps de contact**

Concernant le pH, une légère évolution de l'effluent due au PFA a également été détectée par Ragazzo *et al.* (2013) à l'échelle industrielle. De même, certains cas d'acidification légère en présence d'acide peracétique ont été signalés dans la littérature, avec une évolution négligeable dans la plupart des cas (Luukkonen & Pehkonen, 2017).

L'impact limité de l'acide performique sur les paramètres de qualité conventionnels est en accord avec les résultats obtenus en laboratoire qui donnaient un apport de COD de 0,78 mg C/L par ppm de PFA injecté. Ragazzo *et al.*, 2013 avaient observé une hausse de 0,68 mg C/L par ppm de PFA.

Concernant les sous-produits issus de la désinfection à l'acide performique, le **Tableau 15** présente les concentrations de composés organique halogénés (AOX), de bromure et de bromates mesurées dans les rejets de l'usine SEV avant et après l'injection de PFA dans le cadre des cinq campagnes de prélèvement menées lors des essais à l'échelle industrielle.

**TABLEAU 15. Concentrations de composés organique halogénés (AOX), d'ions bromures et d'ions bromates au rejet de l'usine d'épuration Seine Valenton en amont et en aval de la désinfection à l'acide performique (PFA) pour différentes concentrations (ppm) et doses (C x t en ppm.min)**

Date	PFA	C x t <sup>a</sup>	MES <sup>b</sup>	AOX			Ions bromures			Ions bromates	
				Amont	Aval	Var <sup>c</sup>	Amont	Aval	Var <sup>c</sup>	Amont	Aval
	ppm	ppm.min	mg/L	µg Cl/L	µg Cl/L	%	µg Br/L	µg Br/L	%	µg BrO <sub>3</sub> /L	µg BrO <sub>3</sub> /L
Ech. 1	1,0	31,2	3	86	110	+28	100	90	-10	< 5	< 5
Ech. 2	1,2	31,6	3	39	48	+23	120	<50	-58	< 5	< 5
Ech. 3	1,2	36,4	9	52	57	+10	250	160	-36	< 5	< 5
Ech. 4	0,8	22,1	3	57	73	+28	170	170	0	< 5	< 5
Ech. 5	2,2	73,8	3	68	96	+41	170	170	0	< 5	< 5

<sup>a</sup> C x t : concentration associée au temps de contact en ppm.min

<sup>b</sup> MES : matières en suspension des effluents traités avant désinfection

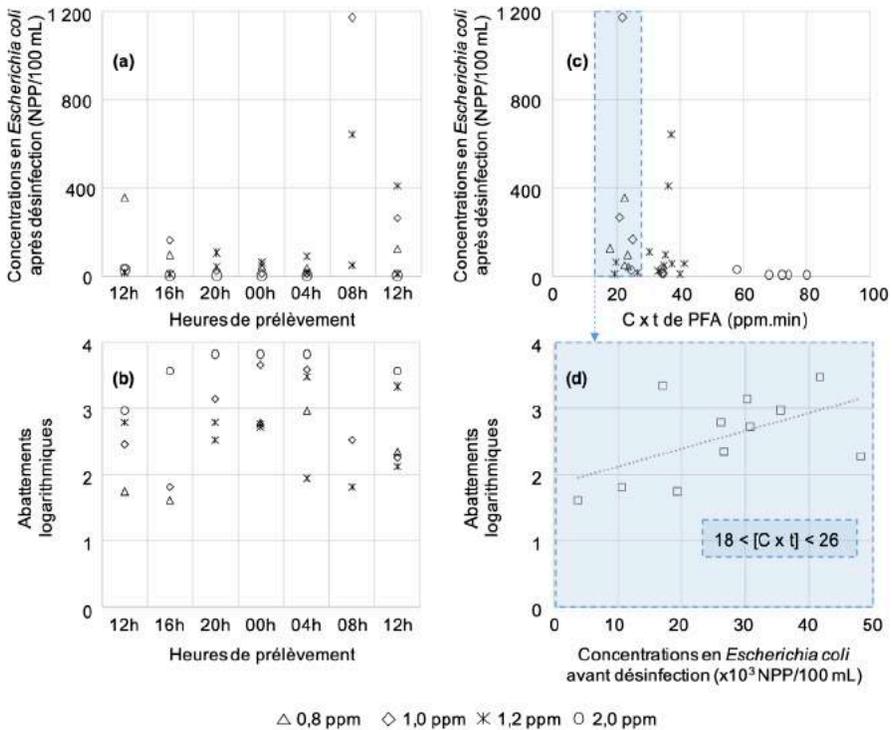
<sup>c</sup> VAR. = Variation

Bien que contenue dans l'incertitude analytique de la méthode, estimée à 35 %, la concentration des AOX apparaît plus élevée dans les effluents désinfectés. Pour des concentrations de PFA comprises entre 0,8 et 1,2 ppm, soit des doses de 22 à 36 ppm.min, cette augmentation est comprise entre 10 et 30 %, indépendamment de la dose injectée.

La tendance est inversée pour les ions bromures et bromates. Avec des valeurs initiales de l'ordre de 100 à 250 µg/L, la concentration des ions bromures diminue de 10 à 60 % à l'aval de l'injection de PFA. Cette diminution apparaît sans augmentation des ions bromates, sous-produits d'oxydation des ions bromures dans ces gammes de concentrations (Von Guten, 2003). Pour ces derniers, toutes les valeurs ont été déterminées inférieures à la limite de quantification.

## 5. INFLUENCE DE LA VARIABILITÉ JOURNALIÈRE DES CONCENTRATIONS EN BACTÉRIES INDICATRICES FÉCALES SUR L'EFFICACITÉ DE DÉSINFECTION

La **Figure 35** permet d'apprécier les performances d'élimination des *Escherichia coli*. La **Figure 35a** présente les concentrations résiduelles obtenues après désinfection, pendant un cycle de 24 heures et pour différents taux de traitement et la **Figure 35b**, illustre les abattements en *Escherichia coli* calculés pendant ce cycle de 24 heures. Sur la **Figure 35c**, on retrouve les concentrations résiduelles en *Escherichia coli* selon les différentes doses. Le lien entre l'abattement à des doses comprises entre 18 et 26 ppm.min et les niveaux de concentrations des *Escherichia coli* à désinfecter est présenté par la **Figure 35d**.



**FIGURE 35.** Concentrations en *Escherichia coli* après désinfection à l'acide performique (PFA) à différentes concentrations (a) en fonction des heures de prélèvement à l'échelle journalière et (c) en fonction du temps de contact ( $C \times t$  en ppm.min) et abattements logarithmiques associés (b) en fonction des heures de prélèvement à l'échelle journalière et (d) de la concentration initiale en *Escherichia coli* pour une concentration et un temps de contact compris entre 18 et 26 ppm.min

## 5.1. Performances de la désinfection à l'échelle horaire

Sur la **Figure 35a**, les concentrations résiduelles en *Escherichia coli* apparaissent globalement inférieures à 400 NPP/100 mL et supérieures à 4 NPP/100 mL (limite de quantification) pour un taux de traitement en PFA de 2 ppm. Deux exceptions apparaissent dont un cas pour lequel, les concentrations en *Escherichia coli* à désinfecter étaient plus élevées qu'habituellement ( $3,8 \cdot 10^5$  NPP/100 mL). Plus précisément, entre 20 heures et 4 heures du matin, et quel que soit le taux de traitement, les concentrations résiduelles sont très faibles et inférieures à 100 NPP/100 mL. Ces faibles résiduels observés pendant la nuit laissent penser que d'autres paramètres induisent cette tendance.

Les abattements associés varient entre 1,6 et 3,8 log d'après la **Figure 35b**, dont le maximum est observé à un taux de traitement de 2 ppm. Ces abattements sont logiquement plus importants pour les taux de traitement les plus forts, et restent globalement très élevés pendant la nuit au plus faible taux de traitement (0,8 ppm).

## 5.2. Paramètres d'optimisation de la désinfection

La **Figure 35c** montre que les concentrations résiduelles d'*Escherichia coli* après désinfection sont corrélées avec la dose de PFA. Plus cette dose est importante, plus la valeur résiduelle de bactéries est faible. D'ailleurs, ces faibles concentrations résiduelles ont été systématiquement observées entre 20 h 00 et 4 h 00 du matin (**Figure 35a**) dans le contexte d'un débit en entrée d'usine plus faible, donnant ainsi un temps de contact plus élevé. Globalement, une dose de 20 ppm.min semble suffire pour maintenir des concentrations résiduelles faibles et, quoi qu'il en soit, au-delà d'une dose de 40 ppm.min, les concentrations résiduelles sont très faibles, voire inférieures à la limite de quantification.

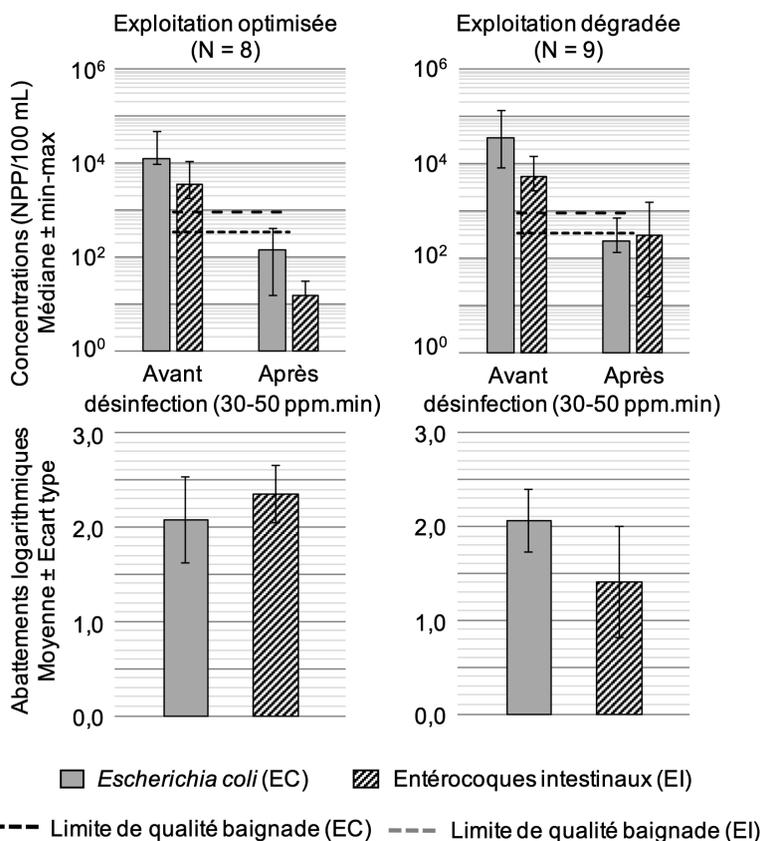
Un point fait exception pour lequel une concentration résiduelle de 1175 NPP/100 mL d'*Escherichia coli* a été obtenue pour une dose de 22,2 ppm.min (**Figure 35c**). La variabilité des concentrations résiduelles d'*Escherichia coli*, relevées pour une même dose, peut s'expliquer par les niveaux de concentration initiale en bactéries à désinfecter : plus ces niveaux sont élevés, plus le taux d'élimination est important. La **Figure 35d** illustre cette relation dans une gamme de désinfection comprise entre 18 et 26 ppm.min.

## 6. INFLUENCE DE LA QUALITÉ DES EFFLUENTS SUR L'ÉLIMINATION DES BACTÉRIES INDICATRICES FÉCALES

### 6.1. Relation entre la qualité du rejet et l'efficacité de la désinfection

La **Figure 36** présente une comparaison des campagnes de désinfection menées à une dose de PFA de 30 à 50 ppm.min en conditions d'activité nominales ( $n = 8$ ) et altérées ( $n = 9$ ) de l'usine SEV.

L'altération des processus de traitement de l'usine SEV entraîne principalement des concentrations considérablement supérieures en MES (test de Mann-Whitney, valeur  $p = 0,010$ ), identifiées comme influençant l'efficacité du PFA, ainsi qu'une conductivité légèrement inférieure (test de Mann-Whitney, valeur  $p = 0,011$ ). Pour ces campagnes, la qualité des eaux usées relevée en conditions d'activité altérées était nettement différente de celle observée en conditions nominales pour certains paramètres dont les MES ( $4,1 \pm 1,4$  mg/L en conditions nominales contre  $8,1 \pm 3,4$  mg/L en conditions altérées), la conductivité ( $1138 \pm 26$  contre  $1046 \pm 34$ ), la DCO ( $19 \pm 2$  contre  $27 \pm 3$  mg O<sub>2</sub>/L), la DBO5 ( $1,1 \pm 0,6$  contre  $3,2 \pm 1,1$  mg O<sub>2</sub>/L) et le PT ( $0,6 \pm 0,2$  contre  $1,3 \pm 0,8$  mg O<sub>2</sub>/L). Les paramètres solubles tels le NTK ( $1,0 \pm 0,2$  contre  $1,6 \pm 0,3$  mg O<sub>2</sub>/L) et le COD ( $6,6 \pm 0,5$  contre  $6,3 \pm 0,4$  mg C/L) sont restés semblables.



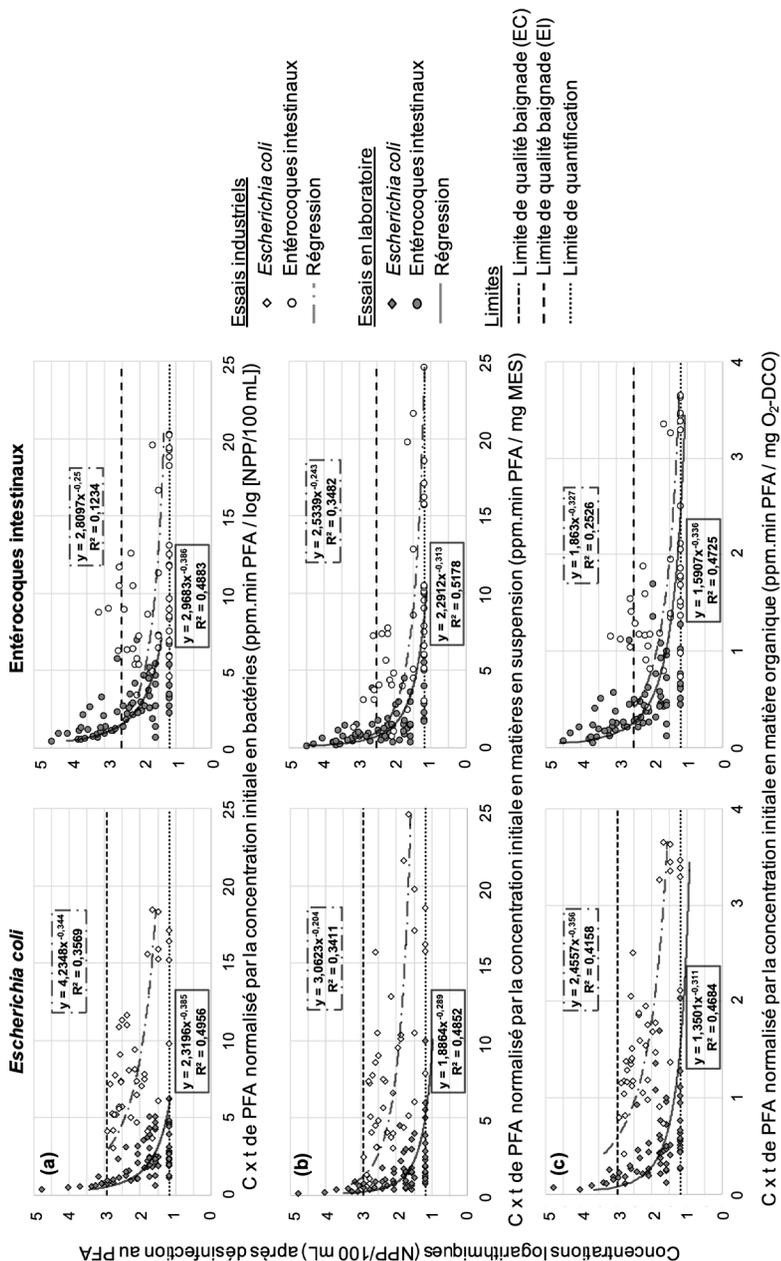
**FIGURE 36. Concentrations médianes et abattements logarithmiques moyens des bactéries indicatrices fécales au rejet de l'usine Seine Valenton en amont et en aval de la désinfection à l'acide performique (PFA) injecté à des doses comprises entre 30 et 50 ppm.min lors de situations d'exploitation normales et dégradées**

Concernant les *Escherichia coli*, il n'existe aucune différence significative en termes d'abattement (test de Student, valeur  $p = 0,972$ ) entre les activités nominales et altérées de l'usines d'épuration. Les abattements moyens ( $\pm$  écarts-types) sont de 2,07 ( $\pm$  0,48) log en conditions nominales, et de 2,06 ( $\pm$  0,33) log en conditions altérées. À l'inverse, l'altération de la qualité des rejets de l'usine SEV, donnant lieu à des concentrations de MES supérieures et à une conductivité plus faible, entraîne une baisse significative de 1 log d'abattement des entérocoques intestinaux (test de Student,  $p = 0,001$ ). Les abattements moyens ( $\pm$  écarts-types) sont de 2,35 ( $\pm$  0,30) log en conditions nominales, et de 1,41 ( $\pm$  0,59) log en conditions altérées. Les concentrations initiales d'entérocoques intestinaux étant similaires en conditions nominales et dégradées,

des concentrations résiduelles supérieures ont été identifiées après désinfection, attestant ainsi de l'effet significatif des MES et/ou de la conductivité sur l'efficacité de désinfection au PFA. Cette conclusion corrobore les observations effectuées en laboratoire bien que les effets aient été observés à des concentrations supérieures en MES. Cela concorde également avec les récents essais à l'échelle industrielle menés à Biarritz, qui ont démontré une influence de la concentration en MES et de la conductivité de l'eau sur l'efficacité de la désinfection au PFA (Pigot et *al.*, 2019).

## 6.2. Approche normalisée d'évaluation de l'efficacité de la désinfection

Sur la base des essais en laboratoire, il a été démontré que la normalisation de la dose de PFA ( $C \times t$ , ppm.min) par les paramètres initiaux de qualité de l'eau permettait une estimation des concentrations résiduelles en bactéries. Les essais à l'échelle industrielle ont d'ailleurs confirmé l'influence de ces paramètres, et notamment les MES, sur l'élimination des entérocoques intestinaux. La **Figure 37** présente les concentrations résiduelles des *Escherichia coli* et des entérocoques intestinaux après désinfection à différentes doses de PFA normalisés. Cette normalisation a été réalisée en divisant la dose appliquée par les concentrations initiales en bactéries (a), MES (b) et DCO (c).



**FIGURE 37.** Concentrations résiduelles en bactéries indicatrices fécales au rejet de l'usine d'épuration Seine Valenton après désinfection à l'acide performique (PFA) injecté à différents doses (C x t) en fonction de la concentration initiale en bactéries (a), de la concentration initiale en matières en suspension (b) et de la concentration initiale en matière organique (c)

Ces résultats confirment les tendances observées en laboratoire. Les concentrations résiduelles en *Escherichia coli* et entérocoques intestinaux présentent une corrélation significative avec une dose normalisée par la concentration bactérienne initiale (test de Spearman,  $r = -0,557$  et valeur  $p = 0,0002$  pour *Escherichia coli*, et  $r = -0,353$  et valeur  $p = 0,024$  pour les entérocoques intestinaux), les MES (test de Spearman,  $r = -0,588$  et valeur  $p = 5 \times 10^{-5}$  pour *Escherichia coli*, et  $r = -0,603$  et valeur  $p = 3 \times 10^{-5}$  pour les entérocoques intestinaux) ou la DCO (test de Pearson,  $r = -0,618$  et valeur  $p = 2 \times 10^{-5}$  pour *Escherichia coli*, et  $r = -0,537$  et valeur  $p = 0,0003$  pour les entérocoques intestinaux).

Une relation de type « loi de puissance » peut donc être déterminée afin de prédire les concentrations bactériennes résiduelles à partir des informations de dose et de concentrations initiales en bactéries, MES ou DCO.

## 7. PRÉDICTION DE L'EFFICACITÉ DE LA DÉSINFECTION PAR APPROCHE MATHÉMATIQUE

Afin d'étudier de manière plus approfondie les corrélations observées précédemment entre l'efficacité de désinfection et les différents paramètres opérationnels, une approche par modélisation mathématique a été réalisée. Par le passé, plusieurs travaux ont proposé des modèles plus ou moins complexes pour simuler la désinfection d'indicateurs fécaux à l'aide de différents désinfectants (Fernando, 2009 ; Flores *et al.*, 2016 ; Hassen *et al.*, 2000). Ces modèles reposent généralement sur l'Équation de Chick-Watson ou de Hom (Azzellino *et al.*, 2011), qui peut être résumée par l'Équation (7) ci-dessous :

$$\ln \frac{N_t}{N_0} = -kC^n t^m \quad (7)$$

$N_0$  et  $N_t$  correspondent respectivement aux concentrations d'indicateurs fécaux initiales et actuelles (généralement exprimées en UFC ou en NPP/100 mL),  
 $k$  est la constante cinétique de désinfection ( $L^3M^{-1}T^{-1}$ ),  
 $C$  la concentration de désinfectant ( $ML^{-3}$ ),  
 $t$  représente le temps écoulé depuis l'injection de  $C$  ( $T$ ),  
 $n$  et  $m$  représentent les constantes correspondantes illustrant les différentes natures des désinfectants potentiellement utilisés, ainsi que les autres conditions externes non directement prises en compte dans l'Équation (7), et  $m$  correspond à 1 pour l'équation de Chick-Watson.

La valeur initiale de  $C$  est généralement considérée comme constante par souci de simplification du modèle. D'autres équations légèrement plus complexes peuvent être appliquées, telles que l'équation de Collins-Selleck. Ces équations cinétiques doivent être couplées à une description de l'hydraulique des réacteurs afin de bien simuler la désinfection.

Si elle a été jugée adaptée aux désinfectants de type chlore ou ozone, cette approche est toutefois moins pertinente pour modéliser la performance de

peracides (Azzellino *et al.*, 2011). Sachant que la concentration de peracides décroît à l'injection, puis progressivement durant la désinfection, l'approche du  $C_t$  constant de l'équation Chick-Watson de base est souvent considérée comme insuffisante pour bien représenter la variabilité des taux d'élimination des indicateurs fécaux. Une approche du  $C_t$  intégral a donc été proposée à la place (Santoro *et al.*, 2007, 2015). La cinétique de désinfection de l'acide peracétique (PAA) a été davantage étudiée dans la littérature que celle de l'acide performique (PFA). Différents auteurs ont proposé d'utiliser une seconde équation pour décrire la variation de  $C$  au fil du temps. Cette variation inclut notamment une chute instantanée due à une demande initiale immédiate, suivie d'une décomposition de premier ordre (Henao *et al.*, 2018 ; Murray *et al.*, 2016). En particulier, Henao *et al.* (2018) ont étudié l'impact de la composition des eaux usées sur la cinétique de décomposition du PAA et la désinfection d'*Escherichia coli* en laboratoire. Ainsi, ils ont constaté que la demande initiale et la vitesse de décomposition du PAA augmentaient toutes deux à des degrés divers une fois un certain seuil de concentration de MES ou de DCO atteint. De même, l'efficacité de la désinfection diminue avec l'injection d'une dose équivalente similaire du PAA dans le cadre de la comparaison d'échantillons contenant respectivement 0 et 40 mg/L de MES.

Ces démarches ne permettent pas seulement de mieux évaluer les impacts de différents facteurs sur l'efficacité de désinfection, mais également de contrôler les processus sur site. La dose adéquate de désinfectant doit être estimée et contrôlée afin de maintenir un niveau de désinfection suffisant. Ces mesures contribuent également à réduire les coûts d'injection et la concentration résiduelle de désinfectant au niveau de l'émissaire de l'usine. Un modèle adapté peut ainsi servir soit de plateforme de comparaison pour optimisation, soit de système de commande prédictive pour l'injection de désinfectant (Manoli *et al.*, 2019 ; Murray *et al.*, 2016).

Malgré leur intérêt intrinsèque, il serait difficile d'appliquer les approches conceptuelles de la modélisation de désinfection présentes dans la littérature à l'étude de cas réalisée au sein de l'usine SEV. Bien que le PFA ne soit pas exactement le même désinfectant que le PAA, il devrait tout de même se consommer de manière similaire au moment de l'injection et lors du processus de désinfection. Le PFA étant plus difficile à mesurer que le PAA, aucune valeur n'est disponible pour les expériences en laboratoire, ni pour les campagnes d'étude de cas sur site. De même, les auteurs n'ont pu identifier de travail de modélisation concernant la désinfection au PFA. Ainsi, il n'existe aucune valeur par défaut ni aucun paramètre de référence pouvant être utilisé aux fins des équations de Chick-Watson ou des équations de décomposition de peracides auxquelles on a habituellement recours. Au lieu de cela, une approche de régression linéaire

multiple a été adoptée afin de simuler les concentrations d'*Escherichia coli* dans les effluents de l'usine SEV. Cette approche tient compte de l'impact sur les deux variables opérationnelles (débit des eaux usées et dose de PFA), ainsi que de la qualité des eaux usées au point d'injection, malgré l'absence de mesures de concentration de PFA. Différents critères ont été utilisés pour sélectionner les variables d'entrée optimales du modèle à partir d'une série de données de mesures partielles de ce qui était facilement mesurable sur site et en ligne. Les modèles sélectionnés ont ensuite été comparés sur des critères de validation basiques, ainsi qu'avec les méthodes de validations croisées d'un contre tous (LOOCV - pour *leave-one-out cross validation*) et à k blocs.

### 7.1. Construction et validation des modèles

La série de données utilisée se compose des 45 échantillons ponctuels d'effluents, avant et après désinfection, prélevés pour analyse lors des semaines d'injection de PFA, ainsi que des six échantillons prélevés semaine 42 sans injection (**Partie 1 – Chapitre 1**). Cette série de données comprend les données opérationnelles correspondant au moment où chaque échantillon ponctuel a été prélevé (débit d'eaux usées, hauteur des eaux dans le canal de rejet, température, dose de PFA,  $C \times t$  initial équivalent) ainsi que les concentrations mesurées. Certaines données proviennent également de plusieurs sources. La conductivité et le pH ont été mesurés sur site au point de prélèvement, et de nouveau après l'arrivée des échantillons au laboratoire. La température a également été mesurée lors de l'échantillonnage et par un capteur installé à titre permanent par les opérateurs de l'usine dans le canal de rejet. Les échantillons pour lesquels les BIF dans l'effluent atteignaient la limite de quantification de la méthode ont été écartés. Les concentrations en COD dans l'effluent n'ont pas été prises en compte, puisqu'elles n'étaient pas disponibles pour une partie des données. De même, l'objectif de cette étude consistant à estimer les concentrations de chaque type de BIF dans l'effluent, les concentrations d'entérocoques intestinaux mesurées ont été écartées comme variable d'entrée pour le modèle *Escherichia coli*, et vice versa. En outre, étant donné que la corrélation entre les concentrations de chaque variable mesurée relevées dans les effluents avant et après désinfection était plutôt importante (valeurs de coefficients de Pearson comprises entre 0,777 et 0,995), seules les concentrations présentes dans les échantillons non désinfectés ont été retenues à titre de paramètres explicatifs. Cette décision a permis de réduire le nombre de ces paramètres potentiels, qui était initialement important par rapport au nombre d'expériences disponibles pour l'ajustement du modèle. Les séries de données finales pour chaque modèle comportaient

ainsi 22 paramètres explicatifs pour 48 mesures valables pour *Escherichia coli* (**Tableau 16**) contre seulement 34 pour les entérocoques intestinaux. Seuls les résultats liés aux modèles *Escherichia coli* seront présentés.

**TABLEAU 16. Liste des variables suivies et paramètres explicatifs pris en compte dans la construction du modèle mathématique. N représente le nombre d'échantillons retenus**

	Variable suivie <sup>a</sup>	Paramètres explicatifs <sup>b</sup>	Interactions	N
Données complètes	In(EC <sub>sortie</sub> )	Q, H, T <sub>usine</sub> , [PFA], Dose, pH <sub>échantillon</sub> , T <sub>échantillon</sub> , σ <sub>échantillon</sub> , EC <sub>entrée</sub> , [MES] <sub>entrée</sub> , [COD] <sub>entrée</sub> , [DCO] <sub>entrée</sub> , [DBO] <sub>entrée</sub> , [NTK] <sub>entrée</sub> , [NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ] <sub>entrée</sub> , [NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ] <sub>entrée</sub> , [NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ] <sub>entrée</sub> , [Pt] <sub>entrée</sub> , [PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ] <sub>entrée</sub> , pH <sub>laboratoire</sub> , σ <sub>laboratoire</sub> , turbidité	Aucune	48
		2 voies		
Données en ligne		Q, H, T <sub>usine</sub> , [PFA], C × t, pH <sub>échantillon</sub> , T <sub>échantillon</sub> , σ <sub>échantillon</sub> , EC <sub>entrée</sub> , COD <sub>entrée</sub> , [NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ] <sub>entrée</sub> , pH <sub>laboratoire</sub> , σ <sub>laboratoire</sub> , turbidité	Aucune	
		2 voies		

<sup>a</sup> EC : concentration en *Escherichia coli*

<sup>b</sup> Q : débit dans le canal de rejet ; H : hauteur d'eau dans le canal de rejet ; T : température ; [PFA] : concentration en acide performique ; C × t : concentration en acide performique associée au temps de contact ; σ : conductivité ; MES : matières en suspension ; COD : carbone organique dissous ; DCO : demande chimique en oxygène ; DBO : demande biochimique en oxygène ; NTK : azote total kjeldhal ; NH<sub>4</sub><sup>+</sup> : azote ammoniacal ; NO<sub>2</sub><sup>-</sup> : azote nitreux ; NO<sub>3</sub><sup>-</sup> : azote nitrique ; Pt : phosphore total ; PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> : orthophosphate

Une seconde série de données comportant le même nombre de mesures valables a également été préparée. Pour cette série, seules les paramètres explicatifs considérés comme facilement mesurables à l'aide de capteurs ou d'analyseurs *in situ* au niveau de l'entrée du canal de rejet ont été retenus. Cette série de données comprenait les données opérationnelles, ainsi que le pH, la température, la conductivité, la concentration d'*Escherichia coli*, le COD, la turbidité et l'azote ammoniacal ; les MES ayant été exclues car les capteurs de MES mesurent souvent la turbidité, laquelle était déjà mesurée. De la même manière, la DCO et la DBO ont également été écartées car constituant souvent une estimation composite reposant sur la turbidité (fraction particulaire) et UV-254 (fraction soluble). À la place, le COD a été choisi en raison de la tendance générale à estimer sa présence depuis les capteurs uniquement sur la base d'UV-254. La concentration d'*Escherichia coli* au niveau de l'entrée du canal a également été retenue pour sa potentielle capacité à être mesurée en ligne. La seconde série de données consistait donc en 48 mesures et 14 variables explicatives, dont des mesures similaires provenant des différentes sources détaillées précédemment. L'objectif de la première série de données était d'obtenir un modèle « idéal » d'après toutes les données accessibles, tandis que la seconde visait à évaluer la possibilité de recourir à ce type de modèle

pour le contrôle des procédés ou à obtenir une estimation simplifiée de l'efficacité sur site.

Pour chaque série de données, des protocoles similaires de construction et d'évaluation des modèles ont été respectés. Les concentrations d'*Escherichia coli* dans les effluents ont été converties en logarithmes avant utilisation, comme souvent dans le cadre de la modélisation de BIF (Eleria & Vogel, 2005). Une transformée de Box-Cox initiale ( $\lambda_{opt} = -0,16$ ) est venue confirmer le choix de la forme logarithmique (Herrig *et al.*, 2015). Les régressions ont été réalisées d'après une procédure par étapes, à l'aide de la fonction `stepwiselm` de Matlab® R2018b (MathWorks). Cette procédure ne permettant pas nécessairement de garantir l'obtention d'un modèle optimal dès le premier essai, les paramètres explicatifs sont identifiés à l'aide des critères de somme des moindres carrés (SMC), des critères d'information d'Akaike (CIA) et des critères d'information bayésiens (CIB), par le biais de procédures ascendante et descendante pour chaque cas. Les modèles identifiés ont ensuite été simplifiés en éliminant les paramètres explicatifs pour lesquels l'intervalle de confiance de 95 % était de zéro et en réajustant le modèle selon les variables restantes. Pour chaque série de données, les procédures par étapes ont d'abord été réalisées en ne tenant compte que des effets directs des paramètres explicatifs (aucune interaction) et en incluant les interactions bidirectionnelles pour toutes les variables disponibles lors d'un second passage (**Tableau 16**). Tous les modèles identifiés grâce à cette procédure par étapes ont fait l'objet de vérifications de la répartition des erreurs et de toutes tendances manifestes entre les erreurs et chaque paramètre explicatif retenu. Le facteur d'inflation de la variance (FIV), les coefficients normaux et ajustés de détermination ( $R^2$  et  $R^2_{adj}$ ) et l'erreur quadratique moyenne (EQS) ont été calculés pour chaque cas (Montgomery *et al.*, 2021).

Enfin, une validation croisée a été effectuée pour chaque modèle identifié afin d'affiner la sélection de modèles optimaux à l'aide de la fonction `crossval` de Matlab. Une procédure de validation croisée d'un contre tous et une série de procédures à  $k$  blocs ( $k = 2^{-10}$ ) ont été appliquées. La valeur unique de la EQS de la validation LOOCV ( $EQS_{val}$ ) a été prise en compte, et la valeur médiane d'un prélèvement aléatoire 1000 a été retenue pour la validation croisée à  $k$  blocs. Les différentes valeurs  $EQS_{val}$  issues des modèles et des EQS construites ont été comparées entre elles afin d'identifier les modèles pour lesquels une perte importante de précision doit être attendue en dehors du champ des données d'entraînement.

## 7.2. Prédiction des concentrations en *Escherichia coli*

Les principaux résultats obtenus pour les modèles trouvés sur toute la série de données sont synthétisés dans le **Tableau 17**. Quatre combinaisons distinctes de paramètres explicatifs optimaux ont été trouvées et nommées F1 à F4. Comme souvent, les sélections par étapes ascendantes (F1 et F2) ont permis d'identifier des modèles avec moins de paramètres que les sélections descendantes (F3 et F4). Dans les deux cas, les deux modèles identifiés avaient une structure très similaire ; les modèles F1 et F2 comportent un très petit nombre de paramètres, en fonction de la dose de PFA, du Ct, de la température et éventuellement de la concentration ammoniacale dans l'affluent.

TABLEAU 17. Principaux résultats obtenus avec les modèles construits en utilisant la base de données complète

Source <sup>a</sup>	Paramètres considérés <sup>b</sup>	p	FIV max <sup>c</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> <sub>adj</sub>	EOS <sup>d</sup> <sub>val</sub> (L00)	EOS <sup>d</sup> <sub>val</sub> (5-fold)
F1 SMC et CIB ascendants	[PFA], C × t, T <sub>échantillon</sub> , [NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ]	4	23,1	0,826	0,810	0,704	1,401
F2 CIA ascendant	[PFA], C × t, T <sub>échantillon</sub>	3	23	0,793	0,779	0,818	1,726
F3 SMC descendante, CIB et CIA <sub>1</sub>	Q, H, T <sub>usine</sub> , [PFA], [DCO], [COD], [DBO], [NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ]	8	11,6	0,883	0,859	0,511	0,730
F4 CIA <sub>2</sub> descendant	Q, H, T <sub>usine</sub> , pH <sub>échantillon</sub> , [PFA], [DCO], [COD], [DBO]	8	11,6	0,885	0,862	0,523	0,807

<sup>a</sup> SMC : somme des moindres carrés ; CIB : critère d'information bayésien ; CIA : critère d'information d'Alkalle

<sup>b</sup> C × t : concentration en acide performique associée au temps de contact ; NH<sub>4</sub><sup>+</sup> : azote ammoniacal ; T : température ; Q : débit dans le canal de rejet ; H : hauteur d'eau dans le canal de

rejet ; PFA : acide performique ; DCO : demande chimique en oxygène ; COD : carbone organique dissous ; DBO : demande biochimique en oxygène

<sup>c</sup> FIV : facteur d'inflation de la variance

<sup>d</sup> EOS : erreur quadratique moyenne

La valeur de FIV maximale obtenue est élevée dans les deux cas (23-23,1) et reflète l'importante corrélation entre la concentration de PFA et la dose ( $C \times t$ ). À titre de comparaison, des valeurs FIV optimales inférieures à 5 ou 10 ont souvent été rapportées dans la littérature (Herrig *et al.*, 2015 ; Montgomery *et al.*, 2021). Les valeurs  $R^2$  et  $R^2_{adj}$  sont relativement élevées dans les deux cas, bien que l'élimination de  $[NH_4^+]$  dans F2 entraîne une baisse de ces scores par rapport à F1. Les modèles F3 et F4 comportent davantage de variables (huit) et reposent sur une combinaison alliant débit des eaux et hauteur, température, concentration de PFA, concentrations de carbone dans l'affluent, et soit ammoniacque (F3), soit pH (F4). Ces modèles présentent tous deux des valeurs similaires pour chaque critère de sélection. La valeur FIV maximale est de 11,6, ce qui s'explique par la corrélation plutôt importante entre le débit des eaux et la hauteur du canal (corrélation de Pearson de 0,95). On observe une hausse des valeurs  $R^2_{adj}$  par rapport à F1 et F2, ce qui indique que les variables explicatives complémentaires améliorent la précision du modèle. De même, les modèles F3 et F4 produisent une valeur EQS de validation croisée bien plus faible que les modèles F1 et F2 « plus simples ». La hausse entre la valeur EQS de la construction et la validation du modèle est également bien inférieure (1,4-1,6 contre 2,0-2,1), ce qui indique que les modèles plus simples sont moins précis lorsqu'ils sont appliqués à des conditions « nouvelles ». Pour toutes ces raisons, les modèles F3 et F4 semblent plus adaptés à un usage général. De prime abord, le F3 est préférable vu la légère hausse de la EQS en validation croisée entre F3 et F4 ; mais on pourrait faire valoir le fait que l'ammoniacque n'est pas aussi facile à mesurer que le pH.

Le **Tableau 18** présente les principaux résultats obtenus pour les modèles trouvés en utilisant « la base de données en ligne » sans interactions de variables.

**TABLEAU 18. Principaux résultats obtenus lors de l'étude des interactions bidirectionnelles dans le cadre des procédures d'identification de modèles**

ID	Source	Variables incluses	P	FIV max	$R^2$	Adj. $R^2$	MSE	MSE <sub>val</sub> (L00)	MSE <sub>val</sub> (5-fold)
S1	Toutes les procédures ascendantes	[PFA], Dose, $T_{\text{échantillon}}$ [ $NH_4^+$ ]	4	23,1	0,826	0,810	0,704	1,401	1,429
S2	Toutes les procédures descendantes	Q, H, $T_{\text{usine}}$ [PFA], [COD], [ $NH_4^+$ ]	6	10,5	0,847	0,825	0,667	1,023	1,049

Seuls deux modèles distincts ont été identifiés. Chaque critère de régression ascendante par étapes renvoyait au modèle S1, identique au modèle F1 basé sur la série de données complète. Puisque la série de données disponible « en ligne » comportait un nombre moins important de paramètres explicatifs potentiels en conservant les paramètres identifiés dans le modèle F1, ce résultat n'est pas surprenant. De plus, toutes les procédures descendantes par étapes convergeaient vers le même modèle (S2, **Tableau 18**). Le modèle S2 est également très similaire au modèle F3 conçu à partir de la série de données entière, excluant uniquement les concentrations de DBO et de DCO, ce qui donne une diminution limitée de  $R^2$  (0,036) et de  $R^2_{adj}$  (0,024), ainsi qu'une hausse des résultats de EQS de construction et de validation croisée par rapport au F3. La valeur FIV maximale est également légèrement inférieure (10,5 contre 11,6), ce qui indique que la majorité des informations clés nécessaires pour prévoir la concentration d'*Escherichia coli* dans l'effluent pourraient, en théorie, être obtenues à l'aide de mesures en ligne. Toutefois, l'une des importantes mises en garde dégagées par ces travaux est le fait que les mêmes mesures soient utilisées à la fois pour les séries de données entières et celles en ligne. Les valeurs de concentration ont été obtenues grâce à des analyses en laboratoire (sauf pour le pH et la conductivité) sans mesures en double à l'aide de capteurs. L'efficacité des mesures en laboratoire et *in situ* peut varier en fonction de nombreux facteurs. L'efficacité réelle du modèle via des capteurs en ligne pourrait ainsi différer de l'efficacité obtenue pour ce cas. Une campagne d'acquisition de données en bonne et due forme devrait être effectuée pour pouvoir valider complètement ces résultats. Le modèle S2, légèrement plus complexe, peut cependant être considéré comme un compromis préférable entre la complexité et l'efficacité.

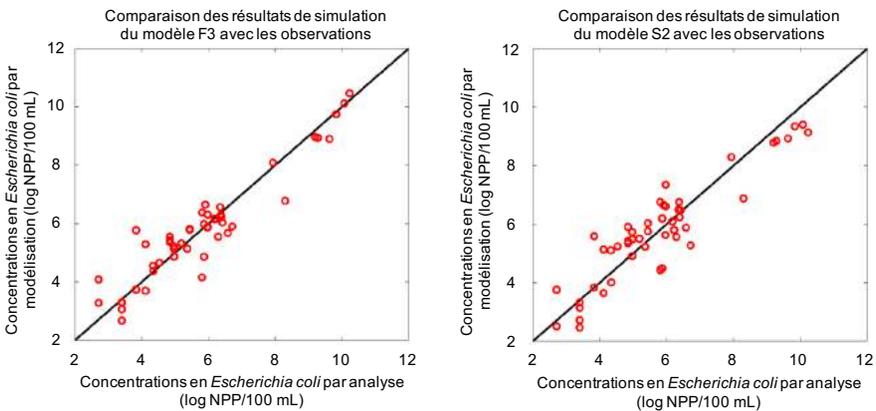
Le **Tableau 19** résume les résultats positifs obtenus pour les modèles avec interaction pendant les procédures d'identification du modèle.

**TABLEAU 19. Principaux résultats obtenus pour les modèles avec interactions construits en utilisant la base de données complète**

ID	Source	Variables incluses	P	FIV max	$R^2$	$R^2_{adj}$	EQS	EQS <sub>val</sub> (L00)	EQS <sub>val</sub> (5-fold)
S11	CIA ascendant	Q, H, T <sub>échantillon'</sub> [COD], [PFA]*T <sub>échantillon'</sub> [PFA]*[COD]	6	147 (10,4)	0,871	0,852	0,548	0,746	0,763
S12	SMC descendant	Q, T <sub>échantillon'</sub> [PFA], [COD], H*T <sub>échantillon</sub>	5	12,2 (10,6)	0,844	0,825	0,647	1,155	1,177

La plupart des tentatives ont inclus un nombre très important de variables et d'interactions par rapport au volume de données disponibles, donnant ainsi des modèles surajustés avec de faibles valeurs de EQS en validation croisée. Seuls les CIA ascendants et SMC descendants des séries de données disponibles « en ligne » ont trouvé des modèles comportant un nombre raisonnable d'interactions semblant améliorer la précision du modèle par rapport aux précédents résultats obtenus. Les deux modèles présentés dans le **Tableau 19** sont similaires au modèle S2. SI1 remplace la concentration de PFA par des interactions entre la concentration de PFA, la température et les concentrations de COD. SI2, remplace la hauteur des eaux par une interaction entre hauteur et température. Dans les deux cas, la température enregistrée lors des prélèvements remplace celle mesurée par le capteur de l'usine. SI1 donne une amélioration de l'efficacité globale du modèle (aussi bien côté construction que validation), tandis que SI2 maintient des résultats de construction similaires, à l'exception d'une hausse des valeurs EQS en validation croisée.

La **Figure 38** illustre les résultats du modèle pour toute les données correspondant aux modèles optimaux F3 et S2. Comme on peut le voir, le fait de limiter les variables disponibles aux variables « en ligne » donne lieu à une plus grande dispersion du modèle pour les données d'*Escherichia coli* autour de 5-7 log ; et entraîne une surestimation des mesures élevées de l'effluent enregistrées durant la semaine de mesures sans injection de PFA. On remarque également sur la **Figure 38** que seules quelques mesures de la concentration sont disponibles dans la zone 7-9 (faible concentration de PFA et/ou débit des eaux important). Effectuer des mesures complémentaires dans cette zone serait bénéfique pour garantir l'adéquation des modèles optimaux vis-à-vis d'une grande diversité de conditions potentielles.



**FIGURE 38. Comparaison des estimations de concentration (en log NPP/100 mL) en *Escherichia coli* obtenues par simulation et par analyse pour le scénario F3 (figure de gauche) et pour le scénario S2 (figure de droite)**

Bien qu'il faille faire preuve de prudence dans l'interprétation du sens physique des variables identifiées à l'aide de procédures par étapes en régression linéaire, une comparaison de ces résultats avec des facteurs intégrés à des modèles basés sur le savoir scientifique pourrait être utile. Comme mis en lumière dans les parties précédentes, les facteurs classiques inclus dans les modèles construits à partir des connaissances de désinfection d'*Escherichia coli* sont le temps de réaction, la concentration en bactéries initiale et la valeur de la dose ( $C \times t$ ) intégrée, qui dépend elle-même de la concentration initiale d'acide et de tous facteurs influant sur sa vitesse de consommation (ex. : MES, DCO soluble, température). Henaoui *et al.* (2018) ont également estimé que les MES étaient un facteur d'influence direct puisqu'en plus d'accélérer la consommation de désinfectant, elles agissaient comme une protection des bactéries indicatrices fécales. Les modèles optimaux obtenus lors de cette étude ont tous une structure similaire : ils reposent sur le débit des eaux et la hauteur du canal de rejet (qui présente une corrélation avec la résistance hydraulique et, par conséquent, le temps de réaction), la concentration de PFA injectée, la température de l'eau et les différentes concentrations de pollution résiduelle dans l'effluent de l'usine, en majorité à base de carbone. Ces résultats sont en partie similaires aux constats effectués dans les parties précédentes directement pour le COD et indirectement pour les MES et la dose initiale.

La concentration d'*Escherichia coli* dans l'effluent avant désinfection, en revanche, est absente de tous les modèles identifiés, ce qui pourrait s'expliquer par la corrélation relativement forte dans les données disponibles entre la concentration d'*Escherichia coli* dans l'effluent avant désinfection et plusieurs des variables explicatives trouvées. C'est notamment le cas pour  $Q$  ( $\rho_{\text{Pearson}} = 0,61$ ),  $H$  (0,58), la DCO (0,74) et la DBO (0,84). Au niveau de l'effluent de l'usine, les hausses majeures de la concentration d'*Escherichia coli* sont en fait généralement dues à une dérivation partielle de la trajectoire de traitement. Ces dérivations sont souvent liées soit à l'inaccessibilité d'un procédé de traitement (entretien, maintenance), soit à des débits élevés, notamment lors des épisodes de précipitations. Les dérivations partielles donnent souvent lieu à une hausse des concentrations de pollution au sein du canal de rejet. Une combinaison de ces facteurs pourrait suffire, dans ce cas précis, à estimer l'ordre de grandeur de la concentration d'*Escherichia coli* dans l'effluent. Ceci étant, cette approche produit également une multicollinéarité parmi les différentes concentrations de variables explicatives. Ainsi, la priorité accordée à la DCO, à la DBO ou au COD par rapport à d'autres variables, telles que les MES ou la turbidité, au sein de la procédure de sélection de modèle adoptée ne doit pas être surinterprétée. Pour des raisons similaires, la valeur FIV maximale de tous les modèles optimaux est

supérieure à 10, ce qui correspond au maximum recommandé. Comme nous l'avons déjà mentionné, dans la plupart des cas, cela s'explique par la forte corrélation entre le débit des eaux et la hauteur du canal. Bien qu'une acquisition de données complémentaire pourrait potentiellement contribuer à réduire cette valeur FIV, il est peu probable qu'elle permette une amélioration majeure.

## Points clés

- Une dose de 20 ppm.min est suffisante pour maintenir des concentrations faibles en *Escherichia coli* et, quoi qu'il en soit, au-delà d'une dose de 40 ppm.min, les concentrations résiduelles sont très faibles, voire inférieures à la limite de quantification.
- Le PFA présente une efficacité de désinfection sur les spores de bactéries anaérobies sulfitoréductrices et sur les phages ARN-F spécifiques plus faible que sur les BIF.
- L'injection d'acide performique induit une hausse moyenne des paramètres organiques (1,2 mg C/L pour le COD, 2 mg O<sub>2</sub>/L pour la DCO) et de 0,19 unités pH pour une concentration de PFA moyenne de 1,2 ± 0,5 ppm.
- Il n'apparaît pas de formation de sous-produits de désinfection de types ions bromures ou bromates. L'augmentation des AOX dans les effluents désinfectés, de l'ordre de 30 %, est sans lien avec les concentrations de réactif appliquées.
- L'efficacité de la désinfection est corrélée à la qualité des effluents à traiter : (1) plus les concentrations initiales en bactéries sont élevées, plus les abattements sont importants et (2) les concentrations initiales en MES élevées réduisent les performances de désinfection.
- La dose de PFA peut être régulées en fonction des modes d'exploitation (jour/nuit), de la concentration en MES ou de la conductivité afin d'optimiser les injections de réactif.
- Une relation de type « loi de puissance » et des modèles de régression linéaires peuvent être déterminés afin de prédire les concentrations résiduelles en bactéries après désinfection à partir des informations de dose de réactifs ou de qualité des effluents (concentration initiale en bactéries, MES ou DCO).

# Partie 3

Évaluation de l'innocuité  
environnementale de la désinfection  
sur les eaux de surface

---



# Chapitre 1

## Description des modèles biologiques utilisés

---



© TAME-WATER & LABORATOIRE WATCHFROG

## 1. INTRODUCTION

Les modèles biologiques utilisés pour l'évaluation de la toxicité générale des eaux de la Seine sous l'influence d'une désinfection chimique ont été regroupés dans le **Tableau 20**.

**TABLEAU 20. Description des modèles biologiques d'évaluation de la toxicité générale**

Modèles biologiques	Effets observés	Nombre de tests
<b>Bactéries</b> <b>(2 souches <i>Escherichia coli</i>)</b>	Croissance (DO <sup>a</sup> )	2
<b>Levures - Cryptogames eucaryotes</b> <b>(<i>Saccharomyces cerevisia</i>)</b>	Croissance (DO <sup>a</sup> )	2
<b>Champignons - Ascomycète</b> <b>(<i>Septoria tritici</i>)</b>	Croissance (DO <sup>a</sup> )	1

<sup>a</sup> DO : Densité optique

La description de chaque modèle et la représentation des résultats obtenus seront abordées dans cette section. Les conditions ci-après reflètent la nécessité de procéder à des modifications des protocoles microbiologiques courants et, par conséquent, du contexte expérimental, afin d'analyser les différents échantillons d'eau via une approche dite « *whole-effluent testing* » de l'effluent entier.

## 2. DESCRIPTION DES PANELS BIOLOGIQUES UTILISÉS POUR ÉVALUER LA TOXICITÉ GÉNÉRALE

### 2.1. Toxicité globale au sein du modèle bactérien

Les bactéries *Escherichia coli* sont maintenues en culture à 4 °C dans des boîtes de Petri, à l'aide d'un milieu *lysogeny broth* (LB) gélosé solide, et régulièrement repiquées au besoin dans d'autres boîtes identiques. La veille de l'expérience, un échantillon est prélevé, et les deux souches de sensibilités différentes sont mises en culture en milieu LB liquide faiblement agité à 37 °C pendant 12 heures. Le jour de l'expérience, les bactéries sont remises en suspension à une densité optique à 600 nm de 0,2 (OD600 – lecteur Victor 3 Perkin Elmer) dans un mélange composé à 90 % d'eau témoin et à 10 % d'un milieu de culture bactérien concentré propriétaire. Les bactéries sont incubées à 37 °C, conservées sous agitation et l'OD600 correspondant à leur multiplication est mesurée en continu toutes les 40 minutes pendant 7 heures. En parallèle, la même expérience est menée pour

chaque souche, avec une eau pour injection à double distillation et un contrôle de la toxicité à l'ampicilline. Les profils des courbes obtenues sont intégrés à l'aide d'une opération mathématique tenant compte de l'intégralité de la réponse à chaque point expérimental en comparant les courbes des échantillons aux courbes témoins.

## 2.2. Toxicité globale au sein du modèle de levures

Les levures *Saccharomyces cerevisiae* sont maintenues en culture à 4 °C dans des boîtes de Petri, au sein d'un milieu de Sabouraud gélosé solide, et régulièrement repiquées au besoin dans d'autres boîtes identiques. La veille de l'expérience, un échantillon est prélevé et les deux souches de levures de sensibilités différentes mises en culture – pendant 12 heures pour les levures non sensibles et pendant 36 heures pour les levures sensibles – en milieu *yeast extract peptone dextrose* (YPD) gélosé liquide agité à 25 °C dans une atmosphère saturée en humidité. Le jour de l'expérience, les levures non sensibles sont prélevées à une concentration de 100 000 cellules/mL dans un mélange composé à 90 % d'eau à tester et à 10 % d'un milieu de culture pour levures concentré propriétaire ; les levures sensibles sont quant à elles remises à 500 000 cellules/mL dans le milieu propriétaire adjoint de 90 % d'eau à tester. Les levures sont incubées à 37 °C, conservées sous agitation dans une atmosphère saturée en humidité, et l'OD600 correspondant à leur multiplication mesurée en continu (lecteur Victor 3 Perkin Elmer) toutes les heures pendant 7 heures. En parallèle, la même expérience est menée pour chaque souche, avec un témoin négatif consistant en une eau pour injection à double distillation et un contrôle de toxicité au cadmium. Les profils des courbes obtenues sont intégrés à l'aide d'une opération mathématique tenant compte de l'intégralité de la réponse à chaque point expérimental en comparant les courbes des échantillons aux courbes témoins.

## 2.3. Toxicité globale au sein du modèle fongique

La souche de *Septoria tritici* est maintenue en culture à température ambiante dans des boîtes de Petri, au sein d'un milieu gélosé solide de dextrose de pomme de terre et régulièrement repiquée au besoin dans d'autres boîtes identiques. Le jour de l'expérience, un échantillon est prélevé sur les zones formant des spores sur la gelée, et les spores sont remises en suspension à 1000 cellules/mL dans un bouillon de culture concentré propriétaire adjoint de 90 % d'eau à tester. L'incubation est réalisée à température ambiante (21 °C). L'OD600, proportionnel au nombre de cellules dans la solution, est mesuré (lecteur Victor 3 Perkin Elmer) à une heure définie tous les jours pendant 7 jours. En parallèle,

la même expérience est menée avec un témoin négatif consistant en une eau micropurifiée et un contrôle de la toxicité au cadmium (3 mg/L). Les profils des courbes obtenues sont intégrés à l'aide d'une opération mathématique tenant compte de l'intégralité de la réponse à chaque point expérimental en comparant les courbes des échantillons aux courbes témoins.

## 2.4. Présentation et interprétation des résultats

Les niveaux de prolifération ou les effets de toxicité obtenus sont illustrés par un code couleur : le vert correspond à une absence d'effet significatif, le rouge à un effet toxique important, et le bleu foncé, le cas échéant, à effet de prolifération important. Chaque modèle biologique présente différentes limites de sensibilité qui sont prises en compte dans la représentation graphique (**Tableau 21**). Pour les modèles bactériens et de levures, deux souches distinctes sont utilisées : une souche dite « sensible », dépourvue de systèmes de défense contre les toxines présentes dans l'environnement ; et une souche naturelle (dite « sauvage »), qui ne présente aucune de ces déficiences. Le modèle sensible est incapable de survivre dans l'environnement car il manque de capacités de résistance et donc d'adaptation au stress toxique. Ces conditions attestent, avec un très bon niveau de sensibilité, la présence de substances impactant les organismes vivants. En contraste, le modèle de type sauvage, que l'on trouve couramment dans l'environnement, permet de remettre en contexte la présence et l'impact des polluants en mesurant leurs effets sur un organisme capable de résister et de s'adapter. L'association de ces deux éléments d'information permet de pondérer l'interprétation du signal mesuré.

Chaque test consiste à mesurer la croissance de la population cible en présence de l'échantillon à tester. Cette croissance est ensuite comparée à la croissance de référence (témoin) obtenue en conditions idéales (sans stress toxique). Après avoir intégré le signal mesuré en fonction du temps, la comparaison est effectuée au niveau de la cinétique de croissance et du taux de croissance final. Les résultats sont exprimés en pourcentage de prolifération de la population, correspondant au ratio entre les conditions de témoin sans stress et les conditions de l'essai avec stress.

TABLEAU 21. Grille de lecture des résultats obtenus pour les différents modèles biologiques de toxicité générale

Modèle biologique	Souches	Effet fort	Effet moyen	Effet faible significatif	Pas d'effet significatif	Effet faible significatif	Effet moyen	Effet fort
<b>Bactéries</b>	Sauvage	< -90 %	-30 à -90 %	-15 à -30 %	-15 à +15 %	+15 à +30 %	+30 à +90 %	> +90 %
	Sensible	< -90 %	-60 à -90 %	-30 à -60 %	-30 à +30 %	+30 à +60 %	+60 à +90 %	> +90 %
<b>Levures</b>	Sauvage	< -90 %	-60 à -90 %	-30 à -60 %	-30 à +30 %	+30 à +60 %	+60 à +90 %	> +90 %
	Sensible	< -90 %	-30 à -90 %	-15 à -30 %	-15 à +15 %	+15 à +30 %	+30 à +90 %	> +90 %
<b>Champignon</b>	-	< -95 %	-60 à -95 %	-30 à -60 %	-30 à +30 %	+30 à +60 %	+60 à +95 %	> +95 %

### 3. DESCRIPTION DES PANELS BIOLOGIQUES UTILISÉS POUR ÉVALUER LA PERTURBATION ENDOCRINIENNE

#### 3.1. Description des modèles biologiques

Les modèles biologiques utilisés pour évaluer les perturbations endocriniennes dans des échantillons d'eau de Seine après désinfection chimique ont été regroupés dans le **Tableau 22**.

**TABLEAU 22. Description des modèles biologiques d'évaluation de la perturbation endocrinienne**

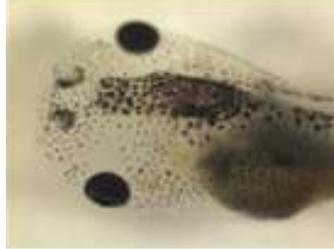
Modèles biologiques	Effets observés
<b>Amphibien xenope TH/bZIP</b> <b>(<i>Xenopus laevis</i>)</b>	Activité thyroïdienne (effet sur le développement)
<b>Alevins médaka ChgH-GFP</b> <b>(<i>Oryzias latipes</i>)</b>	Activité oestrogénique (effet sur la reproduction)
<b>Alevins médaka SPG-GFP</b> <b>(<i>Oryzias latipes</i>)</b>	Activité androgénique (effet sur la reproduction)

Trois types de perturbateurs endocriniens sont évalués : thyroïdiens, œstrogéniques et androgéniques. Ces activités hormonales ont été analysées grâce à des tests basés sur des organismes vertébrés aquatiques de laboratoire, poissons et amphibiens, représentatifs de l'espèce animale dans l'écosystème (AFNOR T90-716-1 et 2 : « Qualité de l'eau – Mesure par fluorescence *in vivo* des effets perturbateurs endocriniens des eaux naturelles et eaux résiduaires – Partie 1 : mesure des effets sur l'axe thyroïdien d'embryons d'amphibiens (*Xenopus laevis*) – Partie 2 : mesure des effets sur l'axe œstrogénique et de l'activité de l'enzyme aromatasé d'embryons de poissons (*Oryzias latipes*) »).

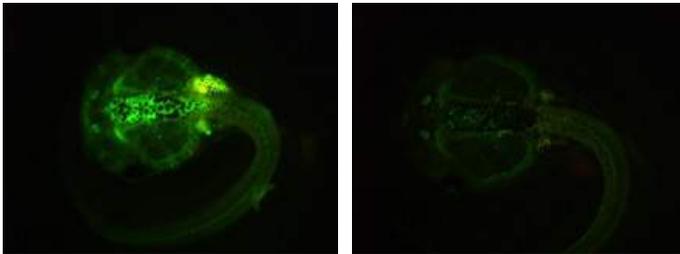
Les essais réalisés sur les poissons permettent de détecter les perturbateurs œstrogéniques et androgéniques, dont l'on sait qu'ils entraînent une inversion des sexes chez les poissons. Les perturbateurs thyroïdiens sont quant à eux ciblés par un test réalisé sur des têtards d'amphibiens dont la métamorphose est impactée lorsqu'ils sont en contact avec ces composés. Plus concrètement, l'pfa des perturbations endocriniennes se fait à l'aide de larves aquatiques modèles : têtards de l'amphibien xénope pour les perturbations thyroïdiennes, et alevins du médaka pour les perturbations œstrogéniques et androgéniques. Ces organismes comportent des modifications génétiques qui leur permettent d'émettre un rayonnement lumineux lorsqu'ils sont en contact avec des molécules qui modifient le fonctionnement des axes hormonaux ciblés. La **Figure 39** illustre

l'augmentation de la fluorescence obtenue lorsqu'un têtard bio-indicateur est en contact avec une eau polluée par des perturbateurs thyroïdiens.

Têtard observé sous lumière blanche



Têtards observés à des longueurs d'ondes spécifiques



Eau « polluée »

Eau témoin

**FIGURE 39. Observation des têtards utilisés comme bio-indicateurs sous lumière blanche et par fluorescence à des longueurs d'ondes spécifiques, mis en contact avec différents types d'eau (polluée et témoin)**

Pour détecter toutes les perturbations possibles, les échantillons sont testés avec et sans co-traitement avec hormone lors de phases dites respectivement « stimulée » et « non stimulée ». Les stades larvaires utilisés ne synthétisent pas encore ces hormones ; c'est pourquoi cette stimulation révèle certains mécanismes d'action de micropolluants qui génèrent des perturbations endocriniennes impossibles à détecter en l'absence d'hormones. Les essais sont menés en laboratoire comme suit : les larves sont exposées à des échantillons en plaques (6 puits) pendant 24 ou 96 heures pour les alevins, et pendant 48 heures pour les têtards. Les larves sont ensuite transférées dans des plaques (96 puits) et la fluorescence est analysée à l'aide d'une imagerie automatisée : une image de chaque larve est capturée sous une illumination spécifique visant à révéler l'éventuelle fluorescence, et un algorithme d'analyse d'images est exécuté afin d'obtenir une quantification de cette dernière. Une analyse statistique est ensuite réalisée afin de comparer les valeurs de fluorescence obtenues pour les échantillons test avec celles de larves témoins exposées à de l'eau Evian.

### 3.2. États physiologiques des modèles biologiques appliqués

Chaque échantillon est testé dans deux états physiologiques : non stimulé et stimulé. Pour l'axe thyroïdien en état non stimulé, les larves sont exposées à l'échantillon ou aux molécules de référence diluées dans le milieu de test pour les groupes témoins. Dans cet état, il devient possible de mesurer une hausse de la fluorescence larvaire induite par les conditions testées ; il s'agit d'une phase pro-thyroïdienne qui active l'axe thyroïdien. Le seuil physiologique de perturbation pro-thyroïdienne (100 % sur l'échelle des perturbations) est représenté par le contrôle positif, qui témoigne de l'activité obtenue avec 3,25 µg/L de l'hormone thyroïdienne T3. Cette concentration correspond à la concentration plasmatique de l'hormone T3 lors de la métamorphose des têtards, qui est une référence physiologique pour les perturbations thyroïdiennes définie dans les lignes directrices du test n° 231 de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE). Lorsque ce niveau d'activité est atteint, il est certain que l'échantillon a un pouvoir de perturbation endocrinienne avec des effets délétères sur la faune. En état stimulé, les larves sont exposées à l'échantillon ou aux molécules de référence (témoins), dilués dans le milieu d'essai auquel on a ajouté 3,25 µg/L d'hormone thyroïdienne T3. Dans cet état, il est possible de mesurer une hausse ou une baisse de la fluorescence larvaire induite par les conditions à tester, indiquant une activité pro-thyroïdienne ou antithyroïdienne, avec activation ou inhibition de l'axe thyroïdien :

- Activité pro-thyroïdienne (100 % sur l'échelle des perturbations) : le seuil de perturbations pro-thyroïdiennes est établi par un témoin positif représentant l'activité de l'hormone thyroïdienne T3 en état stimulé (milieu d'essai auquel on a ajouté l'hormone thyroïdienne T3), exprimant le niveau de fluorescence larvaire après exposition à une dose hormonale qui sature la réponse physiologique ;
- Activité antithyroïdienne (-100 % sur l'échelle des perturbations) : le seuil physiologique de perturbations antithyroïdiennes est établi par un témoin négatif en état non perturbé (milieu d'essai uniquement). Une condition expérimentale qui induit une inhibition de la fluorescence larvaire en état stimulé (milieu d'essai avec ajout d'hormone thyroïdienne T3) révèle une activité antithyroïdienne.

Pour l'axe œstrogénique en état non stimulé, les larves sont exposées soit à l'échantillon, soit aux molécules de référence diluées dans le milieu d'essai pour les groupes témoins. Dans cet état, il est possible de mesurer une hausse de la fluorescence larvaire induite par les conditions testées ; cette activité pro-œstrogénique active l'axe œstrogénique. Le seuil physiologique de perturbation

pro-œstrogénique est représenté par le niveau de fluorescence correspondant à la dose de 64 ng/L d'hormone éthinylestradiol. Cette dose est la plus faible dose capable d'induire un effet physiologique d'après les lignes directrices du test OCDE n° 230 sur le médaka. L'effet physiologique observé à cette concentration est l'apparition d'un intersex dans tout ou partie de la population, qui se reflète par la présence de tissus ovariens dans les testicules des poissons mâles. Lorsque ce niveau d'activité est atteint, il est certain que l'échantillon a un pouvoir de perturbation endocrinienne avec des effets délétères sur la faune. En état stimulé, les larves sont exposées à l'échantillon et aux molécules de référence, dilués dans le milieu d'essai auquel on a ajouté 30 µg/L de testostérone. Dans cet état, il est possible de mesurer une hausse ou une baisse de la fluorescence larvaire induite par les conditions testées, indiquant une activité pro-œstrogénique ou anti-œstrogénique, qui active ou inhibe l'axe œstrogène :

- Activité pro-œstrogénique (100 % sur l'échelle des perturbations): le seuil de perturbations pro-œstrogénique est attesté par un témoin positif représentant l'activité de 64 ng/L d'éthinylestradiol stimulé (milieu d'essai auquel on a ajouté de la testostérone), en donnant le niveau de fluorescence larvaire après exposition à une dose hormonale qui sature la réponse physiologique ;
- Activité anti-œstrogénique (-100 % sur l'échelle des perturbations): le seuil physiologique des perturbations anti-œstrogéniques est indiqué par un témoin négatif d'inhibition par traitement des larves au fadrozole à 10 µg/L en état stimulé (milieu d'essai auquel on a ajouté de la testostérone). L'effet physiologique observé est une modification du ratio gonado-somatique des poissons mâles pendant réalisation du test OCDE (Ankley *et al.*, 2002).

Pour l'axe androgène en état non stimulé, les larves sont exposées soit à l'échantillon, soit aux molécules de référence diluées dans le milieu d'essai pour les groupes témoins. Dans cet état, il est possible de mesurer une hausse de la fluorescence larvaire induite par les conditions testées. Cette activité pro-androgène active l'axe androgène. Le seuil physiologique des perturbations pro-androgènes est représenté par un témoin positif correspondant à l'activité de 5 µg/L de la 17 $\alpha$ -méthyltestostérone. Cette dose d'hormone provoque une baisse de la fécondité et la présence de caractéristiques sexuelles secondaires de sexe mâle chez les femelles (Pawlowski *et al.*, 2004). En état stimulé, les larves sont exposées à l'échantillon ou aux molécules de référence (groupes témoins), dilués dans le milieu d'essai auquel on a ajouté 5 µg/L d'hormone androgène 17 $\alpha$ -méthyltestostérone. Dans cet état, il est possible de mesurer une hausse ou une baisse de la fluorescence larvaire induite par les conditions

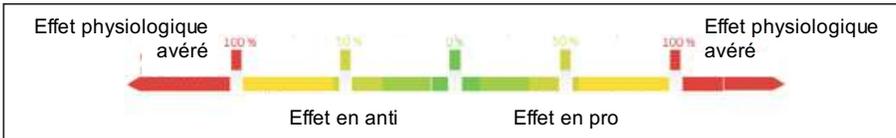
expérimentales, indiquant une activité pro-androgène ou anti-androgène qui active ou inhibe l'axe androgène :

- Activité pro-androgène (100 % sur l'échelle des perturbations) : le seuil de perturbations pro-androgènes est attesté par un témoin positif représentant l'activité de 5 ng/L de 17 $\alpha$ -méthyltestostérone en état stimulé (milieu d'essai auquel on a ajouté de la 17 $\alpha$ -méthyltestostérone), donnant ainsi le niveau de fluorescence larvaire après exposition à une dose hormonale qui sature la réponse physiologique ;
- Activité anti-androgène (-100 % sur l'échelle des perturbations) : le seuil physiologique des perturbations anti-androgènes est indiqué par un témoin négatif dénotant l'activité de 500  $\mu$ g/L de l'inhibiteur flutamide en état stimulé (milieu d'essai auquel on a ajouté de la 17 $\alpha$ -méthyltestostérone). L'effet physiologique induit à une concentration de flutamide de 500  $\mu$ g/L est une absence de nidification due à l'inhibition de la synthèse de la protéine *spiggin* chez les mâles (Sebire et al., 2008), ainsi qu'une importante inhibition, tant chez les mâles que chez les femelles, de la synthèse de cette même protéine normalement induite suite à un traitement pro-androgène (Katsiadaki et al., 2006). La production de la protéine *spiggin* est de fait le critère physiologique utilisé dans les lignes directrices du test OCDE GD 148.

### 3.3. Présentation et interprétation des résultats

Pour établir le niveau de contamination de l'échantillon, la fluorescence larvaire induite par l'échantillon d'eau testé est comparée à celle des témoins négatifs (eau minérale) et positifs (eau dopée aux hormones de référence). Les valeurs de fluorescence obtenues pour les témoins négatifs correspondent à l'activité biologique naturelle normale des organismes vivants et ne concordent pas avec celles constatées lors de perturbations hormonales induites par voie externe. Les valeurs de fluorescence obtenues pour les témoins positifs servent à définir le seuil de perturbation endocrinienne. Dès lors que l'intensité de fluorescence induite par un échantillon excède ce seuil, il est probable qu'une exposition à cet échantillon donne lieu à des effets physiologiques néfastes (**Figure 40**). La concentration de triiodothyronine (hormone thyroïdienne T<sub>3</sub>) présente dans le témoin positif utilisé pour les essais thyroïdiens est de 3,25  $\mu$ g/L. Cette concentration correspond à la charge physiologique relevée dans le plasma de têtards durant leur métamorphose, dans leur état naturel (Leloup & Buscaglia, 1977), et est décrite dans la littérature comme pouvant causer des effets physiologiques néfastes avérés si les têtards y sont exposés à des stades non-métamorphiques,

à savoir une accélération de la métamorphose des *Xenopus* voire une mortalité (Shi *et al.*, 1998). Pour le témoin positif des essais relatifs aux hormones œstrogéniques, la concentration d'éthinylestradiol utilisée est de 64 ng/L, que la littérature décrit comme une concentration pouvant altérer la reproduction des poissons (Seki *et al.*, 2002).



**FIGURE 40. Échelle de lecture des résultats obtenus pour les différents modèles biologiques de perturbation endocrinienne**

Au-delà d'une illustration qualitative des résultats afin de fournir des informations sur la capacité de l'échantillon à induire un effet physiologique néfaste, ces résultats sont également exprimés sous forme quantitative. Dans chaque expérience, en plus des larves exposées aux échantillons, d'autres sont exposées à différentes concentrations de l'hormone de référence pour générer une courbe étalon permettant de relier la fluorescence obtenue avec la concentration hormonale. À partir de cette courbe étalon, les valeurs de fluorescence enregistrées suite aux tests des échantillons peuvent être converties en équivalents hormonaux et permettre ainsi d'établir la concentration hormonale qui induirait la même variation de fluorescence que l'échantillon. L'utilisation de ces équivalents hormonaux permet de comparer les résultats obtenus pour les échantillons testés dans le cadre de différentes expériences.



# Chapitre 2

## Application des modèles biologiques pour l'évaluation de l'innocuité environnementale de la désinfection

---



© SIAAP

## 1. INTRODUCTION

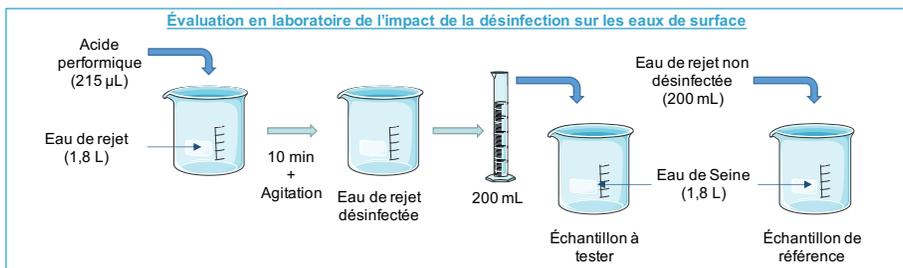
Afin d'évaluer l'innocuité environnementale de l'acide performique (PFA) vis-à-vis de la Seine, Une étude sur deux ans a été menée. Les tests ont été conduits à la fois en laboratoire et en conditions de pilote industriel pour évaluer l'innocuité du traitement à chaque échelle. Les résultats de ces tests et leur signification sont présentés dans ce chapitre.

## 2. TESTS D'INNOCUITÉ EN LABORATOIRE

### 2.1. Description de l'approche expérimentale

Les tests de toxicité du PFA ont été réalisés sur des échantillons ponctuels de rejets de l'usine d'épuration Seine Valenton du SIAAP (SEV, 2,6 millions EH) et des eaux de Seine-Choisy, en aval de l'usine SEV. Afin d'évaluer l'impact des rejets désinfectés au PFA provenant de SEV sur le milieu naturel dans cette configuration, deux points clés ont été identifiés et pris en compte.

Le premier concerne la préparation des échantillons à tester : il s'agit de reconstituer un échantillon représentatif du milieu naturel situé dans les alentours immédiats des rejets de l'usine (**Figure 41**).



**FIGURE 41. Protocole expérimental d'évaluation de l'innocuité des eaux usées désinfectées une fois rejetées en Seine**

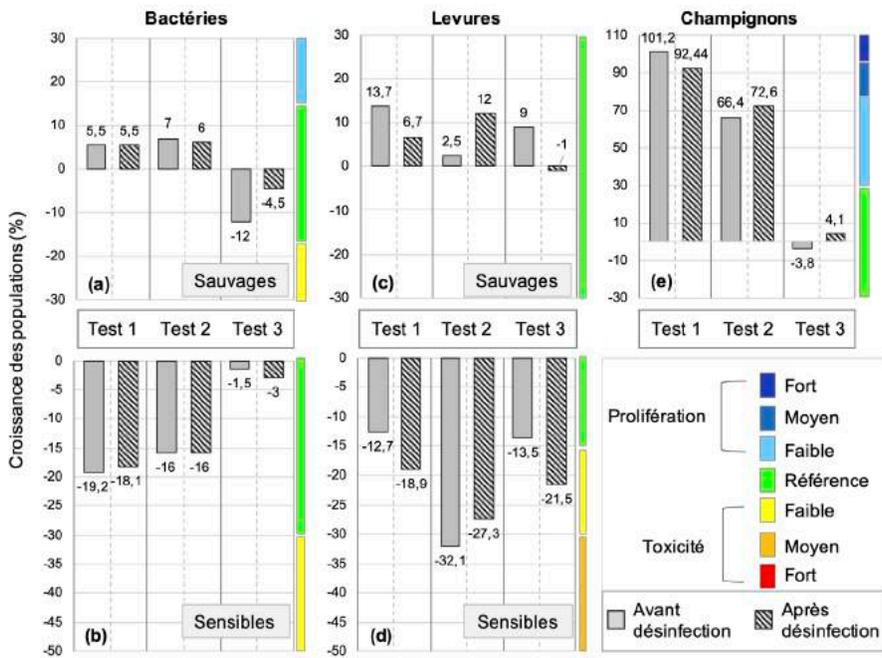
À cette fin, des conditions « défavorables » ont été adoptées, correspondant à une proportion de 10 % par volume d'eaux rejetées dans les eaux de la Seine. Cette proportion a été calculée à partir d'un débit de rejet estival élevé (90<sup>ème</sup> centile de la période 2016-2017) couplé à un faible débit de la Seine en amont de l'usine SEV (10<sup>ème</sup> centile de la période estivale 2016-2017). Pour la désinfection des eaux rejetées, une forte concentration de 2 ppm de PFA a été utilisée. Deux types d'échantillons ont été obtenus : des eaux de la Seine mélangées à des eaux de rejet, et des eaux de la Seine mélangées à des eaux de rejet désinfectées. Dans

ce dernier cas, les eaux de rejet ont bien entendu été désinfectées séparément avant leur mélange avec les eaux de la Seine.

Le second point clé concerne l'instabilité du désinfectant PFA. Il a été décidé de préparer le désinfectant extemporanément, juste avant la conduite des différents essais biologiques.

## 2.2. Estimation de la toxicité générale

Les résultats des mesures de toxicité générale pour les modèles bactériens, de levures et fongiques lors des trois essais en laboratoire sont illustrés **Figure 42**. Ces tests biologiques ont été menés sur les deux types d'échantillons décrits dans le paragraphe précédent : des échantillons d'eaux de la Seine comportant des eaux de rejet (« échantillons sans désinfection » **Figure 42**) et des échantillons d'eaux de la Seine comportant les mêmes eaux rejetées préalablement désinfectées avec 2 ppm de PFA (« échantillons avec désinfection »).



**FIGURE 42. Résultats à l'échelle laboratoire des tests de toxicité générale [effet sur la croissance des populations (%)] des eaux usées traitées avec et sans désinfection à l'acide performique mélangées aux eaux de Seine**

Les niveaux de prolifération ou les effets de toxicité obtenus sont illustrés par un code couleur : le vert signifie une absence d'effet significatif, la progression du jaune au rouge dénote des effets toxiques avérés plus ou moins marqués ; les nuances de bleu sont quant à elles associées à des effets prolifératifs plus ou moins importants. Les résultats sont exprimés en pourcentage de prolifération de la population, correspondant au ratio d'accélération du développement entre les conditions sans stress et les conditions test. Dans le reste de cette partie, chaque essai sera abordé séparément avant de conclure sur la toxicité globale.

Les résultats obtenus à partir des échantillons testés en laboratoire montrent une absence de toxicité générale vis-à-vis des modèles bactériens pour les échantillons contenant des eaux rejetées avant ou après désinfection (**Figure 42a et b**). Les deux modèles testés (souches sauvages et sensibles) affichent une croissance des populations variant respectivement entre -12 et 7% et entre -1,5 et 19,2%. Comme indiqué dans la **Figure 42a**, ces valeurs ne diffèrent pas de celles de référence (couleur verte). Les bactéries ne semblent pas être impactées par les échantillons testés, même dans le cas du modèle sensible dépourvu de systèmes de défense cellulaire. Dans ces conditions, la présence d'eaux rejetées désinfectées avec une concentration extrême (2 ppm de PFA) n'est pas toxique pour le modèle bactérien.

En ce qui concerne le modèle de levures, les résultats obtenus à partir des échantillons testés en laboratoire affichent une absence de toxicité générale pour la souche de type sauvage (**Figure 42c et d**). Les valeurs d'écart de croissance par rapport au témoin, qui se situent entre -1 et 13,7%, dénotent une similarité avec l'état de référence. En revanche, pour le modèle sensible, un léger effet toxique des échantillons test est mis en évidence : pour cette souche, un écart de croissance de -12,7 à -32,1% par rapport au témoin est obtenu pour les échantillons comportant des eaux rejetées non désinfectées. Ces valeurs correspondent à un effet nul pour deux des trois itérations du test, mais la valeur de l'impact le plus élevé (-32,1%) classe ce dernier dans la catégorie des effets modérés mais significatifs. Il y a donc là un effet des eaux rejetées en l'état. En contraste, sur les échantillons comportant des eaux rejetées désinfectées, des effets toxiques sont indiqués par une réduction de la croissance comprise entre -18,9 et -27,3% par rapport au témoin. Même si la différence est minime, la désinfection semble ici réduire l'impact toxique du réplicat associé à une toxicité basale des eaux rejetées. Quoi qu'il en soit, les effets toxiques constatés n'apparaissent que sur le modèle sensible et demeurent somme toute modérés. C'est pourquoi sur l'échelle d'impacts, ces effets sont notés comme « faibles mais significatifs » d'après le code de classification. Les levures sans systèmes de défense semblent systématiquement impactées par la présence d'eaux rejetées désinfectées si on

les compare aux mêmes échantillons sans désinfection préalable. La présence d'eaux rejetées désinfectées à une concentration extrême (2 ppm de PFA) n'a *in fine* aucun effet sur le modèle de levures de type sauvage, mais exerce tout de même un impact faible statistiquement significatif sur le modèle sensible.

Les résultats obtenus sur les échantillons testés en laboratoire démontrent une légère prolifération de la population de cellules au sein du modèle fongique (**Figure 42e**). Sur ce point, les échantillons comportant des eaux rejetées préalablement désinfectées ne semblent pas différer par rapport aux échantillons comportant des eaux rejetées avant désinfection. Les valeurs se situent entre -3,8 et 101,2 % pour les échantillons d'eaux rejetées avant désinfection, et entre 4,1 et 92,44 % pour les échantillons comportant des eaux rejetées désinfectées. Ces valeurs indiquent la présence d'effets de prolifération modérés à importants, susceptibles de refléter la présence de matières organiques nutritives dans le milieu, vraisemblablement couplée à une absence de stressseurs spécifiques de la physiologie des champignons du test. Ces effets s'observent sur les deux types d'échantillons qu'il y ait présence ou non de désinfectant. La présence d'eaux rejetées désinfectées à une concentration élevée (2 ppm de PFA) ne semble pas altérer la propension à induire une prolifération de cellules, comme observé sur les échantillons d'eaux de la Seine comportant des eaux rejetées avant désinfection. Les effets observés sont attribuables à une combinaison de facteurs favorisant la multiplication des cellules fongiques.

### 2.3. Estimation de la perturbation endocrinienne

Pour tous les échantillons, les résultats obtenus au terme des trois campagnes indiquent l'absence d'effets sur l'axe thyroïdien, que ce soit en présence d'effluents désinfectés ou non (non représenté ici).

Une évaluation des perturbations œstrogéniques des trois échantillons testés est présentée **Figure 43**.



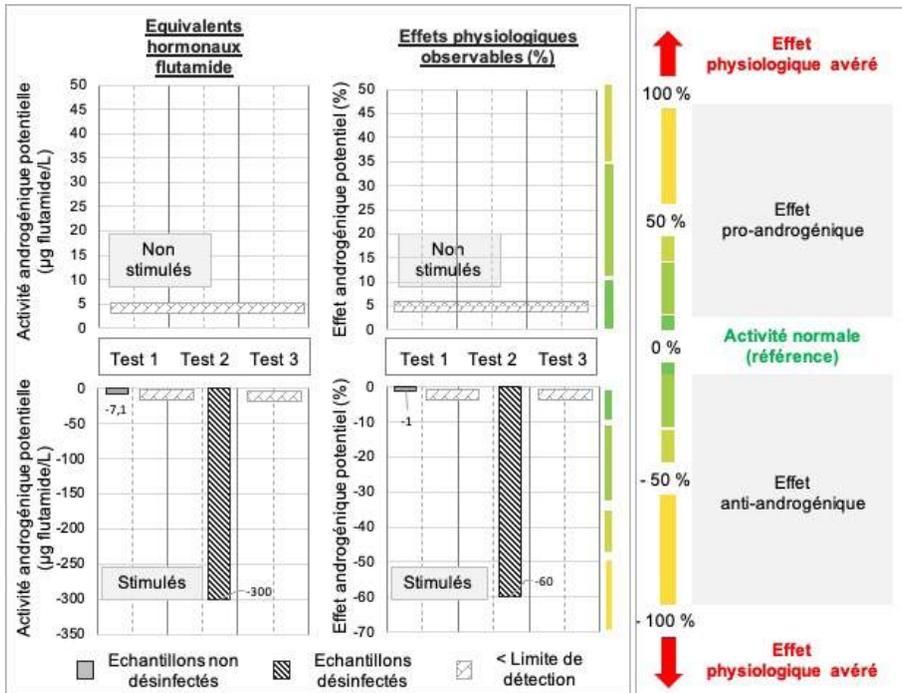
à partir de testostérone ; elle contrôle ainsi l'équilibre délicat entre les œstrogènes et la testostérone dans l'organisme et contribue ainsi à la définition des caractères sexuels des individus. La perturbation de l'aromatase est l'un des critères de perturbation œstrogénique définis par l'OCDE (lignes directrices des tests OCDE 229 et 230). Le mode stimulé permet dans ce cadre de détecter les composés qui altèrent la fonction de l'aromatase (inhibition de sa synthèse protéique, activation ou inhibition enzymatique) et les antagonistes des récepteurs nucléaires spécifiques. Les résultats sont exprimés en équivalents hormonaux d'éthinylestradiol (EE2/L). Ce calcul indique quelle concentration de l'hormone éthinylestradiol correspond au potentiel hormonal d'un échantillon testé. Pour compléter cette analyse, une étude de la relation dose-réponse de l'éthinylestradiol est réalisée parallèlement à l'essai afin de modéliser une courbe étalon. La valeur de fluorescence obtenue pour l'échantillon est alors représentée sur cette courbe, puis convertie en équivalent d'éthinylestradiol. Sur l'échelle des perturbations, 0 % correspond à l'absence totale d'activité endocrinienne et 100 % à une activité endocrinienne atteignant le seuil physiologique.

Ces résultats ont montré une absence d'activité œstrogénique détectable en mode non stimulé sur l'ensemble des trois essais et quelles que soient les conditions : les échantillons d'eaux de Seine comportant des eaux de rejet non désinfectées n'activent pas l'axe œstrogénique, et ajouter des eaux de rejet désinfectées est aussi sans effet. En revanche, en mode stimulé avec activation préalable de l'axe œstrogénique, un potentiel anti-œstrogénique peut être mis en évidence. Pour ce mode, les eaux de la Seine comportant des eaux rejetées non désinfectées présentent un potentiel (anti-)œstrogénique correspondant à -34, -46 et -86 ng EE2/L sur les trois essais, ce qui représente respectivement 39, 38 et 72 % du seuil d'inhibition physiologique de l'axe œstrogénique. Ces résultats, bien que quantifiables (notamment en regard des conditions témoins), restent néanmoins en-dessous des niveaux connus pour produire un effet néfaste sur le développement des organismes aquatiques étudiés. Concernant les échantillons des eaux de la Seine auxquels a été ajouté des eaux rejetées désinfectées, aucun effet sur l'axe œstrogénique n'a été détecté en mode stimulé sur les deux premiers essais, avec toutefois un effet de -62 ng EE2/L détecté lors du troisième essai. Les trois occurrences de ce test présentent des différences notables : pour les deux premiers essais, on observe une disparition quasi-totale de l'effet anti-œstrogénique après l'ajout d'eaux rejetées désinfectées. Cela signifie que les espèces restantes après action du désinfectant ne présentent plus d'activités œstrogéniques notables en regard des trois niveaux où elles peuvent s'exprimer (conversion hormonale, expression protéique ou réponse des récepteurs). Pour le troisième essai en revanche, une activité anti-œstrogénique résiduelle

reste détectable, mais passe de -86 à -62 ng EE2/L avec la désinfection, ce qui correspond à une diminution des réponses physiologiques de 20 points (72 % à 52 %) entre les deux échantillons. Cette campagne invite à supposer la rémanence de molécules présentant une activité hormonale, en contraste avec les deux précédentes.

Dans l'ensemble, la présence d'eaux rejetées désinfectées à une forte concentration de 2 ppm de PFA, qui plus est dans un contexte de simulation de conditions hydrologiques défavorables (proportion élevée d'eaux rejetées désinfectées dans l'environnement naturel), n'a quoi qu'il en soit aucun impact significatif sur l'axe œstrogénique. Les valeurs quantifiées en laboratoire n'excèdent jamais les seuils des effets physiologiques, et un effet potentiel de limitation anti-œstrogénique a même été identifié en présence d'eaux rejetées désinfectées.

Une évaluation des perturbations androgènes sur les trois échantillons testés est présentée **Figure 44**.



**FIGURE 44.** Résultats à l'échelle laboratoire des tests de perturbation androgénique [en équivalents hormonaux de flutamide (µg flutamide/L) et en effets physiologiques observables (%)] des eaux usées traitées avant et après désinfection à l'acide performique mélangées aux eaux de Seine

Les résultats sont calculés par comparaison de l'échantillon au seuil physiologique pour les deux états physiologiques non stimulé et stimulé. Cette comparaison est exprimée en équivalents hormonaux de flutamide ( $\mu\text{g}$  flutamide/L) et en pourcentage du seuil des effets physiologiques. Ces seuils correspondent à une dose d'hormone reconnue comme perturbant le système endocrinien ou des concentrations de molécules de référence induisant un effet néfaste avéré sur l'organisme.

Il est à noter qu'en mode stimulé, un co-traitement avec 5 ng/L de l'hormone pro-androgène 17 $\alpha$ -Méthyltestostérone (17MT) est appliqué à l'échantillon testé (témoin positif d'activation en état stimulé). Ce seuil est choisi en ce qu'il correspond à des concentrations masculinisantes induisant une baisse de la fécondité couplée à la présence de caractéristiques sexuelles secondaires mâles chez les médakas femelles (Pawlowski *et al.*, 2004). Un traitement comprenant 500  $\mu\text{g}$ /L de l'hormone anti-androgène flutamide (en plus de 17MT) est ensuite ajouté, qui permet de définir un seuil correspondant à l'extinction du signal pro-androgène, au-delà duquel une perturbation anti-androgène peut être identifiée. Ce seuil induit une absence de production de nids due à une inhibition totale de la synthèse protéique de *spiggin* chez les épinoches mâles (Sebire *et al.*, 2008), ainsi qu'à une inhibition significative de la synthèse protéique de *spiggin* induite tant chez les femelles que les mâles suite à un traitement pro-androgène (Katsiadaki *et al.*, 2006). Cette concentration de flutamide entraîne également une chute de la fécondité des poissons et des altérations histologiques des ovaires et des testicules (Jensen *et al.*, 2004). Les résultats sont alors exprimés en équivalents hormonaux de 17MT ou de flutamide. Ce calcul indique à quelle concentration de flutamide anti-androgène correspond l'éventuel potentiel hormonal dans l'échantillon. Pour compléter cette analyse, une étude de la relation dose-réponse du flutamide est réalisée parallèlement à l'essai afin de modéliser une courbe étalon. La valeur de fluorescence obtenue pour l'échantillon est ensuite représentée sur cette courbe, puis convertie en équivalent hormonal. Sur l'échelle des perturbations, 0 % correspond à l'absence totale d'activité endocrinienne et 100 % à une activité endocrinienne atteignant le seuil physiologique.

Ces résultats nous permettent de mettre en évidence une absence d'activité androgène en mode non stimulé sur les trois essais : ni les échantillons d'eaux de la Seine comportant des eaux rejetées non désinfectées, ni ceux comportant des eaux rejetées désinfectées ne semblent activer l'axe androgène. En revanche, en mode stimulé via une activation préalable de l'axe androgène, un potentiel effet anti-androgène est détecté sur deux des trois échantillons. La première occurrence, très peu marquée, concerne des eaux de Seine auxquelles

a été ajouté des eaux rejetées désinfectées et correspond à un potentiel de 7,1 µg flutamide/L, c'est-à-dire un seuil d'effets physiologiques de 1%, sans perturbation en présence des eaux rejetées non désinfectées. La proximité des valeurs obtenues pour ces perturbations par rapport aux limites de détection reste ainsi à nuancer en regard de l'absence d'effet anti-androgène dans les autres conditions de ce test. Toutefois, une seconde occurrence de détection bien plus importante a porté à nouveau sur des échantillons d'eaux de Seine adjoints d'eaux rejetées désinfectées pour lesquels un potentiel anti-androgène de 300 µg flutamide/L (niveau de réponse physiologique de 60 %) ont été atteints. En revanche, sur le troisième essai, aucune perturbation n'a été identifiée. Dans l'ensemble, si sur les trois essais aucune activité pro-androgène n'a pu être identifiée en mode non stimulé, en mode stimulé, trois comportements distincts ont été observés pour les échantillons contenant des eaux rejetées désinfectées : une absence totale d'effet, la possible disparition d'un effet existant et enfin l'enregistrement d'une occurrence d'effet marqué. À la lumière de ces comportements peu congruents, aucune tendance systématique ne peut être mise en lumière concernant une éventuelle perturbation anti-androgène due à la présence du désinfectant. Les différences entre les réponses plus ou moins intenses semblent dépendre de la nature vraisemblablement évolutive des molécules présentes au sein du milieu. Certaines molécules auront ainsi tendance à interagir de manière positive, négative ou inerte vis-à-vis des eaux rejetées désinfectées (ou des SPD) par rapport à l'axe androgène. Dans tous les cas, malgré une concentration extrême de 2 ppm de PFA appliquée aux eaux rejetées désinfectées, les valeurs quantifiées dans ces conditions contrôlées en laboratoire n'ont jamais dépassé les seuils d'effets physiologiques.

### 3. TESTS D'INNOCUITÉ À L'ÉCHELLE INDUSTRIELLE

La toxicité globale et les perturbations endocriniennes ont été mesurées sur des échantillons prélevés directement en amont et aval du rejet en Seine de l'usine d'épuration, afin d'évaluer l'impact des rejets sur le fleuve avec et sans injection de PFA. À noter que selon les conditions météorologiques, des épisodes isolés de déversements ou débordements des réseaux peuvent survenir entre ces deux points, impactant la qualité de l'eau. Se référer à la section dédiée à l'échantillonnage (**Partie 2 – Chapitre 1**) pour plus d'informations.

### 3.1. Estimation de la toxicité générale en Seine

Le suivi de la toxicité générale de la Seine réalisé dans le cadre des essais à l'échelle industrielle consistait en des essais sur les bactéries, levures et champignons réalisés en amont et aval du rejet de l'usine SEV. Durant ces essais, des périodes sans désinfection chimique ont également été suivies afin d'établir les données de base (avant le début des essais) et d'évaluer toutes perturbations potentielles de systèmes aquatiques lors de la période post-désinfection. Les résultats obtenus en matière de toxicité globale lors de la phase de suivi sur 10 semaines (de la semaine 35 à la semaine 44) sont illustrés **Figure 45**.

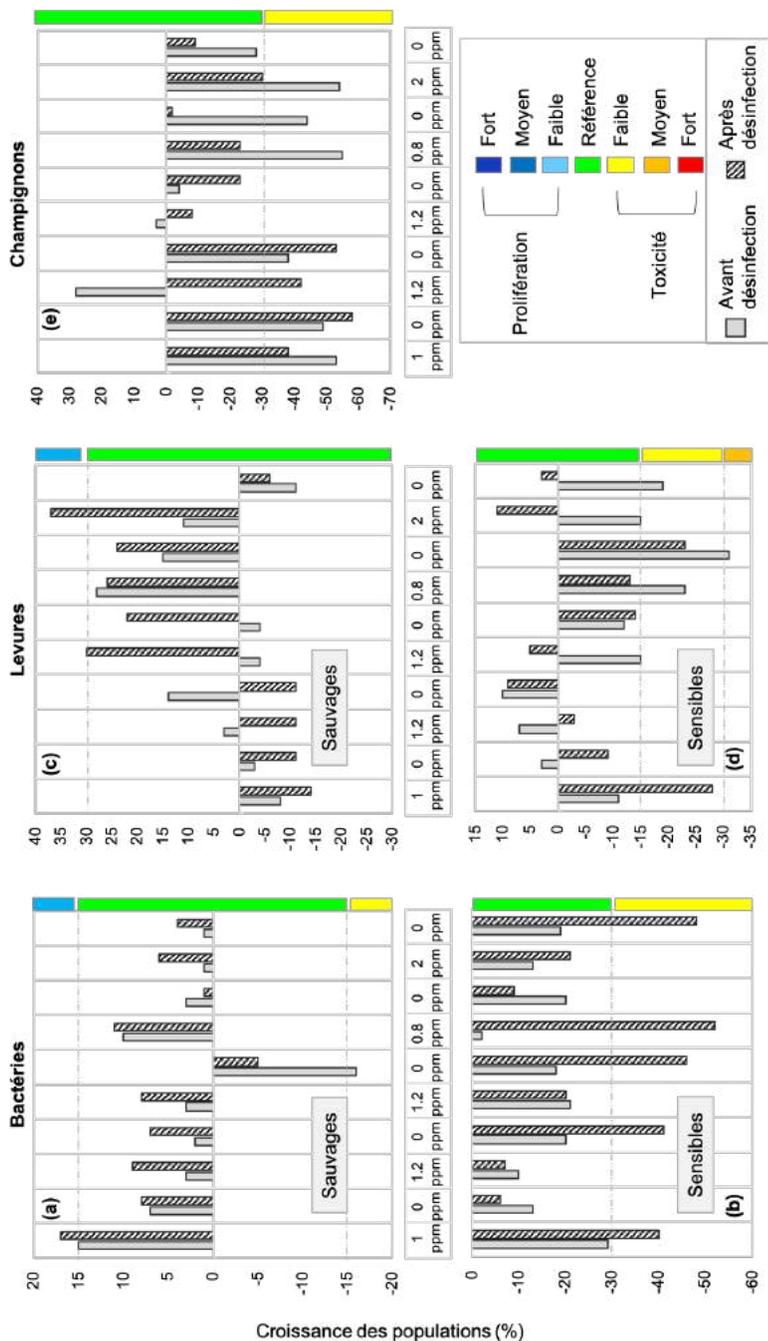


FIGURE 45. Résultats à l'échelle industrielle des tests de toxicité générale [effet sur la croissance des populations (%)] des eaux usées traitées avant et après désinfection à l'acide performique à différentes concentrations en Seine

Comme décrit précédemment, pour les essais sur les bactéries et levures, deux variants ont été mobilisés : une souche sensible dépourvue de certains mécanismes de défense, et une souche de type sauvage sans ces déficiences. Les résultats sont exprimés en pourcentage de prolifération de la population, ce qui correspond au ratio du décompte cellulaire comparant les conditions de contrôle sans stress et les conditions de test. Un code couleurs indiquant le niveau de toxicité obtenu est fourni pour représenter le niveau des effets toxiques (allant de vert à rouge), ou d'éventuels effets prolifératifs en nuances de bleu.

Les résultats obtenus dans la Seine lors des essais de désinfection indiquent une absence de toxicité globale pour le modèle bactérien de type sauvage, avec une absence de réponse des bactéries sauvages dans près de 90 % des cas, que ce soit en amont ou en aval de l'usine SEV. Les valeurs donnent une croissance comprise entre -16 et 15 % pour les eaux en amont de SEV, et entre -5 et +17 % en aval (**Figure 45a**), ce qui est dans l'ensemble similaire à la situation de référence. Un effet de faible ampleur mais statistiquement significatif a toutefois été observé en aval de SEV lors de la première saison, avec un impact légèrement plus prononcé qu'en amont. Ces effets sont probablement dus aux conditions pluvieuses de la journée concernée. Par ailleurs, un autre effet faible mais significatif a été observé en amont de SEV sans qu'on ne le retrouve en aval. S'agissant du modèle bactérien sensible, aucun effet significatif n'a été observé dans la Seine en amont de SEV. En revanche, en aval, un effet faible mais significatif a été détecté dans la moitié des cas (**Figure 45b**). Ces faibles effets, consistant en une modulation comprise entre -2 et -29 % de la croissance en amont de SEV, et entre -6 et -52 % en aval de SEV, ne coïncident toutefois pas avec une quelconque période de désinfection. On peut à ce propos constater que le reste du temps (50 % de la fréquence de survenue), aucun effet significatif n'a été détecté entre les points en amont et en aval de SEV.

Il est important de noter que les effets toxiques observés restent modérés et correspondent systématiquement à des épisodes pluvieux plutôt qu'à des périodes de fonctionnement de la désinfection. Les dégradations bien connues de qualité associées à ces contextes sont dues à des apports d'effluents causant vraisemblablement un stress physiologique chez la souche sensible. Ces résultats correspondent parfaitement aux résultats obtenus en laboratoire (aucun effet toxique de la désinfection chimique n'a été révélé sur les deux modèles sauvages et sensibles), et auraient plutôt tendance à confirmer la piste des apports d'effluents externes (déversoir d'orage, lessivage des sols, etc.) ou un changement dans la matrice d'eaux rejetées avant désinfection, tels que l'ont observé Ragazzo *et al.*, 2017.

Pour les levures de type sauvage, les résultats obtenus dans les eaux de la Seine lors des essais de désinfection n'affichaient systématiquement aucune toxicité globale ni en amont ni en aval de l'usine SEV. Les valeurs étaient comprises entre -3 et +28 % de modulation de croissance en amont de l'usine SEV, et entre -6 et +37 % en aval (**Figure 45c**); ces valeurs sont globalement similaires aux valeurs de référence, sauf pour deux points (39 et 43). Pour ces derniers, un effet stimulant la prolifération, faible mais significatif, a été observé dans les eaux de la Seine en aval de SEV, ce qui indique la présence probable de matières organiques favorisant le développement de levures. En ce qui concerne le modèle de levures sensible, une absence significative d'effet a été observée dans les eaux de la Seine en amont de SEV dans 70 % du temps, contre 80 % du temps en aval (**Figure 45d**). Ces valeurs se situaient entre -31 % et +3 % de modulation de croissance en amont de SEV, et entre -28 et +11 % en aval. Dans l'ensemble, sur les dix campagnes de suivi, une seule a révélé une pression accrue en aval de SEV par rapport aux eaux en amont. Cette journée s'est avérée marquée par des précipitations particulièrement importantes, ce qui contribuerait là encore à expliquer cette différence. Les résultats observés lors des essais à l'échelle industrielle concordent à nouveau avec ceux des essais en laboratoire sur la souche de type sauvage (échantillons reconstitués à partir d'eaux de la Seine auxquelles a été ajoutée des eaux rejetées désinfectées avec 2 ppm de PFA), pour laquelle une absence d'effet de désinfection a été relevée. Pour la souche sensible, on a observé une absence d'effets à l'échelle industrielle, ce qui contraste avec les essais en laboratoire, qui ont révélé un effet léger mais systématique suite à l'étape de désinfection. Cette différence de réponse pourrait être attribuée aux conditions intentionnellement défavorables des essais en laboratoire, caractérisées par une plus grande proportion d'eaux rejetées désinfectées dans le volume réactionnel.

Enfin, les résultats obtenus dans les eaux de la Seine lors des essais de désinfection n'affichent aucune toxicité globale dans le modèle fongique dans 60 % du temps en aval de SEV contre 40 % du temps en amont. Ces valeurs se situaient entre -55 et +3 % de modulation de croissance en amont de SEV, et entre -58 et -2 % en aval (**Figure 45e**). Les cas attestant la présence d'impact sont systématiquement faibles mais significatifs et semblent d'ailleurs plus fréquents en amont qu'en aval de SEV. À l'exception de la semaine 37, pour laquelle on observe un impact en aval de SEV mais non en amont, les effets minimaux observés en aval de SEV étaient globalement identiques à ceux relevés en amont. Dans les autres cas, on a soit relevé aucun effet entre les eaux en amont et en aval, soit paradoxalement une légère amélioration par rapport aux eaux en amont. Les effets observés, bien que limités, sont associés non pas aux périodes de désinfection,

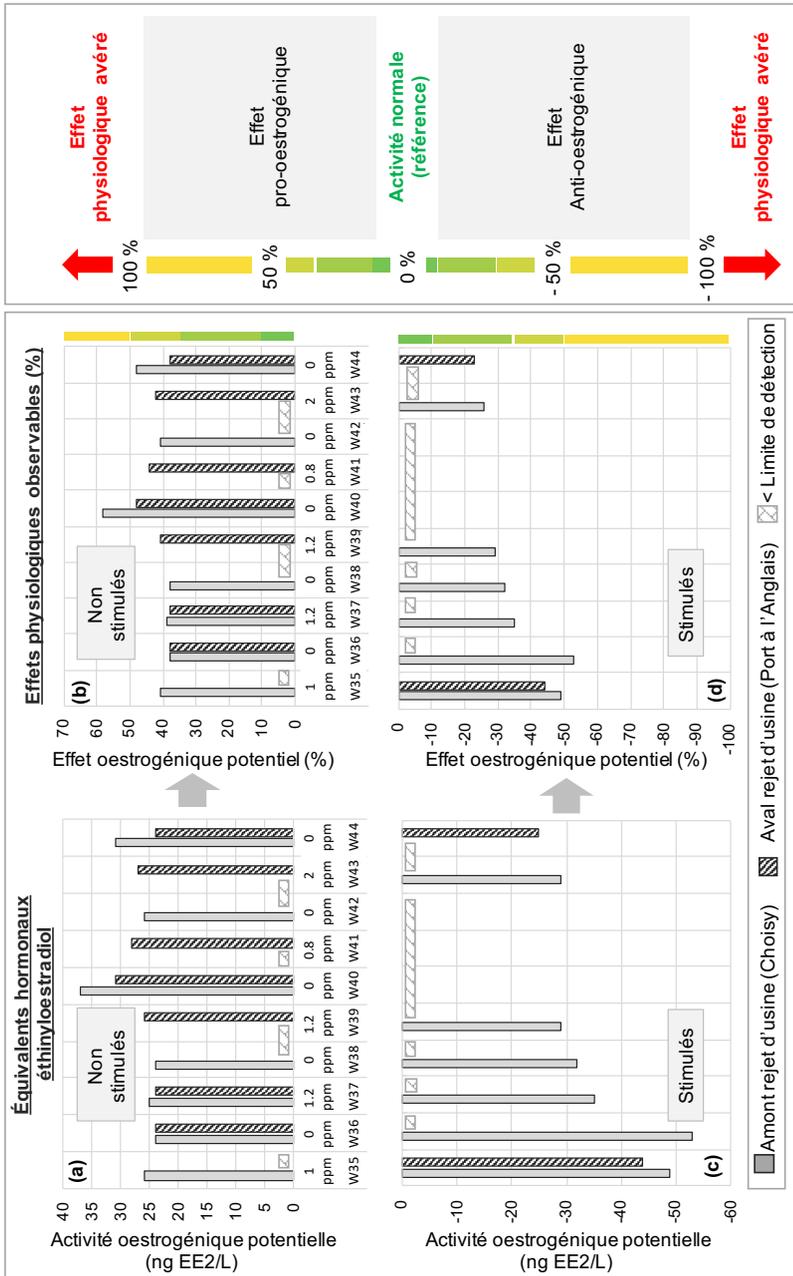
mais plutôt aux variations plus globales de la qualité des eaux de la Seine et/ou des eaux rejetées par SEV. Ce constat est encore plus assuré si l'on tient compte des différents épisodes de précipitations lors des essais à l'échelle industrielle. La seule différence significative entre les essais industriels et en laboratoire porte donc sur ces valeurs modérées de toxicité dans le milieu naturel et à une moindre fréquence de phénomènes de prolifération. L'observation d'activations de la prolifération en laboratoire serait due selon toute vraisemblance aux conditions mieux contrôlées des essais en laboratoire, permettant une élimination plus efficace des intrants externes influant sur la réponse des essais biologiques, notamment lors de temps de pluie en environnement réel.

### 3.2. Estimation de la perturbation endocrinienne en Seine

L'étude des perturbations endocriniennes dans les eaux de la Seine menée dans le cadre des essais à l'échelle industrielle a été axée sur les perturbations thyroïdiennes et œstrogéniques des émissaires de l'usine SEV.

La première chose à noter est l'absence de perturbation thyroïdienne dans la Seine sur toute la période d'étude. La désinfection chimique appliquée lors de cette période ne semble en effet pas avoir causé de perturbations thyroïdiennes au niveau de l'environnement naturel, que ce soit en amont ou en aval de SEV. Ces observations concordent parfaitement avec les résultats obtenus en laboratoire sur les eaux de la Seine mélangées à des eaux de rejets de SEV désinfectées avec 2 ppm de PFA : sur les trois essais réalisés, aucune perturbation n'a été quantifiée. Ces résultats concordent d'ailleurs avec les études menées sur des eaux rejetées par la même usine, dans lesquelles les auteurs n'ont relevé aucune perturbation thyroïdienne (Du Pasquier *et al.*, 2018). D'après une étude réalisée dans le cadre du programme MeSeine, parmi les 13 campagnes d'échantillonnage menées entre 2016 et 2017, les effets relevés se situaient entre 11 et 56 % en modes non stimulé et stimulé, avec aucun effet détecté lors de la période estivale (données non publiées).

Les résultats relatifs aux perturbations œstrogéniques obtenus sur les 10 semaines de suivi (de la semaine 35 à 44) sont présentés **Figure 46**. Comme décrit précédemment, deux états physiologiques du modèle biologique ont été implémentés : le mode non stimulé (**Figure 46a** et **b**) et le mode stimulé (**Figure 46c** et **d**). Pour chaque état physiologique, les résultats sont exprimés en équivalents hormonaux. Un code couleurs correspondant au niveau de perturbation accompagne les résultats, qui sont exprimés en pourcentage d'un seuil physiologique.



**FIGURE 46. Résultats à l'échelle industrielle des tests de perturbation oestrogénique [en équivalents hormonaux éthinyloestradiol (EE2/L) et en effets physiologiques observables (%)] des eaux usées traitées avant et après désinfection à l'acide performique une fois rejetées en Seine**

Pour les perturbations œstrogéniques, des effets ont été détectés de manière régulière tout au long de la campagne d'essais à l'échelle industrielle (**Figure 46**). En mode non stimulé, qui consiste à mettre directement l'échantillon en contact avec le modèle biologique, les eaux de la Seine en amont de SEV présentaient déjà la plupart du temps une activité œstrogénique basale, se traduisant par des relevés en aval de SEV de fréquence similaire. L'activité œstrogénique détectée dans la Seine était comprise entre 24 et 37 ng EE2/L en amont de SEV et entre 24 et 31 ng EE2/L en aval (**Figure 46a**). Ces effets demeurent somme toute faibles, puisqu'ils atteignent entre 38 et 58 % au plus du seuil physiologique (**Figure 46b**) d'apparition d'effets néfastes sur ces organismes. Dans l'ensemble, cette similarité des mesures entre amont et aval de SEV est tributaire de l'incertitude de mesure, et les résultats obtenus sont équivalents sur le plan statistique (test de Mann-Whitney,  $\alpha = 0,05$ , valeur  $p = 0,908$ ). Lors des essais à l'échelle industrielle, l'absence de perturbations œstrogéniques au sein du milieu récepteur en mode non stimulé concorde ainsi avec les résultats obtenus en laboratoire, qui indiquaient eux aussi une absence d'effet avant et après désinfection.

En mode stimulé, c'est-à-dire après ajout d'une hormone activant l'axe œstrogénique dans l'échantillon à tester, un potentiel anti-œstrogénique a été détecté 60 % du temps dans les eaux en amont de l'usine SEV, contre 20 % du temps en aval. Lorsque cette activité était détectée dans la Seine, elle correspondait à une plage de -29 à -53 ng EE2/L pour les eaux en amont de SEV, et à une plage de -48 à -25 ng EE2/L en aval (**Figure 46c**). Les effets détectés demeurent faibles dans l'ensemble, se situant entre 23 et 53 % du niveau physiologique d'inhibition de l'axe œstrogénique (**Figure 46d**). Contrairement au mode non stimulé, les résultats observés entre les eaux en amont et en aval de SEV sont significativement différents sur le plan statistique (test de Mann-Whitney,  $\alpha = 0,05$ , valeur  $p = 0,066$ ), ce qui indique un effet dû aux eaux rejetées par SEV. Cet effet n'est pas nécessairement problématique : sur les 10 semaines de suivi des eaux entre l'amont et l'aval de SEV, l'effet anti-œstrogénique disparaît même 50 % du temps. Pour le reste, on constate une absence d'effet (30 % du temps) ou plus ponctuellement une réduction de l'effet (10 % du temps) voire l'apparition d'un effet (10 % du temps restant). Ces tendances irrégulières ne semblent pas coïncider avec les taux de PFA appliqués, ni même avec les périodes de désinfection chimique, mais présentent plutôt une corrélation avec la qualité de base des matrices (rejets SEV et/ou Seine). Ces observations concordent *in fine* avec les résultats obtenus en laboratoire : sur les trois essais menés en laboratoire, l'effet anti-œstrogénique avait disparu au sein de deux des essais, et s'était affaibli tout en restant détectable dans le troisième.

En somme, lors des essais de désinfection à l'échelle industrielle les eaux de la Seine en aval du point d'évacuation ont affiché de faibles niveaux de perturbation endocrinienne, équivalents voire minimisés ou même annulés par rapport aux niveaux relevés en amont. Ce constat, globalement positif, atteste d'un mélange moléculaire qui n'induit plus, ou moins, d'effets endocriniens sur les organismes, que ce soit via un effet d'annulation résultant de compensations pro et anti-œstrogéniques, ou via une inhibition potentielle d'un processus de conversion hormonale ou au niveau du récepteur. En absence d'investigations ciblées et relativement lourdes, le mécanisme d'action exact est généralement difficile à identifier de manière précise pour les perturbateurs endocriniens, puisque ceux-ci peuvent mener différentes actions simultanément (Du Pasquier *et al.*, 2015 ; Mengeot *et al.*, 2016), d'où l'importance de combiner plusieurs essais biologiques. Cette conclusion est en ligne avec des estimations préalables de potentiel de perturbations endocriniennes des eaux rejetées, d'après les travaux de Du Pasquier *et al.* (2018), établies à des niveaux nuls ou négligeables.

## Points clés

Les résultats obtenus grâce aux échantillons testés en laboratoire indiquent :

- L'absence de toxicité globale vis-à-vis des modèles bactériens.
- L'absence d'effets sur le modèle de levures de type sauvage et un impact statistiquement significatif mais faible sur le modèle sensible.
- Aucune altération de la prolifération des cellules de champignons.
- Aucun effet sur l'axe thyroïdien dans l'ensemble des campagnes d'échantillonnage.
- Aucun impact significatif sur l'axe œstrogénique, voire même une potentielle limitation des effets pro-œstrogéniques ou anti-œstrogéniques identifiée en présence d'eaux rejetées désinfectées.
- Aucune activité androgène significative, que ce soit en mode non stimulé ou stimulé, avec toutefois trois tendances distinctes pour les mesures réalisées : lorsqu'il n'y a pas absence totale d'effet, amplitude ou fréquences de détection sont diminuées pour l'échantillon comportant des eaux rejetées désinfectées.

Les résultats obtenus grâce aux échantillons testés à l'échelle industrielle démontrent ce qui suit :

- Concernant les modèles de toxicité globale (bactéries, levures, champignons), aucun effet significatif lié à la désinfection n'a été observé dans les eaux de la Seine situées en aval du rejet de SEV.

- Les résultats obtenus n'ont révélé aucun effet sur l'axe thyroïdien sur l'ensemble des campagnes d'échantillonnage.
- La désinfection chimique n'a pas modifié le milieu récepteur en termes de perturbations œstrogéniques, voire même tend à une diminution post-désinfection.



# Partie 4

Retours d'expérience d'autres municipalités utilisant le procédé de désinfection par acide performique

---



# Chapitre 1

## Cas de Biarritz (France)

---



© Thierry Pigot, UPPA  
Thierry Pigot et Thomas Paulin

### 1. INTRODUCTION

La ville de Biarritz peut être confrontée à une possible détérioration de la qualité des eaux de baignade en lien avec la réglementation européenne sur ses plages situées au sud de la baie. Dans certaines conditions océanographiques et météorologiques, elle est induite par le retour de panache du rejet de l'usine d'épuration de Marbella. Afin de réduire les risques de cette détérioration, pouvant engendrer des interdictions temporaires de baignade, le procédé de désinfection par acide performique (PFA) a été intégré en sortie du système d'assainissement afin de garantir une meilleure qualité bactériologique des eaux.

KEMIRA (Helsinki, Finlande) a mis au point le système KemConnect™, qui permet la production sur site d'une solution d'acide performique (solution DEX). Comparé à l'ozone et au rayonnement UV, les peracides organiques présentent des coûts d'investissement et de fonctionnement plus faibles et sont également moins sensibles aux variations de la qualité des effluents, notamment vis-à-vis des matières en suspension (MES) et de la charge organique.

En 2014, la ville de Biarritz a donc décidé de mettre en place le procédé KemConnect™ sur l'usine d'épuration Marbella afin de désinfecter les eaux usées traitées avant leur rejet dans l'océan Atlantique (golfe de Gascogne). Dans ce chapitre, les résultats de 18 mois d'exploitation de ce procédé de désinfection à l'échelle industrielle au sein de l'usine d'épuration sont présentés au regard de son efficacité sur la qualité des effluents et de son impact sur l'environnement.

## 2. PRÉSENTATION DE L'USINE D'ÉPURATION MARBELLA

L'usine d'épuration Marbella est exploitée depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2004 et possède une capacité nominale de 92 000 EH (5 500 kg DBO<sub>5</sub>/j).

Le réseau d'assainissement de la ville de Biarritz, essentiellement unitaire, collecte les eaux usées et les eaux de pluie avant leur traitement à l'usine d'épuration de Marbella. Les eaux usées traitées sont rejetées dans l'océan, à 800 m des plages via un émissaire. En raison du caractère unitaire du réseau d'assainissement, l'usine d'épuration comprend une ligne de traitement par temps sec, admettant un débit maximum de 1300 m<sup>3</sup>/h. Au-delà de ce débit, une ligne de traitement par temps de pluie permettant le traitement des eaux de temps de pluie jusqu'à 3000 m<sup>3</sup>/h se met en fonctionnement. Pour des débits supérieurs, et lorsque les bassins de stockage d'eau pluviale sont pleins, les eaux excédentaires sont rejetées dans l'océan après un unique tamisage fin.

Au niveau du process de traitement, les eaux usées brutes sont d'abord prétraitées (dégrillage, dessablage et déshuilage) avant une décantation lamellaire physico-chimique sur un ouvrage de type Densadeg®. La filière de temps sec inclut un traitement biologique par biofiltration (biofiltres de type Biofor®) qui assure une nitrification et une dénitrification partielles. Les effluents traités passent ensuite par une cuve de stockage des eaux traitées, puis sont comptés avant rejet dans l'océan via un émissaire de 800 m de long (DN 1600) situé entre les plages Milady et Marbella. L'unité de désinfection mise en place produit de l'acide performique à 12 % (% massique) qui est ensuite injecté directement en entrée d'émissaire de telle sorte que la concentration en PFA soit comprise entre 0,8 et 1,0 ppm (concentration volumique).

## 2.1. Points de prélèvement et détermination de l'efficacité bactéricide

L'évaluation des performances de la désinfection vis-à-vis des bactéries indicatrices fécales (BIF) (*Escherichia coli* et entérocoques intestinaux) a été réalisée à l'aide d'échantillons ponctuels prélevés en deux points distincts. Le premier point de prélèvement se situe en amont du point d'injection du PFA : ce point permet d'estimer la charge de BIF en sortie d'usine. Le second point de prélèvement se situe en aval du point d'injection du PFA, le long du canal de rejet de l'usine.

Le temps de contact « effluent-PFA » entre le point d'injection et le point de prélèvement en aval a été mesuré par colorimétrie et estimé à 3 minutes. Le temps de contact total jusqu'à l'extrémité de l'émissaire de rejet a quant à lui été estimé à 18 minutes.

Les échantillons prélevés en amont de l'injection ont été stockés dans une bouteille en plastique stérile à usage unique (500 mL). Les échantillons d'effluent prélevés en aval à différents temps de contact ( $t + 3$  min,  $t + 18$  min) ont été stockés dans des bouteilles en plastique stériles jetables contenant du thiosulfate en excès (20 mg/L pour  $t + 3$  min) ou dans des bouteilles en plastique stériles à usage unique ; la réaction est stoppée au bout de 15 minutes, par un excès de thiosulfate.

La détermination d'*Escherichia coli* et d'entérocoques intestinaux a été réalisée dans le respect des méthodes standards (NF EN ISO 9308-3 pour *Escherichia coli*, et NF EN ISO 7899-1 pour les entérocoques intestinaux).

## 2.2. Présentation du modèle biologique utilisé

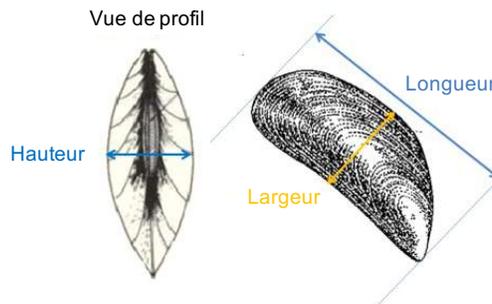
L'évaluation de l'innocuité des effluents désinfectés sur l'environnement a été réalisée au travers de deux approches.

La première a consisté en une étude qualitative et quantitative des espèces présentes en sortie d'émissaire entre février et septembre 2015. Les observations et le recensement ont été réalisés simultanément par deux plongeurs et optimisés de manière à limiter tout biais (taille et positionnement des quadrats, variations saisonnières). Ce suivi s'est poursuivi durant toute l'année 2016.

La deuxième a été réalisée par un suivi de deux populations de *Mytilus edulis* (moule commune) : l'une prélevée en sortie d'émissaire et l'autre sur une zone non impactée par les rejets. Ce bioindicateur est couramment utilisé à des fins de biosurveillance et dispose de nombreuses données disponibles dans la littérature (Bachelot, 2012 ; Gosling, 2003 ; Kerambrun *et al.*, 2012 ; Świacka *et al.*, 2019).

L'état général des moules a été évalué morphologiquement sur la base de paramètres morphométriques standards, et physiologiquement à partir d'un

indice de condition. Pour décrire et comparer la morphologie des individus à l'aune des sites et des dates de prélèvement, huit indices morphométriques conventionnels ont été retenus (**Figure 47**): la longueur (L), la hauteur (H), la largeur (La), l'épaisseur de la coquille (E), l'indice d'allongement (H/L), l'indice de compacité (La/L), l'indice de convexité (La/H) et l'indice d'épaisseur (E/L). En complément, un indice de l'état physiologique a été inclus : l'indice de condition de Walne & Mann, noté «  $IC_2$  » (Walne & Mann, 1975). Cet indice fournit des informations sur l'état des individus (indicateur de taux de remplissage) et permet d'identifier les anomalies de croissance et de reproduction. Il est obtenu en divisant le poids de chair sec par le poids de la coquille. Plus la valeur de l'indice est élevée, meilleure sera la condition globale. L'indice varie sensiblement au fil de la saison de reproduction, selon l'état du développement des gonades (Seed & Suchanek, 1992). Les échantillons étant parfois prélevés durant la période de reproduction, l'état des gonades a également été observé pour l'interprétation des résultats.



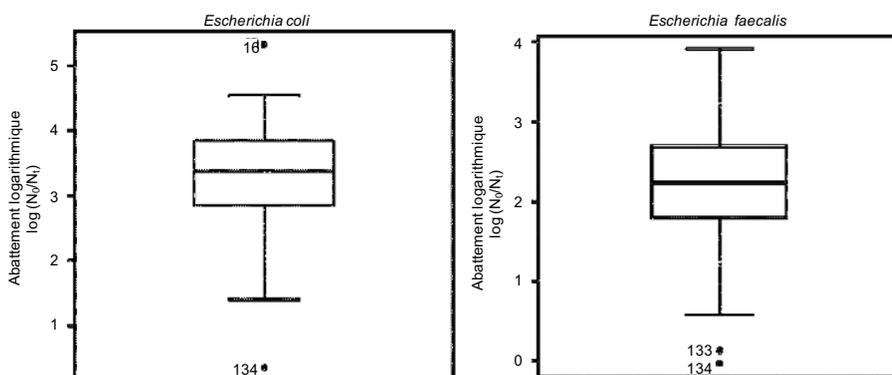
**FIGURE 47. Paramètres morphométriques des bivalves (Longueur (L) = du niveau antérieur au niveau postérieur, Hauteur (H) = distance dorso-ventrale, Largeur (La) = distance inter-valves)**

Cette approche a été complétée par une analyse génétique sur des marqueurs de stress. L'objectif consistait à évaluer si les *Mytilus edulis* présents en sortie de l'émissaire et continuellement exposés aux rejets désinfectés au PFA surexpriment les gènes impliqués dans la résistance aux différentes contraintes (stress oxydant, xénobiotiques, besoins en énergie, etc.). Douze gènes ont été ciblés à partir des séquences disponibles dans la base de données dédiée à *Mytilus edulis*. Les individus vivants sur l'émissaire de sortie ont été prélevés lors des plongées prévues dans le cadre de l'étude écologique (en février, juin et septembre 2015). Les individus présents sur les sites de référence ont été collectés sur la digue de Marbella les jours de plongée.

Les gènes ciblés peuvent être classés selon cinq catégories, dont quatre sont des gènes de réponse aux contraintes environnementales. Ces gènes sont tous impliqués dans les réponses : au stress oxydant (Les gènes superoxyde dismutases à cuivre-zinc, notés SodCu ; à manganèse, notés SodMn ; catalase, noté cat), au métabolisme mitochondrial (cyclooxygénase 1 noté Cox1), aux mécanismes de réparation d'ADN (recombinase RAD51, noté rad51) et à l'apoptose (protéase caspase 8 noté cas8 ; Bcl-2 X noté bax ; bêta-défensine 2 noté bd2). Les gènes de référence, dont les expressions sont stables dans l'ensemble des cellules, ont servi à normaliser la quantité d'ARN entre les échantillons. Le premier gène de référence, le gène de protéine ribosomale L7 (rp17) est impliqué dans la synthèse protéique, tandis que le second gène était le facteur d'allongement (ef1).

### 3. EFFICACITÉ DE LA DÉSINFECTION SUR LES BACTÉRIES INDICATRICES FÉCALES

La **Figure 48** présente les diagrammes en boîte (boîtes à moustaches) de l'abattement logarithmique obtenus depuis la période d'essai jusqu'à début juin 2017 pour les deux types de BIF. Ce taux d'élimination est exprimé en unité logarithmique (Unités log) sachant que  $N_t$  représente la comptabilisation au terme du temps de traitement  $t$  et  $N_0$  représente la comptabilisation avant traitement.



**FIGURE 48. Abattement logarithmique ( $\log [N_t/N_0]$ ) avec  $N_0$  le nombre d'individus avant traitement des *Escherichia coli* (gauche) et des entérocoques intestinaux (*Escherichia faecalis*, droite) après désinfection par l'acide performique ( $N = 145$  échantillons)**

Plusieurs observations importantes peuvent être déduites à partir de la **Figure 48** :

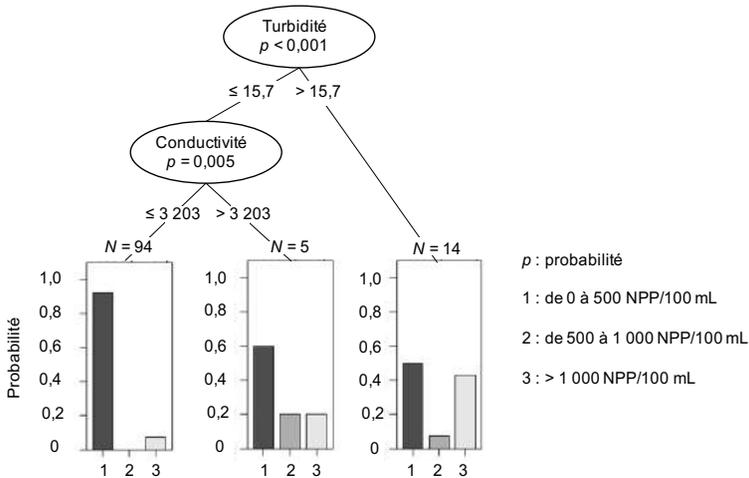
- Pour *Escherichia coli*, avec un temps de contact de 18 min, le taux d'élimination moyen correspond à 3,3 Unités log ;

- Dans les mêmes conditions, le taux d'élimination moyen des entérocoques intestinaux est de 2,2 Unités log, présentant environ 1 Unités log de moins que pour les *Escherichia coli*. La différence est probablement due à l'altération de la structure membranaire entre les deux types de bactéries, la paroi des cellules des entérocoques intestinaux (bactéries à Gram négatif) étant bien plus épaisse que celle d'*Escherichia coli* (Gram négatif);
- Il existe une importante variabilité des taux d'élimination, aussi bien pour *Escherichia coli* que pour les entérocoques intestinaux, ainsi que l'ont démontré d'autres études (Ragazzo *et al.*, 2013). Cette variabilité est liée à la charge de micro-organismes (qui peut varier d'un facteur 1000 d'un échantillon à l'autre), mais aussi à la teneur en MES de l'eau en sortie. En effet, de fortes concentrations de MES sont souvent associées à des taux d'élimination plus faibles. Toutefois, il n'existe pas de relation facilement identifiable entre l'élimination des BIF et la teneur en MES.

Aussi, et en complément de ces résultats expérimentaux, une étude statistique a été menée afin de mieux définir les seuils de turbidité qui impactent l'efficacité du PFA. Le modèle statistique le plus adapté pour refléter l'influence de plusieurs paramètres (MES, température, conductivité, demande chimique en oxygène) sur une variable cible (en l'occurrence, la valeur de la qualité bactériologique de l'eau) est l'arbre conditionnel. Cet outil permet d'établir :

- Quel paramètre influence en premier la variable cible ;
- À quelle valeur un paramètre donné provoque un effet de seuil notable.

Les données de turbidité et les résultats d'élimination des bactéries ont ainsi été compilés et analysés sur le plan statistique selon cette méthodologie à l'aide du logiciel R (Williams, 2011). La **Figure 49** présente l'arbre conditionnel obtenu avec la valeur d'analyse bactériologique de l'organisme *Escherichia coli* après désinfection au PFA pendant 18 minutes. Pour cette analyse, trois valeurs cibles ont été choisies, chacune correspondant à un seuil de « qualité de baignade » : 0-500, 500-1000, >1000 (NPP/100 mL).



**FIGURE 49. Arbre conditionnel avec la valeur d'analyse bactériologique pour l'organisme *Escherichia coli* après désinfection à l'acide performique en variant différents paramètres (e.g. turbidité, conductivité, température)**

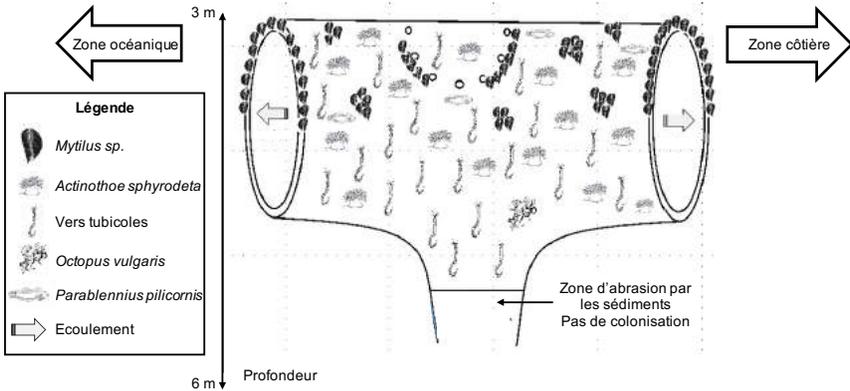
Cette figure permet de montrer que le paramètre le plus influent est la turbidité avec une valeur seuil de 15,7 NTU, ce qui correspond à environ 20 mg/L de MES. Au-delà de cette valeur, la proportion d'analyses supérieure à 1000 NPP/100 mL après traitement devient significative (environ 50 % des 14 analyses). Le second paramètre le plus impactant est la conductivité : pour les conductivités supérieures à 3200  $\mu\text{S/cm}$ , la proportion d'analyses inférieures à 500 NPP/100 mL n'est que de 60 %. Une séparation des données obtenues par temps sec outemps de pluie n'entraîne pas de modification significative de l'analyse des résultats.

Tous ces résultats montrent que l'efficacité du PFA à une concentration de 1,2 ppm (soit une dose  $C \times t$  de 21,6 ppm.h) est élevée pour une turbidité inférieure à 15,7 NTU. Au-delà de cette valeur de turbidité, il est recommandé d'augmenter la concentration à 2 ppm (soit un  $C \times t$  de 36 ppm.h), voire 4 ppm (soit un  $C \times t$  de 72 ppm.h) en cas de valeurs de turbidité très élevées.

## 4. BILAN ÉCOLOGIQUE SUR LE REJET DE L'USINE D'ÉPURATION

Peu d'études ont été publiées sur l'impact des rejets d'usines d'épuration sur les communautés benthiques vivant sur des substrats durs. Celles qui l'ont été (Andral *et al.*, 2011 ; Cabral-Oliveira *et al.*, 2014 ; Terlizzi *et al.*, 2002) font apparaître des paramètres écologiques différents de ceux de l'émissaire de Marbella, ce qui rend la comparaison des résultats difficile.

Dans un premier temps, un recensement des espèces présentes à l'extrémité de l'émissaire de rejet a été réalisé. La distribution spatiale des espèces présentes en sortie de l'émissaire (**Figure 50**) et son évolution temporelle ont été suivies en 2015 et en 2016, après le début de la campagne de désinfection au PFA. L'objectif de ce recensement était de déterminer si la diversité écologique évoluait ou non au fil du temps après désinfection au PFA.



**FIGURE 50. Distribution des espèces observables à l'extrémité du canal de rejet**

Pour les deux années de suivi, les pourcentages de récupération moyens indiquent que la majorité des espèces sont des *Actinothoe sphyrodeta* (47%), des Ectoprocta (16 %) et plus particulièrement des *Chartella papyracea* (12 %).

Une comparaison statistique a été effectuée afin de mettre en lumière une potentielle distribution spatiale de colonisation entre la partie nord et la partie sud de l'émissaire qui pourrait traduire une certaine influence du rejet. Les résultats du test de Wilcoxon réalisé pour comparer la colonisation des faces nord et sud indiquent des différences non significatives (valeur de  $p = 0,285$ ), ce qui signifie que la colonisation et les communautés d'espèces sont sensiblement les mêmes dans les deux zones. Par conséquent, les deux zones colonisées peuvent être traitées ensemble sans risque de biaiser l'analyse. La distribution spatiale de la faune benthique révèle une colonisation homogène sur toute la structure.

Les quadrats constitués en 2015 et 2016 n'ont révélé aucun impact des rejets sur la répartition des taxons de la faune fixée sur l'émissaire. Sur ces deux années, une similarité a été observée entre les taxons dominants, avec toutefois des différences de représentation moyenne, en particulier pour *Actinothoe sphyrodeta*, Hydrozoa et *Sabellaria alveolata*. La présence d'espèces jugées opportunistes ou, à l'inverse, extrêmement sensibles aux changements de conditions environnementales n'a pas été observée lors de cette étude.

L'émissaire de l'usine d'épuration de Biarritz se comporte donc comme un habitat artificiel où se concentre une biodiversité singulière. Cette biodiversité est caractéristique des substrats rigides, tolérante vis-à-vis d'une forte hydrodynamique (zone de forte houle), d'une sédimentation régulière et d'une désalinisation due au rejet d'eau douce (De Casamajor, 2004). Par conséquent, la conclusion de suivi écologique est que le traitement tertiaire ne semble pas avoir d'impact néfaste sur la biodiversité du site.

## 5. SUIVI D'UN BIOINDICATEUR : LA MOULE COMMUNE

L'efficacité des fonctions biologiques des bivalves est connue pour être fortement influencée par les conditions environnementales. Ainsi, leur recours comme bioindicateur ou témoins des niveaux de pollution est fréquent (Gosling, 2003). Leur mode d'alimentation par filtration provoque une accumulation de différents types de polluants (chimiques, bactériologiques) et/ou de virus. Ces caractéristiques engendrent une sensibilité accrue aux effets de la pollution et leur croissance, leur reproduction et leur longévité peuvent être directement impactées (Gosling, 2003). Parmi les organismes fréquemment utilisés pour le biosuivi environnemental côtier, les moules sont privilégiées car, en tant que « bioaccumulateurs » (i.e. capables d'accumuler des contaminants à des niveaux supérieurs au reste de son environnement), elles permettent d'étudier les niveaux et les tendances de contamination chimique en milieu aquatique. Les performances d'accumulation d'un tel organisme varient en fonction de son âge et du stade de son cycle de reproduction (Bachelot, 2012). L'étude de la réponse biologique des organismes face aux polluants repose sur plusieurs indicateurs : les paramètres physiologiques, biochimiques, moléculaires et/ou cellulaires altérés par l'action des contaminants (Kerambrun *et al.*, 2012). Dans les études portant sur les effets biologiques des rejets urbains en mer, les stratégies de déploiement relèvent généralement d'un des trois types suivants :

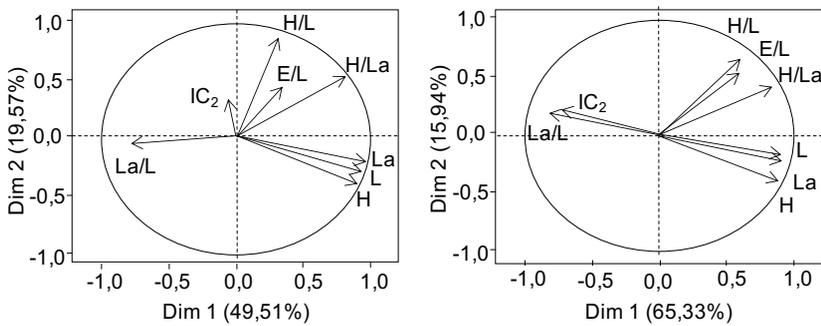
- La « mise en cage » ou *caging* des moules, consistant à exposer les moules proches de l'extrémité du canal pendant une durée déterminée en les transplantant dans des cages et un lieu témoin ;
- Les expériences environnementales contrôlées au sein de mésocosmes ;
- L'échantillonnage *in situ* (De los Ríos *et al.*, 2012 ; Turja *et al.*, 2015).

C'est cette dernière stratégie qui a été retenue pour la présente étude. Les essais en cages auraient échoué en raison des conditions hydrodynamiques extrêmement défavorables au niveau de l'émissaire de rejet (importants remous), et les essais en mésocosmes auraient nécessité la présence d'équipements

spécifiques près de l'unité de production de PFA, ce qui était irréalisable dans le cadre de cette étude.

### 5.1. Paramètres morphologiques

En premier lieu, nous présentons l'état global des moules étudiées en utilisant les paramètres morphométriques présentés précédemment (**Figure 47**). Les rapports entre les différents indices n'ont pas subi de changement substantiel entre 2015 et 2017 comme le montre la **Figure 51** via une analyse en composantes principales. Cette représentation pourrait refléter une stabilité relative du milieu dans lequel évoluent les individus, et concorde avec leur adaptation à l'effluent désinfecté.



L = longueur, La = largeur, H = hauteur, E = épaisseur, La/L = index d'élongation, H/L = index de compacité, H/La = index de convexité, E/L = index d'épaisseur,  $IC_2$  = index de condition de Walne & Mann

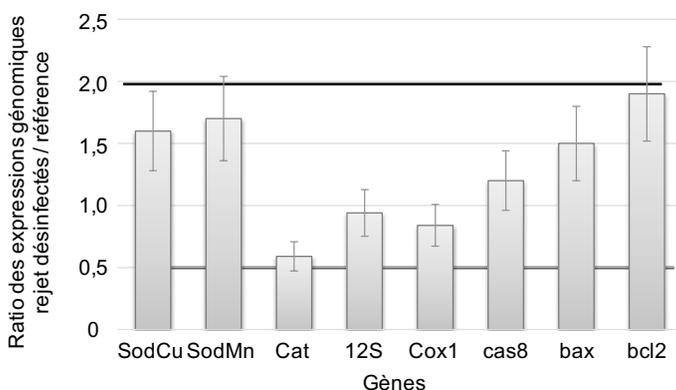
**FIGURE 51. Comparaison des caractéristiques morphométriques de spécimens collectés au rejet de l'usine en 2015 (gauche) et 2017 (droite) par analyse en composantes principales**

Des essais statistiques ont été réalisés sur  $IC_2$  afin de comparer les résultats à un même point de prélèvement sur deux années (2015 et 2017). Ces essais ont révélé une différence négligeable, ce qui indique que le traitement tertiaire déployé à l'usine d'épuration de Biarritz ne dégrade pas l'indice de condition des moules vivant au rejet de l'usine.

### 5.2. Analyse génétique

L'approche morphologique a été complétée par une analyse génétique afin de déterminer si les gènes impliqués dans la résistance aux différentes contraintes (stress oxydant, xénobiotiques, besoins en énergie, etc.) étaient surexprimés par les organismes prélevés au niveau de l'émissaire par rapport à d'autres indi-

vidus prélevés sur un site proche mais non impacté par les rejets. La **Figure 52** synthétise les résultats obtenus pour deux groupes de gènes en 2015 et en 2017 : les gènes de stress oxydant et de réparation d'ADN. Pour chaque site et date donnée, la variabilité inter-individus peut être importante (barres d'erreur élevées), ce qui a également été vérifié ici. Ainsi, il est généralement admis qu'un facteur minimal de 2 (ligne en gras supérieure sur la **Figure 52**) pour une induction ou de moins de 0,5 (ligne en gras inférieure sur la **Figure 52**) pour une répression doit être atteint pour écarter les variations physiologiques des niveaux d'expression entre les individus. Pour un site donné, la variation temporelle peut être extrêmement importante et les niveaux d'expression d'un gène peuvent différer de manière considérable en fonction de la période d'échantillonnage. Par conséquent, les comparaisons aux sites point de rejet/ référence doivent être effectuées à la même date.



**FIGURE 52. Rapport entre les gènes de moules collectées en sortie de désinfection et sur un site témoin le même jour (SodCu et SodMn = stress oxydant ; rad51 = gène réparateur d'ADN ; Cox1 = gène métabolique ; cas, bax et bcl2 = gènes d'apoptose ; intervalle entre lignes en gras = variation normale pour une population donnée)**

En tenant compte des remarques précédentes, la **Figure 52** indique qu'il n'existe aucune différence significative en termes de gènes de réponse au stress oxydant et de gènes de réparation d'ADN entre les individus présents au niveau du site de référence et ceux présents en aval de l'injection de PFA. Tous les résultats obtenus indiquent que les facteurs d'induction observés favorisent davantage une réponse adaptative des organismes à la désinfection d'eaux usées traitées au PFA qu'une réponse de toxicité aiguë.

## Points clés

Concernant l'efficacité de la désinfection au PFA :

- L'efficacité d'une désinfection à des doses limitées de PFA (1,2 ppm de PFA et 18 minutes de temps de contact) appliquée à des eaux usées traitées a été confirmée et quantifiée pour les germes témoins de contamination fécales ;
- Le taux d'élimination moyen d'*Escherichia coli* est de 3,4 u.log ;
- Le taux d'élimination moyen des entérocoques intestinaux est de 2,2 Unités log ;
- L'efficacité de la désinfection dépend beaucoup de la qualité des eaux rejetées, et en particulier de la charge de MES.

Concernant l'impact de la désinfection au PFA sur l'environnement naturel :

- L'émissaire de rejet de l'usine d'épuration se comporte comme un récif artificiel et possède un écosystème différent du fond marin sableux qui l'entoure ;
- La biodiversité semble normale au vu des contraintes environnementales (remous), et les espèces identifiées sont celles que l'on retrouve habituellement dans le Golfe de Gascogne ;
- Les réponses observées d'un point de vue physiologique (indices biométriques) et génétique sont de nature adaptative chez la moule commune et ne semblent pas traduire une toxicité aigüe particulière liée à l'effluent désinfecté.

# Chapitre 2

## Cas de Venise (Italie)

---



© Veritas Spa  
Patrizia Ragazzo et Nicoletta Chiucchini

### 1. INTRODUCTION

La gestion de l'eau de la région de Vénétie en Italie est pilotée par un service public polyvalent en charge du cycle intégré de l'eau pour 36 municipalités, qui dessert un total de 800 000 habitants au sein d'un territoire visité chaque année par de nombreux touristes. L'eau potable est produite à partir de sources souterraines (81 %) et de surface (19 %). Les eaux usées (95 Mm<sup>3</sup>/année) sont traitées au sein de 38 usines d'épuration pour une capacité totale supérieure à 1,2 millions d'équivalents-habitants (EH). Onze usines d'épuration ont été conçues pour desservir entre 10 000 et 400 000 EH, et englobent des sites de baignade le long de la côte Adriatique tels que : Jesolo, Caorle, Eraclea, Cavallino, Lido di Venezia, Chioggia (plage de capacités : 32 000-160 000 EH). La sensibilité de ce territoire, liée à la présence de la lagune de Venise et de zones de baignade côtières nécessite de porter une attention particulière à la gestion des eaux usées. Pour cette raison, des réglementations strictes régissant les charges

rejetées et les besoins de traitement des usines d'épuration ont été élaborées au début des années 1970 (D.P.R. 962/1973). L'interdiction du recours au chlore pour la désinfection d'eaux usées a fait partie de ces restrictions. La première interdiction remonte au début des années 2000 (D.M. 1999) et concernait les effluents directement ou indirectement rejetés dans la lagune de Venise. Cette interdiction a ensuite été élargie à la région entière 14 ans plus tard, en 2013 (Délibération n 107/2009, Région vénitienne, 2009).

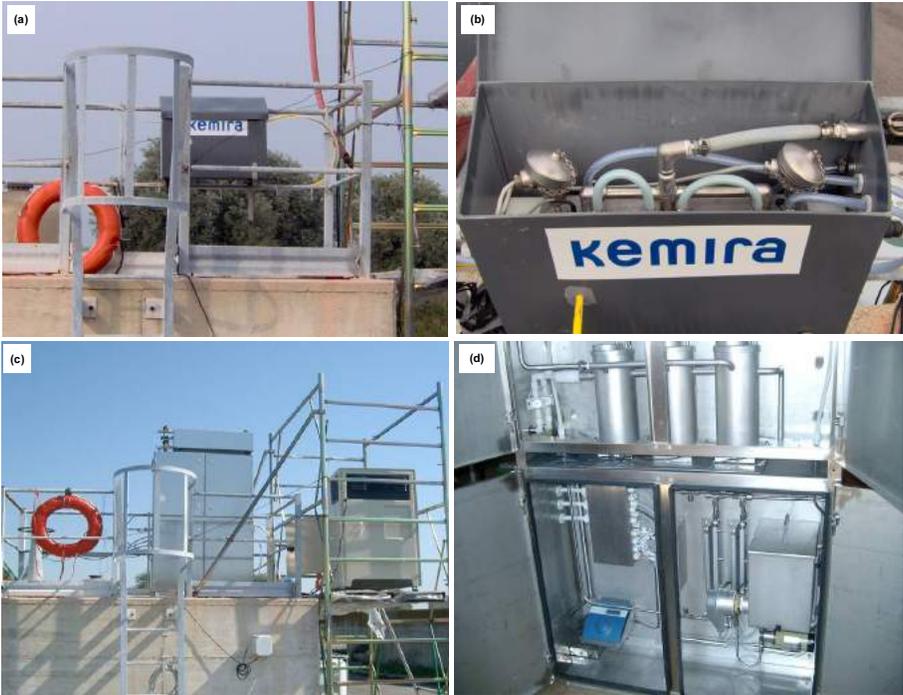
À l'époque, ce contexte a incité à la recherche d'alternatives « moins nocives » pour les traitements de désinfection appliqués dans la région. Veritas s'est tourné en premier lieu vers la technologie Ultra-Violet (UV) pour les usines de Fusina (400 000 EH) et de Campalto (130 000 EH) dans le cadre d'un projet intégré visant à adapter les infrastructures afin de protéger la lagune de Venise. Puis par extension, d'autres systèmes désinfectants considérés comme « propres » ont été introduits dans les usines d'épuration tels que l'acide peracétique (PAA), seule alternative chimique au chlore disponible à l'époque (2000-2010) et intégré dans trois usines de traitement. À ce jour, treize installations assurent une désinfection active : trois utilisent des technologies UV (130 000-400 000 EH), huit fonctionnent au PAA (2 500-105 000 EH), et plus récemment, deux fonctionnent à l'acide performique (PFA) (32 000-160 000 EH).

Ce dernier, l'acide performique ou PFA, a été industrialisé après une longue période de tests débutés dès 2005 au sein d'un projet qui visait à identifier une alternative au chlore pour la désinfection des eaux usées. Si l'acide peracétique (PAA) et le rayonnement Ultra-Violet (UV) étaient les principales solutions envisageables de l'époque, l'étude de leurs avantages et inconvénients a conduit à la recherche d'une solution innovante. C'est dans ce contexte que l'applicabilité et la fiabilité d'une nouvelle solution de désinfection d'eaux usées par acide organique, le PFA, produit par la société finlandaise KEMIRA, ont été étudiées.

## 2. LES GRANDES ÉTAPES POUR L'ÉVALUATION DE L'EFFICACITÉ ET DE L'INNOCUITÉ DU PFA

L'adéquation du PFA pour la désinfection d'eaux usées a d'abord été évaluée de manière préliminaire à l'échelle laboratoire sur des matrices réelles d'effluents d'eaux usées. La vérification de l'efficacité du PFA sur l'élimination des *Escherichia coli* et des entérocoques intestinaux a été réalisée avec des concentrations de 1 à 5 mg/L et des temps de contact de 10 à 60 minutes. L'efficacité du PFA par rapport aux autres désinfectants (PAA et chlore) ayant été démontrée à l'échelle du laboratoire (Ragazzo *et al.*, 2007), les premiers tests à l'échelle industrielle

ont été effectués en 2005 et à l'été 2006, à l'usine d'épuration municipale de Caorle (120 000 EH). Ces tests ont été réalisés à l'aide d'un premier prototype de système de production (Figure 53a et b) et du système pilote plus automatisé Hyproform (Figure 53c et d).



**FIGURE 53. Premier système de production de PFA Hyproform (Kemira Oyj) utilisé pour des tests en lots sur des matrices réelles : prototype (a, b – 2005) et système pilote (c, d – 2006)**

Dans le cadre de ces études, l'efficacité et les impacts potentiels ont été testés sur un certain nombre de paramètres clés de qualité des effluents (pH, carbone organique total, autres paramètres chimiques et physiques) ainsi que sur l'écotoxicité indirecte introduite dans l'environnement.

Des études complémentaires ont été menées entre 2011 et 2018 sur d'autres usines d'épuration (Tableau 23), afin de consolider les résultats et approfondir les connaissances sur le PFA en matière d'efficacité de désinfection, de pouvoir oxydatif sur les matières organiques, de génération de sous-produits et d'impact/innocuité sur le milieu naturel.

**TABLEAU 23. Synthèse des principales études menées en laboratoire et à l'échelle industrielle pendant la période 2005-2018**

Désinfectant	Années	Usines/Matrices	Études
PFA	2005/2006, 2011, 2012 2013-2018	CL-ER-JS-SD	efficacité; $QI_1$ ; $QI_2$ ; ecotoxicité; génétoxicité; dégradation/residus
PAA	2002, 2006, 2008, 2013, 2017	JS-SD	efficacité; $QI_2$ ; dégradation /résidus
HYP	2008, 2011, 2012	CL-ER-JS-SD	efficacité; dégradation /résidus

CL = Caorle ; ER = Eraclea ; JS = Jesolo ; SD = San Donà ;  $QI_1$  = impacts qualitatifs en termes de paramètres physico-chimiques, tels que le pH, le carbone organique total, la demande biochimique en oxygène et formiate ;  $QI_2$  = pouvoir oxydatif et sous-produits ; PFA = acide performique ; PAA = acide peracétique ; HYP = hypochlorite.

Tout au long de ces campagnes expérimentales portant sur le PFA, d'autres études ont été menées en parallèle dans les mêmes usines d'épuration pour comparer leurs résultats à ceux d'autres désinfectants de référence, tels que le chlore et le PAA.

Les études à l'échelle industrielle ont démontré que le PFA était un désinfectant efficace et fiable pour le traitement des eaux usées (Ragazzo *et al.*, 2013), et que son efficacité était comparable et supérieure à celles de l'hypochlorite de chlore (HYP) et du PAA (Ragazzo *et al.*, 2020). Ce chapitre résume une partie des principaux résultats obtenus durant ces essais.

### 3. DESCRIPTION TECHNIQUE

#### 3.1. Cas d'étude

Toutes les études réalisées sur le PFA entre 2005 et 2018 ont été effectués à la fois en laboratoire sur des matrices réelles et à l'échelle industrielle. Elles ont concerné trois usines d'épuration côtières – Jesolo (160 000 EH), Caorle (120 000 EH) et Eraclea (32 000 EH) – et l'usine de San Donà di Piave (45 000 EH), loin de la côte. Toutes ces usines fonctionnent avec des filières de traitement conventionnelles (décantation primaire, boue activée faible charge avec nitrification et dénitrification, clarificateur secondaire) pour des effluents collectés en grande partie par un réseau unitaire (60 %) principalement domestique. La désinfection n'est réalisée que sur la période estivale afin de respecter la limite nationale de régulation d'*Escherichia coli* de 5 000 UFC/100 mL.

L'efficacité des désinfectants a été testée vis-à-vis de coliformes fécaux (CF), d'*Escherichia coli* (EC) et d'*Enterococcus faecalis* (EF), plus résistants. Le **Tableau 23** dresse une vision globale des principales études réalisées.

Toutes les usines étaient équipées de canaux de désinfection traditionnels avec septas (de type piston). Les injections de désinfectant étaient proportionnelles au débit des effluents épurés et maintenues stables par un système de gestion/contrôle normalisé, ainsi que régulées pour assurer le respect des limites réglementaires.

La solution d'acide performique était produite sur site, juste avant injection avec les deux systèmes fournis par KEMIRA Oyj : Hyproform d'abord (2005/2006) et Desinfix plus tard (à compter de 2011). Outre les aspects techniques et de sécurité, largement améliorés dans l'unité finale, la différence majeure entre les différents systèmes concernait la composition des solutions d'équilibre produites, avec des plages de concentration d'oxydants plus élevées dans le système Desinfix (12-15 % m/m de PFA et 18-20 % m/m d' $H_2O_2$ ), par rapport à Hyproform (ci-après appelé PFA-HP) (8-10 % m/m de PFA et 11-13 % d' $H_2O_2$ ). Une description technique détaillée des systèmes a été effectuée par Ragazzo et al. (2013).

Les deux autres désinfectants utilisés à titre de références sont l'hypochlorite (HYP) et le PAA avec des solutions commerciales contenant un titre nominal de substances actives de respectivement 12 % (m/m) et 15 % (m/m).

### 3.2. Méthodes de prélèvement

Le **Tableau 24** synthétise les méthodes employées à l'échelle industrielle et en laboratoire.

Les essais en laboratoire étaient centrés sur l'inactivation bactérienne avec différentes concentrations de désinfectant et différents temps de contact ; dans ce but des échantillons prélevés à la sortie de l'usine d'épuration étaient envoyés en laboratoire pour être traités. A chaque prélèvement, la capacité oxydante de l'échantillon est neutralisée avant transport pour analyse des indicateurs fécaux, en suivant la méthode décrite dans le **Tableau 24**.

D'autres essais en lots ont également été réalisés afin d'identifier une éventuelle corrélation entre les désinfectants à base de PFA et de PAA et l'augmentation du carbone organique, en particulier sa part biodégradable. Le COT et la demande chimique et biochimique en oxygène (DCO, DBO5) ont été analysés selon les méthodes présentées dans le **Tableau 24**.

**TABLEAU 24. Méthodes chimiques et microbiologiques appliquées en laboratoire et à l'échelle industrielle**

Paramètres	Méthodes	Description
<b>Indicateurs fécaux</b>	Coliformes fécaux (CF)	APAT CNR-IRSA Man 292003 (7020B, 7030D, 7040C)
	<i>E. coli</i> (EC)	FM ; <i>E. coli</i> chromogène-agar
	Entérocoques fécaux (EF)	FM ; Slanetz and Bartley/ Bile Esculin Azide agar
<b>Paramètres de qualité physico-chimique</b>	pH	APHA ed. 21st 2005-22nd 2012
	COT	Méthode d'oxydation au persulfate-ultraviolet
	DBO5	4500-H+B, 5310 C, 5210 D
	MES - Turbidité	APAT CNR-IRSA Man 292003
	Ammonium	UNI EN ISO 14911: 2001
	Nitrite	UNI EN ISO 10304-1:2009
	DCO	UNI EN ISO 15705:2002
	Formiate	EPA 300.11999
<b>Eco-toxicité</b>	<i>Vibrio fischeri</i>	UNI EN ISO 11348-3B 2001-2009
	<i>Daphnia magna</i> Straus	UNI EN ISO 6341:2013

FM = filtration membranaire ; COT = carbone organique total ; DBO5 = demande biochimique en oxygène pendant 5 jours ; MES = matières en suspension ; DCO = demande chimique en oxygène.

Lors des études à l'échelle industrielle, les paramètres physico-chimiques (pH, matières en suspension, DCO, nitrite, ammoniacale, etc.) ont été évalués, de même que l'efficacité du désinfectant à l'aide des indicateurs CF, EC et EF. Dans

certains cas, les concentrations en EC et en EF ont également été déterminées avec différents temps de contact le long du canal de désinfection.

L'impact qualitatif du PFA sur les composés organiques a été évalué grâce à un suivi de la concentration de COT et de formiate (FA) avant et après l'injection du PFA. Les impacts écotoxiques ont été évalués à l'aide de tests sur *Vibrio fischeri* et *Daphnia magna*.

Toutes les analyses ont été effectuées en laboratoire sur des échantillons composites d'eaux usées, obtenus en prélevant des aliquots d'effluents à différents intervalles de temps (toutes les 2-3 heures) par rapport au débit ; du thiosulfate de sodium avait préalablement été ajouté dans les bouteilles afin de réduire les résidus oxydants.

La solution de désinfectant a été régulièrement contrôlée pour suivre la concentration de substances actives à l'aide d'un titrage au sulfate de cérium et d'ammonium et au thiosulfate de sodium pour le PFA et le PAA (Greenspan & MacKellar, 1948), et avec un titrage iodométrique au thiosulfate de sodium pour le chlore (UN EN 901:2007). Les résidus oxydants présents en sortie de désinfection ont été contrôlés de manière journalière à l'aide de la méthode colorimétrique au DPD, selon APHA 4500-Cl G, avec et sans ajout préalable d'enzymes catalases pour refléter la contribution d' $H_2O_2$  dans le cas des peracides.

### 3.3. Traitement statistique des données

Le niveau d'efficacité a été analysé à l'aide du test non paramétrique de Kruskal-Wallis. Le test ANCOVA a été réalisé pour évaluer les effets des désinfectants en fonction des concentrations et des temps de contact. Les tests t de Student et non paramétrique de Wilcoxon ont été utilisés pour comparer les données paires de qualité aux fins des répartitions normales et anormales (d'après le test de Shapiro-Wilks). Les associations de variables ont été évaluées à l'aide du test de rang de Spearman. Les résultats d'inactivation bactérienne ont été modélisés à l'aide du Modèle Hom et S (Luukkonen *et al.*, 2015); les valeurs des paramètres cinétiques ont été obtenues via une régression non linéaire à l'aide de la fonction Solver GRG non linéaire de Microsoft Excel.

## 4. EFFICACITÉ DE LA DÉSINFECTION AU PFA PAR RAPPORT À D'AUTRES RÉACTIFS

Les premiers résultats des essais à l'échelle industrielle concernant l'efficacité du PFA ont été obtenus en 2005-2006 à l'aide du prototype et du système de

production pilote (Hyproform, ci-après dénommé PFA-HP). À partir de 2011, toutes les études sur le PFA ont été réalisées à l'aide du système de production le plus avancé (ci-après dénommé PFA). Par ailleurs, dans les usines où du HYP et du PAA étaient systématiquement utilisés, ainsi qu'une adaptation de fréquence et du type de contrôle, des critères spécifiques de gestion et de suivi ont été mis en œuvre afin d'obtenir des données utiles pour les comparaisons d'efficacité. Le **Tableau 25** recense les configurations et les conditions opératoires des expériences à l'échelle industrielle pour l'ensemble des désinfectants présentés et abordés dans cette partie.

**TABLEAU 25. Conditions opératoires des expérimentations à échelle industrielle – Moyenne (minimum – maximum)**

Système de désinfection	Année	Usine d'épuration	Débit m <sup>3</sup> /j	Concentration mg/L	Temps de contact minutes
PFA-HP prototype	2005-06	CL	7140 (5 400-10 000)	1,1(0,3-1,8)	24(10-45)
			10900 (3 410-20 100)		
PFA	2011	ER	3190 (1790-4 970)	1,0(0,6-1,2)	11(6-19)
	2013-18	CL-ER-JS-SD	Type		
PAA	2006	JS	32570 (23 620-43 680)	1,4(0,7-2,5)	27(13-49)
HYP	2008	CL	10 110 (6 860-16 350)	2,6(1,9-4,7)	24(12-51)
	2011	JS	24 120 (15 920-34 520)		

CL=Caorle ; ER=Eraclea ; JS=Jesolo ; SD=San Donà

Toutes les usines desservent des stations balnéaires et sont caractérisées par d'importantes variations des charges saisonnières et journalières. Le temps de rétention dans le canal de désinfection, qui est constamment adéquat au sein des usines d'épuration Caorle et Jesolo, était plus critique à l'usine d'épuration Eraclea, où des valeurs inférieures à 10 minutes ont souvent été enregistrées. Les doses de désinfectant, nécessaires pour garantir l'objectif de 5 000 UFC/100 mL d'*Escherichia coli* au niveau du point de rejet et préalablement identifiées, ont généralement été maintenues.

Le **Tableau 26** présente les valeurs médianes (et la plage de variations) des paramètres physico-chimiques et bactériologiques des effluents en sortie d'usine, avant leur désinfection par les différents réactifs considérés (test de Kruskal-Wallis).

**TABLEAU 26. Qualité physico-chimique et bactériologique (Médiane et plage de variation) des effluents en entrée du réacteur de désinfection lors des études à échelle industrielle menées de 2005 à 2011**

	pH	MES	DCO	N-NH <sub>4</sub>	Coliformes f.	<i>E. coli</i>	Entérocoques intestinaux
	-	mg/L	mg/L	mg/L	Log	Log	Log
<b>PFA-HP</b>	7,6 (6,9 - 8,2)	11,9 (9,0 - 34)	25 (10 - 35)	0,57 (0,02 - 3,7)	4,0 (2,3 - 5,3)	3,6 (2,0 - 5,3)	3,4 (2,7 - 4,5)
<b>PFA</b>	7,7 (7,1 - 8,3)	9,9 (9,0 - 17)	26 (14 - 45)	1,5 (0,02 - 9)	4,9 (4,4 - 6,0)	4,6 (3,0 - 5,6)	3,4 (2,7 - 4,3)
<b>PAA</b>	7,4 (7,1 - 8,0)	10 (9,0 - 11)	34 (14 - 47)	0,14 (0,14 - 3,7)	5,2 (4,7 - 5,3)	4,4 (3,3 - 5,2)	3,4 (2,7 - 4,3)
<b>HYP</b>	7,5 (7,3 - 7,8)	9,0 (9,0 - 17)	29 (21 - 48)	1,94 (0,14 - 10)	5,3 (5,0 - 6,0)	4,6 (3,6 - 6,2)	3,5 (2,6 - 4,6)

HYP = hypochlorite ; PAA = acide peracétique ; PFA-HP = solution d'acide performique Hyproform ; PFA = solution d'acide performique Desinfix ; MES = matières en suspension ; DCO = demande chimique en oxygène ; Coliformes f. = Coliformes fécaux.

Étant donné que ces effluents proviennent de procédés d'oxydation biologique, les principaux paramètres susceptibles d'impacter la désinfection sont le pH, les matières en suspension (MES), l'azote nitreux et l'azote ammoniacal, les composés organiques (DCO, DBO5) et la concentration bactérienne. Il est à noter que le nitrite se situait toujours en-dessous de la limite de détection de la méthode analytique : 0,02 mg/L.

Les variations des paramètres qualitatifs étaient similaires, sauf pour l'ammoniaque, notamment pour la désinfection avec HYP et PFA. Ce point est d'importance car si l'ammoniaque n'interfère vraisemblablement pas avec le PAA et le PFA, il a été déterminé que l'action de désinfection au chlore se produisait principalement via la monochloramine (Ragazzo *et al.*, 2020).

Les MES et la DCO affichaient des valeurs toujours inférieures aux valeurs signalées comme interférant avec les désinfectants ; pour le pH, seul le PFA aurait pu interférer avec les valeurs neutres (Ragazzo *et al.*, 2020). Les concentrations bactériennes entrant dans le canal de désinfection étaient comparables ( $p > 0,05$ , test de Kruskal-Wallis), sauf pour les coliformes fécaux et *Escherichia*

*coli* avec une désinfection au PFA-HP pour lesquels des valeurs inférieures à celles d'autres désinfectants ont été enregistrées ( $p < 0,001$ ).

Le **Tableau 27** présente les résultats d'inactivation bactérienne pour chaque type de désinfectant obtenus lors des essais à l'échelle industrielle entre 2005 et 2011. Les niveaux d'abattement bactérien atteints pour les différents désinfectants sont décrits en lien avec les conditions opératoires de concentration et de temps de contact appliquées (selon le test de Kruskal-Wallis).

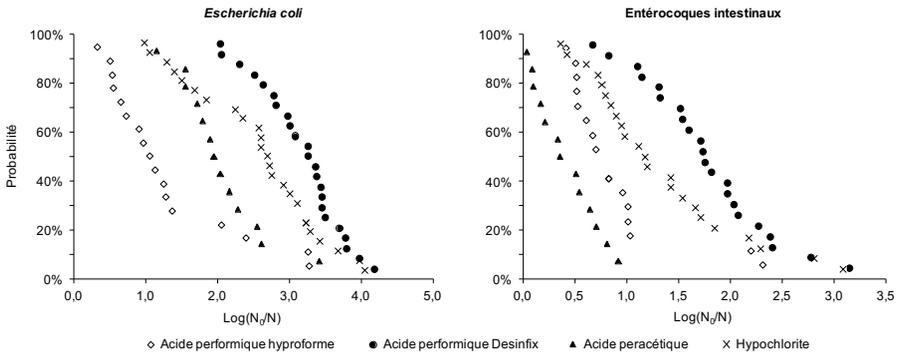
**TABLEAU 27. Moyenne (plage de variation) des abattements bactériens (log) atteints grâce aux différents désinfectants, dans les conditions opératoires de concentration et de temps de contact spécifiques (via le test de Kruskal-Wallis) lors des études industrielles menées de 2005 à 2011**

TC minutes	Désinfectant type	Concentration mg/L	Temps de contact minutes	Abattements		
				<i>Escherichia coli</i> log R	Enterocoques intestinaux log R	Coliformes f. log R
<=10	PFA	1,04 ± 0,07	8,32 ± 1,12	2,92 (2,23-3,97)	1,75 (0,65-2,78)	---
	PFA-HP	1,26 ± 0,54	14,38 ± 2,24	1,05 (0,06-3,28)c	0,76 (0,46-2,31)b	1,02 (0,30-3,75)b
	PFA	0,88 ± 0,22	13,26 ± 2,67	3,3 (2,04-4,19)a	1,78 (0,67-3,15)a	---
	PAA	1,60 ± 0,38	16,16 ± 1,96	1,92 (1,16-2,61)b	0,35 (0,04-0,92)c	1,57 (0,84-2,69)b
	HYP	2,83 ± 0,70	16,34 ± 2,22	2,71 (0,98-4,05)b	1,19 (0,36-3,09)ab	3,45 (2,11-4,28)a
>10 - 20	PFA-HP	1,16 ± 0,57	22,49 ± 3,25	1,87 (0,32-3,65)	1,42 (0,42-3,26)a	1,67 (0,38-3,32)
	PAA	1,94 ± 0,67	25,12 ± 3,32	2,86 (0,16-3,42)	0,28 (0,14-0,71)b	---
	HYP	2,45 ± 0,47	25,39 ± 2,89	2,75 (1,21-5,15)	1,48 (0,66-2,23)a	---
>20 -30	PFA-HP	1,35 ± 0,60	45,07 ± 10,24	2,52 (0,44-4,29)	1,92 (0,55-3,67)a	2,57 (0,62-4,76)
	PAA	1,07 ± 0,20	38,94 ± 6,77	2,45 (1,21-3,37)	0,46 (0,1-1,63)b	---
	HYP	2,38 ± 2,46	36,54 ± 7,16	2,51 (1,78-3,13)	1,75 (0,63-3,12)a	---

TC = Temps de Contact ; log R = log reduction (CFU/100 mL) ; PFA-HP = solution d'acide performique Hypoform ; PFA = solution d'acide performique Desintix ; Coliformes f. = coliformes fécaux ; principales variations significatives à p=0,05, avec valeurs a > valeurs b > valeurs c

Le PFA apparait sous deux formes : la solution de désinfection la plus ancienne avec un taux de PFA d'environ 9 % m/m (PFA-HP) et la solution plus récente (PFA) composée d'un taux de PFA de près de 14 % m/m. Avec des temps de contact compris entre 10 et 20 minutes, à des concentrations correspondant respectivement à la moitié et au tiers des doses de PAA et de HYP, les abattements obtenus avec le PFA sont les plus élevés pour toutes les bactéries testées. À l'inverse, le PFA-HP et le PAA présentent les abattements les plus faibles respectivement pour *Escherichia coli* et les entérocoques. En revanche, avec des temps de contact moins contraignants, le PFA-HP a donné des réductions d'*Escherichia coli* comparables à celles obtenues avec le HYP et le PAA, et d'entérocoques similaires à celle avec le HYP. Avec des temps de contact très limités (< 20 min), le PFA a donné des abattement d'*Escherichia coli* et d'entérocoques systématiquement supérieurs à ceux du PAA, et présente des réductions d'entérocoques comparables à celles obtenues par le chlore en plus de 30 minutes d'exposition.

La **Figure 54** fournit les courbes de probabilité de réduction log *Escherichia coli* et entérocoques intestinaux pour les désinfectants PFA, PAA et HYP avec des temps de contact allant de 10 à 20 minutes.



**FIGURE 54. Comparaisons des probabilités des désinfectants d'atteindre et de dépasser la réduction logarithmique bactérienne pour un temps de réduction de 10 à 20 minutes dans le réacteur de désinfection.  $\text{Log}(N_0/N)$  = réduction logarithmique;  $N_0$  : concentration initiale de bactéries;  $N$  : concentration bactérienne pour chacun des temps de contact (CFU/100 mL)**

Vis-à-vis des deux indicateurs fécaux, le PFA démontre une probabilité plus élevée de réduction bactérienne que les autres désinfectants. Alors que le PFA a 90 % de probabilité de dépasser 2 log et 1 log de réduction de *Escherichia coli* et entérocoques respectivement, les mêmes cibles sont beaucoup moins probables pour le PAA (50% et 10% respectivement) et le HYP (70% et 60% respectivement).

Le test ANCOVA a été appliqué à ces mêmes résultats afin de comparer l'efficacité des désinfectants en tenant compte de la contribution des concentrations utilisées, évaluant ainsi l'efficacité réelle des désinfectants (**Tableau 28**).

**TABLEAU 28. Classement des désinfectants par ordre d'efficacité pour les indicateurs fécaux de 2005 à 2011 par le test ANCOVA**

<b>Coliformes f.</b> log R (CFU/100 mL)	<b>E. coli</b> log R (CFU/100 mL)	<b>Entérocoques intestinaux</b> log R (CFU/100 mL)
Comparable (p>0.05)	PFA>PAA~PFA~HP>HYP	PFA>PFA~HP>HYP~PAA

Coliformes f. = coliformes fécaux; log R = log réduction (CFU/100 mL); PFA-HP = solution d'acide performique Hyproform; PFA = solution d'acide performique Desifix

Si tous les réactifs sont comparables s'agissant de l'abattement des coliformes fécaux, le PFA apparaît comme plus efficace pour les *Escherichia coli* et les entérocoques intestinaux.

L'abattement bactérien a été ajusté à l'aide des modèles bactériens Homs et S pour comparer le PFA et le PAA; la plage de paramètres estimés est indiquée dans le **Tableau 29**. L'abattement des indicateurs fécaux a été bien décrit par les deux modèles ( $R^2$  systématiquement supérieur à 0,91) à des concentrations comprises entre 0,5 et 1,3 mg/L pour le PFA (principalement à l'échelle industrielle) et entre 1 et 3 mg/L pour le PAA (principalement en laboratoire).

**TABLEAU 29. Paramètres cinétiques de désinfection estimés pour les modèles Homs et S, valeurs minimales et maximales (plage de dosage : PFA = 0,5-1,3 mg/L – PAA = 1-3 mg/L)**

	<b>Escherichia coli</b>		<b>Entérocoques</b>		
	<b>PFA</b>	<b>PAA</b>	<b>PFA</b>	<b>PAA</b>	
<b>Homs</b>	n	0,000 - 0,416	0,000 - 0,010	0,000 - 0,401	0,000 - 1,181
	m	0,000 - 0,491	0,001 - 1,141	0,353 - 0,774	0,225 - 1,809
	K	2,138 - 8,928	0,152 - 8,202	0,305 - 1,743	0,002 - 1,212
	R <sup>2</sup>	0,969 - 1,000	0,917 - 1,000	0,943 - 0,988	0,922 - 0,998
<b>Modèle S</b>	n	0,000 - 0,139	0,000 - 0,160	0,001 - 2,877	0,537 - 0,598
	m	0,020 - 8,794	3,059 - 24,561	0,916 - 3,524	0,633 - 4,671
	h	0,006 - 9,587	5,538 - 16,251	10,200 - 30,522	5,500 - 53,00
	K	6,217 - 17,571	4,303 - 8,294	6,011 - 37,479	2,296 - 4,457
	R <sup>2</sup>	0,984 - 1,000	0,969 - 1,000	0,930 - 0,999	0,943 - 1,000

PFA = solution d'acide performique Desifix

Le modèle de Homs démontre l'importance limitée des concentrations de désinfectant, à l'exception de le PAA contre les entérocoques intestinaux (valeurs « n » supérieures aux autres), ainsi que l'importance du temps de rétention, qui augmente en même temps que la résistance bactérienne (valeurs « m » pour les entérocoques intestinaux supérieures à celles d'*Escherichia coli*) et que la diminution de la force du désinfectant (valeurs « m » pour le PFA inférieures à celles pour le PAA). Ces résultats concordent avec ceux qui ont été publiés par Luukkonen *et al.* (2015). Les valeurs K des deux modèles ont également confirmé la plus grande sensibilité d'*Escherichia coli* face à la désinfection par rapport aux entérocoques intestinaux (valeurs *Escherichia coli* supérieures à celles des entérocoques intestinaux).

## 5. CAPACITÉ DE RÉUTILISATION DES EAUX USÉES TRAITÉES

Comme présenté en introduction, la désinfection des eaux usées a pour principal objectif de respecter une qualité d'eau adaptée au rejet dans les eaux de surface avec un seuil réglementaire fixé à 5 000 UFC/100 mL pour *Escherichia coli*. Cependant, d'autres utilisations pourraient être envisagées pour ces effluents si leur qualité bactériologique était adaptée. Par exemple, s'agissant d'une utilisation en agriculture dans les pays confrontés à des problématiques de sécheresse, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) recommande une valeur limite de 1000 UFC/100 mL pour les *Escherichia coli* et 400 UFC/100 mL pour entérocoques intestinaux. Les données acquises lors des essais industriels (2005-2011) ont été analysées de manière plus approfondie pour évaluer la capacité des différents réactifs à atteindre ces seuils de qualité dits « ambitieux ».

Le **Tableau 30** synthétise, pour chaque réactif utilisé, les pourcentages de cas, en sortie de désinfection, respectant différents seuils fixés.

**TABLEAU 30. Proportion de résultats respectant différents seuils de qualités bactériologiques à la sortie de désinfection en fonction des conditions opératoires (moyenne et plage de variation)**

Usine d'épuration	Désinfectant	Concentration mg/L	Temps de contact minutes			
Caorle	PFA-HP	1,3 (0,3-2,4)	28 (10 - 59)			
Eraclea	PFA	1,0 (0,6-1,2)	11 (6 - 19)			
Jesolo	PAA	1,6 (0,9-2,1)	16 (13 - 20)			
Caorle - Jesolo	HYP	2,8 (2,5-3,0)	17 (15 - 20)			
<b>Coliformes fécaux</b>		<b>Seuils (UFC/100 mL)</b>				
		<12,000	<2,400	<1,000	<100	
		PFA-HP	100%	88%	83%	55%
		PFA	-	-	-	-
		PAA	92%	42%	25%	0%
	HYP	100%	100%	100%	100%	
<b><i>Escherichia coli</i></b>		<5,000	<1,000	<100	<10	
		PFA-HP	100%	90%	67%	35%
		PFA	100%	100%	76%	31%
		PAA	92%	83%	17%	0%
		HYP	100%	93%	59%	14%
<b>Entéro- coques intes- tinaux</b>		<2,000	<400	<100	<10	
		PFA-HP	88%	78%	48%	15%
		PFA	100%	90%	69%	10%
		PAA	67%	17%	0%	0%
		HYP	95%	90%	37%	10%

PFA-HP = solution d'acide performique Hyproform ; PFA = solution d'acide performique Desinfix.

La conformité par rapport aux différents seuils fixés varie d'un réactif à l'autre. De manière générale, et quel que soit le seuil fixé, le PFA présente les meilleurs résultats pour les *Escherichia coli* et les entérocoques intestinaux. Le classement des différents réactifs en fonction du pourcentage de valeur respectant les seuils est le suivant pour les *Escherichia coli* et les entéro-

coques intestinaux : PFA > HYP~PFA-HP > PAA. Cet ordre est différent pour les coliformes fécaux avec un classement HYP > PFA-HP > PAA.

Le modèle ANCOVA appliqué aux résultats abordés précédemment, y compris aux concentrations et temps de contact (covariables), fournit des prévisions sur l'efficacité de désinfection ajustée selon les deux covariables. Le **Tableau 31** montre comment les différents systèmes peuvent garantir un faible niveau de risque microbiologique dans l'effluent.

**TABLEAU 31. Concentrations bactériennes (moyenne ± écart type) en sortie de désinfection en fonction des conditions opératoires décrites dans le Tableau 30**

	<i>Escherichia coli</i>	Entérocoques intestinaux	Coliformes fécaux
	UFC/100 mL	UFC/100 mL	UFC/100 mL
PFA	62 ± 81b	169 ± 153b	454 ± 429b
PAA	1143 ± 201a	1757 ± 375a	5276 ± 964a
HYP	643 ± 155a	1311 ± 310a	2784 ± 1609a,b

Principales variations significatives à  $p=0,05$ , avec valeurs a > valeurs b

Pour tous les indicateurs bactériens, le PFA est le plus efficace pour garantir un faible niveau de risque microbiologique. Les valeurs garanties en sortie de désinfection avec le PAA et le PFA sont respectivement 1,5 et 0,2 fois supérieures à celles obtenues avec le chlore. En d'autres termes, les valeurs microbiologiques dans l'effluent garanties par le PAA sont respectivement 7 et 9 fois supérieures à celles garanties par le PFA (pour les entérocoques intestinaux et *Escherichia coli*).

## 6. MAINTIEN DES PERFORMANCES AU COURS DU TEMPS

Suite à ces études, la technologie de désinfection au PFA a été adoptée dans toutes les usines d'épuration où les expériences ont été menées (Caorle, Eraclea, San Donà et Jesolo). Pour les différents intervalles de temps de contact des usines d'épuration au cours des six années d'expérience (2013-2018), le **Tableau 32** indique le nombre de contrôles effectués (nombre d'échantillons), les concentrations correspondantes appliquées et le pourcentage de résultats respectant les 1000 UFC/100 mL ainsi que les deux objectifs supplémentaires et plus ambitieux concernant *Escherichia coli*. Les caractéristiques physico-chimiques de l'effluent étaient typiques des usines d'épuration : certains paramètres clés sont indiqués en termes de moyenne, d'écart-type et de valeur maximale (entre parenthèses) dans le **Tableau 33**.

**TABLEAU 32. Proportion de résultats conformes aux différents seuils fixés pour *Escherichia coli*, obtenus entre 2013 et 2018 pour chaque intervalle de temps de contact et concentration en PFA**

Temps de contact min	Nombre Échantillons	% Échantillons conformes aux seuils fixés <i>Escherichia coli</i> - UFC/100 mL				[PFA] moyenne mg/L
		<1000	<100	<10	>1000	
≤ 10	56	96%	48%	0%	4%	0,7
10 - 20	127	98%	72%	9%	2%	0,6
>20 - 30	65	100%	31%	52%		0,6
>30 - 40	33	100%	27%	48%		0,6
>40	77	100%	55%	6%		0,6
<b>TOTAL</b>	<b>358</b>	<b>99%</b>	<b>53%</b>	<b>18%</b>	<b>1%</b>	<b>0,6</b>

**TABLEAU 33. Paramètres de qualité en entrée de désinfection de 2013 à 2018 ; moyenne ± écart type (valeur maximale)**

	MES mg/L	DCO mg O <sub>2</sub> /L	N-NH <sub>4</sub> mg/L	N-NO <sub>2</sub> mg/L
<b>Caorle</b>	10 ± 6,4 (36)	19 ± 6,8 (44)	0,58 ± 1,12 (7,0)	0,13 ± 0,13 (0,57)
<b>Eraclea</b>	9,3 ± 4,4 (35)	21 ± 6,4 (54)	1,35 ± 2,18 (17,9)	0,24 ± 0,22 (1,02)
<b>Jesolo</b>	10,0 ± 6,0 (33)	19 ± 7,2 (57)	1,85 ± 1,96 (7,8)	0,12 ± 0,10 (0,67)
<b>San Donà</b>	8,7 ± 3,6 (27)	19 ± 6,4 (45)	0,31 ± 0,57 (4,43)	0,06 ± 0,05 (0,28)

MES = matières en suspension ; DCO = demande chimique en oxygène

De manière générale, le seuil de 1000 UFC/100 mL pour les *Escherichia coli* a été respecté dans 99 % des cas. Les rares valeurs dépassant les 1000 UFC/100 mL ont été enregistrées à l'usine d'épuration Eraclea en haute saison. La limite établie pour la valorisation agricole en Italie (10 UFC/100 mL) a été respectée dans moins de 20 % des cas sur l'ensemble des installations, sauf à San Donà, où cette limite était respectée dans 58 % des cas.

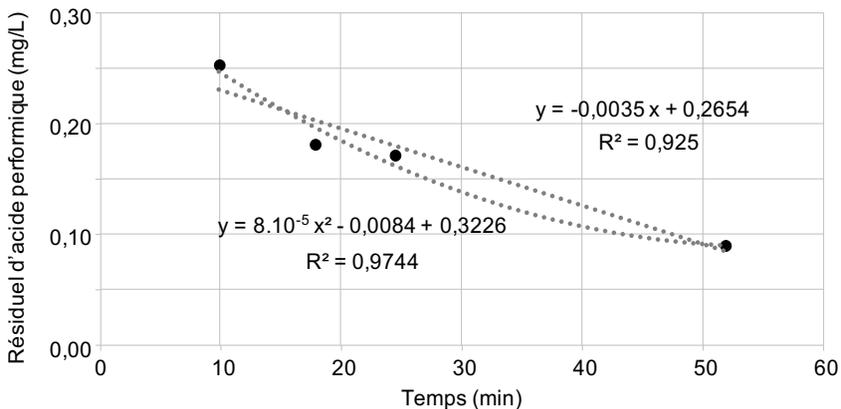
## 7. IMPACT SUR LES PARAMÈTRES CONVENTIONNELS ET PRODUCTION DE SOUS-PRODUITS RÉACTIONNELS

Sur la période de deux ans entre 2016-2017 et sur chaque installation, les résidus de PFA au niveau de l'émissaire de désinfection ont été mesurés trois fois par jour pour suivre la décomposition des résidus oxydants. Dans 97 % des

mesures, la dose de PFA était inférieure à 0,8 mg/L (moyenne totale : 0,6 mg/L), et les temps de rétention étaient respectivement inférieurs à 20 et 40 minutes dans 53 et 74 % des cas. Les temps de contact moyens au sein des réacteurs de désinfection suivaient l'ordre suivant : Caorle > San Donà > Jesolo > Eraclea, où les extrêmes étaient respectivement de 52 et 10 minutes.

La tendance des résidus de PFA au niveau du point d'évacuation de désinfection présentait une corrélation significative avec les temps de rétention dans les canaux de désinfection ( $R$  Spearman 0,66  $p < 0,01$ ), quels que soient la variation des matrices, l'incertitude de la méthode analytique (instruments de terrain) et les faibles concentrations de résidus. Contrairement au PFA, l' $H_2O_2$  a été rapidement consommé et, quel que soit le temps de contact, Caorle et Eraclea donnait lieu à des résidus entre 14 et 10 % des doses appliquées.

La **Figure 55** présente les concentrations résiduelles moyennes de PFA au niveau des quatre émissaires de désinfection d'usine d'épuration par rapport aux temps de contact moyens.



**FIGURE 55. Concentrations résiduelles moyennes de PFA (mg/L) en fonction des temps de contact au sein des réacteurs de désinfection d'Eraclea, Jesolo, San Donà et Caorle respectivement les points de gauche à droite ; les mesures ont été prises en 2016 et 2017**

Plusieurs études ont déjà fait état de la faible propension du PFA et du PAA à former des sous-produits de désinfection. En référence à d'autres auteurs, Luukkonen & Pehkonen (2017) ont montré, par exemple, que l'un des principaux avantages du PAA par rapport au chlore libre ou à l'ozone est sa probabilité réduite à former des sous-produits de désinfection (SPD). Ils ont également indiqué que le PFA, bien que moins étudié, forme des quantités de SPD similaires ou même légèrement inférieures à celles du PAA. De même, des résultats montrent des

impacts du PAA sur la concentration en matière organique de l'effluent, notamment avec une augmentation de la DCO et du COT. Il est possible de calculer cette hausse théorique à partir de la composition de l'équilibre de peracides (Luukkonen *et al.*, 2014).

L'impact du PFA sur la variation des paramètres de qualité des effluents désinfectés a été étudié à plusieurs reprises durant nos expériences, entre 2005 et 2017. Les études initiales ont analysé la variation de paramètres de qualité clés tels que le COT, la DBO5 et le pH en fonction des concentrations appliquées (Ragazzo *et al.*, 2013). Des recherches ultérieures sur les impacts du PFA se sont centrées sur les potentiels effets cytotoxiques, génotoxiques et mutagènes du PFA (Ragazzo *et al.*, 2017), ainsi que sur certaines implications (liées à son utilisation), telles que la toxicité directe potentielle pour l'environnement et la capacité à oxyder certaines catégories de composés organiques plus récalcitrants à l'oxydation (Ragazzo *et al.*, 2020).

Étant donné la capacité supérieure du PFA à réduire les indicateurs fécaux les plus résistants (entérocoques intestinaux) par rapport au PAA, sa capacité à oxyder les substances organiques a également été constamment étudiée, à la fois directement, sur des substances organiques génériques, et par des tests indirects (Ragazzo *et al.*, 2013, 2020).

Aucune variation du pH ni aucune oxydation de matières organiques n'ont été détectées aux doses appliquées à l'échelle industrielle (Ragazzo *et al.*, 2007, 2013). Ces résultats ont été ultérieurement confirmés par d'autres études révélant une faible capacité du PFA à oxyder des composés pharmaceutiques, les perturbateurs endocriniens et le bisphénol A (Gagnon *et al.*, 2008 ; Luukkonen *et al.*, 2015).

Pour chaque intervalle de temps de contact dans le réacteur de désinfection, les **Tableau 34** et **Tableau 35** comparent le COT et le formiate en utilisant respectivement les tests de Student et de Wilcoxon.

**TABLEAU 34. Comparaisons entre les concentrations de carbone organique total en entrée (T<sub>0</sub>) et sortie de désinfection (test t-student) pour les différents temps de contact - moyenne ± écart type (plage de variation)**

Temps de contact min	[PFA] mg/L	COT T <sub>0</sub> mg/L	COT Sortie mg/L	Probabilité
< 10	1,01±0,18	6,79 ± 0,63 (5,34 - 8,0)	6,94 ± 0,64 (5,40 - 7,8)	0,116
10 - 20	0,87±0,83	6,12±1,05 (4,47 - 8,95)	6,24 ± 0,97 (4,75 - 8,90)	0,032
20 - 30	0,89±0,46	7,19±1,30 (5,20 - 9,38)	7,17±1,31 (5,60 - 9,53)	0,084
> 30	1,16±0,60	7,37±1,13 (5,52 - 9,41)	7,57±1,19 (5,28 - 10,26)	0,001

COT = carbone organique total

**TABLEAU 35. Comparaisons entre les concentrations de formiates en entrée(T<sub>0</sub>) et sortie de désinfection (test du rang de Wilcoxon) pour les différents temps de contact - médianes (plage de variation).**

Temps de contact min	[PFA] mg/L	Formiates T <sub>0</sub> mg/L	Formiates Sortie mg/L	Probabilité
< 10	1,01±0,18	2,81 (1,62 - 3,6)	3,10 (1,97 - 3,6)	0,061
10 - 20	0,87±0,83	2,04 (1,35 - 10,89)	2,0 (0,82 - 11,08)	0,168
20 - 30	0,89±0,46	3,51 (1,15 - 9,77)	3,08 (1,15 - 9,92)	0,079
> 30	1,16±0,60	4,04 (1,45 - 10,31)	3,97 (1,40 - 10,50)	0,524

La comparaison est effectuée entre les valeurs calculées au niveau du point de dosage en entrée (valeurs stoechiométriques du dosage de PFA plus valeurs mesurées en entrée) et les valeurs mesurées à la sortie du réacteur de désinfection. Toutes les valeurs mesurées au niveau du point de sortie correspondent aux valeurs théoriques attendues ( $p > 0,05$ ), à l'exception de deux cas pour lesquels les valeurs de COT étaient supérieures à la sortie du réacteur.

Cependant, cette variation était contenue dans la gamme d'incertitude de la méthode analytique (5-10 %). Ces résultats indiquent une faible capacité du PFA à oxyder les substances organiques, même les plus simples, co-générées et coexistantes avec le désinfectant lui-même, en plus d'une tendance potentiellement faible à former des sous-produits.

Des essais spécifiques ont été réalisés en laboratoire pour évaluer la biodégradabilité des molécules résiduelles des désinfectants à base de carbone PFA-HP et du PAA. Les résultats ont montré une biodégradabilité plus faible des formiates (produit de décomposition coprésent et intermédiaire du PFA) par rapport aux acétates (produit de décomposition coprésent et intermédiaire du PAA) au regard de la DBO5.

Le **Tableau 36** montre l'augmentation de la matière carbonée (COT, DCO et DBO5) constatée suite à l'injection de PFA-HP et du PAA. Il est à noter que pour les solutions de PFA utilisées aujourd'hui (système de production DEX), ces augmentations sont respectivement de 0,7, 1,0 et 0,3 mg/L respectivement pour le COT, la DCO et la DBO5.

**TABLEAU 36. Concentrations carbonées apportées en COT, DCO et DBO5 par gramme de substance active injectée du PAA et de PFA-HP à différentes concentrations appliquées**

Désinfectant	Concentrations	COT	DCO	DBO5
	mg/L	mg/L	mg O <sub>2</sub> /L	mg O <sub>2</sub> /L
<b>PFA-HP</b>	2-50	1,3 ± 0,13	1,8 ± 0,13	0,5 ± 0,21
<b>PAA</b>	1-10	0,9 ± 0,03	-	1,1 ± 0,18
	2-50	0,9 ± 0,12	2,0 ± 0,17	1,6 ± 0,29

PFA-HP = acide performique Hyproform ; COT = carbone organique total ; DCO = demande chimique en oxygène ; DBO5 = demande biochimique en oxygène

L'effet toxique du PFA a été évalué sur le plan des sous-produits potentiels formés par réaction aux substances organiques et inorganiques présentes dans la matrice. La toxicité a été évaluée en termes d'écotoxicité induite sur *Vibrio fischeri* et *Daphnia magna* (aux doses appliquées à l'échelle industrielle à environ 1 mg/L en moyenne avec une plage de variations comprise entre 0,4 et 2,4 mg/L). Les caractéristiques potentiellement mutagène, cytotoxique et génotoxique ont été mesurées par effets à court terme sur les cellules cibles bactériennes, végétales et mammaliennes (à des concentrations comprises entre 0,6 et 1,5 mg/L).

Aucune diminution des émissions lumineuses de *Vibrio fischeri* ≥ 50 % (Ragazzo et al., 2013) n'a été enregistrée ni sur la mobilité de *Daphnia magna* (zéro effet

systématiquement signalé). La suppression de lumière, qui variait entre 0 % et 43 %, ne différerait pas des valeurs générales de l'effluent en l'absence de traitement de désinfection ( $p > 0,05$ ).

Les effets mutagènes et génotoxiques étaient systématiquement négatifs dans tous les essais *in vitro* réalisés sur des effluents désinfectés et non désinfectés. En revanche, sur les essais sur *Allium cepa*, dans certains échantillons d'eaux usées non concentrées, le traitement au PFA a effectivement provoqué une légère hausse des fréquences des micronoyaux dans les cellules souches, sans corrélation avec les doses de désinfectant (Ragazzo *et al.*, 2017).

## 8. PERFORMANCES GLOBALES DU PFA

Sur la base de l'ensemble des essais réalisés avec le PFA et le PAA entre 2011 et 2017, il a été possible d'estimer les concentrations, et donc les coûts associés, nécessaires pour garantir une qualité de désinfection adaptée. Pour les deux peracides, les doses d'injection ont été fixées à une valeur minimale suffisante pour assurer une concentration stable de 5 000 UFC/100 mL d'*Escherichia coli* en sortie de désinfection. Sur cette base, le **Tableau 37** synthétise le pourcentage de cas et les conditions pour lesquelles les concentrations en sorties sont inférieures au seuil dit ambitieux de 1000 UFC/100 mL pour les *Escherichia coli* et 400 UFC/100 mL pour entérocoques intestinaux.

**TABLEAU 37. Proportion de cas conformes au seuil de 20 % de la valeur limite ou recommandée (1000 UFC/100 mL pour les *Escherichia coli* et 400 UFC/100 mL pour entérocoques intestinaux) pour le PFA et le PAA ; les concentrations et temps de contact se réfèrent aux conditions pour lesquelles l'objectif est atteint**

Désinfectants	Concentrations mg/L	Indicateurs fécaux	Taux de conformité aux objectifs %	Proportions des conditions pour lesquelles l'objectif est atteint	
				TC < 20 min	TC ≥ 20 min
PFA	0,9	<i>Escherichia coli</i>	99	60	40
PAA	2,4	<i>Escherichia coli</i>	92	30	62
PFA	0,8	Entéro- coques	88	53	35
PAA	2,8	intestinaux	48	7	41

TC = Temps de Contact

En considérant dans l'ordre PFA et PAA, les objectifs de seuils « ambitieux » pour *Escherichia coli* ont été atteints dans 99 et 92 % des cas, ceux pour les entérocoques dans 88 et 48 % des situations. Les doses de PAA étaient 2 à 3 fois plus élevées que celles de PFA.

Les coûts associés à l'utilisation des désinfectants varient en fonction de différents facteurs (répartition, type d'usine d'épuration et caractéristiques des eaux usées, objectifs microbiologiques, etc.), c'est pourquoi les estimations fiables ne peuvent se faire que sur des cas d'études bien définis. Néanmoins, et du fait de la constance des résultats obtenus et abordés par Ragazzo *et al.* (2020), et sur la base de prix commerciaux moyens de substance active de PFA et de PAA de 10,8 €/kg et 7,6 €/kg respectivement (valeurs issues de données internes et d'études publiées – Luukkonen *et al.*, 2015; Maffettone *et al.*, 2018), les coûts de désinfection ont été évalués à 0,010 €/m<sup>3</sup> pour le PFA et à 0,018 €/m<sup>3</sup> pour le PAA.

## Points clés

- La technologie de désinfection à l'acide performique constitue une alternative adaptée au chlore et à l'acide peracétique pour désinfecter les effluents en sortie d'usine d'épuration.
- L'utilisation de l'acide performique permet des abattements plus élevés en bactéries que les autres réactifs de désinfection, cela à des concentrations 2 à 3 fois plus faibles.
- Aucune variation de pH ni aucune oxydation de matières organiques n'a été détectée aux doses d'acide performique appliquées à l'échelle industrielle.
- Aucun effet de dépression n'a été enregistré sur les émissions lumineuses de *Vibrio fischeri*, ni sur la mobilité de *Daphnia magna*.
- Les effets mutagènes et génotoxiques étaient systématiquement négatifs dans tous les essais *in vitro* réalisés sur des effluents désinfectés. Certains échantillons non concentrés ont présenté une légère hausse des fréquences des micronoyaux dans les cellules souches d'*Allium cepa*, mais sans corrélation avec les doses de désinfectant.
- Les coûts de désinfection ont été évalués à 0,010 €/m<sup>3</sup> pour l'acide performique et à 0,018 €/m<sup>3</sup> pour l'acide peracétique.



## Conclusion générale

---

Jamais, dans un référentiel de plus de quarante ans, la Seine n'a été aussi propre à la traversée de l'agglomération parisienne. L'augmentation croissante du nombre d'espèces de poissons, hôtes naturels du fleuve, constatée chaque année depuis la fin du siècle dernier en est l'un des meilleurs témoins. Outre la modernisation des procédés de traitement et le développement d'outils d'aide à la gestion du système d'assainissement, l'évolution constante du rôle des usines d'épuration a été un facteur essentiel à cette amélioration. Construites en premier lieu pour traiter le carbone, étendues ensuite pour éliminer l'azote, complétées enfin pour abattre le phosphore, les usines d'épuration ont été la clé de voute d'une stratégie d'évolution de l'outil industriel mis à disposition de l'assainissement francilien pour participer à la restauration de la qualité physico-chimique et bactériologique de la Seine, un fleuve sous forte pression anthropique.

Cette qualité retrouvée a donné de nouvelles perspectives d'utilisations du fleuve : non plus seulement comme un corridor fluvial d'intérêt pour le transport, mais également comme un lieu de rencontre des populations autour d'activités récréatives. La candidature de Paris aux Jeux Olympiques et Paralympiques de 2024 a accéléré cette volonté de reconquête de la Seine et a fait office de catalyseur pour continuer à investir pour une eau de qualité sanitaire adaptée à des usages jusqu'alors perdus. Les anciennes photographies en noir et blanc des Parisiens en maillot de bain au bord de l'eau vont très prochainement être remplacées par des « selfies » sur les réseaux sociaux. La baignade à Paris, disparue dans les années 1960, pourra bientôt retrouver sa place.

Pour que cet objectif devienne réalité, il est nécessaire de pouvoir assurer une qualité sanitaire de la Seine à tout instant en adéquation avec les enjeux

fixés et garantir un apport encore plus faible en micro-organismes dans le fleuve. La désinfection des rejets d'usines d'épuration fait partie du panel de solutions retenues dans le cadre du plan Qualité de l'Eau et Baignade lancé en 2016 par les acteurs du territoire pour garantir cet objectif.

La recherche d'une technologie de désinfection efficace, sobre et en parfaite harmonie avec le milieu naturel a permis de catalyser l'innovation scientifique. Ainsi, le SIAAP et ses partenaires scientifiques ont engagé une étude de plus de deux ans pour comprendre, examiner, évaluer, tester et valider une technologie adaptée aux conditions locales. Et parmi les solutions pour la désinfection des eaux usées qui ont émergé au cours des dernières décennies, c'est l'acide performique qui est apparu comme la solution la plus adaptée aux usines d'épuration du SIAAP.

Les résultats de cette étude, couvrant trois volets différents que sont l'évaluation de l'efficacité de la désinfection chimique à l'acide performique, la détermination des conditions opératoires et la vérification de son innocuité environnementale ont été synthétisés dans cet ouvrage. Pour cela, d'une part, des essais ont été réalisés en laboratoire afin de déterminer l'efficacité de la méthode de désinfection et notamment d'identifier les conditions de mise en œuvre de cette solution innovante. D'autre part, des tests ont été menés en phase de pré-déploiement à l'échelle industrielle. Pour cela, des unités de désinfection permettant l'injection d'acide performique ont été mises en place au sein de l'usine d'épuration Seine Valenton en vue de valider la technologie dans un contexte industriel et d'en confirmer l'innocuité environnementale.

Trois idées principales sont à retenir des milliers d'heures de travail collectif que nous avons consacrées à ce sujet :

- L'application d'une concentration de 1 mg/L d'acide performique durant un temps de contact supérieur à 10 minutes garantit des concentrations faibles en bactéries indicatrices fécales dans les eaux désinfectées.
- L'utilisation d'un panel d'outils biologiques représentatifs montre l'absence d'effets de l'acide performique en termes de perturbation endocrinienne et de toxicité générale.
- La désinfection à l'acide performique cause des lésions irréversibles aux *Escherichia coli* et aux entérocoques intestinaux et élimine un panel plus large de micro-organismes que ces seules bactéries, ce qui permet d'envisager une application au-delà des rejets d'usines d'épuration.

Ce travail a permis d'éclairer les décisionnaires sur les choix à réaliser, en termes de désinfection, à l'échelle de l'agglomération parisienne. Ainsi, une unité de désinfection par acide performique a été installée, à échelle industrielle, sur l'usine Seine Valenton. Mise en eau à l'été 2023, elle sera opérationnelle pour les Jeux Olympiques et Paralympiques, en juillet 2024. Elle aura pour objectif de désinfecter les eaux usées traitées en amont de Paris. Cette solution contribuera, au même titre que les autres actions du plan Qualité de l'Eau et Baignade, à garantir la réalisation des épreuves sportives dans la Seine.



## Liste des figures

---

—	FIGURE 1. Contribution des apports de l'usine Seine Valenton et des rejets urbains de temps de pluie à la concentration en bactéries indicatrices fécales ( <i>Escherichia coli</i> ) de la Seine sur le site du pont du Port à l'Anglais situé à l'aval .....	XIX
—	FIGURE 2. Synthèse des principales étapes de préparation du PFA (a), de titration du PFA (b) et du protocole de désinfection (c).....	5
—	FIGURE 3. Cinétique de décomposition du PFA à différentes températures.....	7
—	FIGURE 4. Concentrations en bactéries indicatrices fécales ( <i>Escherichia coli</i> et entérocoques intestinaux - NPP/100 mL) avant et après désinfection par différents réactifs utilisés à différentes concentrations avec un temps de contact de 10 min ( $C \times t$ en ppm.min).....	10
—	FIGURE 5. Concentrations (a) et abattements (b) des bactéries indicatrices fécales ( <i>Escherichia coli</i> et entérocoques intestinaux) avant et après désinfection par acide performique (PFA) injecté à différentes concentrations avec un temps de contact de 10 min ( $C \times t$ en ppm.min).....	13
—	FIGURE 6. Concentrations logarithmiques en bactéries indicatrices fécales après désinfection à l'acide performique (PFA) injecté à différentes concentrations et différents temps de contact normalisés en fonction de la concentration initiale en bactéries (a), de la concentration initiale en matières en suspension (b) et de la concentration initiale en matière organique (c).....	17
—	FIGURE 7. Évaluation de l'influence de la concentration initiale en matières en suspension (MES) sur l'efficacité de la désinfection à l'acide performique (PFA).....	20
—	FIGURE 8. Concentrations (a) et abattements (b) des bactéries indicatrices fécales ( <i>Escherichia coli</i> et entérocoques intestinaux) avant et après	

désinfection par acide performique (PFA) injecté à différentes concentrations avec un temps de contact de 10 min ( $C \times t$ en ppm.min).....	24
— FIGURE 9. Protocoles expérimentaux de préparation (a) des inocula, (b) de réalisation des essais de reviviscence et (c) des tests de viabilité .....	35
— FIGURE 10. Évolution des concentrations logarithmiques (log NPP/100 mL) des bactéries indicatrices fécales ( <i>Escherichia coli</i> et entérocoques intestinaux) sur une durée de 24 heures avant et après désinfection à l'acide performique à une concentration de 0,8 ppm avec un temps de contact de 10 min en conditions d'éclairage de laboratoire .....	37
— FIGURE 11. Évolution des concentrations logarithmiques (log NPP/100 mL) des bactéries indicatrices fécales ( <i>Escherichia coli</i> et entérocoques intestinaux) sur une durée de 6 heures avant et après désinfection à l'acide performique à une concentration de 0,8 ppm avec un temps de contact de 10 min en conditions de rayonnements simulant le spectre solaire .....	39
— FIGURE 12. Intensités de fluorescence des <i>Escherichia coli</i> obtenues par cytométrie de flux avant et après désinfection à l'acide performique à une concentration de 0,8 ppm avec un temps de contact de 10 min.....	41
— FIGURE 13. État des populations bactériennes ( <i>Escherichia coli</i> et entérocoques intestinaux) obtenues par cytométrie de flux (en pourcentage de la population totale) avant et après désinfection à l'acide performique à une concentration de 0,8 ppm avec un temps de contact de 10 min ( $C \times t$ en ppm.min).....	42
— FIGURE 14. Concentrations en carbone organique dissous (mg C/L) mesurées et calculées de manière théorique avant et après désinfection à l'acide performique à différentes concentrations avec un temps de contact de 10 min ( $C \times t$ en ppm.min).....	47
— FIGURE 15. Exemple d'un spectre de fluorescence en 3 dimensions (spectre 3D) avec identification des bandes de fluorescence d'intérêt.....	49
— FIGURE 16. Spectres de fluorescence 3D obtenus pour 2 échantillons d'eau de rejet de l'usine SEV avant et après désinfection par l'acide performique à différentes concentrations avec un temps de contact de 10 min ( $C \times t$ en ppm.min).....	50
— FIGURE 17. Valeurs moyennes ( $n=3$ ) d'intensités de fluorescence des différentes bandes ( $\gamma$ , $\delta$ , $\beta$ , $\alpha'$ , $\alpha$ ) avant et après désinfection par l'acide performique à différentes concentrations avec un temps de contact de 10 min ( $C \times t$ en ppm.min).....	52
— FIGURE 18. Valeurs d'intensités de fluorescence des différentes bandes ( $\gamma$ , $\delta$ , $\beta$ , $\alpha'$ , $\alpha$ ) avant et après désinfection par l'acide performique à des concentrations très élevées avec un temps de contact de 10 min ( $C \times t$ en ppm.min).....	53

—	FIGURE 19. Cinétiques de décomposition de l'acide performique au temps $t$ ( $[PFA]_t$ ) par rapport à la concentration initiale ( $[PFA]_0$ ) à différentes températures dans les eaux de rejet de l'usine d'épuration (a) et dans les eaux de Seine (b).....	55
—	FIGURE 20. Cinétiques de décomposition de l'acide performique au temps $t$ ( $[PFA]_t$ ) par rapport à la concentration initiale ( $[PFA]_0 - 1$ à 1,2 ppm) dans les eaux de rejet de l'usine Seine Valenton.....	57
—	FIGURE 21. Empreinte chromatographique (spectrométrie de masse haute résolution - UPLC-IMS-QTOF) des composés organiques contenus dans les eaux traitées avant (cercles bleus) et après (cercles oranges) désinfection à l'acide performique à 2 ppm avec un temps de contact de 10 min.....	81
—	FIGURE 22. Diagramme d'Euler représentant le nombre total de marqueurs d'intensité supérieure à 1000 détectés dans un échantillon d'eau traitée avant (violet) et après (vert) désinfection à l'acide performique à 2 ppm avec un temps de contact de 10 min.....	83
—	FIGURE 23. Nombre total de marqueurs d'intensité supérieure à 10 000 détectés en mode d'ionisation positive par spectrométrie de masse haute résolution (UPLC-IMS-QTOF) de différents types d'échantillons (eau brute, eau décantée, eau traitée) avant et après désinfection à l'acide performique (PFA) à différentes concentrations et avec un temps de contact de 10 min.....	84
—	FIGURE 24. Occurrence de l'acetaminophène, du 11-nor-9-carboxy-tetrahydrocannabinol (métabolite du THC) et du sulfaméthoxazole détectés par spectrométrie de masse haute résolution (UPLC-IMS-QTOF) avec identification des marqueurs d'intensité avant et après désinfection à l'acide performique (PFA) à différentes concentrations et avec un temps de contact de 10 min.....	86
—	FIGURE 25. Evolution des intensités des différentes catégories de micropolluants lors de la désinfection par acide performique à différentes concentrations durant un temps de contact de 10 min (10 et 20 ppm.min), détectées par spectrométrie de masse haute résolution (UPLC-IMS-QTOF)....	87
—	FIGURE 26. Description des filières de traitement de l'usine Seine Valenton du SIAAP (Val-de-Marne).....	94
—	FIGURE 27. Principe de fonctionnement de l'unité d'injection de l'acide performique (KemConnect™ DEX, KEMIRA).....	95
—	FIGURE 28. Description des points de prélèvement en amont et en aval de l'injection de l'acide performique (PFA) et en amont et en aval du rejet en Seine de l'usine d'épuration Seine Valenton.....	97
—	FIGURE 29. Exemple de signal de fluorescence obtenu avec le système ALERT.....	109

—	FIGURE 30. (a) Comparaison de l'intensité de fluorescence obtenue par le système ALERT avec les concentrations en <i>Escherichia coli</i> dans les eaux de rejet d'usine d'épuration. (b) Comparaison des concentrations en <i>Escherichia coli</i> obtenues par le système ALERT avec la méthode de référence en laboratoire pour les différentes phases (test, calibration, validation).....	112
—	FIGURE 31. Comparaison des concentrations en <i>Escherichia coli</i> obtenues par le système ALERT avec la méthode de référence en laboratoire pour l'ensemble des échantillons (gauche) et pour chaque type d'échantillon de manière distincte (droite).....	115
—	FIGURE 32. Concentrations en <i>Escherichia coli</i> mesurées sur différents échantillons avant et après désinfection par le système ALERT et par la méthode de référence en laboratoire .....	117
—	FIGURE 33. Concentrations médianes (a) et abattements moyens (b) des bactéries indicatrices fécales au rejet de l'usine d'épuration Seine Valenton avant et après désinfection à l'acide performique (PFA) pour différents intervalles de concentrations et temps de contact ( $C \times t$ en ppm.min).....	123
—	FIGURE 34 . Concentrations médianes en carbone organique dissous (COD), demande chimique en oxygène (DCO) et pH au rejet de l'usine d'épuration Seine Valenton avant et après désinfection à l'acide performique (PFA) injecté à différentes concentrations et différents temps de contact.....	127
—	FIGURE 35. Concentrations en <i>Escherichia coli</i> après désinfection à l'acide performique (PFA) à différentes concentrations (a) en fonction des heures de prélèvement à l'échelle journalière et (c) en fonction du temps de contact ( $C \times t$ en ppm.min) et abattements logarithmiques associés (b) en fonction des heures de prélèvement à l'échelle journalière et (d) de la concentration initiale en <i>Escherichia coli</i> pour une concentration et un temps de contact compris entre 18 et 26 ppm.min .....	129
—	FIGURE 36. Concentrations médianes et abattements logarithmiques moyens des bactéries indicatrices fécales au rejet de l'usine Seine Valenton en amont et en aval de la désinfection à l'acide performique (PFA) injecté à des doses comprises entre 30 et 50 ppm.min lors de situations d'exploitation normales et dégradées.....	132
—	FIGURE 37. Concentrations résiduelles en bactéries indicatrices fécales au rejet de l'usine d'épuration Seine Valenton après désinfection à l'acide performique (PFA) injecté à différentes doses ( $C \times t$ ) en fonction de la concentration initiale en bactéries (a), de la concentration initiale en matières en suspension (b) et de la concentration initiale en matière organique (c).....	134
—	FIGURE 38. Comparaison des estimations de concentration (en log NPP/100 mL) en <i>Escherichia coli</i> obtenues par simulation et par analyse pour le scénario F3 (figure de gauche) et pour le scénario S2 (figure de droite).....	144

—	FIGURE 39. Observation des têtards utilisés comme bio-indicateurs sous lumière blanche et par fluorescence à des longueurs d'ondes spécifiques, mis en contact avec différents types d'eau (polluée et témoin).....	155
—	FIGURE 40. Échelle de lecture des résultats obtenus pour les différents modèles biologiques de perturbation endocrinienne .....	159
—	FIGURE 41. Protocole expérimental d'évaluation de l'innocuité des eaux usées désinfectées une fois rejetées en Seine .....	162
—	FIGURE 42. Résultats à l'échelle laboratoire des tests de toxicité générale [effet sur la croissance des populations (%)] des eaux usées traitées avec et sans désinfection à l'acide performique mélangées aux eaux de Seine .....	163
—	FIGURE 43. Résultats à l'échelle laboratoire des tests de perturbation oestrogénique [en équivalents hormonaux d'éthinylestradiol (EE2/L) et en effets physiologiques observables (%)] des eaux usées traitées avant et après désinfection à l'acide performique mélangées aux eaux de Seine .....	166
—	FIGURE 44. Résultats à l'échelle laboratoire des tests de perturbation androgénique [en équivalents hormonaux de flutamide ( $\mu\text{g}$ flutamide/L) et en effets physiologiques observables (%)] des eaux usées traitées avant et après désinfection à l'acide performique mélangées aux eaux de Seine .....	168
—	FIGURE 45. Résultats à l'échelle industrielle des tests de toxicité générale [effet sur la croissance des populations (%)] des eaux usées traitées avant et après désinfection à l'acide performique à différentes concentrations une fois rejetées en Seine .....	172
—	FIGURE 46. Résultats à l'échelle industrielle des tests de perturbation oestrogénique [en équivalents hormonaux ethinyloestradiol (EE2/L) et en effets physiologiques observables (%)] des eaux usées traitées avant et après désinfection à l'acide performique une fois rejetées en Seine .....	176
—	FIGURE 47. Paramètres morphométriques des bivalves (Longueur (L) = du niveau antérieur au niveau postérieur, Hauteur (H) = distance dorso-ventrale, Largeur (La) = distance inter-valves) .....	186
—	FIGURE 48. Abattement logarithmique ( $\log [N_t/N_0]$ ) avec $N_0$ le nombre d'individus avant traitement des <i>Escherichia coli</i> (gauche) et des entérocoques intestinaux ( <i>Escherichia faecalis</i> , droite) après désinfection par l'acide performique (N = 145 échantillons) .....	187
—	FIGURE 49. Arbre conditionnel avec la valeur d'analyse bactériologique pour l'organisme <i>Escherichia coli</i> après désinfection à l'acide performique en variant différents paramètres (e.g. turbidité, conductivité, température) .....	189
—	FIGURE 50. Distribution des espèces observables à l'extrémité du canal de rejet .....	190
—	FIGURE 51. Comparaison des caractéristiques morphométriques de spécimens collectés au rejet de l'usine en 2015 (gauche) et 2017 (droite) par analyse en composantes principales .....	192

Liste des figures

—	FIGURE 52. Rapport entre les gènes de moules collectées en sortie de désinfection et sur un site témoin le même jour .....	193
—	FIGURE 53. Premier système de production de PFA Hyproform (Kemira Oyj) utilisé pour des tests en lots sur des matrices réelles : prototype (a, b - 2005) et système pilote (c, d - 2006).....	197
—	FIGURE 54. Comparaisons des probabilités des désinfectants d'atteindre et de dépasser la réduction logarithmique bactérienne pour un temps de réduction de 10 à 20 minutes dans le réacteur de désinfection.....	206
—	FIGURE 55. Concentrations résiduelles moyennes de PFA (mg/L) en fonction des temps de contact au sein des réacteurs de désinfection d'Eraclea, Jesolo, San Donà et Caorle.....	212

## Liste des tableaux

---

— TABLEAU 1. Concentrations (UFC/100 mL) et abattements logarithmiques (Unités log) des spores de bactéries anaérobies sulfitoréductrices (SSR) et des bactériophages ARN-f pour différents échantillons (Ech.) avant et après désinfection par acide performique (PFA) injecté à différentes concentrations avec un temps de contact de 10 min ( $C \times t$ en ppm.min).....	28
— TABLEAU 2. Localisation spectrale des bandes de fluorescence d'intérêt de la matière organique dissoute et interprétation.....	49
— TABLEAU 3. Évaluation des temps de demi-vie ( $t_{1/2}$ en min) de l'acide performique (concentration initiale de 2,5 ppm) dans les eaux de rejet de l'usine d'épuration et dans les eaux de surface (Seine). Certains échantillons ont été filtrés à 0,45 $\mu\text{m}$ .....	56
— TABLEAU 4. Formation des composés halogénés de différents types d'échantillons (eau brute, eau décantée, eau traitée) avant et après désinfection à l'acide performique (PFA) à différentes concentrations avec un temps de contact de 10 min ( $C \times t$ en ppm.min).....	68
— TABLEAU 5. Concentrations en ions bromure avant et après désinfection à l'acide performique à différentes concentrations et avec un temps de contact de 10 min ( $C \times t$ en ppm.min).....	70
— TABLEAU 6. Liste des composés non-halogénés (N-nitrosamines) analysés et paramètres analytiques associés à leur détection par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (GC-MS/MS).....	73
— TABLEAU 7. Concentrations en composés non-halogénés (N-nitrosamines) dans différents types d'échantillons (eau brute, eau décantée, eau traitée) avant et après désinfection à l'acide performique à différentes concentrations et avec un temps de contact de 10 min ( $C \times t$ en ppm.min).....	76

Liste des tableaux

— TABLEAU 8. Valeurs caractéristiques des marqueurs d'intensité obtenus avant et après désinfection par acide performique à 2 ppm avec un temps de contact de 10 min.....	82
— TABLEAU 9. Conditions d'injection de l'acide performique (PFA) au rejet de l'usine d'épuration Seine Valenton du SIAAP.....	96
— TABLEAU 10. Nombre de prélèvements journaliers pour chaque paramètre analysé durant les 10 semaines d'essais à l'échelle industrielle.....	100
— TABLEAU 11. Méthodes analytiques, limites de quantification et incertitudes analytiques estimées pour la détermination des paramètres.....	102
— TABLEAU 12. Données statistiques des concentrations et abattement en <i>Escherichia coli</i> obtenues avant et après désinfection par le système ALERT et la méthode de référence en laboratoire.....	117
— TABLEAU 13. Valeurs moyennes des paramètres physico-chimiques mesurés au rejet de l'usine d'épuration Seine Valenton avant et après désinfection ...	121
— TABLEAU 14. Concentrations et abattements logarithmiques des <i>Escherichia coli</i> , entérocoques intestinaux, spores de bactéries anaérobies sulfitoréductrices et bacteriophages ARN-F au rejet de l'usine d'épuration Seine Valenton en amont et en aval de la désinfection à l'acide performique (PFA) pour différentes concentrations (ppm) et doses (C x t en ppm.min).....	125
— TABLEAU 15. Concentrations de composés organique halogénés (AOX), d'ions bromures et d'ions bromates au rejet de l'usine d'épuration Seine Valenton en amont et en aval de la désinfection à l'acide performique (PFA) pour différentes concentrations (ppm) et doses (C x t en ppm.min).....	128
— TABLEAU 16. Liste des variables suivies et paramètres explicatifs pris en compte dans la construction du modèle mathématique.....	138
— TABLEAU 17. Principaux résultats obtenus avec les modèles construits en utilisant la base de données complète.....	141
— TABLEAU 18. Principaux résultats obtenus lors de l'étude des interactions bidirectionnelles dans le cadre des procédures d'identification de modèles.....	142
— TABLEAU 19. Principaux résultats obtenus pour les modèles avec interactions construits en utilisant la base de données complète.....	143
— TABLEAU 20. Description des modèles biologiques d'évaluation de la toxicité générale.....	150
— TABLEAU 21. Grille de lecture des résultats obtenus pour les différents modèles biologiques de toxicité générale.....	153
— TABLEAU 22. Description des modèles biologiques d'évaluation de la perturbation endocrinienne.....	154
— TABLEAU 23. Synthèse des principales études menées en laboratoire et à l'échelle industrielle pendant la période 2005-2018.....	198

— TABLEAU 24. Méthodes chimiques et microbiologiques appliquées en laboratoire et à l'échelle industrielle .....	200
— TABLEAU 25. Conditions opératoires des expérimentations à échelle industrielle - Moyenne (minimum - maximum).....	202
— TABLEAU 26. Qualité physico-chimique et bactériologique (Médiane et plage de variation) des effluents en entrée du réacteur de désinfection lors des études à échelle industrielle menées de 2005 à 2011.....	203
— TABLEAU 27. Moyenne (plage de variation) des abattements bactériens (log) atteints grâce aux différents désinfectants, dans les conditions opératoires de concentration et de temps de contact spécifiques (via le test de Kruskal-Wallis) lors des études industrielles menées de 2005 à 2011 .....	205
— TABLEAU 28. Classement des désinfectants par ordre d'efficacité pour les indicateurs fécaux de 2005 à 2011 par le test ANCOVA .....	207
— TABLEAU 29. Paramètres cinétiques de désinfection estimés pour les modèles Homs et S, valeurs minimales et maximales (plage de dosage : PFA = 0,5-1,3 mg/L - PAA = 1-3 mg/L).....	207
— TABLEAU 30. Proportion de résultats respectant différents seuils de qualités bactériologiques à la sortie de désinfection en fonction des conditions opératoires (moyenne et plage de variation).....	209
— TABLEAU 31. Concentrations bactériennes (moyenne ± écart type) en sortie de désinfection en fonction des conditions opératoires décrites dans le <b>Tableau 30</b> .....	210
— TABLEAU 32. Proportion de résultats conformes aux différents seuils fixés pour <i>Escherichia coli</i> , obtenus entre 2013 et 2018 pour chaque intervalle de temps de contact et concentration en PFA.....	211
— TABLEAU 33. Paramètres de qualité en entrée de désinfection de 2013 à 2018 ; moyenne ± écart type (valeur maximale).....	211
— TABLEAU 34. Comparaisons entre les concentrations de carbone organique total en entrée ( $T_o$ ) et sortie de désinfection (test t-student) pour les différents temps de contact - moyenne ± écart type (plage de variation).....	214
— TABLEAU 35. Comparaisons entre les concentrations de formiates en entrée ( $T_o$ ) et sortie de désinfection (test du rang de Wilcoxon) pour les différents temps de contact - médianes (plage de variation). .....	214
— TABLEAU 36. Concentrations carbonées apportées en COT, DCO et DBO5 par gramme de substance active injectée du PAA et de PFA-HP à différentes concentrations appliquées .....	215
— TABLEAU 37. Proportion de cas conformes au seuil de 20 % de la valeur limite ou recommandée (1000 UFC/100 mL pour les <i>Escherichia coli</i> et 400 UFC/100 mL pour entérocoques intestinaux) pour le PFA et le PAA.....	216



# Références

---

## Introduction générale

- Laborie, B., Rocher, V., Vilmin, L., Poulin, M., Raimonet, M., Benard, L., Bernier, J., Guérin, S., Cussonneau, A., Pouillaude, J., Escoffier, N., Groleau, A., Mouchel, J-M, & FLIPO, N. (2016). Le modèle de prédiction de la qualité de la Seine ProSe. *Techniques Sciences et Méthodes*, **11**, 43-61.
- Poulin, M., Flipo, N., Billen, G., & Garnier, J. (2009). ProSe, problématiques nouvelles et développements attendus. *Rapport d'activité PIREN-Seine*.
- Rocher, V., & Azimi, S. (2016). *Microbial quality of waters in the Paris area: from wastewaters to surface waters*. Johanet publisher, 94. ISBN: 979-10-91089-29-6
- Rocher, V., & Azimi, S. (2017). *Improvement of the river Seine quality in connection with the sanitation changes: from 1975 to 2015*. Johanet Publisher, 76. ISBN: 979-10-91089-31-9

## Partie 1 — Chapitre 1

- Chhetri, R. K., Flagstad, R., Munch, E. S., Hørning, C., Berner, J., Kolte-Olsen, A., ... & Andersen, H. R. (2015). Full scale Évaluation of combined sewer overflows disinfection using performic acid in a sea-outfall pipe. *Chemical Engineering Journal*, **270**, 133-139. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.01.136>

- Chhetri, R. K., Klupsch, E., Andersen, H. R., & Jensen, P. E. (2018). Treatment of Arctic wastewater by chemical coagulation, UV and peracetic acid disinfection. *Environmental Science and Pollution Research*, **25**, 32851-32859. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8585-5>
- Chhetri, R. K., Thornberg, D., Berner, J., Gramstad, R., Öjstedt, U., Sharma, A. K., & Andersen, H. R. (2014). Chemical disinfection of combined sewer overflow waters using performic acid or peracetic acids. *Science of the Total Environment*, **490**, 1065-1072. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.079>
- Gehr, R., Chen, D., & Moreau, M. (2009). Performic acid (PFA): Tests on an advanced primary effluent show promising disinfection performance. *Water Science and Technology*, **59**(1), 89-96. <https://doi.org/10.2166/wst.2009.761>
- Goffin, A., Guérin, S., Rocher, V., & Varrault, G. (2018). Towards a better control of the wastewater treatment process: excitation-emission matrix fluorescence spectroscopy of dissolved organic matter as a predictive tool of soluble BOD 5 in influents of six Parisian wastewater treatment plants. *Environmental Science and Pollution Research*, **25**, 8765-8776. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1205-1>
- Karpova, T., Pekonen, P., Gramstad, R., Öjstedt, U., Laborda, S., Heinonen-Tanski, H., ... & Jiménez, B. (2013). Performic acid for advanced wastewater disinfection. *Water science and technology*, **68**(9), 2090-2096. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.468>
- Luukkonen, T., Heyninck, T., Rämö, J., & Lassi, U. (2015). Comparison of organic peracids in wastewater treatment: Disinfection, oxidation and corrosion. *Water research*, **85**, 275-285. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.08.037>
- Luukkonen, T., & Pehkonen, S. O. (2017). Peracids in water treatment: a critical review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, **47**(1), 1-39. <https://doi.org/10.1080/10643389.2016.1272343>
- McFadden, M., Loconsole, J., Schockling, A. J., Nerenberg, R., & Pavissich, J. P. (2017). Comparing peracetic acid and hypochlorite for disinfection of combined sewer overflows: Effects of suspended-solids and pH. *Science of the Total Environment*, **599**, 533-539. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.179>
- Mora, M., Veijalainen, A. M., & Heinonen-Tanski, H. (2018). Performic acid controls better clostridium tyrobutyricum related bacteria than peracetic acid. *Sustainability*, **10**(11), 4116. <https://doi.org/10.3390/su10114116>
- Passerat, J., Ouattara, N. K., Mouchel, J. M., Rocher, V., & Servais, P. (2011). Impact of an intense combined sewer overflow event on the microbiological water

- quality of the Seine River. *Water research*, **45**(2), 893-903. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2010.09.024>
- Ragazzo, P., Chiucchini, N., Piccolo, V., & Ostoich, M. (2013). A new disinfection system for wastewater treatment: performic acid full-scale trial Évaluations. *Water science and technology*, **67**(11), 2476-2487. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.137>
- Ragazzo, P., Chiucchini, N., Piccolo, V., Spadolini, M., Carrer, S., Zanon, F., & Gehr, R. (2020). Wastewater disinfection: long-term laboratory and full-scale studies on performic acid in comparison with peracetic acid and chlorine. *Water Research*, **184**, 116169. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116169>
- Ragazzo, P., Feretti, D., Monarca, S., Dominici, L., Ceretti, E., Viola, G., ... & Villarini, M. (2017). Évaluation of cytotoxicity, genotoxicity, and apoptosis of wastewater before and after disinfection with performic acid. *Water research*, **116**, 44-52. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.03.016>
- Rocher V. and Azimi S. (2016). *Microbial quality of waters in the Paris area: from wastewaters to surface waters*. Johanet publisher, 94 pages. ISBN: 979-10-91089-29-6
- Rocher, V., Paffoni, C., Gonçalves, A., Guérin, S., Azimi, S., Gasperi, J., ... & Paus, A. (2012). Municipal wastewater treatment by biofiltration: comparisons of various treatment layouts. Part 1: assessment of carbon and nitrogen removal. *Water Science and Technology*, **65**(9), 1705-1712. <https://doi.org/10.2166/wst.2012.105>
- Tondera, K., Klaer, K., Koch, C., Hamza, I. A., & Pinnekamp, J. (2016). Reducing pathogens in combined sewer overflows using performic acid. *International journal of hygiene and environmental health*, **219**(7), 700-708. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.04.009>

## Partie 1 — Chapitre 2

- Antonelli, M., Turolla, A., Mezzanotte, V., & Nurizzo, C. (2013). Peracetic acid for secondary effluent disinfection: a comprehensive performance assessment. *Water science and technology*, **68**(12), 2638-2644. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.542>
- Bianculllo, F., Moreira, N. F., Ribeiro, A. R., Manaia, C. M., Faria, J. L., Nunes, O. C., ..., & Silva, A. M. (2019). Heterogeneous photocatalysis using UVA-LEDs for the removal of antibiotics and antibiotic resistant bacteria from urban

- wastewater treatment plant effluents. *Chemical Engineering Journal*, **367**, 304–313. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.02.012>
- Bohrerova, Z., & Linden, K. G. (2007). Standardizing photoreactivation: Comparison of DNA photorepair rate in *Escherichia coli* using four different fluorescent lamps. *Water Research*, **41**(12), 2832–2838. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.03.015>
- Bohrerova, Z., Rosenblum, J., & Linden, K. G. (2015). Importance of recovery of *E. coli* in water following ultraviolet light disinfection. *Journal of Environmental Engineering*, **141**(6), 04014094. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0000922](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0000922)
- Fiorentino, A., Ferro, G., Alferes, M. C., Polo-López, M. I., Fernández-Ibañez, P., & Rizzo, L. (2015). Inactivation and regrowth of multidrug resistant bacteria in urban wastewater after disinfection by solar-driven and chlorination processes. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **148**, 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2015.03.029>
- Giannakis, S., Darakas, E., Escalas-Cañellas, A., & Pulgarin, C. (2015). Solar disinfection modeling and post-irradiation response of *Escherichia coli* in wastewater. *Chemical Engineering Journal*, **281**, 588–598. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.06.077>
- Häder, D. P., Williamson, C. E., Wängberg, S. Å., Rautio, M., Rose, K. C., Gao, K., ..., & Worrest, R. (2015). Effects of UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with other environmental factors. *Photochemical & Photobiological Sciences*, **14**(1), 108–126. <https://doi.org/10.1039/C4PP90035A>
- Li, D., Zeng, S., Gu, A. Z., He, M., & Shi, H. (2013). Inactivation, reactivation and regrowth of indigenous bacteria in reclaimed water after chlorine disinfection of a municipal wastewater treatment plant. *Journal of Environmental Sciences*, **25**(7), 1319–1325. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(12\)60176-4](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(12)60176-4)
- Malvestiti, J. A., & Dantas, R. F. (2018). Disinfection of secondary effluents by O<sub>3</sub>, O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Influence of carbonate, nitrate, industrial contaminants and regrowth. *Journal of environmental chemical engineering*, **6**(1), 560–567. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.12.058>
- Maraccini, P. A., Mattioli, M. C. M., Sassoubre, L. M., Cao, Y., Griffith, J. F., Ervin, J. S., ..., & Boehm, A. B. (2016). Solar inactivation of enterococci and *Escherichia coli* in natural waters: effects of water absorbance and depth. *Environmental science & technology*, **50**(10), 5068–5076. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00505>
- Mecha, A. C., Onyango, M. S., Ochieng, A., & Momba, M. N. (2017). Évaluation of synergy and bacterial regrowth in photocatalytic ozonation disinfection of municipal wastewater. *Science of the Total Environment*, **601**, 626–635. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.204>

- Muela, A., Garcia-Bringas, J. M., Arana, I., & Barcina, I. (2000). The effect of simulated solar radiation on *Escherichia coli*: the relative roles of UV-B, UV-A, and photosynthetically active radiation. *Microbial Ecology*, **39**, 65–71. <https://doi.org/10.1007/s002489900181>
- Oguma, K., Katayama, H., & Ohgaki, S. (2002). Photoreactivation of *Escherichia coli* after low-or medium-pressure UV disinfection determined by an endonuclease sensitive site assay. *Applied and environmental microbiology*, **68**(12), 6029–6035. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.12.6029-6035.2002>
- Ragazzo, P., Chiucchini, N., Piccolo, V., & Ostoich, M. (2013). A new disinfection system for wastewater treatment: performic acid full-scale trial Évaluations. *Water science and technology*, **67**(11), 2476–2487. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.137>
- Rocher, V., & Azimi, S. (2016). *Microbial quality of waters in the Paris area: from wastewaters to surface waters*. Johanet publisher, 94. ISBN: 979-10-91089-29-6
- Shang, C., Cheung, L. M., Ho, C. M., & Zeng, M. (2009). Repression of photo-reactivation and dark repair of coliform bacteria by TiO<sub>2</sub>-modified UV-C disinfection. *Applied Catalysis B: Environmental*, **89**(3–4), 536–542. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2009.01.020>
- Voet, D., & Voet, J. G. (1995). *Biochemistry*. John. Wiley & Sons, 445–466.
- Whitton, R., Fane, S., Jarvis, P., Tupper, M., Raffin, M., Coulon, F., & Nocker, A. (2018). Flow cytometry-based Évaluation of the bacterial removal efficiency of a blackwater reuse treatment plant and the microbiological changes in the associated non-potable distribution network. *Science of the Total Environment*, **645**, 1620–1629. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.121>
- Zhang, C., Brown, P. J., & Hu, Z. (2019a). Higher functionality of bacterial plasmid DNA in water after peracetic acid disinfection compared with chlorination. *Science of the Total Environment*, **685**, 419–427. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.074>
- Zhang, C., Brown, P. J., Miles, R. J., White, T. A., Grant, D. G., Stalla, D., & Hu, Z. (2019b). Inhibition of regrowth of planktonic and biofilm bacteria after peracetic acid disinfection. *Water research*, **149**, 640–649. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.10.062>
- Zhou, X., Li, Z., Lan, J., Yan, Y., & Zhu, N. (2017). Kinetics of inactivation and photoreactivation of *Escherichia coli* using ultrasound-enhanced UV-C light-emitting diodes disinfection. *Ultrasonics sonochemistry*, **35**, 471–477. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.10.028>

## Partie 1 — Chapitre 3

- Alberts, J. J., & Takács, M. (2004). Comparison of the natural fluorescence distribution among size fractions of terrestrial fulvic and humic acids and aquatic natural organic matter. *Organic Geochemistry*, **35**(10), 1141-1149. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2004.06.010>
- Barreto, J. C., Smith, G. S., Strobel, N. H., McQuillin, P. A., & Miller, T. A. (1994). Terephthalic acid: a dosimeter for the detection of hydroxyl radicals in vitro. *Life sciences*, **56**(4), PL89-PL96. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(94\)00925-2](https://doi.org/10.1016/0024-3205(94)00925-2)
- Determann, S., Lobbes, J. M., Reuter, R., & Rullkötter, J. (1998). Ultraviolet fluorescence excitation and emission spectroscopy of marine algae and bacteria. *Marine Chemistry*, **62**(1-2), 137-156. [https://doi.org/10.1016/S0304-4203\(98\)00026-7](https://doi.org/10.1016/S0304-4203(98)00026-7)
- Domínguez Henao, L., Cascio, M., Turolla, A., & Antonelli, M. (2018). Effect of suspended solids on peracetic acid decay and bacterial inactivation kinetics: Experimental assessment and definition of predictive models. *Science of the Total Environment*, **643**, 936-945. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.219>
- Filippis, P. D., Scarsella, M., & Verdone, N. (2009). Peroxyformic acid formation: a kinetic study. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **48**(3), 1372-1375. <https://doi.org/10.1021/ie801163j>
- Lakowicz J. R. (2010). *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 4<sup>th</sup> edition. Springer Science+Business media, New York.
- Lawaetz, A. J., & Stedmon, C. A. (2009). Fluorescence intensity calibration using the Raman scatter peak of water. *Applied spectroscopy*, **63**(8), 936-940. <https://doi.org/10.1366/000370209788964548>
- Leveneur, S., Ledoux, A., Estel, L., Taouk, B., & Salmi, T. (2014). Epoxidation of vegetable oils under microwave irradiation. *Chemical Engineering Research and Design*, **92**(8), 1495-1502. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2014.04.010>
- Luukkonen, T., Heyninck, T., Rämö, J., & Lassi, U. (2015). Comparison of organic peracids in wastewater treatment: Disinfection, oxidation and corrosion. *Water research*, **85**, 275-285. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.08.037>
- Luukkonen, T., & Pehkonen, S. O. (2017). Peracids in water treatment: a critical review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, **47**(1), 1-39. <https://doi.org/10.1080/10643389.2016.1272343>
- Parlanti, E., Wörz, K., Geoffroy, L., & Lamotte, M. (2000). Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity

- in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. *Organic geochemistry*, **31**(12), 1765-1781. [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(00\)00124-8](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(00)00124-8)
- Pinkernell, U., Lüke, H. J., & Karst, U. (1997). Selective photometric determination of peroxy-carboxylic acids in the presence of hydrogen peroxide. *Analyst*, **122**(6), 567-571. <http://doi.org/10.1039/A700509A>
- Santacesaria, E., Russo, V., Tesser, R., Turco, R., & Di Serio, M. (2017). Kinetics of performic acid synthesis and decomposition. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **56**(45), 12940-12952. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.7b00593>
- Sun X., Zhao X., Du W. and Liu D. (2011). Kinetics of formic acid-autocatalyzed preparation of performic acid in aqueous phase. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, **19**(6), 964-971. [https://doi.org/10.1016/S1004-9541\(11\)60078-5](https://doi.org/10.1016/S1004-9541(11)60078-5)
- Watras, C. J., Hanson, P. C., Stacy, T. L., Morrison, K. M., Mather, J., Hu, Y. H., & Milewski, P. (2011). A temperature compensation method for CDOM fluorescence sensors in freshwater. *Limnology and Oceanography: Methods*, **9**(7), 296-301. <https://doi.org/10.4319/lom.2011.9.296>
- Wenk, J., Von Gunten, U., & Canonica, S. (2011). Effect of dissolved organic matter on the transformation of contaminants induced by excited triplet states and the hydroxyl radical. *Environmental science & technology*, **45**(4), 1334-1340. <https://doi.org/10.1021/es102212t>
- Zhang, W., Cao, B., Wang, D., Ma, T., Xia, H., & Yu, D. (2016). Influence of wastewater sludge treatment using combined peroxyacetic acid oxidation and inorganic coagulants re-flocculation on characteristics of extracellular polymeric substances (EPS). *Water Research*, **88**, 728-739. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.10.049>

## Partie 1 — Chapitre 4

- Alexandrou, L., Meehan, B. J., & Jones, O. A. (2018). Regulated and emerging disinfection by-products in recycled waters. *Science of the Total Environment*, **637**, 1607-1616. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.391>
- Bergé, A., Buleté, A., Fildier, A., Mailler, R., Gasperi, J., Coquet, Y., ... & Vulliet, E. (2018). Non-target strategies by HRMS to evaluate fluidized micro-grain activated carbon as a tertiary treatment of wastewater. *Chemosphere*, **213**, 587-595. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.09.101>
- Bergé, A., Cladière, M., Gasperi, J., Coursimault, A., Tassin, B., & Moilleron, R. (2012). Meta-analysis of environmental contamination by alkylphenols.

- Environmental Science and Pollution Research*, **19**, 3798–3819. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1094-7>
- Boccard, J., Veuthey, J. L., & Rudaz, S. (2010). Knowledge discovery in metabolomics: an overview of MS data handling. *Journal of separation science*, **33**(3), 290–304. <https://doi.org/10.1002/jssc.200900609>
- Bond, T., Huang, J., Templeton, M. R., & Graham, N. (2011). Occurrence and control of nitrogenous disinfection by-products in drinking water—a review. *Water research*, **45**(15), 4341–4354. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.05.034>
- Chhetri, R. K., Thornberg, D., Berner, J., Gramstad, R., Öjstedt, U., Sharma, A. K., & Andersen, H. R. (2014). Chemical disinfection of combined sewer overflow waters using performic acid or peracetic acids. *Science of the Total Environment*, **490**, 1065–1072. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.079>
- Dell’Erba, A., Falsanisi, D., Liberti, L., Notarnicola, M., & Santoro, D. (2007). Disinfection by-products formation during wastewater disinfection with peracetic acid. *Desalination*, **215**(1–3), 177–186. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2006.08.021>
- Domínguez Henao, L., Turolla, A., & Antonelli, M. (2018). Disinfection by-products formation and ecotoxicological effects of effluents treated with peracetic acid: A review. *Chemosphere*, **213**, 25–40. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.09.005>
- Gerrity, D., Pisarenko, A. N., Marti, E., Trenholm, R. A., Geringer, F., Reungoat, J., & Dickenson, E. (2015). Nitrosamines in pilot-scale and full-scale wastewater treatment plants with ozonation. *Water Research*, **72**, 251–261. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.06.025>
- Glover, C. M., Verdugo, E. M., Trenholm, R. A., & Dickenson, E. R. (2019). N-nitrosomorpholine in potable reuse. *Water research*, **148**, 306–313. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.10.010>
- Guillossou, R., Le Roux, J., Mailler, R., Vulliet, E., Morlay, C., Nauleau, F., ... & Rocher, V. (2019). Organic micropollutants in a large wastewater treatment plant: what are the benefits of an advanced treatment by activated carbon adsorption in comparison to conventional treatment?. *Chemosphere*, **218**, 1050–1060. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.11.182>
- Heeb, M. B., Criquet, J., Zimmermann-Steffens, S. G., & Von Gunten, U. (2014). Oxidative treatment of bromide-containing waters: Formation of bromine and its reactions with inorganic and organic compounds—A critical review. *Water research*, **48**, 15–42. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.08.030>
- Held, A. M., Halko, D. J., & Hurst, J. K. (1978). Mechanisms of chlorine oxidation of hydrogen peroxide. *Journal of the American Chemical Society*, **100**(18), 5732–5740. <https://doi.org/10.1021/ja00486a025>

- Hogenboom, A. C., Van Leerdam, J. A., & De Voogt, P. (2009). Accurate mass screening and identification of emerging contaminants in environmental samples by liquid chromatography–hybrid linear ion trap Orbitrap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, **1216**(3), 510–519. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.08.053>
- Ibáñez, M., Sancho, J. V., Hernández, F., McMillan, D., & Rao, R. (2008). Rapid non-target screening of organic pollutants in water by ultraperformance liquid chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **27**(5), 481–489. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.03.007>
- Keeper, L. K., & Roller, P. P. (1973). N-nitrosation by nitrite ion in neutral and basic medium. *Science*, **181**(4106), 1245–1247. <https://doi.org/10.1126/science.181.4106.1245>
- Krasner, S. W., Weinberg, H. S., Richardson, S. D., Pastor, S. J., Chinn, R., Scilimenti, M. J., ..., & Thruston, A. D. (2006). Occurrence of a new generation of disinfection byproducts. *Environmental science & technology*, **40**(23), 7175–7185. <https://doi.org/10.1021/es060353j>
- Krauss, M., Longrée, P., Dorusch, F., Ort, C., & Hollender, J. (2009). Occurrence and removal of N-nitrosamines in wastewater treatment plants. *Water Research*, **43**(17), 4381–4391. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.06.048>
- Krauss, M., Singer, H., & Hollender, J. (2010). LC–high resolution MS in environmental analysis: from target screening to the identification of unknowns. *Analytical and bioanalytical chemistry*, **397**, 943–951. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-3608-9>
- Lee, J. H., & Oh, J. E. (2016). A comprehensive survey on the occurrence and fate of nitrosamines in sewage treatment plants and water environment. *Science of the Total Environment*, **556**, 330–337. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.02.090>
- Le Roux, J., Gallard, H., & Croué, J. P. (2011). Chloramination of nitrogenous contaminants (pharmaceuticals and pesticides): NDMA and halogenated DBPs formation. *Water research*, **45**(10), 3164–3174. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.03.035>
- Mailler, R., Gasperi, J., Coquet, Y., Buleté, A., Vulliet, E., Deshayes, S., ... & Rocher, V. (2016). Removal of a wide range of emerging pollutants from wastewater treatment plant discharges by micro-grain activated carbon in fluidized bed as tertiary treatment at large pilot scale. *Science of the Total Environment*, **542**, 983–996. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.153>
- Mailler, R., Gasperi, J., Vulliet, E., Buleté, A., Azimi, S., & Rocher, V. (2017). Évaluation de l'empreinte des rejets de STEP de l'agglomération parisienne en résidus

- pharmaceutiques et autres polluants émergents. *Revue L'Eau, L'Industrie, Les Nuisances*, 90-96.
- Merel, S., Lege, S., Yanez Heras, J. E., & Zwiener, C. (2017). Assessment of N-oxide formation during wastewater ozonation. *Environmental science & technology*, **51**(1), 410-417. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b02373>
- Mirvish, S. S. (1975). Formation of N-nitroso compounds: chemistry, kinetics, and in vivo occurrence. *Toxicology and applied pharmacology*, **31**(3), 325-351. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(75\)90255-0](https://doi.org/10.1016/0041-008X(75)90255-0)
- Mitch, W. A., Sharp, J. O., Trussell, R. R., Valentine, R. L., Alvarez-Cohen, L., & Sedlak, D. L. (2003). N-nitrosodimethylamine (NDMA) as a drinking water contaminant: a review. *Environmental engineering science*, **20**(5), 389-404. <https://doi.org/10.1089/109287503768335896>
- Müller, A., Schulz, W., Ruck, W. K., & Weber, W. H. (2011). A new approach to data Evaluation in the non-target screening of organic trace substances in water analysis. *Chemosphere*, **85**(8), 1211-1219. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.07.009>
- Nürenberg, G., Kunkel, U., Wick, A., Falås, P., Joss, A., & Ternes, T. A. (2019). Nontarget analysis: A new tool for the Evaluation of wastewater processes. *Water research*, **163**, 114842. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.07.009>
- Park, S. H., Wei, S., Mizaikoff, B., Taylor, A. E., Favero, C., & Huang, C. H. (2009). Degradation of amine-based water treatment polymers during chloramination as N-nitrosodimethylamine(NDMA)precursors. *Environmental Science & Technology*, **43**(5), 1360-1366. <https://doi.org/10.1021/es802732z>
- Plewa, M. J., Wagner, E. D., Muellner, M. G., Hsu, K. M., & Richardson, S. D. (2008). Comparative mammalian cell toxicity of N-DBPs and C-DBPs. *Disinfection By-Products in Drinking Water*, 36-50. <https://doi.org/10.1021/bk-2008-0995.ch003>
- Poulin, R. X., & Pohnert, G. (2019). Simplifying the complex: metabolomics approaches in chemical ecology. *Analytical and bioanalytical chemistry*, **411**, 13-19. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1470-3>
- Ragazzo, P., Chiucchini, N., Piccolo, V., & Ostoich, M. (2013). A new disinfection system for wastewater treatment: performic acid full-scale trial Évaluations. *Water science and technology*, **67**(11), 2476-2487. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.137>
- Ramadan, Z., Jacobs, D., Grigorov, M., & Kochhar, S. (2006). Metabolic profiling using principal component analysis, discriminant partial least squares, and genetic algorithms. *Talanta*, **68**(5), 1683-1691. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.08.042>

- R Core Team (2019). R: a language and environment for statistical computing, version 3.0.2. Vienna, Austria: *R Foundation for Statistical Computing*, 2013.
- Richardson, S. D., Plewa, M. J., Wagner, E. D., Schoeny, R., & DeMarini, D. M. (2007). Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection by-products in drinking water: a review and roadmap for research. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, **636**(1-3), 178-242. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2007.09.001>
- Ritchie, M. E., Phipson, B., Wu, D. I., Hu, Y., Law, C. W., Shi, W., & Smyth, G. K. (2015). limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic acids research*, **43**(7), e47-e47. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv007>
- Schollée, J. E., Schymanski, E. L., & Hollender, J. (2016). Statistical approaches for LC-HRMS data to characterize, prioritize, and identify transformation products from water treatment processes. *Assessing Transformation Products of Chemicals by Non-Target and Suspect Screening– Strategies and Workflows Volume 1*, 45-65. <https://doi.org/10.1021/bk-2016-1241.ch004>
- Schreiber, I. M., & Mitch, W. A. (2007). Enhanced nitrogenous disinfection byproduct formation near the breakpoint: Implications for nitrification control. *Environmental science & technology*, **41**(20), 7039-7046. <https://doi.org/10.1021/es070500t>
- Schymanski, E. L., Singer, H. P., Slobodnik, J., Ipolyi, I. M., Oswald, P., Krauss, M., ... & Hollender, J. (2015). Non-target screening with high-resolution mass spectrometry: critical review using a collaborative trial on water analysis. *Analytical and bioanalytical chemistry*, **407**, 6237-6255. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8681-7>
- Shah, A. D., Liu, Z. Q., Salhi, E., Höfer, T., & von Gunten, U. (2015). Peracetic acid oxidation of saline waters in the absence and presence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: secondary oxidant and disinfection byproduct formation. *Environmental science & technology*, **49**(3), 1698-1705. <https://doi.org/10.1021/es503920n>
- Shah, A. D., & Mitch, W. A. (2012). Halonitroalkanes, halonitriles, haloamides, and N-nitrosamines: a critical review of nitrogenous disinfection byproduct formation pathways. *Environmental science & technology*, **46**(1), 119-131. <https://doi.org/10.1021/es203312s>
- Singer, H. P., Wossner, A. E., Mc Ardell, C. S., & Fenner, K. (2016). Rapid screening for exposure to “non-target” pharmaceuticals from wastewater effluents by combining HRMS-based suspect screening and exposure modeling. *Environmental Science & Technology*, **50**(13), 6698-6707. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b03332>

- Wagner, E. D., & Plewa, M. J. (2017). CHO cell cytotoxicity and genotoxicity analyses of disinfection by-products: an updated review. *Journal of Environmental Sciences*, **58**, 64-76. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2017.04.021>
- West, D. M., Wu, Q., Donovan, A., Shi, H., Ma, Y., Jiang, H., & Wang, J. (2016). N-nitrosamine formation by monochloramine, free chlorine, and peracetic acid disinfection with presence of amine precursors in drinking water system. *Chemosphere*, **153**, 521-527. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.03.035>
- Wilkinson, L., & Urbanek, S. (2011). *venneuler: Venn and Euler Diagrams*. R package version 1.1-0. Available at <http://CRAN.R-project.org/package=venneuler>.
- Yoon, S., Nakada, N., & Tanaka, H. (2012). A new method for quantifying N-nitrosamines in wastewater samples by gas chromatography–triple quadrupole mass spectrometry. *Talanta*, **97**, 256-261. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.04.027>

## Partie 2 — Chapitre 2

- Angelescu, D. E. (2011). *Highly integrated microfluidics design*. Artech House.
- Angelescu D. E. and Hausot, A. (2019). Automating *E. coli* quantification in wastewater and surface waters. *Water Industry Journal*, **December issue**(13), 36-37.
- Angelescu D. E., Hausot A., Huynh V. and Wong J. (2018b). An in-situ autonomous bacterial pathogen sensor for water quality and environmental monitoring applications. *Proceedings of the Water Environment Federation*, **2018**(9), 4392-4403. <https://doi.org/10.2175/193864718825139140>
- Angelescu, D. E., Huynh, V., Hausot, A., Yalkin, G., Plet, V., Mouchel, J. M., ... & Rocher, V. (2019). Autonomous system for rapid field quantification of *Escherichia coli* in surface waters. *Journal of applied microbiology*, **126**(1), 332-343. <https://doi.org/10.1111/jam.14066>
- Angelescu D. E. and Saison O. (2020). Innovative approaches to study microbial impact of housing boats. *Carrefour de l'Eau conference*, Rennes, January 28-31.
- Baudart, J., Servais, P., De Paoli, H., Henry, A., & Lebaron, P. (2009). Rapid enumeration of *Escherichia coli* in marine bathing waters: potential interference of nontarget bacteria. *Journal of applied microbiology*, **107**(6), 2054-2062.
- Bergeron, P., Oujati, H., Cuenca, V. C., Mestre, J. H., & Courtois, S. (2011). Rapid monitoring of *Escherichia coli* and Enterococcus spp. in bathing water

- using reverse transcription-quantitative PCR. *International journal of hygiene and environmental health*, **214**(6), 478-484. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2011.07.013>
- Cronin T., Loewenthal M., Huynh V., Huynh V., Angelescu D. E. and Hausot A. (2018). Rapid *E. coli* quantification with field portable devices around UK bathing sites. *Water Industry Journal*, **December**, 26-27.
- Edberg, S. C. L., Rice, E. W., Karlin, R. J., & Allen, M. J. (2000). *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. *Journal of applied microbiology*, **88**(S1), 106S-116S. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2000.tb05338.x>
- Heery, B., Briciu-Burghina, C., Zhang, D., Duffy, G., Brabazon, D., O'Connor, N., & Regan, F. (2016). ColiSense, today's sample today: A rapid on-site detection of  $\beta$ -D-Glucuronidase activity in surface water as a surrogate for *E. coli*. *Talanta*, **148**, 75-83. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.10.035>
- ISO 9308-1(2014). Water quality – Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria – Part 1: Membrane filtration method for waters with low bacterial background flora. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9308:-1:ed-3:v1:en> (accessed 16 April 2020).
- ISO 9308-2(2012). Water quality – Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria – Part 2: Most probable number method. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9308:-2:ed-2:v1:en> (accessed 16 April 2020).
- ISO 9308-3(1998). Water quality – Detection and enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria – Part 3: Miniaturized method (Most Probable Number) for the detection and enumeration of *E. coli* in surface and waste water. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9308:-3:ed-1:v1:en> (accessed 16 April 2020).
- Loewenthal M., Newton A. D., Wright S., Campbell C., Crossley A., Hausot A. and Angelescu D. E. (2018). Rapid Microbiology Field Instrumentation: Source Tracking in Sensitive Areas. *Institute of Water Magazine*, **2018**(Q3), 86-87.
- Lopez-Roldan, R., Tusell, P., Cortina, J. L., & Courtois, S. (2013). On-line bacteriological detection in water. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **44**, 46-57. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.10.010>
- Mailler, R. (2015). Devenir des micropolluants prioritaires et émergents dans les filières conventionnelles de traitement des eaux résiduaires urbaines (Files eau et boues), et au cours du traitement tertiaire par charbon actif (Doctoral dissertation, Paris Est). <https://www.theses.fr/2015PESC1060>
- Miles, S. L., Sinclair, R. G., Riley, M. R., & Pepper, I. L. (2011). Évaluation of select sensors for real-time monitoring of *Escherichia coli* in water distribution

- systems. *Applied and environmental microbiology*, **77**(8), 2813-2816. <https://doi.org/10.1128/AEM.02618-10>
- Nakache, F., Racaud, P., & Saur, D. T. (2000) Automated bacteriological quality monitoring of drinking water: COLITRACK®, support de poster n° HRWM 32. *Congrès mondial de l'IWA*, Paris.
- Noble, R. T., & Weisberg, S. B. (2005). A review of technologies for rapid detection of bacteria in recreational waters. *Journal of water and health*, **3**(4), 381-392. <https://doi.org/10.2166/wh.2005.051>
- Prüss, A. (1998). Review of epidemiological studies on health effects from exposure to recreational water. *International journal of epidemiology*, **27**(1), 1-9. <https://doi.org/10.1093/ije/27.1.1>
- US EPA (2014). Site-specific alternative recreational criteria technical support materials for alternative indicators and methods. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Document No. EPA-820-R-14-011

## Partie 2 — Chapitre 3

- Azzellino, A., Antonelli, M., Canziani, R., Malpei, F., Marinetti, M., & Nurizzo, C. (2011). Multivariate modelling of disinfection kinetics: A comparison among three different disinfectants. *Desalination and Water Treatment*, **29**(1-3), 128-139. <https://doi.org/10.5004/dwt.2011.1610>
- Directive 2006/7/EC of 15 February 2006 concerning the management of bathing water quality and repealing Directive 76/160/EEC, 064.
- Domínguez Henao, L., Cascio, M., Turolla, A., & Antonelli, M. (2018). Effect of suspended solids on peracetic acid decay and bacterial inactivation kinetics: Experimental assessment and definition of predictive models. *Science of the Total Environment*, **643**, 936-945. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.219>
- Eleria, A., & Vogel, R. M. (2005). Predicting fecal coliform bacteria levels in the Charles River, Massachusetts, USA 1. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association*, **41**(5), 1195-1209. <https://doi.org/10.1111/j.1752-1688.2005.tb03794.x>
- Fernando, W. J. N. (2009). Theoretical considerations and modeling of chemical inactivation of microorganisms: inactivation of Giardia Cysts by free chlorine. *Journal of theoretical biology*, **259**(2), 297-303. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2009.03.026>
- Flores, M. J., Brandi, R. J., Cassano, A. E., & Labas, M. D. (2016). Kinetic model of water disinfection using peracetic acid including synergistic effects. *Water Science and Technology*, **73**(2), 275-282. <https://doi.org/10.2166/wst.2015.491>

- Hassen, A., Mahrouk, M., Ouzari, H., Cherif, M., Boudabous, A., & Damelincourt, J. (2000). UV disinfection of treated wastewater in a large-scale pilot plant and inactivation of selected bacteria in a laboratory UV device. *Bioresource Technology*, **74**(2), 141-150. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(99\)00179-0](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00179-0)
- Herrig, I. M., Böer, S. I., Brennholt, N., & Manz, W. (2015). Development of multiple linear regression models as predictive tools for fecal indicator concentrations in a stretch of the lower Lahn River, Germany. *Water research*, **85**, 148-157. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.08.006>
- Luukkonen, T., & Pehkonen, S. O. (2017). Peracids in water treatment: a critical review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, **47**(1), 1-39. <https://doi.org/10.1080/10643389.2016.1272343>
- Manoli, K., Sarathy, S., Maffettone, R., & Santoro, D. (2019). Detailed modeling and advanced control for chemical disinfection of secondary effluent wastewater by peracetic acid. *Water research*, **153**, 251-262. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.01.022>
- Montgomery, D. C., Peck, E. A., & Vining, G. G. (2021). *Introduction to linear regression analysis*. John Wiley & Sons.
- Murray, A., Goldman, J., Sarathy, S., Hilts, B., Bell, K., Santoro, D., & Broomfield, C. O. (2016). Disinfection of a municipal wastewater secondary effluent with a combination of ultraviolet irradiation and peracetic acid. *Proceedings of the Water Environment Federation*, **10**, 2053-2064. <http://doi.org/10.2175/193864716819707472>
- Pigot T., de Casamajor M. N., Sanchez F., Gonzalez P. and Paulin T. (2019). Disinfection of the treated effluent of the Biarritz wastewater treatment plant using DesinFix: assessment after 38 months. *Internal Report*.
- Ragazzo, P., Chiucchini, N., Piccolo, V., & Ostoich, M. (2013). A new disinfection system for wastewater treatment: performic acid full-scale trial Évaluations. *Water science and technology*, **67**(11), 2476-2487. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.137>
- Rocher, V., & Azimi, S. (2016). *Microbial quality of waters in the Paris area: from wastewaters to surface waters*. Johanet publisher, 94. ISBN: 979-10-91089-29-6
- Santoro, D., Crapulli, F., Raisee, M., Raspa, G., & Haas, C. N. (2015). Nondeterministic computational fluid dynamics modeling of *Escherichia coli* inactivation by peracetic acid in municipal wastewater contact tanks. *Environmental Science & Technology*, **49**(12), 7265-7275. <https://doi.org/10.1021/es5059742>
- Santoro, D., Gehr, R., Bartrand, T. A., Liberti, L., Notarnicola, M., Dell'Erba, A., ... & Haas, C. N. (2007). Wastewater disinfection by peracetic acid: assessment of models for tracking residual measurements and inactivation. *Water environment research*, **79**(7), 775-787. <https://doi.org/10.2175/106143007X156817>

Von Gunten, U. (2003). Ozonation of drinking water: Part II. Disinfection and by-product formation in presence of bromide, iodide or chlorine. *Water research*, **37**(7), 1469-1487. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00458-X](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00458-X)

### Partie 3 — Chapitre 1

Ankley, G. T., Kahl, M. D., Jensen, K. M., Hornung, M. W., Korte, J. J., Makynen, E. A., & Leino, R. L. (2002). Évaluation of the aromatase inhibitor fadrozole in a short-term reproduction assay with the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Toxicological sciences*, **67**(1), 121-130. <https://doi.org/10.1093/toxsci/67.1.121>

Katsiadaki, I., Morris, S., Squires, C., Hurst, M. R., James, J. D., & Scott, A. P. (2006). Use of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) as a sensitive *in vivo* test for detection of environmental antiandrogens. *Environmental health perspectives*, **114**(Suppl 1), 115-121. <https://doi.org/10.1289/ehp.8063>

Leloup, J. (1977). La triiodothyronine, hormone de la metamorphose des amphibiens. *CR Acad. Sci. Paris, D*, **284**, 2261-2263.

Pawlowski, S., Van Aerle, R., Tyler, C. R., & Braunbeck, T. (2004). Effects of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol in a fathead minnow (*Pimephales promelas*) gonadal recrudescence assay. *Ecotoxicology and environmental safety*, **57**(3), 330-345. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2003.07.019>

Sebire, M., Allen, Y., Bersuder, P., & Katsiadaki, I. (2008). The model anti-androgen flutamide suppresses the expression of typical male stickleback reproductive behaviour. *Aquatic Toxicology*, **90**(1), 37-47. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.07.016>

Seki, M., Yokota, H., Matsubara, H., Tsuruda, Y., Maeda, M., Tadokoro, H., & Kobayashi, K. (2002). Effect of ethinylestradiol on the reproduction and induction of vitellogenin and testis-ova in medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, **21**(8), 1692-1698.

Shi, Y. B., Sachs, L. M., Jones, P., Li, Q., & Ishizuya-Oka, A. (1998). Thyroid hormone regulation of *Xenopus laevis* metamorphosis: functions of thyroid hormone receptors and roles of extracellular matrix remodeling. *Wound Repair and Regeneration*, **6**(4), 314-322. <https://doi.org/10.1046/j.1524-475X.1998.60407.x>

## Partie 3 — Chapitre 2

- Du Pasquier D., Guérin-Rechdaoui S., Azimi S., Féraudet A., Lemkine G. and Rocher V. (2018). Evolution of endocrine disruption of wastewater during treatment in a WWTP - Use of Watchfrog models. In: To innovate in monitoring and operating practices for wastewater treatment plants - Scientific and technical lessons learned from phase I of the Mocopée program (2014-2017), pp. 117-127. ASTEE Edition, Nanterre.
- Du Pasquier, D., Lemkine, G., Meynerol, K., Sauvignet, P., Borsato, J., Goncalves, A., & Rocher, V. (2015). Intérêt de la mesure biologique dans le suivi des performances de traitement des polluants "émergents" en eaux résiduaires municipales. *TSM*, **10**, 33-42.
- Jensen, K. M., Kahl, M. D., Makynen, E. A., Korte, J. J., Leino, R. L., Butterworth, B. C., & Ankley, G. T. (2004). Characterization of responses to the antiandrogen flutamide in a short-term reproduction assay with the fathead minnow. *Aquatic toxicology*, **70** (2), 99-110. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.06.012>
- Katsiadaki, I., Morris, S., Squires, C., Hurst, M. R., James, J. D., & Scott, A. P. (2006). Use of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) as a sensitive *in vivo* test for detection of environmental antiandrogens. *Environmental health perspectives*, **114** (Suppl 1), 115-121. <https://doi.org/10.1289/ehp.8063>
- Mengeot M. A., Musu T. and Vogel L. (2016). Endocrine disruptors: an occupational risk in need of recognition. *Report of the European Trade Union Institute: ETUI* (European Trade Union Institute), Brussels.
- Pawlowski, S., Van Aerle, R., Tyler, C. R., & Braunbeck, T. (2004). Effects of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol in a fathead minnow (*Pimephales promelas*) gonadal recrudescence assay. *Ecotoxicology and environmental safety*, **57**(3), 330-345. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2003.07.019>
- Ragazzo, P., Feretti, D., Monarca, S., Dominici, L., Ceretti, E., Viola, G., ... & Villarini, M. (2017). Évaluation of cytotoxicity, genotoxicity, and apoptosis of wastewater before and after disinfection with performic acid. *Water research*, **116**, 44-52. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.03.016>
- Sebire, M., Allen, Y., Bersuder, P., & Katsiadaki, I. (2008). The model anti-androgen flutamide suppresses the expression of typical male stickleback reproductive behaviour. *Aquatic Toxicology*, **90**(1), 37-47. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.07.016>

## Partie 4 — Chapitre 1

- Andral B., Boissery P., Descamp P. and Guilbert A. (2011). *Monitoring of urban discharges and sanitation systems in the Mediterranean Sea. Report of the Rhône-Méditerranée Corse River Bassin Organization*, 2nd édition, L'OEil d'Andromède edition, Carnon, France.
- Bachelot, M., Li, Z., Munaron, D., Le Gall, P., Casellas, C., Fenet, H., & Gomez, E. (2012). Organic UV filter concentrations in marine mussels from French coastal regions. *Science of the Total Environment*, **420**, 273-279. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.12.051>
- Cabral-Oliveira, J., Dolbeth, M., & Pardal, M. A. (2014). Impact of sewage pollution on the structure and functioning of a rocky shore benthic community. *Marine and Freshwater Research*, **65**(8), 750-758. <https://doi.org/10.1071/MF13190>
- De Casamajor M.-N. (2004). *Bay of Biscaye: Lack of knowledge & diversity.*- Alexandre Dewez edition, Ascaïn, France.
- De los Ríos, A., Juanes, J. A., Ortiz-Zarragoitia, M., de Alda, M. L., Barceló, D., & Cajaraville, M. P. (2012). Assessment of the effects of a marine urban outfall discharge on caged mussels using chemical and biomarker analysis. *Marine pollution bulletin*, **64**(3), 563-573. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.12.018>
- Gosling E. (2003). *Bivalve Molluscs – Biology, Ecology and Culture*. Fishing News Books. Blackwell Publishing Ltd, Oxford.
- Kerambrun E., Henry F., Sanchez W. and Amara R. (2012). Relationships between biochemical and physiological biomarkers responses measured on juvenile marine fish under environmental chemical contamination. *Comparative Biochemistry and Physiology A: Molecular and Integrative Physiology*, **163**, 522-523. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2012.05.071>
- Ragazzo, P., Chiucchini, N., Piccolo, V., & Ostoich, M. (2013). A new disinfection system for wastewater treatment: performic acid full-scale trial Évaluations. *Water science and technology*, **67**(11), 2476-2487. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.137>
- Seed, R. (1992). Population and community ecology of *Mytilus*. *Development of Aquaculture and Fish Sciences*, **25**, 87-169.
- Świacka, K., Maculewicz, J., Smolarz, K., Szaniawska, A., & Caban, M. (2019). Mytilidae as model organisms in the marine ecotoxicology of pharmaceuticals—a review. *Environmental Pollution*, **254**, 113082. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113082>

- Terlizzi, A., Frascchetti, S., Guidetti, P., & Boero, F. (2002). The effects of sewage discharge on shallow hard substrate sessile assemblages. *Marine Pollution Bulletin*, **44**(6), 544–550. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(01\)00282-X](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(01)00282-X)
- Turja, R., Lehtonen, K. K., Meierjohann, A., Brozinski, J. M., Vahtera, E., Soirinsuo, A., ... & Kronberg, L. (2015). The mussel caging approach in assessing biological effects of wastewater treatment plant discharges in the Gulf of Finland (Baltic Sea). *Marine pollution bulletin*, **97**(1-2), 135–149. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.06.024>
- Walne, P. R., & Mann, R. (1975). Growth and biochemical composition in *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas*. In *Ninth european marine biology symposium* (pp. 587–607). Scotland, United Kingdom: Aberdeen University Press.
- Williams, G. (2011). *Data mining with Rattle and R: The art of excavating data for knowledge discovery*. Springer Science & Business Media.

## Partie 4 — Chapitre 2

- Gagnon, C., Lajeunesse, A., Cejka, P., Gagne, F., & Hausler, R. (2008). Degradation of selected acidic and neutral pharmaceutical products in a primary-treated wastewater by disinfection processes. *Ozone: Science and Engineering*, **30**(5), 387–392. <https://doi.org/10.1080/01919510802336731>
- Greenspan, F. P., & Mackellar, D. G. (1948). Analysis of aliphatic peracids. *Analytical chemistry*, **20**(11), 1061–1063. <https://doi.org/10.1021/ac60023a020>
- Luukkonen, T., Heyninck, T., Rämö, J., & Lassi, U. (2015). Comparison of organic peracids in wastewater treatment: Disinfection, oxidation and corrosion. *Water research*, **85**, 275–285. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.08.037>
- Luukkonen, T., & Pehkonen, S. O. (2017). Peracids in water treatment: a critical review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, **47**(1), 1–39. <https://doi.org/10.1080/10643389.2016.1272343>
- Luukkonen, T., Teeriniemi, J., Prokkola, H., Rämö, J., & Lassi, U. (2014). Chemical aspects of peracetic acid based wastewater disinfection. *Water Sa*, **40**(1), 73–80. <http://doi.org/10.4314/wsa.v40i1.9>
- Maffettone R., Sarathy S., Wen Y., Passalacqua K., Neofotistos P., Wobus C. and Santoro D. (2018). Techno-economic Evaluation of Alternative Chemical Disinfectants and UV For Wastewater Disinfection: inactivation of bacterial indicator, F-specific and somatic coliphages and MNV. EcoSTP2018 – Ecotechnologies for Wastewater Treatment, London, Canada.

## Références

- Ragazzo, P., Chiucchini, N., & Bottin, F. (2007). The Use of Hydroform Disinfection system in wastewater treatment: batch and full scale trials. *Chemical Water and Wastewater Treatment IX*; Hahn, HH, Hoffmann, E., Odegaard, H., Eds, 267-275. <https://doi.org/10.2166/9781780402079>
- Ragazzo, P., Chiucchini, N., Piccolo, V., & Ostoich, M. (2013). A new disinfection system for wastewater treatment: performic acid full-scale trial Évaluations. *Water science and technology*, **67**(11), 2476-2487. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.137>
- Ragazzo, P., Chiucchini, N., Piccolo, V., Spadolini, M., Carrer, S., Zanon, F., & Gehr, R. (2020). Wastewater disinfection: long-term laboratory and full-scale studies on performic acid in comparison with peracetic acid and chlorine. *Water Research*, **184**, 116169. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116169>
- Ragazzo, P., Feretti, D., Monarca, S., Dominici, L., Ceretti, E., Viola, G., ... & Villarini, M. (2017). Évaluation of cytotoxicity, genotoxicity, and apoptosis of wastewater before and after disinfection with performic acid. *Water research*, **116**, 44-52. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.03.016>

**Crédits photos couverture :**

SIAAP

Franck BELONCLE

Achevé d'imprimé en juillet 2023 par  
IMPRITEXTE  
3 AVENUE DU FORT  
92120 MONTROUGE

*Imprimé en France*

Le SIAAP, acteur public de l'assainissement francilien, assure chaque jour le traitement de 2,5 millions de mètres cubes d'eaux usées avant de les rendre épurées à la Marne et à la Seine. L'innovation est un atout pour l'accomplissement de cette mission de service public. Elle constitue un levier de progrès et de performance pour notre outil industriel ainsi que pour les femmes et les hommes qui le pilotent au quotidien. Promoteur d'une innovation publique à caractère industriel, le SIAAP a engagé depuis plus de 50 ans des moyens humains, techniques et financiers conséquents pour améliorer l'efficacité du traitement des eaux, d'abord vers un meilleur traitement du carbone, puis de l'azote et enfin du phosphore. Il entretient aujourd'hui cette dynamique et poursuit sa mobilisation quotidienne aux côtés de ses partenaires afin d'assurer la robustesse, la sobriété et la performance du système d'assainissement francilien.

Au service de la protection du milieu naturel et du vivant, la politique d'innovation du SIAAP est ainsi structurée autour de la programmation scientifique inneauvation. Elle s'appuie sur des partenariats académiques historiques et trace un pont entre le monde de la recherche et les acteurs opérationnels que sont les industriels. Ambitieuse, cette démarche est au cœur de la stratégie pluriannuelle du SIAAP.

Ce projet d'étude de la désinfection chimique par acide performique démontre, dans ce cadre, la capacité du SIAAP et de ses partenaires scientifiques à faire émerger à une échelle industrielle des solutions innovantes. Il illustre l'engagement du SIAAP à rechercher sans cesse l'atteinte d'une performance industrielle optimale, au service de l'intérêt général des Franciliens et de leur environnement.



**Richard BUISSET**  
Directeur Général du SIAAP

