

Document public

Micro-ReUse - Réduction et phytodisponibilité des micropolluants en sortie d'une STEU de La Réunion pour l'optimisation de la réutilisation agricole des eaux usées traitées

Rapport final

BRGM/RP-69349-FR

Mai 2020



Micro-ReUse - Réduction et phytodisponibilité des micropolluants en sortie d'une STEU de La Réunion pour l'optimisation de la réutilisation agricole des eaux usées traitées

Rapport final

BRGM/RP -69349-FR

Mai 2020

Étude réalisée dans le cadre des opérations
de Recherche du BRGM PDR14REU01

Aunay B., Bravin M.N., Lopez B., Togola A.

Vérificateur :

Nom : Chrystelle Auterives

Fonction : expert

Date : 04/11/2019

Signature :



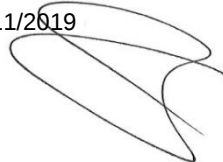
Approbateur :

Nom : Kévin Samyn

Fonction: Directeur régional

Date : 21/11/2019

Signature :



Le système de management de la qualité et de l'environnement
est certifié par AFNOR selon les normes ISO 9001 et ISO 14001.

Contact : qualite@brgm.fr



Géosciences pour une Terre durable

brgm

Mots-clés : station de traitement des eaux usées, réutilisation d'eau usée, hydrochimie, molécule émergente, cosmétique, détergent, médicament, activité des ménages, établissement de soins, aménagement urbain, changement de pratiques des usagers,

En bibliographie, ce rapport sera cité de la façon suivante :

Aunay B., Bravin M.N., Lopez B., Togola A. (2020) – Micro-ReUse - Réduction et phytodisponibilité des micropolluants en sortie d'une STEU de La Réunion pour l'optimisation de la réutilisation agricole des eaux usées traitées. Rapport final. BRGM/RP-69349-FR, 79 p

© **BRGM, 2020**, ce document ne peut être reproduit en totalité ou en partie sans l'autorisation expresse du BRGM.

Synthèse

Le projet de recherche « Micro-ReUse - *Solutions innovantes de réduction des micropolluants en sortie d'une station de traitement des eaux usées de La Réunion pour l'optimisation de la réutilisation agricole des eaux usées traitées* » a été retenu pour être financé dans le cadre de l'appel à projets "*Innovations et changements de pratiques : lutte contre les micropolluants des eaux urbaines*" porté par le Ministère en charge de l'Ecologie, l'Office national de l'eau et des milieux aquatiques (Onema) et les Agences de l'eau, en partenariat avec le Ministère en charge de la santé.

Le BRGM, le Cirad, la CINOR et le Conseil Départemental de La Réunion sont partenaires afin de réaliser ce projet Micro-ReUse.

Le premier enjeu auquel répond le projet est économique. L'irrigation des cultures fortement demandeuses en eau, telles que celle de la canne à sucre, est en effet nécessaire en vue d'augmenter les rendements sur le secteur nord-est de La Réunion. Ainsi, dès la construction de la station de traitement des eaux usées (STEU) de la CINOR, il a été envisagé l'utilisation d'une partie des eaux traitées pour l'irrigation avec la mise en place, effective à ce jour, d'une station d'ultrafiltration.

Afin d'étudier la réduction des micropolluants en sortie de la STEU du Grand-Prado (CINOR, La Réunion) en vue de la réutilisation des eaux usées traitées pour l'irrigation de la canne à sucre, il a été nécessaire :

- de **réaliser une cartographie des pressions urbaines et industrielles** exercées sur le réseau de collecte des eaux usées. Sur la base des données analysées et des connaissances du secteur, il apparaît que les pressions sont majoritairement de type urbaines ;
- de mener une **démarche analytique sur les eaux de la STEU** afin de déterminer l'efficacité des différents traitements existants. 35 molécules (émergentes et résidus pharmaceutiques) ont été analysées au cours de 4 campagnes de prélèvement en entrée et sortie de la STEU. De manière globale, les traitements de la STEU dégradent 1/3 des molécules testées et permettent de réduire les concentrations pour 1/3. Enfin, les traitements ne sont pas efficaces pour le dernier 1/3 des molécules testées. A ce titre, il apparaît que l'ultrafiltration n'apporte pas nécessairement d'abattement significatif par rapport au traitement tertiaire¹ ;
- de mettre en œuvre une **manipulation en laboratoire visant à étudier la phytodisponibilité** (dispositif RHIZOtest développé par le Cirad) des 9 micropolluants les plus problématiques, c'est-à-dire pour lesquels les traitements de la STEU sont peu ou pas efficaces et qui seront potentiellement présents dans l'eau d'irrigation (Oxazépam, 2-hydroxyibuprofène, Aténolol, Furosémide, Benzotriazole, Carbamazépine, Tolytriazole, Naproxène, Sulfaméthoxazole, Diclofénac).

Un phénomène de bioaccumulation dans les plantes est envisageable pour 6 des 9

¹ Tamis composé de disques filtrants + rayonnements UV

molécules testées : Aténolol, Tolytriazole, Sulfaméthoxazole, 2-hydroxyibuprofène, Carbamazépine, Naproxène.

- les retours d'expérience (RetEx) sur le traitement des eaux usées, en vue de réduire les concentrations des molécules émergentes les plus persistantes, visent le couplage entre traitements membranaires et un passage sur charbon actif.

Pour conclure, le traitement des effluents de STEU reste un enjeu technologique et économique pour la problématique des molécules émergentes et des résidus pharmaceutiques dans la mesure où les traitements usuels sont peu efficaces pour certaines molécules émergentes. La diversité des propriétés physico-chimiques des molécules émergentes demande la multiplication des procédés à mettre en œuvre, ce qui peut engendrer un rapport coût/bénéfice peu réaliste. La priorisation des molécules à dégrader doit donc être faite selon l'usage souhaité de l'effluent final et selon la présence de la molécule dans les produits finis.

A ce titre, il convient de rappeler que la canne à sucre subit un processus de transformation poussé entre la récolte des tiges au champ et la production de sucre à l'usine (à l'inverse des productions maraîchères par exemple) et qu'un abattement de certaines molécules durant le process de transformation est possible. Une réflexion devra être menée afin d'étudier les modalités de ces phénomènes de dégradation.

Sommaire

1. Introduction	11
1.1. LE PROJET MICRO-REUSE	11
1.1.1. Problématique et présentation du projet.....	11
1.1.2. Solutions et outils opérationnels issus du projet et apports pour les collectivités	12
1.1.3. Actions de transfert vers les utilisateurs finaux.....	12
1.2. CADRE SPECIFIQUE DE L'ETUDE	13
1.3. OBJECTIF GLOBAL DE L'ETUDE.....	15
1.4. CONTRIBUTIONS RESPECTIVES DES MEMBRES DU CONSORTIUM	15
2. Cartographie des pressions exercées sur le réseau de collecte des eaux usées	17
3. Démarche analytique sur les eaux de la STEU.....	21
3.1. DONNEES HISTORIQUES DE SUIVI.....	21
3.2. STRATEGIE D'ECHANTILLONNAGE	24
3.2.1. Le traitement des eaux usées de la STEU du Grand Prado	24
3.2.2. Le traitement des boues de la STEU du Grand Prado	25
3.2.3. Choix des points de prélèvements et fréquence de suivi.....	26
3.2.4. Paramètres analysés	29
3.3. CAMPAGNES DE PRELEVEMENTS	32
3.3.1. Prélèvements.....	32
3.3.2. Présentations des résultats.....	33
3.3.3. Interprétation des résultats.....	37
4. Résultats des tests préliminaires à la manipulation RHIZOtest.....	47
4.1. PROBLEMATIQUE	47
4.2. MOLECULES TESTEES.....	47
4.3. TEMOINS	48
4.4. EXPERIMENTATION 1 : SORPTION DES MICROPOLLUANTS ORGANIQUES	48
4.5. EXPERIMENTATION 2 : SORPTION SUR LA TOILE.....	50
4.6. CONCLUSION	51
5. Etude de la phytodisponibilité des micropolluants (Cirad)	53

5.1. METHODOLOGIE	53
5.1.1. Intérêt du dispositif RHIZOtest pour l'étude de la phytodisponibilité des micropolluants organiques.....	53
5.1.2. Sélection de l'espèce végétale cible et du type de sol modèle.....	54
5.1.3. Protocole expérimental de la culture en RHIZOtest	55
5.1.4. Analyse des micropolluants dans le sol et les plantes	56
5.2. RESULTATS	58
5.2.1. Sol.....	58
5.2.2. Biomasse	59
5.2.3. Teneur des molécules testées.....	60
5.2.4. Facteur de bioaccumulation.....	62
6. Adaptation au problème posé.....	63
6.1. BILAN ANALYTIQUE.....	63
6.2. IMPACTS POTENTIELS SUR L'ENVIRONNEMENT ET SUR LA SANTE	66
6.3. MOYENS TECHNIQUES POUR UNE REDUCTION DE LA CHARGE EN POLLUANTS EMERGENTS DANS LES EFFLUENTS DE LA STEU	67
6.3.1. Principe de la microfiltration / nanofiltration	67
6.3.2. Complexité du traitement pour les composés émergents	68
6.3.3. Efficacité des traitements des polluants émergents sur membranes.....	68
6.3.4. Complexité du traitement des effluents secondaires de STEU	69
6.3.5. Couplage de procédés tertiaires pour les composés émergents.....	69
6.3.6. Traitement des rétentats.....	70
6.4. RESIDUS DE MEDICAMENTS : AUTRES LEVIERS D' ACTIONS POSSIBLES.....	70
6.4.1. Approches théoriques.....	70
6.4.2. Contextualisation des résultats.....	73
7. Conclusion	75
8. Bibliographie.....	78

Liste illustrations

Illustration 1 - Site d'étude	14
Illustration 2 – Liste des ICPE de la commune de Saint-Denis.....	17
Illustration 3 - Liste des établissements hospitaliers, de soins ou vétérinaires présents sur le site d'étude	18
Illustration 4 - Cartographie des pressions exercées sur le réseau de collecte des eaux usées à l'échelle du territoire de la CINOR	19
Illustration 5 - Cartographie des pressions exercées sur le réseau de collecte des eaux usées à l'échelle du secteur de la Mare	20
Illustration 6 – Paramètres proposés au maître d'ouvrage pour la surveillance des substances sur le rejet dans le milieu naturel (rapport Endetec, 2015).....	21
Illustration 7 - Résidus médicamenteux en entrée et sortie de STEU, avant le traitement de finition « osmose inverse ».....	23
Illustration 8 – Schéma de traitement des eaux de la STEU du Grand Prado	24
Illustration 9 – Schéma de traitement des eaux de la STEU du Grand Prado	25
Illustration 10 - Installations à l'entrée de la STEU du Grand-Prado	27
Illustration 11 - Installations en sortie de la STEU du Grand-Prado	28
Illustration 12 - L'unité d'ultrafiltration de la station du Grand-Prado.	28
Illustration 13 - Liste des molécules à suivre lors de la campagne de diagnostic.....	31
Illustration 14 - Organisation des campagnes de mesures sur la station du Grand-Prado	32
Illustration 15 – Molécules quantifiées en entrée de STEU (à gauche)	35
Illustration 16 – Molécules détectées en sortie de STEU.....	36
Illustration 17 - Taux d'abattement moyen et concentration (en ng/L),	38
Illustration 18 - Taux d'abattement lors du traitement conventionnel (sortie III), pour chacune des 4 campagnes	39
Illustration 19 - Taux d'abattement lors du traitement conventionnel (sortie III), pour chacune des 4 campagnes, molécules faiblement dégradées	40
Illustration 20 - Concentration des substances après l'étape d'ultrafiltration, pour chacune des 4 campagnes, pour les molécules correctement dégradées	40
Illustration 21 - Concentration des substances pour chaque étape du traitement, pour chacune des 4 campagnes et pour les molécules présentant une concentration résiduelle significative malgré une certaine efficacité du traitement.....	41
Illustration 22 - Concentration des substances dans l'effluent final après l'étape d'ultrafiltration, pour chacune des 4 campagnes, pour les molécules présentant une concentration résiduelle significative malgré une certaine efficacité du traitement.	41
Illustration 23 - Taux d'abattement calculés entre la concentration dans l'effluent tertiaire et la concentration dans l'effluent ultrafiltration, par campagne et en moyenne	42
Illustration 24 - Concentration des substances après l'étape d'ultrafiltration pour chacune des 4 campagnes, pour les molécules résistantes aux traitements	42
Illustration 25b - Test d'analyse en composante principale des corrélations entre quelques propriétés des molécules et l'abattement après traitement tertiaire.	45
Illustration 26 - Bilan des analyses réalisées en entrée, en sortie de traitement tertiaire et en sortie d'ultrafiltration de la STEU du Grand Prado	46

Illustration 27 – Liste initiale des 35 molécules ayant fait l'objet des tests préliminaires.	47
Illustration 28 – Résultat de l'expérimentation 1 de sorption des micropolluants organiques.....	49
Illustration 29 – Résultat de l'expérimentation 2 de sorption sur la toile	50
Illustration 30 - Principe expérimental de la culture en RHIZOtest	53
Illustration 31 - Principales propriétés de l'échantillon de sol utilisé pour l'expérimentation en RHIZOtest	54
Illustration 32 - Photographies de la phase de pré-culture du sorgho en RHIZOtest, montrant les bacs de pré-culture (à gauche), des plantules de sorgho récoltées à l'issue de la phase de pré-culture (au centre) et le tapis racinaire du sorgho à l'issue de la phase de pré-culture vu par transparence à travers la toile en polyamide (à droite). ..	55
Illustration 33 - Photographie de la phase de contact sol-plante en RHIZOtest	56
Illustration 34 - Rendements d'extraction des 9 molécules testées dans les matrices sol et sorgho	57
Illustration 35 - Limites de quantification de la méthode de dosage utilisée pour déterminer la teneur des 9 molécules testées dans le solvant d'injection et les matrices sol et sorgho	58
Illustration 36 - Teneurs (ng g ⁻¹ sol sec) des 9 molécules testées dans le sol avant d'être exposé au sorgho dans le dispositif RHIZOtest (n = 2, sauf pour le benzotriazole et le sulfaméthoxazole où n = 1).....	58
Illustration 37 - Biomasses fraîches (g par dispositif) des plantes de sorgho cultivées en RHIZOtest à l'issue de la phase d'hydroponie (témoin hydroponie, n = 116) et de la phase de contact sol-plante pour les trois modalités 0, 200 et 2 000 ng L ⁻¹ (n = 29). L'étoile au-dessus d'une modalité indique une différence statistiquement significative (p < 0,001) entre cette modalité et les autres	59
Illustration 38 - Teneurs (ng g ⁻¹ plante sèche) des 9 molécules testées mesurées dans les plantes après exposition pendant 8 jours dans le dispositif RHIZOtest à un sol alimenté par une solution contenant 0, 200 et 2 000 ng L ⁻¹ de chacune des 9 molécules testées (n = 1 à 3). Les acronymes < LQ et ND signifient respectivement que la teneur mesurée était inférieure à la limite de quantification et que la molécule n'a pas été détectée	60
Illustration 39 - Facteurs de bioaccumulation (FB _{solution} et FB _{sol}) dans le sorgho des 6 molécules testées pour lesquels une bioaccumulation a été mesurée dans les plantes après exposition pendant 8 jours dans le dispositif RHIZOtest à un sol alimenté par une solution contenant 0, 200 et 2 000 ng L ⁻¹ de chacune des 9 molécules testées (n = 1 à 3). L'acronyme NA signifie que le calcul du facteur de bioaccumulation n'a pas pu être fait, faute de mesure de concentration quantifiée disponible	62
Illustration 40 - Concentration en substances après les étapes de traitement, pour chacune des 4 campagnes, pour les molécules correctement dégradées	63
Illustration 41 - Liste des 10 polluants émergents retrouvés en concentrations significatives dans les rejets de la STEU du Grand Prado	63
Illustration 42 – Synthèse des résultats de l'étude de phytodisponibilité	64
Illustration 43 – Teneurs (ng g ⁻¹ plante sèche) des 9 molécules testées dans les plantes après exposition pendant 8 jours dans le dispositif RHIZOtest à un sol alimenté par une solution contenant 0, 200 et 2 000 ng L ⁻¹ de chacune des 9 molécules testées (n = 3).....	65
Illustration 44 - Profils d'usage, propriétés, leviers d'action des 10 molécules ciblées	66
Illustration 45 – Principe et domaine d'efficacité des traitements membranaires	67
Illustration 46 – Propriétés physico-chimiques de polluants émergents (Acero et al., 2010).....	68

Illustration 47 – Efficacité de traitement d'un système PAC +UF (Sheng et al., 2016).....	70
Illustration 48 – Rôle du dispositif Cyclamed pour réduire l'impact environnemental du médicament	72

Liste des annexes

Annexe 1 Rapport d'étude final RRCO-17-0055a.....	79
---	----

Lexique

EU	Eaux usées
CINOR	Communauté Intercommunale du NOrd de La Réunion - Regroupe les communes de Saint-Denis, Sainte-Marie et Sainte-Suzanne, soit plus de 190 000 habitants, constituant ainsi la plus importante communauté d'Agglomération de La Réunion et de l'Outre-Mer. https://www.cinor.org/
FB	Facteur de bioaccumulation
eRcane	https://www.ercane.re – eRcane est un Groupement d'Intérêt Economique. Anciennement Centre d'Essai, de Recherche et de Formation (CERF)
DEHP	DiEthylHexyl Phthalate (en anglais), phtalate de bis(2-éthylhexyle) ou phtalate de di-2-éthylhexyle
HAP	hydrocarbures aromatiques polycycliques (fluoranthène, naphtalène, benzo[a]pyrène...)
MESO	Masse d'eau souterraine
OI	Osmose inverse
PAC	Powder Activated Carbon – Charbon actif
PEHD	Polyéthylène haute densité
RSDE	Action nationale de recherche substances dangereuses dans l'eau
STEU	Station de traitement des eaux usées
UF	Ultrafiltration

1. Introduction

1.1. LE PROJET MICRO-REUSE

En 2013, le Ministère en charge de l'Ecologie, l'Office national de l'eau et des milieux aquatiques (Onema) et les Agences de l'eau, en partenariat avec le Ministère en charge de la santé, lancent conjointement un appel à projets "*Innovations et changements de pratiques : lutte contre les micropolluants des eaux urbaines*" pour inciter et aider les collectivités à s'engager, au travers de projets porteurs d'innovation, avec leurs partenaires locaux – publics et privés –, pour mieux connaître et réduire l'impact des micropolluants sur les milieux et les ressources aquatiques de leurs territoires.

Le présent projet de recherche « Micro-ReUse - *Solutions innovantes de réduction des micropolluants en sortie d'une station d'épuration des eaux usées de La Réunion pour l'optimisation de la réutilisation agricole des eaux usées traitées* » a été retenu pour être financé dans le cadre de cet appel à projets.

Le BRGM, le Cirad, la CINOR et le Conseil Départemental de La Réunion ont établi un accord de consortium en 2015 afin de régir les interactions entre ces entités.

1.1.1. Problématique et présentation du projet

Le premier enjeu auquel répond le projet est économique. L'irrigation des cultures fortement demandeuses en eau, telles que celle de la canne à sucre, est en effet nécessaire en vue d'augmenter les rendements sur le secteur nord-est de La Réunion. Ainsi, dès la construction de la station de traitement des eaux usées (STEU) de la CINOR, il a été envisagé l'utilisation d'une partie des eaux usées traitées pour l'irrigation avec la mise en place, effective à ce jour, d'une station d'ultrafiltration.

Le projet propose de réduire les coûts du traitement de l'eau en visant la réduction de la charge polluante en entrée de STEU. L'idée est de pouvoir limiter les étapes de traitement en réduisant la charge polluante notamment des molécules pouvant avoir un impact sur l'agriculture (accumulation dans les plants de canne à sucre).

Le projet présente également un enjeu environnemental puisqu'il se propose de limiter l'utilisation des eaux souterraines pour l'irrigation tout en permettant le développement économique d'un secteur déjà soumis à de fortes pressions (baisse de la ressource en eau souterraine² et phénomène d'intrusion saline) et en favorisant la réduction des rejets en mer des eaux usées traitées.

A une échelle plus globale, ce projet permettra de répondre ponctuellement aux interrogations relatives à l'abattement des molécules émergentes par les STEU équipées d'un traitement couramment usité ou d'un traitement membranaire par micro ou ultrafiltration. Le projet permettra aussi de s'interroger sur les moyens possibles pour réduire les rejets urbains en amont des STEU et de mettre en relation ces réductions avec des potentiels bénéfiques économiques et environnementaux.

² La MESO FRLG101 (Formations volcaniques du littoral Nord) a été en partie classée en état quantitatif médiocre lors de l'état des lieux 2019 (Evaluation de l'état quantitatif et chimique des masses d'eau souterraine - Version du 23 avril 2019 – Rapport Office de l'eau)

1.1.2. Solutions et outils opérationnels issus du projet et apports pour les collectivités

Le projet a pour objectif initial de proposer des solutions innovantes de réduction des micropolluants en sortie de la STEU du Grand-Prado (CINOR, La Réunion) afin d'optimiser la réutilisation des eaux usées traitées pour l'irrigation de la canne à sucre. Pour atteindre cet objectif, il sera nécessaire :

1. d'identifier la présence éventuelle de micropolluants en amont et aval de la STEU présentant un risque pour la viabilité du projet de développement agricole ;
2. d'indiquer les risques potentiels sur l'environnement (eaux souterraines, sols et plantes) à court ou moyen termes du fait de la présence de ces micropolluants ;
3. d'identifier les origines en amont de la STEU des rejets au réseau de ces micropolluants ;
4. de proposer des solutions pour réduire les apports de ces molécules à la STEU afin de réduire les nécessités de traitement et assurer le développement du projet d'irrigation de canne à sucre en garantissant la protection du milieu ;
5. d'estimer le gain financier d'une réduction des apports en amont de la STEU par rapport au coût du traitement des effluents à l'aval de la STEU.

Ces différentes tâches identifiées lors du montage du présent projet de recherche se sont révélées ambitieuses et certaines n'ont pu être traitées que de manière partielle (tâche 2, 4 et 5), notamment en raison de connaissances limitées sur le fonctionnement des établissements de soins, ou sur le fait que certaines pollutions sont relativement diffuses sans possibilité de mise en œuvre d'actions ponctuelles.

Par ailleurs, le besoin scientifique autour de la problématique de réutilisation des eaux usées traitées a évolué au cours du projet au regard de la réglementation et de l'acceptabilité sociétale. Concrètement, un défi essentiel consiste en l'acceptabilité de la réutilisation des eaux usées traitées par la profession agricole et par l'industrie du sucre. De manière pragmatique, la réglementation permet la réutilisation des eaux usées traitées. La recherche scientifique permet potentiellement de rassurer les utilisateurs finaux. Toutefois, il persiste un frein relatif à l'utilisation des produits issus de la sortie des STEU. Ce frein est actuellement observé sur le produit de fertilisation élaboré à partir des boues de la STEU du Grand-Prado.

1.1.3. Actions de transfert vers les utilisateurs finaux

Les utilisateurs finaux, la CINOR et le Conseil Départemental de La Réunion, font partie intégrante du consortium. Le transfert de connaissance s'est effectué tout au long du déroulement du projet. Au-delà des partenaires propres du projet, l'Office de l'eau de La Réunion, les services de l'État de La Réunion (DEAL), l'exploitant de la STEU du Grand-Prado et l'industrie cannière ont été associés aux comités de pilotage du projet afin qu'ils puissent bénéficier des résultats tout au long de la réflexion scientifique.

Le présent projet constitue actuellement une importante base de connaissance qualitative pour la réutilisation des eaux usées traitées en vue de l'irrigation de la canne à sucre. Pour mémoire, la canne à sucre est utilisée pour l'industrie du sucre, dont le cahier des charges impose une qualité élevée des produits.

A ce titre, des perspectives plus opérationnelles du présent projet sont en cours de réflexion entre le Département, eRcane, le Cirad et le BRGM afin de mener des essais au champs de réutilisation d'eau usée traitée, tout en maintenant une production sucrière de qualité.

1.2. CADRE SPECIFIQUE DE L'ETUDE

L'utilisation d'eaux usées traitées constitue un enjeu environnemental souligné dans le « blueprint » pour la sauvegarde des ressources en eau en Europe comme une ressource en eau alternative importante. Cet enjeu est d'autant plus important dans le contexte insulaire de l'île de La Réunion où les ressources en eau sont limitées.

Le projet MicroREUSE s'intègre dans la problématique globale de réutilisation des eaux usées traitées sur le volet spécifique de l'utilisation de cette nouvelle ressource pour l'irrigation des terres agricoles. Le projet se déroule à La Réunion (974), sur le territoire de la CINOR (Illustration 1). Il s'articule autour de la construction récente de la STEU du Grand-Prado (<https://www.grand-prado.re/>).

L'irrigation des cultures fortement demandeuses en eau, telles que celle de la canne à sucre, est en effet nécessaire en vue d'augmenter les rendements sur le secteur nord-est de La Réunion. Pour la canne à sucre, le besoin est estimé, selon les années, entre 250 et 300 l/s en débit de pointe pour l'irrigation de 500 ha de canne à sucre localisés sur le secteur de Sainte-Marie. Le besoin annuel maximum en irrigation est donc de l'ordre de 4 millions de m³/an.

A l'heure actuelle, l'instruction interministérielle DGS/EA4/DEB/DGPE/2016/135 du 26 avril 2016 relative à la réutilisation des eaux usées traitées pour l'irrigation de cultures ou d'espaces verts pose le cadre réglementaire de la demande d'autorisation. Toutefois, les molécules dites « émergentes » ne sont pas concernées par ce récent cadre réglementaire. A ce titre, il convient d'analyser, dans une démarche innovante, la présence, le comportement et le devenir de ces molécules dans le cadre d'une réutilisation d'eaux usées traitées.

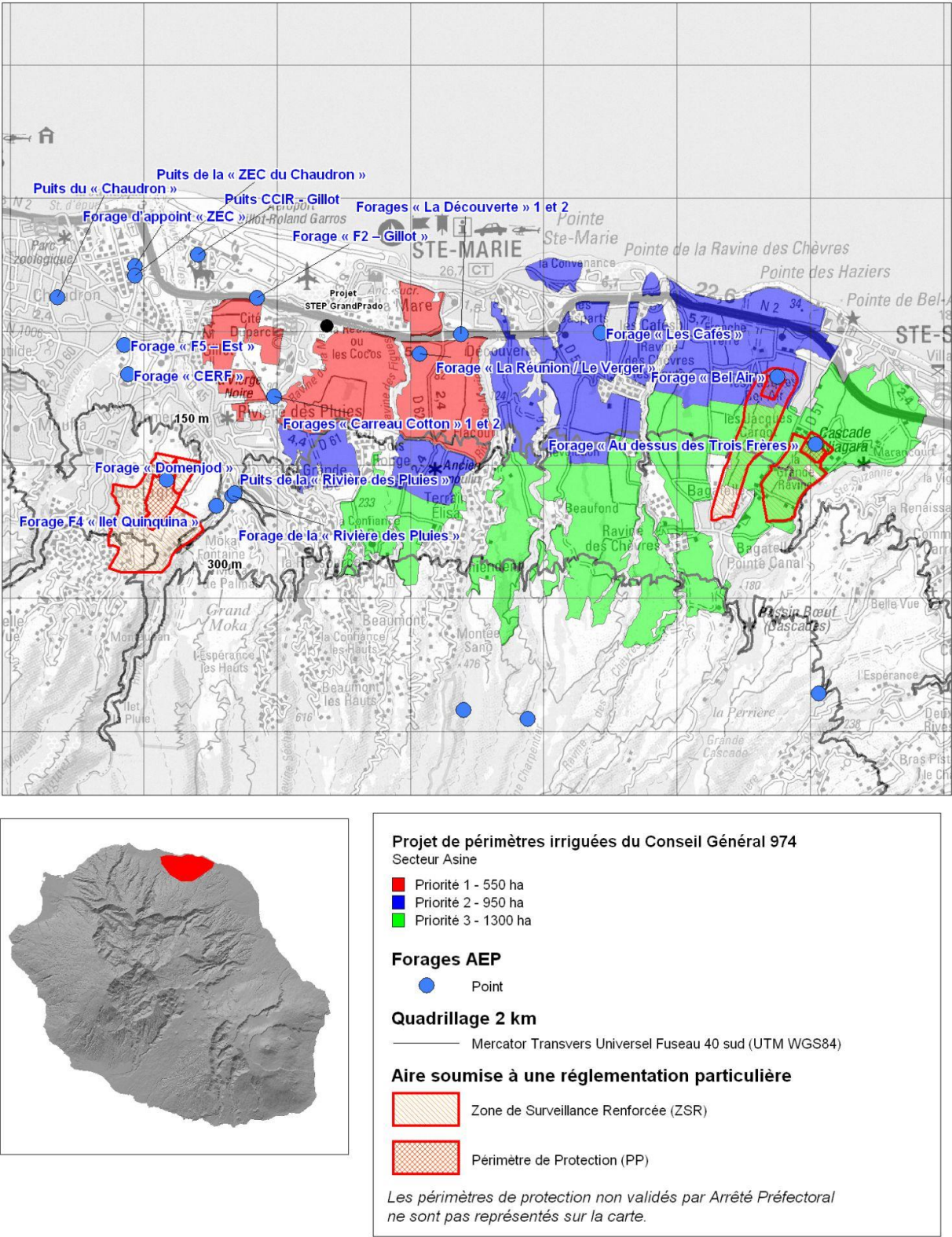


Illustration 1 - Site d'étude

1.3. OBJECTIF GLOBAL DE L'ETUDE

Le projet a pour objectif global de proposer des solutions innovantes de réduction des micropolluants en sortie de la STEU du Grand-Prado (CINOR, La Réunion) afin d'optimiser la réutilisation des eaux usées traitées pour l'irrigation de la canne à sucre. Pour atteindre cet objectif, il a été nécessaire de :

- de réaliser une cartographie des pressions urbaines et industrielles exercées sur le réseau de collecte / transport des eaux usées ;
- de mener une démarche analytique sur les eaux de la STEU du Grand-Prado (en entrée et en sortie) afin de déterminer l'efficacité des différents traitements existants, et au regard des connaissances existantes sur la qualité des eaux usées ;
- de mettre en œuvre une expérimentation en laboratoire visant à étudier la phytodisponibilité des micropolluants ;
- d'interpréter les résultats obtenus afin de s'adapter au problème posé.

1.4. CONTRIBUTIONS RESPECTIVES DES MEMBRES DU CONSORTIUM

Le BRGM a porté la cartographie des pressions, les opérations de prélèvements et d'analyses des eaux, les tests préliminaires à la manipulation RHIZOtest et l'adaptation au problème posé.

Le Cirad a porté l'étude de la phytodisponibilité des micropolluants (manipulation RHIZOtest).

Le laboratoire « Rovaltain Research Company » a réalisé, dans le cadre d'une sous-traitance portée par le Cirad, le dosage de 9 contaminants dans des plantules de sorgho³ et dans un sol (Rapport d'étude final RRCO-17-0055a - annexe 1 du présent rapport).

La CINOR et le Conseil Départemental ont participé aux Comités de Pilotage et ont permis l'accès aux données analytiques des exploitants.

³ Le choix de cette plante est expliqué au § 5.1.2, p. 50

2. Cartographie des pressions exercées sur le réseau de collecte des eaux usées

Les pressions exercées sur le réseau de collecte des eaux usées ont été récupérées auprès des entités suivantes : DEAL/SPREI, CINOR, Chambre des métiers et de l'Artisanat, CISE et Veolia. L'ensemble des données a été géoréférencé afin de figurer sous un SIG intégrant le réseau de collecte / transport des eaux usées (Illustration 2 à Illustration 5).

Sur la base des données analysées et des connaissances du secteur, il apparaît que les pressions sont majoritairement de type urbaines avec la présence d'une vingtaine d'établissements de soins. Sept ICPE sont soumises à autorisation pour des activités relatives à l'automobile et de gestion des déchets principalement. Aucune activité industrielle utilisant de nombreux produits chimiques n'est recensée.

Numéro d'inspection	Nom établissement	Régime en vigueur	Etat d'activité	Priorité nationale	IED-MTD
71.00039	GENERALL AUTOS - st denis	Enregistrement	En fonctionnement	Oui	Oui
71.00088	Brasseries de Bourbon	Enregistrement	En fonctionnement	Oui	Oui
71.00122	CINOR station de transit des déchets	Enregistrement	En fonctionnement	Oui	Oui
71.00149	HOLCIM Réunion	Enregistrement	En fonctionnement	Oui	Oui
71.00169	Distillerie CHATEL	Inconnu	En cessation d'activité	Oui	Oui
71.00394	SAFI	Autorisation	En fonctionnement	Oui	Oui
71.00754	UNICOR	Inconnu	Cessation déclarée	Oui	Oui
71.00841	AH KANE garage	Inconnu	En cessation d'activité	Oui	Oui
71.01044	Garage CMP	Enregistrement	En fonctionnement	Oui	Oui
71.0109	TOUT POUR L'AUTO	Enregistrement	En fonctionnement	Oui	Oui
71.01514	MOUTOUSAMY Emile	Enregistrement	En fonctionnement	Oui	Oui
71.01515	MOUTOUSSAMY Emile Garage	Autorisation	En fonctionnement	Oui	Oui
71.01553	GRONDIN Félix André	Enregistrement	En fonctionnement	Oui	Oui
71.01623	SNC POINT NET	Autorisation	En fonctionnement	Oui	Oui
71.01706	SYDNE	Autorisation	En fonctionnement	Oui	Oui
71.01777	SEMBIN-APOU Gilles	Autorisation	En fonctionnement	Oui	Oui
71.01807	RUN CAR	Enregistrement	En fonctionnement	Oui	Oui
71.01907	CASSE AUTO IVOULA Finette	Enregistrement	En fonctionnement	Oui	Oui
71.02052	Travaux Public Négoce Nara - TP2N	Enregistrement	En fonctionnement	Oui	Oui
71.02073	CARS RAPID TRANSPORTS-MOUTOUSSAMY HUGUES	Autorisation	En fonctionnement	Oui	Oui
71.02194	CADJEE BATTERIES	Autorisation	En fonctionnement	Oui	Oui

Illustration 2 – Liste des ICPE de la commune de Saint-Denis

<https://www.georisques.gouv.fr/dossiers/installations> - extraction du 20/02/2020

Aucun de ces sites n'est classé Seveso. Tous ces sites sont classés en priorité nationale⁴ « oui » et en IED-MTD⁵ « oui ».

⁴ Instruction du 22/03/05 relative au programme de modernisation de l'inspection des installations classées des DRIRE et des DDSV Instruction de la DPPR sur les établissements prioritaires -

https://aida.ineris.fr/consultation_document/33394

⁵ Directive sur les émissions industrielles (IED) et meilleures techniques disponibles (MTD) -

<https://www.georisques.gouv.fr/node/7606>

Nom	Ville	Activité
C H D Felix Guyon	Saint Denis	Hôpital
Clinique Sainte Clotilde	Saint Denis	Clinique
Hopital D'Enfants	Saint Denis	Hôpital
Clinique Saint Vincent Sa	Saint Denis	Clinique
Centre De Reeduction De St Clotilde	Saint Denis	Clinique
Labosip	Saint Denis	Laboratoire
Labosip	Saint Denis	Laboratoire
Bionostic	Saint Denis	Laboratoire
Laboratoire De Ste-Clotilde	Saint Denis	Laboratoire
Laboratoire Robert Johny	Saint Denis	Laboratoire
Laboratoire Analyses Med.	Saint Denis	Laboratoire
Laboratoire Han Ching	Saint Denis	Laboratoire
Laboratoire Vauban	Saint Denis	Laboratoire
Houngbadji Lucas	Saint Denis	Laboratoire
A.U.R.A.R.	Saint Denis	Clinique centre de dialyse
Arrox Generique	Saint Denis	Laboratoire pharmaceutique
Progedom	Saint Denis	Laboratoire pharmaceutique
Sec-Lab	Saint Denis	Laboratoire
Laboratoire D'Analyses Medicale De La Riv Des Pluies	Sainte Marie	Laboratoire
Laboratoire D'Analyses Medicale De Ste Marie	Sainte Marie	Laboratoire
Aurora Concept	Sainte Marie	Laboratoire
Laboratoire Cambio	Sainte Marie	Laboratoire
Epsmr	Sainte Marie	Hôpital
Epsmr	Sainte Marie	Hôpital

Illustration 3 - Liste des établissements hospitaliers, de soins ou vétérinaires présents sur le site d'étude

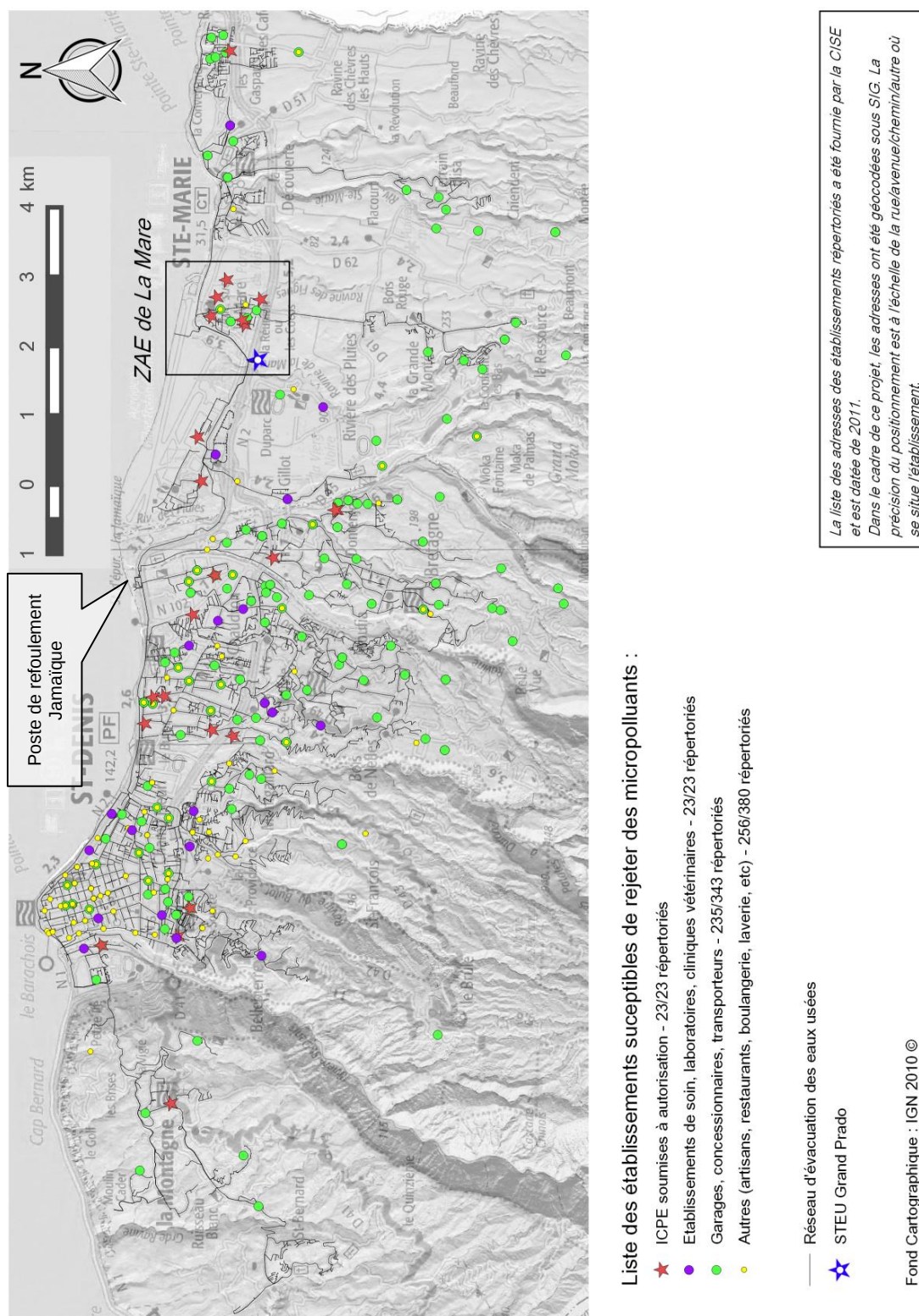


Illustration 4 - Cartographie des pressions exercées sur le réseau de collecte des eaux usées à l'échelle du territoire de la CINOR

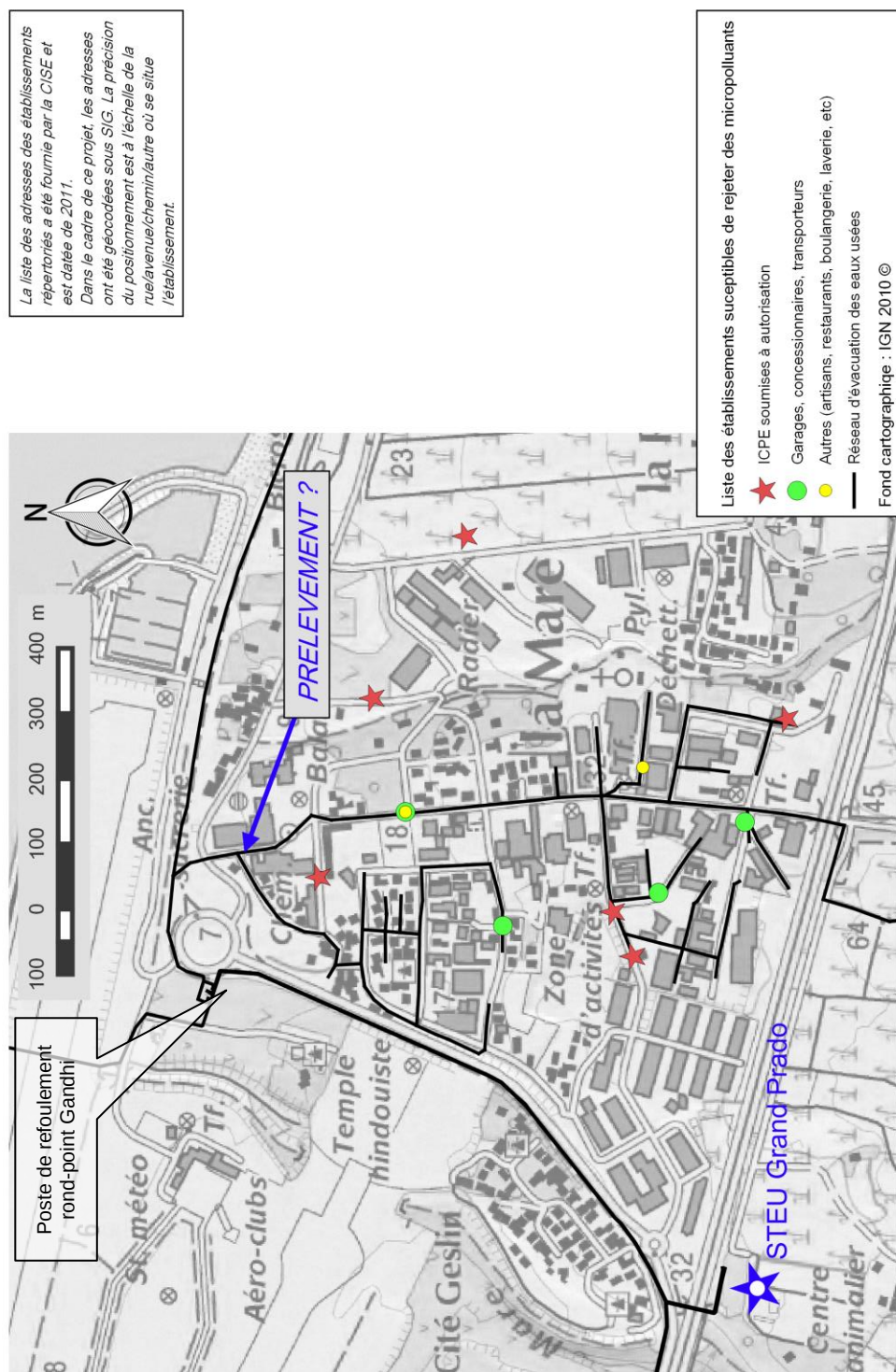


Illustration 5 - Cartographie des pressions exercées sur le réseau de collecte des eaux usées à l'échelle du secteur de la Mare

Le poste de refoulement « rond-point Gandhi » est représenté par le label « Prélèvement ? » (voir paragraphe 3.2.3 - Choix des points de prélèvements et fréquence de suivi en p. 26)

3. Démarche analytique sur les eaux de la STEU

3.1. DONNEES HISTORIQUES DE SUIVI

a) STEU du Grand Prado

Quatre analyses RSDE ont été réalisées entre septembre 2013 et septembre 2014 par la CINOR, via l'exploitant de la STEU du Grand-Prado (Veolia).

Après analyse préliminaire des données, il apparaît que les paramètres 2,4-D, toxaphène, DEHP⁶ et naphtalène sont présents. Sont également analysés les éléments majeurs et les éléments trace métalliques (Illustration 6).

Code SANDRE	Substances	LQ attendue en µg/l
7009	Hydrocarbures totaux	50
1517	Naphtalène	0,05
1370	Aluminium	20
1389	Chrome et ses composés	5
1393	Fer	25
1394	Manganèse	5
1386	Nickel et ses composés	10
1383	Zinc et ses composés	10
1279	Toxaphène	0,05
1337	Chlorures	10000
1106	AOX	10
1338	Sulfates	10000

Illustration 6 – Paramètres proposés au maître d'ouvrage pour la surveillance des substances sur le rejet dans le milieu naturel (rapport Endetec⁷, 2015)

Le 2,4-D et le DEHP ne figurent pas dans la liste car leur concentration est inférieure à la limite de quantification pour 3 des 4 prélèvements RSDE.

b) STEU Le Port

La commune du Port souhaite irriguer ses espaces verts avec l'eau usée traitée en provenance de sa STEU. Afin de bénéficier du RetEx de cette commune et des traitements mis en œuvre, certains éléments d'études sont repris ci-après.

⁶ DEHP : DiEthylHexyl Phthalate (anglais), phtalate de bis(2-éthylhexyle) ou phtalate de di-2-éthylhexyle

⁷ Endetec – Centre d'Analyses Environnementales - Rapport de synthèse surveillance initiale 2013/2014 - Station de Traitement des Eaux Usées Urbaines de Grand Prado - Commune de Sainte Marie (974) - Eaux de rejet. V. Martinagolle (CAE). 15 p.

Dans le cadre d'un dossier de demande d'autorisation de réutilisation d'eaux usées traitées (BRLi *et al.*, 2014), la commune du Port a réalisé un suivi précis de la qualité des eaux en entrée de STEU (Illustration 7), en sortie de STEU et après un traitement complémentaire de type osmose inverse (OI). Les paramètres suivis étaient les suivants : physico-chimie des eaux, microbiologie, éléments traces métalliques, micropolluants organiques (dont HAP) et résidus médicamenteux.

Pour ce qui concerne les substances industrielles, certaines molécules sont détectées ponctuellement après le traitement OI : naphtalène, fluoranthène, DEHP, nonylphénol, pentachlorophénol et chloroforme. Le DEHP reste la substance la plus fréquemment retrouvée mais à des concentrations inférieures au µg/L. La STEU traite ou retient 95 à 99 % du composé (BRLi *et al.*, 2014).

Pour mémoire, les pressions industrielles sont beaucoup plus importantes sur la STEU du Port dans la mesure où le territoire qui correspond à ce secteur est marqué par un fort développement de l'industrie.

En ce qui concerne les résidus médicamenteux, 38 substances ont été recherchées en entrée et 16 molécules ont fait l'objet de quantification. Les antalgiques constituent environ 36 % des molécules identifiées dans l'effluent (entrée). Ils correspondent aux classes de médicaments les plus vendues (ibuprofène, aspirine, doliprane, dafalgan).

L'effluent en sortie STEU⁸ (avant osmose inverse) présente encore un nombre significatif de composés dont certains peuvent ponctuellement atteindre des concentrations supérieures à 1 µg/L. A titre de comparaison, le seuil dans les eaux brutes utilisées pour la production d'eau destinée à la consommation humaine pour d'autres molécules organiques telles que les produits phytosanitaires est fixé à 0,1 µg/L.

Enfin, il apparaît que le traitement d'osmose inverse réduit très significativement les substances médicamenteuses dans la mesure où aucune substance n'est quantifiable parmi les 36 recherchées. Les seuils de quantification les plus courants sont 0.1 µg/l. Quelques substances ont fait l'objet d'analyses à des seuils plus bas (0.005 µg/l) - (BRLi *et al.*, 2014).

⁸ L'effluent en sortie de STEU est issu d'un traitement « standard », n'incluant pas le traitement « osmose inverse ». L'osmose inverse est un traitement de finition, spécifique à la ReUse.

	Entrée STEU (µg/L)	Sortie STEU (µg/L)	Rendement %
Acide salicylique	34.13	< LQ	100%
Amoxicilline	0.4	0.5	-25%
Aténolol	0.93	0.4	57%
Caféine	75.1	0.3	100%
Carbamazépine	1.45	0.74	49%
Diclofénac	2.5	0.83	67%
Doxyclyne	0.1	< LQ	100%
Erythromycine	< LQ	0.1	Pb. analyse ?
Estrone	0.07	0.2	-186%
Gadolinium	0.17	< LQ	100%
Hydrochlorothiazide	30.64	3.7	88%
Hydroxyibuprofène	< LQ	0.58	Pb. analyse ?
Ibuprofène	4.2	< LQ	100%
Kétoprofène	0.58	0.18	69%
Losartan	0.5	0.27	46%
Ofloxacin	0.2	0.1	50%
Oxazépan	0.68	< LQ	100%
Paracétamol	174.32	0.2	100%
Trimétazidine	0.1	< LQ	100%
17β-Estradiol	0.03	< LQ	100%

Illustration 7 - Résidus médicamenteux en entrée et sortie de STEU, avant le traitement de finition « osmose inverse »

Rendements d'élimination correspondant aux moyennes des concentrations (6 prélèvement sur 6 mois).

D'après le dossier de demande d'autorisation de réutilisation des eaux usées après traitement de la commune du Port (BRLi et al., 2014)

3.2. STRATEGIE D'ECHANTILLONNAGE

3.2.1. Le traitement des eaux usées de la STEU du Grand Prado⁹

Les différents traitements permettant d'aboutir à une qualité « eau de baignade » en sortie de STEU sont présentés sur l'illustration 8.

Les modules de filtration de la STEU du Grand-Prado (REUSE sur l'illustration 8), sont des membranes en PVDF¹⁰, de seuil de coupure 0,1 µm, ce qui correspond à la limite entre ultra et microfiltration. Ce module n'appartient pas à la chaîne de traitement ordinaire du traitement des eaux. Il a été installé dans une démarche de test pour la ReUse.

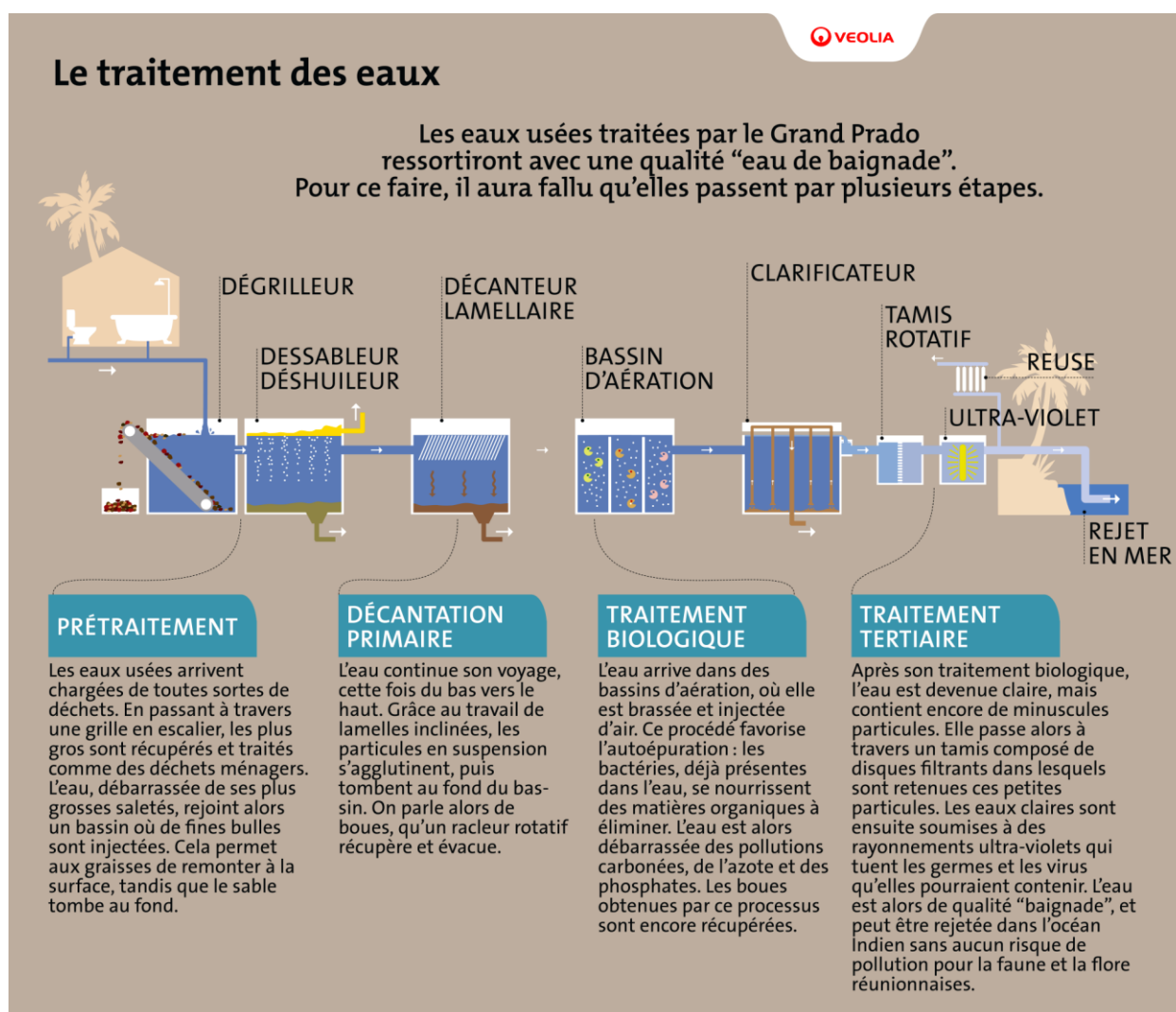


Illustration 8 – Schéma de traitement des eaux de la STEU du Grand Prado
<https://www.grand-prado.re/>

⁹ Extrait du site web : <https://www.grand-prado.re/>

¹⁰ Le poly(fluorure de vinylidène) est un polymère du fluorure de vinylidène. Son nom anglais est « PolyVinylidene Fluoride »

3.2.2. Le traitement des boues de la STEU du Grand Prado¹¹

Les différents traitements permettant de produire l'engrais (produit commercial homologué) est présenté sur l'illustration 9.

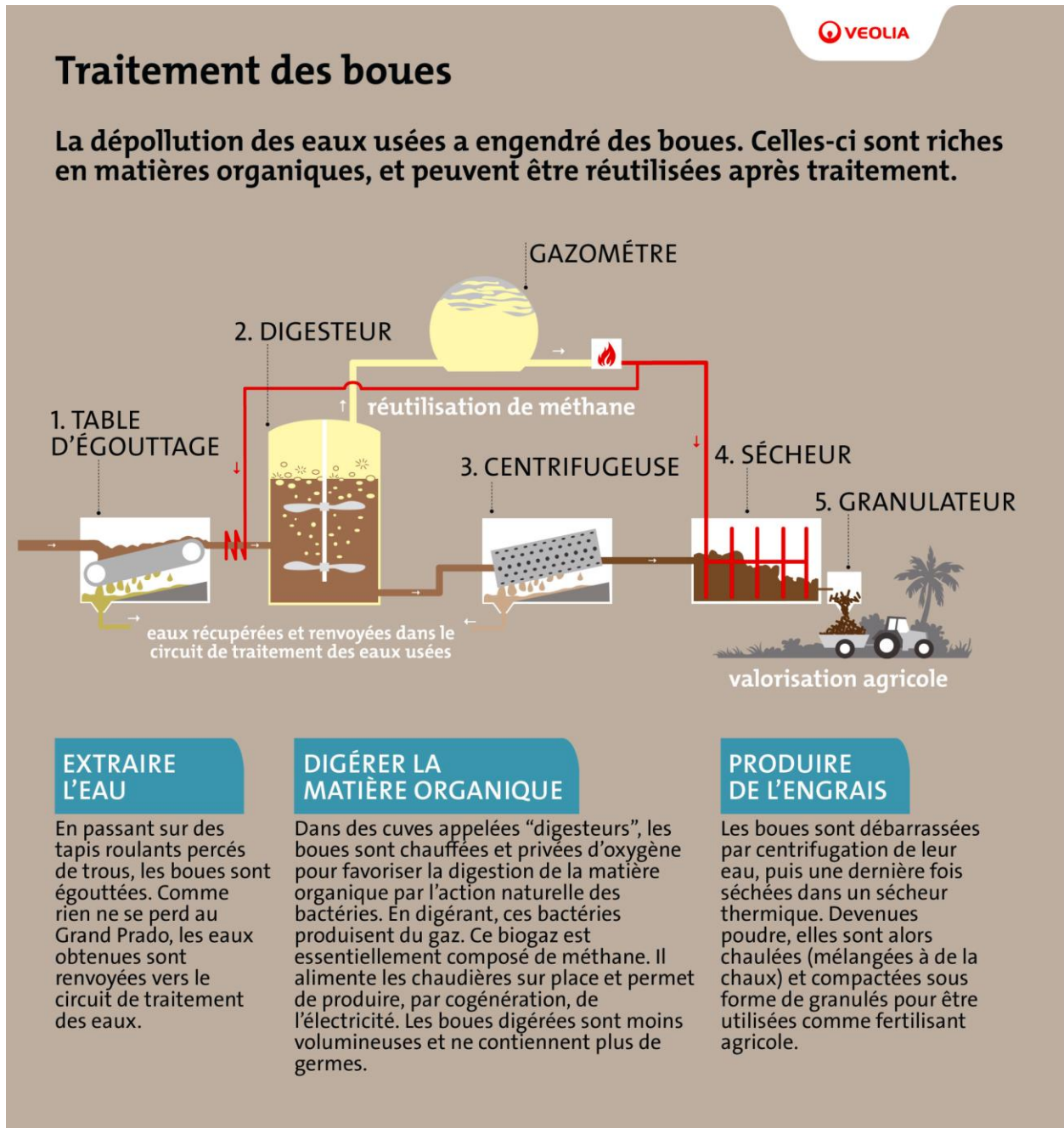


Illustration 9 – Schéma de traitement des eaux de la STEU du Grand Prado
<https://www.grand-prado.re/>

¹¹ Extrait du site web : <https://www.grand-prado.re/>

3.2.3. Choix des points de prélèvements et fréquence de suivi

a) *Présentation de la STEU du Grand-Prado*

- **Amont de la station de traitement des eaux usées**

Deux principaux postes de refoulement sont en amont de la STEU (Illustration 5) :

- Le poste « rond-point Gandhi » est géré par la STEU et présente une possibilité de prélèvement manuel. Le poste est équipé d'un trop plein avec débitmètre et d'un dégrilleur.
- Le poste « Jamaïque » est géré par la CISE. Il est équipé d'un trop plein, d'un dégrilleur, et des injections de Nutriox¹² sont réalisées.

Après examen, ces postes ne sont pas adaptés à la réalisation de prélèvement.

- **Entrée de la station**

Un préleveur automatique est installé à l'entrée de la station (Illustration 10), juste après les dégrilleurs 3 mm (avec suivi pH, potentiel redox et débit en continu). Les quantités prélevées sont proportionnelles au débit d'entrée. Les récipients, en PEHD, ont une capacité de 12 litres. Les prélèvements sont réglés de manière à avoir au moins 150 prélèvements de 50 mL en 24 heures. Toutes les 24 h, le récipient change (démarrage automatique à 0h00). Le préleveur est réfrigéré en continu (de l'ordre de 4 à 7°C).

¹² Le procédé NUTRIOX®, c'est une injection contrôlée de nitrate de calcium. Le procédé a été créé par la société Yara spécifiquement à destination des réseaux d'assainissement, poste de refoulement, station de traitement des eaux usées et industries. De l'H₂S se forme dans les eaux usées en condition anaérobie. L'H₂S génère de mauvaises odeurs, peut avoir un impact sur la santé et attaque les matériaux (corrosif). Le nitrate de calcium inhibe la formation de sulfures dissous et d'H₂S.

- http://www.afcan.org/dossiers_techniques/h2s.html

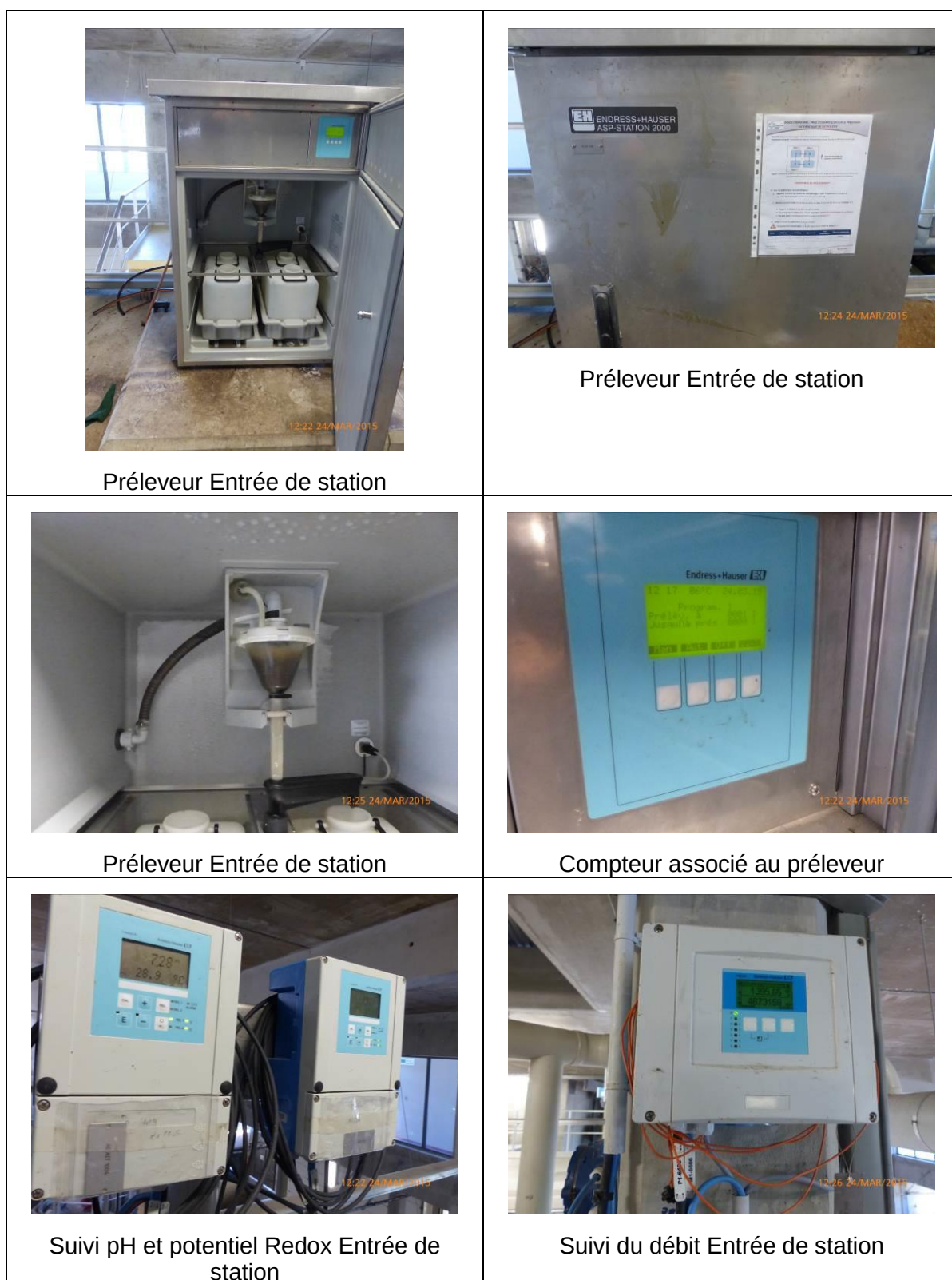


Illustration 10 - Installations à l'entrée de la STEU du Grand-Prado

b) Sortie de la station

Un préleveur similaire à celui de l'entrée de la station est installé à la fin de la chaîne tertiaire (ne comprenant pas l'unité d'ultrafiltration - Illustration 8). Il n'y a cependant pas de suivi du potentiel redox (Illustration 11).



Illustration 11 - Installations en sortie de la STEU du Grand-Prado

- **Sortie du pilote d'ultrafiltration**

Il n'existe pas de préleveur automatique en sortie du pilote d'ultrafiltration. Le prélèvement peut s'effectuer par une vanne à la sortie de l'unité (Illustration 12), avant le bassin de stockage. Ce pilote traite à hauteur de 100 m³/h d'eau (sur les 1 000 à 3 000 m³/h totaux), pour un usage interne à la STEU (espace vert, nettoyage).



Illustration 12 - L'unité d'ultrafiltration de la station du Grand-Prado.

- **Autres informations sur la station du Grand-Prado**

La filière « eaux usées » intègre des matières de vidange de fosses septiques et des matières de curage du réseau. Le volume de matières de vidange est de l'ordre de 200 à 300 tonnes/mois, ce qui est négligeable par rapport au volume total d'eaux usées traitées. Cependant, leur charge représente entre 5 et 10 % du total. Les apports sont ponctuels (par camions).

La station a une capacité de traitement de 170 000 équivalents habitants, qui peut s'étendre à 235 000. Cependant, à l'heure actuelle, sa charge n'est que de 90 000 équivalents habitants.

c) Points de suivis de la station du Grand-Prado

Le choix final des points de suivis sur la station du Grand-Prado a été guidé par un certain nombre de contraintes techniques. La présence des préleveurs automatiques en entrée et sortie de station apparaît intéressante afin d'obtenir une donnée intégrée sur 24 heures augmentant ainsi la représentativité des prélèvements.

En parallèle, les modes de prélèvement à mettre en place sur les postes de refoulement et à la sortie de l'unité d'ultrafiltration ont nécessité une réflexion plus poussée. Les prélèvements aux postes de refoulement peuvent en effet ne pas être nécessaire dans le cas où les prétraitements en place (dégrilleurs, Nutriox...) et le transit jusqu'à la station n'influencent pas la nature et la concentration des micropolluants.

Au final, 3 points de prélèvements sur la STEU ont été sélectionnés afin de réaliser le suivi de la qualité des eaux sur l'installation :

- l'entrée de la STEU (Illustration 10) ;
- la sortie d'effluent après le traitement conventionnel (Illustration 11) ;
- la sortie d'effluent après le traitement par ultrafiltration (Illustration 12).

Pour l'entrée de la STEU et la sortie après traitement conventionnel, des prélèvements moyennés de 24h sont effectués pour améliorer la représentativité. Les échantillons sont ensuite envoyés au laboratoire du BRGM à Orléans.

La fréquence de prélèvement est mensuelle sur la période d'avril à juillet, soit 4 campagnes de mesures.

3.2.4. Paramètres analysés

L'étude est focalisée spécifiquement sur les micropolluants urbains persistants au sein des filières de traitement et présentant des capacités de transfert vers les plantes. Compte tenu de l'existence d'un nombre important de données RSDE permettant de qualifier l'apport des composés réglementés, il n'a pas été jugé nécessaire de renouveler ces mesures. La première campagne de diagnostic est donc fortement orientée sur les polluants dits émergents.

Deux types de suivis de la qualité des eaux en entrée et en sortie de la STEU du Grand-Prado sont mis en œuvre pour la première campagne d'analyse. Un suivi conventionnel des concentrations de molécules individuelles sélectionnées *a priori* « analyse ciblée ». Un suivi non conventionnel des profils moléculaires des échantillons collectés « analyse non ciblée ».

a) Choix des molécules suivies en analyse ciblée

Les molécules à suivre de manière spécifique lors de cette première campagne ont été choisies en croisant les informations issues :

- des suivis chimiques déjà réalisés sur la station du Grand-Prado et la STEU voisine de Le Port¹³ ;
- des travaux nationaux du CEP¹⁴ sur l'identification et la priorisation des substances émergentes persistantes dans le milieu aquatique ;
- des résultats de travaux de recherche publiés sur la phytodisponibilité des substances émergentes (Wu *et al.*, 2015).

Le croisement de l'ensemble de ces informations a permis d'établir une liste de 35 molécules à suivre lors de cette campagne de diagnostic. Un focus est fait sur les composés pharmaceutiques et émergents dont la liste est fournie en illustration 13. Cette liste est constituée de 25 substances pharmaceutiques et de 10 autres substances émergentes.

b) Analyses non-ciblées

En parallèle à ce suivi ciblé sur des substances spécifiques, des analyses non-ciblées par UPLC/HRMS (spectrométrie de masse haute résolution) seront effectuées afin de comparer les profils moléculaires entre les 3 points de mesures, et ce sur les 4 campagnes réalisées entre avril et juillet 2016.

¹³ Le RetEx du Port permet de bénéficier d'une information sur les molécules potentiellement présentes dans un réseau de collecte pour un bassin amont relativement similaire dans le contexte de la population réunionnaise (activités industrielles, urbaines et rurales).

¹⁴ CEP = Comité d'Expert Priorisation

	Substances pharmaceutiques		Substances émergentes
1	Acide fénofibrique	1	Benzotriazole
2	Alprazolam	2	Bisphénol A
3	Aténolol	3	Caféine
4	Bézafibrate	4	Ethylparabène
5	Bromazépam	5	Methylparabène
6	Carbamazépine	6	Propylparabène
7	Clotrimazole	7	Tolyltriazole
8	Cyclophosphamide	8	Triclocarban
9	Diazépam	9	Triclosan
10	Diclofénac	10	4-n-nonylphénol
11	Fénofibrate		
12	Furosémide		
13	Gemfibrozil		
14	Ibuprofène		
15	Ketoprofène		
16	Lorazepam		
17	Métoprolol		
18	Naproxène		
19	Oxazépam		
20	Paracetamol		
21	Propranolol		
22	Sulfaméthoxazole		
23	Triméthoprim		
24	1-Hydroxyibuprofène		
25	2-Hydroxyibuprofène		

Illustration 13 - Liste des molécules à suivre lors de la campagne de diagnostic

3.3. CAMPAGNES DE PRELEVEMENTS

3.3.1. Prélèvements

Trois points de prélèvements sur la STEU ont été sélectionnés afin de réaliser le suivi de la qualité des eaux sur l'installation selon l'organisation suivante (Illustration 14) :

- l'entrée de la STEU (entrée) ;
- la sortie d'effluents après le traitement conventionnel (sortie III) ;
- la sortie d'effluents après le traitement par ultrafiltration (sortie UF).

Sur l'entrée et la sortie tertiaire, des prélèvements moyennés de 24 h sont effectués afin de bénéficier d'un échantillon plus représentatif des flux en entrée. Les prélèvements en sortie d'ultrafiltration ne sont pas moyennés. Les prélèvements sont effectués le matin, puis les échantillons sont envoyés le jour même au laboratoire à Orléans.

La fréquence de prélèvement est mensuelle sur la période, soit 4 campagnes de mesures :

- C1 18/04/2016
- C2 09/05/2016
- C3 23/05/2016
- C4 27/06/2016

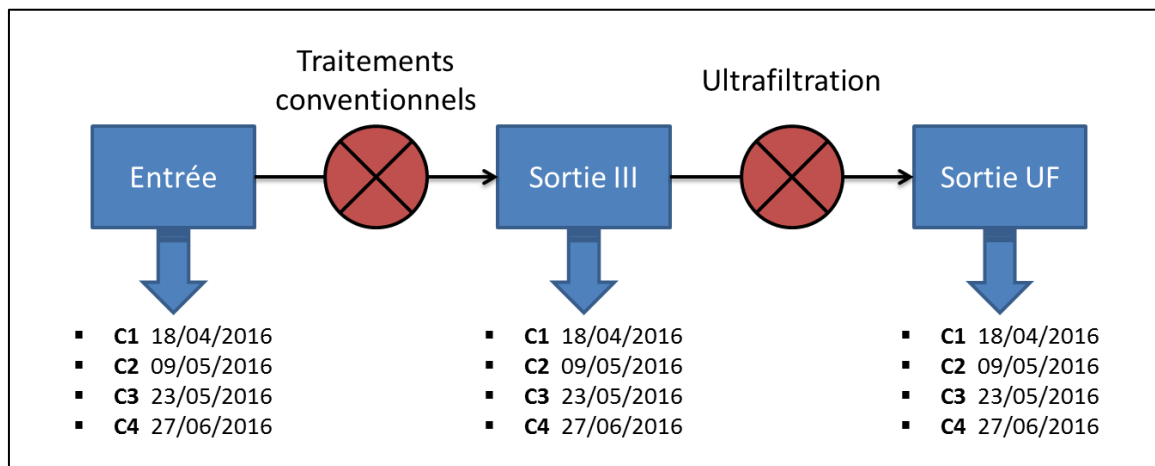


Illustration 14 - Organisation des campagnes de mesures sur la station du Grand-Prado

3.3.2. Présentations des résultats

Afin de bénéficier d'une vision synthétique des résultats, ces derniers sont moyennés sur les 4 campagnes.

Les ordres de grandeur de concentrations sont conservés entre les campagnes pour toutes les molécules. Ces variations (de 20 à 80 %) sont classiquement rencontrées dans les mesures de rejets de STEU.

Les molécules qui ont été quantifiées une seule fois, le sont à des concentrations proches des limites de quantification de la méthode analytique.

a) Entrée de la STEU

Entrée STEU	Nb. détection (4 analyses)	Moy. des concentrations (ng/l)
1-Hydroxyibuprofène	3	188
2-Hydroxyibuprofène	4	8 485
4-n-nonylphénol (104-40-5)	2	1 333
Acide fénofibrique	4	1 872
Aténolol	4	3 611
Benzotriazole	3	976
Bézafrate	1	93
Bisphénol A	3	692
Caféine	4	65 294
Carbamazépine	4	596
Clotrimazole	1	139
Diclofenac	4	2 913
Ethylparabène	4	501
Furosémide	4	2 843
Gemfibrozil	2	731
Ibuprofène	4	6 257
Ketoprofène	4	1 856
Lorazepam	1	43
Méthylparabène	4	852
Métoprolol	3	357
Naproxène	4	1 806
Oxazepam	4	426
Paracétamol	4	115 168
Propranolol	3	214
Propylparabène	4	612
Sulfaméthoxazole	4	928
Tolyltriazole	3	438
Triclocarban	4	532
Triclosan	3	404
Triméthoprim	4	232

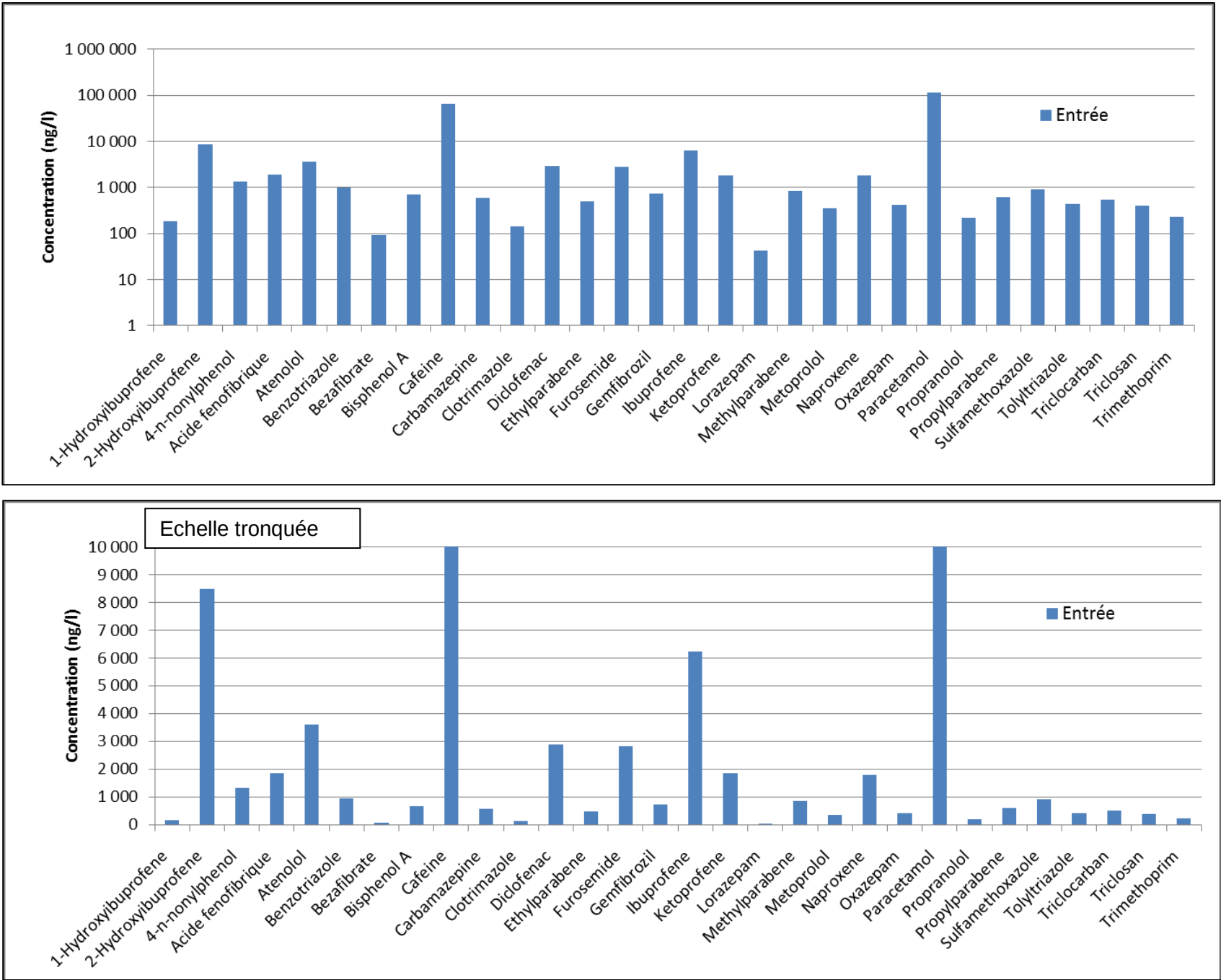


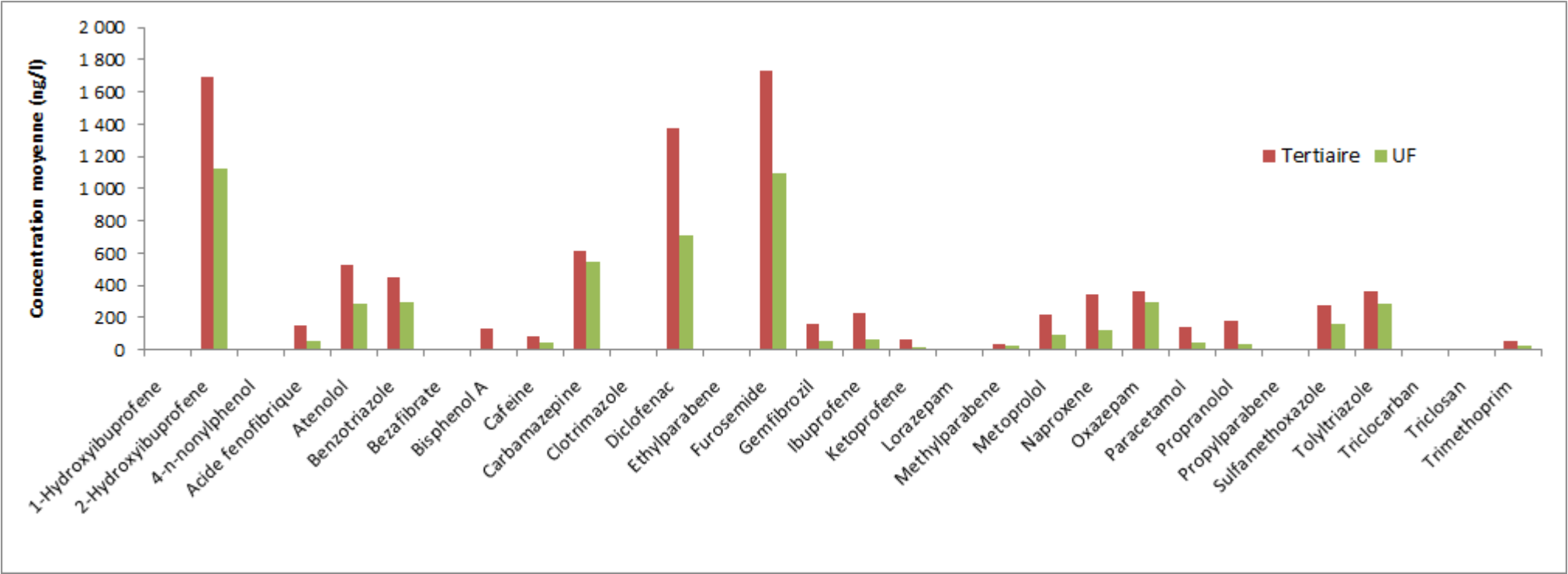
Illustration 15 – Molécules quantifiées en entrée de STEU (à gauche)
Le nombre de détections sur 4 analyses permet d'appréhender la fréquence de détection.
Les concentrations sont exprimées en moyenne sur les 4 analyses réalisées (en haut à droite échelle logarithmique de l'axe vertical et en bas à droite échelle linéaire)
Le code couleur du tableau vise à mettre en évidence les fortes valeurs (nuances de rouge) et les plus faibles valeurs (nuances de bleu)

b) Sortie de la STEU : traitements tertiaire et ultrafiltration

Sortie tertiaire	Nb. détection (4 analyses)	Moy. des concentrati ons (ng/l)
2-Hydroxyibuprofène	4	1 689
4-n-nonylphénol	2	218
Acide fénofibrique	3	153
Aténolol	4	527
Benzotriazole	4	453
Bisphénol A	3	132
Caféine	4	85
Carbamazépine	4	613
Diclofénac	4	1 379
Furosémide	4	1 732
Gemfibrozil	3	158
Ibuprofène	2	227
Ketoprofène	2	62
Methylparabène	3	40
Métoprolol	4	220
Naproxène	3	340
Oxazéпам	4	368
Paracétamol	1	140
Propranolol	4	177
Sulfaméthoxazole	4	276
Tolyltriazole	3	363
Triméthoprim	3	52

Sortie ultra-filtration	Nb. détection (4 analyses)	Moy. des concentrati ons (ng/l)
2-Hydroxyibuprofène	3	1 120
Acide fénofibrique	2	53
Aténolol	4	291
Benzotriazole	4	298
Caféine	2	47
Carbamazépine	4	544
Diclofénac	4	713
Furosémide	3	1 098
Gemfibrozil	4	58
Ibuprofène	1	62
Ketoprofène	1	21
Methylparabène	2	31
Métoprolol	3	93
Naproxène	2	125
Oxazéпам	4	296
Paracétamol	1	42
Propranolol	1	32
Sulfaméthoxazole	4	156
Tolyltriazole	3	287
Triméthoprim	1	28

Illustration 16 – Molécules détectées en sortie de STEU
Traitement tertiaire seul et traitement tertiaire suivi du traitement complémentaire d'ultrafiltration
Le nombre de détections sur 4 analyses permet d'appréhender la fréquence de détection.
Les concentrations sont exprimées en moyenne sur les 4 analyses réalisées.
Le code couleur du tableau vise à mettre en évidence les fortes valeurs (nuances de rouge) et les plus faibles valeurs (nuances de bleu)



3.3.3. Interprétation des résultats

a) Absence de détection

Les 8 substances ci-dessous n'ont jamais été détectées au cours des 4 campagnes de prélèvement, dès l'entrée de la STEU. Ce sont des substances pharmaceutiques, hypolipémiants (fibrates) ou anti-dépresseurs (benzodiazépines) pour la plupart.

Ces résultats sont en cohérence avec les données disponibles sur quelques STEU en métropole (Soulie et al., 2011) :

- Alprazolam (LQ = 40 ng/L [C1, C4] ; 200 ng/L [C3] ; 500 ng/L [C2])
- Bézafibrate (LQ = 40 ng/L)
- Bromazépam (LQ = 100 ng/L)
- Clotrimazole (LQ = 40 ng/L [C1] ; 100 ng/L [C2, C4] ; 1250 ng/L [C3])
- Cyclophosphamide (LQ = 40 ng/L)
- Diazépam (LQ = 40 ng/L)
- Fénofibrate (LQ = 100 ng/L)
- Lorazépam (LQ = 40 ng/L)

b) Efficacité du traitement conventionnel

- **Composés retrouvés à l'entrée de STEU et dégradés lors du traitement conventionnel de la station**

Pour 9 substances analysées en sortie après le traitement tertiaire (sortie III), la moitié ou plus des mesures réalisées lors des 4 campagnes est inférieure à la limite de quantification. Il s'agit de :

- 1-Hydroxyibuprofène (LQ = 100 ng/L)
- 4-n-nonylphénol* (LQ = 100 ng/L)
- Ethylparabène* (LQ = 20 [C1, C4] et 40 ng/L [C2, C3])
- Kétoprofène (LQ = 40 ng/L)
- Méthylparabène* (LQ = 40 ng/L)
- Paracétamol (LQ = 40 ng/L)
- Propylparabène* (LQ = 20 [C1, C4] et 40 ng/L [C2, C3])
- Triclocarban* (LQ = 40 et 250 ng/L [C3])
- Triclosan* (LQ = 40 ng/L)

Six de ces substances ne sont pas des produits pharmaceutiques, mais des polluants émergents. Trois de ces molécules sont des parabènes utilisés essentiellement dans les produits cosmétiques. Le triclosan et le triclocarban sont des biocides antibactériens et antifongiques utilisés dans de nombreux produits de la vie courante (dentifrice, produits d'entretien, ...). Enfin le 4-n-nonylphénol est un phénol très couramment utilisé dans l'industrie. Ces molécules sont repérées dans la liste par un astérisque (*).

Les résultats sont présentés dans l'illustration 17. Ces molécules étant « non quantifiées » en sortie de traitement tertiaire, les abattements sont estimés par rapport à la limite de quantification

analytique. La limite de cette approximation est flagrante pour le 1-hydroxy-ibuprofène : avec une concentration moyenne en entrée de l'ordre de 200 ng/L et l'intégralité des mesures dans l'effluent tertiaire < 100 ng/L, il n'est pas possible de faire une meilleure approximation de l'abattement que « > 50% ».

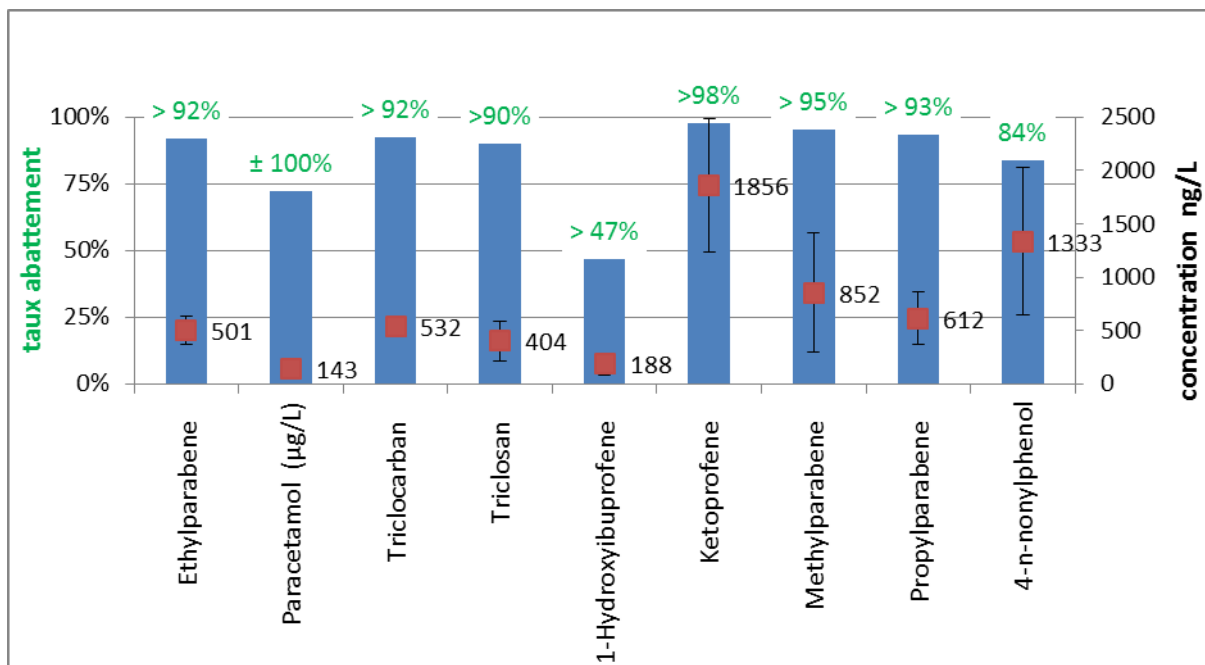


Illustration 17 - Taux d'abattement moyen et concentration (en ng/L), sauf pour le paracétamol exprimé en µg/L), en entrée de STEU pour les substances dégradées lors du traitement conventionnel (<LQ en sortie III)

• Abattement lors du traitement conventionnel (sortie III)

Pour 14 molécules, l'abattement est significatif lors du traitement conventionnel, de 24 % en moyenne pour le métoprolol à 99 % en moyenne pour la caféine. Les molécules présentant un taux d'abattement entre 24% et 99 % en moyenne sont les suivantes :

- 2-Hydroxyibuprofène
- Acide fénofibrique
- Aténolol
- Benzotriazole*
- Bisphénol A*
- Caféine*
- Diclofénac
- Furosémide
- Gemfibrozil
- Ibuprofène
- Métoprolol (le plus faible taux d'abattement est de 3% pour une analyse)
- Naproxène
- Sulfaméthoxazole
- Triméthoprim

Le détail des taux d'abattement par molécule est présenté sur l'illustration 18. Les mesures sont sensiblement comparables entre les 4 campagnes d'analyses. L'absence de mesure

d'abattement correspond à des mesures inférieures aux limites de quantification (qui peuvent être fluctuantes selon les campagnes) pour l'entrée de STEU ou la sortie tertiaire, ce qui ne permet pas de proposer un calcul objectif. Pour mémoire, une réflexion a été menée pour mieux prendre en compte les mesures <LQ dans le cadre de la campagne RSDE (INERIS, 2018) : « *si sur les 6 mesures effectuées, la substance à supprimer n'a pas été quantifiée (concentrations <LQ) 3 fois, alors il est considéré qu'elle n'est pas présente de façon notable dans les rejets* ».

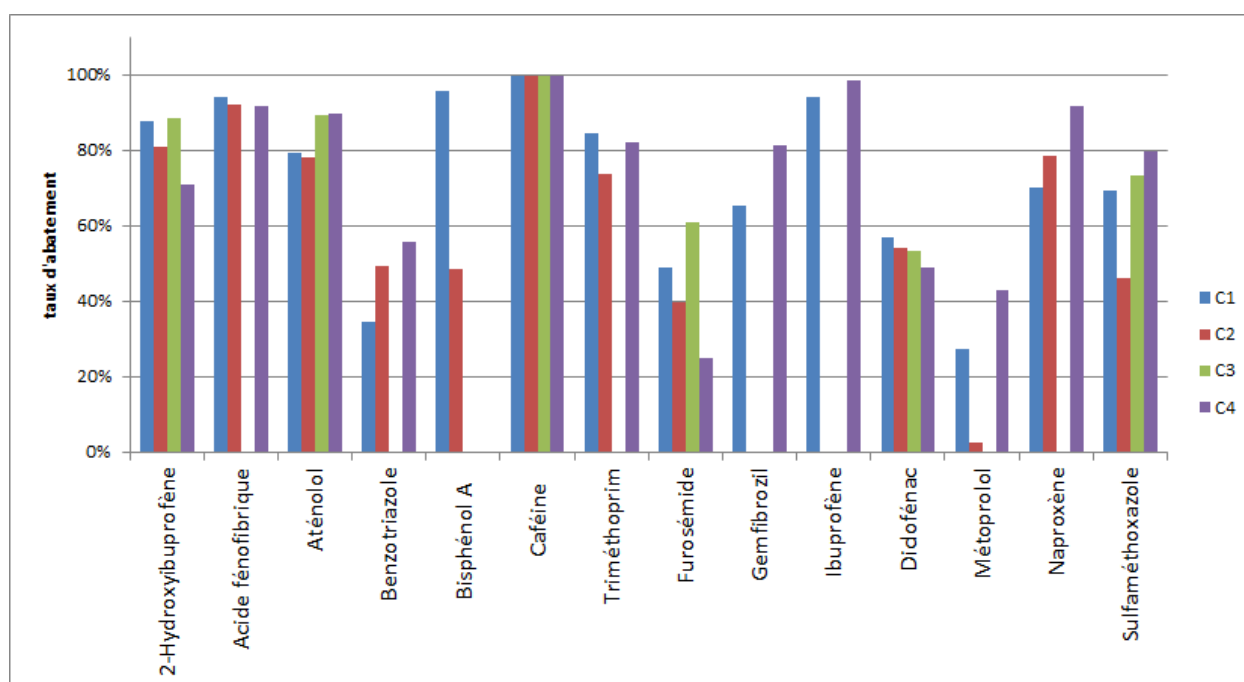


Illustration 18 - Taux d'abattement lors du traitement conventionnel (sortie III), pour chacune des 4 campagnes

Pour 4 substances, l'abattement est négligeable voire nul lors du traitement conventionnel (Illustration 19). Il s'agit de :

- Oxazépan
- Propranolol
- Carbamazépine
- Tolyltriazole*

Les valeurs négatives sont dues à la forte variabilité des concentrations des substances mesurées, malgré le fait d'avoir limité cette variabilité en réalisant des prélèvements moyennés 24 h pour prendre en compte cette variabilité. Les 4 prélèvements ont été réalisés le lundi matin afin que les échantillons puissent être réceptionnés en semaine au laboratoire (temps d'expédition de l'ordre de 48 à 72h). L'échantillon est donc représentatif de la journée du dimanche.

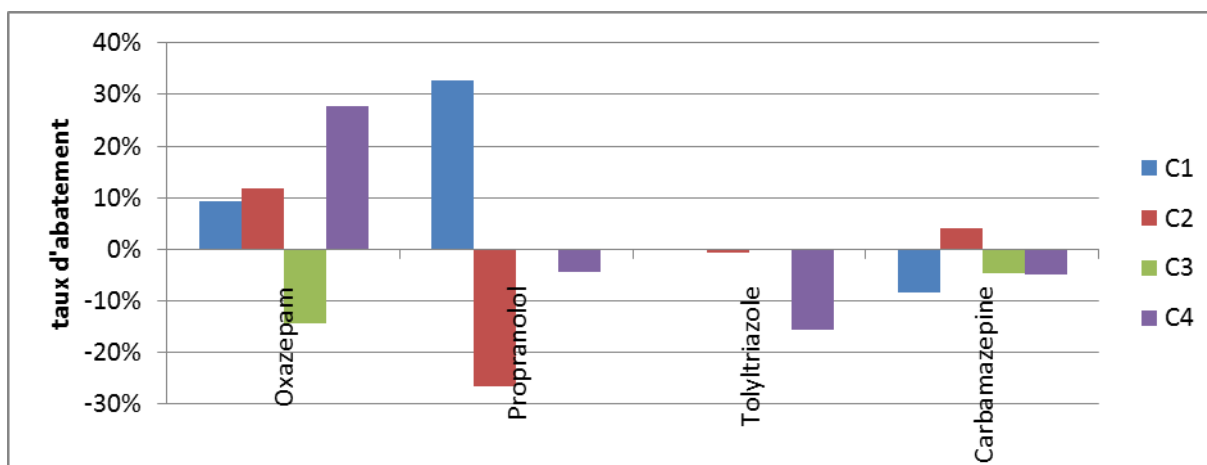


Illustration 19 - Taux d'abattement lors du traitement conventionnel (sortie III), pour chacune des 4 campagnes, molécules faiblement dégradées

• Efficacité de l'ultrafiltration

L'illustration 20 présente les concentrations en sortie d'ultrafiltration pour les substances correctement dégradées (> 80%) après traitement par ultrafiltration.

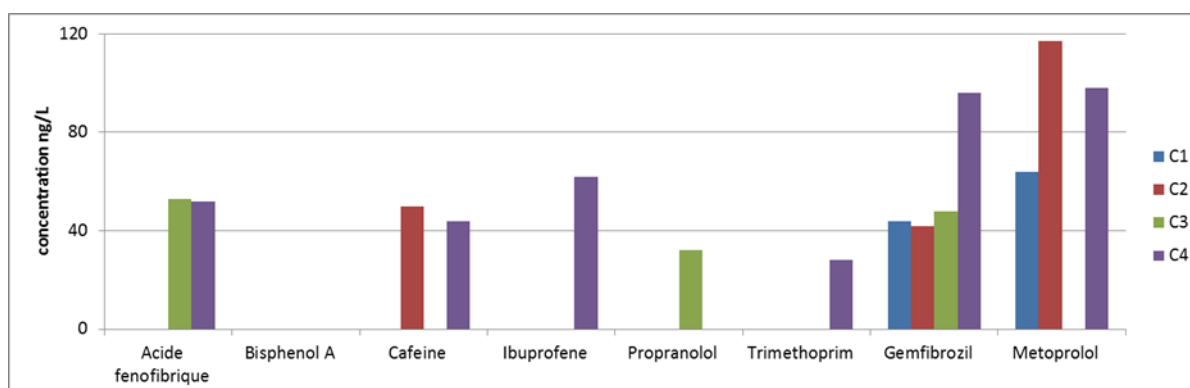


Illustration 20 - Concentration des substances après l'étape d'ultrafiltration, pour chacune des 4 campagnes, pour les molécules correctement dégradées

Pour un certain nombre de composés, l'abattement lors de l'ultrafiltration est très faible, les molécules sont toujours présentes dans l'effluent final, malgré une bonne efficacité du traitement conventionnel (Illustration 21).

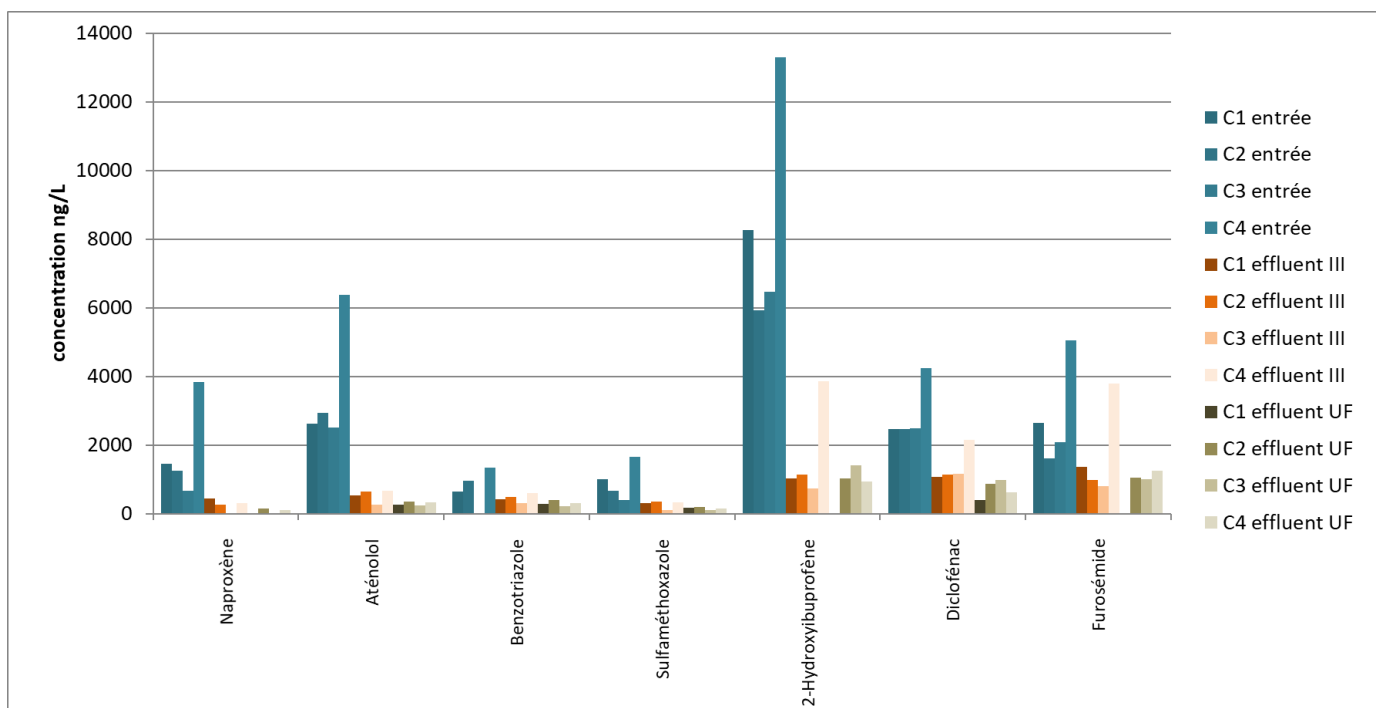


Illustration 21 - Concentration des substances pour chaque étape du traitement, pour chacune des 4 campagnes et pour les molécules présentant une concentration résiduelle significative malgré une certaine efficacité du traitement
Le code couleur ne peut Les échantillons sont classé

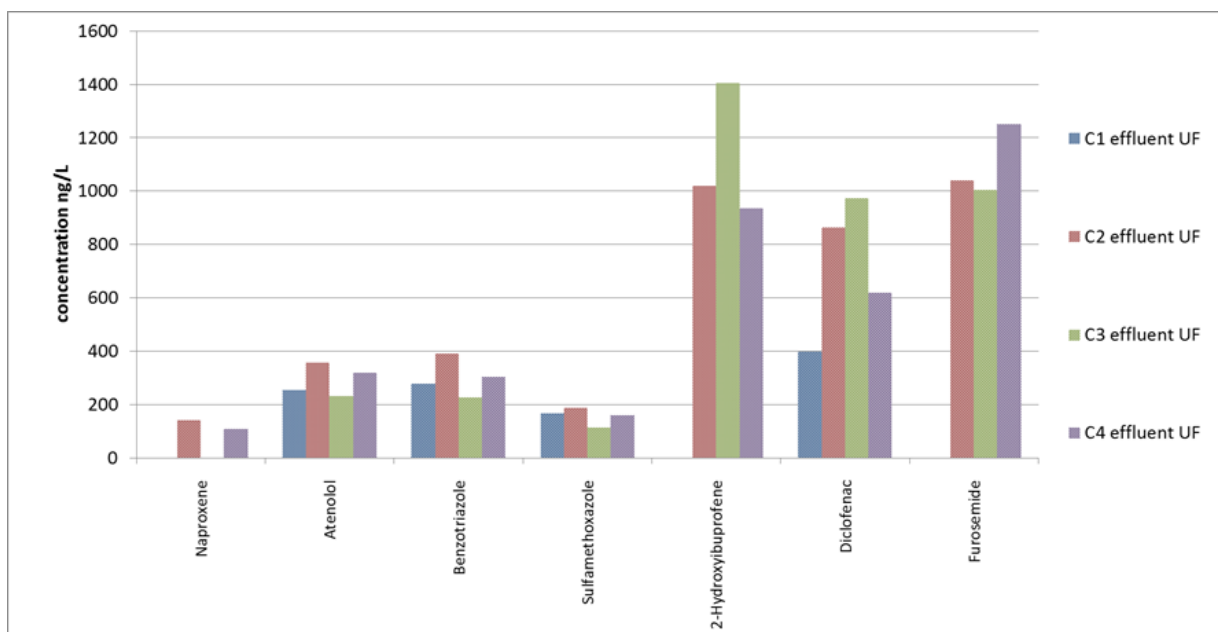


Illustration 22 - Concentration des substances dans l'effluent final après l'étape d'ultrafiltration, pour chacune des 4 campagnes, pour les molécules présentant une concentration résiduelle significative malgré une certaine efficacité du traitement.

Pour ces molécules, l'apport du traitement complémentaire par ultrafiltration est mitigé (entre 12 % et 60 %) selon les composés, avec une grande variabilité selon les campagnes de mesures (Illustration 23).

Les concentrations dans l'effluent final restent donc élevées (de l'ordre du microgramme) pour certaines substances, notamment le furosémide (diurétique), le diclofénac (anti-inflammatoire, Voltarène®) et la 2-hydroxyibuprofène, métabolite de l'ibuprofène (anti-inflammatoire non-stéroïdien).

		Naproxène	Aténolol	Benzotriazole	Sulfaméthoxazole	2-Hydroxy ibuprofène	Diclofénac	Furosémide
Abattement entre le tertiaire et l'UF	C1	ND	53%	34%	45%	ND	62%	ND
	C2	48%	44%	20%	48%	11%	24%	-7%
	C3	ND	13%	29%	-3%	ND	17%	-24%
	C4	66%	52%	49%	53%	76%	71%	67%
Moyenne		57%	40%	33%	36%	43%	43%	12%
Ecart-type		13%	19%	12%	26%	46%	27%	48%

Illustration 23 - Taux d'abattement calculés entre la concentration dans l'effluent tertiaire et la concentration dans l'effluent ultrafiltration, par campagne et en moyenne

Trois composés sont aussi présents dans l'effluent en sortie d'ultrafiltration : la carbamazépine, l'oxazépam et le tolyltriazole. Pour ces composés, ni le traitement conventionnel, ni l'ultrafiltration ne permettent de dégrader ces substances. Pour ces trois composés, les concentrations résiduelles dans l'effluent final sont similaires à celles de l'entrée de STEU, à des niveaux de concentration compris entre 200 ng/L et presque 800 ng/L selon les composés et les campagnes.

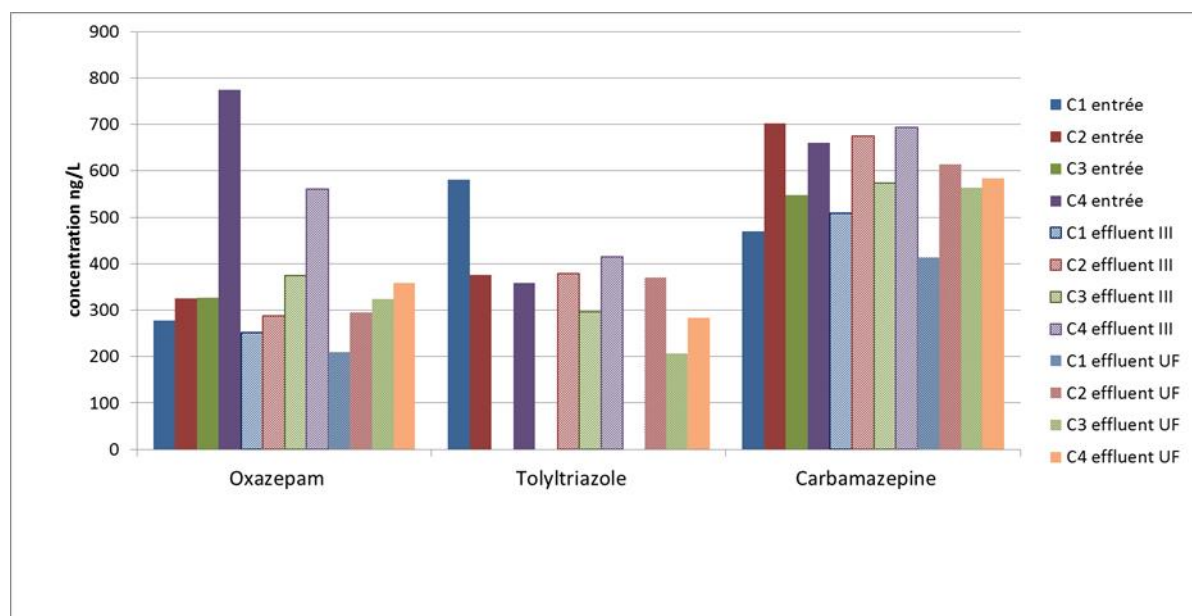


Illustration 24 - Concentration des substances après l'étape d'ultrafiltration pour chacune des 4 campagnes, pour les molécules résistantes aux traitements

c) Bilan des résultats et perspective de l'action

L'illustration 26 permet de faire le bilan des analyses réalisées en entrée, en sortie de traitement tertiaire conventionnel et en sortie d'ultrafiltration de la STEU du Grand-Prado. Ce bilan révèle que l'ultrafiltration n'apporte pas systématiquement d'abattement significatif complémentaire sur les molécules analysées : celles qui sont persistantes lors du traitement conventionnel le sont généralement aussi suite à l'ultrafiltration.

L'ultrafiltration semble apporter un gain substantiel en abattement pour 3 molécules : le bisphénol A, le métoprolol et le propranolol.

A l'inverse, trois molécules ne sont ni abattues par les traitements tertiaires conventionnels, ni par l'ultrafiltration. Il s'agit du tolyltriazole, de l'oxazépam et de la carbamazépine. Ces molécules sont donc à prendre en compte *a minima* pour l'étude de phyto-disponibilité.

Enfin, trois autres molécules, la furosémide, le diclofénac et le 2-hydroxyibuprofène montrent, malgré un bon abattement lors des traitements tertiaires et de l'ultrafiltration, des concentrations résiduelles significatives.

Au-delà de l'étude de phytodisponibilité pour les molécules qui présentent des concentrations résiduelles significatives en sortie de STEU, l'analyse des résultats est poursuivie en axant l'interprétation sur le couplage des données de suivi avec d'autres données de contexte telles que :

- les concentrations en entrée de la STEU ;
- les propriétés des molécules qui guident potentiellement leur comportement lors des phases de traitement (solubilité, Kd, Koc, biodégradabilité, taille des molécules...) ;
- l'origine des molécules et leur(s) usage(s).

L'objectif de cette démarche est d'une part, d'identifier quelles sont les propriétés des molécules qui expliquent leur devenir au sein des filières de traitement (traitement tertiaire et ultrafiltration) et, d'autre part, d'estimer les potentiels de réduction à la source des molécules peu abattues en sortie de STEU.

L'atteinte du premier objectif permettra de classer les molécules potentiellement non dégradées au sein des filières de traitement de la STEU du Grand-Prado en fonction de leurs propriétés intrinsèques et des concentrations prévisibles en entrée de la station. Les propriétés des molécules sont recherchées en bibliographie ainsi que dans la base de données de l'Agence Chimique Européenne, l'ECHA¹⁵. La mise en œuvre d'analyses multicritères de type analyse en composante principale (ACP) et analyse factorielle discriminante (AFD) aide à identifier les propriétés à considérer en priorité pour estimer le devenir des molécules au sein des filières de traitements. Les tests réalisés (Illustration 25 a et b) tendent à montrer par exemple que l'abattement après traitement tertiaire semble plus corrélé à la persistance des molécules (DT50) qu'à leur capacité d'adsorption.

L'origine des molécules mesurées en entrée de la STEU du Grand Prado est évaluée en couplant les informations disponibles sur les établissements susceptibles de rejeter des micropolluants dans le réseau connecté à la STEU du Grand Prado (Illustration 4) et les données disponibles

¹⁵ <https://echa.europa.eu/fr/home>

sur le lien entre le type d'établissement et les molécules potentiellement rejetées. Ces informations sont recherchées :

- dans la bibliographie scientifique du domaine des rejets anthropiques ;
- dans la matrice de corrélation Activités-Polluants élaborée par le BRGM (Aubert *et al.*, 2014). Cette base permet de recenser les substances les plus couramment utilisées ou produites par les installations industrielles et activités de services ;
- à partir des résultats des études sectorielles des groupes IETI¹⁶ pilotées par les syndicats professionnels et les agences de l'eau.

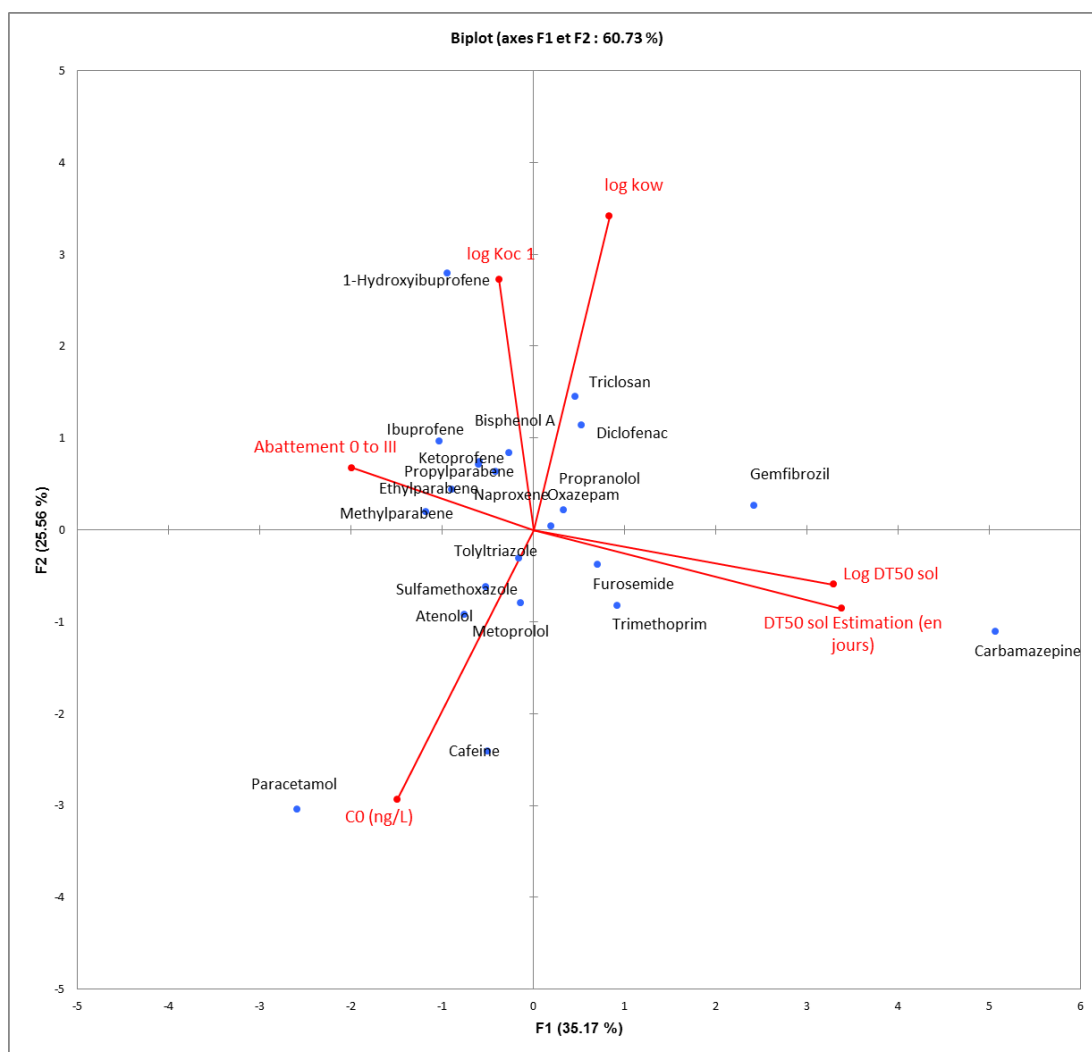


Illustration 25a - Test d'analyse en composante principale des corrélations entre quelques propriétés des molécules et l'abattement après traitement tertiaire.

¹⁶ http://www.ineris.fr/rsde/etudes_branches.php ; <http://www.lesagencesdeleau.fr/>

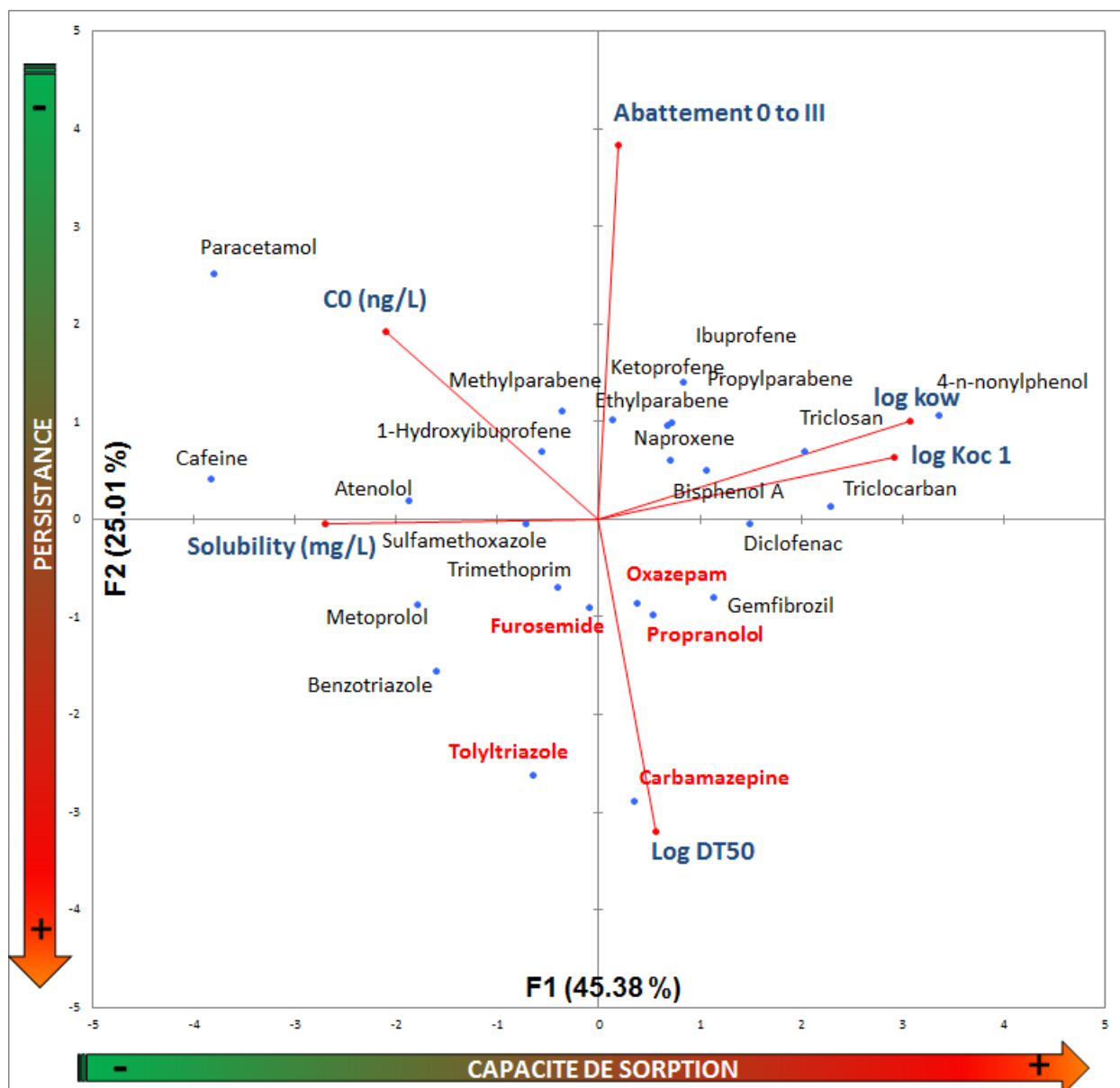


Illustration 25b - Test d'analyse en composante principale des corrélations entre quelques propriétés des molécules et l'abattement après traitement tertiaire.

L'analyse en composante principale présentée en illustration 25b montre que les concentrations après traitement tertiaire en carbamazépine et tolyltriazole, et dans une moindre mesure celles en propranolol, furozémide et oxazépam sont positivement corrélées selon l'axe F2 avec de fortes valeurs de DT50. Ces molécules sont celles dont les concentrations en sortie de STEU sont les plus élevées. En revanche, ces concentrations ne sont pas corrélées avec les variables Koc et solubilité portées par l'axe F1.

Le diagramme tend ainsi à montrer que la propriété prépondérante permettant d'expliquer la présence de molécules en sortie de STEU est une forte persistance exprimée par une valeur élevée de temps de demi-vie DT50 qui décrit une forte résistance à la biodégradation. La solubilité et la capacité de sorption sur la matière organique (Koc) des molécules apparaissent secondaires dans l'explication de leurs capacités de transfert au travers de la STEU du Grand Prado.

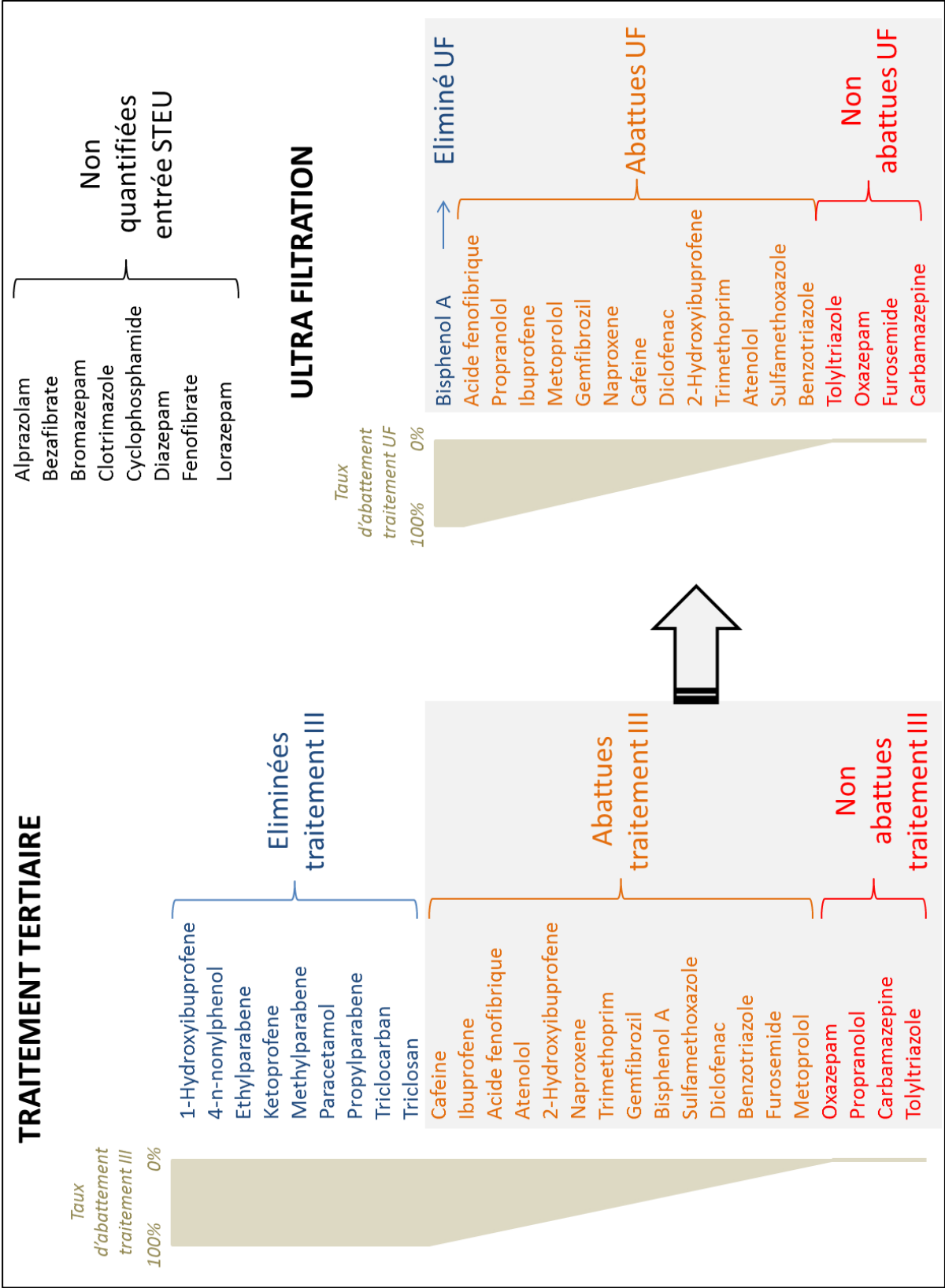


Illustration 26 - Bilan des analyses réalisées en entrée, en sortie de traitement tertiaire et en sortie d'ultrafiltration de la STEU du Grand Prado

4. Résultats des tests préliminaires à la manipulation RHIZOtest

4.1. PROBLEMATIQUE

Les molécules organiques peuvent potentiellement réagir avec les matériaux plastiques (sorption dans les flacons notamment). Hors, la manipulation RHIZOtest fait intervenir des flacons en polyéthylène. Ce matériel ne peut être remplacé par du verre pour des questions de complexité de mise en œuvre. Il a donc été décidé de tester les éventuelles interactions entre le matériel utilisé pour le RHIZOtest et les eaux chargées en molécules organiques.

4.2. MOLECULES TESTEES

Il est noté que parmi les 35 molécules testées (Illustration 26), deux molécules, le fénofibrate et l'ifosfamide, posent des difficultés avant la mise en œuvre des tests. Il s'agit de difficultés analytiques liées à la matrice (sorption dans les flacons de stockage des solutions, verrerie...).

1	1-Hydroxyibuprofène	19	Furosémide
2	2-Hydroxyibuprofène	20	Gemfibrozil
3	4-n-nonylphenol (104-40-5)	21	Ibuprofène
4	Acide fenofibrique	22	Ketoprofène
5	Alprazolam	23	Lorazepam
6	Aténolol	24	Methylparabene
7	Benzotriazole	25	Metoprolol
8	Bezafibrate	26	Naproxène
9	Bisphenol A	27	Oxazépam
10	Bromazepam	28	Paracetamol
11	Caféine	29	Propranolol
12	Carbamazépine	30	Propylparabene
13	Clotrimazole	31	Sulfaméthoxazole
14	Cyclophosphamide	32	Tolyltriazole
15	Diazepam	33	Triclocarban
16	Diclofénac	34	Triclosan
17	Ethylparabene	35	Trimethoprim
18	Fenofibrate		

Illustration 27 – Liste initiale des 35 molécules ayant fait l'objet des tests préliminaires.

4.3. TEMOINS

Les témoins « solutions nutritives » sont validés (absences de molécules).

En parallèle, un bécher contenant uniquement la solution est préparé, il servira de témoin de la biodégradation des micropolluants pour permettre de différencier ce phénomène de la sorption sur la toile (codage TEMOIN).

Certaines molécules semblent déjà instables (entre 20-30 % de pertes en 48 h) sur cet essai même sans être dans le dispositif (témoin 48 h). Il s'agit de :

- Alprazolam ;
- Clotrimazole ;
- Naproxène ;
- Ibuprofène.

4.4. EXPERIMENTATION 1 : SORPTION DES MICROPOLLUANTS ORGANIQUES

Afin d'évaluer, les pertes de composés dues à la mise en place de l'expérimentation, un essai témoin est mis en place. La comparaison avec l'expérimentation « TEMOIN », permet de différencier les phénomènes dus à la sorption sur le dispositif d'une dégradation des composés dans la solution.

Le temps de contact entre la solution dopée et le dispositif est de 2 jours (temps correspondant au renouvellement de la solution lors du RHIZOtest).

La solution (400 mL) est mise en contact sur 3 dispositifs dans un incubateur à 25°C.

A noter que les dispositifs utilisés sont neufs.

10 mL de solution sont récupérés après contact de 2 jours dans chaque dispositif.

Résultats : les résultats sont acceptables pour une grande majorité de composés. Seules deux substances supplémentaires semblent instables dans le système : triclosan et triclocarban. Ces deux molécules sont d'ailleurs connues pour s'adsorber rapidement sur divers substrats (Wu et al., 2009).

	Moyenne SORP / Moyenne témoin (en%)
Atenolol	112
Paracetamol	100
Trimethoprim	111
Metoprolol	92
Sulfamethoxazole	80
Propanolol	108
Cyclophosphamide	101
2 hydroxy ibuprofène	101
Bromazepam	110
Furosemide	91
Carbamazepine	109
1 hydroxy ibuprofène	100
Oxazepam	102
Lorazepam	88
Ketoprofen	108
Bezafibrate	111
Diazepam	108
Diclofenac	105
Ac fénofibrique	100
Gemfibrozil	111
Benzotriazole	95
Tolytriazole	99
Cafeine	108
Methyl paraben	91
Propyl paraben	93
Ethyl paraben	99
Triclocarban	42
Triclosan	62
Bisphenol A	109

Illustration 28 – Résultat de l'expérimentation 1 de sorption des micropolluants organiques
Pour mémoire, 29 molécules sont présentes dans le tableau en raison des « éliminations » évoquées au § 4.2 et 4.3 ci-dessus.

4.5. EXPERIMENTATION 2 : SORPTION SUR LA TOILE

Pour le test spécifique de sorption sur la toile en polyamide, il a été décidé de laisser la toile en contact avec la solution durant une nuit, plus exactement de 16 h à 9 h le lendemain matin (19 h). Cette expérimentation est réalisée dans des béchers de 200 mL.

Résultats (Illustration 27)

Sans surprise, les deux composés ayant montré une forte sorption sur le dispositif sont totalement perdus sur cette expérimentation (0 % de récupération pour triclosan et triclocarban).

On observe 37 % de récupération pour le furosémide, qui est une des molécules parmi les plus apolaires, le résultat est donc peu étonnant.

Les résultats sont plus surprenants pour la sulfaméthoxazole (antibiotique) et le paracétamol.

	Moyenne SORP /référence (en%)
Atenolol	104
Paracetamol	59
Trimethoprim	69
Metoprolol	104
Sulfamethoxazole	3
Propanolol	98
Ifosfamide	86
Cyclophosphamide	45
2 hydroxy ibuprofène	109
Bromazepam	102
Furosemide	37
Carbamazepine	96
1 hydroxy ibuprofène	103
Oxazepam	102
Lorazepam	91
Alprazolam	82
Clotrimazole	82
Ketoprofen	110
Naproxen	66
Bezafibrate	96
Diazepam	91
Diclofenac	98
Ac fénofibrique	95
Ibuprofen	94
Gemfibrozil	94
Fenofibrate	88
Benzotriazole	101
Tolytriazole	98
Cafeine	119
Methyl paraben	89
Propyl paraben	81
Ethyl paraben	93
Triclocarban	0
Triclosan	0
Bisphenol A	100

Illustration 29 – Résultat de l'expérimentation 2 de sorption sur la toile

4.6. CONCLUSION

Il ne semble pas y avoir de problème majeur de contamination lors de la mise en œuvre du RHIZOtest.

Quelques molécules posent toutefois des problèmes en termes de sorption/stabilité (triclosan, triclocarban, sulfaméthoxazole, paracétamol, furosémide, naproxène) : soit elles ne seront pas considérées dans l'exercice mis en œuvre, soit les résultats seront pris avec précaution (furosémide et naproxène).

5. Etude de la phytodisponibilité des micropolluants (Cirad)

5.1. METHODOLOGIE

5.1.1. Intérêt du dispositif RHIZOtest pour l'étude de la phytodisponibilité des micropolluants organiques

La principale originalité du projet Micro-ReUse est liée au suivi des micropolluants organiques dits émergents. Etant donné l'état relativement réduit des connaissances sur le comportement de ces micropolluants organiques émergents dans le système sol-plante, il a été décidé d'étudier leur phytodisponibilité en milieu contrôlé à l'aide du seul test biologique de laboratoire actuellement normalisé pour la mesure de la phytodisponibilité des contaminants présents dans le sol. Le RHIZOtest (ISO 16198) est un test biologique basé sur l'exposition d'une plante, préalablement pré-cultivée en hydroponie, à un sol contaminé par contact sans pénétration des racines dans le sol. Sans empêcher les interactions entre les racines et le sol et, en particulier, le prélèvement des contaminants du sol par les racines, le RHIZOtest permet une récolte aisée et propre de la plante et une mesure standardisée de la phytodisponibilité en seulement trois semaines (Illustration 30).

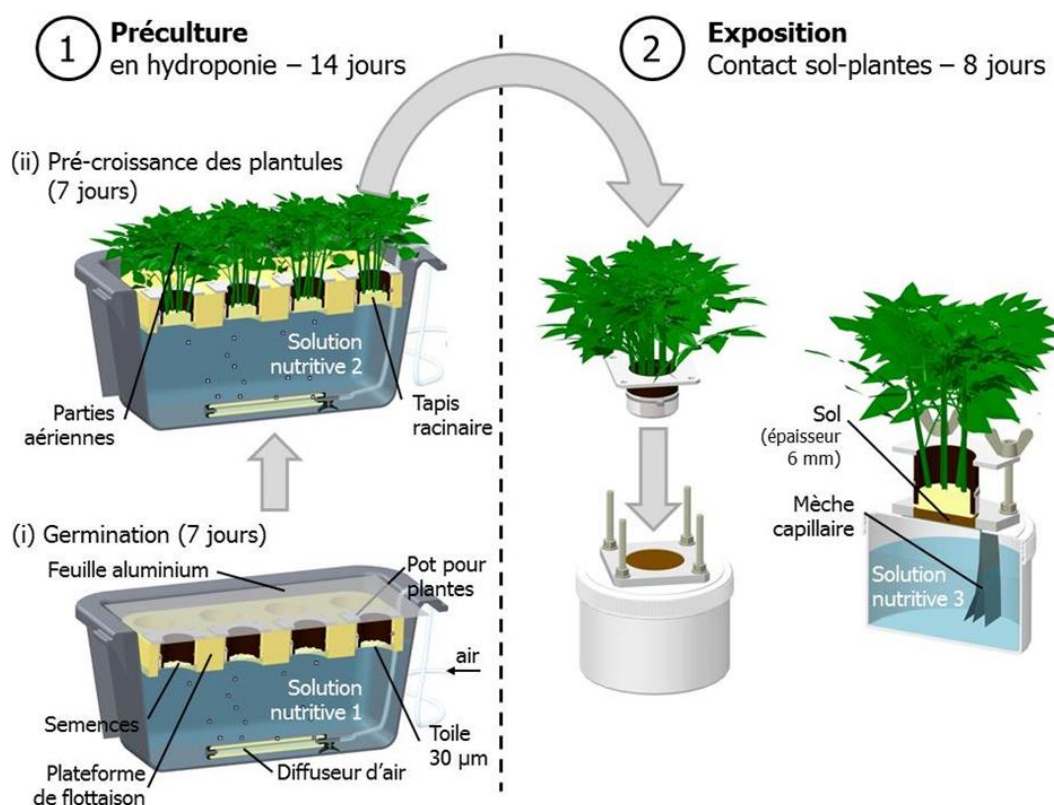


Illustration 30 - Principe expérimental de la culture en RHIZOtest

Des tests préliminaires réalisés au second semestre 2016 (voir § 4. Résultats des tests préliminaires à la manipulation RHIZOtest) sur 35 micropolluants organiques émergents ont montré que seuls le sulfaméthoxazole, le triclocarban et le triclosan risquaient de poser des problèmes importants de stabilité sur la durée de l'expérimentation ou de sorption sur les matériaux du dispositif RHIZOtest (voir § 4 Résultats des tests préliminaires à la manipulation RHIZOtest). Ces résultats ont donc permis de montrer que la plupart des micropolluants organiques émergents pouvaient être étudiés sans adaptation du dispositif et du protocole de culture en RHIZOtest.

5.1.2. Sélection de l'espèce végétale cible et du type de sol modèle

Le cadre d'application du projet Micro-ReUse concerne principalement l'irrigation de la culture de canne à sucre. Nous avons donc initialement envisagé de réaliser la culture en RHIZOtest avec la canne à sucre, bien que cette espèce demande une adaptation du protocole expérimental. Cette expérimentation étant réalisée dans les locaux du Cirad à Montpellier, il s'est avéré impossible de récupérer assez de matériel végétal (boutures de canne à sucre) sorti de quarantaine pour travailler sur la canne à sucre et adapter le dispositif expérimental en conséquence. Nous avons donc finalement opté pour travailler sur le sorgho sucrier (*Sorghum bicolor*) qui, comme la canne à sucre, est une graminée tropicale qui accumule des sucres dans sa tige. Le sorgho sucrier est par ailleurs une espèce dont le génome est utilisé comme modèle pour la sélection génétique de nouvelles variétés de canne à sucre. Il commence également à être une espèce qui est utilisée dans l'optique de la dépollution de sols contaminés du fait de sa capacité à accumuler les contaminants dans ses parties aériennes (Vintila *et al.*, 2016). De ce fait, le choix du sorgho sucrier comme espèce modèle est en accord avec le principe de précaution pour ce qui est de l'étude du risque de transfert sol-plante des contaminants pour des espèces telles que la canne à sucre. Le sorgho présente enfin l'intérêt d'avoir déjà montré qu'il pouvait être cultivé dans le dispositif en RHIZOtest.

Le cadre d'application du projet Micro-ReUse concerne principalement l'irrigation de la culture de canne à sucre dans la zone des bas du Nord-Est de La Réunion. Cette zone est principalement caractérisée au niveau pédologique par des sols de type nitisol (WRB, 2006). L'horizon de surface (0-30 cm) d'un nitisol a donc été prélevé en novembre 2016, tamisé à 2 mm et envoyé au Cirad à Montpellier pour être caractérisé et utilisé dans l'expérimentation en RHIZOtest (Illustration 31).

Argiles ^a	Limons ^a	Sables ^a	pH ^b	Corg ^c	CEC ^d	TS ^e	P Olsen ^f
_____ g kg ⁻¹ _____				g kg ⁻¹	cmol kg ⁻¹	%	mg kg ⁻¹
438	439	123	6,5	246	14,5	82	20,3

Illustration 31 - Principales propriétés de l'échantillon de sol utilisé pour l'expérimentation en RHIZOtest
^a NF X 31-107 ; ^b NF ISO 10390 ; ^c NF ISO 10694 ; ^d NF X 31-130 ; ^e Taux de saturation de la CEC ; ^f P disponible par la méthode Olsen

5.1.3. Protocole expérimental de la culture en RHIZOtest

L'expérimentation en RHIZOtest devant se dérouler en mai 2017 au Cirad à Montpellier, il est apparu techniquement complexe et risqué pour la conservation des micropolluants organiques d'envoyer depuis La Réunion des eaux usées traitées prélevées sur la station du Grand-Prado à Sainte-Marie. Les analyses effectuées sur ces eaux traitées échantillonnées à différentes dates en 2016 (Illustration 13, p. 31) ont permis d'estimer la présence et les gammes de concentration en micropolluants organiques. Parmi les micropolluants organiques étudiés, les 9 molécules suivantes ont été retrouvées à des concentrations variant entre 200 et 2 000 ng L⁻¹ dans les eaux usées traitées par ultrafiltration : naproxène, aténolol, benzotriazole, 2-hydroxylbupropène, diclofénac, furosémide, sulfaméthoxazole, tolytriazole et carbamazépine.

En raison des délais importants pour obtenir l'autorisation de manipuler l'oxazépam de la part de l'ANSM¹⁷, ce composé n'a pu être commandé et ne fait donc pas partie de la liste des composés qui ont été étudiés (voir rapport Rovaltain en annexe 1), malgré l'intérêt scientifique d'étudier l'oxazépam.

Après avoir été pré-cultivé en hydroponie (Illustration 32), le sorgho a donc été mis en contact avec le nitisol et alimenté par la solution nutritive n°3 (Illustration 33) contenant soit uniquement les éléments nutritifs habituels (i.e. Ca(NO₃)₂ 2 mM, KNO₃ 2 mM, MgSO₄ 1 mM et KH₂PO₄ 50 µM ; modalité 0 ng L⁻¹), soit les éléments nutritifs habituels complétés avec 200 ng L⁻¹ de chacune des 9 molécules testées (modalité 200 ng L⁻¹), soit les éléments nutritifs habituels complétés avec 2 000 ng L⁻¹ de chacune des 9 molécules testées (modalité 2 000 ng L⁻¹). Les solutions filles contenant 200 et 2 000 ng L⁻¹ de chacune des 9 molécules testées ont été préparées en diluant dans 5 l de solution nutritive n°3 (1 mL des solutions mères contenant 1 et 10 mg l⁻¹ de chacune des 9 molécules testées, respectivement). Ces solutions mères à 1 et 10 mg l⁻¹ de chacune des 9 molécules testées ont été préparées dans 100 % de méthanol. Les solutions filles à 200 et 2 000 ng L⁻¹ de chacune des 9 molécules testées contenaient donc 2 % de méthanol.

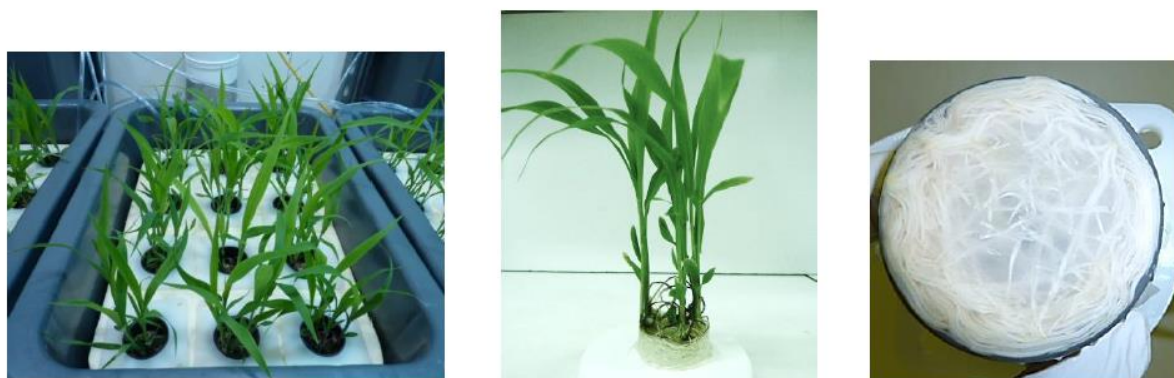


Illustration 32 - Photographies de la phase de pré-culture du sorgho en RHIZOtest, montrant les bacs de pré-culture (à gauche), des plantules de sorgho récoltées à l'issue de la phase de pré-culture (au centre) et le tapis racinaire du sorgho à l'issue de la phase de pré-culture vu par transparence à travers la toile en polyamide (à droite).

¹⁷ ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé

Dans une première expérimentation, 10 bacs de 12 dispositifs RHIZOtest chacun ont été pré-cultivés en hydroponie afin de produire la biomasse végétale fraîche nécessaire au développement analytique du dosage des 9 molécules testées dans le sorgho. A l'issue de la phase d'hydroponie, les plantes de 111 dispositifs ont été récoltées et la biomasse végétale fraîche (parties aériennes et racinaires) de chaque dispositif a été déterminée.

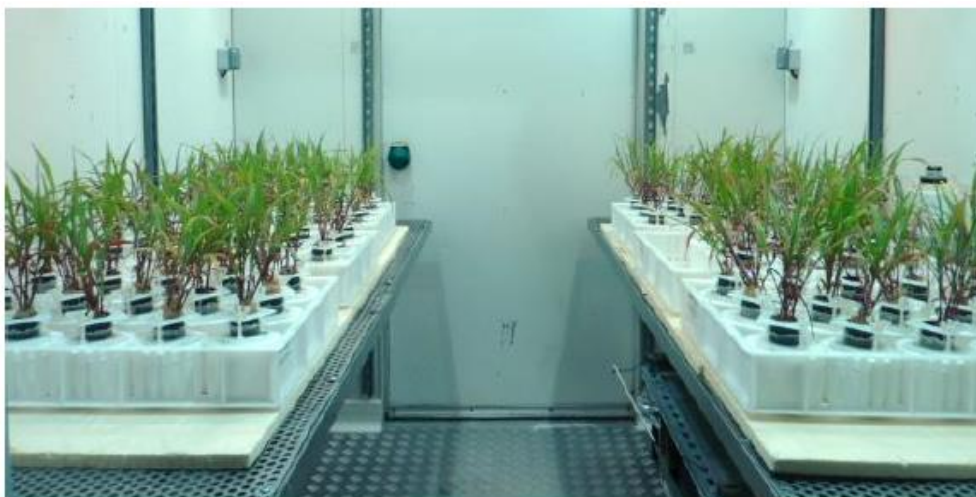


Illustration 33 - Photographie de la phase de contact sol-plante en RHIZOtest

Dans une seconde expérimentation, 10 nouveaux bacs de 12 dispositifs RHIZOtest chacun ont été pré-cultivés en hydroponie. Parmi les 120 dispositifs RHIZOtest pré-cultivés, 90 dispositifs ont ensuite été mis en contact avec le sol, avec 30 dispositifs pour chacune des modalités 0, 200 et 2 000 ng L⁻¹. A l'issue de la phase de contact sol-plantes, les plantes de 29 dispositifs pour chacune des modalités ont été récoltées et la biomasse végétale fraîche (parties aériennes et racinaires) de chaque dispositif a été déterminée.

Après avoir été pesées, les plantes de chaque dispositif récolté au cours de la première et de la seconde expérimentation RHIZOtest ont été conditionnées dans du papier aluminium et immédiatement plongées dans l'azote liquide avant d'être stockées à - 20°C en attendant d'être expédiées au laboratoire d'analyse.

En parallèle de la phase de culture en hydroponie lors de la seconde expérimentation en RHIZOtest, l'échantillon de sol a été incubé pendant 14 jours avec la solution nutritive n°3. A l'issue de cette phase d'incubation, l'échantillon de sol a été conditionné dans du papier aluminium et immédiatement plongé dans l'azote liquide avant d'être stockées à - 20°C en attendant d'être expédié au laboratoire d'analyse.

Les échantillons de plantes et de sol ont été conditionnés dans la carboglace avant d'être expédiés au laboratoire d'analyse par Cryo express.

5.1.4. Analyse des micropolluants dans le sol et les plantes

L'analyse des teneurs des 9 molécules testées dans les échantillons de sol et de plantes a été réalisée par Rovaltain Research Company (voir annexe 1).

A leur arrivée au laboratoire, les plantes des 29 dispositifs de chaque modalité ont été regroupées par sous-groupe de 9 ou 10 dispositifs, afin de constituer 3 répétitions d'échantillons de plantes pour chaque modalité. De même, l'échantillon de sol a été subdivisé en deux sous-échantillons, afin de constituer 2 répétitions.

Les 9 échantillons de plantes et les 2 échantillons de sol ainsi constitués ont été lyophilisés. Les échantillons de plantes ont également été broyés à l'aide d'un broyeur à couteaux. Les échantillons de plantes et de sol ont été conservés à – 20°C avant analyses.

Les 9 molécules testées ont été extraites des 9 échantillons de plantes en agitant 250 mg de chaque échantillon dans 8 ml d'eau ultra-pure pendant 2 min et 30 s à 1 000 rpm, puis en ajoutant en 10 ml d'acétonitrile et en agitant pendant 2 min et 30 s à 1 000 rpm et enfin en ajoutant un sachet de Quechers Q-Sep et en agitant pendant 2 min et 30 s à 1 000 rpm. Le mélange a ensuite été centrifugé pendant 5 min à 4 700 rpm et le surnageant a été transféré dans un tube contenant 250 mg de phase dSPE Supelclean ENVI-Carb pour purification. Le mélange a été agité pendant 2 min et 30 s à 1 000 rpm avant d'être centrifugé pendant 5 min à 4 700 rpm. Le surnageant a enfin été évaporé sous flux d'azote à 45°C avant d'être repris dans un mélange d'eau ultra-pure (90%), d'acétonitrile (10%) et de méthanol (0,1%).

Les 9 molécules testées ont été extraites des 2 échantillons de sol de la même manière que cela a été fait pour les échantillons de plantes, à l'exception de l'étape de purification qui n'a pas été réalisée. Les rendements d'extraction des 9 molécules testées dans les matrices sorgho et sol ont été estimés lors du développement de la méthode analytique par dopage des matrices avant et après extraction. Les rendements d'extraction des 9 molécules testées sont présentés dans l'illustration 34. Les rendements d'extraction sont généralement considérés comme satisfaisants lorsqu'ils sont compris entre 70 et 130 %.

Dans la matrice sol, les rendements d'extraction ont été satisfaisants pour toutes les molécules sauf l'aténolol. Dans la matrice sorgho, les rendements d'extraction ont été satisfaisants pour 5 molécules (i.e. benzotriazole, 2-hydroxyibuprofène, carbamazépine, naproxène et diclofénac). Les teneurs déterminées dans les échantillons de plantes et de sol n'ont pas été corrigées des rendements d'extraction. Cela étant, les résultats doivent être considérés avec prudence pour les molécules dont le rendement est inférieur à 70 % ou supérieur à 130 %, i.e. : l'aténolol dans la matrice sol et l'aténolol, le tolyltriazole, le sulfaméthoxazole et le furosémidé dans la matrice sorgho.

Composé	Rendement en sol (%)	Rendement en sorgho (%)
atenolol	47,5	65,5
benzotriazole	83,5	96
tolyltriazole	84,3	68,8
sulfmethoxazole	94,5	6,9
2-hydroxyibuprofen	83,2	107,5
furosemide	74	31,5
carbamazepine	86,2	83,4
naproxen	93,6	73,7
diclofenac	95,6	78,5

Illustration 34 - Rendements d'extraction des 9 molécules testées dans les matrices sol et sorgho

Avant analyse, 1 ml de chaque échantillon de plantes ou de sol a été filtré sur des membranes de cellulose régénérée d'un diamètre de 13 mm et d'une porosité de 0,2 µm. Le filtrat de chaque échantillon a enfin été analysé par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (Qtrap 5500 LC-MS/MS, Sciex). Les limites de quantification des 9 molécules testées dans le solvant d'injection et les matrices sorgho et sol sont présentées dans l'illustration 35, sachant que les teneurs des 9 molécules testées dans les échantillons de sol et de plantes ont été déterminées à partir de l'étalonnage réalisée dans la matrice correspondante.

Composé	Gamme solvant (µg/L)	Gamme extraite sorgho (ng/g matière sèche)	Gamme extraite sol (ng/g matière sèche)
atenolol	0.01	0.04	0.005
benzotriazole	0.01	2	0.01
tolytriazole	0.01	0.08	0.005
sulfmethoxazole	0.01	2	0.005
2-hydroxyibuprofen	0.05	2	0.5
furosemide	0.02	3	0.375
carbamazepine	0.01	0.04	0.005
naproxen	0.01	0.08	0.025
diclofenac	0.02	0.4	0.025

Illustration 35 - Limites de quantification de la méthode de dosage utilisée pour déterminer la teneur des 9 molécules testées dans le solvant d'injection et les matrices sol et sorgho

5.2. RESULTATS

5.2.1. Sol

Les teneurs des 9 molécules testées dans le sol avant l'exposition au sorgho sont présentées sur l'illustration 36. Les teneurs de 6 des 9 molécules ont été non détectables ou non quantifiables dans les deux répétitions. En revanche, la teneur en benzotriazole, sulfaméthoxazole et diclofénac a été quantifiée dans au moins une des deux répétitions à 0,02, 0,023 et 0,09 ng g⁻¹ sol.

Aténolol	ND ^a
Benzotriazole	0,02
Tolytriazole	< LQ ^b
Sulfaméthoxazole	0,023
2-hydroxyibuprofen	ND
Furosémide	ND
Carbamazépine	< LQ
Naproxen	ND
Diclofénac	0,09 ± 0,02

^a Molécule non détectée

^b Concentration inférieure à la limite de quantification

Illustration 36 - Teneurs (ng g⁻¹ sol sec) des 9 molécules testées dans le sol avant d'être exposé au sorgho dans le dispositif RHIZOtest (n = 2, sauf pour le benzotriazole et le sulfaméthoxazole où n = 1)

5.2.2. Biomasse

Les biomasses des plantes récoltées à l'issue de la phase d'hydroponie et de la phase de contact sol-plante pour les trois modalités 0, 200 et 2 000 ng L⁻¹ sont présentées sur l'illustration 37. Les plantes récoltées à l'issue de la phase de contact ont présenté des biomasses significativement supérieures à celles des plantes récoltées à l'issue de la phase de pré-culture en hydroponie. Il est également notable que les biomasses moyennes à l'issue de la phase de contact se sont classées selon l'ordre décroissant suivant : 0 ng L⁻¹ > 200 ng L⁻¹ > 2 000 ng L⁻¹. Les différences de biomasse moyenne entre ces trois modalités ne sont cependant pas significativement différentes, du fait d'une variabilité relativement importante des biomasses obtenues à l'intérieur de chaque modalité. La prise en compte du taux de germination des graines par dispositif, de l'état de flétrissement des plantes dans certains dispositifs ayant eu des problèmes d'alimentation en eau et du fait que les biomasses aient été mesurées en frais suggèrent que cette tendance est vraisemblablement liée à la variabilité de la mesure elle-même et non à une éventuelle phytotoxicité causée par la présence d'une ou de plusieurs des 9 molécules testées ou de méthanol à 2% dans les modalités 200 et 2 000 ng L⁻¹.

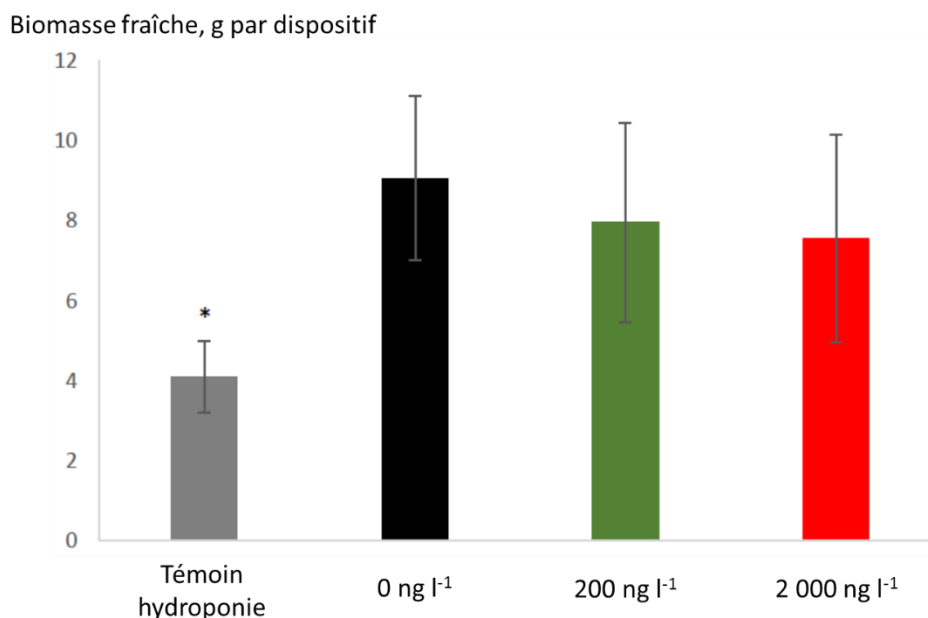


Illustration 37 - Biomasses fraîches (g par dispositif) des plantes de sorgho cultivées en RHIZOtest à l'issue de la phase d'hydroponie (témoin hydroponie, n = 116) et de la phase de contact sol-plante pour les trois modalités 0, 200 et 2 000 ng L⁻¹ (n = 29). L'étoile au-dessus d'une modalité indique une différence statistiquement significative (p < 0,001) entre cette modalité et les autres

5.2.3. Teneur des molécules testées

Le furosémide n'a été détecté dans aucun échantillon de sorgho (Illustration 38). Il est cependant difficile d'attribuer ce résultat à une faible phytodisponibilité du furosémide étant donné son faible rendement d'extraction (32 %) et sa limite de quantification élevée (3 ng g⁻¹) dans le sorgho.

Aucune teneur quantifiable n'a pu être mesurée dans la plante pour le benzotriazole et le diclofénac. Le résultat pour le benzotriazole peut s'expliquer par sa limite de quantification élevée (2 ng g⁻¹) dans le sorgho. En revanche, le résultat pour le diclofénac semble indiquer une faible phytodisponibilité de cette molécule pour le sorgho.

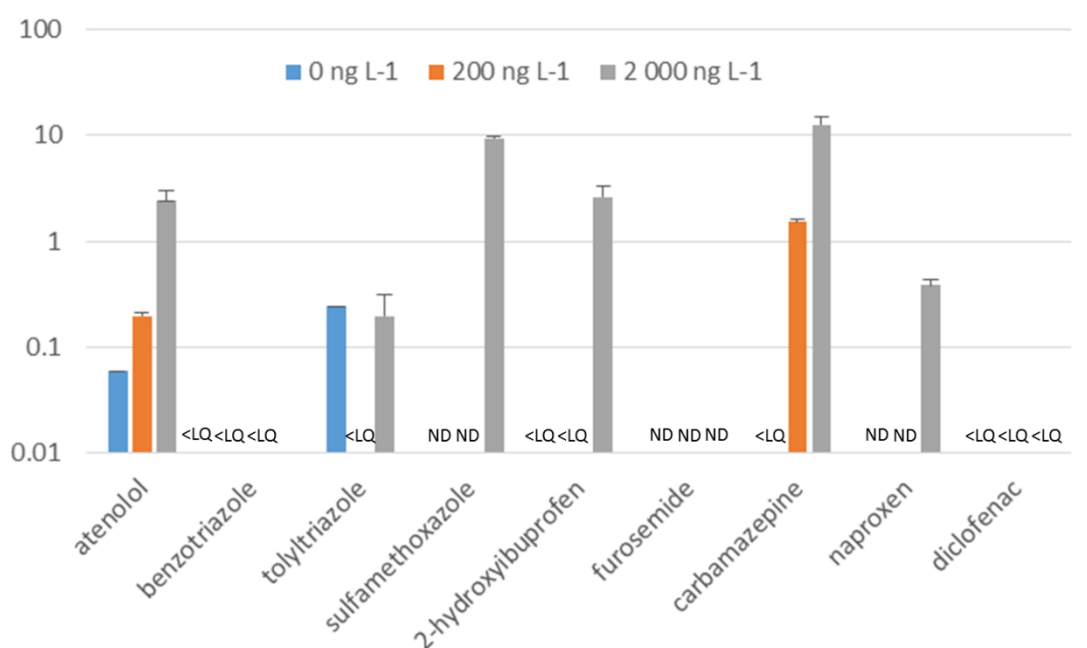


Illustration 38 - Teneurs (ng g⁻¹ plante sèche) des 9 molécules testées mesurées dans les plantes après exposition pendant 8 jours dans le dispositif RHIZOtest à un sol alimenté par une solution contenant 0, 200 et 2 000 ng L⁻¹ de chacune des 9 molécules testées (n = 1 à 3). Les acronymes < LQ et ND signifient respectivement que la teneur mesurée était inférieure à la limite de quantification et que la molécule n'a pas été détectée

La teneur de 6 molécules a pu être quantifiée dans le sorgho exposé à une ou plusieurs des solutions nutritives via le sol (Illustration 38). La teneur en atenolol et en tolyltriazole a été quantifiée dans une des trois répétitions de sorgho exposé à une solution nutritive ne contenant pas ces deux molécules. En considérant que l'atenolol n'a pas été détecté dans le sol et que la teneur en tolyltriazole mesurée dans le sol était inférieure à la limite de quantification, la masse d'atenolol et de tolyltriazole accumulée dans le sorgho exposé à une solution nutritive ne contenant pas ces deux molécules ne peut pas être expliquée par la présence de ces molécules dans le sol. Ces échantillons ont donc soit subi une contamination extérieure en atenolol et en tolyltriazole lors de leur manipulation à la récolte et/ou de leur analyse, soit une fraction importante d'atenolol et de tolyltriazole se trouve dans le sol sous une forme non accessible à l'extraction mais en revanche accessible à la plante. Des travaux complémentaires devront être menés pour trancher entre ces deux hypothèses.

La teneur en tolytriazole, en sulfaméthoxazole, en 2-hydroxyibuprofène et en naproxène a pu être quantifiée uniquement dans le sorgho exposé à la solution nutritive contenant 2 000 ng L⁻¹ de ces molécules (Illustration 38). Le bilan massique de la présence de ces molécules dans le sol du fait de leur teneur initiale dans le sol et de leur apport par la solution nutritive montre que les teneurs retrouvés dans le sorgho pour ces 4 molécules sont vraisemblables (calculs non présentés). Ce résultat indique qu'aux concentrations les plus fortes retrouvées pour ces 4 molécules dans les eaux usées traitées, une bioaccumulation quantifiable de ces 4 molécules dans la plante est possible.

La teneur en aténolol et en carbamazépine a pu être quantifiée dans le sorgho exposé aux deux solutions nutritives contenant ces molécules, avec de surcroît une teneur significativement plus élevée dans le sorgho exposé à des concentrations de 2 000 ng L⁻¹ que dans le sorgho exposé à des concentrations de 200 ng L⁻¹ (Illustration 38). Il y a donc un effet dose pour ces deux molécules, qui suggère que plus leur concentration sera élevée dans les eaux usées traitées plus leur teneur sera élevée dans la plante.

5.2.4. Facteur de bioaccumulation

Le facteur de bioaccumulation (FB) dans la plante des 6 molécules dont la teneur a pu être quantifiée dans la plante a été calculé et comparé à la littérature existante (Illustration 39). Ce facteur de bioaccumulation a été calculé de deux façons, soit en considérant que les plantes pouvaient prélever librement les molécules dans la solution nutritive et donc sans que le passage de ces molécules par le sol n'ait d'effet ($FB_{solution}$), soit au contraire en considérant la présence des molécules dans la solution nutritive comme un dopage du sol dans lequel elles se diluent avant de pouvoir être prélevées par la plante (FB_{sol}).

Le $FB_{solution}$ s'est avéré être dans la gamme basse par rapport à la littérature pour l'aténolol, le 2-hydroxyibuprofène, la carbamazépine et le naproxène. Seul le sulfaméthoxazole présente un $FB_{solution}$ proche des valeurs maximales retrouvées dans la littérature. Cependant, le FB_{sol} s'est avéré être, pour 4 de ces 5 molécules, de 200 à 650 fois plus faible que les FB_{sol} trouvés dans la littérature.

Ces résultats tendent à montrer, d'une part, qu'il faut considérer la présence du sol dans l'atténuation de la phytodisponibilité de ces molécules comme l'avait déjà souligné Wu *et al.* (2015) et, d'autre part, que les facteurs de bioaccumulation mesurés dans cette expérience en RHIZOtest se sont avérés faibles par rapport aux données reportées dans la littérature.

	Bioaccumulation (ng)			$FB_{solution}$ (L kg ⁻¹) ^a			FB_{sol} (10 ⁻⁴) ^b		
	0	200	2 000	200	2 000	Lit. ^c	200	2 000	Lit. ^c
Aténolol	NA ^d	NA	32 ± 17	0,97	1,20	0-100	7,5	9,3	– ^e
Tolytriazole	NA ^d	NA	2,2 ± 0,5	NA	0,10	–	NA	0,76	–
Sulfaméthoxazole	NA	NA	141 ± 13	NA	4,68	0-5	NA	36,3	10 ⁴
2-hydroxyibuprofène	NA	NA	35 ± 22	NA	1,31	0-10	NA	10,2	2 000
Carbamazépine	NA	19 ± 1	171 ± 77	7,63	6,32	0-250	59,2	49,0	10 ⁴ -6.10 ⁵
Naproxen	NA	NA	5 ± 2	NA	0,19	0-25	NA	1,5	1 000

^a Ratio entre les concentrations de la molécule mesurées dans la plante entière (ng kg⁻¹) et dans la solution nutritive (ng L⁻¹)

^b Ratio entre les concentrations de la molécule mesurées dans la plante entière (ng g⁻¹) et dans le sol dopé par la solution nutritive (ng g⁻¹)

^c Gamme du facteur de bioaccumulation dans les racines et/ou les parties aériennes des plantes donnée par Wu *et al.* (2015)

^d Donnée non considérée (cf. discussion des résultats ci-dessus)

^e Donnée non disponible

Illustration 39 - Facteurs de bioaccumulation ($FB_{solution}$ et FB_{sol}) dans le sorgho des 6 molécules testées pour lesquels une bioaccumulation a été mesurée dans les plantes après exposition pendant 8 jours dans le dispositif RHIZOtest à un sol alimenté par une solution contenant 0, 200 et 2 000 ng L⁻¹ de chacune des 9 molécules testées (n = 1 à 3). L'acronyme NA signifie que le calcul du facteur de bioaccumulation n'a pas pu être fait, faute de mesure de concentration quantifiée disponible

6. Adaptation au problème posé

6.1. BILAN ANALYTIQUE

La phase analytique a révélé que certaines substances émergentes ne sont pas dégradées par les systèmes de traitements actuellement mis en œuvre à la STEU du Grand-Prado (Illustration 40). 10 molécules, rappelées en illustration 41, ont été spécifiquement ciblées en raison de concentrations significatives – proches ou supérieures à 100 ng/L – dans les rejets.

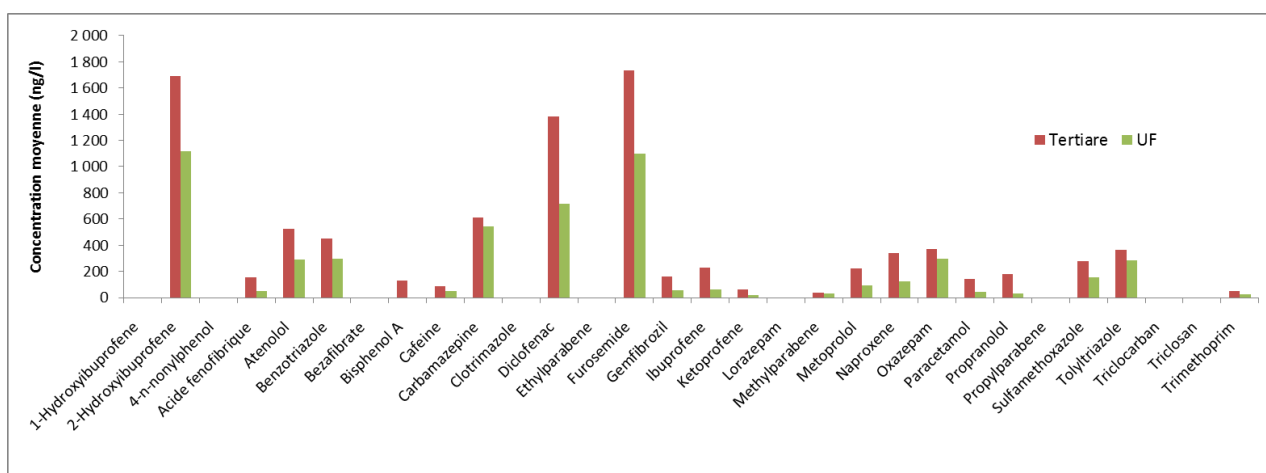


Illustration 40 - Concentration en substances après les étapes de traitement, pour chacune des 4 campagnes, pour les molécules correctement dégradées

Oxazépam	2-hydroxyibuprofène
Aténolol	Furosémide
Benzotriazole	Carbamazépine
Tolytriazole	Naproxène
Sulfaméthoxazole	Diclofénac

Illustration 41 - Liste des 10 polluants émergents retrouvés en concentrations significatives dans les rejets de la STEU du Grand Prado

L'étude de phytodisponibilité menée sur 9 de ces 10 molécules¹⁸ a, quant à elle, révélé les transferts suivants (Illustration 42).

¹⁸ En raison des délais importants pour obtenir l'autorisation de manipuler l'oxazépam de la part de l'ANSM, ce composé n'a pu être commandé et ne fait donc pas partie de la liste des composés qui ont été étudiés.

Molécules	Résultats phytodisponibilité pour le sorgho	Quantification à partir de la solution nutritive	Bilan phytodisponibilité pour le sorgho
Aténolol	Contamination extérieure et/ou une fraction importante dans le sol sous une forme non accessible à l'extraction mais en revanche accessible à la plante.	200 et 2 000 ng/L	Doute sur le processus de transfert ou analytique. Bioaccumulation quantifiable possible et effet dose.
Benzotriazole	Aucune concentration quantifiable. Limite de quantification élevée (2 ng/g) dans le sorgho	< LQ	Limitation analytique
Tolytriazole	Contamination extérieure et/ou une fraction importante dans le sol sous une forme non accessible à l'extraction mais en revanche accessible à la plante.	2 000 ng/L	Doute sur le processus de transfert ou analytique. Bioaccumulation quantifiable possible.
Sulfaméthoxazole	Quantification possible uniquement dans le sorgho exposé à la solution nutritive contenant 2 000 ng/L	2 000 ng/L	Bioaccumulation quantifiable possible
2-hydroxyibuprofen	Quantification possible uniquement dans le sorgho exposé à la solution nutritive contenant 2 000 ng/L	2 000 ng/L	Bioaccumulation quantifiable possible
Furosémide	Pas de détection. Toutefois, difficile d'attribuer ce résultat à une faible phytodisponibilité du furosémide étant donné son faible rendement d'extraction (32 %) et sa limite de quantification élevée (3 ng/g)	ND	Doute sur le processus analytique
Carbamazépine		200 et 2 000 ng/L	Bioaccumulation quantifiable possible et effet dose.
Naproxen	Quantification possible uniquement dans le sorgho exposé à la solution nutritive contenant 2 000 ng/L	2 000 ng/L	Bioaccumulation quantifiable possible
Diclofénac	Aucune concentration quantifiable.	< LQ	Faible phytodisponibilité pour le sorgho

Illustration 42 – Synthèse des résultats de l'étude de phytodisponibilité

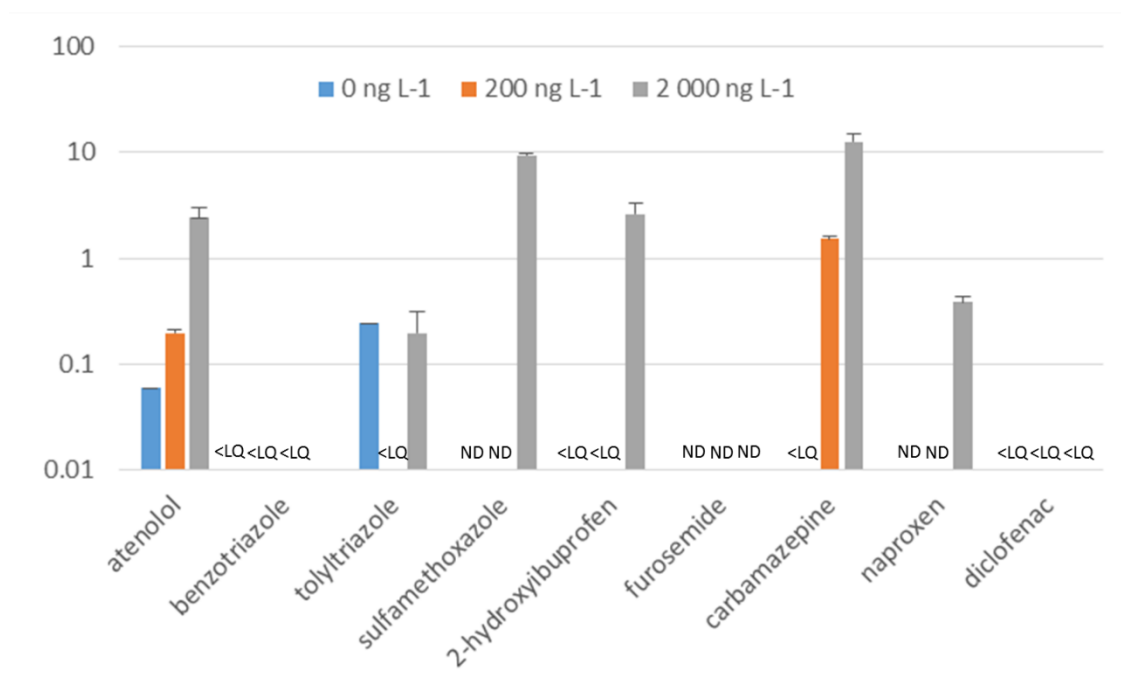


Illustration 43 – Teneurs (ng g⁻¹ plante sèche) des 9 molécules testées dans les plantes après exposition pendant 8 jours dans le dispositif RHIZOtest à un sol alimenté par une solution contenant 0, 200 et 2 000 ng L⁻¹ de chacune des 9 molécules testées (n = 3)

6.2. IMPACTS POTENTIELS SUR L'ENVIRONNEMENT ET SUR LA SANTE

Les profils d'usage, propriétés et leviers d'action des 10 molécules les plus problématiques sont détaillés ci-après (Illustration 44). Il apparaît que les principaux leviers d'action sont identifiés auprès de la profession médicale (médecins prescripteurs et hôpitaux).

Pour mémoire, il convient de rappeler que la démarche n'est pas exhaustive en raison de la liste initiale des 35 molécules recherchées, qui était constituée de molécules pharmaceutiques et émergentes.

Molécules	N° CAS	Profils d'usage	Propriétés	Leviers d'action
Aténolol	29122-68-7	Médicament soumis à prescription	Béta-bloquant	Médecins prescripteurs et hôpitaux
Diclofénac	15307-86-5	Médicament soumis à prescription	Anti-inflammatoire	Médecins prescripteurs et hôpitaux
Naproxène	22204-53-1	Médicament soumis à prescription	Anti-inflammatoire	Médecins prescripteurs et hôpitaux
Carbamazépine	298-46-4	Médicament soumis à prescription	Anti-convulsivant	Médecins prescripteurs et hôpitaux
Sulfaméthoxazole	723-46-6	Médicament soumis à prescription	Anti-convulsivant	Médecins prescripteurs et hôpitaux
Furosémide	54-31-9	Médicament soumis à prescription	Diurétique	Médecins prescripteurs et hôpitaux
Oxazépan	604-75-1	Médicament soumis à prescription	Anxiolytique	Médecins prescripteurs et hôpitaux
2-hydroxyibuprofène	51146-55-5	Médicaments sans ordonnance	Métabolite de l'ibuprofène, anti-inflammatoire	Médecins prescripteurs et hôpitaux
Benzotriazole	95-14-17	Usages multiples industriels et produits de la vie courante	Additif anticorrosif	Multiples
Tolytriazole	29385-43-1	Usages multiples industriels et produits de la vie courante	Additif anticorrosif	Multiples

*Illustration 44 - Profils d'usage, propriétés, leviers d'action des 10 molécules ciblées
Le code couleur correspond à la colonne leviers d'action*

6.3. MOYENS TECHNIQUES POUR UNE REDUCTION DE LA CHARGE EN POLLUANTS EMERGENTS DANS LES EFFLUENTS DE LA STEU

6.3.1. Principe de la microfiltration / nanofiltration

Les techniques tertiaires de filtration fonctionnent par le passage sur membrane des eaux traitées. Selon le poids moléculaire de séparation (MWCO¹⁹ en anglais) de la membrane utilisée, les macromolécules peuvent être purifiées, séparées ou concentrées dans les deux fractions.

La différence entre l'ultrafiltration et la microfiltration ou la nanofiltration se limite à la taille des molécules retenues. Les procédés membranaires sont répartis en 4 catégories selon leur seuil de coupure : microfiltration de 1 à 100 µm (MF), ultrafiltration de 1 à 0.1 µm (UF), nanofiltration de 10 à 100 nm (NF) et enfin osmose inverse de 1 à 10 nm (OI). L'illustration 45 positionne les différentes techniques en fonction de la porosité des membranes et des types d'éléments retenus.

A ce titre, il convient de souligner que les systèmes utilisant la microfiltration n'ont aucun intérêt concernant l'élimination des micropolluants (Besnault et Martin, 2011).

Pour mémoire, les modules de filtration de la STEU du Grand-Prado, sont des membranes en PVDF²⁰, de seuil de coupure 0,1 µm, ce qui correspond à la limite entre ultra et microfiltration.

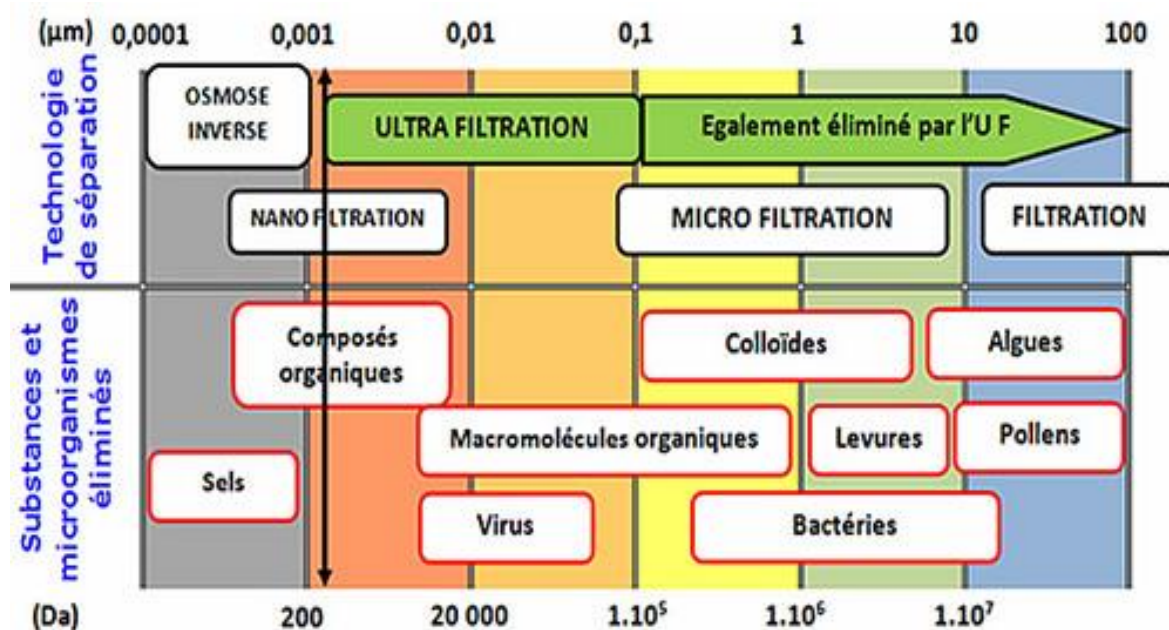


Illustration 45 – Principe et domaine d'efficacité des traitements membranaires

¹⁹ Molecular weight cut-off

²⁰ Le poly(fluorure de vinylidène) est un polymère du fluorure de vinylidène. Son nom anglais est « PolyVinyliDene Fluoride »

6.3.2. Complexité du traitement pour les composés émergents

Parmi les polluants émergents retrouvés, 10 composés ont été mis en évidence pour leur présence dans les rejets.

Oxazépam	2-hydroxyibuprofen
Aténolol	Furosémide
Benzotriazole	Carbamazépine
Tolytriazole	Naproxen
Sulfaméthoxazole	Diclofénac

La bibliographie sur ces molécules est assez importante car leur présence est avérée dans de nombreux effluents de STEU, leur traitement est donc un verrou technique important à lever.

De manière systématique un traitement préliminaire des effluents (coagulation, floculation, ...) est prérequis pour diminuer la charge polluante en amont de la filtration sur membrane.

6.3.3. Efficacité des traitements des polluants émergents sur membranes

Des travaux sur les capacités de rétention des membranes (UF/NF) ont été réalisés sur les composés pharmaceutiques (Acero *et al.*, 2010 - Illustration 46) et montrent une corrélation entre capacité de rétention et polarité des molécules (Kow), mais la charge des molécules et le pH de l'effluent entrant en ligne de compte sur l'affinité entre membrane et composé, la relation s'établit plus justement en exprimant l'hydrophobicité en utilisant le log D.

	MW ²¹ g/mol	pKa	log Kow	log D (pH 7)	Charge à pH 7
Paracétamol	151.17	10.2	0.23	0.23	Neutre
Metoprolol	342.41	9.6	1.72	0.77	+
Caféine	194.19	–	–0.45	–0.45	Neutre
Sulfaméthoxazole	253.28	1.8; 5.7	0.86	–0.43	–
Diclofénac	318.14	4.3	4.29	1.62	–

Illustration 46 – Propriétés physico-chimiques de polluants émergents (Acero *et al.*, 2010)

²¹ Molecular weight

Si la nanofiltration montre une plus grande efficacité que l'ultrafiltration, cela reste insuffisant pour des molécules très polaires comme le paracétamol, qui ne seront pas correctement retenus par les systèmes membranaires (< 20 %).

6.3.4. Complexité du traitement des effluents secondaires de STEU

Les phénomènes permettant la rétention sont nombreux et complexes.

Le pH de l'effluent va à la fois impacter la charge des composés : par exemple, pour des molécules chargées négativement, un effluent basique entraînera une diminution de la rétention sur des membranes d'ultrafiltration (par la diminution de l'adsorption à haut pH), mais pourra avoir un effet positif sur les membranes de nanofiltration (phénomène de répulsion électrostatique à haut pH).

La présence de matière organique dissoute (MOD) va impacter de manière aussi très variable l'abattement des micropolluants organiques.

D'un côté, les phénomènes de compétition entre MOD et micropolluants vont limiter l'adsorption de ces derniers, mais de l'autre pour des molécules chargées, les interactions avec la MOD vont accroître leur rétention.

Selon les composés et le type de technologie, les conditions optimales de rétention diffèrent fortement, rendant complexe une optimisation pour les composés émergents qui ont des propriétés physico-chimiques très variables.

Vieillessement des membranes. Les travaux portant sur l'applicabilité de ces techniques de filtration membranaire mettent de plus en évidence une rapide modification des capacités des membranes avec leur vieillissement. Les cycles de nettoyage (back flush) ont des effets plus ou moins pérennes rendant assez aléatoires l'efficacité du système sur ces molécules déjà récalcitrantes.

6.3.5. Couplage de procédés tertiaires pour les composés émergents

Les traitements membranaires ne suffisent donc pas pour dégrader les composés émergents, des couplages s'avèrent donc nécessaires.

Pour la rétention des molécules les plus polaires, des étapes sont ajoutées avant la filtration, le plus souvent un passage sur charbon actif, ce qui améliore grandement les taux d'élimination (Illustration 47).

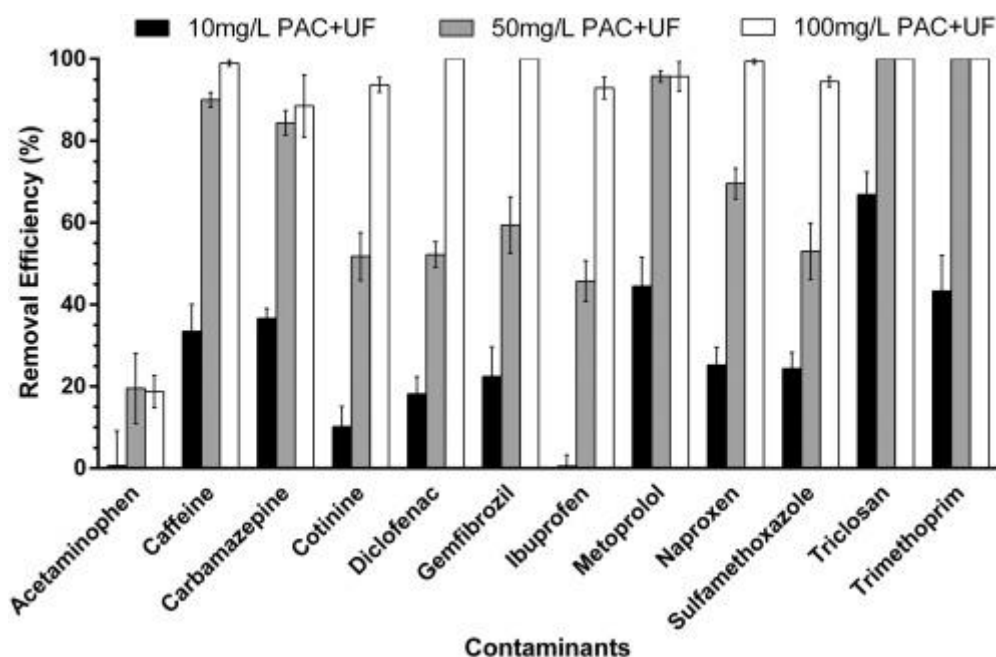


Illustration 47 – Efficacité de traitement d'un système PAC +UF (Sheng et al., 2016)
Les 3 conditions correspondant à des variations de concentration en charbon actif (PAC : Powder Activated Carbon)

La forme et la quantité de charbon actif semblent les critères principaux régissant l'efficacité. Un des principaux obstacles rencontré est la variabilité de la qualité des effluents. Les essais ont montré que, le système étant optimisé pour une concentration de micropolluant donnée, un pic de concentration soudain n'était pas correctement dégradé.

6.3.6. Traitement des rétentats

Les traitements sur membranes entraînent la formation d'un déchet concentré, le rétentat, qu'il sera nécessaire de traiter car très concentré en composés. Diverses techniques ont été expérimentées : adjonction de charbon actif, l'oxydation avancée, dont ozonation (Acero et al., 2016) qui s'avèrent efficaces, mais coûteuses à mettre en œuvre.

6.4. RESIDUS DE MEDICAMENTS : AUTRES LEVIERS D'ACTIONS POSSIBLES

6.4.1. Approches théoriques

Les sources pourraient notamment être réduites en menant des actions de sensibilisation auprès de la profession médicale (médecins prescripteurs et hôpitaux). Pour mémoire, des études ont été menées en Alsace sur l'impact environnemental des médicaments (communications auprès des médecins prescripteurs sur le choix de molécules qui traitent le même symptôme, mais ayant des impacts environnementaux différents²²).

²² ASOQS (association régionale type loi 1901 - Améliorer la Qualité des Soins) - <http://sesoignersanspolluer.com/>

Quatre sources principales d'émission dans l'environnement de médicaments à usage humain sont identifiées :

- l'excrétion par les patients par les urines ou les fèces, soit sous forme originelle active, soit sous forme de métabolite(s) actif(s) ou inactif(s) ;
- les rejets industriels involontaires ou volontaires, accidentels ou non par les sites de synthèses chimiques ou de production ;
- les rejets de médicaments non utilisés (MNU) par les patients qui, au lieu de rapporter ceux-ci en officine, les jettent soit dans leur poubelle, soit dans leur toilettes ou les dissolvent avec de l'eau du robinet ;
- les rejets par les laboratoires universitaires, de recherche ou de biologie ou même par les établissements de soins (hôpitaux, cliniques) ou par le personnel soignant ambulatoire.

A chacune de ces sources correspondent des mesures adéquates pour limiter la contamination de l'environnement. Deux domaines ont déjà fait l'objet de programmes très importants :

Les rejets industriels. L'industrie pharmaceutique et chimique a pris, depuis les accidents des années 1980 (Seveso en 1976 et Bhopal en 1984 notamment), des mesures drastiques pour limiter les risques de rejets accidentels en mettant par exemple en place des cuves de récupération pour les eaux ayant servies à éteindre un incendie.

Les médicaments non utilisés. La France a été le premier pays en Europe en 1993-1994 à mettre en place un système de récupération et de valorisation énergétique des MNU par les ménages (système Cyclamed). Le pharmacien a l'obligation de récupérer ceux-ci qui sont ensuite transportés par les grossistes dans leur centre de distribution, puis vers des unités de valorisation énergétique (Illustration 48, Cyclamed rapport d'activité 2009. <http://www.cyclamed.org>). C'est ainsi qu'environ 13 500 tonnes de MNU sont ainsi valorisées chaque année (Société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique, 2011).

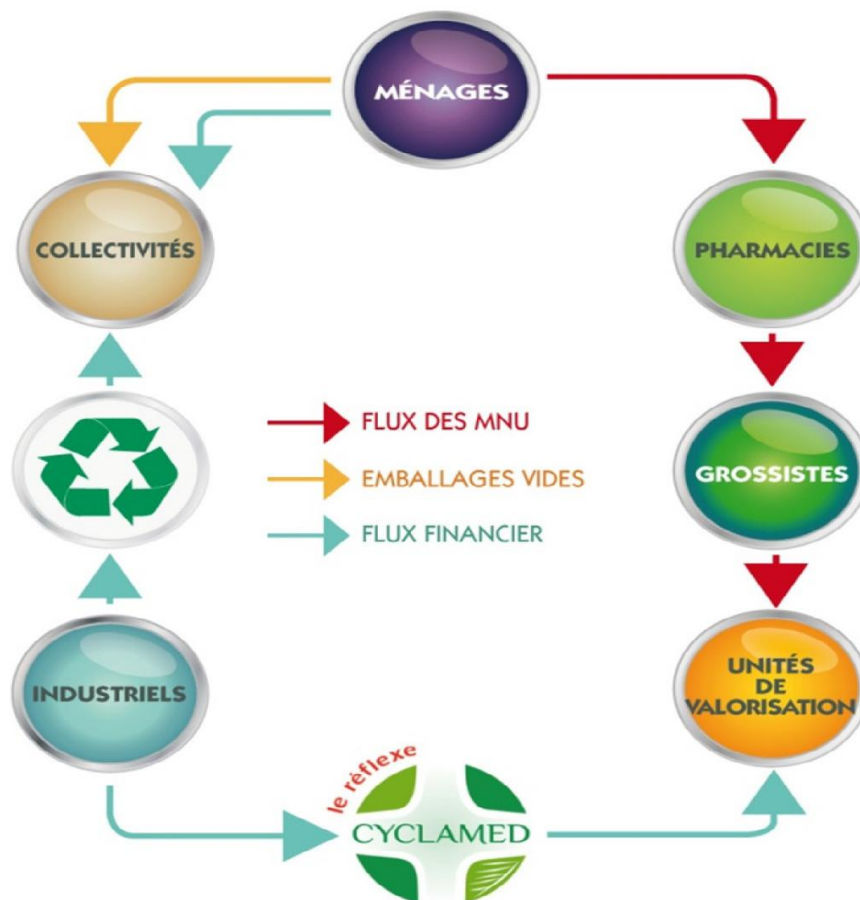


Illustration 48 – Rôle du dispositif Cyclamed pour réduire l'impact environnemental du médicament

Concernant l'excrétion par les patients par les urines et les fèces, l'initiative « pharmafilter²³ » expérimentée par les Pays Bas soulève un intérêt particulier.

²³ Pharmafilter a mis au point un certain nombre d'infrastructures afin de rendre le milieu hospitalier plus respectueux de l'environnement. L'installation Pharmafilter nettoie les eaux usées des hôpitaux pour les réutiliser et convertit les matières organiques en énergie. <https://pharmafilter.nl/en/infrastructure/the-system/pharmafilter-installation/>

6.4.2. Contextualisation des résultats

Dans le cadre du présent projet, des échanges ont pu être effectués avec le service technique du principal centre hospitalier présent sur le réseau de collecte des eaux usées de la STEU du Grand-Prado. Les thèmes de discussions ont été communiqués en amont d'une réunion d'échange :

- Organisation du réseau de collecte ?
- Distinction eaux grises (blanchisserie avec produits biocide ou surfactant) / eaux noires / eaux issues de traitements lourds (cancer) ?
- Présence d'un traitement spécifique ou d'un système séparatif ?
- Volumes des effluents et volumes des effluents traités ?
- Point d'accès aux effluents amont / aval traitement ?
- Systèmes climatisation / tours aéroréfrigérée ?
- Degrés de sensibilisation des praticiens ?
- Devenir du stock des médicaments périmés ?

Quelques éléments techniques ont été communiqués (la plupart figurant déjà dans la convention de reversement), mais il n'a pas été possible de développer les échanges, notamment du fait de la livraison de nouveaux bâtiments en cours venant modifier le fonctionnement actuel et de l'indisponibilité du personnel compétent.

Quelques échanges informels ont par ailleurs eu lieu avec trois médecins, pour certains sensibilisés au risque de transfert des molécules vers le milieu naturel. Toutefois, la disponibilité de ces personnes est très limitée et n'a pas non plus permis d'aboutir à des échanges concrets sur les leviers d'action. Il convient de rappeler que la principale priorité du personnel soignant est de « sauver des vies », avec des moyens limités en raison des financements de l'hôpital public.

Il apparaît donc que les éventuels impacts environnementaux d'un traitement donné ne constituent actuellement pas une priorité pour les médecins prescripteurs, bien qu'il s'agisse d'un sujet d'intérêt pour cette profession. Il ressort également que les médecins pourraient adapter leur pratique si ils bénéficiaient d'informations objectives relatives aux impacts environnementaux des molécules.

7. Conclusion

Afin de proposer des solutions de réduction des micropolluants en sortie de la STEU du Grand-Prado (CINOR, La Réunion) en vue de la réutilisation des eaux usées traitées pour l'irrigation de la canne à sucre, il a été nécessaire :

- de réaliser une cartographie des pressions urbaines et industrielles exercées sur le réseau de collecte des eaux usées. Sur la base des données analysées et des connaissances du secteur, il apparaît que les pressions sont majoritairement de type urbaines avec la présence d'une vingtaine d'établissements de soins. Une quinzaine d'ICPE sont soumises à autorisation pour des activités relatives à l'automobile et de gestion des déchets principalement. Aucune activité industrielle utilisant de nombreux produits chimiques n'est recensée.
- de mener une démarche analytique sur les eaux de la STEU du Grand-Prado (en entrée et en sortie) afin de déterminer l'efficacité des différents traitements existants, et au regard des connaissances existantes sur la qualité des eaux usées :
 - Trois points de prélèvements sur la STEU ont été sélectionnés afin de réaliser le suivi de la qualité des eaux sur l'installation, à l'entrée de la STEU, à la sortie d'effluent après le traitement tertiaire conventionnel et à la sortie d'effluent après le traitement par ultrafiltration. La fréquence de prélèvement est mensuelle sur la période d'avril à juillet 2016, soit 4 campagnes de mesures.
 - Le croisement de l'ensemble de ces informations a permis d'établir une liste de 35 molécules à suivre lors de cette campagne de diagnostic. Un focus est fait sur 26 composés pharmaceutiques et 12 émergents.
 - L'interprétation des résultats analytiques a permis de hiérarchiser les molécules en fonction de leur présence en entrée et en sortie de la STEU et selon leur taux d'abattement (Illustration 26) :
 - De manière globale, les traitements de la STEU dégradent 1/3 des molécules testées et permettent de réduire les concentrations pour 1/3. Enfin, les traitements ne sont pas efficaces pour 1/3 des molécules testées.
 - L'ultrafiltration n'apporte pas systématiquement d'abattement significatif complémentaire sur les molécules analysées : celles qui sont persistantes lors du traitement conventionnel, le sont généralement aussi suite à l'ultrafiltration. L'ultrafiltration ne semble en effet apporter de gain substantiel en abattement que pour 3 molécules : le bisphénol A, le métoprolol et le propranolol.
 - Trois molécules ne sont ni abattues par les traitements tertiaires conventionnels, ni par l'ultrafiltration. Il s'agit du tolyltriazole, de l'oxazépam et de la carbamazépine.

- Trois autres molécules, la furosémidé, le diclofénac et le 2-hydroxyibuprofène montrent, malgré tout un bon abattement lors des traitements tertiaires et de l'ultrafiltration, des concentrations résiduelles significatives.
- L'analyse croisée de données de contexte (concentration initiale, solubilité, Kd, Koc, biodégradabilité, taille des molécules) permet de mettre en évidence que l'abattement après traitement tertiaire semble plus corrélé à la persistance des molécules (DT50) qu'à leur capacité d'adsorption.
- de mettre en œuvre une manipulation au laboratoire visant à étudier la phytodisponibilité de micropolluants les plus problématiques dont les résultats sont les suivants :
 - Un phénomène bioaccumulation dans la plante est envisageable pour 6 des 9 molécules testées : Aténolol, Tolytriazole, Sulfaméthoxazole, 2-hydroxyibuprofène, Carbamazépine, Naproxène.
 - Il convient par ailleurs d'insister sur le fait que les protocoles analytiques ont été complexes à mettre en œuvre avec des interrogations méthodologiques sur les résultats pour 4 des 9 molécules testées. Dans une perspective de poursuite scientifique, il conviendra d'adopter une vigilance accrue sur les méthodes analytiques mises en œuvre.
- Les profils d'usage et les propriétés des 10 molécules les plus problématiques permettent de mettre en évidence les leviers d'action qui sont identifiés auprès de la profession médicale (médecins prescripteurs et hôpitaux). Toutefois, il n'a pas été possible de proposer des solutions opérationnelles sur la base des échanges avec la profession faute d'interaction concluante.
- Les RetEx sur le traitement des eaux usées, en vue de dégrader les molécules émergentes les plus persistantes, visent le couplage entre traitements membranaires et un passage sur charbon actif.

En parallèle, il s'est avéré que le besoin scientifique autour de la problématique de réutilisation des eaux usées traitées a évolué au cours du projet au regard de la réglementation et de l'acceptabilité sociétale. Concrètement, un défi essentiel consiste en l'acceptabilité de la réutilisation des eaux usées traitées par la profession agricole et par l'industrie du sucre. De manière pragmatique, la réglementation permet la réutilisation des eaux usées traitées. La recherche scientifique permet potentiellement de rassurer les utilisateurs finaux. Toutefois, il persiste un frein relatif à l'utilisation des produits issus de la sortie des STEU. Ce frein est actuellement observé sur le produit de fertilisation élaboré à partir des boues de la STEU du Grand-Prado.

In fine, le traitement des effluents de STEU reste un enjeu technologique et économique pour la problématique des molécules émergentes et des résidus pharmaceutiques dans la mesure où les traitements usuels sont peu efficaces pour certaines molécules émergentes. Pour mémoire, les STEU ne sont pas conçues pour cela. La diversité des propriétés physico-chimiques des molécules émergentes demande la multiplication des procédés à mettre en œuvre, ce qui peut

engendrer un rapport coût/bénéfice peu réaliste. La priorisation des molécules à dégrader doit donc être faite selon l'usage souhaité de l'effluent final et selon la présence de la molécule dans les produits finis.

A ce titre, il convient de rappeler que la canne à sucre subit un processus de transformation poussé entre la récolte des tiges au champ et la production sucre à l'usine (à l'inverse des productions maraîchères par exemple) et qu'un abattement de certaines molécules durant le processus de transformation est envisageable. Une réflexion devra être menée afin d'étudier les modalités de ces phénomènes d'abattement.

8. Bibliographie

- Acero, J.L., Benitez, F.J., Real, F.J., Teva, F., 2016. Micropollutants removal from retentates generated in ultrafiltration and nanofiltration treatments of municipal secondary effluents by means of coagulation, oxidation, and adsorption processes. *Chemical Engineering Journal* 289, 48–58.
- Acero, J.L., Benitez, F.J., Teva, F., Leal, A.I., 2010. Retention of emerging micropollutants from UP water and a municipal secondary effluent by ultrafiltration and nanofiltration. *Chemical Engineering Journal* 163, 264–272.
- Aubert, N., Koch-Mathian, J., Baraton, A., 2014. Élaboration d'une base de données corrélant activités et polluants potentiels (Rapport final No. BRGM/RP-64125-FR). BRGM.
- Besnault, S., Martin, S., 2011. Etat de l'art sur les procédés avancés intensifs pour la réduction de micropolluants dans les eaux usées traitées projet ARMISTIQ – Action A. Suez Environnement.
- BRLi, SCP, SECMO, ARTELIA, 2014. Réutilisation des eaux usées après traitement de la commune du Port (No. Dossier de demande d'autorisation).
- INERIS, 2018. Guide de mise en œuvre de la réglementation applicable aux ICPE en matière de rejets de substances dangereuses dans l'eau.
- Sheng, C., Nnanna, A.A., Liu, Y., Vargo, J.D., 2016. Removal of Trace Pharmaceuticals from Water using coagulation and powdered activated carbon as pretreatment to ultrafiltration membrane system. *Science of The Total Environment* 550, 1075–1083.
- Soulier, C., Gabet, V., Lardy, S., Lemenach, K., Pardon, P., Esperanza, M., Miège, C., Choubert, J.M., Martin, S., Bruchet, A., 2011. Zoom sur les substances pharmaceutiques: présence, partition, devenir en station d'épuration. *Techniques Sciences Methodes-Genie Urbain Genie Rural* 63.
- Vintila, T., Negrea, A., Barbu, H., Sumalan, R., Kovacs, K., 2016. Metal distribution in the process of lignocellulosic ethanol production from heavy metal contaminated sorghum biomass. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 91, 1607–1614.
- WRB, 2006. World Reference Base for Soil Resources 2006. *World Soil Resources Reports*. (No. 103), IUSS Working. Rome.
- Wu, C., Spongberg, A.L., Witter, J.D., 2009. Adsorption and degradation of triclosan and triclocarban in soils and biosolids-amended soils. *Journal of agricultural and food chemistry* 57, 4900–4905.
- Wu, X., Dodgen, L.K., Conkle, J.L., Gan, J., 2015. Plant uptake of pharmaceutical and personal care products from recycled water and biosolids: a review. *Science of The Total Environment* 536, 655–666.

Annexe 1

Rapport d'étude final RRCO-17-0055a

Rovaltain Research Company

Rovaltain Research Company
2 rue René Truhaut
BP 10313 Alixan-ROVALTAIN
26958 Valence Cedex 9

Rapport d'étude final RRCO-17-0055a

Dosage de 10 contaminants dans des plantules de sorgho et dans un sol

Client:

Matthieu Bravin
CIRAD – Unité de recherche recyclage et risques
40 chemin Grand Canal, CS 12014
97743 Saint-Denis cedex 9
La Réunion, France

Référence devis RRCO : D_RRCO-17-0055a

Validé:

Responsable projet:	Antoine Buonomo
Directeur de l'installation d'essai:	Bruno Combourieu

Signatures

Responsable projet

Antoine Buonomo
Ingénieur en chimie analytique
Tel. +33 4 58 17 66 81

Approbateur

Dr Bruno Combourieu
Directeur scientifique, directeur général adjoint
Tel. +33 4 82 48 00 38

Client

Matthieu Bravin
CIRAD – Unité de recherché recyclage et risques
40 chemin Grand Canal, CS 12014
97743 Saint-Denis cedex 9
La Réunion, France

Résumé de l'expérience

Des plantules de sorgho exposés ou non à 10 contaminants organiques ainsi qu'un sol tamisée à 2 mm ont été réceptionnés puis lyophilisés. Une technique d'analyse ciblée de 9 de ces 10 molécules par LC-MS/MS a été développée afin de déterminer leur concentration dans ces différentes matrices.

Table des matières

I. Liste des abréviations	4
II. Matériel et méthodes	4
1. Matériel, réactifs et éléments d'essais	4
a) Matériel	4
b) Réactifs	5
c) Elements d'essai	6
2. Méthodes	7
a) Lyophilisation, pesée et broyage	7
b) Préparation des solutions mère et de dopage	8
c) Préparation des gammes en solvant et en matrice	10
d) Extraction des matrices sorgho et sol	12
i. Sorgho	12
ii. Sol	12
e) Filtration et injection	13
f) Analyse LC-MS/MS	13
3. Résultats	14
a) Performances de la méthode	14
b) Dosage sorgho	15
c) Dosage sol	16
4. Conclusion et perspectives	17

I. Liste des abréviations

- LC: de l'anglais « *Liquid chromatography* »
- ACN: acétonitrile
- MeOH : méthanol
- HCOOH: acide formique
- mg: milligramme
- mL: millilitre
- L : litre
- G : gramme
- RRCo : Rovaltain Research Company
- UP: ultra pure
- MS: de l'anglais « *Mass spectrometry* »
- Rpm : rotations par minutes
- MRM : de l'anglais « *Multiple reaction monitoring* »
- ESI : de l'anglais « *electrospray ionization* »
- V : volts
- 2-HIBPF : 2-Hydroxyibuprofen
- ND: non détecté
- LQ: limite de quantification

II. Matériel et méthodes

1. Matériel, réactifs et éléments d'essais

a) *Matériel*

- Balance de précision Sartorius® Entris 224I-1S;
- Balance de précision Sartorius® Cubis CUBIS_MSA225P ;
- Centrifugeuse Thermo Scientific® Sorvall XTR ;
- Système d'évaporation Biotage® Turbovap LV ;
- Broyeur Genogrinder® 2010 ;

- Broyeur à couteaux Ika® A11 ;
- Purificateur d'eau Elga® Purelab Flex version COT ;
- Lyophilisateur Alpha® 1-2 LDPlus ;
- Pipettes Eppendorf® Research Plus de 100, 1000 et 5000 µL ;
- Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem Sciex® Qtrap 5500 ;
- Filtres Macherey-Nagel® Chromafil RC-20/13 ;
- Seringues plastiques Terumo® 1 mL ;
- Tubes à essai en verre ;
- Pipettes pasteur en verre ;
- Tubes de centrifugation Cellstar® 15 et 50 mL ;

b) Réactifs

- Eau ultrapure ;
- Acétonitrile RS UHPLC-MS Carlo-Erba® ;
- Méthanol RS UHPLC-MS Carlo-Erba® ;
- Acide formique LC-MS en ampoules Carlo-Erba® ;
- Phases quechers SPE Q-Sep en sachet Restek® ;
- Phase dSPE Supelclean ENVI-Carb.

c) Elements d'essai

L'ensemble des standards analytiques ont été commandés chez Sigma-Aldrich® puis stockés dans les conditions appropriées. Les puretés indiquées sur les certificats d'analyse ont été reportées dans le Tableau 1 :

Tableau 1 : Données relatives aux éléments d'essais.

Analyte	N°CAS	Référence commerciale	Conditionnement	Pureté (%)	Log P
2-hydroxyibuprofen	51146-55-5	32451-10MG	Poudre	99,3	2,41
atenolol	29122-68-7	74827-100MG	Solution (acétonitrile)	99,4	0,16
benzotriazole	95-14-7	76457-50MG	Poudre	98	1,44
carbamazepine	298-46-4	94496-100MG	Poudre	99,86	2,3
Diclofenac	15307-79-6	93484-100MG	Poudre	100	3,9
furosemide	54-31-9	F4381-1G	Poudre	100	2,03
naproxen	26159-34-2	M1275-5G	Poudre	98	3,18
oxazepam	604-75-1	O902-1ML	Solution (méthanol)	NA	2,01
sulfamethoxazole	723-46-6	S7507	Poudre	99,2	0,89
tolyltriazole	29385-43-1	COM448655487-5G	Poudre	98	1,71

En raison des délais importants pour obtenir l'autorisation de manipuler l'oxazépam de la part de l'ANSM, ce composé n'a pu être commandé et ne fait donc pas partie de la liste des composés qui ont été étudiés.

2. Méthodes

a) Lyophilisation, pesée et broyage

Les échantillons de Sorgho et de sol utilisés au cours de l'étude et transportés par CryoExpress ont été réceptionnés le 10/08/2017. Ils ont immédiatement été stockés à 20°C jusqu'à lyophilisation.

Les plantules de la condition « 2000 ng/L » ainsi que les échantillons de sol ont été lyophilisés du 17/08/2017 matin au 18/08/2017 après-midi. Ceux de la condition « 200 ng/L » ont été placés dans l'enceinte du lyophilisateur du 18/08/2017 après-midi au 21/08/2017 matin suivis des échantillons de la condition « témoin » du 23/08/2017 au 25/08/2017.

Les échantillons 1 à 9, 10 à 19 et 20 à 29 de chaque condition ont été regroupés avant d'être pesés. Les échantillons distribués dans chaque groupe ainsi que leur masse sèche correspondante sont reportées dans le Tableau 2 :

Tableau 2 : Groupes d'échantillons et masses sèches correspondantes.

Code client	Groupe	Masse sèche (g)
T1 à T9	Temoin_A	13,84
T10 à T19	Temoin_B	16,19
T20 à T29	Temoin_C	14,76
200-1 à 200-9	200_A	12,50
200-10 à 200-19	200_B	12,96
200-20 à 200-29	200_C	12,80
2000-1 à 200-9	2000_A	16,44
2000-10 à 200-19	2000_B	9,16
2000-20 à 200-29	2000_C	13,74

Une fois les différentes plantules regroupées, un broyage fin à l'aide d'un broyeur à couteaux a été effectué le 27/09/2017. La cuve du broyeur a été nettoyée entre chaque groupe d'échantillons. Les poudres ainsi obtenues ont été stockées à -20°C jusqu'à extraction.

b) Préparation des solutions mère et de dopage

Le tableau 3 présente les pesées et les solvants utilisés pour la préparation des solutions mères ainsi que leur concentration respective. Seule la solution mère d'atenolol a été préparée par dilution du standard commercial. Les autres composés ont dû être pesés et dilués. L'ensemble des solutions mères a été réalisé en fioles jaugées.

Tableau 3 : Concentration des différents éléments d'essai, volume et solvant de reprise des solutions préparées.

Analyte	Pesée (mg) ou volume prélevé (µL)	Solvant de dissolution	Volume final (mL)	Pureté (%)	Concentration (mg/L)
2-hydroxyibuprofen	3,67	Methanol	20	99,3	182,216
atenolol	100	Acetonitrile	10	99,4	9,940
benzotriazole	3,70	Eau : MeOH	20	98	181,300
carbamazepine	4,3	Methanol	20	99,86	214,699
Diclofenac	4,21	Methanol	20	100	210,5
furosemide	4,6	Eau : MeOH	20	100	230
naproxen	4,04	Methanol	25	98	158,368
sulfamethoxazole	4,27	Eau : MeOH	20	99,2	211,792

tolyltriazole	4,75	Eau : MeOH	20	98	232,750
---------------	------	------------	----	----	---------

Après agitation vigoureuse, le contenu des fioles jaugées a été transféré en vials ambrés de 20 mL. Ces derniers ont été conservés à -20°C entre chaque étape de manipulation.

Pour chaque série d'analyse (sol ou sorgho), plusieurs solutions contenant les neufs contaminants en mélange à différentes concentrations ont été préparées. La solution à 1 mg/L a été préparée en fiole jaugée en diluant un volume de chaque solution mère dans un volume d'un mélange eau : ACN (1 :1). Les détails de la préparation sont présentés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Détail de la préparation de la solution contenant les 9 contaminants à une concentration proche de 1 mg/L dans 10 mL d'un mélange Eau :ACN (1 :1).

Analyte	Volume de solution mère prélevé (µL)	Concentration (mg/L)
2-hydroxyibuprofen	55	182,216
atenolol	1000	9,940
benzotriazole	56	181,300
carbamazepine	47	214,699
Diclofenac	48	210,5
furosemide	44	230
naproxen	64	158,368
sulfamethoxazole	47	211,792
tolyltriazole	43	232,750

Les solutions de dopage des gammes ont quant à elle été effectuées directement en vial de 10 mL en diluant un volume de la solution précédemment préparée dans un volume d'eau pour les points hauts

et intermédiaires (SF_haut et SF_intermédiaire) ou par dilution d'un volume de la solution de dopage la plus concentrée (SF_haut) dans un volume d'eau (SF_bas).

Tableau 5 : Détail de la préparation des solutions de dopage de la gamme contenant les 9 contaminants à différentes concentrations en eau UP.

Solution	Solution utilisée	Volume prélevé (µL)	Volume final (mL)	Concentration (µg/L)
SF_haut	Solution mix 1 mg/L	500	5	100
SF_intermédiaire	Solution mix 1 mg/L	25	5	5
SF_bas	SF_haut	25	5	0,5

Les solutions ont été vigoureusement agitées avant que le dopage des différentes gammes soit effectué.

c) Préparation des gammes en solvant et en matrice

Pour chaque série d'analyse (sorgho ou sol), une gamme en solvant et une gamme extraite en matrice dans les mêmes conditions que les échantillons ont été effectuées. Dans le cas du sorgho, les plants témoins du groupe A (Temoin_A) ont été utilisés pour effectuer la gamme extraite. Dans le cas du sol, c'est l'échantillon expédié lors du premier envoi qui a servi de référence.

Les solutions utilisées ainsi que les volumes dopés pour réaliser les gammes extraites ou en solvant sont indiqués dans le tableau 6.

Tableau 6 : Détail de la préparation des gammes extraites (sorgho et sol) et en solvant.

Etalon	Solution utilisée	Volume prélevé (µL)	Volume final	Solvant de reprise	Concentration approximative en vial (µg/L)
Blanc	-	0	1	Eau : ACN 90 :10 + 0,1% HCOOH	0
1	SF_bas	20	1	Eau : ACN 90 :10 + 0,1% HCOOH	0,01
2	SF_bas	40	1	Eau : ACN 90 :10 + 0,1% HCOOH	0,02
3	SF_bas	100	1	Eau : ACN 90 :10 + 0,1% HCOOH	0,05
4	SF_intermédiaire	20	1	Eau : ACN 90 :10 + 0,1% HCOOH	0,1
5	SF_intermédiaire	100	1	Eau : ACN 90 :10 + 0,1% HCOOH	0,5
6	SF_intermédiaire	150	1	Eau : ACN 90 :10 + 0,1% HCOOH	0,75
7	SF_intermédiaire	200	1	Eau : ACN 90 :10 + 0,1% HCOOH	1
8	SF_haut	20	1	Eau : ACN 90 :10 + 0,1% HCOOH	2
9	SF_haut	50	1	Eau : ACN 90 :10 + 0,1% HCOOH	4

Pour chaque matrice, un contrôle d'extraction utilisé pour calculer des rendements a été réalisé en dopant 20 µL de la solution SF_haut dans le solvant issu de l'extraction, préalablement à l'étape d'évaporation.

d) Extraction des matrices sorgho et sol

i. Sorgho

250 mg de poudre de plantules a été introduit en tube de centrifugation 50 mL. Le dopage des points de gamme extraite a été effectué suivi d'une agitation 10 secondes au vortex. 8 mL d'eau UP ont ensuite été introduits dans chaque tube préalablement à 2 minutes et 30 secondes d'agitation au genogrinder dont la fréquence a été paramétrée à 1000 rpm. 10 mL d'acétonitrile ont été ajoutés. Un nouveau cycle d'agitation a été observé. Le contenu d'un sachet Quechers Q-Sep a été déversé dans chaque tube avant de procéder à une nouvelle agitation. Ces derniers ont été centrifugés 5 minutes à 4700 rpm et à température ambiante. Le surnageant a été prélevé à l'aide d'une pipette pasteur et transféré en tube de centrifugation 15 mL contenant 250 mg de phase dSPE Supelclean ENVI-Carb. Un nouveau cycle d'agitation suivi d'une centrifugation dans des conditions identiques aux précédentes étapes ont été observés. Le surnageant issu de cette étape de purification a été transféré en tube à essai puis évaporé à sec sous flux d'azote et à 45°C avant reprise dans un mélange Eau :ACN 90 :10 + 0,1% HCOOH.

ii. Sol

2 g de sol sec ont été introduits en tube de centrifugation 50 mL. Le dopage des points de gamme extraite a été effectué suivi d'une agitation 10 secondes au vortex. 8 mL d'eau UP ont ensuite été introduits dans chaque tube. 8 mL d'eau UP ont ensuite été introduits dans chaque tube préalablement à 2 minutes et 30 secondes d'agitation au genogrinder dont la fréquence a été paramétrée à 1000 rpm. 10 mL d'acétonitrile ont été ajoutés. Un nouveau cycle d'agitation a été

observé. Un nouveau cycle d'agitation a été observé. Le contenu d'un sachet Quechers Q-Sep a été déversé dans chaque tube avant de procéder à une nouvelle agitation. Ces derniers ont été centrifugés 5 minutes à 4700 rpm et à température ambiante. Le surnageant a été prélevé à l'aide d'une pipette pasteur et transféré en tube à essai puis évaporé à sec sous flux d'azote et à 45°C avant reprise dans un mélange Eau :ACN 90 :10 + 0,1% HCOOH.

e) Filtration et injection

Avant injection, 1 mL des extraits (gamme extraite, échantillons ou contrôles) de sol et de sorgho ainsi que des points de gamme réalisés en solvant ont été filtrés sur des membranes de cellulose régénérée d'un diamètre de 13 mm et d'une porosité de 0,2 µm.

f) Analyse LC-MS/MS

10 µL de chaque vial ainsi préparé a ensuite été injecté sur le système LC-MS/MS. La chromatographie a été effectuée sur une colonne Hypersil Gold Phenyl d'une longueur de 100 mm, d'un diamètre interne de 2,1 mm et d'une granulométrie de 1,9 µm. Cette dernière a été thermostatée à 45°C. Les phases mobiles distribuées à 0,3 mL/min tout au long de l'analyse étaient composées d'eau tamponnée avec 0,001% d'acide formique (solvant A) et d'acétonitrile tamponné avec 0,001% d'acide formique (solvant B).

La détection et la quantification des analytes a été effectuée en mode multiple reaction monitoring (MRM). L'ionisation par electrospray a été réalisée en mode positif (5500 V) et/ou négatif (-4500 V) selon les segments de l'analyse. La température de la source a été fixée à 650°C et les valeurs de curtain gas, GS1 et GS2 respectivement à 25, 40 et 40 psi.

3 transitions (ion précurseur) de masse vers ion (fils) ont été suivies. Celle dont l'intensité était la plus élevée a été choisie pour la quantification des analytes. Les DP (potentiel de déclusterisation), EP (différence de potentiel entre la source et le premier quadripole), CE (différence de potentiel dans

la cellule de collision) et CXP (différence de potentiel en sortie de cellule de collision) ont été optimisées pour chaque composé.

L'étalonnage a été réalisé de manière externe.

3. Résultats

Les données de calibration issues des analyses sont compilées dans le fichier « RRCO-17-0055a_resultats_calibration ».

a) Performances de la méthode

Les limites de quantification selon que la gamme ait été préparée en solvant d'injection ou extraite du sorgho et du sol sont détaillées dans le tableau 7.

Tableau 7 : Limites de quantification des composés d'intérêt dans les différentes matrices.

Composé	Gamme solvant (µg/L)	Gamme extraite sorgho (ng/g matière sèche)	Gamme extraite sol (ng/g matière sèche)
atenolol	0.01	0.04	0.005
benzotriazole	0.01	2	0.01
tolyltriazole	0.01	0.08	0.005
sulfmethoxazole	0.01	2	0.005
2-hydroxyibuprofen	0.05	2	0.5
furosemide	0.02	3	0.375
carbamazepine	0.01	0.04	0.005
naproxen	0.01	0.08	0.025
diclofenac	0.02	0.4	0.025

Les rendements d'extraction en matrices sol et sorgho sont indiquées dans le Tableau 8. Ils ont été obtenus en effectuant le rapport entre l'aire de l'étalon 8 et la moyenne des aires des contrôles d'extraction pour lesquels le dosage des substances a été réalisé après extraction.

Tableau 8 : Rendements d'extraction des différents composés dans les matrices sol et sorgho.

Composé	Rendement en sol (%)	Rendement en sorgho (%)
atenolol	47,5	65,5
benzotriazole	83,5	96
tolyltriazole	84,3	68,8
sulfmethoxazole	94,5	6,9
2-hydroxyibuprofen	83,2	107,5
furosemide	74	31,5
carbamazepine	86,2	83,4
naproxen	93,6	73,7
diclofenac	95,6	78,5

b) Dosage sorgho

Le tableau 9 présente la fonction de calibration et le type de pondération utilisés pour déterminer la concentration des 9 composés dans la matrice sorgho. Les coefficients de détermination correspondants sont indiqués.

Tableau 9 : Coefficients de détermination retrouvés, fonction de calibration et type de pondération appliqués pour le dosage des 9 composés d'intérêt dans la matrice sorgho.

Composé	Gamme solvant			Gamme extraite sorgho		
	R ²	Fonction	Pondération	R ²	Fonction	Pondération
atenolol	0.998	linéaire	1/x	0.997	linéaire	1/x
benzotriazole	0.999	linéaire	1/x	0.993	linéaire	1/x
tolyltriazole	0.999	linéaire	1/x	0.994	linéaire	1/x
sulfmethoxazole	0.999	quadratique	1/x	0.999	quadratique	1/x
2-HIBPF	0.999	linéaire	1/x	0.99	linéaire	1/x
furosemide	0.999	linéaire	1/x	0.998	quadratique	1/x
carbamazepine	0.999	linéaire	1/x	0.999	linéaire	1/x

naproxen	0.999	linéaire	1/x	0.998	linéaire	1/x
diclofenac	0.998	linéaire	1/x	0.991	linéaire	1/x

Le tableau 10 présente les concentrations des 9 composés calculées en fonction de la gamme extraite selon la condition expérimentale des plants et le réplicat d'analyse.

Tableau 10 : Concentrations des 9 composés calculées en fonction de la gamme extraite et exprimées en ng/g de matière sèche. (ND = non détecté ; < LQ = concentration inférieure à la limite de quantification).

Composé	Témoin			200 ng/L			2000 ng/L		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
atenolol	< LQ	0,059	0,019	0,208	0,198	0,177	3,044	1,803	2,330
benzotriazole	0,048	< LQ	0,319	0,626	< LQ	< LQ	0,610	< LQ	0,327
tolyltriazole	0,062	< LQ	0,243	< LQ	< LQ	< LQ	0,112	0,281	0,069
sulfmethoxazole	ND	ND	ND	ND	ND	ND	9,135	ND	9,577
2-hydroxyibuprofen	0,082	< LQ	1,429	ND	ND	< LQ	3,076	2,157	< LQ
furosemide	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
carbamazepine	0,015	< LQ	0,030	1,527	1,436	1,618	15,109	10,267	12,515
naproxen	ND	0,054	ND	ND	ND	ND	0,441	0,325	0,384
diclofenac	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ

c) Dosage sol

Le tableau 11 présente la fonction de calibration et le type de pondération utilisés pour déterminer la concentration des 10 composés dans la matrice sol. Les coefficients de détermination correspondants sont indiqués.

Tableau 11 : Coefficients de détermination retrouvés, fonction de calibration et type de pondération appliqués pour le dosage des 9 composés d'intérêt dans la matrice sol.

Composé	Gamme solvant			Gamme extraite sol		
	R ²	Fonction	Pondération	R ²	Fonction	Pondération
atenolol	0.999	linéaire	1/x	0.999	linéaire	1/x
benzotriazole	0.999	quadratique	aucune	0.999	quadratique	1/x
tolyltriazole	0.999	linéaire	1/x	0.993	linéaire	1/x
sulfmethoxazole	0.999	linéaire	1/x	0.997	linéaire	1/x
2-HIBPF	0.997	linéaire	1/x	1	linéaire	1/x

furosemide	0.997	linéaire	1/x	0.999	quadratique	1/x
carbamazepine	0.999	linéaire	1/x	0.999	linéaire	1/x
naproxen	0.999	linéaire	1/x	0.999	linéaire	1/x
diclofenac	0.999	linéaire	1/x	0.994	linéaire	1/x

Le tableau 12 présente les concentrations calculées en fonction de la gamme extraite des 9 composés selon le réplicat d'analyse de sol.

Tableau 12 : Concentrations des 9 composés calculées en fonction de la gamme extraite et exprimées en ng/g de matière sèche. (ND = non détecté ; < LQ = concentration inférieure à la limite de quantification).

Composé	Sol	
	A	B
atenolol	ND	ND
benzotriazole	0,006	0,020
tolyltriazole	< LQ	< LQ
sulfmethoxazole	< LQ	0,023
2-hydroxyibuprofen	ND	ND
furosemide	ND	ND
carbamazepine	0,002	0,0004
naproxen	ND	ND
diclofenac	0,074	0,106

4. Conclusion et perspectives

Une méthode d'extraction et d'analyse par LC-MS/MS des 9 composés d'intérêt a été développée afin de déterminer leur concentration dans les matrices sorgho et sol. Les limites de quantification de ces composés en solvant, en extrait de sorgho et en extrait de sol étaient respectivement comprises entre 0.01 et 0.05 µg/L, 0.01 et 0.75 µg/L et 0.01 et 1 µg/L.

Les rendements d'extraction de ces composés dans les deux matrices sorgho et sol étaient respectivement compris entre 6.9 et 107.5 % et 47.5 et 95.6 %. C'est dans cette dernière matrice que les rendements d'extraction étaient donc les plus homogènes.

Des coefficients de détermination acceptables ont été obtenus pour calculer la concentration des différentes substances dans les deux matrices par étalonnage externe.

De très faibles quantités de substances utilisées dans le cadre de l'étude ont pu être retrouvées dans le sol. En revanche, pour les plants de sorgho, une augmentation de la concentration de certains composés a pu être notée avec l'augmentation de la concentration apportée par la solution nutritive. Parmi les substances étudiées, la carbamazépine était celle qui présentait une concentration par quantité de plante sèche la plus élevée dans ces conditions expérimentales.

Afin d'améliorer les performances analytiques de la méthode, plusieurs pistes pourraient être étudiées. Dans un premier temps, il convient de déterminer les conditions précises de pH qui permettraient d'améliorer les rendements d'extraction de certains composés. En effet, dans le cadre de cette étude, seules 3 conditions différentes de pH ont été testées.

En se focalisant toujours sur la préparation d'échantillon, une méthode adaptée de purification des extraits par extraction en phase solide (sur cartouche) permettrait de supprimer des interférents qui perturbent la mesure des analytes d'intérêt et de procéder à une concentration de l'échantillon. La prise d'essai optimale pourrait aussi être déterminée afin de garantir le meilleur rapport entre quantité de substance d'intérêt potentiellement présente dans la matrice et la complexité de l'extrait final.

Afin de connaître la fraction de molécules d'intérêts réellement extraites de la matrice, le recours à des étalons internes paraît essentiel. Généralement, il s'agit d'une ou plusieurs molécules identiques ou partageant une structure semblable à celles qui sont recherchées et marquées avec des isotopes stables permettant ainsi de les distinguer par spectrométrie de masse. Ainsi, l'emploi de ces étalons permet de normaliser l'extraction échantillon par échantillon pour s'affranchir du rendement et des conditions de l'extraction lors de la quantification. Toutefois, leur prix et leur disponibilité ne permettent pas toujours de disposer d'un étalon interne marqué pour chaque composé d'intérêt.

Concernant l'analyse par LC-MS/MS, un gain de sensibilité pourrait surtout être obtenu en optimisant une méthode pour chaque polarité d'ionisation par electrospray, notamment en adaptant la composition des phases mobiles.



Géosciences pour une Terre durable

brgm

Centre scientifique et technique

3, avenue Claude-Guillemain
BP 36009

45060 – Orléans Cedex 2 – France

Tél. : 02 38 64 34 34 - www.brgm.fr

Direction régionale La Réunion

5, rue Sainte Anne
CS 51016

97404 Saint-Denis Cedex

Tel. : +262 (0) 262 21 22 14