



HAL
open science

Présence, devenir et traitement des biocides dans les rejets d'un établissement hospitalier

Florence Lasek

► **To cite this version:**

Florence Lasek. Présence, devenir et traitement des biocides dans les rejets d'un établissement hospitalier. Environnement et Société. Université de Poitiers, 2018. Français. NNT : 2018POIT2312 . tel-02461112

HAL Id: tel-02461112

<https://theses.hal.science/tel-02461112v1>

Submitted on 30 Jan 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE

Pour l'obtention du Grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE POITIERS

(ECOLE SUPERIEURE d'INGENIEURS de POITIERS)
(Diplôme National - Arrêté du 25 mai 2016)

Ecole Doctorale : Sciences pour l'environnement n° 523 Gay Lussac

Secteur de Recherche : Chimie et microbiologie de l'eau

Présentée par :

Florence LASEK
Maître ès Sciences

PRESENCE, DEVENIR ET TRAITEMENT DES BIOCIDES DANS LES REJETS D'UN ETABLISSEMENT HOSPITALIER

Directeurs de Thèse : M^{me} Nathalie KARPEL VEL LEITNER
M^{me} Marie DEBORDE

Soutenance prévue le 11 Décembre 2018

devant la Commission d'Examen

JURY

Rapporteurs : M^{me} Hélène FENET
M. Dominique WOLBERT

Examineurs : M^{me} Magali BARNIER
M. Olivier PERCEVAL
M. Yannick POUILLOUX
M. Cyril PRINTEMPS-VACQUIER

« Confronté à la roche, le ruisseau l'emporte toujours,

Non pas par la force, mais par la persévérance. »

[H. Jackson Brown Jr.]

A mes grands-parents et à mes parents.

REMERCIEMENTS

En premier lieu, je remercie les rapporteurs M^{me} Fenet et M. Wolbert ainsi que les examinateurs : Mme Barnier et MM. Perceval, Pouilloux et Printemps-Vacquier, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je remercie les responsables de l'Institut de Chimie des Milieux et des Matériaux de Poitiers (IC2MP) UMR CNRS 7285 et de l'équipe Eaux, Biomarqueurs, Contaminants Organiques, Milieux (E.BiCOM) pour m'avoir accueillie parmi eux.

Je tiens à remercier également la région Nouvelle Aquitaine (Ex-Poitou-Charentes) pour le financement de ma thèse. De même, je remercie l'Agence de l'Eau Loire-Bretagne et l'Agence Française pour la Biodiversité pour le financement de ma thèse et du projet BIOTECH, sans lequel ce travail n'aurait pas pu être ce qu'il est aujourd'hui. Je remercie en particulier les membres impliqués au nom du CHU de Poitiers et de Véolia, les membres du Laboratoire de Chimie Moléculaire (LCM) et M^{me} Pontlevoy de SEREP-Technavox.

C'est avec plaisir que je remercie M^{me} Karpel Vel Leitner et M^{me} Deborde, mes deux directrices de thèse qui m'ont accompagnée et soutenue durant ces trois ans. Merci à elles pour leur patience, leurs conseils ; de m'avoir transmis leur expérience et leur goût pour la recherche. Merci à M^{me} Deborde pour sa disponibilité, son accompagnement tout au long de ces trois années et pour les week-ends passés ensemble devant l'UHPLC. Merci à M^{me} Karpel Vel Leitner pour son regard critique apporté tout au long de ces travaux.

Je remercie tous les membres de l'équipe E.bicom et les membres de l'APTEN pour leur gentillesse, leur soutien et leurs encouragements. Je remercie particulièrement Sylvie qui m'a appris à dompter la fameuse UHPLC. Merci à Balkis, Marillia, Thibaut, Thomas et tous les utilisateurs de la machine. Merci à Audrey, Béa, Bertrand, Cricri, Elodie, Jérôme et Leslie.

Je remercie Céline, Julien et Mouna qui m'ont aidé dans le bon déroulement des TP.

Merci à toutes les personnes qui ont pu contribuer de près ou de loin à ce projet, de par leur soutien ou leur implication dans ces travaux (tous ceux qui se sont posés dans le grand bureau des doctorants ou qui un jour ont poussé la porte).

Je n'oublie pas non plus les membres du labo qui constituent la team tea (10% eau, 90% thé) (Alexandre, Hiba, Jeannette, Julie et Solène), et qui ont fait de cette dernière année, une année remplie de discussions plus moins scientifiques, musicales, vidéo-ludiques pour ne pas citer tous les sujets, les

psycho-tests et les parties de cartes et de l'aménagement de notre bureau (J&J'S). Je leur transmets mes encouragements pour ce qu'il leur reste avant d'écrire la dernière page de leur thèse.

Je tiens à remercier Laurine, Chi, Danxuan, Kevin et Marine. Je les remercie pour leur soutien et tous les moments passés ensembles aux quatre coins de la France. Merci à Florence et Virginie, mes amies de Poitiers. Merci également aux membres de l'institut du Petit Dragon pour leurs encouragements et les entraînements.

J'adresse mes remerciements les plus chers aux membres de ma famille : ma mère, mon père, pour leur soutien indéfectible, cette force de ne rien lâcher, leur joie, leur bonne humeur ; ma petite sœur (qui a dépassé si souvent son forfait téléphonique pour nos très longues heures de discussion), ainsi qu'à mes grands-parents pour avoir toujours cru en moi et de m'avoir toujours encouragée.

Ma toute dernière pensée revient à ma fidèle UHPLC-MS qui pendant ces trois ans a sans relâche analysé, jour après jour, semaine après semaine, tous mes échantillons. Elle qui m'a fait passer par toutes les émotions : de l'effroi à la joie, de la crainte de la quitter le soir et cette fébrilité de la retrouver le lendemain matin avec les échantillons analysés ou un bug inconnu à l'écran. Avec elle j'ai appris à gérer l'imprévu et l'importance que vaut une seule petite minute.

Merci à tous

RESUME

L'objectif de ce travail a été d'étudier la présence, le devenir et le traitement de biocides dans les rejets d'un établissement hospitalier. Pour cela, 3 substances biocides, représentatives d'une activité de soins (i.e. didécyldiméthylammonium (DDAC), digluconate de chlorhexidine (CHD) et bis(aminopropyl)laurylamine (BAPLA)) ont été ciblées et 5 campagnes de prélèvements réalisées sur l'ensemble du réseau de collecte des eaux usées du CHU de Poitiers ont été menées.

Dans ces conditions, une émission continue de biocides sur 24 h, avec des quantités rejetées en journée plus importantes du fait de la plus forte activité de soins et de nettoyage durant cette période a été montrée. Des concentrations de l'ordre de quelques mg/L pour le DDAC et de quelques dizaines de µg/L pour le CHD et le BAPLA ont été observées. En termes de flux massiques, la comparaison des quantités retrouvées dans les rejets aux quantités utilisées par le CHU a permis de préciser la nature des sources d'émission ainsi que les usages et/ou les pratiques les plus propices à ces rejets.

Parallèlement, une étude laboratoire de la stabilité et du devenir des biocides dans les eaux résiduaires a été menée. Une première estimation des quantités adsorbées sur les matières en suspension a été obtenue. De même, les produits de dégradation susceptibles d'être générés lors du rejet de biocides en présence d'un résiduel de chlore ont été identifiés et l'évolution de l'écotoxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri* a été évaluée.

Enfin, la possibilité d'un traitement à la source utilisant l'ozone pour limiter les rejets de biocides a été envisagée et une étude pilote sur le terrain a été menée.

Mots-clefs

Biocides ; Effluents hospitaliers ; Eaux résiduaires ; Présence ; Rejets ; Devenir ; Traitement ; Ozonation catalytique ; Toxicité

The objectives of this study was to study the presence, the fate and the treatment of some biocides in the wastewaters from a hospital. 3 biocidal substances specific to healthcare activities (i.e. didecyldimethylammonium chloride (DDAC), chlorhexidine digluconate (CHD) and bis(aminopropyl)laurylamine (BAPLA)) were selected and 5 sampling campaigns were conducted throughout the entire Poitiers University Hospital sewage system.

Under these conditions, a continuous biocide discharges over 24 h was shown, with higher quantities discharged during the day. This was pointing out the greater healthcare and facility cleaning activities taking place during this period. Concentrations of a few mg/L for DDAC and a few dozens of µg/L for CHD and BAPLA were detected. In terms of mass flows, the comparison of the quantities found in the discharges with the quantities used by the university hospital made it possible to specify the nature of the sources of emission as well as the uses and / or the practices most favorable to these discharges.

In parallel, a laboratory study of the stability and fate of biocides in wastewater was conducted. A first estimate of the amounts adsorbed on suspended solids was obtained. Similarly, the degradation products likely to be generated during the release of biocides in the presence of a chlorine residual have been identified and the evolution of the ecotoxicity towards *Vibrio fischeri* has been evaluated.

Finally, the proposal of an ozone based treatment at source was carried out to limit biocide discharges and a pilot study was conducted on the hospital wastewaters.

Key words

Biocides ; Hospital effluents ; Wastewaters ; Presence ; Releases ; Fate ; Treatment ; Catalytic ozonation ; Toxicity

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS.....	5
RESUME	8
SOMMAIRE	11
TABLEAUX.....	15
TABLE DES FIGURES.....	18
INTRODUCTION.....	22
BIBLIOGRAPHIE	26
CHAPITRE I : LES BIOCIDES	27
III.1 Généralités	27
III.1.1 Définitions	27
III.1.2 Différents types de produits biocides.....	27
III.1.3 Réglementation.....	30
III.1.3.1 Mondiale	30
III.1.3.2 Européenne.....	30
III.1.3.3 Française	31
III.2 Biocides étudiés	32
III.2.1 Utilisation	33
III.2.2 Propriétés physico-chimiques.....	33
III.2.3 Ecotoxicité.....	34
III.2.4 Mode d'action.....	36
III.2.5 Présence dans l'environnement	39
CHAPITRE II : LES DESINFECTANTS ET LE MILIEU HOSPITALIER.....	41
II.1 Utilisation des désinfectants en milieu hospitalier	41
II.1.1 Intérêt.....	41
II.1.2 Utilisation et consommation des biocides ciblés en milieu hospitalier.....	41
II.1.3 Le chlore.....	42
II.2 Effluents hospitaliers	44
II.2.1 Paramètres physico-chimiques.....	45
II.2.2 Micropolluants.....	45
II.2.3 Microbiologie des effluents.....	46
II.2.4 Ecotoxicité.....	47
CHAPITRE III : REACTIVITE DES BIOCIDES DANS LES EFFLUENTS ET LORS DU TRAITEMENT DES EAUX	49
III.1 Réactivité dans les rejets hospitaliers.....	49
III.1.1 Réactivité du chlore	50
III.1.1.1 Sur les amines aliphatiques.....	50
III.1.1.2 Sur les chaînes carbonées	51
III.1.1.3 Sur les composés aromatiques	51
III.1.1.4 Réaction du chlore avec les biocides étudiés.....	52
III.2 Réactivité lors du traitement des eaux usées	53
III.2.1 Biodégradation au niveau des stations d'épuration	53
III.2.1.1 Mécanisme de biodégradation du CHD	54
III.2.1.2 Mécanisme de biodégradation du DDAC	56
III.2.1.3 Mécanisme de biodégradation du BAPLA	57
III.2.2 Réactivité des biocides au cours des traitements par oxydation.....	57

III.2.2.1	Ozone et Procédés d'Oxydation Avancés (POA)	59
III.2.2.2	Réactivité de l'ozone moléculaire et du radical hydroxyle.....	59
III.2.2.2.1	Action de l'ozone moléculaire.....	59
III.2.2.2.1.1	Sur les amines	59
III.2.2.2.1.2	Sur les chaînes carbonées	60
III.2.2.2.1.3	Sur les composés aromatiques	60
III.2.2.2.2	Action des radicaux hydroxyles.....	62
III.2.2.2.2.1	Sur les amines	62
III.2.2.2.2.2	Sur les chaînes carbonées	63
III.2.2.2.2.3	Sur les composés aromatiques	63
III.2.2.2.3	Ozonation catalytique.....	64
PRESENCE DE PRODUITS BIOCIDES DANS LES EFFLUENTS HOSPITALIER		65
CHAPITRE IV : MATERIEL ET METHODES		66
IV.1	Méthodes d'analyse	66
IV.1.1	Paramètres globaux.....	66
IV.1.2	Evaluation de l'écotoxicité	66
IV.1.3	Analyse des biocides.....	66
IV.1.3.1	Appareillage et conditions analytiques	66
IV.1.3.1.1	Chromatographie Liquide Ultra Haute Performance.....	66
IV.1.3.1.2	Spectromètre de masse	67
IV.1.3.2	Préparation et conservation des échantillons avant analyse.....	69
IV.1.3.2.1	Préparation et conditions de conservation	69
IV.1.3.2.2	Etude de la stabilité des échantillons	69
IV.1.3.2.2.1	Suivant le flaconnage utilisé pour la conservation	69
IV.1.3.2.2.2	Dans les vials d'analyse	70
IV.1.3.3	Quantification des molécules en matrice complexe	72
IV.1.3.3.1	Méthode de quantification	72
IV.1.3.3.2	Calcul des incertitudes	73
IV.1.3.3.3	Calcul des limites de détection (LD) et de quantification (LQ).....	73
IV.1.3.3.3.1	Méthode signal sur bruit (S/B).....	74
IV.1.3.3.3.2	Méthode statistique.....	74
IV.1.3.3.3.3	Méthode retenue dans ce travail	75
IV.2	Campagnes de prélèvements.....	76
IV.2.1	Description des sites de prélèvement	76
IV.2.1.1	CHU de Poitiers.....	76
IV.2.1.2	Station d'épuration de Poitiers	78
IV.2.2	Points de prélèvements.....	78
IV.2.3	Echantillonnage	80
IV.2.3.1	Campagnes C1 ; C2 ; C3.....	80
IV.2.3.2	Campagnes C4 et C5.....	81
CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSIONS		82
V.1	Rejets de biocides au niveau de l'agglomération de Poitiers.....	82
V.2	Evaluation des rejets de biocides au niveau du CHU de Poitiers	83
V.2.1	Paramètres physico-chimiques.....	83
V.2.2	Concentrations en biocides dans les effluents du CHU de Poitiers	84
V.2.3	Détermination des flux massiques de biocides.....	86
V.2.3.1	Bilan massique sur le site du CHU	86
V.2.3.2	Comparaison des quantités de biocides consommées et retrouvées dans les rejets	88
V.2.3.2.1	Quantités de biocides consommées au CHU	88
V.2.3.2.2	Comparaison des quantités consommées et retrouvées dans les rejets	90
V.3	Variation des rejets de biocides au cours d'une journée	93
V.3.1	Paramètres physico-chimiques.....	93
V.3.2	Suivi de l'écotoxicité	95

V.3.3	Variation temporelle des rejets en biocides	96
V.3.3.1	Variation des concentrations	96
V.3.3.2	Evolution journalière des débits massiques.....	97
CONCLUSION.....	100	
DEVENIR DES BIOCIDES	101	
CHAPITRE VI : MATERIELS ET METHODES.....	102	
VI.1	Conditions expérimentales	102
VI.1.1	Matrices de travail	102
VI.1.2	Concentrations de dopages en molécules cibles	102
VI.2	Protocoles expérimentaux	102
VI.2.1	Stabilité.....	102
VI.2.2	Chloration.....	103
VI.2.2.1	Suivi de la dégradation des biocides par le chlore.....	103
VI.2.2.1.1	Choix des concentrations en chlore disponible	103
VI.2.2.1.2	Protocole.....	104
VI.2.2.2	Identification des produits de dégradation et suivi de l'écotoxicité.....	105
VI.2.3	Adsorption des biocides sur les MES	105
VI.3	Méthodes d'analyses.....	106
VI.3.1	Analyse des biocides.....	106
VI.3.2	Mesure de l'écotoxicité	106
VI.3.2.1	Détermination des EC ₅₀	107
VI.3.2.2	Mesure de l'écotoxicité d'un échantillon.....	107
VI.3.3	Analyse du chlore.....	107
VI.3.4	Mesure de la teneur en MES.....	107
CHAPITRE VII : RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	109	
VII.1	Stabilité des biocides en matrice	109
VII.2	Impact du chlore sur les biocides	110
VII.2.1	Dégradation des biocides par le chlore en fonction du temps	110
VII.2.2	Suivi de l'écotoxicité	112
VII.2.3	Identification et suivi de l'évolution des produits de transformation du BAPLA	113
VII.3	Adsorption des biocides sur les matières en suspension	118
VII.3.1	Adsorption versus biodégradation	120
VII.3.2	Etude de l'adsorption des biocides à différentes concentrations initiales.....	122
VII.3.3	Etude de l'adsorption à différents pH	124
VII.3.4	Impact de la teneur en MES.....	126
VII.3.5	Etude de l'impact de la nature des MES.....	127
VII.3.6	Evaluation des quantités de biocides adsorbées sur les MES dans les rejets du CHU.....	129
CONCLUSION.....	132	
TRAITEMENT DES BIOCIDES.....	133	
CHAPITRE VIII : MATERIELS ET METHODES.....	134	
VIII.1	Protocoles expérimentaux	134
VIII.1.1	Protocole expérimental pour l'étude de la réactivité des biocides	134
VIII.1.2	Dispositifs expérimentaux pour l'étude de l'élimination des biocides	135
VIII.1.2.1	Effluents étudiés.....	135
VIII.1.2.2	Dégradation des biocides à l'échelle laboratoire.....	135
VIII.1.2.3	A l'échelle pilote	136
VIII.2	Méthodes d'analyses.....	138
CHAPITRE IX : RESULTATS.....	139	
IX.1	Réactivité des molécules étudiées.....	139
IX.1.1	Suivi de la dégradation des biocides.....	139
IX.1.2	Suivi de l'écotoxicité vis-à-vis de <i>Vibrio fischeri</i>	140

IX.1.3	Formation et évolution des sous-produits	141
IX.1.3.1	BAPLA	141
IX.1.3.2	Digluconate de chlorhexidine	145
IX.1.3.3	Le DDAC.....	147
IX.2	Oxydation des biocides dans les effluents	156
IX.2.1	Etude à l'échelle laboratoire	156
IX.2.2	Etude pilote sur site.....	158
IX.2.2.1	Conditions de fonctionnement du pilote	158
IX.2.2.2	Effluent du CHU	160
IX.2.2.2.1	Biocides.....	160
IX.2.2.2.2	Sous-produits	163
IX.2.2.2.3	Ecotoxicité.....	163
IX.2.2.3	Effluent de la nouvelle blanchisserie.....	165
IX.2.2.3.1	Biocides.....	165
IX.2.2.3.2	Sous-produits	168
IX.2.2.3.3	Ecotoxicité.....	170
IX.2.2.4	Conclusions de l'étude pilote.....	171
SYNTHESE	172
ANNEXES	177
REFERENCES	183

TABLEAUX

Tableau 1 : Liste des différents types de produits biocides d'après le règlement n°528/2012 du parlement et du conseil européen (JOUE, 2012).....	28
Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques des substances ciblées, d'après l'ECHA et Chemspider*.....	32
Tableau 3 : Données écotoxicologiques non exhaustives du DDAC, de le CHD et du BAPLA.	35
Tableau 4 : Predicted No Effect Concentration (PNEC) du DDAC, du CHD et du BAPLA, d'après la base de données de l'ECHA.....	36
Tableau 5 : Concentrations de DDAC et de CHD retrouvées dans les compartiments environnementaux.	40
Tableau 6 : Paramètres physico-chimiques de quelques effluents hospitaliers dans le monde.	45
Tableau 7 : Ecotoxicité des effluents de différents hôpitaux en % d'effluent qui ont un effet sur 50 % d'une population d'organismes. Valeurs tirées de Orias et Perrodin (2013).	47
Tableau 8 : Potentiel Red/Ox de quelques oxydants, à T = 25 °C sous 1 atm (Doré, 1989 et Zaviska <i>et al.</i> , 2009*)..	57
Tableau 9 : Gradient d'élution de la phase mobile utilisé lors de l'analyse par chromatographie liquide ultra haute performance.	67
Tableau 10 : Temps de rétention, masses des ions moléculaires et paramètres de confirmation employés pour l'analyse du DDAC, du CHD et du BAPLA.....	67
Tableau 11 : Protocole de préparation pour l'évaluation de l'adsorption du DDAC, CHD et du BAPLA sur les vials d'analyse.	71
Tableau 12 : Points de prélèvements sur le site du CHU de Poitiers et origines des effluents recueillis lors des campagnes C1/C2/C3/C4/C5.	79
Tableau 13 : Résumé du protocole de prélèvements des échantillons pour les campagnes de 2016.....	81
Tableau 14 : Paramètres physico-chimiques des effluents du CHU de Poitiers (Campagnes C1; C2 et C3, d'après les données du CHU, Véolia).	84
Tableau 15 : Donnés de consommations du DDAC, du CHD et du BAPLA au niveau du CHU (Données obtenues dans le cadre du projet BIOTECH).	89
Tableau 16 : Comparaison des paramètres physico-chimiques et les concentrations en DDAC, CHD et BAPLA entre la matrice du CHU et la matrice ESJ.....	102
Tableau 17 : Quantités consommées et estimations des quantités rejetées de chlore au niveau du CHU de Poitiers, d'après l'étude CHU (projet BIOTECH).	104
Tableau 18 : Matrices utilisées lors de l'étude de l'adsorption des biocides sur les MES.....	106
Tableau 19 : Valeurs d'EC ₅₀ du DDAC, du CHD et du BAPLA dans l'EDR et l'ESJ.	107
Tableau 20 : Composition élémentaire et structures du BAPLA et de ses sous-produits de chloration identifiés (résultats obtenus en collaboration avec le LCM.	113
Tableau 21 : Conditions initiales et principaux résultats obtenus au cours des expériences présentées dans les paragraphes VII.3.1 à VII.3.5.	119

Tableau 22 : Quantités de biocides adsorbées lors de la confirmation des campagnes et équivalent en concentration.....	131
Tableau 23 : Temps de rétention, composition élémentaire et ions de fragmentations de l'ion moléculaire MH ⁺ obtenus par spectrométrie de masse (ESI+) au cours de l'identification des structures du BAPLA et de ses sous-produits identifiés après ozonation (Résultats obtenus en collaboration avec le LCM).	143
Tableau 24 : Temps de rétention, composition élémentaire et ions de fragmentations de l'ion moléculaire MH ⁺ obtenus par spectrométrie de masse (ESI+) au cours de l'identification des structures du CHD et de ses sous-produits identifiés après ozonation (Résultats obtenus en collaboration avec le LCM).	146
Tableau 25 : Temps de rétention, composition élémentaire et ions de fragmentations de l'ion moléculaire obtenus par spectrométrie de masse (ESI+) pour les sous-produits D 340 de composition élémentaire C ₂₂ H ₄₆ NO (Résultats obtenus en collaboration avec le LCM).	149
Tableau 26 : Temps de rétention, composition élémentaire et ions de fragmentations de l'ion moléculaire obtenus par spectrométrie de masse (ESI+) pour les sous-produits D 354 de composition élémentaire C ₂₂ H ₄₄ NO ₂ (Résultats obtenus en collaboration avec le LCM).	150
Tableau 27 : Temps de rétention, composition élémentaire et ions de fragmentations de l'ion moléculaire obtenus par spectrométrie de masse (ESI+) pour les sous-produits D 356 de composition élémentaire C ₂₂ H ₄₆ NO ₂ (Résultats obtenus en collaboration avec le LCM).	151
Tableau 28 : Temps de rétention, composition élémentaire et ions de fragmentations de l'ion moléculaire obtenus par spectrométrie de masse (ESI+) pour les sous-produits D 356 de composition élémentaire C ₂₂ H ₄₆ NO ₂ (Résultats obtenus en collaboration avec le LCM) (suite).	152
Tableau 29 : Temps de rétention, composition élémentaire et ions de fragmentations de l'ion moléculaire obtenus par spectrométrie de masse (ESI+) pour les sous-produits D 368 de composition élémentaire C ₂₂ H ₄₂ NO ₃ (Résultats obtenus en collaboration avec le LCM).	153
Tableau 30 : Temps de rétention, composition élémentaire et ions de fragmentations de l'ion moléculaire obtenus par spectrométrie de masse (ESI+) pour les sous-produits D 368 de composition élémentaire C ₂₂ H ₄₂ NO ₃ (Résultats obtenus en collaboration avec le LCM) (suite).	154
Tableau 31 : Temps de rétention, composition élémentaire et ions de fragmentations de l'ion moléculaire obtenus par spectrométrie de masse (ESI+) pour les sous-produits D 370 de composition élémentaire C ₂₂ H ₄₄ NO ₃ (Résultats obtenus en collaboration avec le LCM).	155
Tableau 32 : Concentrations des biocides dans les effluents du CHU et de la blanchisserie lors des expériences sur pilote laboratoire (Données IC2MP et SEREP-Technavox).	156
Tableau 33 : Caractéristiques des bâchées CHU et conditions de traitements paramétrés sur le pilote (Données : SEREP-Technavox et IC2MP).	161
Tableau 34 : Ecotoxicité vis-à-vis de <i>Vibrio fischeri</i> , <i>Daphnia magna</i> Strauss et <i>Pseudokirchnerella subcapitata</i> lors du traitement de l'effluent CHU. (Données Véolia). Dose d'ozone appliquée : 670 gO ₃ /m ³ - 770 gO ₃ /m ³	164
Tableau 35 : Caractéristiques des bâchées de la nouvelle blanchisserie (BLC) et conditions de traitements paramétrés sur le pilote (Données : SEREP-Technavox et IC2MP).	166

Tableau 36 : Ecotoxicité vis-à-vis de <i>Vibrio fischeri</i> , <i>Daphnia magna Strauss</i> et <i>Pseudokirchnella subcapitata</i> lors du traitement de l'effluent CHU. (Données Véolia). Dose d'ozone appliquée : 960 gO ₃ /m ³	171
Tableau 37 : Concentrations en DDAC, CHD et BAPLA obtenues lors des campagnes C1, C2 et C3.	178
Tableau 38 : Valeurs des paramètres physico-chimiques obtenues lors des campagnes C4 et C5 au niveau du CHU (Campagnes C4/C5) (Données CHU et Grand Poitiers).	179
Tableau 39 : Valeurs des paramètres physico-chimiques obtenus lors des campagnes C4 et C5 au niveau de la STEP (Données CHU et Grand Poitiers).	180
Tableau 40 : Concentrations et valeurs seuils de quantifications en DDAC, CHD et BAPLA obtenues lors des campagnes C4 et C5. Dilution 1/5 des échantillons.	181
Tableau 41 : Concentrations et valeurs seuils de quantifications en DDAC, CHD et BAPLA obtenues lors des campagnes C4 et C5. Dilution 1/2 des échantillons.	182

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Site d'action de quelques biocides utilisées dont les ammoniums quaternaires (QACs) et la chlorhexidine, modifié d'après Araújo et al. (2011).....	37
Figure 2 : Classement d'agents pathogènes selon leur ordre de résistance aux traitements par les désinfectants et antiseptiques, d'après McDonnell et Russell (1999).	38
Figure 3 : Proportion de chlore libre et de chlore lié dans une solution contenant 3 mg/L de DCCNa, d'après Clasen et Edmondson, (2006).....	43
Figure 4 : Mécanismes réactionnels entre l'acide hypochloreux sur i) les amines primaires et secondaires et sur ii) les amines tertiaires, tiré de Deborde et Von Gunten, (2008).....	51
Figure 5 : Mécanisme réactionnel entre le chlore et le phénol, tiré de Deborde et Von Gunten, (2008).	52
Figure 6 : Sous-produits de transformation de la chlorhexidine par <i>P.aereuginosa</i> . i : pyrogallol ; ii : pyrocatechol. .	54
Figure 7 : Produits de dégradation de la chlorhexidine par une souche de <i>Pseudomonas</i> tirée de Uyeda et al. (1996).	55
Figure 8 : Chemin de dégradation du DDAC par <i>Pseudomonas fluorescens</i> tiré de Nishihara <i>et al.</i> (2000). MDA : méthyldécylamine ; DMA : diméthylamine.....	56
Figure 9 : Réaction de décomposition de l'ozone dans l'eau, tiré de Beltràn (2003) et Doré (1989).....	58
Figure 10 : Réaction de l'ozone moléculaire sur les amines primaires, secondaires et tertiaires, tiré de Berger (1997).	60
Figure 11 : Mécanisme réactionnel d'une aniline avec l'ozone, tiré de Lee et Von Gunten, (2016).	61
Figure 12 : Réaction du radical hydroxyle sur les amines, tiré de Berger (1997).....	62
Figure 13 : Formation d'un imino composé à partir d'un radical carbone en présence de dioxygène.	63
Figure 14 : Réaction du radical hydroxyle sur les amines protonées.	63
Figure 15: Chromatogrammes et spectres de masses du DDAC, du CHD et du BAPLA obtenus par UHPLC-MS. ...	68
Figure 16 : Résultats des tests de la stabilité du DDAC, du CHD et du BAPLA sur cinq jours dans deux types de flaconnage (verre et polypropylène).	70
Figure 17 : Résultats des tests d'adsorption en matrice complexe (entrée de STEP) du DDAC, du CHD et du BAPLA sur les vials pour différentes dilutions.....	72
Figure 18 : Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers (source : siamp.fr et CHU).	76
Figure 19 : Cartographie du réseau d'assainissement du CHU en 2016 (C1/2/3) et en 2017 (C4/C5). (Source : CHU de Poitiers)	77
Figure 20 : Cartographie du cheminement des eaux usées du CHU et de la communauté d'agglomération de Poitiers vers la STEP, (Données : Véolia Eau, d'après Deborde <i>et al.</i> (2016)).	78
Figure 21 : Protocole des campagnes d'échantillonnage des trois biocides.....	80
Figure 22 : Flux massique obtenu pour le DDAC, le CHD et la BAPLA au niveau des différents points de prélèvements du réseau d'eaux usées (données Véolia Eau et IC2MP.....	82

Figure 23 : Concentrations en DDAC, CHD et BAPLA au niveau des points de prélèvements du CHU de Poitiers. .	85
Figure 24 : Bilan massique entre les points réseaux et le point sortie de site du CHU (Campagnes C1; C2 et C3).	87
Figure 25 : Comparaison des quantités consommées de CHD et des quantités retrouvées dans les rejets au niveau du CHU.	90
Figure 26 : Comparaison des quantités consommées de DDAC et des quantités retrouvées dans les rejets au niveau du CHU.	91
Figure 27 : Comparaison des quantités consommées de BAPLA et des quantités retrouvées dans les rejets au niveau du CHU.	92
Figure 28 : Débits mesurés sur les différents créneaux horaires des activités du CHU.	Erreur ! Signet non défini.
Figure 29 : Pourcentage d'inhibition de la luminescence de <i>Vibrio fischeri</i> observée au niveau de la STEP et du CHU pour une dilution au 1/10 de l'échantillon.....	95
Figure 30 : Concentrations en DDAC, CHD et BAPLA retrouvées dans les rejets lors d'une journée d'activité du CHU et à la STEP.....	96
Figure 31 : Flux massiques de DDAC, de CHD et de BAPLA au CHU et à la STEP selon différents créneaux horaires..	98
Figure 32 : Protocole employé pour l'évaluation de la stabilité des biocides.	103
Figure 33 : Protocole employé pour le suivi de la dégradation des biocides par le chlore.	104
Figure 34 : Protocole employé pour l'étude de l'adsorption des biocides sur les MES à partir de l'analyse en phase aqueuse.....	106
Figure 35 : Résultats de l'étude laboratoire de la stabilité des biocides en matrice complexe (ESJ). pH = 8 ; biocides en mélange ; [DDAC] ₀ = 2000 µg/L ; [CHD] ₀ = [BAPLA] ₀ = 100 µg/L.....	109
Figure 36 : Dégradation des biocides par le chlore dans l'EDR et dans l'ESJ en fonction du temps. pH = 8,0 ± 0,3 ; [chlore disponible] ₀ = 4 mg/L ; biocides en mélange ; [DDAC] ₀ = 2000 µg/L ; [CHD] ₀ = [BAPLA] ₀ = 100 µg/L.	111
Figure 37 : Evolution de la toxicité vis-à-vis de <i>Vibrio fischeri</i> au cours de la chloration du BAPLA. pH = 7,2 ; [BAPLA] ₀ = 5000 µg/L.	112
Figure 38 : Structure proposée par le LCM pour l'ion m/z 85 observé dans les spectres de collision des sous-produits.....	114
Figure 39 : Formation du composé I à partir de l'intermédiaire A.	114
Figure 40 : Chemin réactionnel de la formation des sous-produits du BAPLA par la chloration : Sources IC2MP et LCM.....	115
Figure 41 : Dégradation du BAPLA en fonction des doses et de la forme de chlore et évolution des sous-produits détectés. [BAPLA] ₀ = 5000 µg/L (Données LCM).	117
Figure 42 : Etude de l'impact de la biodégradabilité au cours des expériences d'adsorption dans la matrice ESJ. pH = 8,3 ± 0,2 ; biocides en mélange ; [DDAC] ₀ = 2000 µg/L ; [CHD] ₀ = [BAPLA] ₀ = 100 µg/L ; MES = 203,2 ± 31,6 mg/L.....	121
Figure 43 : Etude d'adsorption pour différentes concentrations initiales de biocides. pH = 7,5 ; [MES] = 144,7 ± 14,1 mg/L ; biocides en mélange.....	123
Figure 44 : Etude de l'adsorption des biocides à différents pH dans la matrice ESJ. MES = 149,2 ± 6,2 mg/L ; biocides en mélange ;	125

Figure 45 : Etude de l'impact de la teneur en MES lors des expériences d'adsorption dans la matrice ESJ. pH = 7,2 ± 0,2 ; biocides en mélange ; [DDAC] ₀ = 2291,0 µg/L ; [CHD] ₀ = 148,9 ; [BAPLA] ₀ = 260,0 µg/L.....	126
Figure 46 : Etude de l'impact de la nature des MES lors des expériences d'adsorption. Biocides en mélange ; [DDAC] ₀ = 2000 µg/L ;.....	128
Figure 47 : Teneurs en DDAC, CHD et BAPLA dans les MES obtenues lors des campagnes de prélèvements C4 et C5 (Données du LCM).	130
Figure 48 : Répartition des biocides entre la phase aqueuse et la phase particulaire à la sortie du CHU (résultats obtenus en collaboration avec le LCM).	131
Figure 49 : Montage utilisé pour l'étude de la dégradation des biocides par l'ozone en fonction du temps, d'après SEREP-Technavox et IC2MP.	135
Figure 50 : Pilote et son unité mobile sur le site du CHU (Photo : SEREP-Technavox).	136
Figure 51 : Schéma synoptique du pilote. (Données SEREP-Technavox)	137
Figure 52 : Résultats du suivi de la dégradation des biocides par ozonation et ozonation catalytique en réacteur fermé. Matrice EDR ; pH ≈ 8 ; biocides séparés ; [DDAC] = [CHD] = [BAPLA] = 5 mg/L.	139
Figure 53 : Evolution de l'écotoxicité vis-à-vis de <i>Vibrio fischeri</i> pendant l'élimination des biocides par ozonation et ozonation catalytique. Matrice EDR ; pH ≈ 8 ; réacteur batch ; biocides séparés ; [DDAC] = [CHD] = [BAPLA] = 5 mg/L. (Résultats obtenus sur échantillons préalablement dilués au 1/10 pour le DDAC, au 1/5 pour le CHD et non dilués pour le BAPLA).	140
Figure 54 : Evolution des sous-produits du BAPLA détectés dans les échantillons en fonction des doses d'ozone utilisées. Matrice EDR ; réacteurs batch ; [BAPLA] = 5 mg/L ; (Données LCM).	142
Figure 55 : Chemin réactionnel proposé pour la formation des sous-produits du BAPLA lors de l'ozonation : Données obtenues en collaboration avec LCM.	144
Figure 56 : Evolution des sous-produits du CHD détectés dans les échantillons en fonction des doses d'ozone utilisées. Matrice EDR ; réacteurs batch ; [CHD] = 5 mg/L ; (données LCM).	145
Figure 57 : Chemin réactionnel proposé pour la formation des sous-produits du CHD lors de l'ozonation : Données obtenues en collaboration avec LCM.	147
Figure 58 : Evolution des sous-produits du DDAC détectés dans les échantillons en fonction des doses d'ozone utilisées (Données LCM). Matrice EDR ; réacteurs batch ; [DDAC] = 5 mg/L ; Pour une meilleure lisibilité des résultats, les aires affichées dans cette figure pour le composé D 340 ont été divisées par 10 : Données LCM.	148
Figure 59 : Elimination des biocides en matrices CHU et nouvelle blanchisserie (BLC) en laboratoire. Dose d'ozone appliquée : 28,3 mgO ₃ /min.	157
Figure 60 : Résultats du plan d'expériences obtenus par ozonation catalytique de l'effluent du CHU sur le pilote sur site.	159
Figure 61 : Dégradation du DDAC pendant le traitement en semi-batch de l'effluent du CHU par ozonation seule. O ₃ ...	160
Figure 62 : Evolution de la DCO et du COT lors du traitement de l'effluent CHU avec le pilote terrain (Données SEREP-Technavox). Dose d'ozone appliquée : 672 gO ₃ /m ³ à 768 gO ₃ /m ³ (Données SEREP-Technavox).	162
Figure 63 : Evolution du DDAC et du CHD lors du traitement de l'effluent CHU avec le pilote terrain.	162

Figure 64 : Sous-produits d'oxydation du DDAC observés lors de l'étude pilote menée sur l'effluent du CHU (Données LCM).	163
Figure 65 : Ecotoxicité vis-à-vis de <i>Vibrio fischeri</i> dans la matrice CHU sur échantillons dilués au 1/5.....	164
Figure 66 : Dégradation du DDAC pendant le traitement en semi-batch de l'effluent de la BLC. OCS® : 17 gO ₃ /m ³ effluent/min ;	165
Figure 67 : Evolution de la DCO et du COT lors du traitement de l'effluent Blanchisserie avec le pilote terrain par ozonation et ozonation catalytique (Données SEREP-Technavox). Dose d'ozone appliquée : 768 gO ₃ /m ³ à 2100 gO ₃ /m ³ d'effluent.	167
Figure 68 : Evolution du DDAC lors du traitement de l'effluent Blanchisserie avec le pilote terrain par ozonation et ozonation catalytique. Dose d'ozone appliquée : A : 770 gO ₃ /m ³ à 960 gO ₃ /m ³ d'effluent (OCS® points 1-6 et O ₃ points 1-3) et 1344 gO ₃ /m ³ d'effluent (O ₃ points 4-6) B : 2100 gO ₃ /m ³ d'effluent (O ₃ adapté et OCS® adapté points 1-3) et 1730 gO ₃ /m ³ d'effluent (OCS® adapté 4-6).....	168
Figure 69 : Sous-produits d'oxydation du DDAC observés lors de l'étude pilote menée sur l'effluent de la blanchisserie en ozonation seule. (Données LCM)	169
Figure 70 : Sous-produits d'oxydation du DDAC observés lors de l'étude pilote menée sur l'effluent de la blanchisserie en ozonation catalytique. (Données LCM)	169
Figure 71 : Sous-produits d'oxydation du DDAC observés lors de l'étude pilote menée sur l'effluent de la blanchisserie, en ozonation adaptée et ozonation catalytique adaptée. (Données LCM)	170
Figure 72 : Ecotoxicité vis-à-vis de <i>Vibrio fischeri</i> dans la matrice BLC sur échantillons dilués au 1/5 pour les tests avec paramètres de traitement non-adaptés et adaptés. Doses d'ozone appliquées : 768 gO ₃ /m ³ à 2100 gO ₃ /m ³ d'effluent (OCS® points 1-6 et O ₃ points 1-3) ;	170

INTRODUCTION

Très tôt dans l'histoire de l'humanité, il a été nécessaire d'établir des moyens de lutte contre le développement de micro-organismes nuisibles, et à en prévenir leur action (préservation de la nourriture, prévention de certaines infections et maladies, embaumement des corps).

Dans ce contexte, la désinfection est devenue une pratique indispensable. Des méthodes physiques et chimiques ont été rapidement développées pour lutter contre des organismes pathogènes. Sur le plan physique, l'efficacité de la chaleur fut prouvée scientifiquement au début du XVIII^{ème} siècle. Mais dès le début du X^{ème} siècle, Avicenne, médecin et philosophe perse (980-1037) recommandait déjà de faire bouillir l'eau pour qu'elle devienne potable. De même, démuni face aux épisodes ravageurs de peste et autres maladies graves, très tôt les populations commencèrent à brûler corps et habits pour essayer d'endiguer la contamination (Blancou, 1995). Les désinfectants chimiques auraient quant à eux leurs premières utilisations dès le IV^{ème} siècle après J.-C. A cette époque et jusqu'à la fin du XVIII^{ème} siècle, les dérivés du mercure étaient, par exemple, utilisés dans les civilisations chinoises et arabes pour réduire les risques d'infections au niveau des plaies (Hugo, 1991). De même, des herbes, tout comme le vinaigre ont été longtemps utilisés pour soigner les blessures, en tant que remèdes contre la maladie ou lors de fumigation pour purifier les intérieurs. Les premiers produits désinfectants dont certaines formules dérivées sont encore utilisées aujourd'hui ont fait leur apparition au XVIII^{ème} siècle.

Les produits désinfectants sont aujourd'hui, pour la très grande majorité, des composés synthétiques classés dans les produits biocides. Ils sont utilisés dans de très nombreux domaines en relation avec les animaux (élevages, soins vétérinaires), dans le traitement ou l'épuration de l'eau, dans certains produits pharmaceutiques ou cosmétiques (crèmes) ou dans des produits ménagers (nettoyants pour les surfaces, lessives). Le domaine médical est aussi un consommateur avéré de ce type de composés (Fekadu *et al.*, 2015 ; Kümmerer, 2001 ; Murtough *et al.*, 2001 ; Tlucskiewicz *et al.*, 2010). En effet, chaque année, plusieurs milliers de tonnes de telles substances sont utilisées par les établissements de soins pour la désinfection des surfaces, de l'instrumentation médicale ou comme antiseptique (Murtough *et al.*, 2001 ; Quinn *et al.*, 2015 ; Verlicchi *et al.*, 2010). Ils permettent notamment la lutte contre les maladies nosocomiales ou la prévention de la transmission d'organismes infectieux. En raison des grandes quantités consommées, les établissements de soins constituent une source potentielle importante de rejets dans le système de collecte des eaux usées.

Dans le cas des biocides du groupe des désinfectants, aucune surveillance particulière n'est actuellement demandée concernant leurs rejets dans les milieux aquatiques. Pourtant, ces produits pourraient avoir un impact non négligeable sur l'homme et l'environnement du fait de leurs propriétés intrinsèques (Jesus *et al.*, 2013). Encore actifs au niveau des stations d'épuration, ils pourraient perturber le bon fonctionnement des traitements biologiques (Domka *et al.*, 1999 ; Seifert et Domka,

2005 ; Tezel *et al.*, 2006 ; Zhang *et al.*, 2015). De même, mal éliminés par les stations d'épuration, ils pourraient se retrouver dans les compartiments naturels (Di Nica *et al.*, 2017 ; Martinez-Caballo *et al.*, 2007a ; Müller-Pebody *et al.*, 2004) et induire des dérèglements dans les milieux naturels (Dynes *et al.*, 2006). Enfin, présents à certaines concentrations dans les eaux usées ou les eaux de surfaces, ces produits pourraient participer au développement de phénomènes d'antibio-résistances (Chapman, 2003 ; Buffet-Bataillon *et al.*, 2012 ; Russel 2003). L'estimation et la limitation des rejets de biocides est donc un enjeu de santé publique et de protection de l'environnement.

Alors que la volonté de préserver les milieux naturels dans un contexte de développement durable, et notamment le milieu aquatique, est réellement présente à travers le monde, en Europe, des plans de recherche de micropolluants sont régulièrement mis en place pour étudier et comprendre les devenir de tels composés afin de développer des solutions adaptées pour en limiter les rejets. Les travaux, présentés dans ce manuscrit, s'inscrivent dans le cadre du projet BIOTECH : Biocides, Occurrence, Traitement et Effluents Hospitaliers, financé par l'Agence Française pour la Biodiversité et l'Agence de l'Eau Loire Bretagne et faisant suite à un appel à projets « Innovation et changements de pratiques – Lutte contre les micropolluants des eaux urbaines » lancé en 2013, dans le cadre de plan de recherche de micropolluants au niveau français. Dans ce projet, la Communauté d'Agglomération de Grand Poitiers, les Laboratoires Anios (un des principaux fabricants mondiaux de biocides), le CHU de Poitiers ainsi que des partenaires privés du secteur du traitement des eaux (Véolia Eau et SEREP-Technavox) et des organismes de recherche (LCM et IC2MP) se sont associés pour évaluer les rejets de biocides et leur devenir dans les réseaux d'eaux usées, mais également pour proposer des solutions, allant de la prévention à la source au traitement, pour limiter ces rejets.

Dans ce contexte, le sujet exposé dans ces travaux de thèse s'est focalisé sur les rejets d'un Centre Hospitalier Universitaire (le CHU de Poitiers) et a porté plus spécifiquement sur trois substances biocides représentatives des activités de soins et utilisées dans tous les services de l'établissement : le digluconate de chlorhexidine (CHD), le chlorure de didécyltriméthylammonium (DDAC) et le bis(aminopropyl)laurylamine (BAPLA).

Dans ce manuscrit :

Une première partie fait l'état de l'art des connaissances sur les produits biocides de manière générale et leur utilisation en milieu hospitalier, avant de se focaliser sur les biocides étudiés durant ces travaux et leur réactivité dans les effluents et lors du traitement des eaux usées.

La deuxième partie porte sur la présence des biocides étudiés « dans le réseau d'eaux usées » du Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers. Les objectifs de cette partie étaient d'évaluer les quantités de biocides rejetées, leurs fluctuations sur une journée, et de les comparer aux quantités consommées, de

manière à préciser les sources d'émission mais également mieux appréhender la nécessité de contrôler ou réduire ces rejets. Cela a nécessité un développement analytique important ainsi que la vérification d'absence de biais dans les analyses (adsorption sur flaconnage, choix de la calibration, ...) Pour cela, 5 campagnes de prélèvements ont été réalisées sur l'ensemble du réseau de collecte des eaux usées du CHU de Poitiers.

La troisième partie présente les résultats obtenus lors de l'étude de la stabilité et du devenir des biocides dans les eaux résiduaires. Dans cette partie, les eaux résiduaires constituant une matrice complexe particulière, pouvant inclure des matières en suspension, des matières organiques dissoutes, voire un résiduel de chlore non négligeable (issu des protocoles de désinfection des locaux au niveau des rejets hospitaliers), une étude de la stabilité et du devenir des biocides par hydrolyse, chloration et adsorption en milieux complexes a été réalisée à l'échelle laboratoire. Dans le cas d'une dégradation significative des biocides, une identification des sous-produits rémanents susceptibles de se retrouver dans les effluents hospitaliers ou le réseau collectif a été effectuée et l'évolution de l'écotoxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri* a été évaluée.

La quatrième partie étudie la possibilité d'un traitement à la source utilisant l'ozone pour limiter les rejets de biocides. Dans cette partie, une étude laboratoire du traitement par ozonation et ozonation catalytique avec identification et suivi des produits de transformation et de l'écotoxicité est présentée. Puis les résultats obtenus lors de l'étude pilote sur le terrain sont exposés.

Enfin, une synthèse générale est réalisée. Les annexes et la liste des références sont placées en fin de ce manuscrit.

BIBLIOGRAPHIE

Cette première partie présente les caractéristiques des biocides puis, leurs usages en milieu hospitalier sont développés. Enfin, l'état des connaissances sur le devenir des biocides dans les effluents et leur réactivité vis-à-vis des oxydants (chlore et ozone) et des micro-organismes mis en œuvre lors du traitement des eaux est détaillé.

Chapitre I : Les biocides

III.1 Généralités

III.1.1 Définitions

L'étymologie de biocide signifie «action de tuer le vivant ». Si le sens du mot biocide s'arrête à ces mots, elle englobe un vaste champ d'actions ou d'objets permettant d'arriver à cette fin.

Une définition beaucoup plus précise est apportée par la réglementation européenne. Un biocide est alors défini comme étant une substance active qui exerce l'action biocide (qu'elle soit chimique ou biologique) ou un produit qui la contient dont l'utilisation a pour but : « de détruire, repousser, rendre inoffensifs les organismes nuisibles, à en prévenir l'action ou à les combattre de toute autre manière, par voie chimique ou biologique » (JOCE, 1998).

En Europe, tels qu'ils sont définis, les produits biocides englobent la famille des produits pesticides (JOUE, 2009a) au même titre que les produits phytopharmaceutiques (produits destinés à la protection et la conservation des plantes) (JOUE, 2009b). Ces différences, d'ordre législatif, sont bien souvent confondues dans l'opinion publique qui associe généralement les pesticides aux produits phytopharmaceutiques.

Les Etats-Unis définissent quant à eux ce type de produits en deux catégories : (i) les produits pesticides utilisés dans le but de : prévenir, détruire, repousser ou atténuer l'action d'un ravageur (insectes, organisme ou micro-organisme terrestre ou aquatique), (Sanders, 2003). Cette définition comprend alors aussi bien les produits phytopharmaceutiques que les produits biocides. (ii) les produits antimicrobiens utilisés dans le but de désinfecter, réduire ou limiter la croissance et le développement d'organismes microbiologiques ou pour la protection des processus industriels, des surfaces, des objets, l'eau, d'une détérioration par un organisme biologique (bactéries, virus, champignons, algues..), (Sanders, 2003). Cette définition prend alors en considération les produits utilisés en tant qu'additifs, désinfectants et substances au contact de denrées alimentaires (Kirkham et Cooke, 2002).

III.1.2 Différents types de produits biocides

De nombreuses substances peuvent remplir ce rôle qu'elles soient chimiques ou biologiques. D'un point de vue chimique, ce sont des métaux lourds (cuivre, mercure, argent), des molécules organiques (alcools, aldéhydes, esters), des complexes organométalliques (organo-étains), des composés minéraux (à base d'iode ou de chlore) ou encore des polymères qui sont utilisés en tant que biocides (Chapman, 2003 ; Voisin, 2012). D'un point de vue biologique, ces substances peuvent être inertes (dérivées de

certaines toxines de micro-organismes) ou autonomes (micro-organismes et certains parasitoïdes, prédateurs des nuisibles) (De Kouassy, 2001).

L'Agence de Protection Environnementale (EPA) des Etats-Unis se propose de répartir ces produits selon les organismes contre lesquels ils sont employés. Deux grandes catégories sont alors représentées : les produits de santé publique (ciblant les organismes nocifs pour les humains) et les produits qui ne sont pas de santé publique (d'un point de vue économique et/ou esthétique) (EPA, 2018).

Au niveau Européen, les produits biocides sont répartis selon les domaines dans lesquels ils sont employés. Ils sont classés en quatre groupes et 22 sous-catégories (types de produits - TP), détaillés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Liste des différents types de produits biocides d'après le règlement n°528/2012 du parlement et du conseil européen (JOUE, 2012).

Groupe de produits biocides	Numéro du type de produit	Type de produit
Désinfectants	TP1	Hygiène humaine
	TP2	Désinfectants et produits algicides non destinés à l'application directe sur des êtres humains ou des animaux
	TP3	Hygiène vétérinaire
	TP4	Surfaces en contact avec les denrées alimentaires et les aliments pour animaux
	TP5	Eau potable
Produits de protection	TP6	Protection des produits pendant le stockage
	TP7	Produits de protection pour les pellicules
	TP8	Produits de protection pour le bois
	TP9	Produits de protection des fibres, du cuir, du caoutchouc et des matériaux polymérisés
	TP10	Produits de protection des matériaux de construction
	TP11	Produits de protection des liquides utilisés dans les systèmes de refroidissement et de fabrication
	TP12	Produits anti-biofilm
	TP13	Produits de protection des fluides de travail ou de coupe
Produits de lutte contre les nuisibles	TP14	Rodenticides
	TP15	Avicides
	TP16	Molluscicides, vermicides et produits utilisés pour lutter contre les autres invertébrés
	TP17	Piscicides
	TP18	Insecticides, acaricides et produits utilisés pour lutter contre les autres arthropodes
	TP19	Répulsifs et appâts
	TP20	Lutte contre d'autres vertébrés
Autres produits biocides	TP21	Produits antisalissure
	TP22	Fluides utilisés pour l'embaumement et la taxidermie

Le premier groupe concerne les désinfectants (hygiène humaine et vétérinaire, nettoyant de surface, ...) et regroupe 5 types de produits différents. Le deuxième groupe cible les produits de protection (protection du bois, du cuir...) et comprend 8 types de produits. Le troisième groupe cible les produits de lutte contre les nuisibles (insecticides et autres) et fait référence à 7 types de produits différents. Enfin, le dernier groupe cible les produits non-compris dans les autres groupes et regroupe deux types de produits (JOUE, 2012).

Dans ce travail, une attention particulière sera portée au groupe des désinfectants.

La désinfection est définie par le résultat temporaire d'une opération qui vise à réduire ou éliminer des micro-organismes nuisibles sur des milieux contaminés (Mounier *et al.*, 2009) à l'aide de désinfectants, produits utilisés pour y parvenir. L'efficacité de la désinfection n'est valable que pour un nombre de micro-organismes présent au moment et à l'endroit de la désinfection et est limitée dans le temps. Dans la mesure où la présence de particules organiques (salissures) peut limiter de manière très importante l'efficacité des désinfectants, ils sont souvent utilisés après nettoyage pour assainir le milieu et réduire ou éliminer les microorganismes. Dans ce sens, des produits détergents sont d'abord utilisés pour nettoyer et les désinfectants ensuite pour désinfecter les zones considérées. Mais par gain de temps, et pour limiter le nombre de produits utilisés, de plus en plus de produits contiennent des substances aux propriétés détergentes et désinfectantes.

Les biocides associés à la désinfection sont essentiellement utilisés sur les surfaces, les objets et la peau. Les produits utilisés sur les surfaces inertes sont considérés comme des produits désinfectants. Appliqués sur des tissus vivants, ils seront appelés antiseptiques.

Contrairement aux antibiotiques, les désinfectants ciblent un large spectre de micro-organismes et n'ont pas vocations à être ingérés ou pénétrer dans l'organisme humain ou animal. Les désinfectants n'étant pas ou peu sélectifs, ils sont réservés à un usage non-spécifique (Allion, 2004 ; Maillard, 2002 ; McDonnell et Russell, 1999 ; Mounier *et al.*, 2009). Lors de leurs utilisations, la sélection des produits s'oriente principalement en fonction des critères législatifs (autorisation de mise sur le marché, etc...), du spectre d'activité (large et à action durable) et de critères spécifiques à certaines utilisations.

De nombreuses substances chimiques sont utilisées dans les produits désinfectants et leurs propriétés et mécanismes d'actions sont régulièrement détaillés dans la littérature, (Jeffrey, 1995 ; McDonnell et Russell, 1999 ; Thiveaud *et al.*, 2005; Billast *et al.*, 2000). Selon ces auteurs, les principales substances employées appartiennent aux familles des ammoniums quaternaires (DDAC), des biguanides (CHD), des aldéhydes, des composés amphotères ou halogénés (à base d'iode ou de chlore notamment), des alcools, des phénols, des matières oxydantes, des métaux et d'autres encore, comme des amines (BAPLA) et carbanilides.

III.1.3 Réglementation

III.1.3.1 Mondiale

En matière de réglementation, les produits biocides ne sont pas tous considérés de la même façon d'un pays à l'autre. Le plus souvent lorsqu'un pays ne possède pas de réglementation spécifique aux biocides, ces derniers sont associés à la réglementation des substances chimiques toxiques ou non (Nouvelle-Zélande, Inde). Généralement, dans ces cas-là, certains produits biocides sont sous la législation de ministères compétents en matière de santé ou encore d'agriculture (Australie, Japon) ou répartis selon l'utilisation sous le contrôle de plusieurs agences ou bureaux administratifs (Canada, Etats-Unis) (OCDE, 1999).

Toutefois, les pays membres de l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (OCDE) possèdent une réglementation qui encadre les biocides soit en tant que tels ou soit en tant que substances chimiques. Cette organisation a pour but d'améliorer à terme la coordination internationale sur la réglementation en matière de biocides (OCDE, 1999).

III.1.3.2 Européenne

La disparité des législations mondiales concernaient l'Europe il y a 20 ans. La directive 98/8/CE, signée le 16 février 1998, a eu pour objectif d'harmoniser la réglementation des produits biocides au sein des états de l'Union Européenne. Cette directive considère entre autre que ces produits, malgré leur utilité dans la lutte contre les organismes nuisibles, peuvent avoir un impact sur l'homme ou l'environnement. Pour limiter leurs effets, il a alors été décidé de restreindre la mise en place sur les marchés de telles substances aux seules substances réellement efficaces dans des conditions normales d'utilisation et le moins néfastes possibles (JOCE, 1998). Cette réglementation permet d'apporter une définition de manière législative des produits biocides, définition désormais reprise par de nombreux acteurs publics, privés, gouvernementaux, ou encore dans la littérature scientifique.

Ainsi seules les substances ou produits biocides remplissant les conditions définies par la directive sont autorisés à circuler dans l'espace de l'Union Européenne. Ces conditions reposent sur une estimation du bénéfice-risque du biocide par des commissions des états membres et d'instances européennes.

Depuis 2012, cette directive 98/8/CE a été abrogée par le règlement n°528/2012 dit Règlement Produits Biocides (RPB) (JOUE, 2012) concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides. Ce règlement permet de : « garantir un niveau élevé de protection de la santé humaine, animale et de l'environnement » en limitant sur le marché européen les seuls produits ou substances efficaces aux risques acceptables pour l'homme, les animaux et l'environnement tout en prévenant des effets secondaires à long terme. Cela concerne aussi bien les produits à usage professionnel que

domestique. Ce règlement permet de prendre en compte les substances autorisées par la directive 98/8/CE mais également les nouvelles substances développées depuis lors.

Le RPB concernant les 28 états membres de l'Union Européenne est reconnu d'intérêt pour l'Espace Economique Européen (EEE). Des pays comme la Suisse, l'Islande l'ont donc adopté, mais pas seulement. D'autres pays tendent à rapprocher leur réglementation en matière de produits biocides du RPB. Il est possible de citer par exemple le cas de la Corée du Sud qui devrait adopter une réglementation relativement proche de celle de l'UE et qui entrera en vigueur au 1er Janvier 2019 (Yang, 2017).

Concernant les désinfectants, certains sont utilisés de manière spécifique (désinfection de dispositifs médicaux) et portent alors le statut de dispositif médical, (Thiveaud *et al.*, 2005). De plus, les antiseptiques applicables pour la guérison de peau lésée ou les désinfectants applicables uniquement sur l'instrumentation médicale sont considérés comme médicaments et non comme biocides. Ils relèvent alors de la réglementation applicable à chacun (au niveau européen) : règlement n°528/2012 pour les désinfectants (groupe 1), directive 93/42/CE et 2007/47/CE pour les dispositifs médicaux (JOUE, 1993), directive 83/2001 pour les médicaments (JOUE, 2001). Dans ces conditions, lorsque les substances sont présentes dans ces produits destinés à être utilisés dans plusieurs de ces catégories elles doivent alors répondre au cahier des charges de chacune.

III.1.3.3 Française

Au niveau du droit Français, la réglementation européenne est retranscrite dans le livre V du code de l'environnement. Les produits biocides sont traités dans le titre II : Produits chimiques, biocides et substances à l'état nanoparticulaire. Mais elle ne s'applique pas aux substances ou aux produits comme les médicaments, les cosmétiques, les biocides relevant de dispositifs médicaux, les denrées alimentaires et aliments pour animaux relevant du code de la santé publique, des produits phytopharmaceutiques ou encore des substances radioactives dont l'activité ne peut être négligée pour des raisons de radioprotection, (JO, 2007). L'Autorisation de Mise en place de biocides sur le Marché (AMM) sur le sol français est délivrée par l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES). L'agence est aussi chargée de communiquer avec les instances européennes.

Un dispositif national entré en vigueur au 1^{er} Juillet 2015 appelé Certibiocide vise à assurer une utilisation et une application adaptée des produits biocides et une traçabilité des circuits de distributions des biocides destinés aux professionnels (JORF, 2013). Le Certibiocide est attribué à une personne (preneur de décision, acheteur, vendeur, employé) après formation mais ne peut être décerné à un établissement (Ministère du Développement Durable et de l'Énergie *et al.*, 2015). Il est à noter que cette

certification ne concerne pas tous les produits biocides mais uniquement ceux utilisés dans le cadre des TP 8, 14, 15, 18, 20.

Concernant les rejets, la législation en matière de biocide, qu'elle soit nationale ou mondiale, reconnaît la potentielle dangerosité de ces produits pour l'homme et l'environnement. Cette reconnaissance permet d'instaurer des contrôles sur ces produits. Cependant, à ce jour il existe très peu ou pas de réglementation concernant des normes de rejets dans les milieux naturels aqueux ou terrestre comme cela peut être le cas pour d'autres substances. Dans un contexte mondial de développement durable et de préservation des milieux naturels de plus en plus d'études sur ces produits sont toutefois réalisées pour évaluer les impacts de telles substances dans l'environnement.

III.2 Biocides étudiés

Le cadre de ce travail porte exclusivement sur les biocides utilisés dans le secteur des soins. La majorité des biocides employés dans ce domaine sont classés dans la catégorie des désinfectants du RPB. Trois substances biocides appartenant à cette catégorie et plus particulièrement aux TP 1, 2, 3 et 4 ont été sélectionnées. Leur utilisation en milieu hospitalier est reconnue dans la littérature. Il s'agit d'un biguanide cationique le digluconate de chlorhexidine (CHD), d'une amine tertiaire le bis(aminopropyl)laurylamine (BAPLA) et d'un ammonium quaternaire le chlorure de didecylmethylammonium (DDAC) (tableau 2).

Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques des substances ciblées, d'après l'ECHA et Chemspider*.

Nom	Chlorure de didecylmethylammonium (DDAC)	Digluconate de chlorhexidine (CHD)	Bis(aminopropyl)laurylamine (BAPLA)
n°CAS	7173-51-5	18472-51-0	2372-82-9
Formule	C ₂₂ H ₄₈ ClN	C ₃₄ H ₅₄ Cl ₂ N ₁₀ O ₁₄	C ₁₈ H ₄₁ N ₃
Masse Molaire	362,08 g/mol	897,76 g/mol	299,547 g/mol
Constante de Henry	< 8,4x10 ⁻¹² atm.m ³ .mol ⁻¹	< 1,14x10 ⁻²⁵ atm.m ³ .mol ⁻¹	6,9x10 ⁻⁸ atm.m ³ .mol ⁻¹ *
Log Pow	2,59 à 20°C, pH = 7	-1,81 à 20,7°C, pH = 5,3 -6,6	0,34 à 20 °C
Biodégradabilité dans l'eau	facilement biodégradable	facilement biodégradable	facilement biodégradable

III.2.1 Utilisation

La chlorhexidine seule est fortement alcaline et presque insoluble dans l'eau (Karpiński et Szkaradkiewicz, 2015). Elle est donc utilisée sous forme de sels de diacétate, de dihydrochlorate et de digluconate, qui sont quant à eux très solubles dans l'eau et présentent la même efficacité. La substance est enregistrée dans les TP 1, 2 et 3 du RPB. La chlorhexidine et ses sels font partie des biocides les plus utilisés en Europe d'après Gilbert et Moore (2005) et Jesus *et al.* (2013) et ce, depuis une cinquantaine d'années. La substance est utilisée dans les produits détergents-désinfectants et comme antiseptique (Zong et Kirsch, 2012).

Les produits utilisés en milieu hospitalier qui contiennent le bis(aminopropyl)laurylamine sont enregistrés dans les TP 2, 3 et 4. Mais la substance active est aussi enregistrée dans les TP 6, 8, 12, 13 et 14. La molécule appartient à la famille des amines tertiaires et plus particulièrement aux alkylamines. Principalement en solution, le BAPLA est employé dans les nettoyeurs pour les surfaces en milieu huileux ou gras (surfaces alimentaires) (Bodnaruk et Mertz, 2015) et dans différents produits d'entretien (Mondin *et al.*, 2014). Selon la fiche d'information de ce produit, il est utilisé comme désinfectant et détergent pour le milieu hospitalier ou comme agent bactéricide pour les nettoyeurs de tapis, les détergents de blanchisserie et les traitements des fibres textiles.

Le chlorure de didecyldimethylammonium est enregistré en tant que substance active dans les TP 1, 2, 3 et 4 pour le milieu médical mais également dans les TP 6, 8, 10, 11 et 12 pour d'autres utilisations. Comme la plupart des composés de la famille des ammoniums quaternaires, il possède des propriétés détergentes liées à ses deux longues chaînes carbonées, mais également des propriétés désinfectantes de par sa charge positive (Laopaiboon *et al.*, 2002). Il est aussi bien utilisé dans des produits à destination du milieu médical, que pour la protection du bois (Juergensen *et al.*, 2000) ou encore l'industrie alimentaire (Yoshimatsu et Hiyama, 2007). Il peut également se trouver dans certains assouplissants (Fernández *et al.*, 1996 ; Lim et Chung, 2014).

III.2.2 Propriétés physico-chimiques

Les structures et les propriétés physico-chimiques des molécules étudiées sont présentées dans le tableau 2. Leurs constantes de Henry inférieures à 10^{-7} atm.m³.mol⁻¹ indiquent une faible volatilité.

Selon les informations disponibles sur le site de l'ECHA (European Chemical Agency), ces composés pourraient s'adsorber sur les sols, les sédiments et les boues des stations d'épuration avec un faible potentiel de mobilité et de désorption. Dans la littérature, Mulder *et al.* (2018) et Kreuzinger *et al.* (2007) font état de cette adsorption pour les ammoniums quaternaires et plus spécifiquement le DDAC. De même, dans les boues de stations d'épuration Östman *et al.* (2017) ont retrouvé des quantités de l'ordre

de 11 µg/g (poids sec) pour le DDAC et de l'ordre de 8 µg/g (poids sec) de CHD et ont estimé que moins de 20 % des quantités des deux molécules retrouvées seraient dans la phase aqueuse pour ces deux molécules. Enfin, selon les données de l'ECHA, la chlorhexidine se retrouverait à part égale dans la phase aqueuse et la phase solide et selon Kümmerer (2001), le DDAC serait adsorbé sur la boue de station d'épuration à hauteur de 29,4 %.

Les trois molécules ne sont que très faiblement hydrolysables dans les conditions environnementales. Selon les essais menés pour l'enregistrement de ces molécules auprès de l'ECHA, elles ont un temps de demi-vie supérieur à un an à 50 °C à pH = 4 - 7 et 9 selon la méthode UE C7 (suivi de l'hydrolyse abiotique en fonction du pH) pour des concentrations de 2,7 - 3,9 mg/L pour le DDAC, 10 g/L pour le CHD et 300 mg/L pour le BAPLA. Les expériences réalisées par Zong et Kirsch (2012) sur la chlorhexidine montrent qu'à 90°C pour une concentration d'environ 50 mg/L, ce composé se dégraderait pour former principalement de la p-chloroaniline de manière indirecte à pH alcalin (= 8) et de manière directe et indirecte à pH acide (2 < pH < 6).

Ces composés possèderaient un faible potentiel de bioaccumulation au regard de leur coefficient de partage octanol/eau ($\log P_{ow} < 3,0$). Ils sont considérés comme facilement biodégradables. Les essais réalisés selon la méthode 301 D recommandée par l'OCDE (suivi de la consommation en oxygène en réacteurs fermés) pour le DDAC et le BAPLA ont montré qu'au bout de 28 jours respectivement 69 % et 79 % des concentrations initiales (4 mg/L et 1 mg/L) sont éliminées par des micro-organismes issus de rivières naturelles. La chlorhexidine a été testée par la méthode 301 A de l'OCDE (suivi du carbone organique dissous). Il en ressort qu'au bout de 10 jours, plus de 70 % de la concentration initiale (4,7 mg/L) est biodégradée par une flore bactérienne issue de station d'épuration.

III.2.3 Ecotoxicité

D'un point de vue écotoxicologique, ces trois molécules s'avèrent toxiques pour les organismes aquatiques comme indiqué sur les fiches de sécurité des produits enregistrées sur la base de données de l'ECHA. Le tableau 3 ci-dessous montre quelques valeurs tirées de la littérature pour les trois molécules. Concernant les tests réalisés sur les invertébrés, les poissons et les algues sur le court et le long terme, des valeurs de EC₅₀ ou LD₅₀ inférieures à 1 mg/L de DDAC ou de BAPLA sont observées. Les réponses induites par la chlorhexidine sont plus variables allant de moins de 2 mg/L pour la toxicité à court terme sur les invertébrés et jusqu'à plus de 20 mg/L sur certaines algues et poissons.

L'écotoxicité de ces trois molécules envers les micro-organismes de types boues activées de station d'épuration est plus faible. Les valeurs des EC₅₀ sont respectivement pour le DDAC, le BAPLA et le CHD de 5,95 mg/L, 25 mg/L et 42,2 mg/L.

Tableau 3 : Données écotoxicologiques non exhaustives du DDAC, de le CHD et du BAPLA.

Composés	Effet	Espèces	Objectifs	Durée	Résultats	Références
DDAC	court-terme Poissons	▪ <i>Danio rerio</i> ▪ Saumon coho	mortalité	96 H	LC ₅₀ = 0,49 mg/L	1
	court-terme Invertébrés	▪ <i>Daphnia magna</i>	mobilité	96 H	LC ₅₀ = 0,95 mg/L	2
		▪ <i>Hyalella azteca</i>	mortalité	48 H	EC ₅₀ = 0,057 mg/L	1
		▪ <i>Mysidopsis bahia</i> ▪ <i>Neomysis mercedis</i>		48 H	EC ₅₀ = 0,11 mg/L EC ₅₀ = 0,039 mg/L EC ₅₀ = 0,97 mg/L	2
	long-terme invertébrés	<i>Daphnia magna</i>	reproduction	21 j	EC ₅₀ = 0,031 mg/L	1
	CHD	cyanobactéries/algues	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	inhibition de la croissance	72 H	EC ₅₀ = 0,081 mg/L
micro-organismes		Boues activées	inhibition de la respiration	3 H	EC ₅₀ = 5,95 mg/L	1
BAPLA		court-terme Poissons	▪ <i>Danio rerio</i> ▪ <i>Brachydanio rerio</i>	mortalité	96 H	LC ₅₀ = 2,08 mg/L
	court-terme Invertébrés	<i>Daphnia magna</i>	mobilité	96 H	LC ₅₀ = 10,4 mg/L	3
		<i>Vibrio fisheri</i>	bioluminescence	48 H	EC ₅₀ = 0,04 mg/L	1
	Long-terme invertébrés	<i>Daphnia magna</i>	reproduction	15 min	EC ₅₀ = 1,694 mg/L	3
	Cyanobactéries algues	▪ <i>Desmodesmus subcapitus</i> ▪ <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	inhibition de la croissance	21 j	EC ₅₀ = 35,8 mg/L	1
micro-organismes	Boues activées	inhibition de la respiration	72 H	EC ₅₀ = 0,081 mg/L	1	
BAPLA	court-terme poissons	<i>Danio rerio</i>	mortalité	72 H	EC ₅₀ = 62 mg/L	3
	court-terme invertébrés	<i>Daphnia magna</i>	mobilité	3 H	EC ₅₀ = 25 mg/L	1
	Long-terme invertébrés	<i>Daphnia magna</i>	reproduction	96 H	LC ₅₀ = 0,431 mg/L	1
	cyanobactéries/algues	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	inhibition du taux de croissance	48 H	EC ₅₀ = 0,077 mg/L	
	micro-organismes	Boues activées	inhibition de la respiration	21 d	EC ₅₀ = 0,034 mg/L	
BAPLA	cyanobactéries/algues	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	inhibition du taux de croissance	72 H	EC ₅₀ = 0,015 mg/L	
	micro-organismes	Boues activées	inhibition de la respiration	30 min	EC ₅₀ = 42,2 mg/L	

Références : 1 : Base de données de l'ECHA ; 2 : Farrell *et al.*, (1998) ; 3 : Jesus *et al.*, (2013)

Avec LC₅₀ : Dose létale attendue sur 50 % d'une population et EC₅₀ : dose qui entraîne un effet sur 50 % d'une population

Néanmoins, les concentrations maximales pour lesquelles il n'y a pas d'effet (PNEC – Predicted No Effect Concentration) sont faibles pour les trois molécules (tableau 4): moins de 2 µg/L en eau douce, entre 250 µg/L et 1,3 mg/L sur les boues de stations d'épuration et moins de 5 mg/kg dans les sédiments d'eau douce. Ces valeurs sont en accord avec les propriétés intrinsèques de ces molécules et rendent compte ici de la non-sélectivité de telles molécules sur les micro-organismes.

Tableau 4 : Predicted No Effect Concentration (PNEC) du DDAC, du CHD et du BAPLA, d'après la base de données de l'ECHA.

	DDAC	CHD	BAPLA
eau douce	2 µg/L	2 µg/L	1 µg/L
eau marine	200 ng/L	200 ng/L	100 ng/L
boues de station d'épuration	595 µg/L	250 µg/L	1.33 mg/L
sédiments – eau douce	2,82 mg/kg sédiment dw*	433 µg/kg sédiment dw*	8,5 mg/kg sédiment dw*
sédiment – eau marine	-	43,3 µg/kg sédiment dw*	850 µg/kg sédiment dw*

*dw : poids-sec

III.2.4 Mode d'action

Le DDAC, le CHD et le BAPLA agissent principalement sur les membranes plasmiques des bactéries (McDonnell et Russell, 1999 ; Domka *et al.*, 1999). De manière générale, les composés cationiques sont reconnus comme étant des « agents membranaires ». Chargés positivement, ils s'adsorbent sur les membranes des cellules chargées négativement (Gilbert et Moore, 2005 ; Maillard, 2002). Selon Morente *et al.* (2013), il existe trois phases d'interactions entre les désinfectants cationiques et les cellules des micro-organismes (figure 1).

1. Interaction avec les composés extracellulaires.

Cette interaction décrit généralement une phase d'adsorption du biocide à la surface de l'enveloppe cellulaire et implique un changement de structure de cette dernière (CHD).

2. Interaction avec la membrane cytoplasmique.

Lors de cette interaction, les substances provoquent des perturbations de la structure de la membrane plasmique amenant à une fuite de composés intracellulaires (DDAC, CHD, BAPLA) ou perturbent la chaîne de production de l'adénosine triphosphate (ATP), molécule vitale à tout organisme.

3. Interaction avec le cytoplasme.

Certains agents membranaires réagissent avec les composants présents dans le cytoplasme. Ce n'est pas le cas ici des trois substances étudiées, mais d'autres substances peuvent en être capables.

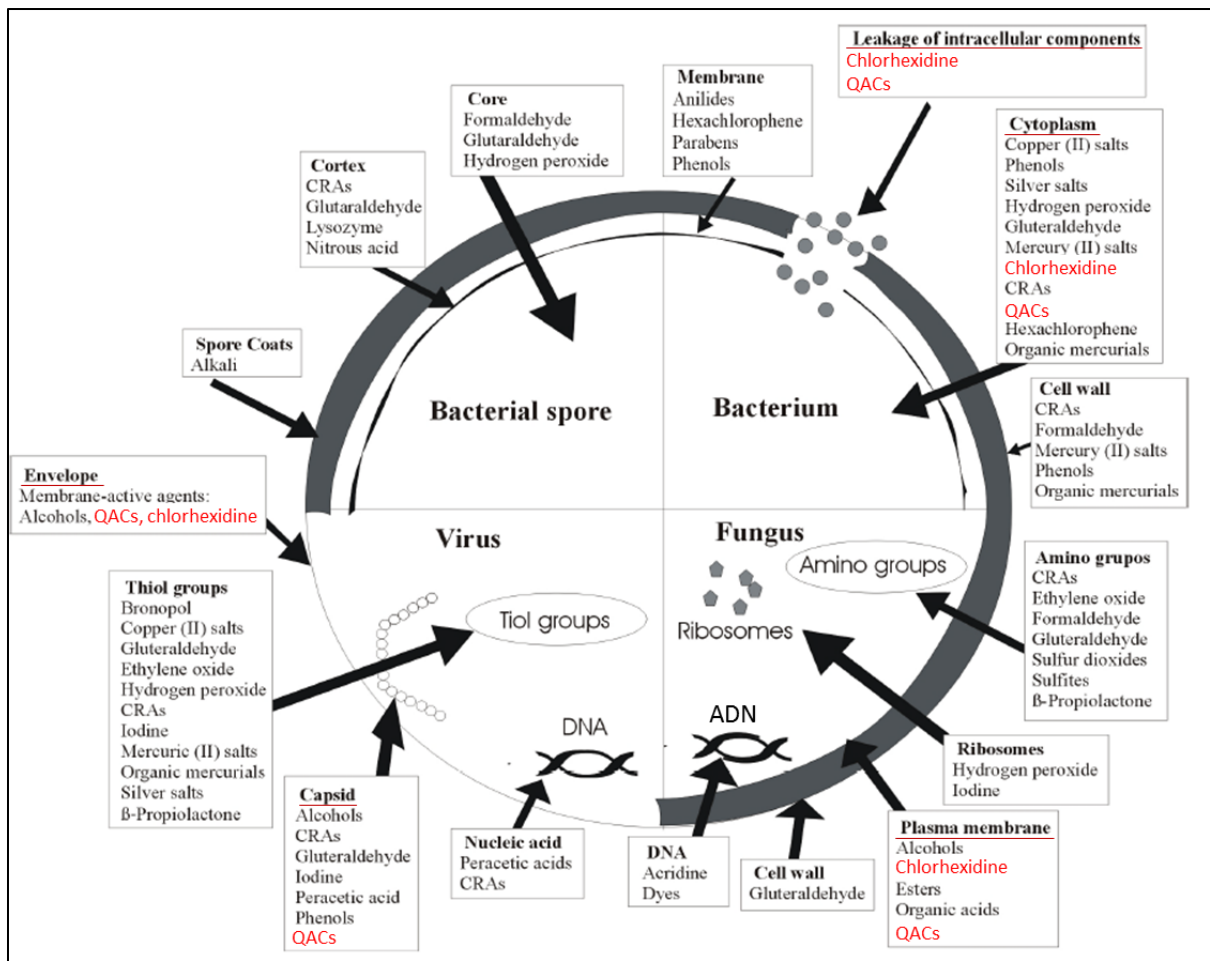


Figure 1 : Site d'action de quelques biocides utilisées dont les ammoniums quaternaires (QACs) et la chlorhexidine, modifié d'après Araújo et al. (2011).

Les phases d'interactions dépendent des désinfectants mais sont également fonction de la structure des bactéries. Ainsi, certaines d'entre-elles peuvent présenter une résistance plus ou moins grande à ces traitements grâce à une membrane supplémentaire (bactéries gram -), ou suite à la formation de spores. Un classement tel que présenté dans la figure 2 peut être établi et montre l'ordre de résistance des principaux types de bactéries contre lesquelles sont employés les désinfectants.

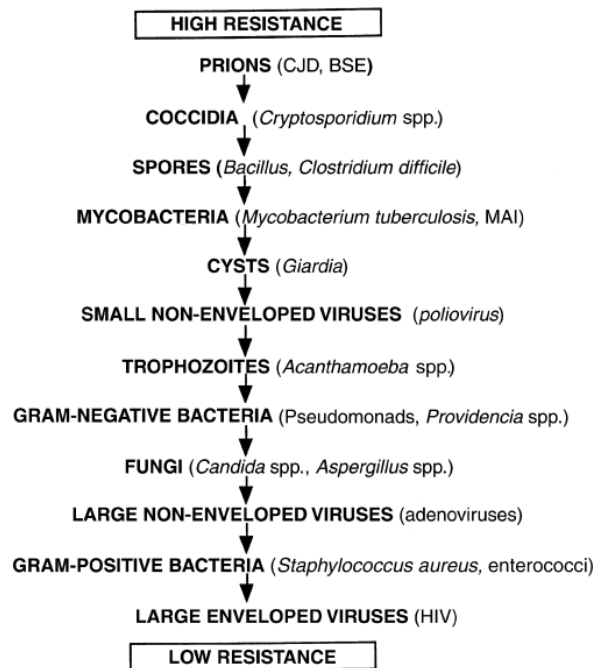


Figure 2 : Classement d'agents pathogènes selon leur ordre de résistance aux traitements par les désinfectants et antiseptiques, d'après McDonnell et Russell (1999).

Concernant les biocides étudiés, le DDAC et le CHD présentent une bonne efficacité envers les bactéries à gram positif, un peu moins envers les bactéries à gram-négatif et les virus et n'ont pas d'activité sporicide (McDonnell et Russell, 1999 ; Wessels et Ingmer, 2013). Le BAPLA quant à lui est efficace sur les bactéries à gram +, gram – et certains virus (Hentz M., 2013 ; Mondin *et al.*, 2014).

L'action biocide d'une substance est également dépendante de la concentration à laquelle elle est employée (McDonnell et Russell, 1999). A faible concentration, les biocides ont tendance à modifier l'intégrité de la paroi cellulaire, effet réversible après l'arrêt de l'utilisation du biocide (effet bactériostatique). A de plus fortes concentrations, ils exercent un effet irréversible conduisant à la mort de la cellule (effet bactéricide) (Denyer, 1990).

De même, d'autres paramètres comme la température, le pH, la dureté de l'eau et la présence de matières organiques sont à prendre en compte lors de l'utilisation de telles substances (Denyer et Stewart, 1998), car ils peuvent modifier l'efficacité des biocides en général. Ainsi, (i) l'augmentation de température peut rendre plus perméables les membranes des cellules ciblées et ainsi permettre aux substances de s'introduire plus facilement à l'intérieur des cellules. Concernant ce point, parmi les ammoniums quaternaires, le DDAC serait moins dépendant de la température que le chlorure de benzalkonium (ABDAC) par exemple (Wessels et Ingmer, 2013). (ii) L'activité de la chlorhexidine est dépendante du pH et est maximale pour des pH compris entre 5,5 et 7,0 (Karpiński et Szkaradkiewicz, 2015). (iii) L'efficacité des ammoniums quaternaires et de la chlorhexidine pourrait être altérée par des

salissures organiques tels que le sang ce qui n'est pas le cas du BAPLA (Mondin et al., 2014). (iv) La dureté de l'eau pourrait jouer sur l'efficacité des détergents ou des substances aux doubles propriétés détergentes et désinfectantes (Wessels et Ingmer, 2013).

Enfin, au sein d'une même famille de produits, il est possible d'observer des différences, comme par exemple pour les substances appartenant à la famille des ammoniums quaternaires pour lesquelles l'efficacité est dépendante de leurs propriétés physiques et notamment de leur phobicité. Ainsi, la longueur de leurs chaînes hydrophobes a un impact direct sur l'élimination des micro-organismes contre lesquels ils sont employés. Des ammoniums quaternaires à 16 carbones seront plus efficaces contre des bactéries à gram positif alors que des chaînes hydrophobes à 12 carbones seraient plus efficaces contre les levures (Wessels et Ingmer, 2013).

III.2.5 Présence dans l'environnement

Les trois substances étudiées dans ce travail ont une origine anthropique. Elles ne sont donc pas présentes naturellement dans les différents compartiments environnementaux. Elles sont rejetées dans le milieu naturel de manière ponctuelle *via* les stations d'épuration, les déversements accidentels ou encore lors de l'épandage des boues de stations d'épuration. Dans certains pays, les effluents hospitaliers ne sont pas raccordés à des stations d'épuration et peuvent donc constituer une source de rejets directe de ces molécules.

Les trois substances biocides ont été jusqu'à présent peu recherchées dans l'environnement. Si quelques informations sur le DDAC sont disponibles dans la littérature, il en existe très peu concernant le CHD malgré sa large utilisation en milieu hospitalier (Törneman et Hallgren, 2011 ; Gouvernement du Canada, 2017). A notre connaissance aucune étude ne s'est intéressée au BALPA que ce soit dans les eaux usées ou dans les compartiments naturels.

Les concentrations affichées dans le tableau 5 permettent de se rendre compte que ces molécules sont retrouvées en très faibles quantités lorsqu'elles sont recherchées. Les eaux usées présentent généralement des concentrations plus importantes. En sortie de station d'épuration, ces concentrations sont moindres.

Tableau 5 : Concentrations de DDAC et de CHD retrouvées dans les compartiments environnementaux.

	Eau de surface	Eau de mer	Eaux usées		Sortie STEP	Boues de STEP	Sédiment - eau douce	Référence
			Hôpital	Entrée de STEP				
Concentrations en µg/L						Concentration en µg/g		
DDAC	< 10 - 449						0,57 - 1,26	1
				68,4	0,378			2
				0,495 - 4523	< LQ - 22	3,2 - 32		3
		ND - 0,270						4
				6,1 - 41	< LQ - 0,85		< LOQ - 0,510	5-6
		0,015 - 0,15		0,64 - 210	0,3	0,024 - 0,85	< LOQ - 0,510	7
			102				8	
CHD				0,335 - 2,368	< LQ - 0,033	2,8 - 19		3
				-	-	-		9
				0,001 - 0,010	< LQ - 0,002	0,510 - 2,742		10
				85 - 1 940				11

Références : 1 : Juergensen *et al.* (2000) ; 2 : Clara *et al.* (2007) ; 3 : Östman *et al.* (2017) ; 4 : Bassarab *et al.* (2011) ; 5 : Martínez-Carballo *et al.* (2007a) ; 6 : Martínez-Carballo *et al.* (2007b) ; 7 : Kreuzinger *et al.* (2007) ; 8 : Verlicchi *et al.* (2015) ; 9 : Törneman et Hallgren (2011) ; 10 : Yavuz (2013) ; 11 : Matsushima et Sakurai (1984)

Chapitre II : Les désinfectants et le milieu hospitalier

En France, différents types d'établissements existent pour assurer le service de santé selon le code de la santé : Les établissements publics, les établissements privés à but lucratif et les établissements privés à but non-lucratif (Bine *et al.*, 2017). Le service public est assuré par les centres hospitaliers régionaux (CHR), universitaires (CHU), les hôpitaux d'instruction des armées (HIA), les centres hospitaliers spécialisés en santé mentale ou encore les centres hospitaliers qui assurent les soins de courtes et de longues durées ou des soins aux personnes âgées. Le service privé à but lucratif concerne essentiellement les cliniques privées et à but non-lucratif concerne plutôt les établissements gérés par des associations, fondations, etc... qui ont le statut d'entités morales de droit privé.

L'établissement hospitalier sur lequel le travail a été réalisé est un établissement public de type centre hospitalier universitaire et le chapitre suivant se focalise spécialement sur ce type d'établissement.

II.1 Utilisation des désinfectants en milieu hospitalier

II.1.1 Intérêt

En milieu hospitalier, tout patient est considéré comme porteur connu ou non d'un risque potentiel d'agents infectieux. De plus, les surfaces et l'instrumentation médicale peuvent également constituer un réservoir de transmission d'organismes (Thiveaud *et al.*, 2005). Des mesures doivent donc être prises pour protéger les autres personnes (patients, professionnels, visiteurs). De fait, afin de limiter la transmission des micro-organismes, le nettoyage et la désinfection dans le milieu hospitalier sont nécessaires et hautement recommandées (Rouillon *et al.*, 2006). Ces recommandations sont d'autant plus importantes que de nombreuses personnes présentant un système immunitaire affaibli peuvent séjourner au sein de ces établissements. Les produits utilisés dans ce cadre sont essentiels pour contrôler les risques infectieux et les maladies nosocomiales (Gilbert et Moore, 2005 ; Maillard, 2002 ; McDonnell et Russell, 1999).

II.1.2 Utilisation et consommation des biocides ciblés en milieu hospitalier

Parmi les ammoniums quaternaires, le DDAC est l'un des composés les plus utilisés, avec les alkyltriméthylammoniums et les benzylalkyldiméthylammoniums (Buffet-Bataillon *et al.*, 2012 ; Zhang *et al.*, 2015), en raison de ses propriétés détergentes et désinfectantes. En France, selon les Laboratoires Anios, la consommation de cette substance serait de 1 000 tonnes/an. En milieu hospitalier, ce composé

est utilisé comme détergent-désinfectant du linge et des surfaces mais également comme détergent-désinfectant de l'instrumentation médicale.

En ce qui concerne le digluconate de chlorhexidine, 160 tonnes/an seraient consommées (données transmises par le Laboratoire Anios). En médecine dentaire il est utilisé pour la désinfection du matériel bucco-dentaire (prothèses), dans les produits oraux (dentifrices, bains de bouches) et pour le traitement des patients (inflammations bactériennes, carries sévères, lutte contre la plaque dentaire). En médecine générale, il est utilisé (i) pour la désinfection de la peau (corps, mains) sous forme de savons, d'antiseptiques et de solutions nettoyantes, (ii) dans le cadre d'actes préopératoires et (iii) pour le nettoyage des surfaces et de l'instrumentation médicale. Dans les médicaments, il est retrouvé dans des produits pour la désinfection des blessures, des crèmes contre les brûlures et les solutions ophtalmiques (Dynes *et al.*, 2006 ; Yildirim *et al.*, 2015 ; Zong et Kirsch, 2012).

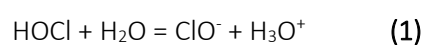
Quant au BAPLA, la consommation de cette molécule serait de l'ordre de 400 tonnes/an en France (Laboratoire Anios). Dans le domaine hospitalier, ce composé est essentiellement utilisé comme détergent et désinfectant des surfaces.

II.1.3 Le chlore

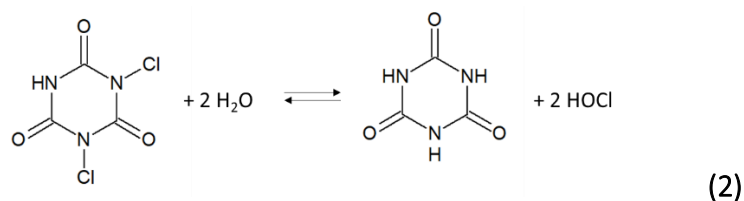
Avec un spectre d'activité très vaste envers les agents pathogènes et efficace contre la majorité des souches responsables de maladies nosocomiales, les produits à base de chlore sont également très largement utilisés au sein des établissements hospitaliers. Ils sont employés pour la désinfection des réseaux d'eau potable, le nettoyage domestique apparenté à l'hôtellerie ou encore dans certains cas pour inactiver les agents pathogènes d'effluents liquides particuliers (Rutala et Weber, 1997 ; Sharma *et al.*, 2016 ; Tsai et Lin, 1999 ; Direction générale de la Santé, 2016). De même, dans certains cas, certains produits à base de chlore sont utilisés en tant qu'antiseptiques jusqu'à des concentrations de 5° chlorométrique (Billast *et al.*, 2000).

A ce niveau, le chlore peut être employé sous différentes formes : sous forme de solution d'hypochlorite de sodium (NaOCl) ou sous forme de pastilles de dichloroisocyanurate de sodium (DCCNa). Dans les deux cas, les propriétés désinfectantes de ces produits sont principalement liées à l'acide hypochloreux et aux ions hypochlorites (désinfectants appartenant au groupe 1 du RPB n°528/2012/CE).

Dans les solutions d'eau de javel, les ions hypochlorites sont en équilibre avec l'acide hypochloreux :



Lors de l'utilisation du dichlorisocyanurate de sodium, c'est l'hydrolyse de ce composé qui, en solution, libère de l'acide hypochloreux :



La stœchiométrie indique que 4 mg/L de HOCl disponible nécessite 6,19 mg/L de DCCNa.

Les différences entre ces produits se situent dans la façon de rendre le chlore disponible. Si les solutions d'hypochlorite de sodium permettent de libérer l'intégralité du chlore libre immédiatement, ce n'est pas le cas du DCCNa. En effet, pour le DCCNa, le chlore est stabilisé par l'acide cyanurique. Ce dernier joue alors un rôle de « protection » du chlore potentiellement libérable, (Clasen et Edmondson, 2006 ; Hammond *et al.*, 1986 ; Heling *et al.*, 2001). Ainsi, aux pH rencontrés dans les eaux domestiques (7-8), environ 50 % de chlore est disponible immédiatement et est libéré, tandis que les autres 50 % resteront liés à l'acide cyanurique, comme illustré par la figure 3.

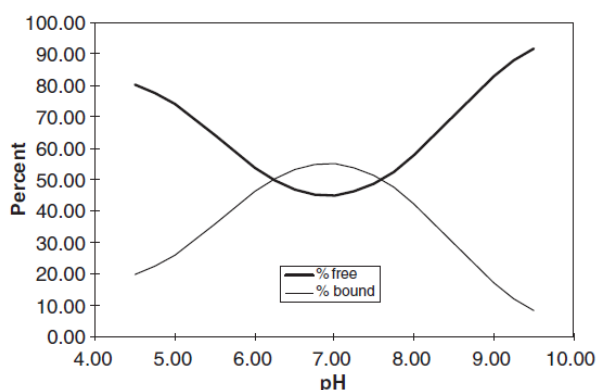


Figure 3 : Proportion de chlore libre et de chlore lié dans une solution contenant 3 mg/L de DCCNa, d'après Clasen et Edmondson, (2006).

Le chlore lié sera libéré progressivement au fur et à mesure de la consommation du chlore libre suite à des déplacements d'équilibres. Ce mécanisme permet de libérer le chlore libre seulement lorsque cela est nécessaire. Il permet également de maintenir plus longtemps une concentration de chlore résiduel dans le milieu et d'éviter une surconsommation en chlore suite à des pertes rapides du chlore dans le milieu (par évaporation, dégradation...)

L'utilisation du DCCNa, plus récente que celle de l'eau de javel, peut être considérée comme une alternative à l'eau de javel. En effet, également reconnu en tant que désinfectant de l'eau potable en cas d'urgence par l'OMS, sa commercialisation principalement sous forme solide est plus pratique qu'un liquide : le transport est moins coûteux, les conditions de stockage et d'utilisation des tablettes

de DCCNa sont plus simples et il présente un risque moindre lors de la manipulation (déversements accidentels et éclaboussures ou erreur de dosage).

De plus, contrairement à ce que pourrait laisser croire le nom de l'acide cyanurique, ce dernier ne présente pas d'effets toxiques sur la santé. Avant l'utilisation de DCCNa comme désinfectant de l'eau potable, de nombreuses études ont été réalisées pour mesurer ce potentiel toxique. Les travaux de Hammond *et al.* (1986) rapportent certains de ces tests toxicologiques sur l'acide cyanurique et indiquent qu'il ne présente pas de risque toxique que ce soit à court ou long terme ni d'effet cancérigène, reprotoxique et mutagène.

Enfin, l'efficacité bactéricide des protocoles de désinfection est significative. Le DCCNa aurait une meilleure efficacité que les solutions d'hypochlorite de sodium (Coates, 1985 ; Heling *et al.*, 2001 ; Mazzola *et al.*, 2003) puisque, entre-autre, son activité est moins impactée par la présence de matières en suspension (Clasen et Edmondson, 2006 ; Heling *et al.*, 2001).

II.2 Effluents hospitaliers

Après utilisation, une partie des substances biocides peut se retrouver dans les effluents hospitaliers avec de nombreux autres constituants.

La consommation d'eau des hôpitaux par lit et par jour est très souvent largement supérieure à la consommation d'eau par habitant et par jour. L'usage de l'eau représentatif du milieu hospitalier est très varié. Les effluents liquides peuvent être assimilés aux activités de soins mais aussi aux activités techniques (cuisines, garages, blanchisseries, ...) et domestiques (Brunel *et al.*, 1999 ; Boillot *et al.*, 2008 ; Carraro *et al.*, 2016). Ces différentes activités influent sur la composition des effluents hospitaliers et donc sur leurs paramètres physiques, chimiques et microbiologiques.

Le traitement des effluents liquides de ces différents domaines est réglementé et chaque type d'effluent liquide doit être évacué et/ou traité en fonction du risque qu'il représente. Il est généralement défini quatre types de risques des effluents liquides en milieu hospitalier: Le risque chimique, le risque biologique, le risque radioactif et le risque combiné. Certains de ces effluents liquides pourront être rejetés dans le réseau d'assainissement tandis que d'autres devront être considérés comme déchets particuliers et suivre les filières de traitements spécifiques (Direction Générale de la Santé, 2016).

Selon la réglementation française, les établissements hospitaliers doivent passer un accord avec les collectivités qui gèrent les réseaux d'assainissement sur l'agglomération afin d'établir des conditions de rejets (valeurs limites de paramètres tels que les Matières en Suspension – MES, Demande Biologique au bout de 5 jours – DBO₅, Demande Chimique en Oxygène – DCO) (JORF, 2017) et les éventuels prétraitements des effluents. Aucune obligation n'incombe cependant à l'exploitant des réseaux

d'assainissement et aux établissements hospitaliers d'accepter une telle convention. Lorsque le cas se présente, les établissements hospitaliers doivent pouvoir traiter leurs effluents avant rejet dans le milieu naturel (Baillet *et al.*, 2001).

II.2.1 Paramètres physico-chimiques

Les caractéristiques physico-chimiques des effluents hospitaliers sont généralement semblables à celles des effluents domestiques (tableau 6). La comparaison de ces caractéristiques dans plusieurs pays révèle que le pH est proche de la neutralité voire légèrement alcalin, les matières en suspension (MES) mesurées tout comme la DBO₅ ont tendance à être dans l'échelle basse des effluents domestiques, la DCO montre des valeurs plus variées selon les hôpitaux et les pays, et le rapport DBO₅/DCO indique une biodégradabilité moyenne au même titre que les effluents domestiques.

Tableau 6 : Paramètres physico-chimiques de quelques effluents hospitaliers dans le monde.

Pays	Nb de Lit	pH	MES mg/L	DCO mgO ₂ /L	DBO mgO ₂ /L	Rapport DBO ₅ /DCO	Références
Italie	300		227	480	240	0,5	1
Allemagne	560	6,8	97	709	325	0,5	2
Espagne	750	8,1	191,7	970,7			
Portugal	1120		305	622	278	0,4	
Indonésie		8,1	61,1	198,5	143,7	0,7	
Brésil		7,5		379,9	100	0,3	
		7		221,3	68	0,3	
Iran		7,42	231,25	628,1	242,25	0,4	
Chine		6/9	170	320	150	0,5	
Inde		7,5	126,6	662,9	129,3	0,2	
Italie		8	160	650	200	0,3	
Maroc		8		318	76,6	0,2	
Turquie	720	6,90	98	363	144	0,4	3
	324	7,53	147	355	162	0,5	
	362	7,57	160	359	160	0,4	
	100	7,58	85	199	102	0,5	
France	750	7,85	225	1223	603	0,5	4
France	Eau usées domestiques	5,50/8,50	227/1230	250/1174	150/500	0,6/0,4	5

Références : 1 : Verlicchi *et al.* (2012) ; 2 : Carraro *et al.* (2016) ; 3 : Altin *et al.* (2003) ; 4 : Evens *et al.* (2001) ; 5 : Hourlier *et al.* (2011)

II.2.2 Micropolluants

Des micropolluants spécifiques aux activités hospitalières (soins, recherches, diagnostics, nettoyage) sont également retrouvés dans ces effluents (Boillot *et al.*, 2008; Kümmerer, 2001; Santos *et al.*, 2013; Verlicchi *et al.*, 2010, 2012). D'après Verlicchi *et al.* (2010), les principales classes de ces produits sont

les antibiotiques, les analgésiques et anti-inflammatoires, les agents cytostatiques, les anesthésiques, les désinfectants et détergents, les éléments rares, les métaux lourds et les agents de contrastes.

Les hôpitaux sont souvent désignés pour être les principaux émetteurs de ces composés du fait de leur importante utilisation. Selon une étude de Verlicchi *et al.* (2012), en Italie, sur 73 produits pharmaceutiques (dont les antibiotiques, les analgésiques, les antidiabétiques, les régulateurs lipidiques et psychotropes) recherchés dans les effluents de station d'épuration (135 000 EH), 12 d'entre eux seraient émis à plus de 15 % par un établissement de soins (900 lits) (7 antibiotiques, 2 antihistaminiques, 1 analgésique 1 diurétique et 1 régulateur lipidique) et pour 4 antibiotiques, la contribution de cet hôpital atteignait 45 % et 67 %. De même, l'étude réalisée par Santos *et al.* (2013) au Portugal, a montré qu'un hôpital universitaire (1 456 lits) pouvait participer à hauteur de 25-50 % de la charge d'analgésiques, antihistaminiques, antibiotiques et antiagrégant plaquettaires dans un effluent de station d'épuration (213 000 EH).

II.2.3 Microbiologie des effluents

Compte tenu des substances chimiques retrouvées dans les effluents hospitaliers (désinfectants, antibiotiques), la flore bactérienne est plus réduite dans un effluent hospitalier que dans un effluent d'entrée de STEP (Emmanuel *et al.*, 2004). D'après les données reportées par Carraro *et al.* (2016), les coliformes totaux mesurés dans les effluents hospitaliers sont de l'ordre de 10^3 à 10^4 MPN/mL contre 10^8 à 10^{12} MPN/mL dans les eaux usées en entrée de STEP. Parmi ces coliformes, les coliformes fécaux sont également de ce même ordre de grandeur. En revanche, ces auteurs présentent des valeurs pour *Escherichia coli* équivalentes entre la STEP et l'effluent hospitalier.

Toutefois, les effluents hospitaliers constituent un risque particulier dû à la présence d'agents infectieux et pathogènes tels que les entérovirus, norovirus, adenovirus, rotavirus et le virus de l'hépatite A (Carraro *et al.*, 2016 ; Rodriguez-Mozaz *et al.*, 2015). Là encore les concentrations relevées par Carraro *et al.* (2016) sont généralement inférieures aux quantités retrouvées dans les effluents d'entrée de station d'épuration. Cependant, selon ces mêmes auteurs et Boillot *et al.* (2008), le fait que ces organismes soient au contact permanent avec de faibles doses d'antibiotiques et de désinfectants peut induire un développement de résistance à ces produits. Ce phénomène peut avoir d'importantes répercussions sur l'homme et l'environnement (traitements médicamenteux moins efficaces, sélection de la flore bactérienne environnementale). Même si des composés du même type sont retrouvés régulièrement dans les effluents d'origine domestique de station d'épuration, le développement de la biorésistance pourrait être plus conséquent dans les effluents hospitaliers (e.g. organismes déjà résistants (Kümmerer, 2004 ; Meyer et Cookson, 2010 ; Núñez *et al.*, 2004), peu de changements de

produits, concentrations plus élevées (Carraro *et al.*, 2016 ; Kümmerer, 2004). Selon Pauwels et Verstraete (2006), ce risque de développement serait 2 à 10 fois supérieure dans un effluent hospitalier.

II.2.4 Ecotoxicité

La prise de conscience de l'écotoxicité des effluents hospitaliers est assez récente (< 20 ans). Toutefois ce paramètre reste encore peu exploité lors de la caractérisation des effluents hospitaliers, les études portent davantage sur la mesure du potentiel écotoxique des substances ou mélange de substances.

Les valeurs affichées dans le tableau 7, tirées de Orias et Perrodin (2013), permettent d'estimer le potentiel écotoxique d'effluents hospitaliers issus de différents hôpitaux. Sur l'organisme *Daphnia magna*, la moitié des effluents présente un faible potentiel écotoxique (plus de 50 % de l'effluent sont nécessaires pour provoquer un effet chez 50% de la population étudiée), l'autre moitié présente des valeurs très élevées (< 5 % de l'effluents sont nécessaires pour obtenir la même réponse). Les différences d'écotoxicité sont également visibles sur *Vibrio fischeri* (Hôpital 2 ; 3 et 7 par rapport à 1 ; 6 ; 8 et 9) et parfois plusieurs prélèvements d'un même effluent peuvent générer des réponses différentes. Pour les rares mesures réalisées sur la chaîne trophique supérieure (*Pseudokirchnerella subcapitata*), les valeurs semblent un peu moins variables et le potentiel écotoxique reste élevé. D'après ces mêmes auteurs, les valeurs écotoxiques d'un effluent hospitalier restent plus importantes que celles d'une eau usée domestique.

Tableau 7 : Ecotoxicité des effluents de différents hôpitaux en % d'effluent qui ont un effet sur 50 % d'une population d'organismes. Valeurs tirées de Orias et Perrodin (2013).

Espèces Objectifs Exposition	<i>D.magna</i>		<i>V.fischeri</i>			<i>P.subcapitata</i>
	Mortalité/EC50		Bioluminescence/EC50			Inhibition de la croissance/ EC50
	24 H	48 H	5 min	15 min	30 min	72 H
Hôpital 1	48,7/90		7,9/18,6			
Hôpital 2	2,1/8,1		21/5,7			
Hôpital 3	46,3/90		25/53,5			
Hôpital 4	0,7	0,4				
Hôpital 5	50,3	33,2				
Hôpital 6	44		1,42	3,4		
Hôpital 7	1,6	1,4	40	23,8	21,7	1,8
Hôpital 8			15,6	6,8		
Hôpital 9	19	17		15	14	7
Hôpital 10						
Hôpital 11		20,8				

Les variabilités observées lors de ces tests peuvent s'expliquer par les différentes caractéristiques des établissements hospitaliers (spécialités, nombre de lits), les différentes chaînes trophiques étudiées (consommateurs/producteurs primaires, décomposeurs) et donc du type d'organisme employé. De

même, Orias et Perrodin (2013) soulignent que des effluents filtrés montrent une plus faible écotoxicité que les effluents non-filtrés mettant en cause le rôle de la phase particulaire dans l'écotoxicité des effluents hospitaliers. Enfin, les travaux de Boillot *et al.* (2008) mettent également en évidence une variabilité de l'écotoxicité des effluents en fonction des différentes périodes d'activités de l'établissement étudié. Les auteurs ont réalisé des prélèvements sur cinq créneaux horaires répartis sur 24h et un prélèvement moyen sur 24h. Les deux créneaux horaires les plus toxiques sont situés entre 9h/13h (début des activités de soins, nettoyage) et 13h/17h (arrêt des activités opératoires et nettoyage des chambres opératoires). Sur ces créneaux, moins de 20 % d'effluents sont nécessaires pour avoir un effet sur 20 % des populations étudiées (*D.magna*, *V.fischeri* et *P.subcapitata*) alors que le créneau le moins toxique se situe sur la plage 23h/5h (période nocturne). Lors de cette étude, le prélèvement moyen 24h se situe entre les deux périodes les plus écotoxiques.

Cette approche basée sur l'évaluation globale de la matrice montre des résultats variables mais permettent de prendre en compte la complexité de ces effluents. Une autre approche consiste à évaluer l'écotoxicité des molécules présentes dans ces effluents. Les résultats sur la toxicité aiguë basés sur cette approche tendent à incriminer les désinfectants et les détergents, ainsi que les agents de contrastes iodés, certains antiépileptiques, les anti-inflammatoires et quelques antibiotiques (Orias et Perrodin, 2013). Mais déterminer l'impact réel de chaque molécule sur l'écotoxicité globale en matrice reste difficile d'après Emmanuel *et al.* (2004).

Chapitre III : Réactivité des biocides dans les effluents et lors du traitement des eaux

Quatre manières de traiter les effluents hospitaliers sont rencontrées selon Pauwels et Verstraete (2006).

La première situation est le rejet direct des effluents dans le milieu naturel. Ce scénario est retrouvé dans les établissements hospitaliers des pays en voie de développement. Toutefois, un traitement primaire des effluents est généralement réalisé.

La deuxième solution est classiquement retrouvée dans les pays développés. Il s'agit de recueillir les effluents dans les stations d'épuration avant qu'ils ne soient rejetés dans le milieu naturel. Cela permet de limiter la pollution dans le milieu naturel. Cependant ce système présente quelques inconvénients lorsque certains micropolluants ne sont pas correctement éliminés à leur niveau.

La troisième solution requiert l'installation de stations de traitement des effluents au sein même de ces établissements. Cela permet de réduire convenablement la pollution mais en contrepartie cela demande aux établissements un personnel formé à la surveillance et au fonctionnement de la station, d'autant plus que cela requiert un aménagement spécifique des bâtiments pour les établissements déjà installés.

Enfin, la dernière solution et la plus efficace des quatre en terme de rapport qualité et coûts, consiste à réaliser des prétraitements spécifiques aux effluents hospitaliers au niveau des établissements pour les rendre plus adaptés aux stations d'épuration (par exemple en augmentant le potentiel biodégradable des effluents).

Dans le cadre de cette dernière optique, de nouveaux systèmes de prétraitement des effluents émergent. Parmi eux, il est possible de citer les processus basés sur l'ozonation et les Procédés d'Oxydation Avancés (POA) (présentés succinctement dans cette partie); les bioréacteurs membranaires, la filtration sur charbon actif, etc... Lorsque les substances ciblées sont présentes dans les rejets, il est alors important de connaître leur réactivité vis-à-vis des traitements utilisés.

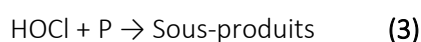
III.1 Réactivité dans les rejets hospitaliers

Utilisé de manière importante dans le milieu hospitalier, notamment pour la désinfection des locaux, des quantités de chlore non négligeables sont rejetées dans les effluents. Or, le chlore, bien qu'étant principalement employé pour la désinfection, peut réagir sur de nombreux composés minéraux (Br^- , I^- ,

NH₃) et organiques. Dans les rejets hospitaliers, en présence d'un résiduel de chlore, les biocides cibles pourraient aussi réagir avec cette substance.

III.1.1 Réactivité du chlore

L'utilisation des produits biocides à base de chlore conduit à la libération de l'acide hypochloreux, un acide faible, qui peut se dissocier en ions hypochlorites comme décrit dans le paragraphe II.1.3 et La relation (1). A pH compris entre 6 et 9, valeurs classiquement rencontrées dans les effluents hospitaliers (tableau 6), l'acide hypochloreux est généralement de la forme réactive majoritaire du chlore en solution (Abdallah, 2014 ; Deborde et Von Gunten, 2008 ; Sharma *et al.*, 2016) . La réaction élémentaire entre le chlore et un produit P peut donc s'écrire de la façon suivante :



L'acide hypochloreux possède des propriétés oxydantes avec un potentiel d'oxydation de 1,594 V à 25°C sous 1 atm. D'un point de vue réactionnel, de par son pouvoir oxydant et sa structure, caractérisée par la polarisation de la liaison Cl-O dans le sens Cl^{δ+}-O^{δ-}, trois types de réaction peuvent avoir lieu entre l'acide hypochloreux et les composés organiques (Doré, 1989) :

- Une oxydo-réduction des fonctions réductrices
- Une addition sur les liaisons insaturées
- Une substitution électrophile sur les sites nucléophiles

Ainsi, des sous-produits chlorés parfois toxiques vis-à-vis de l'homme et de l'environnement et plus stables que la molécule parente peuvent se former (Deborde et Von Gunten, 2008 ; Tsai et Lin, 1999; Abdallah, 2014).

Les mécanismes de réactions sont largement documentés dans les travaux de Deborde et Von Gunten, (2008). Un résumé des mécanismes réactionnels avec les amines aliphatiques et les noyaux aromatiques attendus sur les biocides étudiés sont présentés dans les sous-parties suivantes.

III.1.1.1 Sur les amines aliphatiques

La réactivité de l'acide hypochloreux sur les amines aliphatiques primaires, secondaires et tertiaire est très importante et aboutit à la formation rapide de chloramines organiques suite à une attaque électrophile initiale du chlore sur l'atome d'azote (Abia *et al.*, 1998). Selon ces auteurs, seules les espèces non protonées réagissent de manière significative avec l'acide hypochloreux.

Une diminution des constantes de réactions des amines primaires (avec une constante cinétique de l'ordre de 10⁸ M⁻¹.s⁻¹), aux amines secondaires (avec une constante cinétique de l'ordre de 10⁷ M⁻¹.s⁻¹) et pour les amines tertiaires (avec une constante cinétique de l'ordre de 10⁴ M⁻¹.s⁻¹) est observée.

Suivant le degré de substitution de l'amine, deux mécanismes réactionnels ont été proposés par Abia *et al.* (1998) : un concernant les amines primaires et secondaires et un autre pour les amines tertiaires (figure 4).

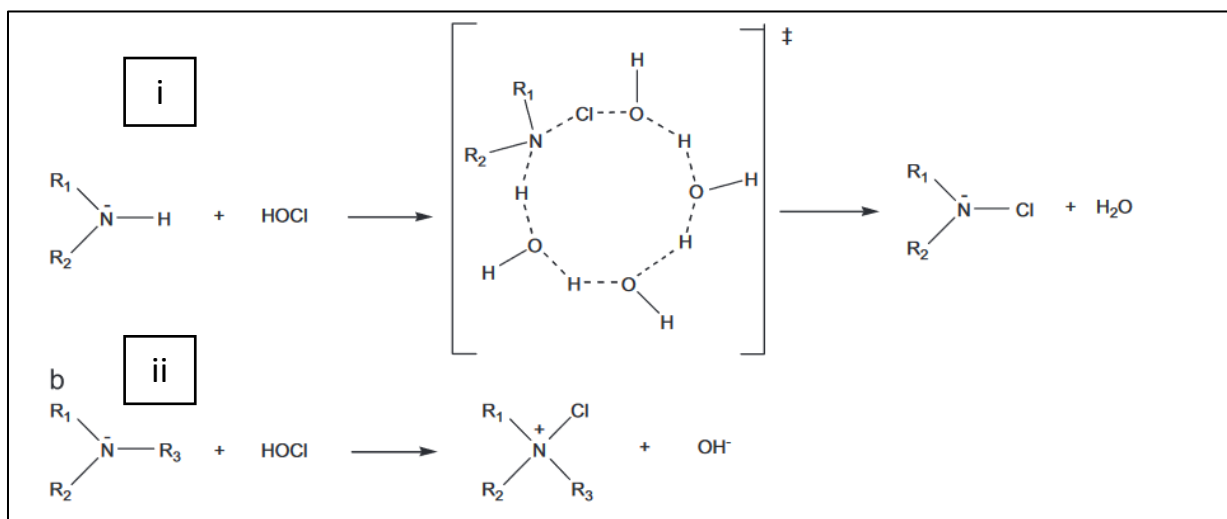


Figure 4 : Mécanismes réactionnels entre l'acide hypochloreux sur i) les amines primaires et secondaires et sur ii) les amines tertiaires, tiré de Deborde et Von Gunten, (2008).

Dans tous les cas, les chloramines ou l'ion chloraminum générés sont réactifs et peuvent à leur tour réagir avec les composés organiques ou inorganiques. Dans le cas des ions chloramoniums, une très forte réactivité avec de nombreuses substances présentes en solution a été décrite dans la littérature. (Prütz, 1998 ; Masuda *et al.*, 2001 ; Dodd *et al.*, 2005)

III.1.1.2 Sur les chaînes carbonées

La réaction du chlore avec les doubles liaisons, les aldéhydes ou les cétones est lente voire négligeable. Sur les composés insaturés, cette réaction se fait par addition de l'acide hypochloreux sur les doubles liaisons.

III.1.1.3 Sur les composés aromatiques

Les réactions les plus caractéristiques du chlore sur les composés aromatiques sont des réactions de substitution électrophiles, ainsi, l'action du chlore sur les composés phénoliques se fait principalement par attaque électrophile en position ortho et para du phénol (figure 5).

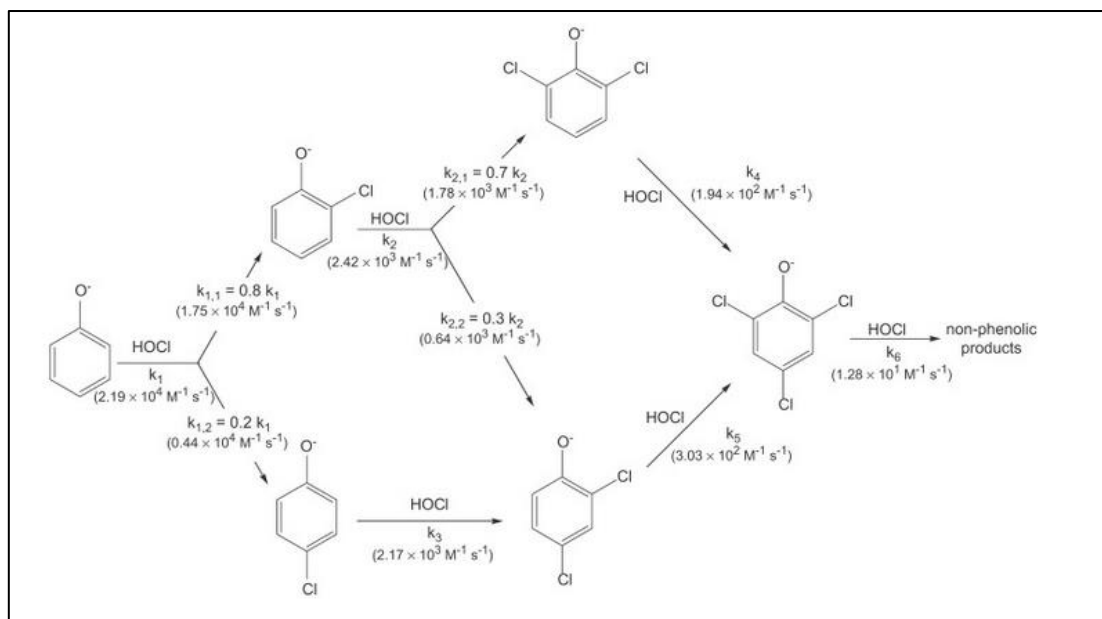


Figure 5 : Mécanisme réactionnel entre le chlore et le phénoles, tiré de Deborde et Von Gunten, (2008).

Lors de la réaction du chlore sur les composés aromatiques, la nature et la forme du substituant jouent sur la vitesse de réaction. Ainsi, les substituants électro-donneurs (groupements -OH,...) favorisent la réaction du chlore alors que les substituants électro-attracteurs (fonction -COOH, -Cl, ...) la défavorisent. Dans le cas des anilines incluant un noyau aromatique et une fonction amine, la réaction se fait principalement sur la fonction amine.

III.1.1.4 Réaction du chlore avec les biocides étudiés

Quelques hypothèses peuvent être avancées au sujet de la réaction du chlore sur les molécules étudiées si on considère les données de la littérature.

Ainsi, dans le cas du DDAC possédant un ammonium quaternaire protoné et quatre chaînes carbonées, une très faible réactivité est à prévoir avec le chlore.

Pour ce qui est du BAPLA, deux types de fonctions amines (deux amines primaires sur deux de ses chaînes carbonées et une amine tertiaire) susceptibles de réagir avec le chlore sont présentes dans la molécule. Compte tenu de l'ordre de la réactivité du chlore sur les amines, une réaction est attendue prioritairement sur les deux amines primaires avant l'amine tertiaire.

Enfin, en ce qui concerne la chlorhexidine, cette molécule symétrique, possède deux cycles aromatiques avec un chlore en position para d'une fonction amine, plusieurs fonctions amines secondaires et deux imines. La réactivité du chlore avec les fonctions imines est peu décrite dans la littérature. Toutefois compte tenu de la grande réactivité du chlore sur les fonctions amines et de la présence d'un Cl, électro-attracteur non favorable à l'attaque du chlore sur le noyau aromatique, la réaction est

principalement attendue au niveau des amines secondaires.

Dans la littérature, aucune donnée ne décrit à ce jour l'action du chlore sur le DDAC et le BAPLA. Toutefois, plusieurs études sur la réaction entre l'hypochlorite de sodium et la chlorhexidine ont été réalisées (Basrani *et al.*, 2007 ; Cintra *et al.*, 2014 ; Orhan *et al.*, 2016 ; Thomas et Sem, 2010). Ainsi, à certaines concentrations (à partir de 20 mg/L de CHD pour 1,9 mg/L d'hypochlorite de sodium dans de l'eau purifiée selon Basrani *et al.*, 2007), il a été montré que suite au contact de la chlorhexidine et de l'hypochlorite de sodium, un précipité brun à orangé apparaît dans les récipients. Concernant la formation des sous-produits, la formation de la p-chloroaniline serait observée en spectroscopie infrarouge et par spectrométrie de masse par Basrani *et al.* (2007). Suite à la réaction entre les deux molécules et selon Cintra *et al.*, (2014), son apparition serait corrélée avec la quantité de chlore présente. Pour Thomas et Sem (2010) et Orhan *et al.* (2016), la formation de ce composé n'est pas visible aussi bien en chromatographie sur plaques qu'en RMN.

III.2 Réactivité lors du traitement des eaux usées

III.2.1 Biodégradation au niveau des stations d'épuration

L'activité microbienne est responsable de la transformation naturelle des molécules chimiques organiques et inorganiques dans l'environnement. De même, cette activité appelée biodégradation est la base de l'un des processus majeur de dépollution des eaux dans les stations d'épuration.

Deux types de biodégradation peuvent être distingués. Le premier type est la biodégradation primaire, pendant laquelle l'action biologique cause suffisamment d'altérations dans la structure chimique de la molécule pour que cette dernière perde ses propriétés spécifiques. Le deuxième type est la biodégradation ultime, elle correspond à la minéralisation de la molécule qui finit transformée en CO₂, CH₄, sels minéraux et permet, *via* l'assimilation de ces composants, la synthèse de matériel génétique et à terme la production de biomasse (Brycki *et al.*, 2014 ; Scott et Jones, 2000). Dans un environnement tel que les bassins d'aération des stations d'épuration, de nombreux micro-organismes sont présents et forment des consortiums. Dans ces consortiums, la dégradation d'un produit se fait au bénéfice d'un seul micro-organisme (commensalisme) ou au bénéfice de plusieurs micro-organismes (synergisme) (Brycki *et al.*, 2014). Ce synergisme peut amener à la biodégradation ultime de la substance organique.

Les micro-organismes métabolisent les substances présentes dans leur environnement qui constituent une réserve d'énergie et de nutriments. Les différentes classes de substances chimiques entraînent différents comportement des micro-organismes mais la plupart de ces molécules peuvent être dégradées (Ying, 2006).

Les structures des molécules étudiées dans ce travail constituent une source de carbone et d'azote pour les micro-organismes qui les dégradent. Les amines peuvent être dégradées grâce à une oxydation. De même, des hydroxylations des chaînes carbonées permettraient aux micro-organismes de cliver les liaisons C-N du BAPLA et du DDAC. Les cycles aromatiques chlorés de la chlorhexidine seraient également dégradables par déhalogénéation des cycles (Alexander, 1981).

III.2.1.1 Mécanisme de biodégradation du CHD

La chlorhexidine représente une source d'azote pour les micro-organismes (Kido *et al.*, 1988). Sakagami *et al.* (1986) ont pu isoler dans les boues de stations d'épuration des souches de *Pseudomonas aeruginosa* capables de dégrader la chlorhexidine. Selon le mécanisme proposé par ces auteurs, la dégradation de la chlorhexidine mène aux produits finaux suivants : le pyrocatechol pour les organismes acclimatés à la substance biocide, le pyrogallol si les souches ne sont pas acclimatées à la molécule (figure 6).

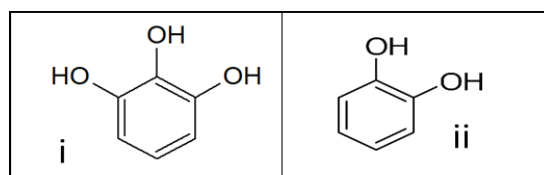


Figure 6 : Sous-produits de transformation de la chlorhexidine par *P.aeruginosa*. i : pyrogallol ; ii : pyrocatechol.

La dégradation de la chlorhexidine par une souche résistante d'*Acromobacter xyloxiidans*, souche bactérienne retrouvée dans le milieu hospitalier, a également été étudiée. Les sous-produits qui en résultent seraient le p-chlorophenol et le pyrogallol alors que seul ce dernier composé a été retrouvé lors de la dégradation de la molécule chez une souche non résistante (Ogase *et al.*, 1992).

Uyeda *et al.* (1996) proposent un chemin réactionnel plus détaillé de la dégradation primaire de la chlorhexidine par une souche de *Pseudomonas aeruginosa*. Selon cet auteur, deux chemins possibles mènent à différents produits de transformation (figure 7). Tanaka *et al.* (2005, 2006) précisent dans leurs travaux que la première voie (voie directe), entraîne la formation de produits issus de la dégradation du cycle aromatique de la chlorhexidine alors que la deuxième voie (voie modifiée) entraîne la fixation de pyruvate sur les amines primaires de la molécule. De plus, dans la dégradation aromatique ces auteurs retrouveraient également la p-chloroaniline avec le produit CHDP-6 identifiée par Sakagami *et al.* (1986).

Uyeda *et al.* (1996) ont également étudié la dégradation de la chlorhexidine à partir d'isolats cliniques, parmi lesquels se trouvent *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas cepacia*, *Alcaligenes faecalis* et *Alcaligenes xyloxiidans*, *Serratia marcescens*. Selon leurs travaux, *Serratia marcescens* pourrait dégrader la chlorhexidine de la même manière que la voie modifiée de *Pseudomonas aeruginosa*.

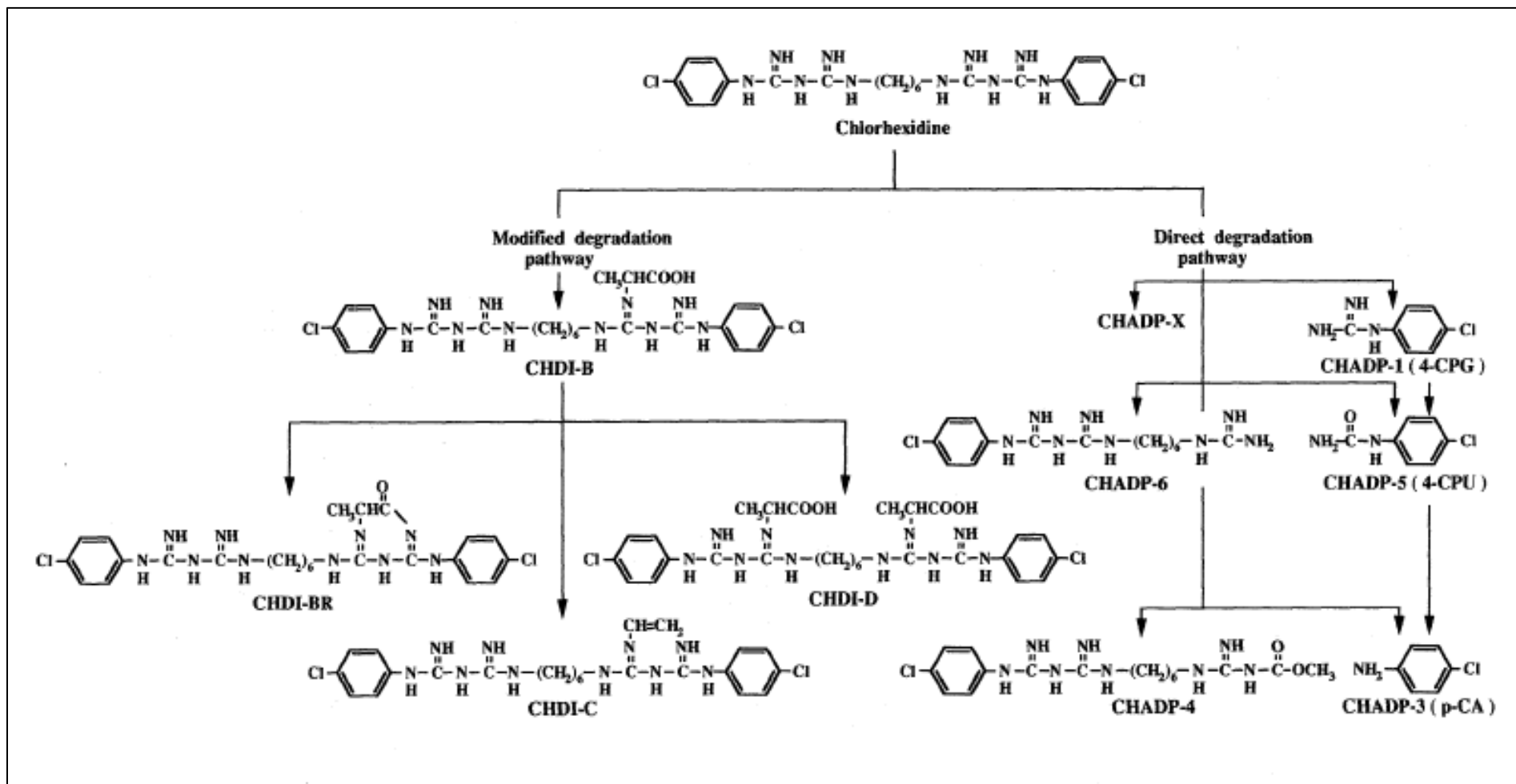


Figure 7 : Produits de dégradation de la chlorhexidine par une souche de *Pseudomonas* tirée de Uyeda et al. (1996).

III.2.1.2 Mécanisme de biodégradation du DDAC

Selon la littérature, la biodégradation des ammoniums quaternaires n'est possible qu'en milieu aérobie. Pour cette biodégradation, les micro-organismes se serviraient de l'oxygénase, une enzyme oxydante (Ying, 2006). Lors de la dégradation aérobie des ammoniums quaternaires trois mécanismes différents pourraient avoir lieu selon Brycki *et al.* (2014) :

- Mécanisme 1 : Hydroxylation de la chaîne alkyle au carbone terminal suivi d'une oxydation de l'alcool en aldéhyde puis en acide carboxylique.
- Mécanisme 2 : Hydroxylation en alpha de l'azote central sur la chaîne alkyle du composé suivi d'une scission de la liaison C-N au niveau de la chaîne alkyle hydroxylée suivi d'une oxydation de l'alcool.
- Mécanisme 3 : Hydroxylation d'un carbone méthylé suivi par une déméthylation de la fonction.

Selon ces mêmes auteurs, l'hydroxylation des chaînes alkyles des ammoniums quaternaires est un processus essentiel. Mais les structures des différents composés peuvent faire varier la cinétique de dégradation. Ainsi, plus le nombre de groupes méthyles sur l'azote central sera important, plus la cinétique sera lente : du plus biodégradable au moins biodégradable $R_4N^+ > R_3MeN^+ > R_2Me_2N^+ > RMe_3N^+ > Me_4N^+$ (Brycki *et al.*, 2014 ; Garcia *et al.*, 2001 ; Ying, 2006). Des bactéries gram positif et négatif sont capables de dégrader les ammoniums quaternaires. Dans les deux cas, les micro-organismes se servent de ces substances comme source de carbone (Van Ginkel *et al.*, 2003).

Nishihara *et al.* (2000) ont étudié la dégradation du DDAC par des souches de *Pseudomonas fluorescens* isolées à partir des boues d'une station d'épuration. Au cours de ce travail, l'une des quatre souches qui a pu s'acclimater à la molécule a été en mesure de dégrader le DDAC. Van Ginkel *et al.* (2003) aboutissent aux mêmes conclusions sur une souche bactérienne isolée des boues de stations d'épuration. Selon ces auteurs, le mécanisme 2 décrit précédemment serait mis en jeu pour cette molécule (figure 8). Une hydroxylation successive des deux chaînes hydrophobes débiterait puis elles seraient oxydées en décanal ou en acide décanoïque. Ces deux produits et la diméthylamine formés seraient enfin utilisés pour la biodégradation ultime de la molécule.

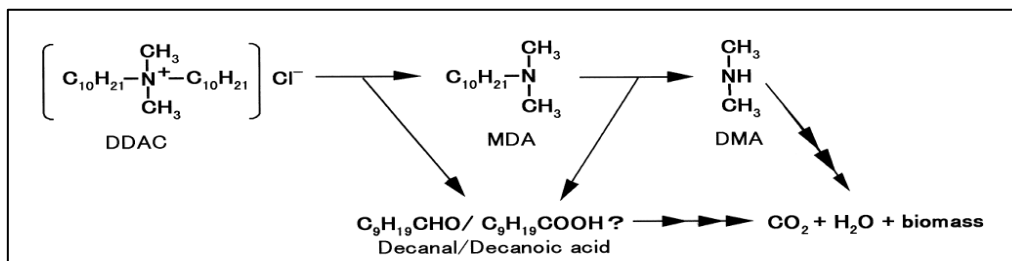


Figure 8 : Chemin de dégradation du DDAC par *Pseudomonas fluorescens* tiré de Nishihara *et al.* (2000). MDA : méthyldécylamine ; DMA : diméthylamine.

Van Ginkel *et al.* (2003) ont réalisé des tests sur des ammoniums quaternaires aux longueurs de chaînes alkyles différentes et en concluent que la longueur de ces dernières aurait une influence sur la capacité de biodégradation du fait de leur tendance à s'adsorber fortement. Ainsi, plus la chaîne est longue, plus la molécule présente un potentiel d'adsorption fort et moins elle serait disponible pour les micro-organismes responsables de la biodégradation.

III.2.1.3 Mécanisme de biodégradation du BAPLA

Peu d'études portant sur la biodégradation du BAPLA ont été réalisées à ce jour. Toutefois, dans leurs travaux, Van Ginkel *et al.* (2003) élargissent leurs conclusions sur la dégradation des ammoniums quaternaires aux alkylamines. Le BAPLA faisant partie de cette classe de molécules, la biodégradation de ce composé par les micro-organismes pourrait se faire grâce à une hydroxylation de la chaîne alkyle. La molécule représenterait alors une source de carbone pour ces micro-organismes.

III.2.2 Réactivité des biocides au cours des traitements par oxydation

L'oxydation des substances chimiques peut être également utilisée pour dépolluer des effluents. Dans ce cas, soit une élimination totale des composés est visée et l'oxydation des molécules se fera jusqu'à leur minéralisation (plus rare), soit un prétraitement est visé et l'oxydation des composés sera partielle pour les rendre biodégradables et poursuivre le traitement en station d'épuration (Ikehata et El-Din, 2004). L'installation d'un prétraitement, en plus d'un traitement des effluents en stations d'épuration, permet d'offrir un maximum de sécurité quant à l'élimination des polluants mais aussi permettre d'éliminer certaines molécules réfractaires aux traitements biologiques rencontrés dans les stations d'épuration (Comninellis *et al.*, 2008; Pauwels and Verstraete, 2006).

Plusieurs oxydants peuvent être utilisés en traitement des eaux pour élimination des composés organiques : le permanganate, le chlore, le peroxyde d'hydrogène, l'ozone. L'ozone est l'un des oxydants au potentiel le plus élevé (tableau 8).

Tableau 8 : Potentiel Red/Ox de quelques oxydants, à T = 25 °C sous 1 atm (Doré, 1989 et Zaviska *et al.*, 2009*).

Couples Oxydo-Réducteur	Potentiel Red/Ox E° en V
F ₂ /F ⁻	2,87
HO°/H ₂ O	2,81*
O ₃ /O ₂	2,07
MnO ₄ ⁻ /MnO ₂	1,68
HOCl/Cl ⁻	1,49
Cl ₂ /Cl ⁻	1,36
Br ₂ /Br ⁻	1,087

Peu stable dans l'eau, l'ozone se dégrade et mène à la formation de plusieurs radicaux dont les radicaux hydroxyle, espèces oxydantes les plus réactives dans l'eau (Von Gunten, 2003). Le mécanisme de décomposition de l'ozone dans l'eau en milieu alcalin est le suivant (figure 9):

Réactions	Constantes cinétiques
Initiation	
$O_3 + OH^- \xrightarrow{k_{i1}} HO_2 \bullet + O_2^- \bullet^a$	$70 M^{-1}sec^{-1}$
Propagation	
$HO_2 \bullet \xrightarrow{k_1} O_2^- \bullet + H^+$	$7.9 \times 10^5 sec^{-1} \text{ }^{25}$
$O_2^- \bullet + H^+ \xrightarrow{k_1'} HO_2 \bullet$	$5 \times 10^{10} M^{-1}sec^{-1} \text{ }^{25}$
$O_3 + O_2^- \bullet \xrightarrow{k_2} O_3^- \bullet + O_2$	$1.6 \times 10^9 M^{-1}sec^{-1}$
$O_3^- \bullet + H^+ \xrightarrow{k_3} HO_3 \bullet$	$5.2 \times 10^{10} M^{-1}sec^{-1}$
$HO_3 \bullet \xrightarrow{k_4} O_3^- \bullet + H^+$	$3.3 \times 10^2 sec^{-1}$
$HO_3 \bullet \xrightarrow{k_5} HO \bullet + O_2$	$1.1 \times 10^5 sec^{-1}$
$O_3 + HO \bullet \xrightarrow{k_6} HO_4 \bullet$	$2 \times 10^9 M^{-1}sec^{-1}$
$HO_4 \bullet \xrightarrow{k_7} HO_2 \bullet + O_2$	$2.8 \times 10^4 sec^{-1}$
Terminaison	
$HO_4 \bullet + HO_4 \bullet \xrightarrow{k_{T1}} H_2O_2 \bullet + 2O_3 \text{ }^b$	$5 \times 10^9 M^{-1}sec^{-1} \text{ }^{25}$
$HO_4 \bullet + HO_3 \bullet \xrightarrow{k_{T2}} H_2O_2 \bullet + O_2 + O_3 \text{ }^b$	$5 \times 10^9 M^{-1}sec^{-1} \text{ }^{25}$

Figure 9 : Réaction de décomposition de l'ozone dans l'eau, tiré de Beltràn (2003) et Doré (1989)

Ainsi, l'élimination par oxydation à l'ozone des micropolluants peut avoir lieu selon deux types de réactions : directe pendant laquelle l'ozone moléculaire va être impliqué (équation 4) et indirecte pour laquelle les radicaux hydroxyles vont entrer en jeu (équation 5) (Doré, 1989). Des réactions induites par la formation de sous-produits peuvent également avoir lieu.



Ces réactions sont dépendantes des conditions expérimentales comme le pH, la charge organique de la matrice ou encore la présence de carbonates agissant comme inhibiteur de la réaction de transformation de l'ozone (figure 9). La réaction avec l'ozone moléculaire prédomine lorsque le pH est faible, la réaction est alors sélective et l'ozone réagit principalement par attaque électrophile sur des groupes à charge élevée. La réaction radicalaire est favorisée à pH basique, elle est non-sélective et provoque des réactions en chaînes avec les composés menant dans certains cas à la minéralisation

partielle des composés organiques. Elle permet d'éliminer certaines substances réfractaires à l'ozone (Ikehata et El-Din, 2004).

III.2.2.1 Ozone et Procédés d'Oxydation Avancés (POA)

Le développement de procédés avancés d'oxydation (POA) permet à température ambiante de générer des oxydants plus puissants à partir d'oxydants primaires. Dans la plupart des processus, c'est la formation du radical hydroxyle qui est visée, mais d'autres espèces sont également formées. Il existe plusieurs sortes de POA basés sur la formation des radicaux hydroxyles : les systèmes chimiques (O_3/H_2O_2 , O_3/HO^- , H_2O_2/Fe^{2+}), les systèmes photochimiques (avec radiations UV : O_3/UV , H_2O_2/UV) et les procédés catalytiques ($O_3/cata$, $H_2O_2/cata$) (Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2003).

Les POA qui requièrent l'utilisation de catalyseurs sont des systèmes aussi bien homogènes (avec métaux en solution (Fe (II) Mn(II), Ni(II)) que hétérogènes en présence d'oxydes métalliques (MnO_2 , TiO_2 , Al_2O_3) ou de métaux et oxydes métalliques sur support (catalyse hétérogène supportée e.g. Cu- Al_2O_3 , Ru-CeO₂ ; Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2003 ; Legube et Leitner, 1999). De manière générale, ces procédés permettent de concentrer les espèces oxydantes et les polluants cibles et conduire à une conversion plus importante.

Dans cette partie, nous nous intéressons à l'oxydation induite par ozonation en solution aqueuse. Une attention particulière est portée sur la réactivité des espèces oxydantes O_3 et HO^\bullet avec les fonctions amines et les noyaux aromatiques en raison de la présence de ces groupements fonctionnels dans les biocides étudiés.

III.2.2.2 Réactivité de l'ozone moléculaire et du radical hydroxyle

III.2.2.2.1 Action de l'ozone moléculaire

La molécule d'ozone peut se comporter comme un dipôle, un agent électrophile ou un agent nucléophile. Les sites de forte densité électronique favorisent l'attaque électrophile.

III.2.2.2.1.1 Sur les amines

Les fonctions amines possèdent une forte densité électronique ce qui permet à l'ozone de réagir par attaque électrophile. Le seul site réactionnel de l'ozone sur les composés aminés est l'atome d'azote lorsque le groupe amine est non protoné (Hoigné et Bader, 1983).

Dans le cas des amines substituées, les groupements alkyls activent fortement l'atome d'azote comme le montre le facteur 10^6 entre la constante cinétique de réaction de la triéthylamine avec l'ozone et celle de NH_3 : $k(NH_3) = 20 M^{-1}s^{-1} < k(\text{éthylamine}) = 2,4 \times 10^5 M^{-1}s^{-1} < k(\text{diéthylamine}) = 9,1 \times 10^5 M^{-1}s^{-1} < k(\text{triéthylamine}) = 4,1 \times 10^6 M^{-1}s^{-1}$ (Hoigné *et al.*, 1985 ; Muñoz et von Sonntag, 2000 ; Von Gunten, 2003).

D'un point de vue mécanistique (figure 10), l'attaque électrophile de l'ozone sur le doublet libre de l'azote conduit à la formation d'hydroxylamine pour les amines primaires et secondaires et de N-oxyde pour les amines tertiaires (Elmghari-Tabib *et al.*, 1982). L'oxydation se poursuit par la rupture de la liaison C-N avec formation d'aldéhydes et de nitrates.

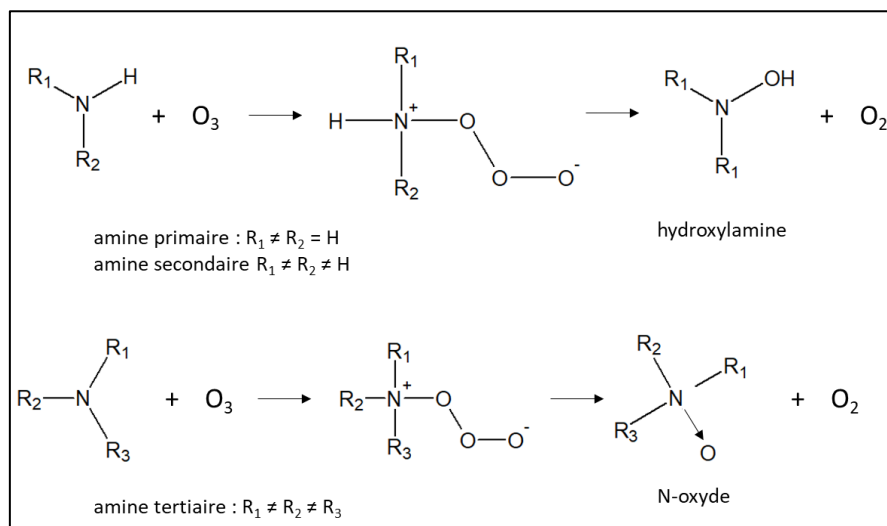


Figure 10 : Réaction de l'ozone moléculaire sur les amines primaires, secondaires et tertiaires, tiré de Berger (1997).

III.2.2.2.1.2 Sur les chaînes carbonées

L'attaque de l'ozone sur l'atome d'azote peut être suivie d'une oxydation du carbone en α de la chaîne latérale par abstraction intramoléculaire de proton ou cycloaddition 1-3 dipolaire (Bailey, 1982). L'oxydation peut se poursuivre et aboutir à la formation d'amides.

La réaction de l'ozone sur les composés aliphatiques saturés (alcools, aldéhydes, cétones, acides carboxyliques) est lente. Le mécanisme conduit à l'augmentation du degré d'oxydation des composés. La réactivité est plus importante sur les formes dissociées des acides carboxyliques que sur les formes moléculaires.

Sur les doubles liaisons C=C la cycloaddition conduit à la formation de composés carbonylés après coupure de la liaison. La réactivité diminue lorsque les substituants diminuent la densité électronique de la double liaison (par l'effet inductif attracteur de -Cl par exemple).

III.2.2.2.1.3 Sur les composés aromatiques

L'attaque électrophile de l'ozone se produisant sur les composés à forte densité électronique, l'ozone est réactif vis-à-vis des composés aromatiques.

En présence de cycle aromatique, l'attaque de l'ozone sur ce groupement s'effectue par addition électrophile sur une liaison π du cycle et conduit à la formation de dérivés polyhydroxylés et quinoniques

puis d'aldéhydes et de diacides par rupture du cycle. Les composés aromatiques substitués par des groupements donneurs (-OH, -NH₂) orientent l'attaque en position ortho et para et se poursuit par l'ouverture du cycle aromatique avec formation d'aldéhydes et d'acides carboxyliques.

Des études de l'action de l'ozone sur l'aniline, dont la structure présente des similitudes avec celle de la chlorhexidine ont été réalisées et les mécanismes réactionnels ont été décrits (Lee and Von Gunten, 2016) (figure 11). L'attaque de l'ozone sur cette famille de composés peut opérer au niveau du cycle aromatique ou de l'amine (1-4) mais contrairement au chlore cette dernière réaction ne serait pas majoritaire dans le cas de l'ozone. L'attaque de l'ozone sur le cycle aromatique peut se traduire par un adduit d'ozone en para de la position amine puis l'apparition d'une fonction hydroxyle à cette position par perte de dioxygène. L'attaque sur le cycle peut également mener à une ouverture du cycle en position ortho et para de la fonction amine puis, par réarrangement, aboutir à une pyridine substituée par un groupement carboxylique.

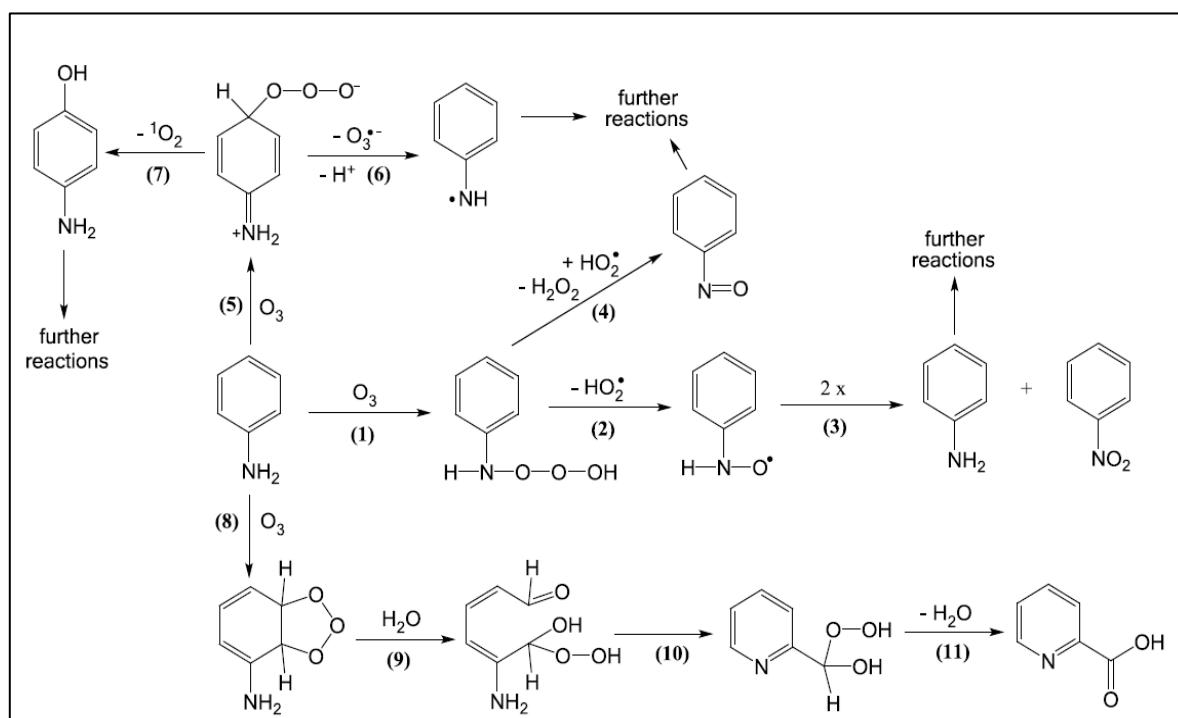


Figure 11 : Mécanisme réactionnel d'une aniline avec l'ozone, tiré de Lee et Von Gunten, (2016).

Toutefois, les cycles ne possédant pas de groupements donneurs d'électrons sont peu réactifs et l'attaque de l'ozone sur les autres fonctions de la molécule est alors privilégiée.

Généralement de nombreux produits de réaction sont formés sous l'action de l'ozone avant la perte d'acide carbonique avec par conséquent un taux de minéralisation faible.

III.2.2.2.2 Action des radicaux hydroxyles

Les radicaux OH° sont plus réactifs et moins sélectifs que l'ozone. L'action du radical OH° peut s'effectuer selon trois modes (Doré, 1989) :

- Arrachement d'un atome d'hydrogène
- Addition radicalaire
- Transfert d'électron

III.2.2.2.2.1 Sur les amines

L'azote possédant un doublet libre (pour la forme non protonée) est très réactif vis-à-vis de l'attaque électrophile par les radicaux hydroxyle. Sur les amines, l'addition des radicaux hydroxyle sur l'atome d'azote est suivi de l'arrachement d'un atome d'hydrogène et libération de H_2O (figure 12) (Simić *et al.*, 1971). Plus une amine est substituée, plus la liaison N-H est réactive vis-à-vis des radicaux OH° .

Par réaction avec le dioxygène le mécanisme conduit à la formation de dérivé nitré (R-NO_2), d'oximes (R-CH=NOH) et d'hydroxylamines substitués (R-NHOH).

En raison de l'effet activant du doublet de l'azote, une partie de l'attaque radicalaire peut conduire à la formation de radicaux sur les atomes de carbone situés en α du groupe amine (figure 12).

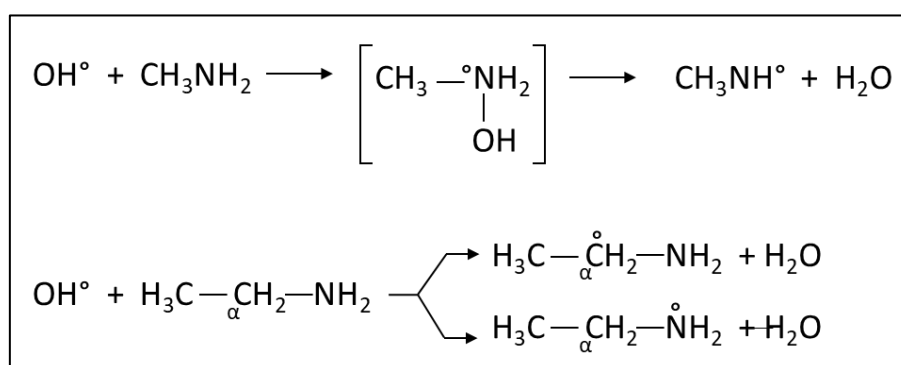


Figure 12 : Réaction du radical hydroxyle sur les amines, tiré de Berger (1997).

L'attaque par les radicaux hydroxyle sur le carbone en α est suivie d'un transfert d'électron intramoléculaire pouvant conduire au clivage de la liaison C-N. Cependant, en présence de dioxygène l'action rapide de la molécule d'oxygène sur le radical carbone en α du groupe amine conduit à la formation d'un radical peroxyaminé puis d'un imino composé (C=N) après libération d'un radical superoxyde O_2° . La liaison C=N peut s'hydrolyser avec libération de NH_3 (figure 13).

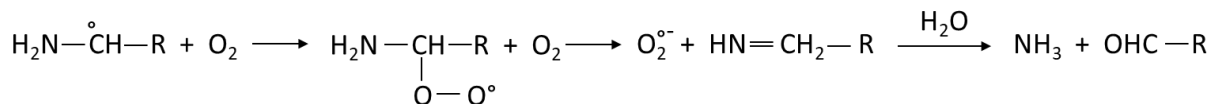


Figure 13 : Formation d'un imino composé à partir d'un radical carbone en présence de dioxygène.

Lorsque le groupe amine est sous forme protonée l'arrachement d'un atome d'hydrogène en position α de ce groupe est quasiment impossible en raison du caractère électrophile des radicaux hydroxyle. Les radicaux réagiront alors préférentiellement sur les positions les plus éloignées du groupe amine (figure 14).

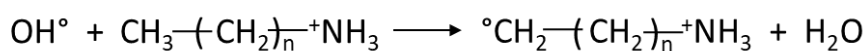


Figure 14 : Réaction du radical hydroxyle sur les amines protonées.

III.2.2.2.2 Sur les chaînes carbonées

La réactivité des radicaux OH° vis-à-vis des composés aliphatiques est la somme des réactivités partielles des liaisons C-H aux différentes positions de la molécule. Le radical OH° agit sur les atomes d'hydrogène des composés aliphatiques par une attaque électrophile. Les radicaux R° formés par abstraction de H° réagissent rapidement avec l'oxygène pour former des radicaux peroxy organiques ROO° qui conduisent à la formation de sous-produits organiques de plus haut degré d'oxydation. L'attaque des chaînes carbonées conduit ainsi, en présence de dioxygène, à des dérivés carbonyles et à des acides carboxyliques.

III.2.2.2.3 Sur les composés aromatiques

L'addition des radicaux OH° sur les noyaux aromatiques forme un radical hydroxycyclohexadienyle qui par réaction avec l'oxygène conduit à la formation de composés aromatiques polyhydroxylés et d'hydroquinone.

Au regard des structures des biocides étudiés, l'action de la forme moléculaire de l'ozone ne sera favorisée que sur les fonctions amines non protonées (BAPLA et chlorhexidine) et sur les noyaux aromatiques (chlorhexidine). En solution aqueuse lors de l'ozonation de ces deux biocides il est attendu que l'ozone moléculaire sera alors significative par rapport à l'action des radicaux OH° . La protonation de l'azote de la molécule de DDAC pourrait rendre ce composé réfractaire avec une attaque néanmoins possible des radicaux OH° sur les groupements carbonés les plus éloignés de l'azote.

III.2.2.2.3 Ozonation catalytique

Les études sur l'ozonation catalytique, procédé qui consiste en une ozonation des solutions en présence de catalyseur sont beaucoup plus récentes. Ainsi, s'il est reconnu que la mise en œuvre de certains catalyseurs lors de l'ozonation conduit généralement, pour un taux d'abattement donné de la molécule cible, à une plus faible consommation d'ozone, et, pour une dose d'ozone donnée, à une augmentation du taux de minéralisation, les mécanismes réactionnels sont souvent peu connus. Il est ainsi admis que des mécanismes spécifiques au système catalytique seraient impliqués et qui ne sont pas qu'une simple amplification de l'action de l'ozone moléculaire et des radicaux OH° (Legube et Leitner, 1999; Leitner et Fu, 2005). En effet, l'efficacité du procédé catalytique peut être influencée différemment par le pH ou par certains ions en solution, et permettre l'élimination de composés non réactifs par ozonation seule (Gombert, 1999 ; Abdelli et Leitner, 2016). De plus, des produits de réaction distincts des sous-produits d'ozonation ont pu être mis en évidence. Il a ainsi été suggéré (Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2003) qu'en plus de l'action de l'ozone et des radicaux présents, les mécanismes impliqués au cours de l'ozonation catalytique hétérogène seraient :

- Une chimisorption de l'ozone à la surface du catalyseur qui conduirait à la formation d'espèces actives spécifiques ;
- La chimisorption des molécules organiques avec ou sans formation d'un complexe métal-molécule suivi d'une oxydation par le métal oxydé ou par l'ozone et les radicaux hydroxyle ;
- Une chimisorption de l'ozone et des molécules organiques qui mènerait à des réactions entre espèces chimisorbées.

Des différences peuvent donc être attendues sur la composition des solutions traités par ozonation et ozonation catalytique sur le plan quantitatif (concentration des molécules) et qualitatif (nature des composés).

PRESENCE DE PRODUITS BIOCIDES DANS LES EFFLUENTS HOSPITALIER

Cette partie avait pour objectifs d'évaluer les quantités de biocides rejetées, leurs fluctuations sur une journée, et de les comparer aux quantités consommées, de manière à mieux cerner les pratiques ou les usages responsables de ces rejets mais également de façon à mieux appréhender la nécessité de contrôler ou de réduire ces rejets.

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

IV.1 Méthodes d'analyse

IV.1.1 Paramètres globaux

La réalisation de cette étude a nécessité la mesure de plusieurs paramètres physico-chimiques pour chaque échantillon en plus du dosage des biocides dans ces derniers. Ces paramètres ont été mesurés par un laboratoire externe (IANESCO) selon les normes : NF EN ISO 10523 (pour le pH), NF ISO 15705 (pour la Demande Chimique en Oxygène - DCO), NF EN 1899-1 (pour la Demande Biologique en Oxygène au bout de 5 jours – DBO₅) et la norme NF EN 872 (pour les Matières En Suspensions - MES) (International Organization for Standardization, 1998 ,2002, 2005, 2012c).

IV.1.2 Evaluation de l'écotoxicité

Pour une partie de cette étude, l'écotoxicité des échantillons a été mesurée. La mesure de ce paramètre s'est faite selon la norme NF EN ISO 11348-3 en suivant la luminescence de *Vibrio fischeri* avec un luminomètre de type LUMISTox 300 (HACH). Dans ces conditions, l'écotoxicité a été mesurée pour un temps d'incubation de 30 min. Pour chaque échantillon, le pH a été neutralisé au préalable soit par ajout de soude ou par ajout d'acide chlorhydrique, et un ajout de 2 % de chlorure de sodium a été fait. Lorsque nécessaire, une dilution de l'échantillon brut a été réalisée.

IV.1.3 Analyse des biocides

L'analyse des biocides a été effectuée par chromatographie liquide ultra haute performance couplée à la spectrométrie de masse (UHPLC-MS).

IV.1.3.1 *Appareillage et conditions analytiques*

IV.1.3.1.1 Chromatographie Liquide Ultra Haute Performance

Le système chromatographique (ThermoFisher) est constitué d'un passeur automatique d'échantillons (Accela open auto sampler), d'une pompe quaternaire haute pression (Accela 1250) et d'un four (Column Oven 300).

Lors de l'analyse, la séparation des molécules a été faite à 30°C sur une colonne de type Hypersil GOLD (dimension : 100 x 2,1 mm avec une taille de particules de 1,9 µm), précédée d'un pré-filtre (sur support pré-colonne) de 2,1 mm de diamètre et de porosité de 0,2 µm.

L'élution a été réalisée par gradient linéaire avec deux solvants (tableau 9) acidifiés avec 0,1 % d'acide formique de qualité analytique (Carlo Erba) : de l'eau ultra-pure (générateur PURELAB FLEX de ELGA lab

water / Veolia water technologies) et de l'acétonitrile de qualité analytique (Carlo Erba). Le débit de la phase mobile a été fixé constant à 550 µL/min.

Tableau 9 : Gradient d'élution de la phase mobile utilisé lors de l'analyse par chromatographie liquide ultra haute performance.

Temps d'analyse	Composition de la phase mobile	
	Acétonitrile (0,1 % HCOOH)	Eau (0,1 % HCOOH)
0 min	15 %	85 %
0,5 min	15 %	85 %
2 min	100 %	0 %
3 min	100 %	0 %
3,3 min	15 %	85 %
5,6 min	15 %	85 %

IV.1.3.1.2 Spectromètre de masse

Le spectromètre de masse est un modèle à haute résolution de type Q-Exactive (ThermoFisher) équipé d'une sonde électrospray (ESI). Lors des analyses, la sonde ESI utilisée en mode positif, était alimentée par un gaz de nébulisation (azote) avec un débit de 60 ua et un gaz auxiliaire (azote) à un débit de 20 ua. Le capillaire de transfert était chauffé à 325°C, la température de la chambre d'injection était maintenue à 500 °C. Une tension de 3 kV était appliquée sur le cône, tandis que le S-len était fixé à une fréquence de 50.

La quantification des molécules s'est faite en mode Target-SIM utilisant une résolution de 35 000, une AGC target de 10^5 pour un temps maximum d'injection de 50 ms. De même, pour confirmer la présence des molécules dans les échantillons, des analyses MS² ont été programmées sur chaque ion moléculaire. Une résolution de 17 500, une AGC Target de 10^5 et un temps maximum d'injection de 50 ms ont été paramétrés. Les temps de rétention, les masses recherchées et l'énergie de collision utilisée pour confirmation sont indiqués dans le tableau 10 pour chaque molécule.

Tableau 10 : Temps de rétention, masses des ions moléculaires et paramètres de confirmation employés pour l'analyse du DDAC, du CHD et du BAPLA.

Molécule	Temps de rétention (min)	Ion ciblé pour la quantification (m/z)	Paramètres de confirmation	
			Energie de collision (eV)	Fragments ciblés (m/z)
Chlorure de Didécylidiméthylammonium	2,85 ± 0,03	326,37813	46	186,22157
Chlorhexidine	2,05 ± 0,03	505,21047	20	353,19586 336,16924
Bis(aminopropyl)laurylamine	1,95 ± 0,03	300,33732	18	283,31068

Les chromatogrammes obtenus dans ces conditions sont présentés dans la figure 15 suivante.

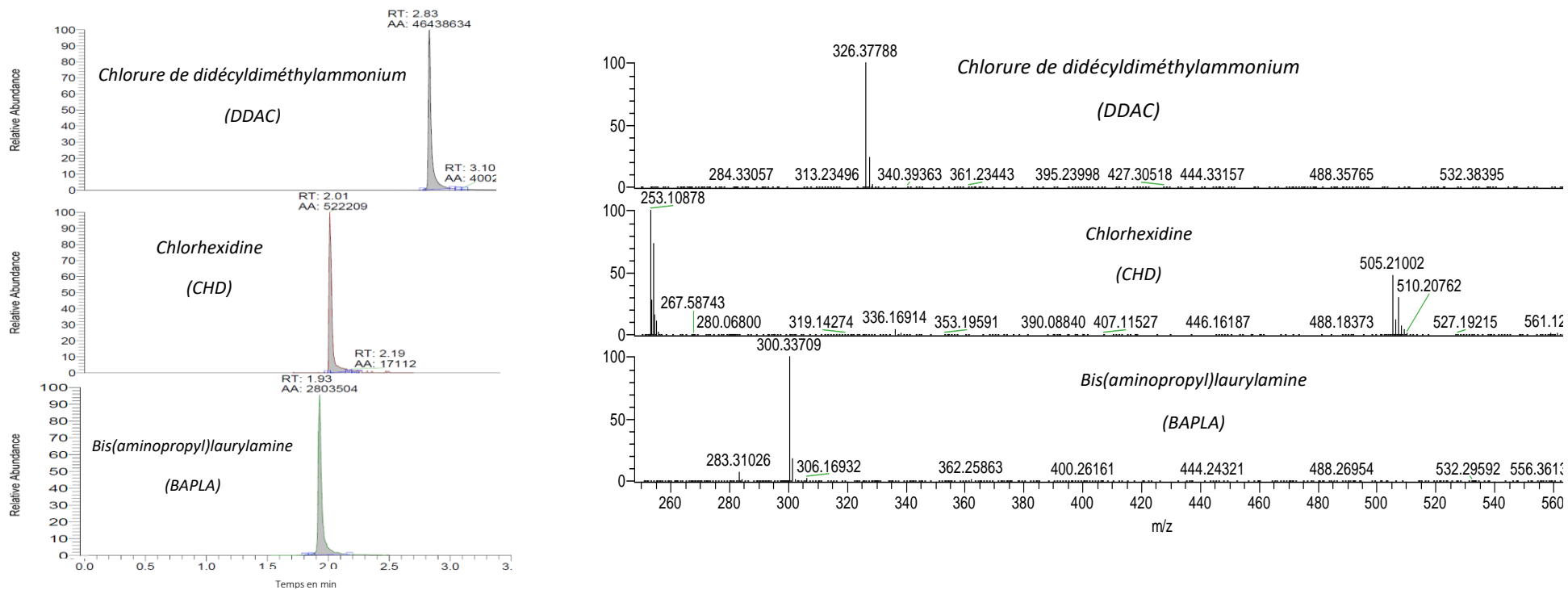


Figure 15: Chromatogrammes et spectres de masses du DDAC, du CHD et du BAPLA obtenus par UHPLC-MS.

IV.1.3.2 Préparation et conservation des échantillons avant analyse

IV.1.3.2.1 Préparation et conditions de conservation

Les échantillons ont été analysés dès que possible et dans la limite de 3 jours après prélèvement. Dans ces conditions, tous les échantillons ont été stockés dès réception à 4 °C à l'abri de la lumière. Avant analyse, chaque échantillon a été centrifugé (centrifugeuse de type AWEL) à 10 000 trs/min pendant 10 minutes puis dilué directement dans les vials d'analyse de 1 mL avec de l'eau de qualité analytique (Fischer Chemical).

IV.1.3.2.2 Etude de la stabilité des échantillons

Plusieurs travaux scientifiques font état d'une probable adsorption des molécules étudiées et principalement de l'ammonium quaternaire (DDAC) sur les surfaces y compris sur la verrerie ou sur l'instrumentation analytique (Bassarab *et al.*, 2011; Fernández *et al.*, 1996 ; Martínez-Carballo *et al.*, 2007a, 2007b ; Olkowska *et al.*, 2012). Ceci pourrait être lié au caractère amphiphile de ces molécules et à leurs propriétés détergentes et désinfectantes (fixation sur les surfaces, etc...) (Olkowska *et al.*, 2012). Un test de stabilité a alors été mis en place afin de s'assurer de l'absence d'adsorption des molécules sur les flaconnages de conservation et d'analyse et de la bonne conservation des échantillons.

Pour ce qui concerne l'impact de l'étape de centrifugation sur les résultats, des essais de préparations d'échantillons par centrifugation avaient été préalablement réalisés dans le cadre d'une étude menée au laboratoire. Lors de ces tests, une adsorption significative sur les filtres d'acétate de cellulose avait été observée dans le cas du DDAC et de le CHD. En revanche, aucun impact de la centrifugation n'avait été noté.

IV.1.3.2.2.1 Suivant le flaconnage utilisé pour la conservation

L'expérimentation a été menée sur un prélèvement ponctuel fait en sortie du site d'étude (CHU). La préparation de l'échantillon a été faite comme expliqué dans le paragraphe IV.1.3.2.1. Une analyse a été effectuée à J+0 après le prélèvement selon les conditions d'analyses explicitées dans le paragraphe IV.1.3. L'échantillon a été ensuite conservé dans un récipient en verre ou en polypropylène et à nouveau préparé selon les mêmes conditions à J+5. Les résultats sont représentés dans la figure 16.

Il ressort de ces tests une assez bonne stabilité des molécules compte tenu des incertitudes calculées. Les résultats sont satisfaisants au regard du délai de stockage de 3 jours maximum avant analyse respecté lors des campagnes et expériences. De plus, il n'a pas été observé de différence significative entre les deux types de flaconnage (verre ou polypropylène) utilisés au bout des cinq jours.

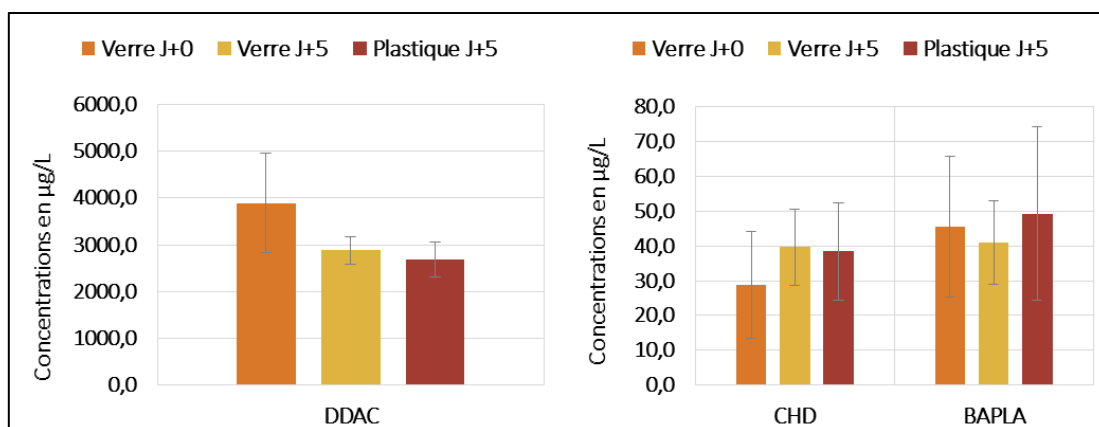


Figure 16 : Résultats des tests de la stabilité du DDAC, du CHD et du BAPLA sur cinq jours dans deux types de flaconnage (verre et polypropylène).

IV.1.3.2.2.2 Dans les vials d'analyse

Lors de l'analyse, les échantillons préparés (paragraphe IV.1.3.2.1) ont pu être également stockés dans les vials d'injection jusqu'à 6 heures avant injection dans le système UHPLC-MS. Dans le cas où les échantillons seraient plus dilués, leurs faibles concentrations pourraient davantage être impactées par les phénomènes d'adsorption. De ce fait, en plus des tests d'adsorption sur le flaconnage de conservation des échantillons, des tests d'adsorption sur les vials d'analyse ont été effectués afin d'évaluer l'adsorption des molécules avant injection.

Plusieurs solutions ont été préparées pour ce test et deux matrices ont été étudiées : une eau ultra-pure et une eau d'entrée de STEP (centrifugée) considérée comme dépourvue des molécules (Chapitre VI, paragraphe VI.1.1). Une première solution (solution ND) contenait 2000 µg/L de DDAC et 100 µg/L de CHD et de BAPLA. Ces concentrations correspondaient à une valeur moyenne des concentrations attendues au niveau du site d'étude. Cette solution ND a été diluée au 1/2, au 1/5 et au 1/10 (solution D). Ces trois dilutions correspondent aux taux de dilutions utilisés pour les échantillons prélevés sur site. Le tableau 11 résume les différentes analyses effectuées. Lors de ces tests, en cas d'adsorption immédiate de biocides lors de leur transfert dans les vials, une comparaison des résultats obtenus avec et sans rinçage préalable des vials par des solutions ND et D (mise à concentrations) a été effectuée.

Tableau 11 : Protocole de préparation pour l'évaluation de l'adsorption du DDAC, CHD et du BAPLA sur les vials d'analyse.

Dilution	1/2 – 1/5 – 1/10			
Numéro du graphique/du vial	1	2	3	4
Temps avant analyse	T = 0	T = 0	T = + 6 H	T = + 6 H
Préparation	<ul style="list-style-type: none"> • Vial rincé par la solution ND • Vidé et rempli par la solution D • Analyse immédiate 	<ul style="list-style-type: none"> • Vial rincé par la solution D • Vidé et rempli avec la même dilution • Analyse immédiate 	<ul style="list-style-type: none"> • Vial 2 stocké à 4 °C • Analyse après 6 H 	<ul style="list-style-type: none"> • Vial rempli par la solution D • Stocké à 4°C • Analyse après 6 H

* Solution ND = solution non-diluée ; Solution D = Solution ND diluée au 1/2 ou au 1/5 ou au 1/10.

Les résultats présentés dans la figure 17 sont ceux obtenus dans la matrice de la STEP de référence. Ceux du test dans l'eau ultra-pure (non-présentés) ont montré des résultats similaires avec de plus grandes incertitudes. Les données sont représentées en rapports d'aires calculés en considérant la moyenne des aires obtenues pour le vial (2 injections) par rapport à l'aire moyenne du vial 1. Une perte des molécules par adsorption sur les vials correspond ainsi à un résultat inférieur à 1 pour les vials 2, 3 et 4.

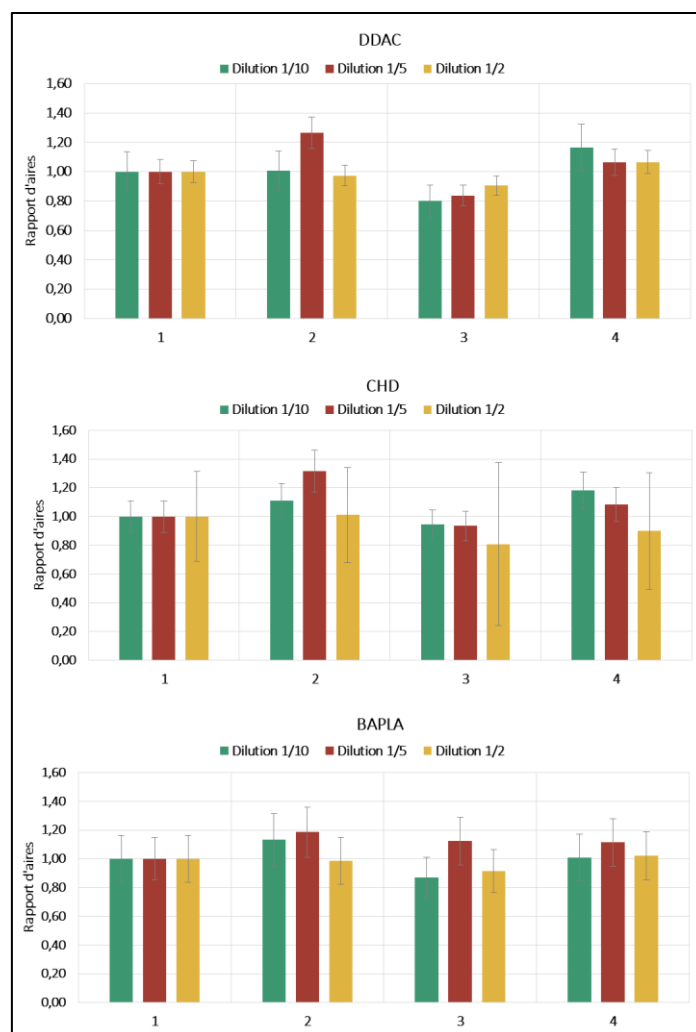


Figure 17 : Résultats des tests d'adsorption en matrice complexe (entrée de STEP) du DDAC, du CHD et du BAPLA sur les vials pour différentes dilutions.

Comme le montre la figure 17, l'adsorption des molécules sur les vials n'est pas significative pour chaque taux de dilution et chaque molécule dans des concentrations similaires à celles attendues sur le terrain.

En conclusion, les tests sur la stabilité des échantillons ont permis de s'assurer que le conditionnement et le protocole de dilution des échantillons dans les vials n'impactent pas les résultats. Les échantillons peuvent être stockés dans des flacons en verre ou en polypropylène et être conservés à 4°C jusqu'à 6 jours dans ces flaconnages de prélèvement et jusqu'à 6 heures dans les vials d'analyse.

IV.1.3.3 Quantification des molécules en matrice complexe

IV.1.3.3.1 Méthode de quantification

Pour pallier aux effets de matrice, les molécules ont été quantifiées par la méthode des ajouts dosés. Les solutions mères ont été fournies par le Laboratoire Anios. Les ajouts étaient compris entre 0 µg/L et 600 µg/L pour le DDAC et entre 0 µg/L et 60 µg/L pour le CHD et le BAPLA. Chaque étalon de la gamme

d'ajout dosé a été injecté trois fois. Dans ces conditions, la concentration en molécule était déterminée par extrapolation à l'origine de la droite de régression linéaire. Cette méthode est applicable pour des analyses présentant des signaux nuls en absence de composé. Il a été vérifié dans ce travail que lorsqu'un signal était observé dans les blancs, les concentrations obtenues avec et sans soustraction des blancs étaient comparables.

IV.1.3.3.2 Calcul des incertitudes

L'incertitude ΔC sur les concentrations était calculée selon la méthode décrite par Harris (2004) à partir de la relation suivante :

$$\Delta C = t * \left(\frac{S_{y/x}}{a} * \sqrt{\frac{1}{n_E} + \frac{\bar{y}^2}{a^2 * \{\sum(x_i - \bar{x})^2\}}} \right) \quad (6)$$

Avec :

ΔC : Incertitude exprimée en $\mu\text{g/L}$

t : Valeur de student pour $n_E - 2$ degrés de liberté avec un pourcentage de sureté de 95 %

n_E : Nombre de point de la droite d'étalonnage (pour un échantillon ayant 5 ajouts différents injectés 3 fois, $n_E = 15$)

a : Pente de la droite de régression

\bar{y} : Moyenne des réponses y_i

x_i : Concentration d'un étalon i

\bar{x} : Moyenne des concentrations x_i

$S_{y/x}$: Standard Deviation (ou écart-type) défini par la relation (7) suivante :

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum(y_i - y_{iRL})^2}{n_E - 2}} \quad (7)$$

Dans laquelle,

y_i : Réponse de l'appareil pour une concentration i

y_{iRL} : Valeur de y_i calculée à partir de la régression linéaire

IV.1.3.3.3 Calcul des limites de détection (LD) et de quantification (LQ)

Il est généralement recommandé de comparer plusieurs méthodes de calcul des limites de détection et de quantification pour sélectionner la plus adaptée aux exigences des analyses effectuées (Chandran et

Singh, 2007; Stöckl *et al.*, 2009). Pour ces travaux, deux méthodes ont été comparées : une méthode dite signal/bruit et une méthode chimométrique basée sur des principes statistiques.

IV.1.3.3.3.1 Méthode signal sur bruit (S/B)

Par cette méthode, les limites de détection et de quantification de chaque molécule analysée ont été calculées d'après les relations suivantes :

$$LD = 3 * \frac{C * \text{bruit}}{\text{signal}} \quad (8)$$

$$LQ = 10 * \frac{C * \text{bruit}}{\text{signal}} \quad (9)$$

Avec :

C : Concentration de la molécule dans l'échantillon analysé ; exprimée en µg/L

Bruit : Moyenne des signaux obtenus dans les 20 blancs précédant le premier échantillon

Signal : Signal obtenu dans l'échantillon

Ces deux équations donnent une valeur (en µg/L) de LD et de LQ pour chaque point de la droite d'étalonnage d'une molécule. Pour avoir la LD et une LQ d'une molécule d'un échantillon analysé, la moyenne de ces valeurs a été calculée.

IV.1.3.3.3.2 Méthode statistique

Les limites de détection et de quantification par la méthode statistique ont été calculées selon la méthode décrite par Harris (2004) à l'aide des relations suivantes :

$$LD = \frac{3 * S_b}{a} \quad (10)$$

$$LQ = \frac{10 * S_b}{a} \quad (11)$$

Avec :

a : Pente de la droite de régression linéaire

S_b : Ecart-type sur la valeur de l'ordonnée à l'origine défini tel que :

$$S_b = S_{y/x} * \sqrt{\frac{\sum x_i^2}{n_E * \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2}} \quad (12)$$

S_{y/x} : Standard Deviation (écart-type) défini par la relation (7)

x_i : Concentration d'un étalon i exprimée en µg/L

n_E : Nombre de point de la droite d'étalonnage (pour un échantillon ayant 5 ajouts différents injectés 3 fois, n_E = 15)

Ces équations donnent une valeur (en $\mu\text{g/L}$) de LD et LQ pour l'ensemble des points de la droite d'étalonnage d'une molécule.

IV.1.3.3.3 Méthode retenue dans ce travail

En appliquant ces calculs, pour chaque molécule et chaque échantillon, deux limites de détection et deux limites de quantification ont été déterminées.

La méthode de calcul du signal/bruit est une méthode qui ne peut se faire qu'avec un bruit de fond détectable par les appareils de mesure. Elle permet d'accéder à des limites déterminées expérimentalement. Dans certains cas, pour une même molécule d'un même échantillon, les limites peuvent varier suivant la réponse de l'appareil de mesure, l'encrassement, l'état des blancs (dépendant de la matrice à analyser), de l'efficacité des rinçages (phénomènes de carry over). Lors des analyses effectuées pour ces travaux, une variation significative a pu être notée. Ceci est dû à un phénomène de carry over des blancs lié aux propriétés des molécules analysées.

La méthode statistique s'inscrit majoritairement dans le processus d'une validation de méthode pour une analyse en routine des molécules recherchées ou dans le but de normaliser la méthode d'analyse. Cette méthode générant généralement des valeurs de LD et de LQ plus importantes que la méthode signal/bruit prend en compte des incertitudes liées entre autres aux dérivations des appareils en plus des aléas expérimentaux.

Le cadre de ce travail était de rechercher la présence des molécules cibles dans des effluents hospitaliers et d'obtenir des valeurs avec un intervalle de confiance acceptable. Ainsi, le calcul des LD et des LQ par la méthode statistique (trop exigeante dans certains cas) est venue en appui de la méthode signal/bruit, afin d'éliminer les résultats lorsqu'un doute existait par rapport à la détection et la quantification d'un résultat.

Dans ces conditions, par comparaison des différents résultats, il a été défini que les LQ de la méthode signal/bruit devaient être au moins comparables aux LD de la méthode statistique pour pouvoir être acceptables. Dans le cas contraire, la LD de la méthode statistique était retenue comme valeur seuil de quantification. De cette façon, une valeur seuil de quantification a été fixée pour chaque molécule et chaque échantillon. Dans le cadre de l'étude, cette valeur a permis d'éliminer les résultats dont la quantification semblait peu fiable expérimentalement (par exemple : associés à de très grandes incertitudes ou dont le signal était trop proche de celui obtenu dans les blancs).

Dans la suite de ce travail (en annexe), lors des campagnes, pour une meilleure appréciation des résultats par le lecteur, un code couleur a été employé suivant si les concentrations affichées sont supérieures

aux LQ des deux méthodes de calculs (vert) ou si simplement supérieures à la LQ de la méthode signal sur bruit et la LD de la méthode statistique (orange).

IV.2 Campagnes de prélèvements

IV.2.1 Description des sites de prélèvement

Tous les prélèvements ont été réalisés sur l'agglomération de Poitiers. L'agglomération de Poitiers comprend 142 540 habitants et compte 13 communes. C'est un site peu industrialisé et à forte activité universitaire (23 000 étudiants). Le système d'assainissement est principalement séparatif (excepté le centre-ville) et le réseau comporte 568 km d'eaux résiduaires et 375 km d'eaux pluviales.

IV.2.1.1 *CHU de Poitiers*

Le Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Poitiers (figure 18) est un établissement de soins à visée régionale qui compte plus de 1 900 lits et places. A l'aide des services proposés, (i.e. prise en charge de courts séjours, soins de suite et rééducation, soins de longue durée, cardiologie, cancérologie, gériatrie, neurochirurgie, pédiatrie, biologie et imagerie), le CHU offre des missions de proximité à la communauté d'agglomération de Poitiers, de même que des missions de recours pour les habitants de la Vienne et de la région Nouvelle Aquitaine. Le site du CHU (site de la Milétrie) est composé de plusieurs bâtiments principalement à activités hospitalières et administratives.

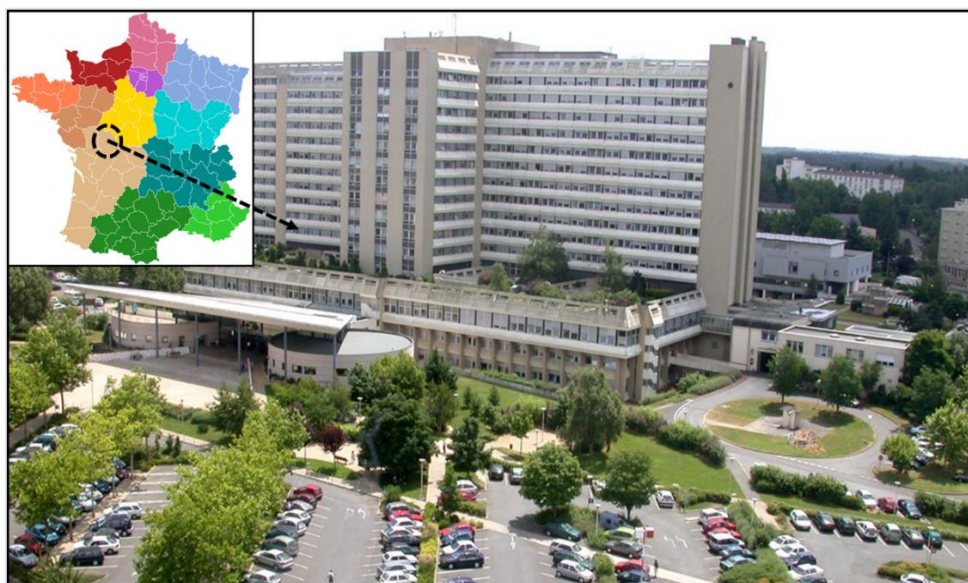


Figure 18 : Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers (source : siamp.fr et CHU).

De manière générale, le CHU de Poitiers consomme 482 L / lit / j d'eau (à titre de comparaison, la consommation domestique dans la même ville était de l'ordre de 150-200 L / hab / j). L'utilisation de

l'eau potable y est variée : usage alimentaire, sanitaire, technique ; et génère ainsi des eaux usées représentatives de ces domaines en plus des usages médicaux.

Le dispositif de collecte des eaux usées du CHU se compose de deux réseaux principaux qui recueillent les effluents de bâtiments utilisant deux procédures de désinfection différentes (figure 19). Le premier réseau (réseau Sud) recueille entre autres les eaux usées du pôle cancérologie, de la pharmacie ou encore de la cité gériatrique. Au quotidien, les locaux connectés à ce réseau subissaient un protocole de désinfection à l'eau de Javel. Le deuxième réseau (réseau Nord) recueille quant à lui les eaux usées de bâtiments utilisant une procédure de désinfection au dichloroisocyanurate de sodium. La tour Jean-Bernard (regroupant de nombreux services du CHU) constitue le bâtiment le plus important relié à ce réseau. Toutefois d'autres bâtiments tels que le service des urgences, divers bâtiments administratifs ou encore le centre hospitalier Laborit (santé mentale) y sont également connectés. Les eaux de ces deux réseaux se rejoignent en sortie de site avant d'être rejetées dans le réseau de collecte des eaux usées de la ville.

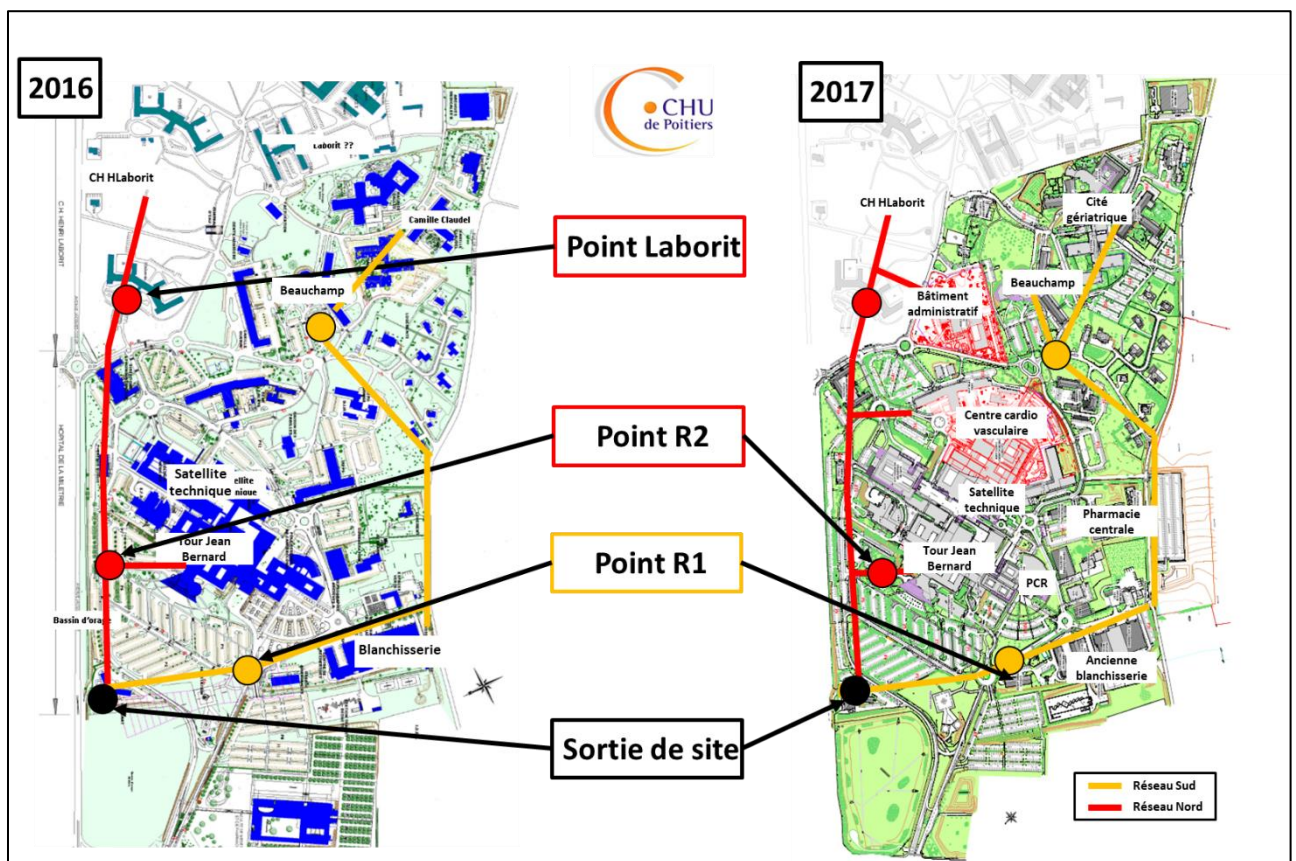


Figure 19 : Cartographie du réseau d'assainissement du CHU en 2016 (C1/2/3) et en 2017 (C4/C5). (Source : CHU de Poitiers)

IV.2.1.2 Station d'épuration de Poitiers

La station d'épuration de Grand Poitiers (152 000 EH) récupère les eaux usées de 11 des 13 communes qui composent la communauté d'agglomération de Poitiers. La station comprend un traitement biologique (oxique/anoxique) des eaux en plus des étapes de prétraitement et de décantation en fin de traitement. Elle possède également une filière de traitement des boues. Les effluents traités sont ensuite rejetés dans le Clain (affluent de la Vienne).

Par temps sec, les rejets domestiques représentent 80 % du débit d'entrée de la STEP. Situé à 9 km de la station d'épuration de Poitiers, les eaux usées du CHU atteignent l'entrée de cette STEP en un peu moins de 4h. Par temps sec, les rejets du CHU représentent 6 % à 8 % du débit d'eau arrivant à l'entrée de cette STEP. Le cheminement des eaux usées du CHU des différentes communes vers la station est montré dans la figure 20.

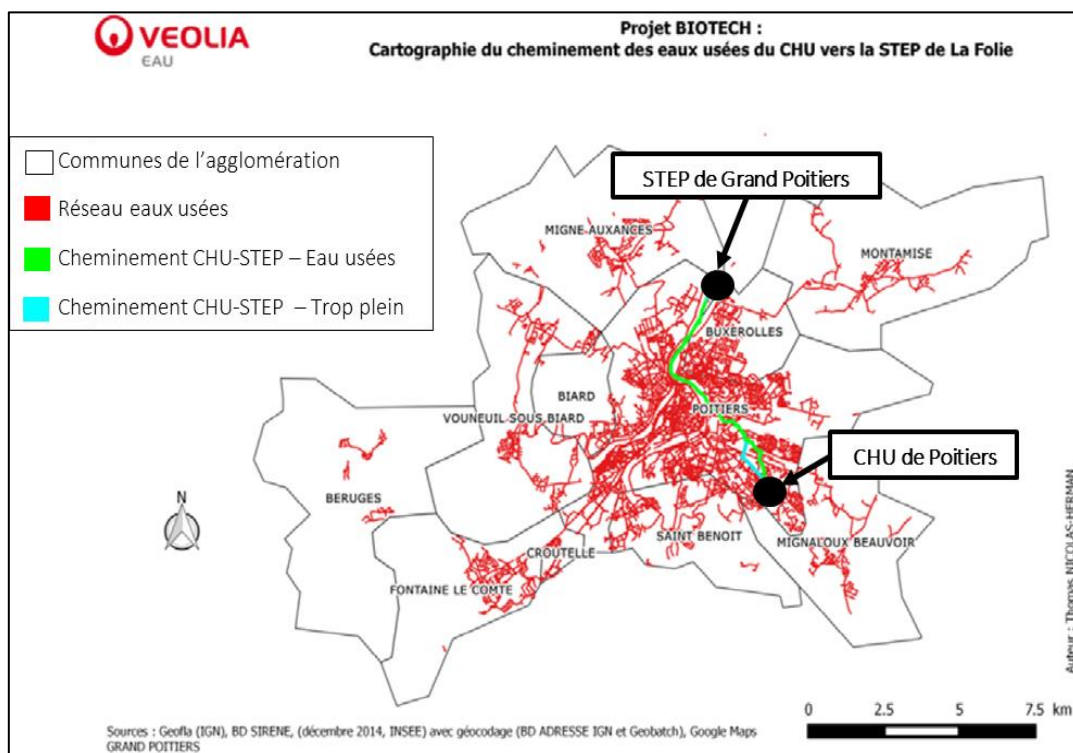


Figure 20 : Cartographie du cheminement des eaux usées du CHU et de la communauté d'agglomération de Poitiers vers la STEP, (Données : Véolia Eau, d'après Deborde *et al.* (2016)).

IV.2.2 Points de prélèvements

Au total, cinq campagnes d'échantillonnages ont eu lieu pour étudier la présence de DDAC, de CHD et de BAPLA dans les eaux usées du CHU (C1/C2/C3 – C4/C5) et de la STEP (C4/C5).

- Campagne C1 : 14-15 Janvier 2016
- Campagne C2 : 27-28 Janvier 2016
- Campagne C3 : 14-15 Juin 2016
- Campagne C4 : 26-27 Septembre 2017
- Campagne C5 : 17-18 Octobre 2017

Lors des campagnes C1/C2/C3, quatre points de prélèvements ont été sélectionnés au niveau du CHU :

- Point R1 : ce point recueille l'ensemble des eaux usées du réseau sud (i.e du pôle de cancérologie, de la pharmacie centrale, de la blanchisserie ainsi que des services de pneumologie, de cardiologie et de gériatrie).
 - Point R2 : ce point situé sur le réseau nord, récupère les eaux usées issues du bâtiment principal du CHU et du satellite technique.
 - Point « Laborit » : situé à l'extrémité du réseau nord, ce point capte les eaux usées du Centre Hospitalier Laborit (bâtiment de santé mentale).
 - Point « sortie de site » : ce point récupère l'ensemble des eaux usées du site avant rejet dans le système de collecte de la ville.
- Pour les campagnes C4/C5, en plus des trois points du CHU : R1 ; R2 ; Sortie, trois prélèvements ont été effectués au niveau de la STEP : Entrée STEP ; Milieu STEP (bassin d'aération) et Sortie STEP.

Toutefois des réaffectations de bâtiments sur le site entre les campagnes C1/C2/C3 et C4/C5 ont eu lieu, modifiant ainsi la répartition des effluents collectés par les réseaux d'assainissement. Le tableau 12 affiche les différents bâtiments et activités hospitalières à l'origine des effluents recueillis à chacun des points de prélèvements lors des différentes campagnes et la figure 19 montre leur emplacement sur le site du CHU. Les conséquences de ces remaniements entre les campagnes C1/C2/C3 et C4/C5 ont été particulièrement visibles au point R1 (les services de cardiologie, de pneumologie et la blanchisserie rejetant initialement dans le réseau sud ayant été déplacés).

Tableau 12 : Points de prélèvements sur le site du CHU de Poitiers et origines des effluents recueillis lors des campagnes C1/C2/C3/C4/C5.

Campagnes	Points de prélèvements			
	R1	R2	Sortie	Laborit
C1/C2/C3	Blanchisserie Pôle cancérologie Pôle cardiologique Gériatrie Pharmacie centrale	Bâtiment principal du CHU Satellite technique	Réseaux Nord + Sud avant rejet dans le système de collecte de la ville	Bâtiment Laborit (santé mentale)
C4/C5	Pôle cancérologique Gériatrie Pharmacie centrale	Bâtiment principal du CHU Satellite technique Pôle cardiologique Pôle pneumologique		-

IV.2.3 Echantillonnage

Les prélèvements ont été réalisés par un laboratoire sous-traitant d'après la norme FD T 90-523-2 à l'aide d'échantillonneurs automatiques asservis, lorsque possible, au débit avec accès aux données relevées. Lors de ces campagnes, la chronologie suivante a été respectée pour les différentes étapes d'échantillonnage jusqu'à l'analyse des biocides (figure 21) :

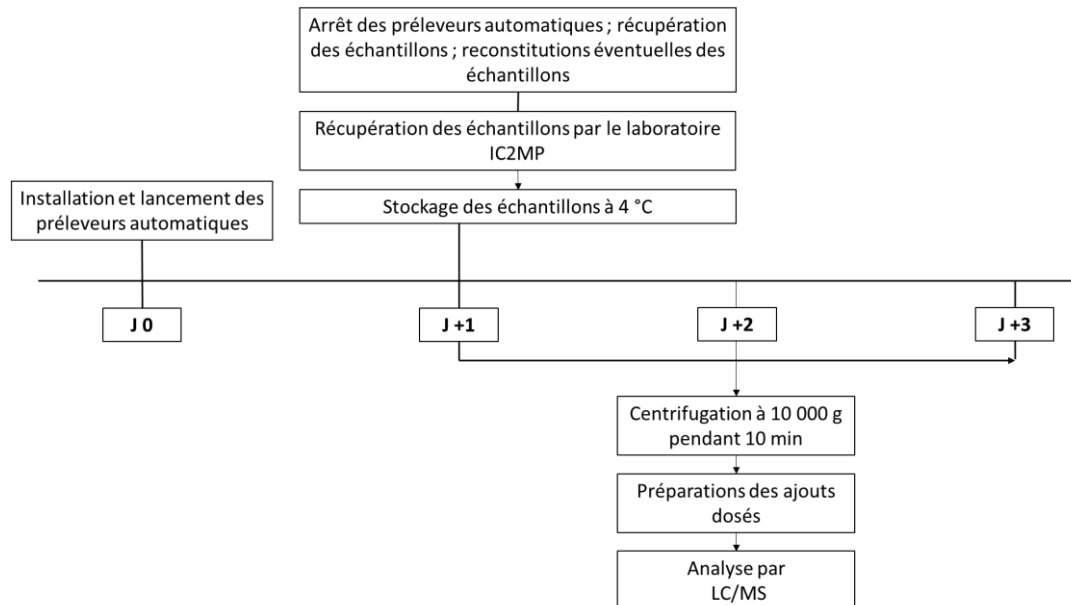


Figure 21 : Protocole des campagnes d'échantillonnage des trois biocides.

IV.2.3.1 Campagnes C1 ; C2 ; C3

Le tableau 13 résume les différentes conditions de prélèvement de chaque point pour ces campagnes. Pour des raisons pratiques, l'installation de préleveurs automatiques asservis au débit n'a pu se faire sur tous les points sélectionnés.

Au point R1 un échantillonneur automatique mono-flacon asservi au temps était utilisé lors des campagnes C1 et C2 alors qu'il s'agissait d'un échantillonneur automatique multi-flacons asservi au temps pour la campagne C3. Dans ce dernier cas, un échantillon moyen a été reconstitué en laboratoire selon une courbe des débits déduite des courbes des débits des autres points en considérant l'équation (13) suivante :

$$Q_{(R1)} = Q_{(sortie\ de\ site)} - Q_{(R2)} - Q_{(Laborit)} \quad (13)$$

Au point R2, les campagnes C1 et C2 ont été menées à l'aide d'un échantillonneur automatique mono-flacon asservi au temps. La campagne C3 a été réalisée à l'aide d'un échantillonneur automatique multi-flacons asservi au temps avec mesure de débit en parallèle. Ainsi grâce à cette mesure des débits, l'échantillon était reconstitué en laboratoire selon les débits mesurés.

Tableau 13 : Résumé du protocole de prélèvements des échantillons pour les campagnes de 2016.

Campagnes	Point	Type d'échantillonneur	Flaconnage	Débit de prélèvement	Echantillon
C1 et C2	Sortie	Automatique asservi au débit grâce à un débitmètre fixe présent au point de prélèvement	1 flacon en verre de 17 L	60 mL/ 6 min	Moyen 24 h asservi au débit
	R1	Automatique asservi au temps			Asservi au temps
	R2	Automatique asservi au temps avec relevé de débit sur le compteur d'eau installé en ce point			
	Laborit	Automatique asservi au temps avec mesure débit en parallèle	24 flacons en verre de 350 mL	-	Asservi au débit après reconstitution selon courbe de débit
C3	Sortie	Automatique asservi au débit grâce à un débitmètre fixe présent au point de prélèvement	1 flacon en verre de 17 L	60 mL/ 6 min	Moyen 24 h asservi au débit
	R1	Automatique asservi au temps	24 flacons en verre de 350 mL	35 mL / 6 min	Asservi au débit après reconstitution à partir de la courbe de débit établie selon (13)
	R2	Automatique asservi au temps avec mesure débit en parallèle			-
	Laborit				

IV.2.3.2 Campagnes C4 et C5

Pour les campagnes C4 et C5, au niveau des trois points de prélèvements du CHU (R1, R2 et sortie), des prélèvements moyens d'une heure répartis sur quatre créneaux correspondant à des périodes d'activité différentes du CHU ont été réalisés :

- 09h-10h : Démarrage des activités de soins, hygiéniques et ménagères.
- 13h-14h : Arrêt des interventions opératoires et des blocs.
- 17h-18h : Arrêt des activités ménagères.
- 00h-01h : Activité réduite ; soins d'urgences et de nécessité uniquement en continu.

Au niveau de la station d'épuration de Poitiers, cinq échantillonnages par point (entrée, milieu et sortie) répartis sur 24 h ont été effectués : 06h/10h – 10h/14h – 14h/18h – 18h/22h – 22h/06h.

Chapitre V : Résultats et discussions

V.1 Rejets de biocides au niveau de l'agglomération de Poitiers

Deux campagnes ont été réalisées par un partenaire du projet BIOTECH pour évaluer les principaux émetteurs de biocides sur l'agglomération de Poitiers. Pour cela, 10 points de prélèvements répartis sur l'ensemble du réseau d'eauX usées dont 1 point « sortie CHU », 1 point entrée de STEP, 1 point sortie STEP, 1 point 100% domestique et 6 autres points choisis à des endroits du réseau où pourraient se trouver les apports de biocides les plus importants (estimations par cartographie *via* l'outil ACTIPOL de Véolia, et des enquêtes terrain) ont été choisis (Deborde *et al.*, 2016). Les résultats obtenus, en flux massiques, pour le DDAC, le CHD et le BAPLA sont présentés dans la figure 22.

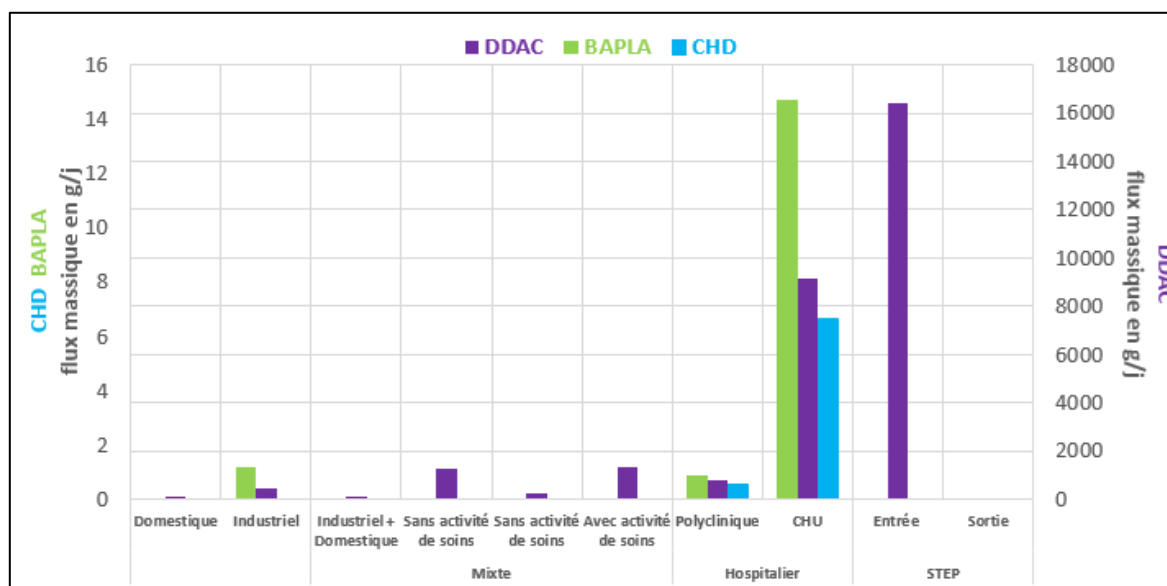


Figure 22 : Flux massique obtenu pour le DDAC, le CHD et la BAPLA au niveau des différents points de prélèvements du réseau d'eaux usées (données Véolia Eau et IC2MP).

Au niveau de l'agglomération, le CHD n'est retrouvé que dans les effluents hospitaliers avec un rejet massique plus important au niveau du CHU (6,7 g/j) qu'à la polyclinique (0,6 g/j). Les quantités de BAPLA retrouvées dans les rejets hospitaliers montrent le même profil que celui de la chlorhexidine avec des quantités plus importantes dans les effluents du CHU (14,7 g/j) que ceux de la polyclinique (0,9 g/j). Cette molécule est également rejetée ponctuellement en milieu industriel. Le DDAC est rejeté de manière plus diffuse à travers l'agglomération. Il est retrouvé dans 7 des 10 échantillons prélevés pour ces campagnes. Pour cette molécule, les rejets les plus importants (9118,2 g/j) sont observés au niveau du point « sortie CHU ».

Au niveau de la station d'épuration, seul le DDAC est retrouvé en entrée et aucune des trois molécules n'est présente en sortie.

Ainsi, pour le DDAC, si l'on compare les flux obtenus à la sortie du CHU à ceux obtenus en entrée de STEP, les rejets du CHU représentent 55 % des rejets. Le CHU serait alors le principal émetteur de cette substance à l'échelle de l'agglomération. Ces résultats sont en accord avec ce qui est généralement annoncé dans la littérature indiquant que les établissements hospitaliers seraient les principaux contributeurs des produits biocides désinfectants. Pour cette molécule, une présence dans les rejets domestiques laissant supposer une consommation de DDAC par les particuliers est observée. A partir de ces résultats, en considérant que les rejets domestiques représentent 80 % du débit d'entrée de STEP et en extrapolant les concentrations retrouvées dans le rejet type « domestique » à l'ensemble de ces rejets, les particuliers rejetteraient 14 % du DDAC retrouvé en entrée de STEP.

V.2 Evaluation des rejets de biocides au niveau du CHU de Poitiers

L'évaluation des rejets issus des effluents du CHU a été réalisée à partir des mesures obtenues lors des campagnes C1 ; C2 et C3.

V.2.1 Paramètres physico-chimiques

Les paramètres physico-chimiques des effluents du CHU obtenus lors de ces campagnes sont reportés dans le tableau 14.

Ces paramètres varient peu entre les différentes campagnes. Il n'est pas possible de différencier un point particulier. L'effluent du CHU possède des caractéristiques en dessous des limites de déversement. Comparé à un effluent domestique, l'effluent hospitalier présente des valeurs de MES, DCO et DBO₅ plus faibles. Le rapport DBO₅/DCO pour le CHU laisse penser qu'il s'agit d'un effluent moyennement biodégradable alors que l'effluent domestique est biodégradable.

Ces résultats sont en accord avec ce qui est généralement présenté dans la littérature. Ces caractéristiques font que, pour le traitement des eaux, d'un point de vue législatif, les centres hospitaliers sont considérés comme des effluents domestiques et non industriels (mis à part les déchets spécifiques).

Tableau 14 : Paramètres physico-chimiques des effluents du CHU de Poitiers (Campagnes C1; C2 et C3, d'après les données du CHU, Véolia).

Point	Sortie de site	R1	R2	Laborit	Limite de déversement	Domestique (paragraphe V.1)
pH						
C1	8,5	8,5	8,1	8,1	5,5-8,5	7,6
C2	8,4	8,6	7,9	8,2		
C3	8,2	8,2	8,1	7,9		
MES en mg/L						
C1	270	140	140	50	600	550
C2	220	210	210	260		
C3	220	230	190	270		
DCO en mgO₂/L						
C1	500	510	380	260	2 000	1 180
C2	620	730	490	530		
C3	480	650	470	530		
DBO₅ en mgO₂/L						
C1	220	230	130	99	800	760
C2	250	260	190	200		
C3	190	320	200	210		
Rapport DBO₅/DCO						
C1	0,4	0,5	0,3	0,4	-	0,6
C2	0,4	0,4	0,4	0,4		
C3	0,4	0,5	0,4	0,4		
Débits en m³/j						
C1	1624	1024,8	367,1	232,0	-	-
C2	1175	744,1	230,6	200,3		
C3	1169	749,8	224,9	194,3		

V.2.2 Concentrations en biocides dans les effluents du CHU de Poitiers

Les résultats obtenus lors de l'analyse du DDAC, de le CHD et du BAPLA sont présentés dans la figure 23.

Les trois biocides ne sont pas détectables au niveau du point « Laborit » lors des campagnes C1 et C2. Les concentrations sont inférieures aux limites d'analyse (tableau 37 en annexe). Ces résultats sont en accord avec les données de consommations du centre hospitaliers Laborit obtenues dans le cadre du projet BIOTECH et ne révélant pas l'utilisation des molécules étudiées. En revanche, lors de la campagne C3, une quantité non négligeable (67,5 µg/L) de BAPLA est relevée, et une trace de DDAC est détectée. Cette campagne ayant eu lieu six mois après les deux premières, un nouveau bâtiment a été raccordé sur le réseau Nord au niveau du point de prélèvement dans cet intervalle de temps. Sa mise en service

a nécessité un nettoyage après travaux. Cette mise en service, durant la dernière campagne, pourrait expliquer la présence de BAPLA et de DDAC au niveau du point Laborit.

Pour les autres points de prélèvements, les concentrations de digluconate de chlorhexidine sont comprises entre 25,3 µg/L et 97,2 µg/L et celles du BAPLA entre 17,9 µg/L et 142,1 µg/L. Pour ces deux molécules, des concentrations plus importantes sont obtenues lors de la campagne C2 sans que cela puisse être expliqué. En revanche, des concentrations globalement similaires (de l'ordre de la trentaine de µg/L) entre les campagnes C1 et C3 sont retrouvées. En ce qui concerne le DDAC des valeurs similaires entre les trois campagnes sont mesurés en sortie de site (1648,5 ± 111,0 µg/L). Des valeurs plus dispersées sont trouvées en revanche pour les points R1 et R2 comprises entre 933,1 µg/L et 3250,1 µg/L.

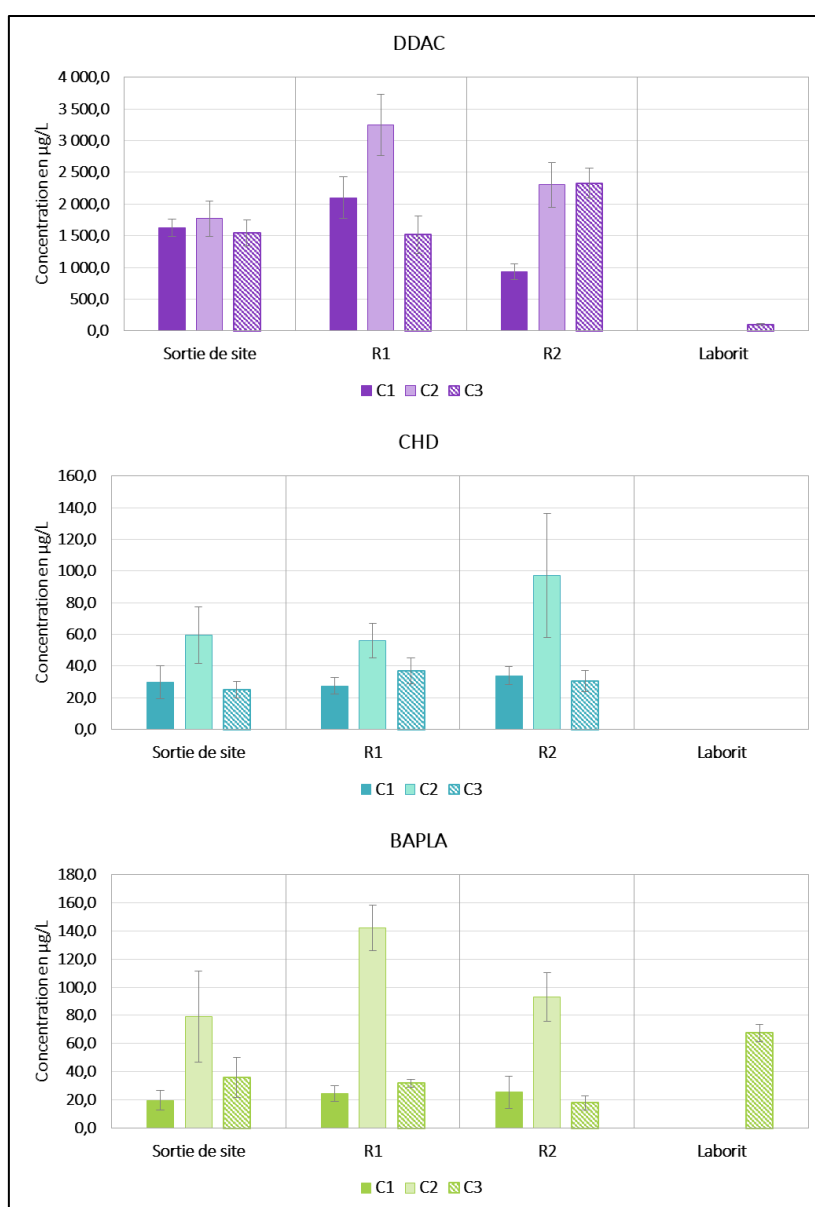


Figure 23 : Concentrations en DDAC, CHD et BAPLA au niveau des points de prélèvements du CHU de Poitiers.

V.2.3 Détermination des flux massiques de biocides.

Les flux massiques de biocides permettent d'évaluer les contributions de différents points de prélèvement, les comparer entre-eux mais aussi avec les quantités consommées par le CHU.

Les flux massiques peuvent être calculés selon la relation :

$$E'_{(\text{biocide})} = Q * [\text{biocide}] \quad (14)$$

Avec :

$E'_{(\text{biocide})}$: Flux massique d'un biocide, exprimé en g/j

Q : Débit en un point, exprimé en L/j

[biocide] : Concentration d'un biocide, exprimée en g/L, mesurée lors des campagnes terrains

L'incertitude sur le flux massique d'un biocide, exprimée en g/j est :

$$\Delta E'_{(\text{biocide})} = \left(\frac{\Delta Q}{Q} + \frac{\Delta C_{(\text{biocide})}}{C_{(\text{biocide})}} \right) * E'_{(\text{biocide})} \quad (15)$$

Avec :

$\frac{\Delta Q}{Q}$: Incertitude sur le débit. Elle est considérée égale à 5 %

$\frac{\Delta C_{(\text{biocide})}}{C_{(\text{biocide})}}$: Incertitude relative de la concentration d'un biocide déterminée lors de l'analyse des échantillons (paragraphe IV.1.3.3.2).

V.2.3.1 Bilan massique sur le site du CHU

Au regard du maillage du système de collecte des eaux usées du CHU, il est possible de considérer que les points de prélèvements situés sur le réseau Sud (point R1) et le réseau Nord (point R2 et Laborit) représentent la quasi-totalité des rejets retrouvés en sortie de site. Dans ces conditions le bilan massique (16) devrait être respecté :

$$E' (\text{sortie}) = \sum E' (R1, R2, Laborit) \quad (16)$$

Avec :

E' : flux massique en un point de prélèvement donné en g/j

De cette manière, pour chaque campagne et chaque molécule, la quantité journalière rejetée à la sortie du site peut être comparée aux quantités retrouvées au niveau des autres points. L'exploitation des résultats, présentés dans la figure 24 montre un bilan massique globalement respecté si l'on tient

compte des incertitudes calculées. Dans la plupart des cas (campagnes C1/C3 pour le DDAC et le BAPLA, campagnes C1/C2/C3 pour le CHD), une différence inférieure à 10 % est observée entre les quantités retrouvées au niveau des trois points et celles retrouvées en sortie de site.

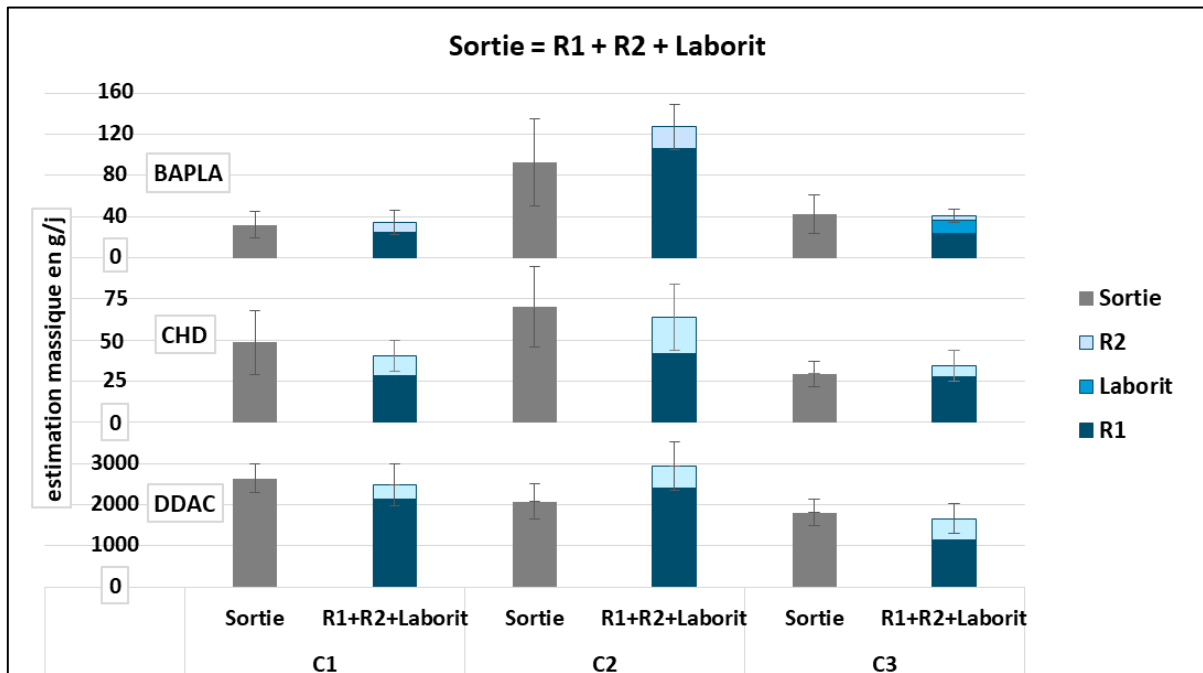


Figure 24 : Bilan massique entre les points réseaux et le point sortie de site du CHU (Campagnes C1; C2 et C3).

Lors de la troisième campagne des prélèvements asservis au débit ont été réalisés pour chaque point. Des écarts de 8,4 % et 7,7% sont observés respectivement pour le DDAC et le BAPLA entre la sortie de site et l'ensemble du système de collecte. Un écart un peu plus important est notable pour le digluconate de chlorhexidine (16,9%) mais reste acceptable compte tenu des incertitudes calculées. Par ailleurs, à partir de ces résultats, il peut être noté que le réseau 1 participe majoritairement aux rejets de biocides retrouvés en sortie de site : environ 60 % des rejets des trois molécules cibles retrouvés en sortie proviendraient de ce réseau.

Lors des deux premières campagnes, des prélèvements asservis au temps ou au débit ont été réalisés suivant les points (tableau 12). Dans ces conditions des écarts inférieurs à 10 % sont observés : pour le DDAC et BAPLA de la campagne C1 et le CHD de la campagne C2. Des écarts plus importants (entre 16 % et 42 %) sont retrouvés pour le CHD de la campagne C1 et le BAPLA et DDAC de la campagne C2. Toutefois, compte tenu des incertitudes, le bilan massique semble respecté dans son ensemble pour ces deux premières campagnes. Au regard de ces résultats et des concentrations en biocides obtenus lors des trois campagnes peu d'impact de la technique d'échantillonnage ne semble observé.

V.2.3.2 *Comparaison des quantités de biocides consommées et retrouvées dans les rejets*

V.2.3.2.1 Quantités de biocides consommées au CHU

Dans le cadre du projet BIOTECH, les quantités consommées des trois biocides ont pu être recueillies auprès du CHU. Ces quantités sont affichées dans le tableau 15. Dans cette partie, le point Laborit n'a pas été pris en compte en raison de l'absence de consommation des molécules étudiées au niveau du Centre Hospitalier Laborit et des rejets de biocides négligeables (ou très ponctuelles) retrouvées au niveau de ce point lors des campagnes. Pour les autres points, la méthodologie suivante a été utilisée pour estimer les quantités consommées : (i) Récupération des données de consommation des différents produits commerciaux contenant les molécules étudiées par les unités de soins auprès de la Direction des Ressources Matérielles, des Achats et de l'Ingénierie du CHU ; (ii) Estimation des quantités consommées par bâtiment selon la localisation géographique des différentes unités ; (iii) Estimation des quantités de molécules consommées au regard de la formulation des produits commerciaux par bâtiment puis par point de collecte/prélèvement sur le réseau des eaux usées de l'hôpital.

Tableau 15 : Donnés de consommations du DDAC, du CHD et du BAPLA au niveau du CHU (Données obtenues dans le cadre du projet BIOTECH).

Molécule		DDAC			CHD			BAPLA		
Utilisation - CHU de Poitiers		Détergent - désinfectant de surface et de l'instrumentation			Détergent - désinfectant de l'instrumentation			Détergent - désinfectant de surface		
Points de réseau		R1	R2	Sortie	R1	R2	Sortie	R1	R2	Sortie
Détails des consommations* en kg du 01/11/2015 au 31/03/2016	détergent - désinfectant de surface	9,6	13,6	23,2	-	-	-	17,9	22,6	40,5
	détergent - désinfectant de l'instrumentation	88,1	233,2	321,3	-	-	-	-	-	-
	soluscope C	1,3	3,7	5,0	1,0	2,7	3,7	-	-	-
	désinfectant du linge	18,7	-	18,7	-	-	-	-	-	-
	total	117,7	250,5	368,2	1,0	2,7	3,7	17,9	22,6	40,6
Estimation des consommations journalières* en g/j	pour une activité de 5j/7	1091,5	2318,9	3410,7	9,3	24,6	33,9	165,8	209,0	374,8
	pour une activité de 7j/7	774,7	1648,1	2422,8	6,6	17,5	24,1	118,0	148,6	266,6
	moyenne	933,1 ± 224,0	1983,7 ± 474,5	2916,8 ± 698,6	8,0 ± 1,9	21,1 ± 5,1	29,0 ± 6,9	171,9 ± 33,8	178,8 ± 42,8	320,7 ± 76,5
Consommation	en t/an - France *	1000,0			150,0			400,0		
	en t/an - CHU - Poitiers**	0,9 ± 0,3			0,01 ± 0,003			0,1 ± 0,03		

* d'après les Laboratoires Anios

** d'après l'étude CHU réalisée du 01/11/2015 au 31/03/2016 (Deborde *et al.*, 2016)

Au niveau de l'hôpital, les consommations en biocides sont relativement constantes sur l'année. A partir de ce travail, réalisé du 1^{er} novembre au 31 mars, la consommation journalière théorique en g/j a été estimée (tableau 15). Pour cela deux approches ont été entreprises : (i) l'une sur la base d'une consommation constante sur 7 jours par semaine (ii) l'autre en ne considérant que 5 jours d'utilisation des produits par semaine au regard de la baisse d'activité des week-ends (samedi-dimanche. Les deux valeurs de consommation journalières obtenues ont été moyennées.

Au niveau du CHU de Poitiers, ces molécules sont utilisées dans tous les services de l'établissement : le DDAC en tant que détergent-désinfectant de l'instrumentation médicale, du linge et des surfaces, le CHD en tant que détergent-désinfectant pour l'instrumentation médicale et en tant qu'antiseptique pour la peau, et le BAPLA en tant que détergent-désinfectant pour surface.

Lors de la réalisation de ce travail, pour l'ensemble des molécules, seules les quantités utilisées pour la désinfection des surfaces, de l'instrumentation et du linge ont été prises en considération. Les quantités consommées pour un usage antiseptique ont été exclues en raison de leur utilisation plus fluctuante (i.e. dépendante des soins réalisés) et difficilement quantifiable.

V.2.3.2.2 Comparaison des quantités consommées et retrouvées dans les rejets

Les figures 25 à 27 comparent les quantités journalières retrouvées dans les rejets avec les quantités consommées estimées pour chaque composé.

Dans le cas du CHD (figure 25), des quantités comparables voire supérieures aux estimations des consommations sont retrouvées dans les rejets (notamment à la sortie du site et au point R1, au niveau desquels 100-242% et 340-500% de ce qui est consommé serait retrouvé).

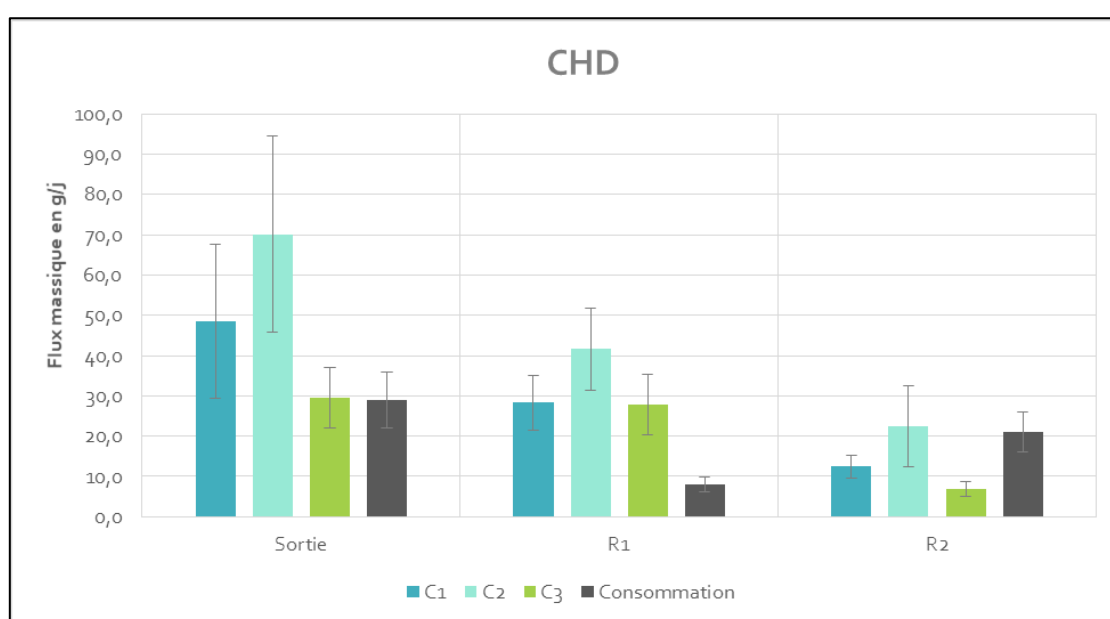


Figure 25 : Comparaison des quantités consommées de CHD et des quantités retrouvées dans les rejets au niveau du CHU.

Le CHD est utilisé en tant que désinfectant de l'instrumentation mais aussi en tant qu'antiseptique pour la peau. Les écarts importants entre les quantités retrouvées dans les rejets et les quantités consommées pourraient donc s'expliquer par l'usage antiseptique du CHD non pris en considération dans les estimations des consommations. Au niveau de l'hôpital de Poitiers, de fortes consommations de CHD, de l'ordre de 67 kg/an (sous forme de savon antiseptique et de bain de bouche notamment) sont utilisées pour un usage antiseptique. Ainsi, au vu de ces résultats, les consommations dues à l'usage antiseptique pourraient contribuer significativement à la présence de CHD dans les rejets et se retrouveraient majoritairement dans les effluents par rapport à l'usage détergent/désinfectant.

Concernant le DDAC, 60 % à 90 % des consommations se retrouveraient en sortie du site (figure 26). Toutefois, des profils différents sont observés au niveau des deux points des réseaux. Les quantités retrouvées au niveau du point R2 sont inférieures et représentent environ 25 % des quantités consommées, alors qu'au point R1, des quantités comparables voire supérieures aux consommations ont été observées dans les rejets. Le DDAC est utilisé comme détergent-désinfectant de l'instrumentation, détergent-désinfectant de surface et désinfectant du linge. Les différences observées, à la sortie bâtiment principal du CHU (point R2), pourraient en partie s'expliquer par l'adsorption du DDAC sur les surfaces, l'instrumentation mais aussi sur les supports textiles utilisés pour l'entretien des sols et des surfaces. Dans ces conditions, la totalité des quantités de DDAC consommées ne serait donc pas rejetées dans le réseau d'eaux usées.

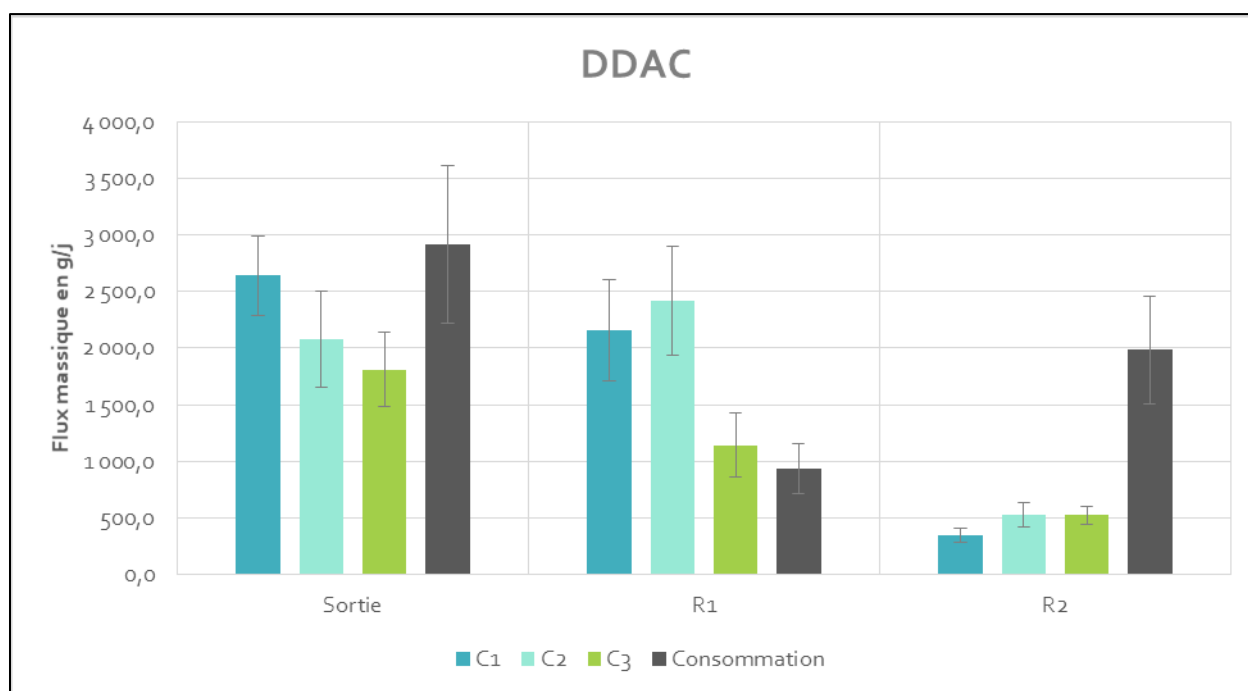


Figure 26 : Comparaison des quantités consommées de DDAC et des quantités retrouvées dans les rejets au niveau du CHU.

D'autre part, cette molécule pourrait également s'adsorber sur les matières en suspension dans le réseau. Seule, une partie se retrouverait alors dans la phase aqueuse analysée. Au niveau du point R1, les eaux usées de la blanchisserie sont récupérées en plus des rejets du pôle de cancérologie, de la pharmacie centrale et des services de gériatrie, pneumologie et cardiologie. A ce niveau, le linge et les textiles utilisés pour l'entretien et la désinfection sont récupérés et lavés. Lors du nettoyage, une certaine quantité de DDAC adsorbée sur les textiles pourrait alors être relarguée, hypothèse également émise par Kreuzinger *et al.* (2007). De plus un apport extérieur de DDAC a lieu. En effet, la blanchisserie du CHU récupère du linge provenant d'autres établissements dont certains qui utilisent également les molécules étudiées. Un plus grand flux de DDAC serait alors rejeté à ce point du réseau.

Pour le BAPLA, les quantités retrouvées dans les rejets sont bien inférieures aux quantités consommées, pour les trois points de prélèvements (figure 27). Seulement 10 à 30 % de ce qui est consommé serait en effet observé dans les rejets à la sortie du site. Ce composé est essentiellement utilisé pour la désinfection des surfaces au niveau du CHU. Comme pour le DDAC, de par son fort potentiel absorbant, cette molécule pourrait s'adsorber sur les surfaces et les supports textiles servant à l'entretien, en plus de son adsorption possible sur les matières en suspension dans les rejets.

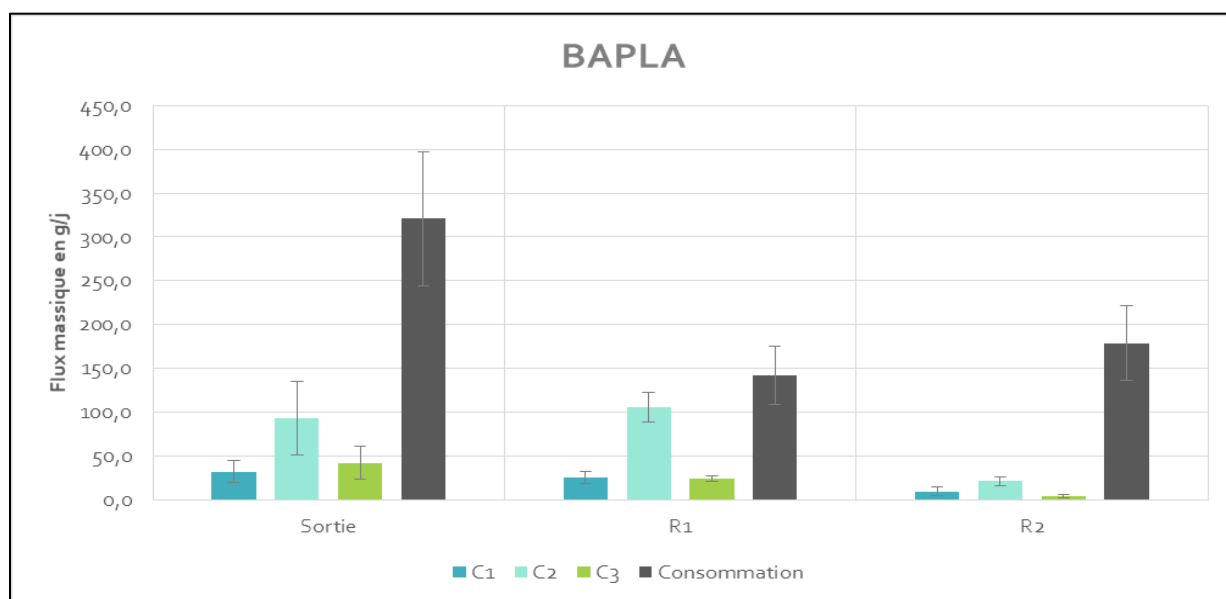


Figure 27 : Comparaison des quantités consommées de BAPLA et des quantités retrouvées dans les rejets au niveau du CHU.

En outre, lors de l'utilisation de cette molécule, les pratiques hygiénistes diffèrent de celles employées pour le DDAC. Par exemple, aucun rinçage n'est réalisé après l'utilisation de ce composé. En proportion, une quantité plus importante de BAPLA resterait adsorbée sur les surfaces nettoyées et ne serait donc pas directement rejetée dans le réseau. De surcroît, pour ce composé, dans les pratiques de l'hôpital, il est recommandé de préparer au plus juste les quantités nécessaires à l'imprégnation des textiles destinés aux tâches de nettoyage envisagées. Un minimum de produit est alors rejeté avec les eaux

usées. Enfin, comme pour le DDAC, une proportion un peu plus importante est rejetée au niveau du réseau 1 vraisemblablement en raison du nettoyage des textiles utilisés pour l'entretien des surfaces et de la récupération de linge provenant d'autres établissements.

En conclusion, les résultats obtenus pour ces trois campagnes tendent à montrer que le point de prélèvement R1 contribuerait significativement aux rejets des trois produits biocides recherchés. Au niveau de ce réseau dont le débit représente 63,1 % à 64,1 % du débit de sortie CHU, la blanchisserie pourrait particulièrement participer à ces rejets suite au relargage des molécules lors du nettoyage des textiles. Lors de ces campagnes, il n'était pas possible d'isoler les flux de ce bâtiment pour vérifier expérimentalement cette hypothèse du fait de difficultés techniques (préleveurs). Cependant au cours de l'étude, les activités de la blanchisserie ont été déplacées et des prélèvements réalisés à la sortie de la nouvelle blanchisserie ont confirmé la présence significative de ces molécules dans les rejets (DDAC : 2090,7 - 7098,2 µg/L, CHD : 28,3 - 100,0 µg/L, BAPLA : < LQ – 103,7 µg/L). Ces résultats sont en accord avec les études de Kern *et al.* (2013, 2015) qui indiquent que les blanchisseries sont des bâtiments majoritairement à l'origine de l'émission d'effluents écotoxiques du fait d'importants taux de DCO (ici : 510 mgO₂/L à 730 mgO₂/L), de DBO₅ (ici : 230 mgO₂/L à 320 mgO₂/L) et de matières organiques mais aussi de produits désinfectants et détergents.

V.3 Variation des rejets de biocides au cours d'une journée

Afin de préciser la problématique liée aux rejets des biocides, nous avons suivi dans les effluents du CHU et de la STEP la variation des rejets biocides au cours d'une journée d'activité. Les résultats sont basés sur les mesures obtenues lors des campagnes C4 et C5.

V.3.1 Paramètres physico-chimiques

Les valeurs de DCO, DBO₅, MES et pH au niveau du CHU (tableau 38 en annexe) sont comparables aux valeurs obtenues en entrée de STEP (tableau 39 en annexe) et présentent peu de différence avec les valeurs observées lors des précédentes campagnes. Au cours de la journée, le pH reste stable tant au niveau du CHU (pH = 8,0 ± 0,03) ou de la STEP (pH = 7,5 ± 0,02). Cette faible variation est également constatée par Boillot *et al.* (2008) et Emmanuel *et al.* (2004) sur d'autres hôpitaux. Pour les autres paramètres (DCO et MES), des valeurs légèrement plus faibles semblent être observées durant la nuit (i.e. entre 22h et 6h) quel que soit le point de prélèvement considéré. Au niveau du CHU et en entrée de STEP, des rapports DBO₅/DCO comparables allant de 0,2 à 0,6 ont été obtenus pour tous les prélèvements.

En terme de débits (figure 28), au CHU, les débits sont maximaux pour les périodes comprises entre 9h-10h et 13h-14h, diminuent de moitié durant la période 17h-18h et sont les plus faibles pendant la période nocturne (00h-01h).

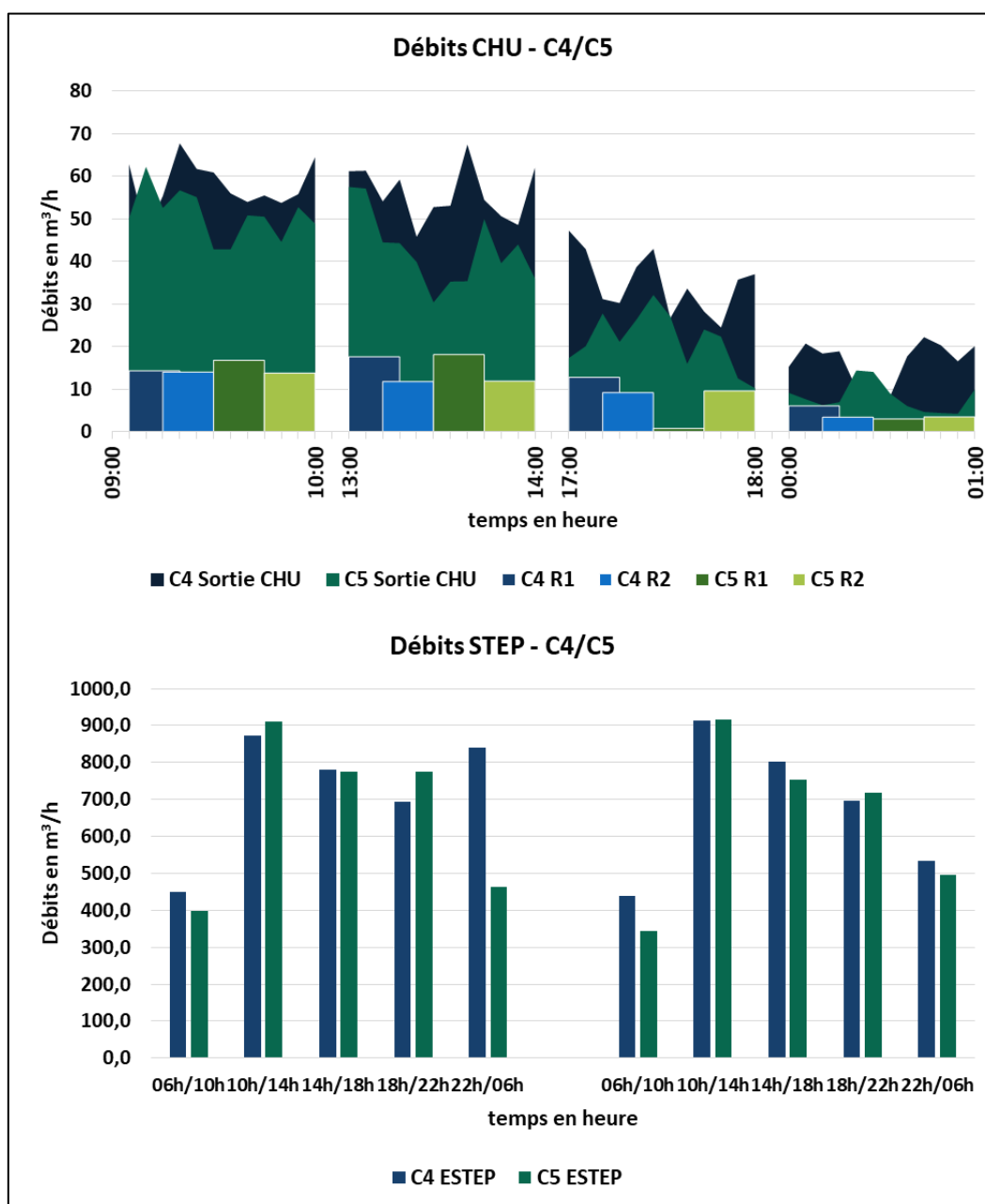


Figure 28 : Débits mesurés sur les différents créneaux horaires des activités du CHU.

Cette variation, également observée par Altin *et al.* (2003) ; Boillot *et al.* (2008) et Verlicchi *et al.* (2010), peut clairement s'expliquer par le changement des activités hospitalières en cours de journée (i.e. début et arrêt des soins et des visites, activité réduite la nuit). Au niveau de la STEP, une diminution des débits est également observée sur le créneau 6h-10h.

V.3.2 Suivi de l'écotoxicité

L'écotoxicité des effluents de la STEP, tout comme ceux du CHU, varie peu au cours d'une journée d'activité (figure 29).

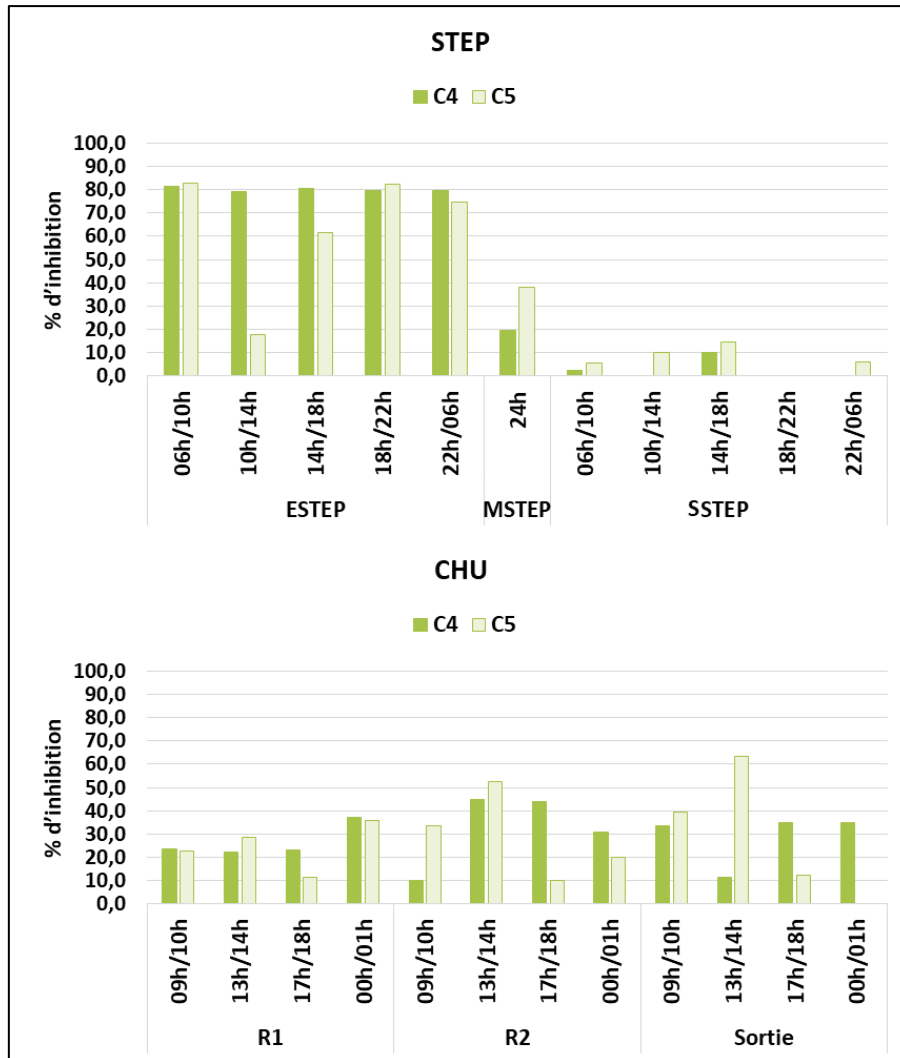


Figure 29 : Pourcentage d'inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri* observée au niveau de la STEP et du CHU pour une dilution au 1/10 de l'échantillon (pas de dilution pour MSTEP et SSTEP).

Seule une légère variation au point R2 de l'effluent du CHU semble être constatée et se rapproche des observations faites par Boillot *et al.* (2008) qui constatent que le plus fort potentiel toxique des effluents su *Vibrio fischeri* est observé entre 9h et 13h. L'écotoxicité des effluents en entrée de STEP est plus importante qu'au niveau du CHU. L'effluent de l'ESTEP dilué au dixième provoque jusqu'à 83 % d'inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri* alors que pour la même dilution, l'effluent du CHU ne provoque que 63 % d'inhibition au maximum. En milieu et en sortie de STEP une nette diminution de l'écotoxicité est observée.

V.3.3 Variation temporelle des rejets en biocides

V.3.3.1 Variation des concentrations

Les concentrations en biocides obtenues lors de ces campagnes sont présentées dans la figure 30 et les tableaux 41 et 41 (en annexe).

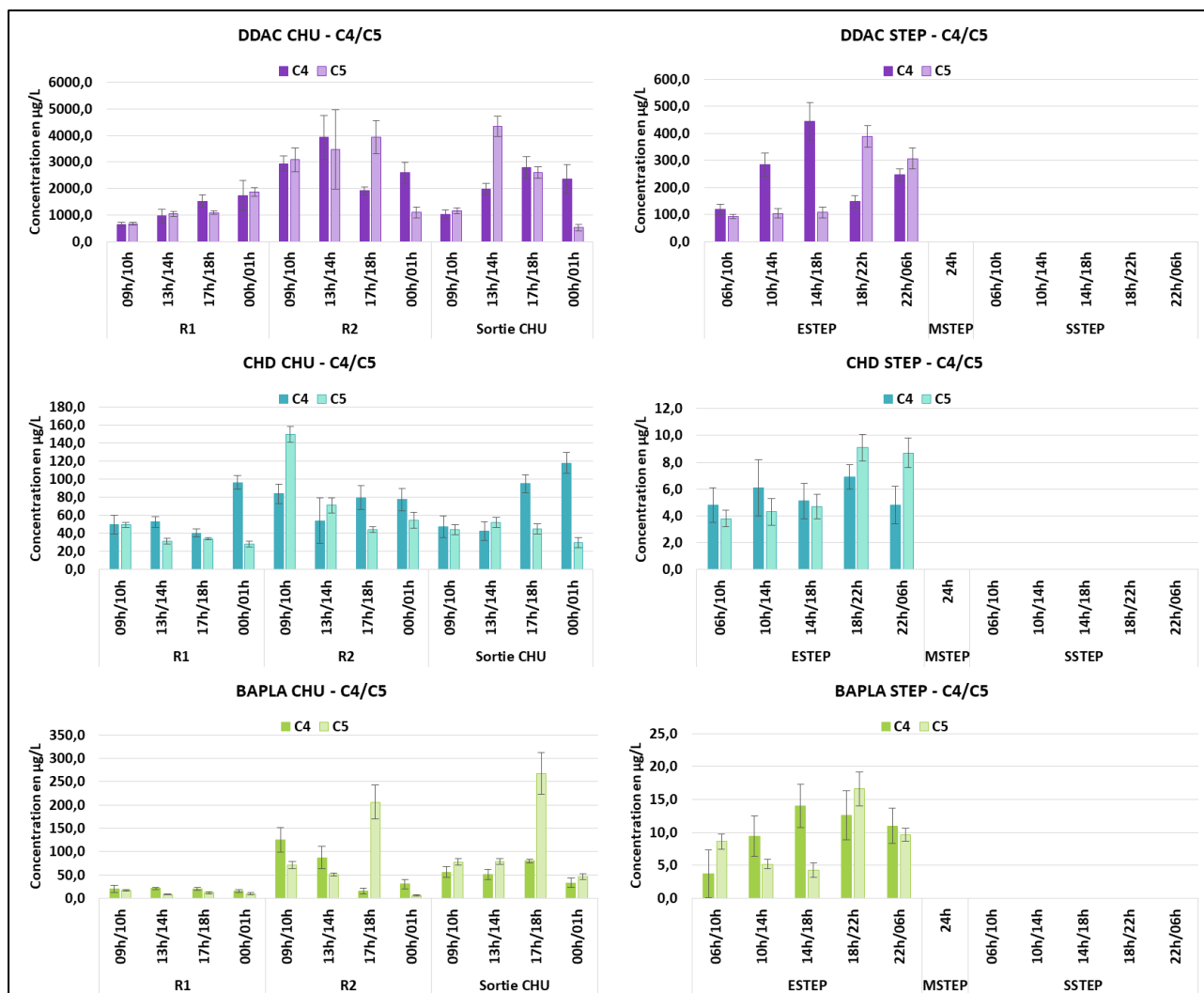


Figure 30 : Concentrations en DDAC, CHD et BAPLA retrouvées dans les rejets lors d'une journée d'activité du CHU et à la STEP.

Au CHU, des concentrations comprises entre 638,4 µg/L et 3939,4 µg/L pour le DDAC, 27,9 µg/L et 149,9 µg/L pour le CHD et de < LQ à 267,5 µg/L pour le BAPLA sont observées. En sortie de site, les concentrations retrouvées sont comparables à celles des campagnes précédentes mais des concentrations plus importantes sont observées au point R2 qu'au point R1. Cette tendance, non précédemment observée lors des campagnes C1 à C3 pourrait en grande partie s'expliquer par les remaniements au niveau des services et des bâtiments réalisés au niveau du site (tableau 12). Lors de ces dernières campagnes, contrairement aux précédentes, les rejets d'eaux usées par les services de pneumologie, de cancérologie et la blanchisserie ne sont en effet plus collectés au niveau du point R1.

Quel que soit le point de prélèvement considéré, les trois biocides sont retrouvés dans les rejets au cours des prélèvements en journée mais aussi pendant la nuit. En accord avec les données de Tluczkiewicz *et al.* (2010) et Verlicchi *et al.* (2010), une émission continue en biocides sur 24h est donc observée. A ce niveau peu de fluctuation des concentrations en biocides est observée dans les rejets sur 24h. Concernant la sortie des hôpitaux, pour le CHD des valeurs comparables à celles obtenues par Matsushima et Sakurai (1984) sont observées alors que le DDAC est 10 fois plus concentré par rapport aux valeurs annoncées par Kreuzinger *et al.* (2007) et Verlicchi *et al.* (2015).

Les trois biocides recherchés sont également présents en entrée de la station d'épuration. Des concentrations de 103,9 µg/L à 444,5 µg/L pour le DDAC, de 3,8 µg/L à 9,1 µg/L pour le CHD et de < LQ à 16,6 µg/L pour le BAPLA sont retrouvées. Si l'on considère que le CHU est le principal émetteur de ces substances au niveau de l'agglomération de Poitiers, ces valeurs restent cohérentes par rapport au taux de dilution des effluents du CHU en entrée de STEP. Par temps sec, environ 6 % à 8 % du volume d'eau en entrée de STEP correspond en effet aux effluents du CHU.

En entrée de STEP, les concentrations de DDAC et de CHD obtenues sont supérieures à celles annoncées dans la littérature (tableau 5, paragraphe III.2.5, chapitre I). Ces concentrations sont inférieures aux valeurs des PNECs (concentrations sans effets prédits dans l'environnement) des boues de stations d'épuration (tableau 4 paragraphe III.2.3) et n'auraient pas d'impact sur le bon fonctionnement de la station d'épuration (même si les concentrations en DDAC se rapprochent de la PNEC déterminée de 254 µg/L).

Au milieu et en sortie de STEP, les concentrations des trois biocides sont inférieures aux limites de détection. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Östman *et al.* (2017) pour le CHD. Dans le cas du DDAC, des concentrations de l'ordre de 10 ng/L et de 1 ng/L ont été retrouvées par Martínez-Carballo *et al.* (2007a, 2007b) et Kreuzinger *et al.* (2007) en sortie de STEP. Ces concentrations sont en dessous des limites de détection établies pour ces campagnes. Pour ces deux campagnes, des rendements d'élimination minimaux de 90-92% pour le DDAC, 82-84% pour le CHD et 85-94% pour le BAPLA seraient donc observés. Des phénomènes de dégradation et/ou d'adsorption peuvent donc être envisagés.

V.3.3.2 Evolution journalière des débits massiques

La figure 31 présente les variations temporelles des quantités de biocides émises à la sortie du site du CHU tout en prenant en compte l'absence d'activité de la blanchisserie sur le réseau Sud et au point de prélèvement R1.

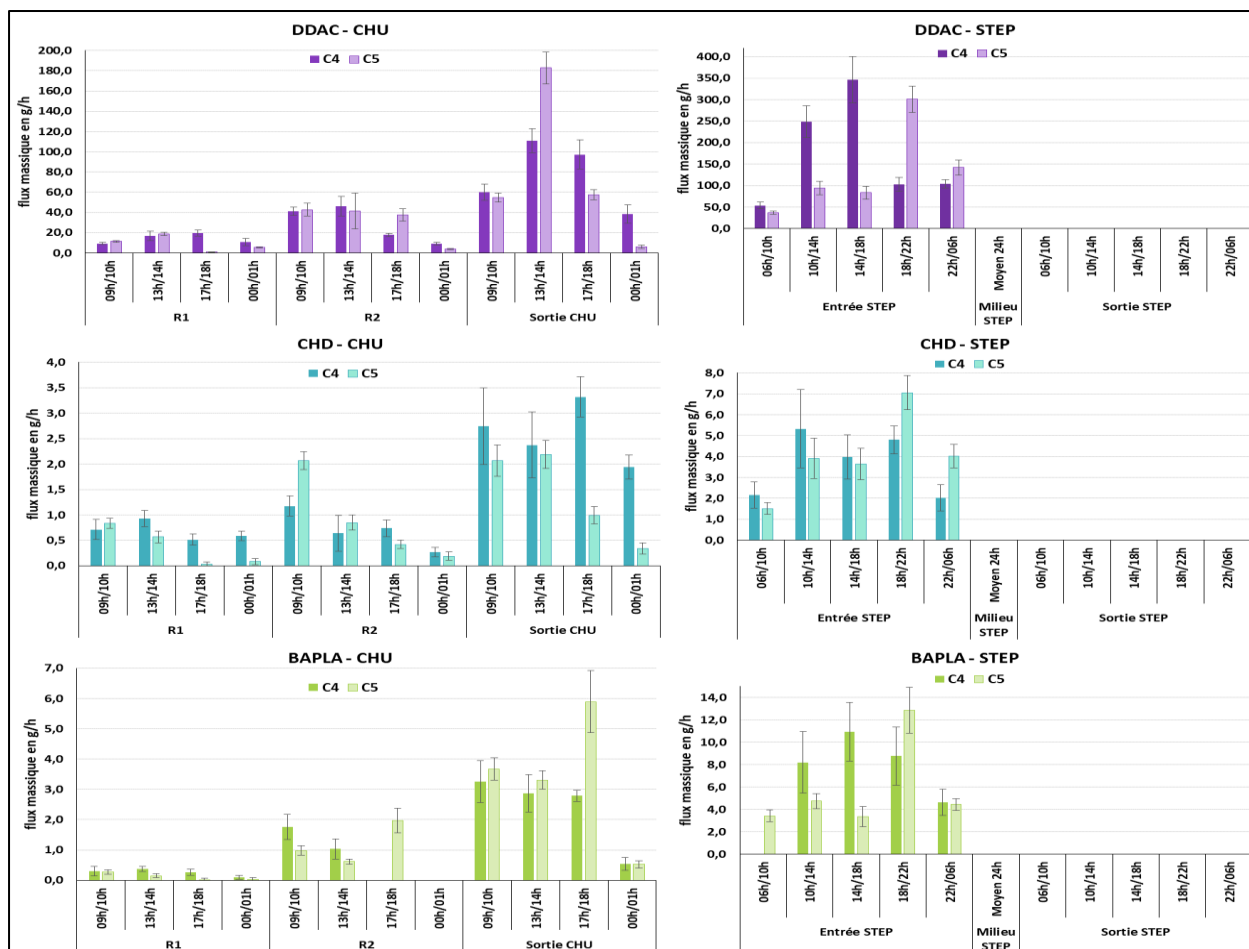


Figure 31 : Flux massiques de DDAC, de CHD et de BAPLA au CHU et à la STEP selon différents créneaux horaires.

Les campagnes au CHU montrent que l'émission des biocides est continue sur 24h. Cependant, les flux en biocides ne sont pas constants sur une journée. Ainsi, à la sortie du site, les plus petites quantités émises (5,9 g/h – 38,9 g/h pour le DDAC, 0,3 g/h – 1,9 g/h pour le CHD et 0,5 g/h pour le BAPLA) sont observées durant la nuit (sur le créneau 00h-01h) alors que le maximum des rejets (DDAC, CHD et BAPLA respectivement 54,7 g/h – 182,7 g/h, 1,0 g/h – 3,3 g/h et 2,8 g/h – 5,7 g/h) est atteint en journée durant la période de plus forte activité de nettoyage des surfaces et de désinfection au niveau du site.

Pour le BAPLA, servant essentiellement au nettoyage et à la désinfection des surfaces, seule l'activité ménagère est responsable de ces rejets. Cette activité étant régulière de 9h-18h, les rejets sont relativement constants sur cette période ($3,6 \pm 1,1$ g/h à la sortie du site) et plus faibles sur le créneau 00h – 01h.

Dans le cas du DDAC, employé pour le nettoyage et la désinfection des surfaces ainsi que pour la désinfection de l'instrumentation et du linge, un pic de rejet en journée sur la période de 13h-14h peut être noté lors des deux campagnes en sortie de site. Ce pic pourrait en partie s'expliquer par la fin de l'activité des blocs opératoires majoritairement réalisée en matinée (de 9h à 14h). Ponctuellement, de

plus fortes quantités de DDAC pour la désinfection des locaux et de l'instrumentation seraient alors consommées.

Enfin, le CHD est rejeté de façon relativement constante de 9h à 18h. Ce produit est utilisé pour la désinfection de l'instrumentation mais est également en tant qu'antiseptique pour la peau. Ces activités se superposant sur la période de 9h à 18h, il est difficile de les différencier dans les rejets de CHD. Pour ce composé, les rejets sont moins atténués la nuit que pour les autres molécules (i.e. entre 15 % et 75 % environ des rejets journaliers pour la sortie de site).

En entrée de la station d'épuration, de plus grandes quantités de biocides sont retrouvées sur le créneau 10h-22h. Cette période correspond, au niveau de l'agglomération, à la période de plus grande activité humaine.

Conclusion

Après s'être assuré que les biocides étaient quantifiés correctement par UHPLC-MS et avoir déterminé les limites de quantification de ces derniers, les biocides étudiés ont été recherchés dans un premier temps au niveau de l'agglomération, du CHU et de la STEP de Poitiers. Le DDAC, le CHD et le BAPLA sont retrouvés à la sortie du CHU et à l'entrée de la station d'épuration. En revanche, ces composés n'ont pas été observés en sortie de STEP laissant envisager une bonne élimination de ces composés au niveau de la STEP. Sur l'agglomération, c'est le milieu hospitalier qui semble rejeter les plus grandes quantités de biocide dans les effluents.

Au niveau du CHU, un premier bilan massique a permis de comprendre l'évolution des rejets en fonction des utilisations de ces molécules et de les comparer avec les données de consommation. Cette comparaison montre que selon l'utilisation de la molécule, les quantités rejetées sont plus ou moins importantes par rapport aux quantités consommées et que les pratiques d'utilisation de ces dernières ont des impacts significatifs sur leurs rejets, ce qui est encourageant dans l'optique de la mise en place de pratiques plus économiques et moins polluantes.

En détaillant les rejets de ces biocides au cours d'une journée, les résultats obtenus montrent que globalement en sortie de site, les biocides sont rejetés de manière continue sur une période de 24 h. Les quantités rejetées les plus importantes ont lieu en début de journée (matin et midi) alors qu'en fin de soirée, la baisse d'activité du CHU, entraîne une baisse des quantités rejetées. Ces informations sont relativement importantes afin de dimensionner au mieux les traitements chimiques ou physiques d'effluents qui peuvent être mis en place directement sur site.

DEVENIR DES BIOCIDES

L'objectif de cette partie est de mieux comprendre le devenir des trois biocides étudiés dès lors qu'ils se trouvent dans les effluents hospitaliers et jusqu'à ce qu'ils atteignent la station d'épuration. Ces biocides sont en effet susceptibles de réagir avec leur environnement : dégradation, interaction chimiques ou physiques (particules, micro-organismes,...).

Ainsi, dans cette partie, trois interactions susceptibles d'être observées dans les rejets sont étudiées. Afin d'obtenir une vision plus simplifiée des phénomènes observés, les expériences se déroulent en laboratoire et plusieurs matrices sont utilisées : une eau de distribution prélevée au robinet et une eau usée prise comme référence.

Dans un premier temps, il est question d'évaluer la stabilité des biocides. Dans un second temps, l'interaction des biocides avec les matières en suspension est étudiée. Enfin, compte tenu des quantités de chlore potentiellement présentes dans un effluent hospitalier, dues aux protocoles de désinfection des locaux employés, et des réactions possibles entre certains groupements fonctionnels des biocides et le chlore (Chapitre III, paragraphe III.1.1), l'impact du chlore sur les biocides est également étudié.

Chapitre VI : Matériels et Méthodes

VI.1 Conditions expérimentales

VI.1.1 Matrices de travail

Dans cette partie, les travaux ont été réalisés sur deux matrices différentes. La première matrice, apparentée à une matrice de charge organique faible, était une eau de distribution prélevée au robinet (EDR). La deuxième matrice, complexe, était une eau d'entrée de station d'épuration (ESJ).

L'eau ESJ a été prélevée en entrée de station d'épuration dans le déshuileur/désableur, sur la commune de Saint-Julien-l'Ars, à proximité de l'agglomération de Poitiers. Ses paramètres physico-chimiques sont du même ordre de grandeur que ceux de l'eau usée du CHU (tableau 16). Cette eau ne contient pas les molécules cibles.

Tableau 16 : Comparaison des paramètres physico-chimiques et les concentrations en DDAC, CHD et BAPLA entre la matrice du CHU et la matrice ESJ.

Paramètres	Sortie CHU (Campagnes C1 ; C2 ; C3)	ESJ
DBO ₅ en mgO ₂ /L	99 – 320	400
DCO ₅ en mgO ₂ /L	480 – 620	790
MES en mg/L	220 – 270	330
pH	8,2 – 8,5	7,7
CHD en µg/L	25,3 – 59,7	< 3,2
BAPLA en µg/L	19,8 – 79,1	< 7,1
DDAC en µg/L	1550,0 – 1768,8	< 19,2

VI.1.2 Concentrations de dopages en molécules cibles

Afin de se placer dans des conditions similaires à celles observées au niveau du CHU (campagnes C1 ; C2 ; C3), sauf cas contraires précisés, les dopages en molécules cibles ont été fixés à 100 µg/L pour le BAPLA et le CHD et à 2000 µg/L pour le DDAC.

VI.2 Protocoles expérimentaux

VI.2.1 Stabilité

Les expériences sur l'hydrolyse et la stabilité des biocides ont été réalisées sur la matrice ESJ. Le protocole est résumé dans la figure 32.

La veille de l'expérience, un prétraitement de la matrice de travail a été réalisé pour éliminer les MES : 100 mL de matrice ont été prélevés puis centrifugés à 10 000 trs/min pendant 10 min. La fraction liquide a ensuite été récupérée et filtrée sur filtre en acétate de cellulose de porosité de 0,45 µm.

Après prétraitement de la matrice, 50 mL de filtrat ont été transférés dans un flacon en verre puis dopés avec un mélange des trois biocides. A intervalle de temps régulier (toutes les 2 heures pendant 6 heures), 200 µL de ce flacon ont été prélevés puis dilués dans de l'eau purifiée de grade analytique avant d'être analysés par UHPLC-MS dans les conditions décrites dans le chapitre IV, paragraphe IV.1.3.

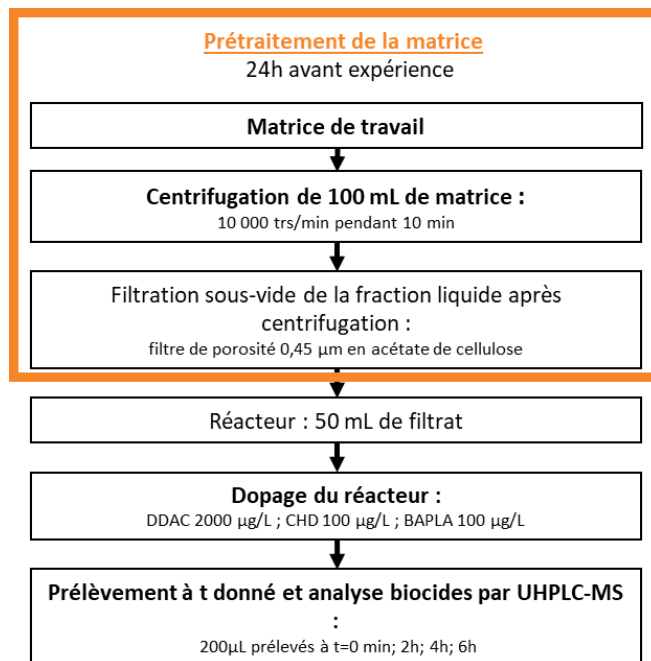


Figure 32 : Protocole employé pour l'évaluation de la stabilité des biocides.

VI.2.2 Chloration

Les manipulations concernant la partie chloration de ce chapitre ont été réalisées sur les matrices EDR et ESJ. Dans cette partie, l'étape de prétraitement de la matrice ESJ était commune à celle des expériences d'hydrolyse (paragraphe VI.2.1). Toutefois, dans le cas de l'eau du robinet, seule une étape de filtration a été utilisée. Elle permettait l'élimination du chlore résiduel éventuel avant la réalisation de la manipulation.

De plus, comme au niveau du CHU deux protocoles de chloration sont employés (i.e. avec de l'eau de Javel ou du dichloroisocyanurate de sodium), l'impact de ces deux désinfectants sur les biocides a été étudié dans cette partie.

VI.2.2.1 *Suivi de la dégradation des biocides par le chlore*

VI.2.2.1.1 Choix des concentrations en chlore disponible

Les données de consommation du CHU en chlore, fournies par le CHU de Poitiers dans le cadre du projet BIOTECH et présentées dans le tableau 17, ont permis d'estimer les concentrations maximales de chlore

susceptibles de se retrouver dans les rejets. D'après ces valeurs, pour la suite des manipulations, un dopage en chlore disponible fixé à 4 mg/L a été choisi.

Pour obtenir 4 mg/L de chlore disponible avec le dichlorisocyanurate de sodium, il a été nécessaire de doper à une concentration de 6,19 mg/L en DCCNa.

Tableau 17 : Quantités consommées et estimations des quantités rejetées de chlore au niveau du CHU de Poitiers, d'après l'étude CHU (projet BIOTECH).

	Forme de chlore consommé	Sortie CHU	Réseau Sud	Réseau Nord
Quantités de chlore consommées	Eau de Javel 2,6 % (en L)	28 012	27 404	608
	Eau de Javel 30 % (en L)	2 160	2 160	
	Extrait d'eau de Javel 9,6 %	4 560		
	Pastilles de Dichloroisocyanurate de sodium contenant 1,73 g de chlore actif	50 250	3 300	46 950
Quantités de chlore susceptibles de se retrouver dans les rejets	En g/an	1 915 541	1 395 114	70 401
	Concentrations moyennes* en mg/L	3,9 - 5,5	4,5 - 6,3	0,7 - 1,0

*Concentrations estimées en considérant la moyenne des débits retrouvés au niveau de ces différents points lors des campagnes C1, C2 et C3 et une consommation sur 5 à 7 jours. (Chapitre V, paragraphe V.2.3.2.1).

VI.2.2.1.2 Protocole

Pour chaque expérience, 50 mL de matrice préparés comme décrit précédemment (figure 32) ont été transférés dans un flacon en verre, dopés avec un mélange des trois biocides puis avec du chlore (issu d'une solution d'hypochlorite de sodium ou de dichloroisocyanurate de sodium). A intervalle de temps régulier (t = 0 min, 30 min, 1h, 2h, 3h, 4h, et enfin 6h), 200 µL de ce flacon ont été prélevés puis directement analysés par UHPLC-MS après dilution dans de l'eau purifiée de grade analytique selon les conditions décrites dans le chapitre IV, paragraphe IV.1.3. Le protocole est résumé dans la figure 33.

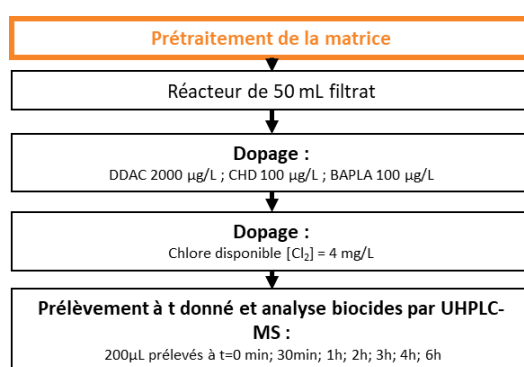


Figure 33 : Protocole employé pour le suivi de la dégradation des biocides par le chlore.

Dans ces conditions, l'arrêt de la réaction de chloration s'est fait lors de l'injection de l'échantillon sur la colonne chromatographique. A titre de comparaison, quelques expériences avec ajout de thiosulfate de sodium avant analyse UHPLC-MS ont été réalisées. Dans ces conditions, des résultats comparables ont été obtenus.

VI.2.2.2 Identification des produits de dégradation et suivi de l'écotoxicité

Pour cette partie, pour faciliter l'identification des produits de transformation, des concentrations plus importantes de biocides ont été employées (5 mg/L). Différents flacons contenant 10 mL de matrice précédemment préparée ont été dopés en biocide puis en chlore (hypochlorite de sodium ou dichloroisocyanurate de sodium) à des concentrations en chlore disponible allant de 0 mg/L à 21,6 mg/L. Après consommation du chlore résiduel (temps de contact de 48h), les échantillons dilués ont été analysés pour quantification des biocides résiduels par UHPLC-MS dans les conditions décrites dans le chapitre IV, paragraphe IV.1.3. L'écotoxicité a été mesurée par le test d'inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri* tel que décrit dans le paragraphe VI.3.2 ci-après. Des échantillons ont été également envoyés au Laboratoire de Chimie Moléculaire (LCM), partenaire du projet BIOTECH pour la recherche et l'identification de produits de transformation.

VI.2.3 Adsorption des biocides sur les MES

Dans cette partie, les expériences ont été effectuées avec la matrice ESJ non filtrée et non centrifugée dans un flacon en verre (de capacité 500 mL) et sous agitation permanente (plateau d'agitation). Ce flacon a été dopé en biocides. Puis à intervalles de temps réguliers, 10 mL de ce réacteur ont été prélevés et centrifugés à 10 000 trs/min pendant 5 minutes. Le surnageant a été analysé par UHPLC-MS dans les conditions décrites dans le chapitre IV, paragraphe IV.1.3 après dilution dans de l'eau purifiée de grade analytique. Pour chaque manipulation, les matières en suspension de la matrice étudiée ont été quantifiées en fin d'expérience. En début de chaque manipulation, une référence de concentration initiale a été effectuée à partir de 60 mL de matrice centrifugée à 10 000 trs/min pendant 10 minutes, filtrée et dopée avec les mêmes concentrations en molécules que le flacon de manipulation.

Lors de la réalisation de ces expériences, différents pH (7,5 ou 8,5) et différentes concentrations en MES et en biocides ont été étudiées en plus des concentrations retrouvées sur le site du CHU. Pour cela, si besoin, le pH de la matrice a été ajusté avant dopage en biocides par ajouts de soude ou d'acide chlorhydrique. De même, pour quelques expériences, une dilution de la matrice avec de la matrice dépourvue de MES (après centrifugation et filtration) a été réalisé.

De plus, au cours de ce travail une évaluation de l'impact de la biodégradation sur les résultats a été réalisée. Pour cela, deux expériences menées en parallèle avec et sans stérilisation préalable de la matrice ont été effectuées. Pour la stérilisation de la matrice, une concentration de 20 g/L en azoture de sodium a été ajoutée la veille de la manipulation. Enfin, en plus de la matrice ESJ de référence quelques expériences ont été effectuées sur de l'eau de surface (tableau 18).

Tableau 18 : Matrices utilisées lors de l'étude de l'adsorption des biocides sur les MES.

Nom de la matrice	Matières en suspension	Nature des particules	pH	MES en mg/L	COT en mg/L
ESJ	Eau usée / organique	Matières organiques	8,1	203,2 ± 31,6	70-130
EDP	Eau naturelle (mare) / inorganique	Sédiments Argileux	7,8	314,5 ± 30,8*	30
EDV	Eau naturelle (rivière) / inorganique	Sablonneux / sédimentation rapide	7,9	101,6 ± 23,3*	5-6

* MES remises en suspension

Les protocoles expérimentaux utilisés pour cette partie sont résumés dans la figure 34.

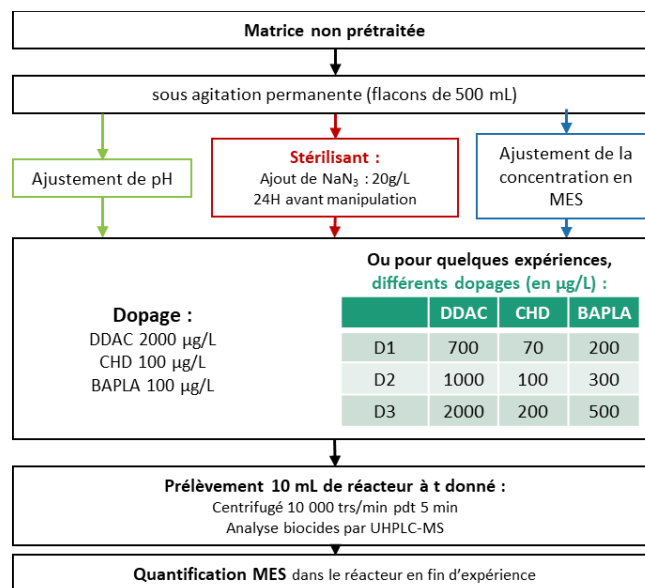


Figure 34 : Protocole employé pour l'étude de l'adsorption des biocides sur les MES à partir de l'analyse en phase aqueuse.

VI.3 Méthodes d'analyses

VI.3.1 Analyse des biocides

L'analyse des biocides s'est faite par UHPLC-MS dans les conditions détaillées dans le chapitre IV, paragraphe IV.1.3.

VI.3.2 Mesure de l'écotoxicité

Dans ce travail, cette mesure a été réalisée selon la norme NF EN ISO 11348-3 (International Organization for Standardization, 2009) par mesure de l'inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri* avec un luminomètre LUMISTox 300 (HACH-LANGE). L'écotoxicité a été calculée pour un temps d'incubation de 30 min.

VI.3.2.1 Détermination des EC₅₀

L'EC₅₀ (Effect Concentration 50 %) correspond à la concentration de substances permettant une diminution de 50 % de la luminescence des bactéries *Vibrio fischeri*. Dans ce travail, cette valeur a été déterminée dans l'EDR et l'ESJ préparées telles que décrit dans la figure 32 pour avoir un aperçu de l'impact de la matrice.

Différentes dilutions de solutions à 5 mg/L de chaque biocide ont été préparées dans la matrice (EDR ou ESJ) contenant 2 % de NaCl et ajustées à pH = 7,0 ± 0,2 par ajout de NaOH ou HCl.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 19. Dans les deux matrices, le BAPLA est moins actif vis-à-vis de *Vibrio fischeri* que les deux autres biocides (i.e. DDAC et CHD) qui présentent des valeurs d'EC₅₀ à peu près similaires. Pour les trois molécules, les valeurs d'EC₅₀ obtenues dans l'eau de la station de référence sont plus élevées. Cette matrice semble donc réduire la toxicité apparente de ces trois biocides par rapport à l'eau du robinet.

Tableau 19 : Valeurs d'EC₅₀ du DDAC, du CHD et du BAPLA dans l'EDR et l'ESJ.

Matrices	EC ₅₀ (en mg/L)		
	DDAC	CHD	BAPLA
EDR	0,15	0,42	3,75
ESJ	1,95	1,12	10,4

VI.3.2.2 Mesure de l'écotoxicité d'un échantillon

Pour évaluer l'écotoxicité d'un échantillon, le pH a été ajusté à 7 par ajout de soude ou par ajout d'acide chlorhydrique et 2 % de chlorure de sodium ont été ajoutés avant la réalisation du test. Lorsque nécessaire, une dilution de l'échantillon brut a été réalisée. Pour ce type de mesure, les résultats obtenus ont été exprimés par rapport au signal obtenu à partir d'une solution témoin constituée de la matrice de travail non dopée en biocides préparée selon le protocole de la figure 32.

VI.3.3 Analyse du chlore

L'analyse du chlore résiduel a été faite selon la norme NF EN ISO 7393-2 (International Organization for Standardization, 2018) par la méthode colorimétrique à la Diéthyl-p-Phénylène-Diamine (DPD) à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible 320 Safas Monaco. La mesure s'est faite à la longueur d'onde de 510 nm pour des concentrations en chlore limites comprises entre 0,03 mg/L et 5 mg/L.

VI.3.4 Mesure de la teneur en MES

La mesure de la teneur en MES a été fait selon la norme NF EN 872 (International Organization for Standardization, 2005). Pour chaque échantillon, cinq filtres en fibres de verre de porosité 1,2 µm ont été lavés à l'eau distillée puis séchés à 105 °C jusqu'à mesure d'une masse constante (m1 en mg). Sur

chaque filtre, un volume V (minimum de 20 mL) d'échantillon a été filtré puis les filtres ont à nouveau été séchés à 105 °C jusqu'à masse constante (m2 en mg). La teneur en MES (en mg/L) a alors été calculée selon la relation (17) :

$$[\text{MES}] = 1000 \times \frac{m_2 - m_1}{V} \quad (17)$$

La limite minimale de cette méthode est évaluée à 2 mg/L.

Chapitre VII : Résultats et Discussions

VII.1 Stabilité des biocides en matrice

La figure 35 présente les résultats obtenus lors de l'étude laboratoire de la stabilité des biocides en matrice complexe filtrée (selon le protocole décrit au paragraphe VI.2.1, chapitre VI). Les résultats sont exprimés en rapport d'aires en prenant comme référence l'aire à $t = 0$ min. Ils représentent une moyenne sur trois manipulations réalisées dans les mêmes conditions. Les écart-types affichés correspondent aux écarts entre ces trois essais pour le temps et les rapports d'aires.

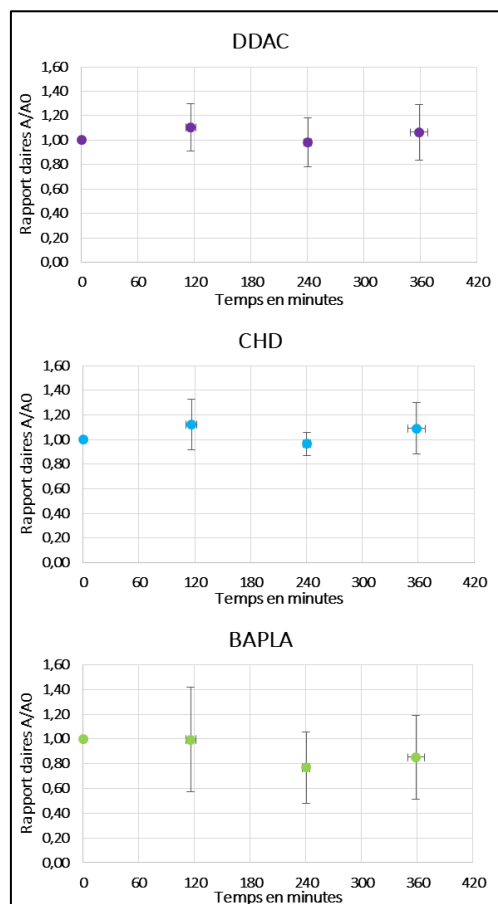


Figure 35 : Résultats de l'étude laboratoire de la stabilité des biocides en matrice complexe (ESJ). pH = 8 ; biocides en mélange ; $[DDAC]_0 = 2000 \mu\text{g/L}$; $[CHD]_0 = [BAPLA]_0 = 100 \mu\text{g/L}$.

Sur six heures le DDAC reste stable par rapport à l'aire de référence, de même pour le BAPLA et le CHD.

Dans les conditions expérimentales étudiées (i.e. sur une matrice aux caractéristiques proches de la matrice du CHU et des eaux usées de la ville), les molécules ne semblent pas se dégrader dans la phase liquide sur un temps supérieur à celui qu'il faut pour que l'effluent du CHU rejoigne l'entrée de la station d'épuration de la ville (i.e. $\approx 3\text{h}$).

VII.2 Impact du chlore sur les biocides

VII.2.1 Dégradation des biocides par le chlore en fonction du temps

Les résultats portant sur l'étude de la dégradation des biocides par le chlore sont représentés dans la figure 36. Ils sont exprimés en rapport d'aires en prenant comme référence l'aire à $t = 0$ min. Chaque courbe représente une moyenne des trois tests réalisés. Les écart-types affichés correspondent aux écarts entre les tests pour le temps et les rapports d'aires.

Les observations sont globalement similaires pour les deux formes sous lesquelles le chlore est introduit (NaOCl ou DCCNa) aucune différence significative n'a pu être observée. En revanche, selon la matrice (filtrée) les biocides en mélange montrent trois profils différents.

Le DDAC présente une grande stabilité en présence de chlore que ce soit dans l'eau du robinet ou dans l'ESJ.

Dans les conditions expérimentales étudiées, le CHD subit dans l'EDR une dégradation (> 85 %) suite à l'ajout de chlore que ce soit sous forme d'hypochlorite de sodium ou de DCCNa avec une dégradation étonnamment plus rapide avec le DCCNa. En matrice complexe, ces observations ne sont pas retrouvées. L'hypothèse la plus probable pourrait être liée à la demande en chlore plus importante de la matrice complexe. Ainsi, d'abord consommé par la matrice, le chlore libre ne serait plus présent en quantité suffisante pour réagir avec le CHD. En effet, dans l'EDR, après 6 heures, les concentrations en chlore disponibles sont de 2,93 mg/L en présence d'hypochlorite de sodium et 3,44 mg/l en présence de DCCNa tandis qu'en matrice, ces concentrations sont négligeables dès 30 minutes de manipulations.

Concernant le BAPLA, il présente un troisième profil de réactivité vis-à-vis du chlore. Dans l'eau du robinet une dégradation très rapide par le chlore issu de la solution d'hypochlorite de sodium ou du DCCNa est observée. Cette dégradation est beaucoup plus lente dans l'ESJ du fait des phénomènes de compétition et de la consommation de chlore par la matrice. Pour ce composé, contrairement à la chlorhexidine, même si le chlore disponible est consommé rapidement, la dégradation du BAPLA se poursuit doucement sur six heures de temps en matrice complexe. Suite à l'attaque du chlore sur les fonctions amines de la matrice et du BAPLA, la formation de chloramines réactives pourrait en partie expliquer cette observation.

Ainsi ces données laisseraient à penser que seul le BAPLA pourrait être dégradé au contact du chlore dans l'effluent du CHU. Suite à ces expériences, il a alors été décidé que seuls les sous-produits de chloration du BAPLA seraient étudiés dans la suite de ce travail.

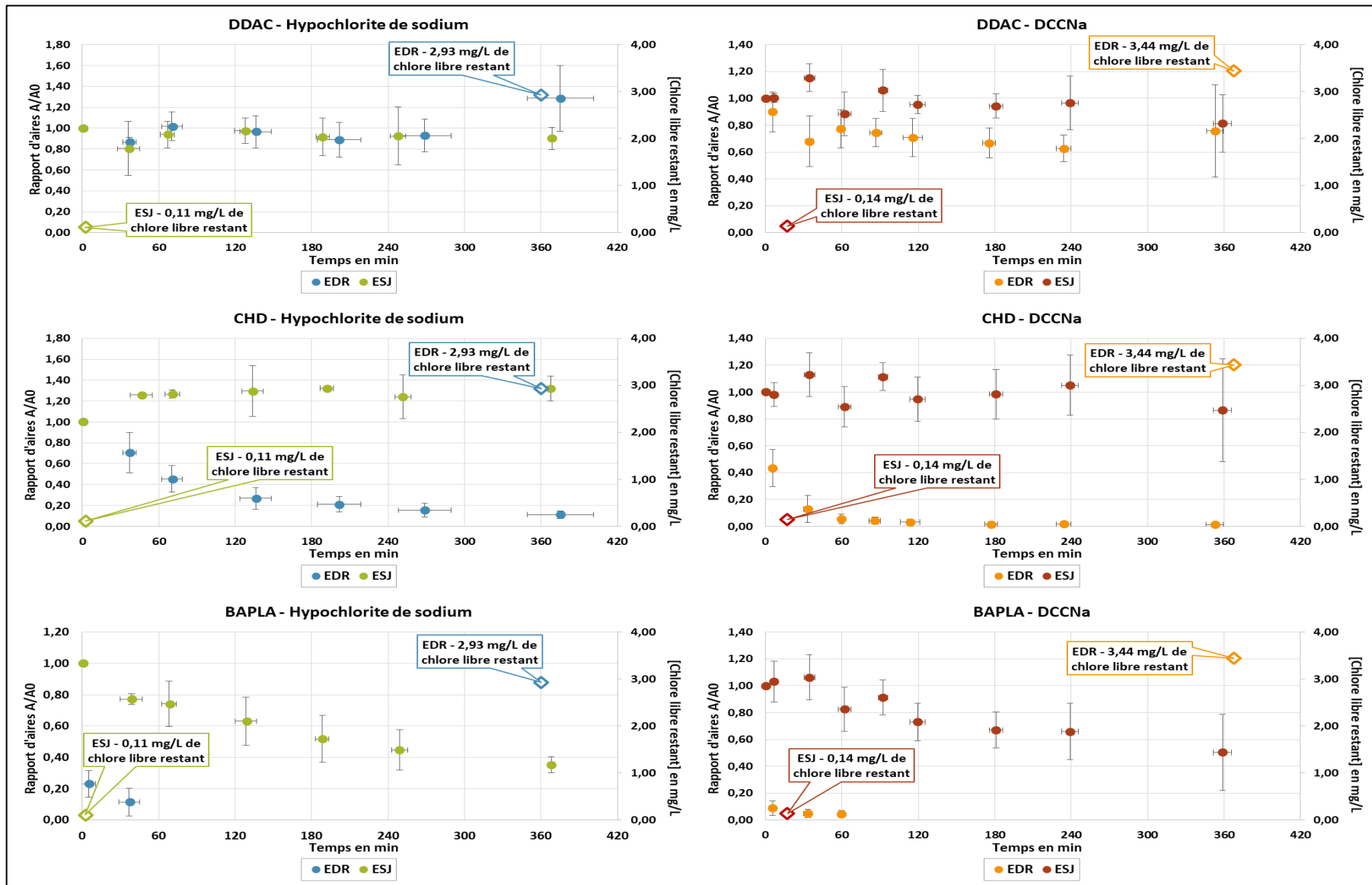


Figure 36 : Dégradation des biocides par le chlore dans l'EDR et dans l'ESJ en fonction du temps. pH = 8,0 ± 0,3 ; [chlore disponible]₀ = 4 mg/L ; biocides en mélange ; [DDAC]₀ = 2000 µg/L ; [CHD]₀ = [BAPLA]₀ = 100 µg/L.

VII.2.2 Suivi de l'écotoxicité

Un suivi de la toxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri* a été réalisé pour la chloration du BAPLA par différentes doses de NaOCl ou de DCCNa afin d'étudier le potentiel écotoxique des sous-produits générés.

Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 37. Les quantités de BAPLA sont exprimées en rapport d'aires par rapport à l'aire initiale (avant dopage en chlore). A l'issue de ces expériences (48h), il a été vérifié l'absence de chlore résiduel pour s'assurer de la non-interférence sur les résultats au moment de la mesure. L'écotoxicité est indiquée en pourcentage d'inhibition obtenu à partir d'échantillons non dilués avant réalisation des tests.

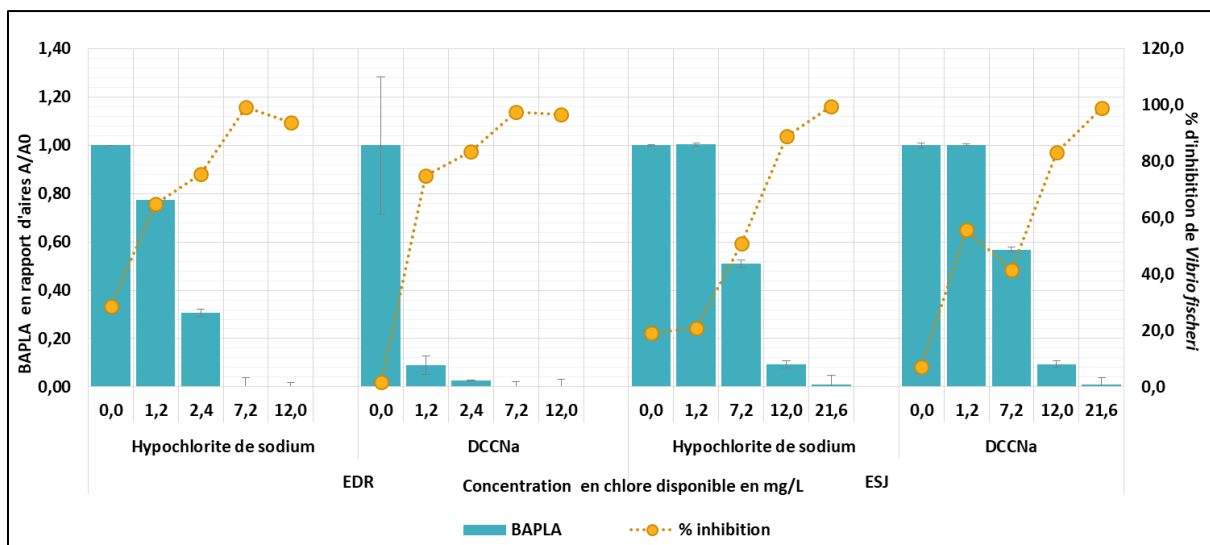


Figure 37 : Evolution de la toxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri* au cours de la chloration du BAPLA. pH = 7,2 ; [BAPLA]₀ = 5000 µg/L.

Sur cette figure, pour les deux matrices et avec les deux protocoles de désinfection (NaOCl et DCCNa), une augmentation de l'écotoxicité est observée lors de la dégradation du BAPLA. En effet, lorsque les concentrations de BAPLA représentent moins de 10 % de la concentration initiale (5 mg/L), l'inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri* est supérieure à 80 %, alors qu'avant chloration 2 % et 30 % d'inhibition de la luminescence est observée. En matrice simple (EDR), dès 1,2 mg/L de chlore introduit, l'écotoxicité est proche de 80%. En matrice complexe (ESJ), en accord avec la consommation plus importante de chlore, ce palier est atteint pour un ajout de chlore dix fois plus important (12,0 mg/L).

Au cours de la chloration, l'apparition de produits de transformation plus toxiques vis-à-vis de *Vibrio fischeri* que le BAPLA serait donc observée. Ceci est en accord avec les données de la littérature qui montrent généralement une augmentation de l'écotoxicité au cours de la chloration pour de nombreux composés (Deborde et von Gunten, 2008; Du *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2007).

VII.2.3 Identification et suivi de l'évolution des produits de transformation du BAPLA

Les analyses permettant l'identification des sous-produits de chloration du BAPLA ont été réalisées par un partenaire du projet (LCM). La proposition des structures chimiques et l'interprétation des résultats ont en revanche été réalisées en collaboration avec l'IC2MP dans le cadre de ce travail de thèse.

Au total, cinq produits de transformation du BAPLA ont été retrouvés. Le tableau 20 présente les temps de rétention, les masses expérimentales, théoriques et les compositions élémentaires des ions moléculaires obtenus par analyse LC-HR-MS en mode ESI+ ainsi que les structures chimiques associées pour chaque composé.

Tableau 20 : Composition élémentaire et structures du BAPLA et de ses sous-produits de chloration identifiés (résultats obtenus en collaboration avec le LCM).

Composé	Tr (en min)	Ions moléculaires MH+			Précision (ppm)	Structure chimique proposée pour le composé
		Composition élémentaire (m/z)	m/z expérimental	m/z théorique		
BAPLA	3,8	C ₁₈ H ₄₂ N ₃ (m/z 300)	300,3383	300,3379	1,3	
I	5,3	C ₁₈ H ₄₀ N ₃ (m/z 298)	298,3223	298,3222	0,3	
II	5,4	C ₁₈ H ₃₈ N ₃ (m/z 296)	296,3056	296,3066	-3,4	
III	6,2					
IV	7,3	C ₁₈ H ₃₆ N ₃ O (m/z 310)	310,2869	310,2858	3,5	
V	7,3	C ₁₈ H ₃₇ N ₂ O (m/z 297)	297,2903	297,2906	-1	

L'analyse des massifs isotopiques des ions moléculaires obtenus en spectrométrie de masse montre une absence d'atome de chlore dans la structure chimique de l'ensemble des sous-produits observés. De plus, un ion commun de rapport m/z 85 pouvant être révélateur d'un cycle à 5 atomes est présent dans les spectres de collision des ions moléculaires des composés I, II, III et V (figure 38).

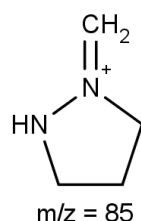


Figure 38 : Structure proposée par le LCM pour l'ion m/z 85 observé dans les spectres de collision des sous-produits.

Suite à une attaque initiale préférentielle du chlore sur les fonctions amines, des réarrangements ou réactions intramoléculaires ont donc été envisagés.

Le chemin réactionnel proposé pour la formation des composés observés est présenté dans la figure 40. Sur la base des données de la littérature portant sur la réaction du chlore sur les composés organiques (Abia *et al.*, 1998), l'ensemble des sous-produits pourrait provenir d'une attaque électrophile du chlore sur l'une des deux amines primaires formant ainsi l'intermédiaire A monochloraminé.

Par réaction intramoléculaire au sein de l'intermédiaire A la chloramine réactive pourrait alors à son tour réagir par attaque nucléophile sur la fonction amine tertiaire pour donner le composé I (figure 39).

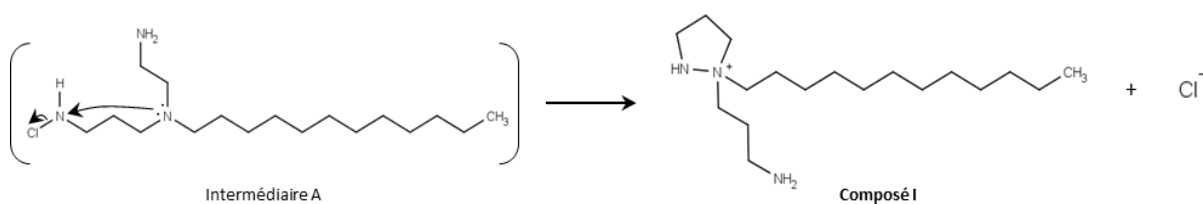


Figure 39 : Formation du composé I à partir de l'intermédiaire A.

Suite à une nouvelle attaque électrophile du chlore sur l'amine primaire restante de ce composé, l'intermédiaire B serait alors formé (voie 1). Cet intermédiaire pourrait donner à son tour (i) le composé III suite à l'attaque nucléophile de la fonction chloramine sur la fonction amine restante puis le composé IV ou (ii) le composé V.

En parallèle, bien que cinétiquement moins favorable, une attaque électrophile du chlore sur l'amine secondaire du composé I, menant à l'intermédiaire F puis au composé II pourrait également être observée (voie 2).

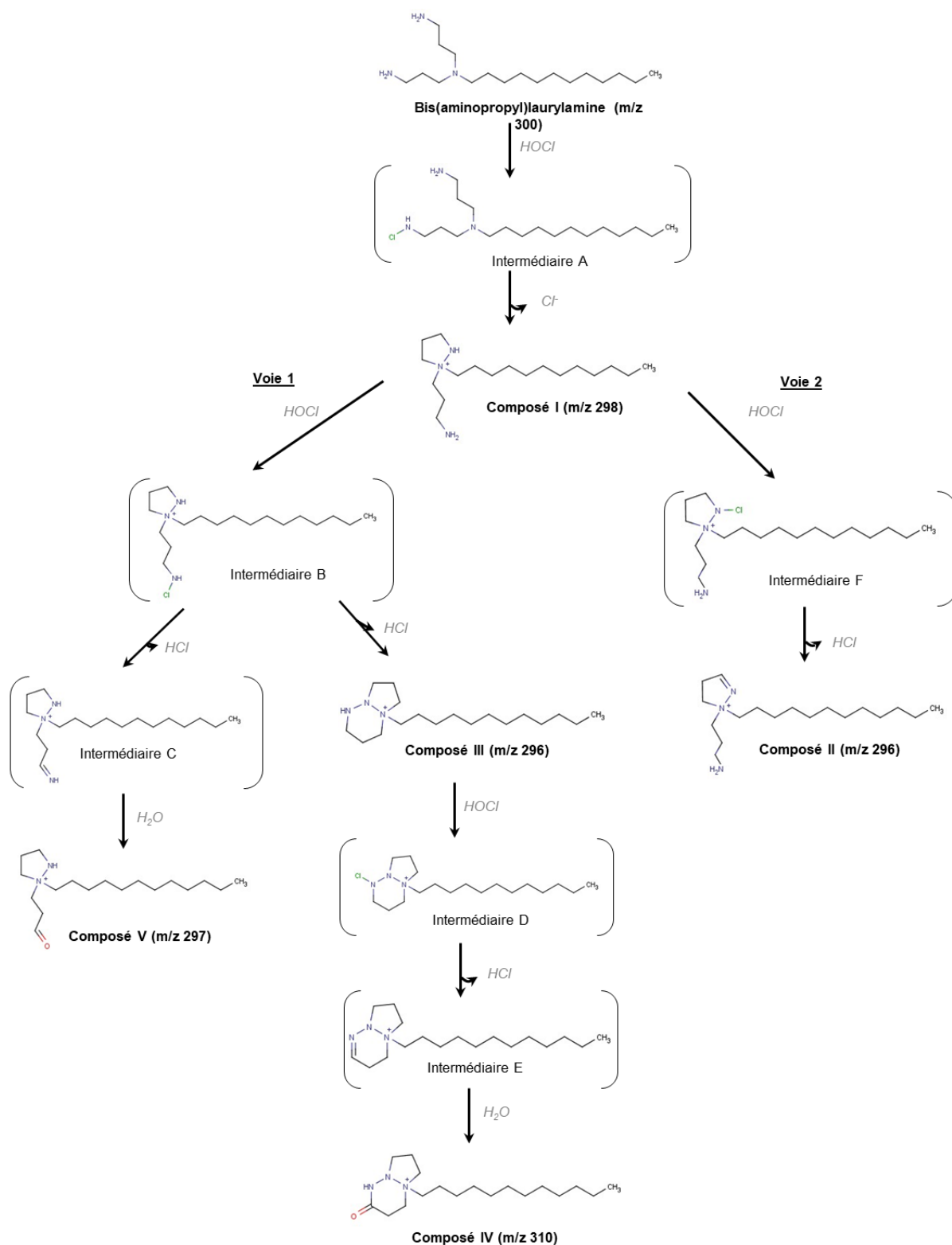


Figure 40 : Chemin réactionnel de la formation des sous-produits du BAPLA par la chloration : Sources IC2MP et LCM.

Le composé IV très minoritaire n'est détecté que dans une partie des échantillons (i.e. en présence d'eau de Javel). Pour les autres composés, la figure 41 montre l'évolution de leur formation en fonction de la disparition du BAPLA dans les deux matrices étudiées et avec les deux protocoles de chloration (i.e. NaOCl et DCCNa). Les résultats sont présentés en rapport d'aires. Toutes les aires (BAPLA et sous-produits (SP)) ont été ramenées à l'aire initiale du BAPLA.

Comme pour l'écotoxicité, un décalage dans la formation des sous-produits est observé dans la matrice complexe en raison de la plus forte demande en chlore. Lorsque les échantillons sont dopés avec de l'hypochlorite de sodium, en plus du composé minoritaire IV, trois de ces quatre sous-produits majoritaires sont retrouvés dans les deux matrices (les composés I, II et V). En présence de DCCNa le sous-produit III est également retrouvé.

Qu'elle que soit la matrice étudiée (i.e. eau du robinet ou matrice de référence, ESJ), de plus grandes quantités de composé II et une moins grande proportion de composé I semblent se former en présence d'eau de javel qu'en présence de dichlorisocyanurate de sodium. Cette différence, observée suivant le protocole de désinfection pourrait en partie s'expliquer par des concentrations en chlore libre plus importantes en présence d'eau de Javel qu'en présence de dichlorisocyanurate de sodium pour une même dose de chlore disponible appliquée. Lors de l'utilisation du DCCNa, en effet, une libération progressive du chlore défavoriserait la formation de l'intermédiaire F (voie cinétiquement défavorable).

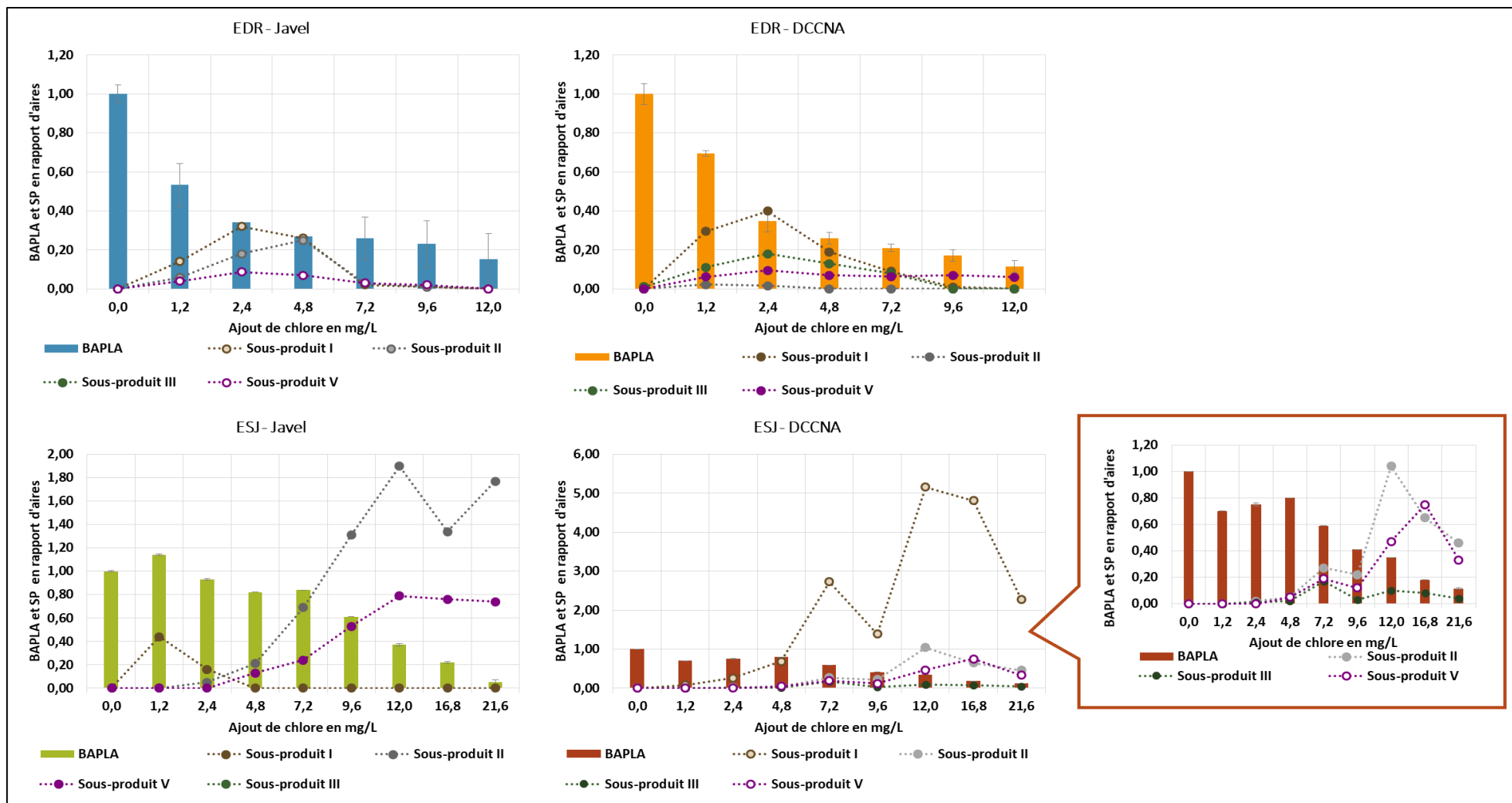


Figure 41 : Dégradation du BAPLA en fonction des doses et de la forme de chlore et évolution des sous-produits détectés. [BAPLA]₀ = 5000 µg/L (Données LCM).

Au niveau du CHU, certains de ces sous-produits ont pu être observés en phase aqueuse. A ce niveau, le protocole de désinfection des locaux (i.e. eau de javel ou dichloroisocyanurate de sodium) ne semblerait pas influencer la formation de ces composés.

VII.3 Adsorption des biocides sur les matières en suspension

De par leurs propriétés intrinsèques (positivement chargés, chaînes hydrophobes), ces biocides ont tendance à s'adsorber très facilement sur les matières et les surfaces globalement chargées négativement. Ainsi des expériences sur l'adsorption des biocides ont été réalisées afin d'évaluer leur capacité à s'adsorber sur les matières en suspension présentes dans les eaux usées au niveau du CHU comme dans le réseau d'eau usée de la ville.

Dans cette partie, les conditions initiales employées pour chaque manipulation décrites dans les paragraphes VII.3.1 à VII.3.6 et les principaux résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 21.

Tableau 21 : Conditions initiales et principaux résultats obtenus au cours des expériences présentées dans les paragraphes VII.3.1 à VII.3.5.

Paragraphe	Expériences	DDAC					CHD					BAPLA				
		Concentrations initiales C ₀ en µg/L	pH	[MES] en mg/L	C/CO au palier	qe en µg/mg	Concentrations initiales C ₀ en µg/L	pH	[MES] en mg/L	C/CO au palier	qe en µg/mg	Concentrations initiales C ₀ en µg/L	pH	[MES] en mg/L	C/CO au palier	qe en µg/mg
VII.3.1	Sans azide	2000*	8,3 ± 0,2	203,2 ± 31,6	0,17	8,2	100*	8,3 ± 0,2	203,2 ± 31,6	0,40	0,4	100*	8,3 ± 0,2	203,2 ± 31,6	0,28	0,4
	Présence d'azide				0,18	8,1				0,29	0,4				0,51	0,3
VII.3.2	Différentes concentrations initiales	784,2 ± 156,8			0,82	1,0	67,3 ± 6,7			0,64	0,2	247,5 ± 24,8			0,6	0,7
		970,9 ± 194,2	7,6	144,7 ± 14,1	0,69	2,1	137,1 ± 13,7	7,6	144,7 ± 14,1	0,45	0,5	350,2 ± 35,0	7,6	144,7 ± 14,1	0,51	1,2
		1894,0 ± 378,8			0,59	5,4	224,4 ± 22,4			0,40	0,9	504,7 ± 50,5			0,58	1,5
VII.3.3	Différents pH	2291,0 ± 458,2	7,3	149,2 ± 6,2	0,45	8,4	148,9 ± 14,9	7,3	149,2 ± 6,2	0,41	0,6	260,0 ± 26,1	7,3	149,2 ± 6,2	0,60	0,7
			8,5		0,77	3,5		8,5		0,41	0,7		8,5		0,51	0,9
VIII.3.4	Différentes teneurs en MES			329,7 ± 71,6	0,10	6,3			329,7 ± 71,6	0,05	0,4			329,7 ± 71,6	0,06	0,7
		2291,0 ± 458,2	7,2 ± 0,2	144,8 ± 12,2	0,44	8,9	148,9 ± 14,9	7,2 ± 0,2	144,8 ± 12,2	0,39	0,6	260,0 ± 26,1	7,2 ± 0,2	144,8 ± 12,2	0,63	0,7
				122,9 ± 34,7	0,69	5,8			122,9 ± 34,7	0,51	0,6			122,9 ± 34,7	0,53	1,0
VIII.3.5	Nature des MES	ESJ		180,6 ± 27,2	0,18	9,1		8,1	180,6 ± 27,2	0,40	0,3		8,1	180,6 ± 27,2	0,28	0,4
		EDP	2000*	280,7 ± 32,2	< 0,4	> 4,3	100*	7,9	280,7 ± 32,2	0,04	0,3	100*	7,9	280,7 ± 32,2	ND**	ND**
		EDV		160,0 ± 59,2	< 0,2	> 10		7,9	160,0 ± 59,2	0,04	0,6		7,9	160,0 ± 59,2	< 0,1	> 0,6

* Résultats obtenus en prenant en compte les concentrations théoriques des dopages

** ND : Non Détecté

VII.3.1 Adsorption versus biodégradation

Dans cette partie, de façon à s'assurer que les phénomènes de biodégradation par les micro-organismes adhérents sur les MES sont négligeables, des expériences en présence et en absence d'un stérilisant (azide de sodium) ont été réalisées.

Les résultats obtenus dans l'ESJ, sont présentés dans la figure 42 pour les trois biocides en mélange. Ils sont exprimés en rapports d'aires mesurés dans la phase aqueuse en prenant comme référence l'aire à $t=0$. Pour les trois molécules, un palier semble apparaître après une heure de temps de contact et après 24h, moins de 40 % des concentrations initiales restent présentes en phase aqueuse. Les résultats ne montrent pas de différence significative en présence ou en absence d'agent stérilisant. Lors des expériences, les phénomènes de biodégradation semblent donc négligeables et une adsorption significative sur les MES est observée pour les 3 biocides étudiés.

Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature. Selon Zhang *et al.* (2015), l'adsorption des ammoniums quaternaires, dont fait partie le DDAC, est plus rapide que l'élimination de ces biocides par biodégradation. En effet, selon Martínez-Hernández *et al.* (2016), en termes de cinétique, l'adsorption est un mécanisme rapide par rapport aux phénomènes de biodégradation qui demandent un temps de contact plus long pour se mettre en place (acclimatation des micro-organismes aux substances potentiellement toxiques par exemple). Ainsi, dans les premières 48h, l'adsorption serait le principal mécanisme d'élimination et au-delà, l'impact de la biodégradation pourrait apparaître.

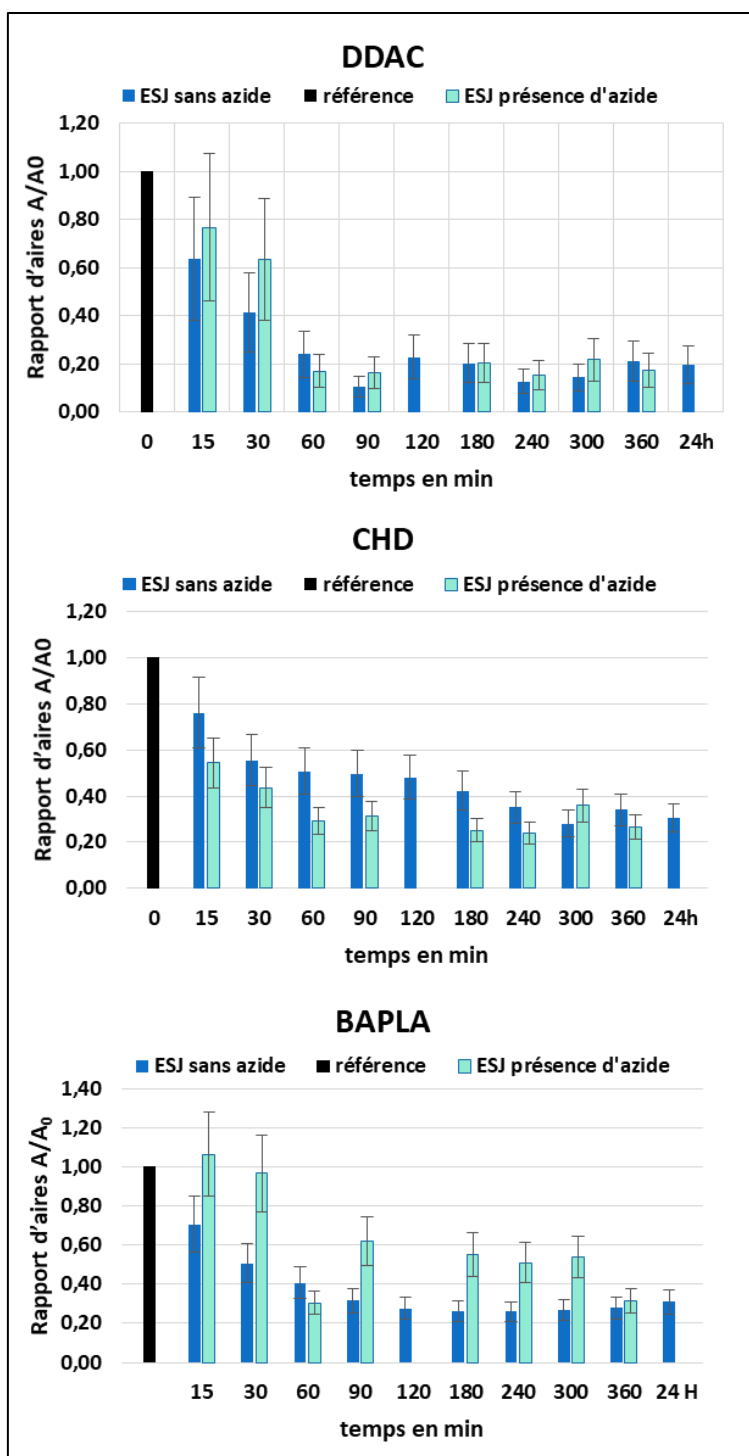


Figure 42 : Etude de l'impact de la biodégradabilité au cours des expériences d'adsorption dans la matrice ESJ. pH = 8,3 ± 0,2 ; biocides en mélange ; [DDAC]₀ = 2000 µg/L ; [CHD]₀ = [BAPLA]₀ = 100 µg/L ; MES = 203,2 ± 31,6 mg/L.

VII.3.2 Etude de l'adsorption des biocides à différentes concentrations initiales

Les résultats présentés dans la figure 43 ont été obtenus pour différentes concentrations initiales en biocides, pour un même taux de MES ($144,7 \pm 14,07$) et à pH constant (7,5).

Dans ces conditions, comme généralement observé dans les phénomènes d'adsorption, les quantités adsorbées sur les MES sont plus importantes lorsque les concentrations augmentent. Cette observation, également soulignée par Brycki *et al.* (2014) pour les ammoniums quaternaires, laisse croire que la capacité d'adsorption maximale des MES n'est pas réellement atteinte avec les concentrations étudiées et que des quantités de biocides plus importantes de biocides pourraient s'adsorber.

Pour des concentrations initiales comparables (224 $\mu\text{g/L}$ à 274 $\mu\text{g/L}$), l'adsorption du CHD et du BAPLA semblent du même ordre de grandeur (0,7 $\mu\text{g/mg}$ à 0,9 $\mu\text{g/mg}$) malgré leurs valeurs de k_{ow} respectives (-1,81 et 0,34) qui indiquent un caractère plus hydrophile du CHD et donc des propriétés moins absorbantes.

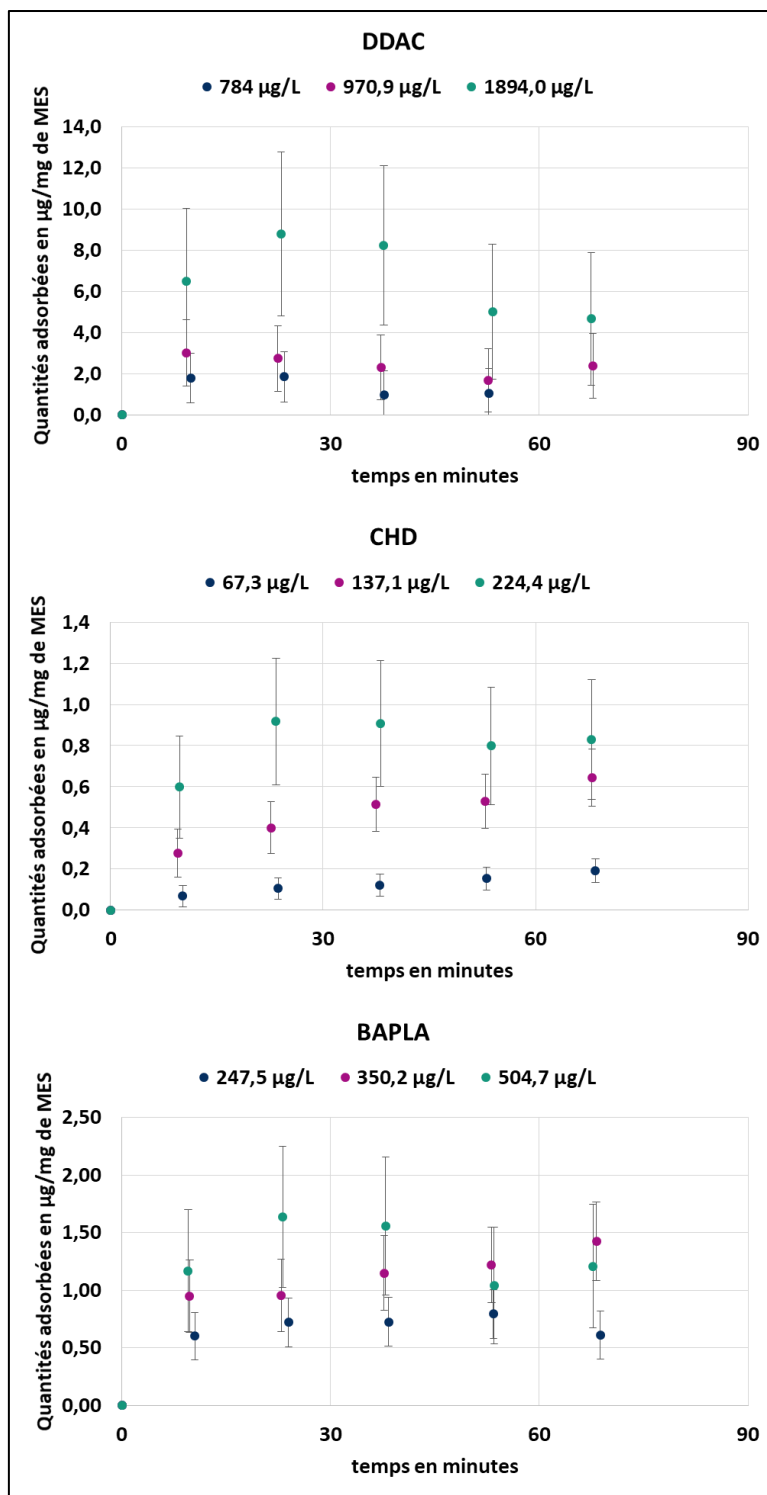


Figure 43 : Etude d'adsorption pour différentes concentrations initiales de biocides. pH = 7,5 ; [MES] = 144,7 ± 14,1 mg/L ; biocides en mélange.

VII.3.3 Etude de l'adsorption à différents pH

Au niveau du CHU, le pH mesuré est généralement de l'ordre de 8. De manière à évaluer l'impact du pH sur les résultats obtenus, quelques expériences ont donc été réalisées à pH = 8,5 en plus de celles effectuées à pH = 7,3. La figure 44 montre les résultats obtenus pour ces deux pH, pour une teneur en MES de $149,2 \pm 6,2$ mg/L et des concentrations initiales en biocides de 2291,0 µg/L pour le DDAC, 148,9 µg/L pour le CHD et 260,0 µg/L pour le BAPLA.

Ces résultats ne montrent pas d'impact du pH sur l'adsorption du BAPLA et du CHD. Pour une teneur en MES similaire, des courbes d'adsorption comparables sont observées aux deux pH. En terme de quantités de biocides adsorbées par unité de masse de MES, des valeurs similaires sont observées à pH = 7,3 et à pH = 8,5 (0,6 µg/mg et 0,7 µg/mg pour le CHD et 0,7 µg/mg et 0,9 µg/mg pour le BAPLA).

Dans le cas du DDAC, de plus petites quantités de biocide semblent s'adsorber à pH alcalin qu'à pH neutre. Ainsi, pour le DDAC le taux d'adsorption serait compris entre 3,5 µg/mg et 8,7 µg/mg. Toutefois, une seule expérience à pH = 8,5 a été réalisée. Ce résultat intéressant mériterait d'être approfondi.

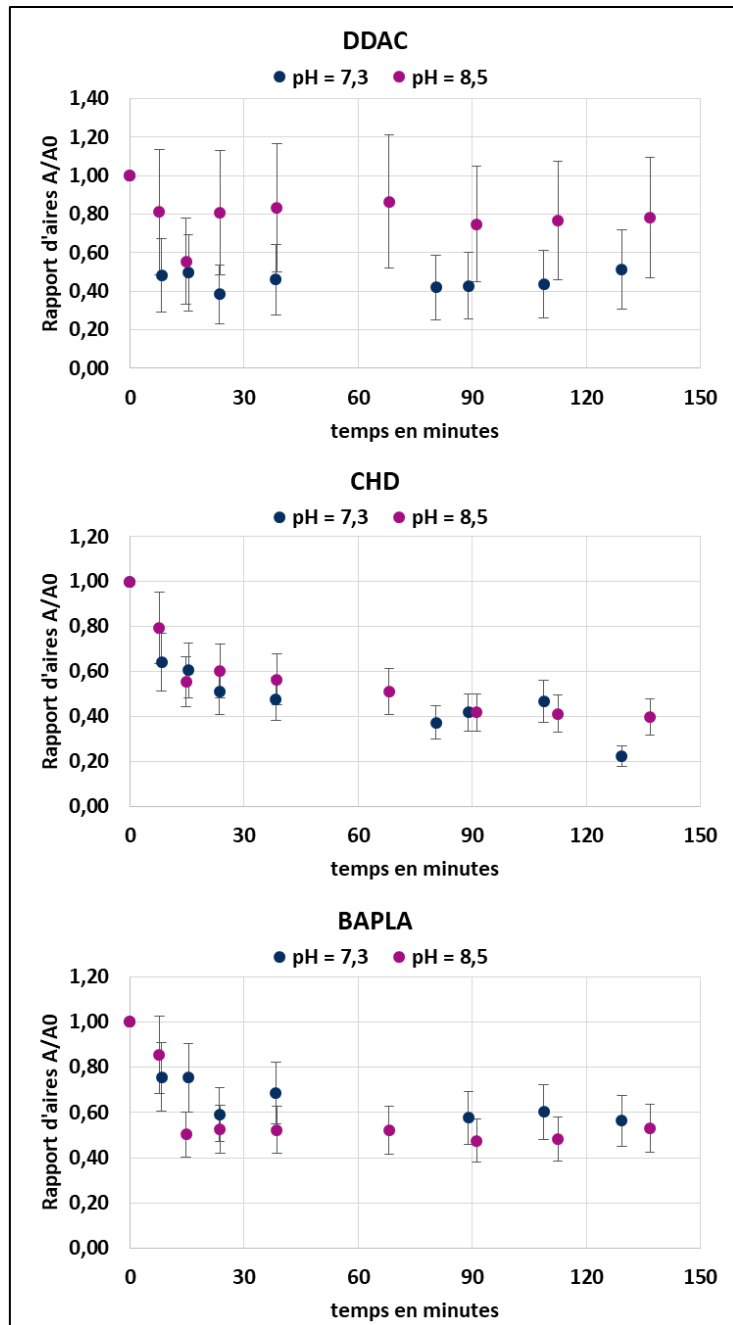


Figure 44 : Etude de l'adsorption des biocides à différents pH dans la matrice ESJ. MES = $149,2 \pm 6,2$ mg/L ; biocides en mélange ; $[DDAC]_0 = 2291,0$ $\mu\text{g/L}$; $[CHD]_0 = 148,9$ $\mu\text{g/L}$; $[BAPLA]_0 = 260,0$ $\mu\text{g/L}$.

VII.3.4 Impact de la teneur en MES

La figure 45a présente la disparition des biocides en phase aqueuse pour différentes concentrations de MES dans la matrice ESJ. Un palier d'équilibre est généralement atteint après 60 minutes de contact. A même concentration de biocides, plus le taux de MES est élevé plus la quantité de biocide adsorbée est importante. La différence est particulièrement visible entre les manipulations réalisées avec des teneurs en MES de 329,7 mg/L et les manipulations réalisées avec des teneurs en MES de 144,8 mg/L et 122,9 mg/L de MES.

En terme de capacités d'adsorption, dans les conditions expérimentales étudiées (pH = 7,2 ; [DDAC]₀ = 2291,0 µg/L, [CHD]₀ = 148,9 µg/L ; [BAPLA]₀ = 260,0 µg/L), la masse adsorbée par unité de masse de MES semble peu influencée par les teneurs en MES dans la gamme étudiée (6,3 µg/mg à 8,9 µg/mg pour le DDAC, 0,4 µg/mg à 0,6 µg/mg pour le CHD et de 0,7 µg/mg à 1,0 µg/mg pour le BAPLA pour 123 mg/L à 330 mg/L de MES).

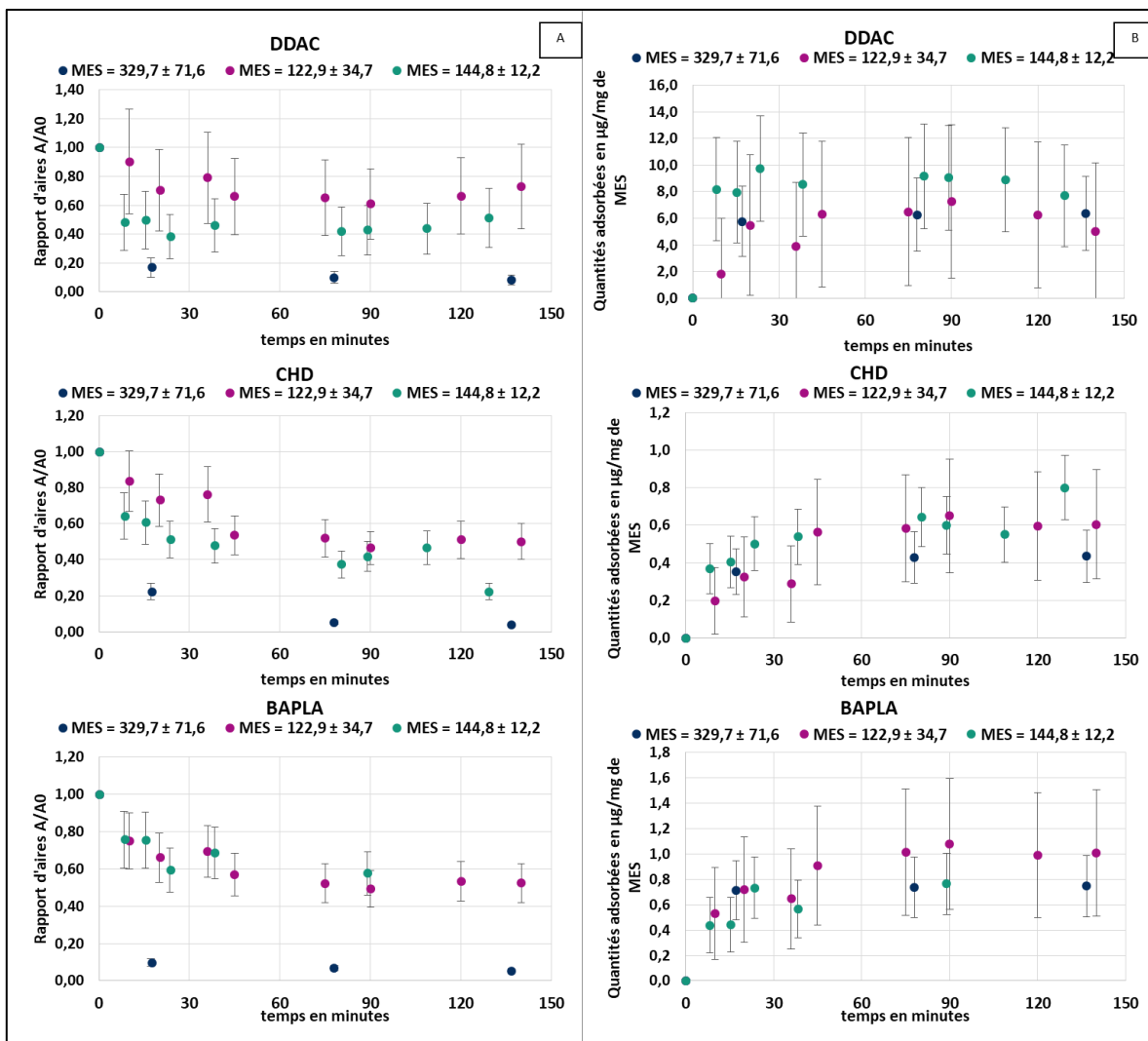


Figure 45 : Etude de l'impact de la teneur en MES lors des expériences d'adsorption dans la matrice ESJ. pH = 7,2 ± 0,2 ; biocides en mélange ; [DDAC]₀ = 2291,0 µg/L ; [CHD]₀ = 148,9 ; [BAPLA]₀ = 260,0 µg/L.

VII.3.5 Etude de l'impact de la nature des MES

De manière à évaluer l'impact de la nature des MES (organique ou minérale) et de la matrice sur l'adsorption des biocides, quelques expériences ont été réalisées dans une eau de mare (Eau du Pinail – EDP) et une eau de rivière (Eau de Vienne – EDV) pour lesquelles les MES possèdent des caractéristiques différentes (tableau 18) en plus de l'eau d'entrée de la station de St-Julien l'Ars (ESJ). La figure 46 présente les résultats obtenus dans ces matrices à $\text{pH} = 8,0 \pm 0,2$ et pour un dopage de 2000 $\mu\text{g/L}$ pour le DDAC et de 100 $\mu\text{g/L}$ pour le CHD et le BAPLA.

Ces résultats montrent une plus grande adsorption des biocides dans l'eau du Pinail et de la Vienne que dans l'ESJ, avec une adsorption quasiment totale des composés après 1h de temps de contact. Dans l'EDP la teneur en MES plus importante lors des expériences peut en partie expliquer cette différence et ne permet pas de réelle discussion. Dans l'EDV cependant, une teneur en MES comparable voire légèrement inférieure à celle de l'ESJ était présente en solution. La nature des MES et/ou la plus faible charge organique de la phase aqueuse de la matrice de cette eau semble donc plus favorable à l'adsorption.

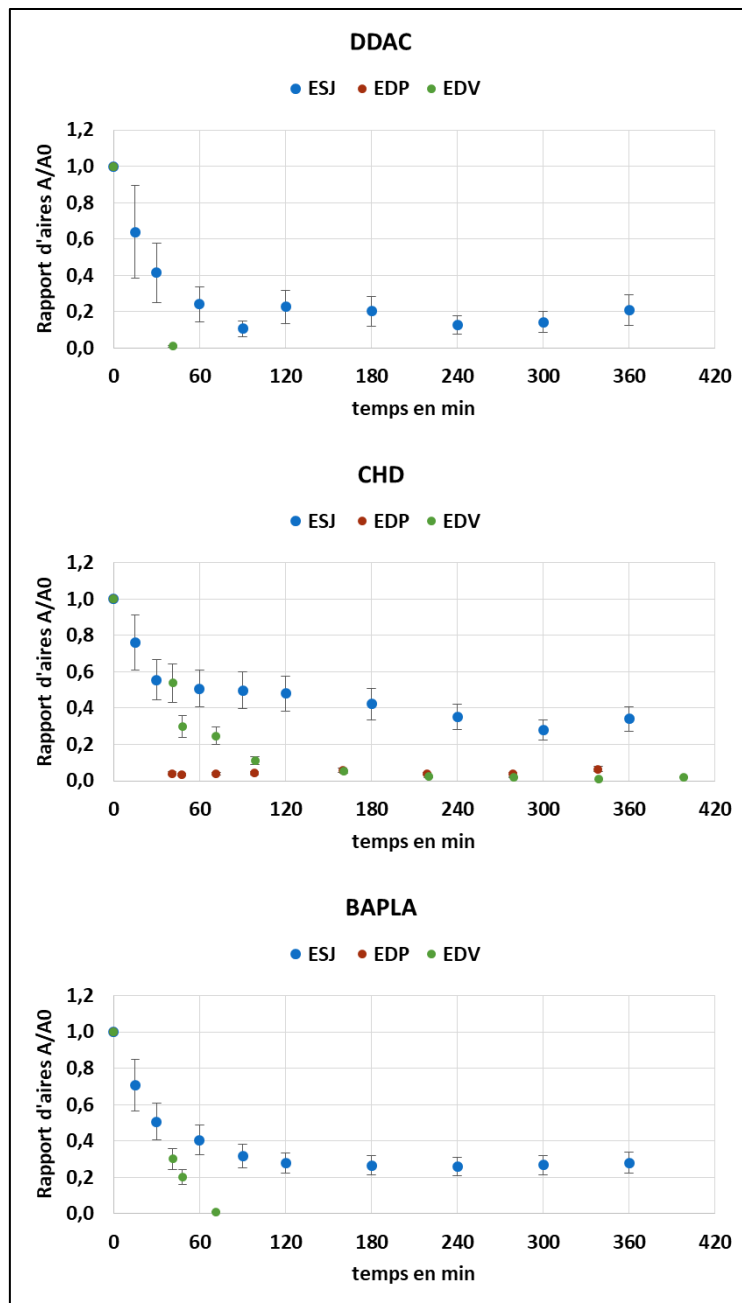


Figure 46 : Etude de l'impact de la nature des MES lors des expériences d'adsorption. Biocides en mélange ; [DDAC]₀ = 2000 µg/L ; [CHD]₀ = [BAPLA]₀ = 100 µg/L ; ESJ : pH = 8,1 - MES = 180,6 ± 27,2 mg/L ; EDP : pH = 7,9 - MES = 280,7 ± 32,2 mg/L ; EDV : pH = 7,9 - MES = 160,0 ± 59,2 mg/L.

Les phénomènes à l'origine de l'adsorption observée sont complexes (interaction avec le matériel biologique, macromolécules organiques, charge des particules, ...) et l'impact réel de la nature (silicieuse, argileuse, organique) des MES nécessite de nombreux travaux complémentaires. Il convient également de noter que les constituants organiques de ces eaux peuvent avoir un rôle important de compétiteur vis-à-vis de l'adsorption des biocides.

VII.3.6 Evaluation des quantités de biocides adsorbées sur les MES dans les rejets du CHU

Les teneurs en biocides des MES présentes dans les rejets du CHU et au niveau de la STEP ont été évaluées par un partenaire du projet (LCM) lors des campagnes C4 et C5 décrites dans le chapitre IV, paragraphe IV.2. L'extraction des biocides s'est faite par ultrasons.

Dans ces conditions, le DDAC et le CHD ont été retrouvés au niveau de la phase particulaire, dans tous les échantillons du CHU ainsi qu'en entrée et en milieu de STEP (bassin biologique) lors des campagnes d'analyses (figure 47). Au niveau du CHU, des teneurs de l'ordre de 1184 à 31110 ng/mg ont été déterminées pour le DDAC et de 23 à 501 ng/mg pour le digluconate de chlorhexidine. Pour ces deux molécules, des concentrations un peu plus faibles (de 3659 à 4739 ng/mg pour le DDAC et de 10 à 56 ng/mg pour le CHD) seraient observées en entrée et en milieu de STEP (figure 47). En sortie de STEP, les teneurs n'ont pas pu être déterminées en raison des plus faibles concentrations en MES des différents échantillons prélevés et de plus grandes incertitudes générées. De même, lors de ces campagnes, les teneurs en BAPLA des MES n'ont pas pu être déterminées en raison des trop faibles concentrations obtenues dans les extraits pour ce composé.

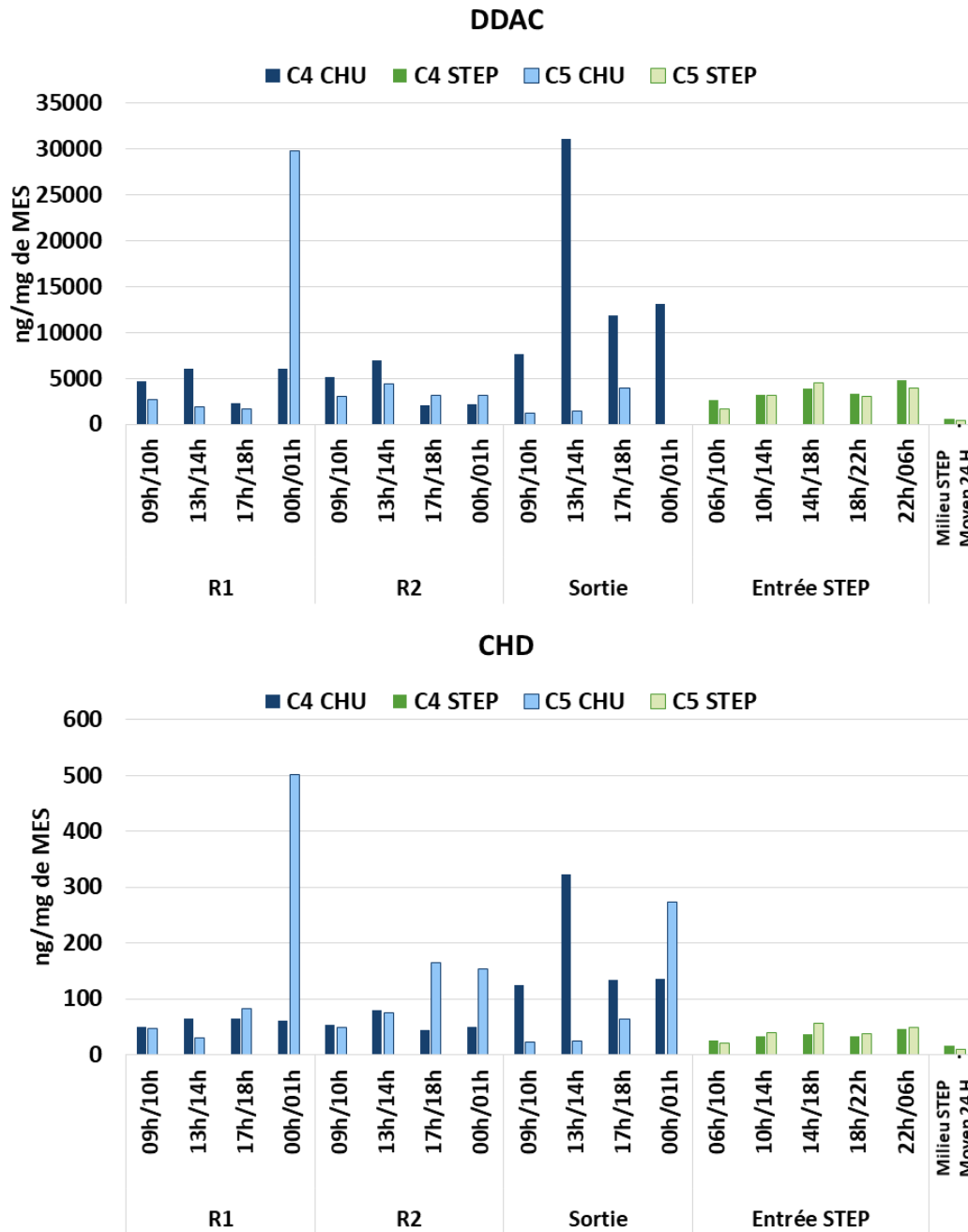


Figure 47 : Teneurs en DDAC et CHD dans les MES obtenues lors des campagnes de prélèvements C4 et C5 (Données du LCM).

Pour confirmer ces résultats, des analyses complémentaires ont été effectuées en double (par le LCM et l'IC2MP) sur des extraits obtenus par le LCM à partir de prélèvements moyens réalisés à la sortie du CHU ainsi qu'en entrée de STEP. Dans ces conditions, des teneurs de l'ordre de 1900 ng/mg pour le DDAC, 115 ng/mg pour le CHD et 210 ng/mg pour le BAPLA ont été révélées à la sortie du CHU alors que seul le CHD a été observé à une teneur de 39 ng/mg en entrée de STEP (tableau 22). Lors de ces dernières analyses, la teneur en biocides des MES a également été déterminée sur un prélèvement de

boue au niveau de l'épaisseur de la STEP. A ce niveau, des concentrations de l'ordre de 1366 ng/mg et 562 ng/mg ont été déterminées respectivement pour le CHD et le BAPLA.

Tableau 22 : Quantités de biocides adsorbées lors de la confirmation des campagnes et équivalent en concentration.

		Qe ng/mg	MES mg/L	Concentrations adsorbées µg pour 1L	Concentrations moyennes obtenues dans l'effluent* µg/L
Sortie CHU	DDAC	1900		365	1648
	CHD	115	192,0 ± 17,0	22	38
	BAPLA	210		40	45
Entrée STEP	CHD	39	186,3 ± 15,2	7	

*moyenne des concentrations obtenues lors des campagnes C1 ; C2 et C3

Outre une contamination de la phase aqueuse par les biocides, ces résultats montrent donc une contamination de la phase particulaire des eaux résiduaires. A la sortie du CHU, sur un prélèvement moyen 24h, 18 %, 37 % et 47 % des quantités de DDAC, CHD et BAPLA présentes dans les rejets seraient adsorbées (figure 48) (si l'on considère les concentrations moyennes obtenues à la sortie du CHU lors des campagnes de prélèvements C1, C2 et C3).

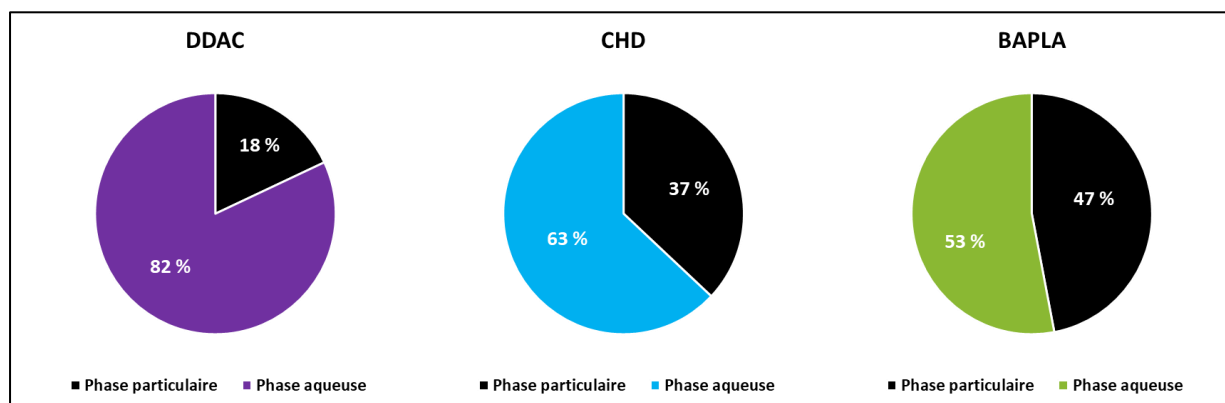


Figure 48 : Répartition des biocides entre la phase aqueuse et la phase particulaire à la sortie du CHU (résultats obtenus en collaboration avec le LCM).

Les analyses issues des prélèvements sur site sont cohérentes par rapport aux résultats des expériences laboratoire.

Conclusion

D'après les résultats obtenus, une grande stabilité des biocides serait observée en matrice sur plusieurs heures. En revanche, en présence de chlore (apporté sous forme de NaOCl ou DCCNa), une dégradation possible du CHD et du BAPLA pourrait être observée. Probablement à cause de la plus forte demande en chlore cette dégradation serait négligeable en matrice complexe pour le CHHD et seul le BAPLA pourrait se dégrader à des concentrations en chlore comparable à celles susceptibles de se retrouver dans les rejets au niveau du CHU. Pour cette molécule, des sous-produits de chloration ont été identifiés et une augmentation significative de l'écotoxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri* a été observée au cours de ces expériences de chloration.

Enfin, il a clairement été mis en évidence que les biocides pouvaient s'adsorber sur les MES. A pH = 7,2 et pour des concentrations initiales en biocides comparables à celles observées dans les rejets du CHU (i.e. [DDAC] = 2 000 µg/L ; [CHD] = [BAPLA] = 100 µg/L) des adsorptions de 6,3 µg/mg à 8,8 µg/mg pour le DDAC, de 0,4 µg/mg à 0,6 µg/mg pour le CHD et de 0,7 µg/mg à 1,0 µg/mg pour le BAPLA ont été observés lors des expériences en laboratoire. De même, sur le terrain, une première estimation réalisée en sortie du CHU a montré que 18%, 37% et 47% des quantités de DDAC, CHD et BAPLA des rejets seraient présentes sous formes adsorbées. L'ensemble de ces résultats laisse donc envisager que des quantités non négligeables de biocides pourraient arriver en phase particulaire au niveau des stations d'épuration. A ce niveau, il conviendra donc d'étudier le risque de relargage de ces molécules en fonction de la destination des matières solides mais aussi les équilibres possibles dans les eaux naturelles (adsorption, désorption).

TRAITEMENT DES BIOCIDES

Une approche du traitement des biocides par ozonation et ozonation catalytique supportée est présentée dans cette partie.

Dans un premier temps, comme pour l'étude de l'impact du chlore sur l'élimination des biocides, une étude est réalisée à l'échelle laboratoire afin d'évaluer l'impact de l'ozone sur les biocides. Un suivi de la formation des produits de transformation des biocides est présenté au même titre qu'un suivi de l'évolution de l'écotoxicité sur *Vibrio fischeri* lors de la réaction avec l'ozone. Pour cela, des conditions opératoires ont été préalablement déterminées de façon à obtenir différents taux d'élimination des biocides.

Dans un second temps, un traitement des effluents du CHU et de sa blanchisserie sur site par un pilote semi-industriel d'ozonation et d'ozonation catalytique a été mis en place. Outre l'évaluation de l'efficacité du traitement sur des paramètres classiques tels que la DCO et le COT, le comportement des trois biocides en matrice réelle face à ces traitements a été étudié ainsi que l'évolution de l'écotoxicité notamment vis-à-vis de *Vibrio fischeri*.

Chapitre VIII : Matériels et Méthodes

VIII.1 Protocoles expérimentaux

Dans ce chapitre, les expériences (laboratoire et pilote) ont été menées par un partenaire du projet BIOTECH, la société SEREP-Technavox. L'implication de l'IC2MP a porté sur la préparation des échantillons, l'analyse des biocides et l'interprétation des produits d'oxydation identifiés.

VIII.1.1 Protocole expérimental pour l'étude de la réactivité des biocides

L'étude de la réactivité des biocides s'est faite en laboratoire en matrice EDR (la même eau de distribution employée lors de la chloration, chapitres VI et VII). La concentration de chaque biocide a été fixée à 5 mg/L afin de faciliter la recherche de sous-produits. Toutes les expériences d'ozonation avec catalyseur (OCS) et sans catalyseur (O_3) ont été réalisées sur chaque biocide séparément en réacteurs fermés selon le protocole suivant.

L'EDR (eau de distribution prélevée au robinet, apparenté à une matrice de charge organique faible) est d'abord filtrée sur filtre en acétate de cellulose de porosité 0,45 μm puis répartie dans plusieurs flacons en verre de 125 mL. Des volumes variables sont introduits de manière à obtenir un volume de milieu réactionnel de 100 mL. Pour chaque biocide, les réacteurs sont dopés avec 5 mg/L de biocide. L'ozone est ajouté sous forme d'ozone dissous (eau ultrapure ozonée préparée dans le dispositif décrit ci-après). Des doses d'eau ozonée croissantes (0,6 mL à 20 mL d'une solution d'ozone dissous de concentration 8,8 mg O_3 /L) sont ajoutées dans les flacons excepté un seul qui sert de référence. Des taux d'ozone dans la gamme de 0 à 1,7 mg O_3 /L ont ainsi été appliqués. Pour l'étude de l'ozonation catalytique, le catalyseur (disque poreux de 40 mm de diamètre) a été introduit initialement dans les flacons de 125 mL.

Les analyses sont réalisées après consommation totale de l'ozone (après un minimum de 6h de temps de contact). Les échantillons ont alors été répartis pour la mesure de l'écotoxicité, pour l'identification des sous-produits par le Laboratoire de Chimie Moléculaire (partenaire du projet BIOTECH) et pour l'analyse du biocide résiduel.

VIII.1.2 Dispositifs expérimentaux pour l'étude de l'élimination des biocides

VIII.1.2.1 Effluents étudiés

Il a été montré, dans le cadre du projet BIOTECH que le DDAC, le CHD et le BAPLA étaient majoritairement retrouvés dans les rejets hospitaliers. De plus, un relargage significatif de biocides suite au nettoyage du linge a été observé à la sortie de la blanchisserie. Ainsi, pour l'étude de la traitabilité des biocides par ozone et ozonation catalytique, les expériences, laboratoire et pilote, ont été menées sur les effluents prélevés sur le site du CHU et au niveau de la nouvelle blanchisserie créée depuis les remaniements réalisés au niveau du site du CHU (Chapitre IV, paragraphe IV.2.2).

La nouvelle blanchisserie est située hors site à environ 3 km du CHU. Cette nouvelle blanchisserie traite le linge du CHU, de plusieurs autres établissements de soins de la région et de quelques EHPAD. Par jours, 14 tonnes de linge sont traités. A raison de 4 L_{eau}/kg_{linge}, un débit de sortie de l'ordre de 56 000 L/j peut être estimé. Avant rejet dans le réseau d'assainissement, un prétraitement par ajouts d'acide sulfurique des effluents de la blanchisserie a lieu afin d'abaisser le pH (de 10 à 5,7).

VIII.1.2.2 Dégradation des biocides à l'échelle laboratoire

Pour ces effluents, pour suivre la dégradation des biocides, des expériences ont été réalisées en réacteur semi-batch. Les différentes doses d'ozone appliquées sont alors obtenues en faisant varier la durée d'ozonation (barbotage d'ozone gaz produit à partir d'oxygène). Les expériences ont été menées sur les concentrations en biocides présentes dans les effluents prélevés (cf tableau 32).

Dans la figure 49, le chemin décrit par les flèches bleues concerne la circulation de l'ozone lors de la stabilisation du générateur d'ozone. Le chemin décrit par les flèches rouges indique le chemin emprunté par l'ozone lors des expériences.

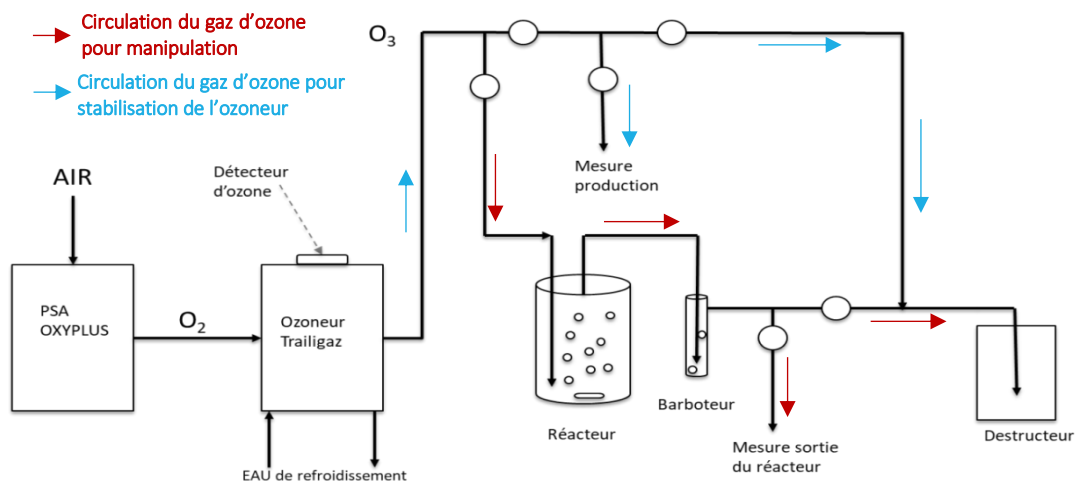


Figure 49 : Montage utilisé pour l'étude de la dégradation des biocides par l'ozone en fonction du temps, d'après SEREP-Technavox et IC2MP.

Lors des expériences, le gaz ozoné est dirigé en continu dans un réacteur cylindrique en verre (de volume de 1L) contenant l'effluent à oxyder. Au cours de ce bullage continu, une partie de l'ozone gaz va se dissoudre dans la solution présente dans le réacteur et réagir avec les éléments qu'elle contient. La fraction de gaz non dissoute suite à cette étape est envoyée vers un destructeur de gaz après passage par un barboteur, laveur de gaz. La destruction du gaz se fait par voie thermocatalytique. L'ozone est alors transformé en dioxygène. Une mesure de gaz ozoné avant et après le réacteur permet d'accéder à la quantité d'ozone consommée par l'effluent. Lorsque le catalyseur (deux disques de catalyseur supporté) est utilisé, il est placé directement dans le réacteur.

Pour ces expériences, les conditions d'ozonation ont été les suivantes :

- Débit de gaz ozone : 380 mL/min
- Dose d'ozone gaz introduit dans le réacteur : 1,7 gO₃/h (concentration du gaz 5,2%)
- Gamme de temps d'ozonation dans le réacteur (15 min à 120 min) correspondant à des taux de traitement de 0,4 gO₃/L à 3,4 gO₃/L d'effluent.

Des prélèvements d'échantillon pour analyses sont réalisés pour différentes durées d'ozonation et l'arrêt de la réaction dans les échantillons est obtenu par barbotage d'azote qui entraîne un stripping de l'ozone dissous.

VIII.1.2.3 A l'échelle pilote

Le pilote installé sur le site du CHU est une unité mobile placée dans un container (figure 50). L'installation du pilote et l'exploitation gérée par SEREP-Technavox a eu lieu sur la période du 26/01/2018 au 06/03/2018.



Figure 50 : Pilote et son unité mobile sur le site du CHU (Photo : SEREP-Technavox).

Le container est équipé d'une pompe d'alimentation (150 L/h maximum), d'une ligne de production d'ozone : ozoneur (capacité maximale de 0,35 kgO₃/h en fonctionnement à l'oxygène), deux analyseurs d'ozone en entrée et en sortie, un destructeur thermique (420°C-470°C) et un groupe froid (10°C-12°C). Il comprend également une cuve de contact ozone/effluent d'un volume qui a été ajusté. Sur cette cuve sont disposées une boucle d'injection d'ozone et une boucle de circulation sur cartouches de catalyseurs (1 ou 2 colonnes ; figure 51). Une cuve de relevage de l'effluent traité a servi de bac tampon (réglé à 11 L) avant rejet. Le pilote permet de traiter l'effluent en mode semi-batch ou continu.

Lors de l'utilisation de ce pilote, les réglages peuvent concerner la charge de catalyseur, la vitesse de passage sur le catalyseur et la dose d'ozone apportée. Pour les essais sur le site du CHU, le volume réactionnel (cuve de contact ozone/effluent + boucle de circulation) a été fixé à 168 L pour les manipulations avec catalyseur et 154 L pour les manipulations sans catalyseur.

Généralement, en mode continu, le débit d'effluent a été de 125 L/h, la concentration en ozone dans le gaz a été réglée à 80 gO₃/Nm³ (5,6%), le débit de gaz ozoné a été fixé à 1,2 m³/h sur une boucle d'injection munie d'un hydroéjecteur dont le débit a été optimisé, ce qui a permis d'appliquer des doses d'ozone de l'ordre de 770 gO₃/m³ d'effluent. Ainsi, les échantillons ozonés ont été prélevés au niveau du bac tampon en sortie d'unité en respectant un délai correspondant à trois fois le temps de contact de l'effluent dans le réacteur.

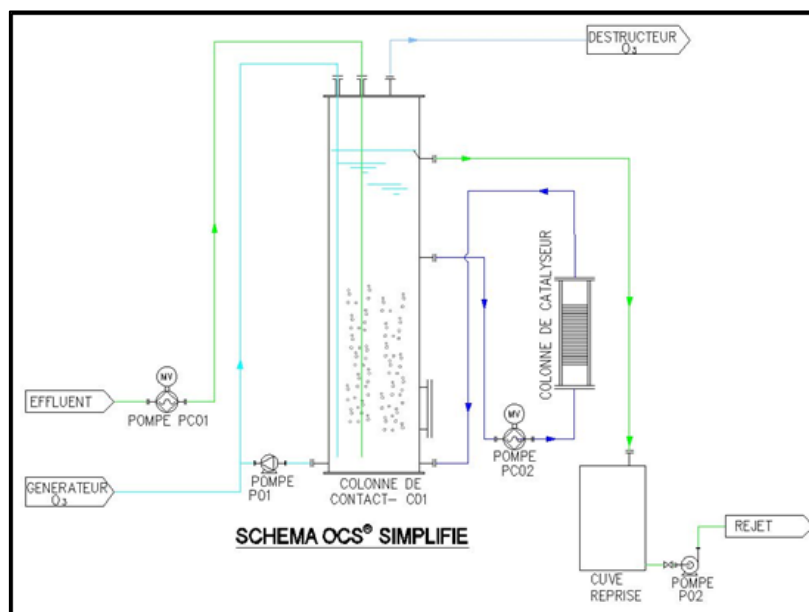


Figure 51 : Schéma synoptique du pilote. (Données SEREP-Technavox)

Les essais de traitement sur site par ce pilote ont concerné deux types d'effluent (bâchée de 1 m³ d'un effluent moyen prélevé à 12h, 15h, 17h et 19h) :

- Les eaux usées du bâtiment principal du CHU. Sur ces effluents du CHU une décantation préalable a été effectuée et seul le surnageant filtré sur poche a été traité par le pilote.
- Les effluents de la blanchisserie prétraités par ajout d'acide sulfurique tel que pratiqué pour abaisser le pH avant rejet dans le réseau d'assainissement. La charge de matières en suspension de la matrice de la blanchisserie étant faible, l'effluent a simplement été homogénéisé avant traitement sur le pilote.

VIII.2 Méthodes d'analyses

L'analyse des biocides et les mesures d'écotoxicité (*Vibrio fischeri*) des prélèvements ont été réalisées dans le cadre de ces travaux de thèse ainsi que la confirmation des structures des sous-produits observés au regard des chemins réactionnels possibles d'action de l'ozone et des radicaux OH[•]. Le DDAC, le CHD et le BAPLA ont été analysés par UHPLC-MS dans les conditions telles que décrites dans le chapitre IV, paragraphe IV.1.3. La mesure de l'écotoxicité des échantillons sur *Vibrio fischeri* a été réalisée par le protocole détaillé dans le chapitre IV, paragraphe IV.1.2.

Pour cette étude, l'évaluation de l'écotoxicité sur *Pseudokirchnella subcapitata* selon le protocole OCDE 201 – NF EN ISO 8692 (International Organization for Standardization, 2012b) et sur *Daphnie magna strauss* selon le protocole établi par la norme NF EN ISO 6341 (International Organization for Standardization, 2012a) a été réalisée par IANESCO *via* à un quatrième partenaire du projet BIOTECH (Véolia Eau).

Les analyses LC-HR-MS pour l'identification des sous-produits ont été effectuées par le LCM (Laboratoire de Chimie Moléculaire), partenaire du projet BIOTECH.

Chapitre IX : Résultats

IX.1 Réactivité des molécules étudiées

Afin d'estimer les doses d'ozone nécessaires à la dégradation des biocides et d'identifier des produits de transformation, les expériences ont été réalisées en réacteur batch (réacteurs fermés) à partir d'eau de distribution (EDR) dopée par l'un des biocides (selon le protocole décrit au paragraphe VIII.1.1).

IX.1.1 Suivi de la dégradation des biocides

Plusieurs essais préliminaires ont été réalisés afin de trouver les conditions permettant d'obtenir une dégradation progressive des biocides. Les données présentées dans la figure 52, sont le résultat des doses sélectionnées.

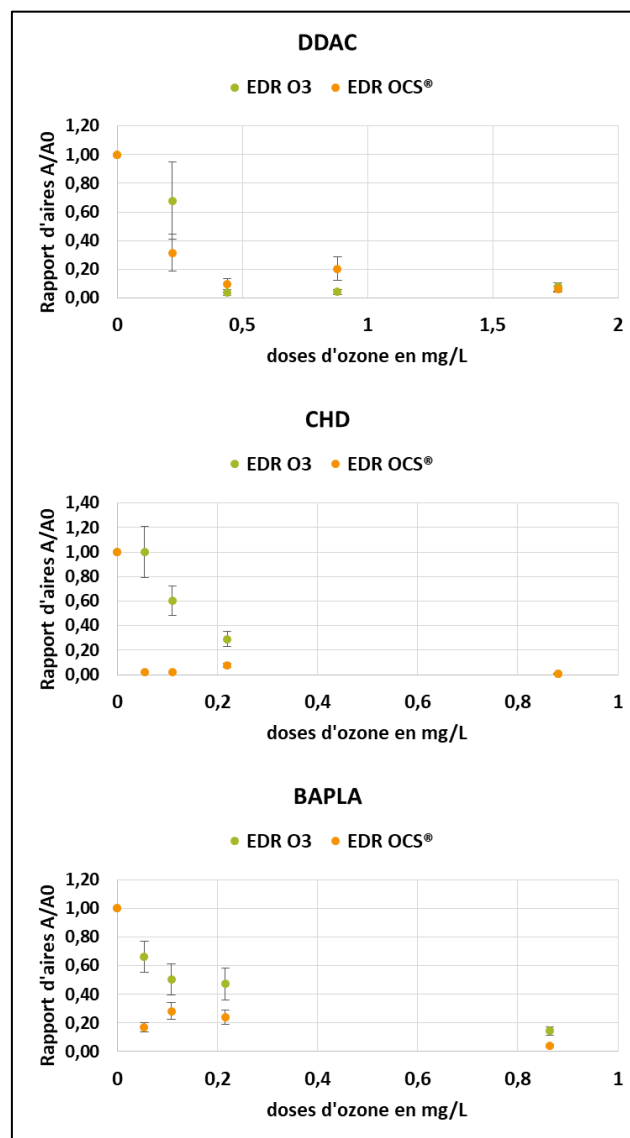


Figure 52 : Résultats du suivi de la dégradation des biocides par ozonation et ozonation catalytique en réacteur fermé. Matrice EDR ; pH ≈ 8 ; biocides séparés ; [DDAC] = [CHD] = [BAPLA] = 5 mg/L.

La figure 52 permet d'évaluer la réactivité des molécules vis-à-vis de l'ozone. Le CHD et le BAPLA se dégradent facilement et plus particulièrement par ozonation catalytique : pour 0,1 mgO₃/L introduit (correspondant à 0,02 mgO₃/mg de biocide initial) 50% d'élimination de ces biocides est obtenue par ozonation seule, et cette dose, en présence de catalyseur, permet une élimination totale de CHD et plus de 70 % du BAPLA. Comme envisagé d'après les données de la littérature, (Chapitre III, paragraphe III.2.2.2), le DDAC semble plus réfractaire : une dose d'ozone de l'ordre de 0,45 mgO₃/L à 0,9 mgO₃/L semble nécessaire pour obtenir un taux d'élimination de l'ordre de 90% (soit 0,1 à 0,2 mgO₃/mg DDAC éliminé).

IX.1.2 Suivi de l'écotoxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri*.

Lors de ces expériences, les résultats des tests d'écotoxicité sont présentés dans la figure 53 et ont été obtenus sur des échantillons préalablement dilués au 1/5 et au 1/10 respectivement dans le cas du CHD et du DDAC.

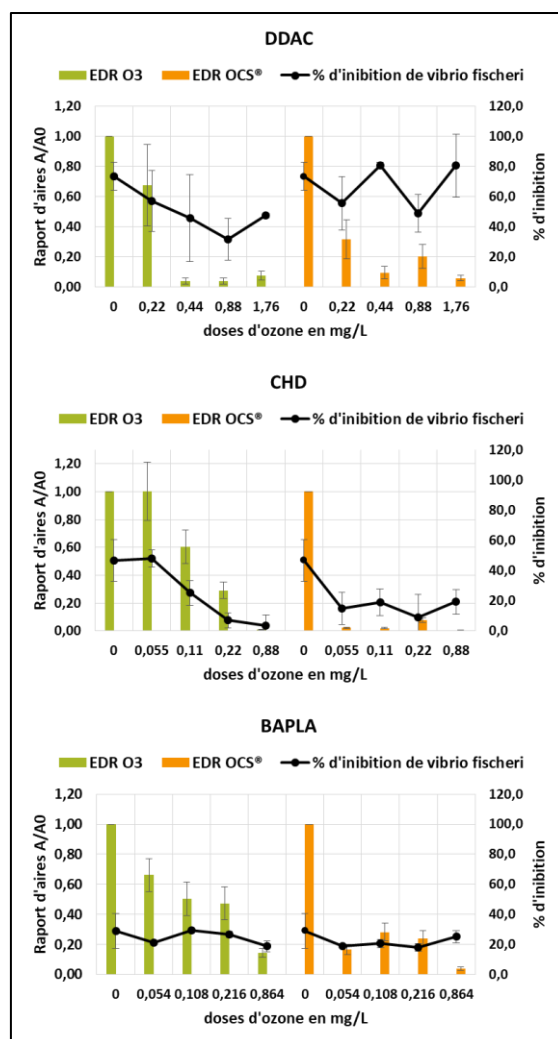


Figure 53 : Evolution de l'écotoxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri* pendant l'élimination des biocides par ozonation et ozonation catalytique. Matrice EDR ; pH ≈ 8 ; réacteur batch ; biocides séparés ; [DDAC] = [CHD] = [BAPLA] = 5 mg/L. (Résultats obtenus sur échantillons préalablement dilués au 1/10 pour le DDAC, au 1/5 pour le CHD et non dilués pour le BAPLA).

Ces résultats semblent montrer, dans le cas du DDAC, molécule la plus réfractaire au traitement à l'ozone et la plus potentiellement écotoxique d'après l'EC₅₀ déterminée pour *Vibrio fischeri* (tableau 19), une diminution de l'écotoxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri* au cours de l'ozonation. Pour ce composé en effet, 80 % d'inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri* est observée avant la réaction alors que 40 % - 50% sont notés pour les doses d'ozone les plus importantes. En ozonation catalytique en revanche, il est plus difficile de conclure. Les résultats observés, variant d'une dose d'ozone à l'autre sans réelle tendance, mériteraient d'être confirmés.

Dans le cas du CHD, une diminution de l'écotoxicité au cours de l'ozonation avec ou sans catalyseur a été observée. Le pourcentage d'inhibition obtenu pour les doses les plus fortes d'ozone est inférieur à 20 % en présence ou non de catalyseur.

Enfin, dans le cas du BAPLA, molécule la moins active vis-à-vis de *Vibrio fischeri* (tableau 19) aucun impact significatif sur l'évolution de l'écotoxicité n'est noté que ce soit avec ou sans catalyseur. Pour l'ensemble des points, sans dilution préalable des échantillons, le pourcentage d'inhibition reste toutefois faible.

IX.1.3 Formation et évolution des sous-produits

L'analyse des échantillons par LC-HR-MS a permis au LCM à partir de la mesure de masses exactes d'obtenir des formules brutes pour chacun des sous-produits de réaction.

Sur la base des fragmentations obtenues par analyse MS² par le LCM et en consultant la réactivité et les mécanismes d'action de l'ozone et des radicaux hydroxyle présentés dans la littérature (Chapitre III, paragraphe III.2.2.2) il nous a alors été possible de proposer les structures les plus probables compatibles avec les sites d'attaque attendus.

Les tableaux 23 à 31 présentent, pour les produits de réaction de chacun des biocides, les rapports m/z des ions moléculaires et des fragments obtenus par spectrométrie de masse, ainsi que les formules brutes des ions moléculaires et les structures proposées pour les composés.

IX.1.3.1 BAPLA

Trois sous-produits du BAPLA ont été détectés au cours de l'ozonation et de l'ozonation catalytique (figure 54). Pour chacun de ces composés, les intensités obtenues en ozonation et en ozonation catalytique sont du même ordre de grandeur. Dans le cas du composé B 316, une intensité plus importante est observée laissant supposer que ce composé est majoritaire.

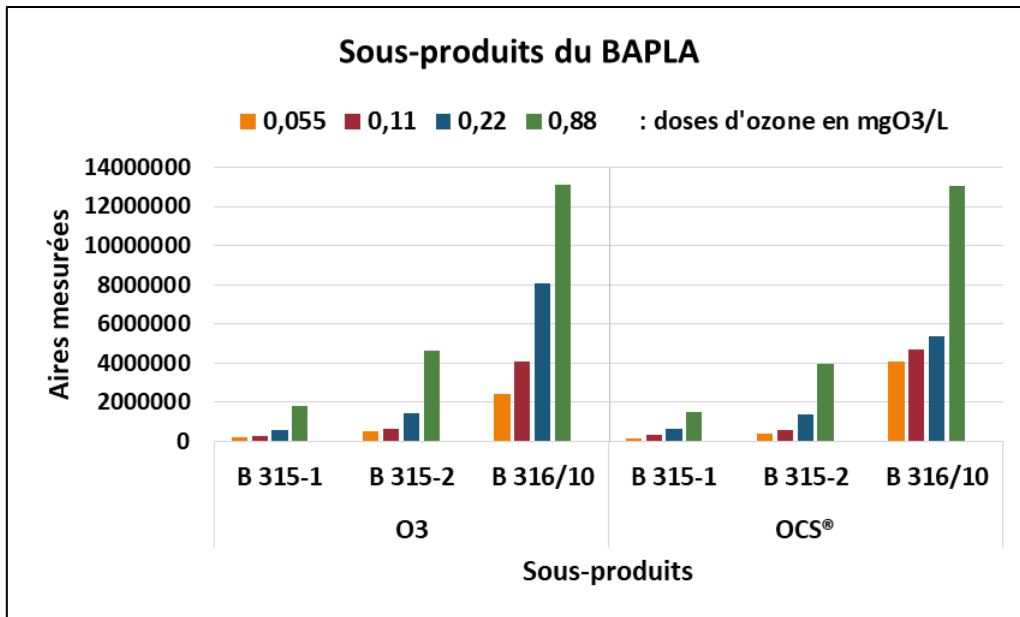


Figure 54 : Evolution des sous-produits du BAPLA détectés dans les échantillons en fonction des doses d'ozone utilisées. Matrice EDR ; réacteurs batch ; [BAPLA] = 5 mg/L ; (Données LCM).

Les résultats obtenus par spectrométrie de masse, pour chacun de ces produits ainsi que les structures proposées sont présentées dans le tableau 23.

Tableau 23 : Temps de rétention, composition élémentaire et ions de fragmentations de l'ion moléculaire MH⁺ obtenus par spectrométrie de masse (ESI⁺) au cours de l'identification des structures du BAPLA et de ses sous-produits identifiés après ozonation (Résultats obtenus en collaboration avec le LCM).

Composé	Tr (en min)	Ions moléculaires MH ⁺				MS/MS de MH ⁺ (m/z)	Informations obtenues à partir de la fragmentation en masse	Structure proposée pour le composé
		Composition élémentaire	m/z expérimental	m/z théorique	Précision (ppm)			
BAPLA	6,2	C ₁₈ H ₄₂ N ₃	300,3375	300,3373	-0,5	C ₁₈ H ₃₉ N ₂ (283) ; C ₁₈ H ₃₆ N (266) ; C ₁₅ H ₃₅ N ₂ (243) ; C ₁₅ H ₃₂ N (226) ; C ₁₄ H ₃₀ N (212) ; C ₁₃ H ₂₈ N (198)	---	
B 316	6,8	C ₁₈ H ₄₂ N ₃ O	316,3326	316,3322	-1	C ₁₈ H ₃₉ N ₂ O (299) ; C ₁₈ H ₃₆ NO (282) ; C ₁₅ H ₃₅ N ₂ O (259) ; C ₁₅ H ₃₂ NO (242) ; C ₁₅ H ₃₂ N (226) ; C ₁₄ H ₃₀ N (212) ; C ₁₃ H ₂₈ N (198)	+ 10 par rapport au BAPLA <ul style="list-style-type: none"> ■ Maintien des deux fonctions amines primaires caractérisé par l'élimination de 2 NH₃ conduisant aux ions fragments m/z 299 [MH-17]⁺ et 282 [m/z 299-17]⁺. Maintien de la chaîne alkyle caractérisé par l'ion fragment m/z 198 [C₁₃H₂₈N]⁺ 	
B 315-1	7,7	C ₁₈ H ₃₉ N ₂ O ₂	315,3003	315,3006	1	C ₁₇ H ₃₆ NO (270) ; C ₁₅ H ₃₂ NO (242) ; C ₁₅ H ₃₂ N (226) ; C ₁₄ H ₃₀ N (212) ; C ₁₃ H ₂₈ N (198)	+2O ; -1N ; -3H par rapport au BAPLA <ul style="list-style-type: none"> ■ Maintien de la chaîne alkyle caractérisé par l'ion fragment m/z 198 [C₁₃H₂₈N]⁺ 	
B 315-2	8,2	C ₁₈ H ₃₉ N ₂ O ₂	315,3003	315,3006	1	C ₁₈ H ₃₆ NO ₂ (298) ; C ₁₆ H ₃₂ NO ₂ (270) ; C ₁₅ H ₃₂ NO ₂ (258) ; C ₁₅ H ₃₂ N (226) ; C ₁₄ H ₃₀ N (212) ; C ₁₃ H ₂₈ N (198) ; C ₆ H ₁₂ NO ₂ (130) ; C ₅ H ₁₀ NO ₂ (116)	+2O ; -1N ; -3H par rapport au BAPLA <ul style="list-style-type: none"> ■ Maintien d'une des chaînes amines primaires caractérisé par les ions m/z 298, m/z 270 et m/z 258 correspondant à des pertes de NH₃ (-17) ; NH₃+C₂H₄ (-45) et NH₃+C₃H₄ (-57) à partir de MH⁺. ■ Maintien de la chaîne alkyle caractérisé par l'ion fragment m/z 198 [C₁₃H₂₈N]⁺ 	

En accord avec les données de la littérature, ces composés proviendraient d'une attaque initiale de l'ozone ou des radicaux hydroxyle sur les fonctions amines du BAPLA (Chapitre III, paragraphes III.2.2.2.1.1 et III.2.2.2.2.1). Par attaque sur une des fonctions amines I, le composé B 315-1 serait généré alors que le composé B 316 proviendrait d'une attaque initiale sur la fonction amine III. D'un point de vue cinétique, la réaction de l'ozone et des OH^\bullet est plus rapide sur les fonctions amines III que I, la formation du composé B 316 est alors majoritaire. Enfin, le composé B 315-2 proviendrait soit d'une oxydation de la fonction amine I du composé B 316 soit d'une oxydation de la fonction amine III de l'intermédiaire B (figure 55).

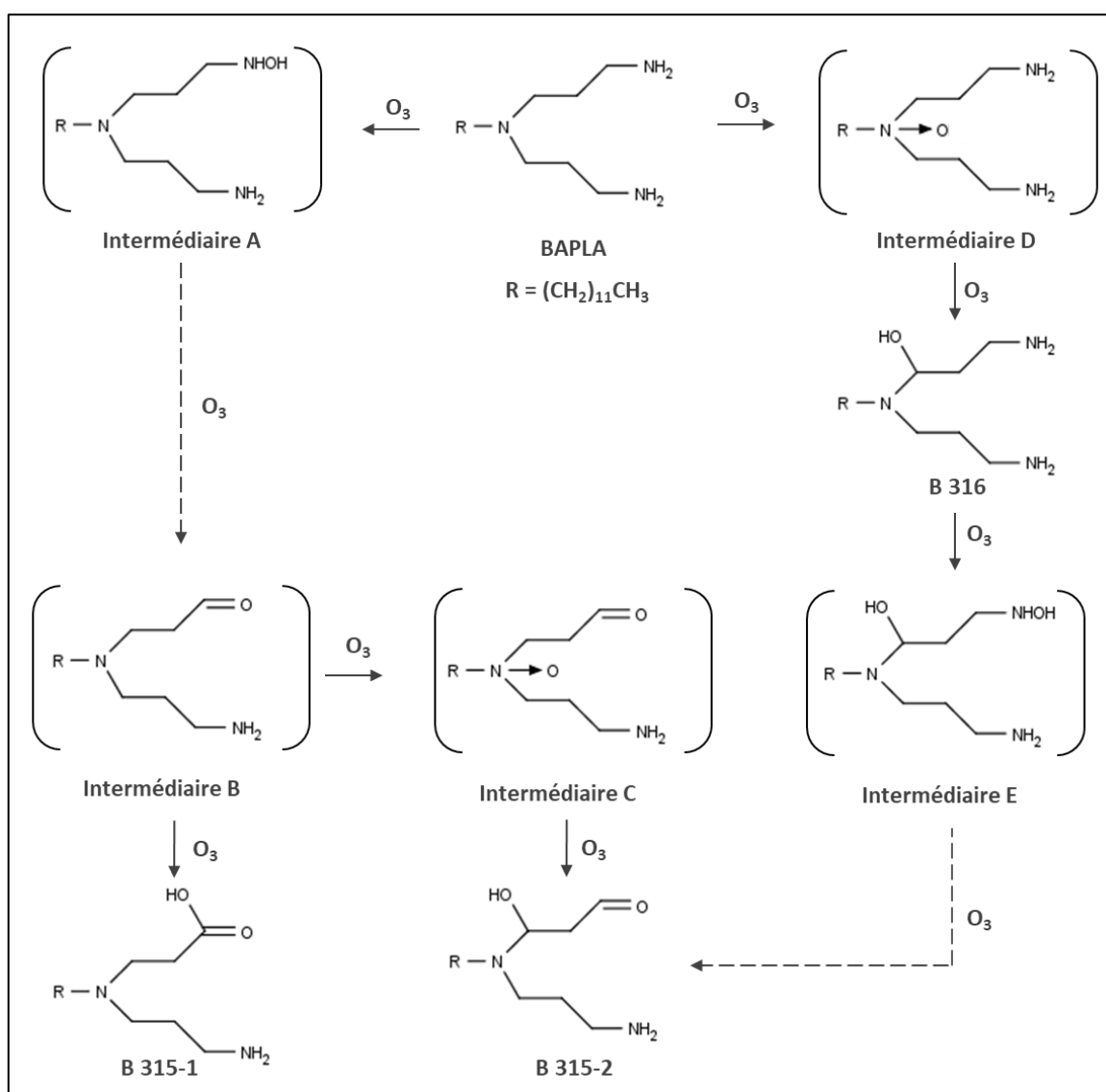


Figure 55 : Chemin réactionnel proposé pour la formation des sous-produits du BAPLA lors de l'ozonation : Données obtenues en collaboration avec LCM.

IX.1.3.2 Digluconate de chlorhexidine

Pour la chlorhexidine, deux sous-produits ont été détectés au cours des manipulations d'ozonation seule et d'ozonation catalytique (figure 56). Contrairement aux sous-produits du BAPLA une différence d'intensité de ces deux composés est observée entre les manipulations réalisées en ozonation et ozonation catalytique. Ainsi, le composé C 485, est plus intense lors des expériences d'ozonation seule, alors que le composé C 521 est plus intense lors de l'ozonation catalytique.

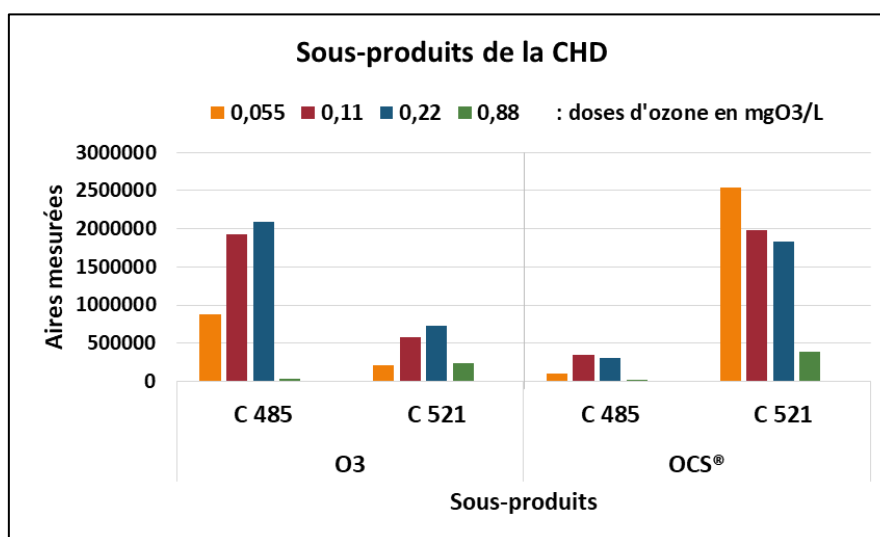
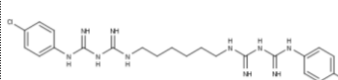
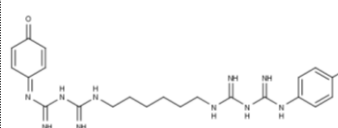
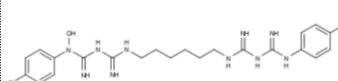


Figure 56 : Evolution des sous-produits du CHD détectés dans les échantillons en fonction des doses d'ozone utilisées. Matrice EDR ; réacteurs batch ; [CHD] = 5 mg/L ; (données LCM).

Les résultats obtenus par spectrométrie de masse pour ces deux composés ainsi que les structures proposées sont présentés dans le tableau 24.

Tableau 24 : Temps de rétention, composition élémentaire et ions de fragmentations de l'ion moléculaire MH⁺ obtenus par spectrométrie de masse (ESI⁺) au cours de l'identification des structures du CHD et de ses sous-produits identifiés après ozonation (Résultats obtenus en collaboration avec le LCM).

Composé	Tr (en min)	Ions moléculaires MH ⁺				MS/MS de MH ⁺ (m/z)	Informations obtenues à partir de la fragmentation en masse	Structure proposée pour le composé
		Composition élémentaire	m/z expérimental	m/z théorique	Précision (ppm)			
CHD	7,7	C ₂₂ H ₃₁ Cl ₂ N ₁₀	505,2102	505,2105	-0,2	C ₂₂ H ₂₈ Cl ₂ N ₉ (488) ; C ₂₂ H ₂₅ Cl ₂ N ₈ (471) ; C ₁₆ H ₂₅ ClN ₉ (378) ; C ₁₆ H ₂₂ ClN ₈ (361) ; C ₁₅ H ₂₆ ClN ₈ (353) ; C ₁₅ H ₂₃ ClN ₇ (336) ; C ₁₅ H ₂₀ ClN ₆ (319) ; C ₁₄ H ₂₄ ClN ₆ (311) ; C ₁₄ H ₂₁ ClN ₅ (294) ; C ₉ H ₂₀ N ₇ (226) ; C ₉ H ₁₇ N ₆ (209) ; C ₈ H ₂₁ N ₆ (201) ; C ₈ H ₈ ClN ₄ (195) ; C ₈ H ₁₈ N ₅ (184) ; C ₇ H ₉ ClN ₃ (170) ; C ₈ H ₁₅ N ₄ (167) ; C ₇ H ₁₉ N ₄ (159) ; C ₇ H ₁₆ N ₃ (142)	---	
C 485	5,7	C ₂₂ H ₃₀ ClN ₁₀ O	485,2288	485,2287	-0,1	C ₂₂ H ₂₇ ClN ₉ O (468) ; C ₂₂ H ₂₄ ClN ₈ O (451) ; C ₁₆ H ₂₄ N ₉ O (358) ; (341) ; C ₁₅ H ₂₃ ClN ₇ (336) ; (333) ; C ₁₅ H ₂₀ ClN ₆ (319) ; C ₁₅ H ₂₂ N ₇ O (316) ; (299) ; C ₁₄ H ₂₃ N ₆ O (291) ; (274) ; C ₁₄ H ₁₇ N ₄ O (257) ; C ₁₁ H ₁₉ N ₃ O (209) ; C ₈ H ₂₁ N ₆ (201) ; C ₈ H ₈ ClN ₄ (195) ; C ₈ H ₁₀ N ₅ O (192) ; C ₈ H ₁₈ N ₅ (184) ; C ₈ H ₇ N ₄ O (175) ; C ₇ H ₉ ClN ₃ (170) ; C ₇ H ₈ N ₃ O (150) ; C ₇ H ₅ N ₂ O (133) ; C ₇ H ₁₆ N ₃ (142) ; (128) ; (121) ; C ₆ H ₆ NO (108)	-1Cl ; +1O ; -1H par rapport au CHD <ul style="list-style-type: none"> ■ Maintien d'un cycle aromatique avec le chlore (présence des ions m/z 336 ; 319 ; 195 et 170) du fait de la symétrie de la molécule ■ Oxydation sur le cycle aromatique* 	
C 521	5,9	C ₂₂ H ₃₁ Cl ₂ N ₁₀ O	521,2053	521,2054	0,5	C ₂₂ H ₃₀ ClN ₁₀ O (485) ; C ₂₂ H ₂₇ ClN ₉ O (468) ; C ₂₂ H ₂₄ ClN ₈ O (451) ; C ₁₆ H ₂₄ N ₉ O (358) ; (341) ; C ₁₅ H ₂₃ ClN ₇ (336) ; (333) ; C ₁₅ H ₂₀ ClN ₆ (319) ; C ₁₅ H ₂₂ N ₇ O (316) ; (299) ; C ₁₄ H ₂₃ N ₆ O (291) ; (274) ; C ₁₄ H ₁₇ N ₄ O (257) ; C ₈ H ₈ ClN ₄ (195) ; C ₈ H ₁₀ N ₅ O (192) ; C ₈ H ₁₈ N ₅ (184) ; C ₇ H ₉ ClN ₃ (170) ; C ₇ H ₈ N ₃ O (150) ; C ₇ H ₁₆ N ₃ (142)	+1O ; par rapport au CHD <ul style="list-style-type: none"> ■ Maintien d'un cycle aromatique avec le chlore (présence des ions m/z 336 ; 319 ; 195 et 170) du fait de la symétrie de la molécule ■ Oxydation sur l'azote en α du noyau aromatique* 	

*informations obtenues par fragmentation d'ions oxydés de faible rapports m/z (192 et 150 pour C 521 et 108 pour 485) dans le spectre de masse

En accord avec les données de la littérature, ces composés proviendraient soit d'une attaque initiale de l'ozone et des radicaux OH^\bullet en position para d'un noyau aromatique conduisant par perte d'un chlore à un phénol puis par oxydation au composé C 485 (voie 1) soit d'une attaque de la fonction amine en α d'un noyau aromatique conduisant alors à la formation du composé C 521 (voie 2) (figure 57).

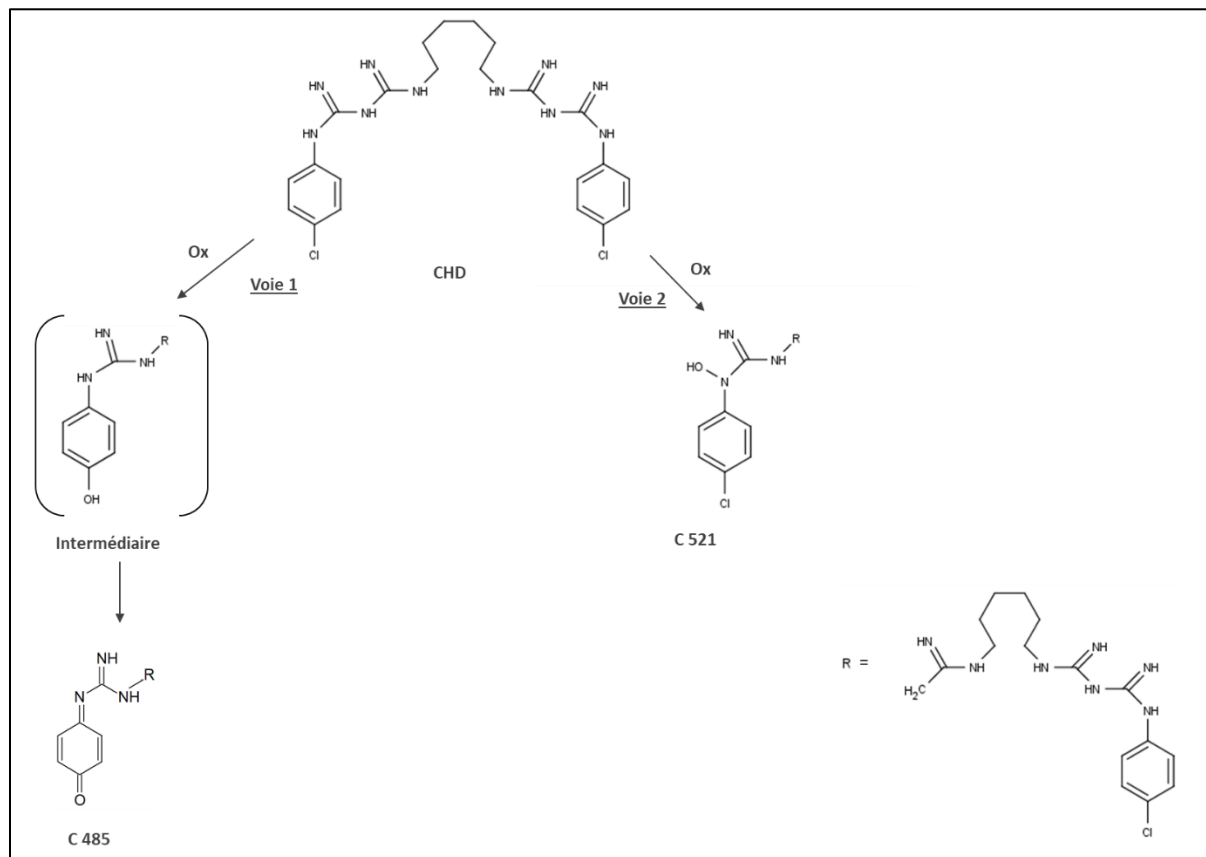


Figure 57 : Chemin réactionnel proposé pour la formation des sous-produits du CHD lors de l'ozonation : Données obtenues en collaboration avec LCM.

La formation du composé C 485 semble favorisée lors de l'ozonation seule. La plus faible concentration en présence de catalyseur pourrait résulter en son élimination par ce procédé. Lors de l'ozonation catalytique, en plus de l'action de l'ozone moléculaire et des radicaux OH^\bullet , les autres mécanismes mis en jeu semblent également favoriser la formation du composé C 521 (voie 2).

IX.1.3.3 Le DDAC

Pour les expériences avec le DDAC, de nombreux sous-produits ont été détectés, 24 en ozonation seule et 19 en ozonation catalytique. Parmi ces composés, plusieurs présentent des compositions élémentaires identiques. Pour l'interprétation des résultats, plusieurs groupes de sous-produits ayant la même composition élémentaire ont donc été définis dans la suite de ce travail.

La figure 58 présente l'évolution de la formation des sous-produits en fonction de la dose d'ozone appliquée lors de l'ozonation et l'ozonation catalytique (OCS®). En présence de catalyseur l'intensité des sous-produits formés semble légèrement inférieure. Toutefois, ces résultats montrent peu de différence suivant le protocole d'oxydation employé. Dans les deux cas, le composé D 340, serait très largement majoritaire suivi par les composés D 370 et D 354.

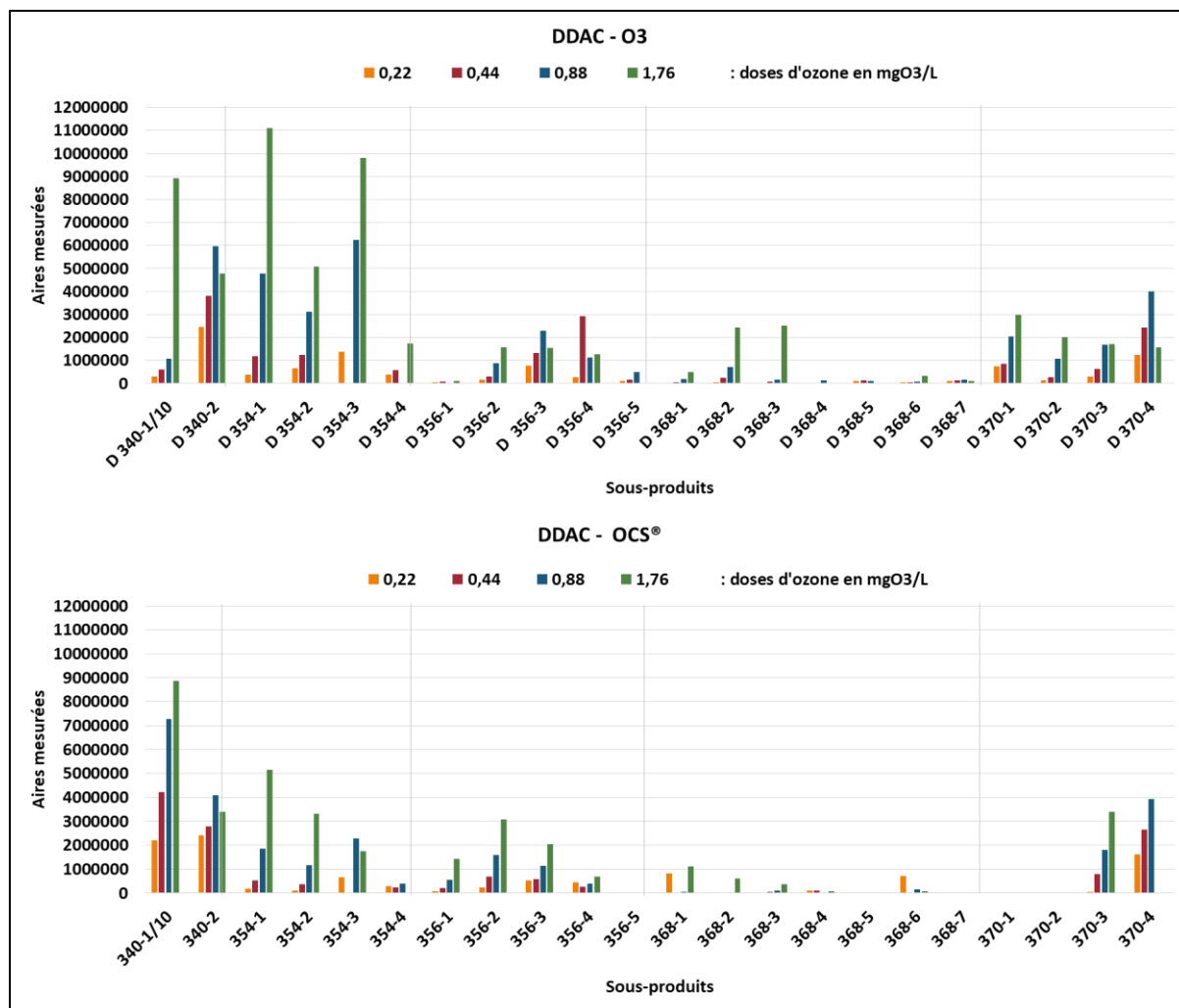


Figure 58 : Evolution des sous-produits du DDAC détectés dans les échantillons en fonction des doses d'ozone utilisées (Données LCM). Matrice EDR ; réacteurs batch ; [DDAC] = 5 mg/L ; Pour une meilleure lisibilité des résultats, les aires affichées dans cette figure pour le composé D 340 ont été divisées par 10 : Données LCM.

Les tableaux 25 à 31 présentent les résultats obtenus par spectrométrie de masse pour les différents groupes de sous-produits ainsi que les structures chimiques proposées.

Tableau 25 : Temps de rétention, composition élémentaire et ions de fragmentations de l'ion moléculaire obtenus par spectrométrie de masse (ESI+) pour les sous-produits D 340 de composition élémentaire C₂₂H₄₆NO (Résultats obtenus en collaboration avec le LCM).

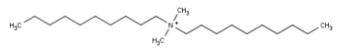
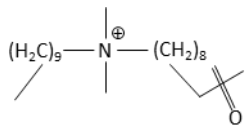
Composé	Tr (en min)	Ions moléculaires				MS/MS de l'ion moléculaire (m/z)	Informations obtenues à partir de la fragmentation en masse	Structure proposée pour le composé
		Composition élémentaire	m/z expérimental	m/z théorique	Précision (ppm)			
DDAC	10,6	C ₂₂ H ₄₈ N	326,3796	326,3781	-1,4	C ₂₁ H ₄₄ N (310) ; C ₁₂ H ₂₈ N (186)		
D 340-1	10,1	C ₂₂ H ₄₆ NO	340,3577	340,3574	-0,9	C ₁₂ H ₂₆ NO (200) ; C ₁₂ H ₂₈ N (186) ; C ₁₀ H ₁₉ O (155) ; C ₆ H ₁₁ O (99) ; C ₅ H ₉ O (85) ; C ₄ H ₇ O (71)	+1O ; -2H par rapport au DDAC (Carbonyle – aldéhyde ou cétone) ■ Oxydation sur chaîne alkyle car : -pertes de C ₁₀ H ₁₈ O ou C ₁₀ H ₂₀ à partir de M ⁺ par rupture de la liaison C-N pour former les ions m/z 186 et 200	
D 340-2	10,4		340,3579	340,3574	-1,4	C ₁₂ H ₂₈ N (186) ; C ₁₀ H ₁₉ O (155) ; C ₇ H ₁₃ O (113) ; C ₄ H ₇ O (71)	-perte de NH(CH ₃) ₂ à partir de l'ion m/z 200 pour donner l'ion m/z 155 prouvant le maintien des deux méthyles	

Tableau 26 : Temps de rétention, composition élémentaire et ions de fragmentations de l'ion moléculaire obtenus par spectrométrie de masse (ESI+) pour les sous-produits D 354 de composition élémentaire C₂₂H₄₄NO₂ (Résultats obtenus en collaboration avec le LCM).

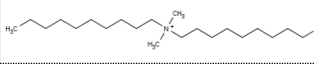
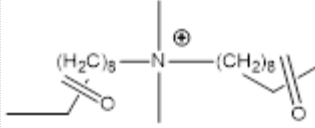
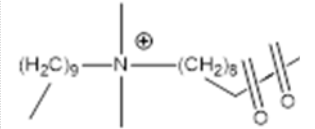
Composé	Tr (en min)	Ions moléculaires			MS/MS de l'ion moléculaire (m/z)	Informations obtenues à partir de la fragmentation en masse	Structure proposée pour le composé	
		Composition élémentaire	m/z expérimental	m/z théorique				Précision (ppm)
DDAC	10,6	C ₂₂ H ₄₈ N	326,3796	326,3781	-1,4	C ₂₁ H ₄₄ N (310) ; C ₁₂ H ₂₈ N (186)		
D 354-1	8,8	C ₂₂ H ₄₄ NO ₂	354,3371	354,3367	-1,2	C ₁₂ H ₂₆ NO (200) ; C ₁₀ H ₁₉ O (155) ; C ₄ H ₇ O (71)	<p>+2O ; -4H par rapport au DDAC (deux fonctions carbonyles)</p> <ul style="list-style-type: none"> Présence d'une oxydation sur chacune des chaînes alkyles car : <ul style="list-style-type: none"> -un seul ion m/z (200) C₁₂H₂₆NO monoxydé est généré à par de M⁺ suite à la rupture des liaisons C-N des chaînes alkyles -maintien des deux méthyles prouvé par la persence du fragment m/z (155) correspondant à la perte de NH(CH₃)₂ à partir de l'ion m/z (200) 	
D 354-2	9,5		354,3368	354,3367	-0,5	C ₁₂ H ₂₄ NO ₂ (214) ; C ₁₂ H ₂₈ N (186) ; C ₁₀ H ₁₇ O ₂ (169) ; C ₁₀ H ₁₉ O (155) ; C ₅ H ₇ O ₂ (99) ; C ₄ H ₇ O (71)	<p>+2O ; -4H par rapport au DDAC (deux fonctions carbonyles)</p> <ul style="list-style-type: none"> Présence de deux C=O sur une même chaîne alkyle car : 	
D 354-3	9,7		354,3370	354,3367	1	C ₁₂ H ₂₄ NO ₂ (214) ; C ₁₂ H ₂₈ N (186) ; C ₁₀ H ₁₇ O ₂ (169) ; C ₁₀ H ₁₉ O (155) ; C ₁₀ H ₁₅ O (151) ; C ₇ H ₁₃ O (113) ; C ₅ H ₇ O ₂ (99)	<ul style="list-style-type: none"> -perte possible de C₁₀H₁₆O₂ ou C₁₀H₂₀ à partir de M⁺ par rupture de la liaison C-N pour former les ions m/z (186) et/ou (214) 	
D 354-4	10,0		354,3369	354,367	-0,6	C ₁₂ H ₂₄ NO ₂ (214) ; C ₁₀ H ₁₇ O ₂ (169) ; C ₁₀ H ₁₅ O (151) ; C ₇ H ₁₁ O ₂ (127) ; C ₈ H ₁₁ O (123) ; C ₇ H ₉ O (109) ; C ₅ H ₇ O ₂ (99) ; C ₆ H ₉ (81) ; C ₄ H ₇ O (71)	<ul style="list-style-type: none"> -maintien des deux méthyles prouvé par la présence de l'ion m/z (169) correspondant à la perte de NH(CH₃)₂ à partir de l'ion m/z (214) 	

Tableau 27 : Temps de rétention, composition élémentaire et ions de fragmentations de l'ion moléculaire obtenus par spectrométrie de masse (ESI+) pour les sous-produits D 356 de composition élémentaire C₂₂H₄₆NO₂ (Résultats obtenus en collaboration avec le LCM).

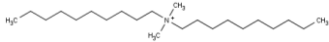
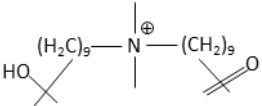
Composé	Tr (en min)	Ions moléculaires				MS/MS de l'ion moléculaire (m/z)	Informations obtenues à partir de la fragmentation en masse	Structure proposée pour le composé
		Composition élémentaire	m/z expérimental	m/z théorique	Précision (ppm)			
DDAC	10,6	C ₂₂ H ₄₈ N	326,3796	326,3781	-1,4	C ₂₁ H ₄₄ N (310) ; C ₁₂ H ₂₈ N (186)		
D 356-1	8,5	C ₂₂ H ₄₆ NO ₂	356,3520	356,3523	1	C ₁₂ H ₂₈ NO (202) ; C ₁₂ H ₂₆ NO (200) ; C ₁₂ H ₂₆ N (184) ; C ₁₀ H ₁₉ O (155) ; C ₆ H ₁₁ O (99) ; C ₅ H ₉ O (85)	<p>+2O ; -2H par rapport au DDAC (une fonction carbonyle –aldéhyde ou cétone + 1 fonction hydroxyle)</p> <ul style="list-style-type: none"> Présence d'un OH sur une chaîne alkyle et un C=O sur l'autre chaîne alkyle car : -deux ions oxydés m/z 202 et 200 sont formés par perte de C₁₀H₁₈O ou C₁₀H₂₀O à partir de M⁺ suite à la rupture des liaisons C-N des chaînes alkyles -maintien des deux méthyles prouvé par la présence du fragment m/z 155 correspondant à la perte de NH(CH₃)₂ à partir de l'ion m/z 200 	
D 356-2	9,0		356,3519	356,3523	1,1	C ₁₂ H ₂₆ NO (200) ; C ₁₂ H ₂₄ NO (198) ; C ₁₂ H ₂₈ N (186) ; C ₁₀ H ₁₉ O (155) ; C ₇ H ₁₁ O (111) ; C ₇ H ₁₃ O (113) ; C ₅ H ₉ O (85) ; (83) ; C ₄ H ₇ O (71)	<p>+2O ; -2H par rapport au DDAC (une fonction carbonyle –aldéhyde ou cétone + 1 fonction hydroxyle)</p> <ul style="list-style-type: none"> Présence d'un OH sur une chaîne alkyle et un C=O sur l'autre chaîne alkyle car : - Ion oxydé à m/z 200 obtenus par perte de C₁₀H₂₀O à partir de M⁺ suite à la rupture de la liaison C-N de la chaîne alkyle. - maintien des deux méthyles prouvé par la présence du fragment m/z 155 correspondant à la perte de NH(CH₃)₂ à partir de l'ion m/z 200 	

Tableau 28 : Temps de rétention, composition élémentaire et ions de fragmentations de l'ion moléculaire obtenus par spectrométrie de masse (ESI+) pour les sous-produits D 356 de composition élémentaire C₂₂H₄₆NO₂ (Résultats obtenus en collaboration avec le LCM) (suite).

Composé	Tr (en min)	Ions moléculaires				MS/MS de l'ion moléculaire (m/z)	Informations obtenues à partir de la fragmentation en masse	Structure proposée pour le composé
		Composition élémentaire	m/z expérimental	m/z théorique	Précision (ppm)			
DDAC	10,6	C ₂₂ H ₄₈ N	326,3796	326,3781	-1,4	C ₂₁ H ₄₄ N (310) ; C ₁₂ H ₂₈ N (186)		
D 356-3	9,2	C ₂₂ H ₄₆ NO ₂	356,3518	356,3523	1,3	C ₂₁ H ₄₄ NO (326) ; C ₁₂ H ₂₆ NO (200) ; C ₁₂ H ₂₈ N (186) ; C ₁₀ H ₁₉ O (155) ; C ₇ H ₁₁ O (111) ; C ₆ H ₉ O (97)	+2O ; -2H par rapport au DDAC (une fonction carbonyle –aldéhyde ou cétone + 1 fonction hydroxyle)	
D 356-4	9,6		356,3524	356,3523	-0,2	C ₂₁ H ₄₄ NO (326) ; C ₂₀ H ₄₂ NO (312) ; C ₁₂ H ₂₆ NO ₂ (216) ; C ₁₂ H ₂₈ NO (202) ; C ₁₂ H ₂₆ NO (200) ; C ₁₂ H ₂₄ NO (198) ; C ₁₂ H ₂₈ N (186) ; C ₁₂ H ₂₆ N (184) ; C ₁₀ H ₁₇ O (153) ; C ₈ H ₁₃ O (125) ; C ₇ H ₁₁ O (111) ; C ₆ H ₉ O (97) ; C ₅ H ₉ O (85) ; C ₄ H ₇ O (71)	<ul style="list-style-type: none"> Hydroxylation d'un méthyle car perte de CH₂O à partir de M⁺ pour donner l'ion m/z 326 Présence d'un C=O sur une chaîne alkyle car perte de C₁₀H₂₀ à partir de M⁺ pour donner l'ion m/z 216. 	
D 356-5	10,0	C ₂₂ H ₄₆ NO ₂	356,3525	356,3523	-0,6	C ₁₂ H ₂₆ NO ₂ (216) ; C ₁₂ H ₂₆ NO (200) ; C ₁₂ H ₂₄ NO (198) ; C ₁₂ H ₂₈ N (186) ; C ₁₀ H ₁₉ O ₂ (171) ; C ₁₀ H ₁₉ O (155) ; C ₁₀ H ₁₇ O (153) ; C ₇ H ₁₃ O (113) ; C ₇ H ₁₁ O (111) ; C ₆ H ₉ O (97) ; C ₅ H ₉ O (85) ; C ₄ H ₇ O (71)	<p>+2O ; -2H par rapport au DDAC (une fonction carbonyle –aldéhyde ou cétone + 1 fonction hydroxyle)</p> <ul style="list-style-type: none"> Présence d'un OH et 1 C=O sur la même chaîne alkyle car : <p>-un ion dioxydé de rapport m/z (216) et un ion non-oxydé de rapport m/z (186) sont formés par perte de C₁₀H₂₀ et C₁₀H₁₈O₂ à partir de M⁺ suite à la rupture des liaisons C-N des chaînes alkyles</p> <p>-maintien des deux méthyles montré par l'ion m/z 171 correspondant à la perte de NH(CH₃)₂ à partir de l'ion m/z (216)</p>	

Tableau 29 : Temps de rétention, composition élémentaire et ions de fragmentations de l'ion moléculaire obtenus par spectrométrie de masse (ESI+) pour les sous-produits D 368 de composition élémentaire C₂₂H₄₂NO₃ (Résultats obtenus en collaboration avec le LCM).

Composé	Tr (en min)	Ions moléculaires				MS/MS de l'ion moléculaire (m/z)	Informations obtenues à partir de la fragmentation en masse	Structure proposée pour le composé
		Composition élémentaire	m/z expérimental	m/z théorique	Précision (ppm)			
DDAC	10,6	C ₂₂ H ₄₈ N	326,3796	326,3781	-1,4	C ₂₁ H ₄₄ N (310) ; C ₁₂ H ₂₈ N (186)		
D 368-1	7,9	C ₂₂ H ₄₂ NO ₃	368,3162	368,3159	-0,7	C ₁₂ H ₂₄ NO ₂ (214) ; C ₁₂ H ₂₆ NO (200) ; C ₁₀ H ₁₇ O ₂ (169) ; C ₁₀ H ₁₉ O (155) ; C ₆ H ₉ O ₂ (113) ; C ₇ H ₁₁ O (111) ; C ₅ H ₇ O ₂ (99) ; C ₆ H ₉ O (97) ; C ₅ H ₉ O (85) ; C ₄ H ₇ O ₂ (87)	+3O ; -6H par rapport au DDAC ■ Présence de deux C=O sur une chaîne alkyle et un C=O sur l'autre chaîne alkyle car :	
D 368-2	8,3					C ₁₂ H ₂₄ NO ₂ (214) ; C ₁₂ H ₂₆ NO (200) ; C ₁₀ H ₁₇ O ₂ (169) ; C ₁₀ H ₁₉ O (155) ; C ₁₀ H ₁₅ O (151) ; C ₆ H ₉ O ₂ (113) ; C ₆ H ₉ O (97) ; C ₅ H ₉ O (85) ; C ₄ H ₇ O (71)	-pertes de C ₁₀ H ₁₈ O ou C ₁₀ H ₁₆ O ₂ par rupture de la liaison C-N à partir de M ⁺ pour former les ions m/z 214 et 200	
D 368-3	8,6					C ₁₂ H ₂₄ NO ₂ (214) ; C ₁₀ H ₁₇ O ₂ (169) ; C ₁₀ H ₁₉ O (155) ; C ₇ H ₁₁ O ₂ (127) ; C ₈ H ₁₁ O (123) ; C ₆ H ₉ O ₂ (113) ; C ₅ H ₉ O ₂ (101)	-maintien des deux méthyles prouvé par la perte de NH(CH ₃) ₂ à partir des ions m/z 200 et 214 donnant les ions m/z 155 et 169	
D 368-3	8,6		368,3153	368,3159	1,7	C ₁₂ H ₂₄ NO ₂ (214) ; C ₁₀ H ₁₇ O ₂ (169) ; C ₁₀ H ₁₉ O (155) ; C ₇ H ₁₁ O ₂ (127) ; C ₈ H ₁₁ O (123) ; C ₆ H ₉ O ₂ (113) ; C ₅ H ₉ O ₂ (101)	+3O ; -6H par rapport au DDAC ■ Présence de deux C=O sur une chaîne alkyle et un C=O sur l'autre chaîne alkyle car : -perte de C ₁₀ H ₁₈ O par rupture de la liaison C-N à partir de M ⁺ pour former l'ion m/z 214 -maintien des deux méthyles prouvé par la perte de NH(CH ₃) ₂ à partir de l'ion m/z 214 permettant la formation de l'ion m/z 169.	

Tableau 30 : Temps de rétention, composition élémentaire et ions de fragmentations de l'ion moléculaire obtenus par spectrométrie de masse (ESI+) pour les sous-produits D 368 de composition élémentaire C₂₂H₄₂NO₃ (Résultats obtenus en collaboration avec le LCM) (suite).

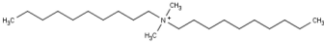
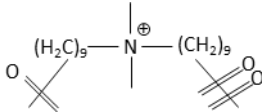
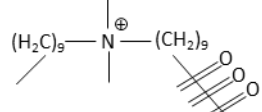
Composé	Tr (en min)	Ions moléculaires				MS/MS de l'ion moléculaire (m/z)	Informations obtenues à partir de la fragmentation en masse	Structure proposée pour le composé	
		Composition élémentaire	m/z expérimental	m/z théorique	Précision (ppm)				
DDAC	10,6	C ₂₂ H ₄₈ N	326,3796	326,3781	-1,4	C ₂₁ H ₄₄ N (310) ; C ₁₂ H ₂₈ N (186)			
D 368-4	9,0	C ₂₂ H ₄₂ NO ₃	368,3160	368,3159	-0,2	C ₁₂ H ₂₄ NO ₂ (214) ; C ₁₂ H ₂₆ NO (200) ; C ₁₀ H ₁₇ O ₂ (169) ; C ₁₀ H ₁₉ O (155) ; C ₇ H ₁₁ O ₂ (127) ; C ₅ H ₉ O ₂ (101)	+3O ; -6H par rapport au DDAC (Trois carbonyles – aldéhyde ou cétone) ■ Présence de deux C=O sur une chaîne alkyle et un C=O sur l'autre chaîne alkyle car :		
D 368-5	9,2					C ₁₂ H ₂₄ NO ₂ (214) ; C ₁₂ H ₂₆ NO (200) ; C ₁₀ H ₁₇ O ₂ (169) ; C ₁₀ H ₁₉ O (155) ; C ₇ H ₁₁ O ₂ (127) ; C ₅ H ₇ O ₂ (99) ; C ₄ H ₇ O (71)	-perte possible de C ₁₀ H ₁₈ O et C ₁₀ H ₁₆ O ₂ par rupture de la liaison C-N à partir de M ⁺ pour former les ions m/z 214 et 200 -maintien des deux méthyles prouvé par la perte possible de NH(CH ₃) ₂ à partir des ions m/z 200 et 214 donnant les ions m/z 155 et 169		
D 368-6	10,0					C ₁₂ H ₂₂ NO ₃ (228) ; C ₁₀ H ₁₅ O ₃ (183) ; C ₁₀ H ₁₇ O ₂ (169) ; C ₁₀ H ₁₉ O (155) ; C ₉ H ₁₃ O (137) ; C ₈ H ₁₁ O (123) ; C ₆ H ₉ O ₂ (113) ; C ₆ H ₉ O (97)	+3O ; -6H par rapport au DDAC (Trois carbonyles – aldéhyde ou cétone) ■ Présence de trois C=O sur une chaîne alkyle car :		
D 368-7	10,3					C ₁₂ H ₂₂ NO ₃ (228) ; C ₁₀ H ₁₅ O ₃ (183) ; C ₁₂ H ₂₈ N (186) ; C ₁₀ H ₁₇ O ₂ (169) ; C ₁₀ H ₁₉ O (155) ; C ₈ H ₁₃ O ₂ (141) ; C ₆ H ₉ O ₂ (113)	-perte possible de C ₁₀ H ₂₀ par rupture de la liaison C-N à partir de M ⁺ pour former l'ion m/z 228 -maintien des deux méthyles prouvé par la perte possible de NH(CH ₃) ₂ à partir de l'ion m/z 228 pour donner l'ion m/z 183		

Tableau 31 : Temps de rétention, composition élémentaire et ions de fragmentations de l'ion moléculaire obtenus par spectrométrie de masse (ESI+) pour les sous-produits D 370 de composition élémentaire C₂₂H₄₄NO₃ (Résultats obtenus en collaboration avec le LCM).

Composé	Tr (en min)	Ions moléculaires				MS/MS de l'ion moléculaire (m/z)	Informations obtenues à partir de la fragmentation en masse	Structure proposée pour le composé
		Composition élémentaire	m/z expérimental	m/z théorique	Précision (ppm)			
DDAC	10,6	C ₂₂ H ₄₈ N	326,3796	326,3781	-1,4	C ₂₁ H ₄₄ N (310) ; C ₁₂ H ₂₈ N (186)		
D 370-1	7,7	C ₂₂ H ₄₄ NO ₃	370,3318	370,3316	-0,6	C ₁₂ H ₂₆ NO ₂ (216) ; C ₁₂ H ₂₄ NO ₂ (214) ; C ₁₂ H ₂₆ NO (200) ; C ₁₀ H ₁₉ O ₂ (171) ; C ₁₀ H ₁₇ O ₂ (169) ; C ₁₀ H ₁₉ O (155) ; C ₆ H ₁₃ O ₂ (117) ; C ₆ H ₉ O (97) ; C ₄ H ₇ O (71)	+3O ; -4H par rapport au DDAC (Deux carbonyles – aldéhyde ou cétone + une fonction hydroxy ou éther) ■ Présence de 1 C=O et 1 OH sur une chaîne alkyle + 1 C=O sur l'autre chaîne alkyle car :	
D 370-2	8,7		370,3321	370,3316	-1,3	C ₁₂ H ₂₆ NO ₂ (216) ; C ₁₂ H ₂₄ NO ₂ (214) ; C ₁₂ H ₂₆ NO (200) ; C ₁₀ H ₁₇ O ₂ (169) ; C ₁₀ H ₁₅ O ₂ (167) ; C ₁₀ H ₁₉ O (155) ; C ₈ H ₁₃ O ₂ (141) ; C ₈ H ₁₅ O (127) ; C ₆ H ₉ O ₂ (113) ; C ₆ H ₉ O (97) ; C ₅ H ₉ O (85) ; C ₄ H ₇ O (71)	-perte possible de C ₁₀ H ₁₈ O et C ₁₀ H ₁₈ O ₂ par rupture de la liaison C-N pour former les ions m/z 216 et 200 -maintien des deux méthyles prouvé par la perte possible de NH(CH ₃) ₂ à partir de l'ion m/z 200 donnant l'ion m/z 155	
D 370-3	9,5		370,3320	370,3316	-1,1	C ₁₂ H ₂₄ NO ₃ (230) ; C ₁₂ H ₂₄ NO ₂ (214) ; C ₁₂ H ₂₄ NO (198) ; C ₁₂ H ₂₈ N (186) ; C ₁₀ H ₁₇ O ₃ (185) ; C ₁₀ H ₁₅ O ₂ (167) ; C ₁₀ H ₁₉ O (155) ; C ₁₀ H ₁₇ O (153) ; C ₉ H ₁₅ O (139) ; (135) ; C ₈ H ₁₃ O (125) ; C ₇ H ₁₁ O (111) ; C ₆ H ₉ O (97) ; C ₅ H ₉ O (85) ; C ₄ H ₇ O (71)	+3O ; -4H par rapport au DDAC (Deux carbonyles – aldéhyde ou cétone + une fonction hydroxy ou éther) ■ Présence de 2 C=O et 1 OH sur une chaîne alkyle car : -perte possible de C ₁₀ H ₂₀ ou C ₁₀ H ₁₆ O ₃ par rupture de la liaison C-N à partir de M ⁺ pour former les ions m/z 230 et 186 -maintien des deux méthyles prouvé par la perte de NH(CH ₃) ₂ à partir de l'ion m/z 230 donnant l'ion m/z 185	
D 370-4	10,2		370,3316	370,3316	-0,1	C ₂₁ H ₄₂ NO (324) ; C ₁₁ H ₂₂ NO (184) ; C ₁₀ H ₁₉ O (155) ; C ₁₀ H ₁₇ O (153) ; C ₆ H ₉ O (97)	+3O ; -4H par rapport au DDAC (Deux carbonyles – aldéhyde ou cétone + une fonction hydroxy ou éther) ■ Présence d'une fonction COOH sur un groupement méthyle car perte possible de CH ₂ O ₂ donnant l'ion 324 ■ Présence de l'ion m/z 155 permet de localiser 1 C=O sur une chaîne alkyle	

La réaction de l’ozone moléculaire avec les chaînes alkyles est très faible voire négligeable. Au cours de l’ozonation, l’ensemble de ces sous-produits pourraient donc provenir d’une attaque électrophile des radicaux OH° sur les chaînes carbonées du DDAC. Pour ces composés, la localisation exacte des oxydations n’a pas toujours clairement pu être obtenue par spectrométrie de masse, toutefois, les attaques successives semblent être formées sur la chaîne ayant subi une oxydation. De même, en raison de la charge positive de l’ammonium quaternaire, défavorable à ce type de réaction, des oxydations majoritairement en bout de chaîne pourraient être envisagés. Enfin, aucun produit de transformation issu de coupure de chaînes n’a été observé.

IX.2 Oxydation des biocides dans les effluents

Les précédents résultats montrent une réactivité des biocides avec l’ozone et la formation de sous-produits entraînant globalement une stagnation ou une diminution de l’écotoxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri*. La suite de l’étude a permis d’examiner le devenir des biocides lors de l’ozonation des eaux résiduaires (CHU et Blanchisserie).

IX.2.1 Etude à l’échelle laboratoire

Des eaux résiduaires ont été prélevées au CHU et à la blanchisserie pour réaliser ces expériences d’ozonation. Les concentrations et les caractéristiques de ces matrices sont affichées dans le tableau 32.

Tableau 32 : Concentrations des biocides dans les effluents du CHU et de la blanchisserie lors des expériences sur pilote laboratoire (Données IC2MP et SEREP-Technavox).

Matrice	CHU	Blanchisserie
DDAC en µg/L	2039,1 ± 573,8	7098,2 ± 476,5
CHD en µg/L	36,5 ± 6,0	100,0 ± 5,0
BAPLA en µg/L	479,3 ± 34,5	< LQ = 14,4
pH*	7,03 - 9,06	6,70 – 8,2
Conductivité* en mS/cm	1,36 – 2,88	1,41 – 1,86
DCO* en mgO ₂ /L	255 – 480	1078 – 1562
COT* en mg/L	97,0 – 124,8	263,4 – 438,0

*Mesures recueillies sur le terrain lors de la campagne pilote

Pour ces expériences, les concentrations en DDAC et CHD retrouvées au niveau du CHU sont de l'ordre de celles attendues, en revanche pour ce point, les concentrations en BAPLA sont quatre fois plus importantes qu'habituellement. Au niveau de la blanchisserie, le DDAC est présent en plus forte concentration qu'au CHU (2,5 fois plus), le CHD est observé à une concentration qui peut être retrouvée dans les effluents du CHU. Le BAPLA n'est quant à lui pas observé.

Les valeurs de DCO et de COT de l'effluent de la blanchisserie sont plus importantes que dans l'effluent du CHU. Ces deux effluents se distinguent par la nature de la pollution. La valeur importante de DCO des effluents de la blanchisserie est donc probablement due à la présence plus importante de détergents et agents blanchissants alors que les effluents du CHU ont une composante plus du type effluent domestique.

Les expériences d'ozonation et d'ozonation catalytique ont été menées sur ces deux effluents à l'aide du dispositif semi-batch de laboratoire décrit au paragraphe VIII.1.2.2 L'évolution des biocides en fonction du temps d'ozonation est présentée dans la figure 59.

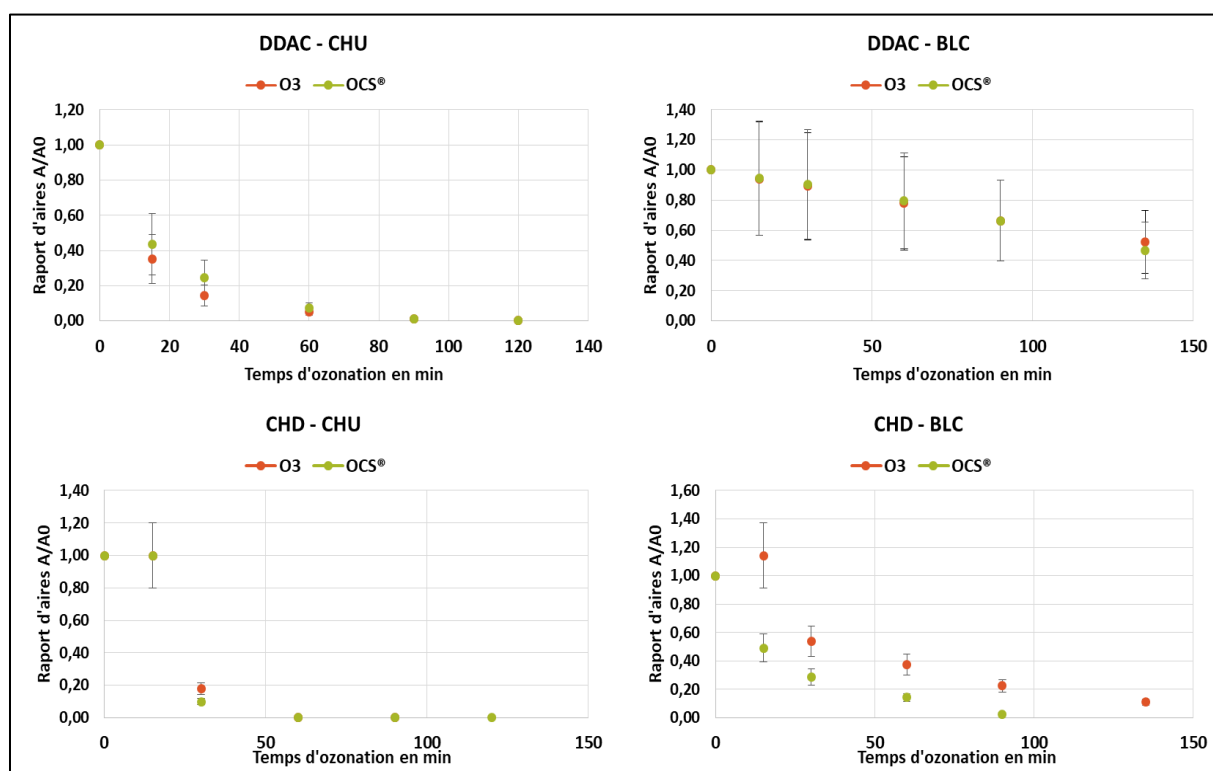


Figure 59 : Élimination des biocides en matrices CHU et nouvelle blanchisserie (BLC) en laboratoire. Dose d'ozone appliquée : 28,3 mgO₃/min.

Le BAPLA, non présenté dans la figure 59, est éliminé entièrement dès le premier prélèvement effectué après 15 min d'ozonation que ce soit en ozonation catalytique ou non en matrice CHU et BLC.

Dans la matrice CHU, le DDAC et le CHD s'éliminent facilement. Pour ces deux molécules, un taux d'élimination de plus de 80 % est observé après 30 minutes d'ozonation correspondant à une dose d'ozone appliquée de 0,85 gO₃/L d'effluent (ou environ 2,5 gO₃/gDCO). La différence entre les expériences avec ozone seul et ozonation catalytique n'est pas significative sur l'élimination des biocides dans cette matrice, mais agirait sur la consommation d'ozone d'après les mesures de SEREP-Technavox.

Dans la matrice BLC, l'élimination du DDAC et du CHD est plus lente que dans la matrice CHU. Il est nécessaire d'appliquer un temps d'ozonation de 140 min (correspondant à 4 gO₃/L) pour espérer obtenir au moins 50 % d'élimination du DDAC aussi bien en ozonation seule ou catalytique. Le CHD est moins réfractaire. En effet, un peu plus de 50 % de la molécule est éliminée pour 30 minutes d'ozonation. Pour cette dernière, l'ozonation catalytique semble montrer un peu plus d'efficacité puisqu'à 90 min d'ozonation, plus de 95% de la molécule est éliminée contre 80% en ozonation seule.

En conclusion, les trois molécules se dégradent au cours de l'ozonation dans les deux effluents (CHU et BLC), même si cela nécessite des doses d'ozone plus importantes en matrice BLC (DCO et COT plus élevés). La présence du catalyseur n'entraîne pas de différences particulièrement significatives sur l'élimination des molécules.

Dans ce contexte, les conditions de traitement sur le pilote ont été paramétrées en vue d'une élimination du DDAC, biocide le plus réfractaire.

IX.2.2 Etude pilote sur site

Sur l'installation pilote, les différents traitements par ozonation et ozonation catalytique ont été réalisés en mode semi-continu et continu à partir de différentes bâchées d'effluents (CHU et BLC ; 1 m³ par bâchée). Pour le mode continu, en plus du prélèvement d'effluent en entrée du pilote, en sortie trois prélèvements numérotés, espacés de 210 minutes (soit environ trois fois le temps de contact) ont été effectués après stabilisation du système (débit, transfert d'ozone) pour analyses. Les caractéristiques des différentes bâchées d'effluents traités et les conditions de traitement paramétrées sur le pilote sont indiquées dans les tableaux 33 à 35 de chaque paragraphe des différents effluents traités. La consommation d'ozone a pu être calculée à partir de la mesure de la concentration dans le gaz des événements (en sortie de contacteur). L'écotoxicité par rapport à *Vibrio fischeri* a été mesurée sur certains échantillons en sortie de pilote. Les résultats sont présentés dans les paragraphes IX.2.2.2.2 et IX.2.2.3.2 correspondant aux effluents traités.

IX.2.2.1 Conditions de fonctionnement du pilote

Le choix des conditions de fonctionnement du procédé d'ozonation catalytique a été établi sur la base des résultats de l'étude à l'échelle laboratoire. Les réglages optimaux ont ensuite été recherchés à partir

d'un plan d'expériences factoriel à 3 niveaux réalisé en mode semi-continu sur l'effluent CHU. Trois paramètres de dimensionnement sur le pilote ont été choisis comme facteur d'étude du plan d'expériences avec des bornes min et max issues des connaissances acquises lors des expériences laboratoire : (i) le nombre de colonnes de catalyseur (C : 1 ou 2), (ii) la production d'ozone (P : 78 g/h ou 147 g/h correspondant à un taux de traitement de 232 gO₃/m³ à 437 gO₃/m³ d'effluent pour un temps d'ozonation de 30 minutes et un volume de réacteur de 168 L) et (iii) le débit de recirculation de l'effluent sur les cartouches de catalyseur (D : 260 L/h ou 780 L/h). L'exploitation du plan d'expériences s'est faite en fonction du DDAC. Les résultats sont présentés dans la figure 60.

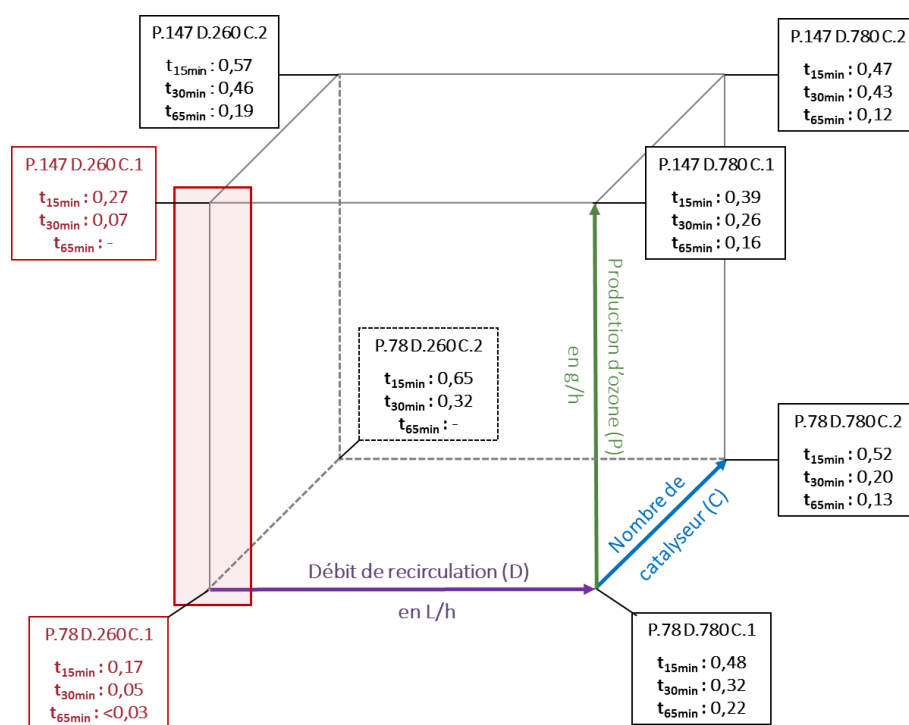


Figure 60 : Résultats du plan d'expériences obtenus par ozonation catalytique de l'effluent du CHU sur le pilote sur site. Le rapport d'aires A/AO du DDAC est présenté pour trois temps d'ozonation t=15 min ; t=30 min et t=65 min et des conditions variables de production d'ozone (P), débit de recirculation (D) et quantité de catalyseur (C).
 $[DDAC]_0 = 1067,9 \pm 449,4 \mu\text{g/L}$ à $2894,1 \pm 515,1 \mu\text{g/L}$; $DCO_0 = 356 \text{ mgO}_2/\text{L}$ à $450 \text{ mgO}_2/\text{L}$.

D'après ces résultats, les meilleurs rendements d'élimination du DDAC (marqués en rouge dans la figure 60) sont obtenus pour un faible débit de recirculation de l'effluent et pour l'utilisation d'une seule colonne de catalyseur. Il faudrait essentiellement jouer sur la production d'ozone pour obtenir un rendement d'élimination optimal. Il ressort également de ce plan d'expériences que la consommation d'ozone (non présentée ici) serait d'autant plus faible que la charge de catalyseur est élevée. Les conditions de fonctionnement du pilote pour le traitement des effluents du CHU en mode continu dans l'objectif d'une élimination des biocides tout en minimisant la consommation d'ozone ont alors été déduites de ces résultats et sont présentées ci-après (tableau 33 pour le CHU et tableau 35 pour la blanchisserie).

IX.2.2.2 Effluent du CHU

IX.2.2.2.1 Biocides

Préalablement au fonctionnement en mode continu, un essai d'ozonation seule en mode semi-continu a été appliqué à l'effluent du CHU selon les paramètres sélectionnés (cf tableau 33). Dans ces conditions, le volume du milieu réactionnel étant de 154 L, la dose d'ozone introduite de 90 gO₃/h correspond à un taux de traitement de 9,4 mgO₃/L_{effluent}/min. Les résultats présentés dans la figure 61 indiquent que malgré un taux d'ozone appliqué plus faible, le pilote conduit à une élimination du DDAC très comparable au dispositif laboratoire (figure 61), ceci, probablement grâce à un meilleur système de transfert d'ozone.

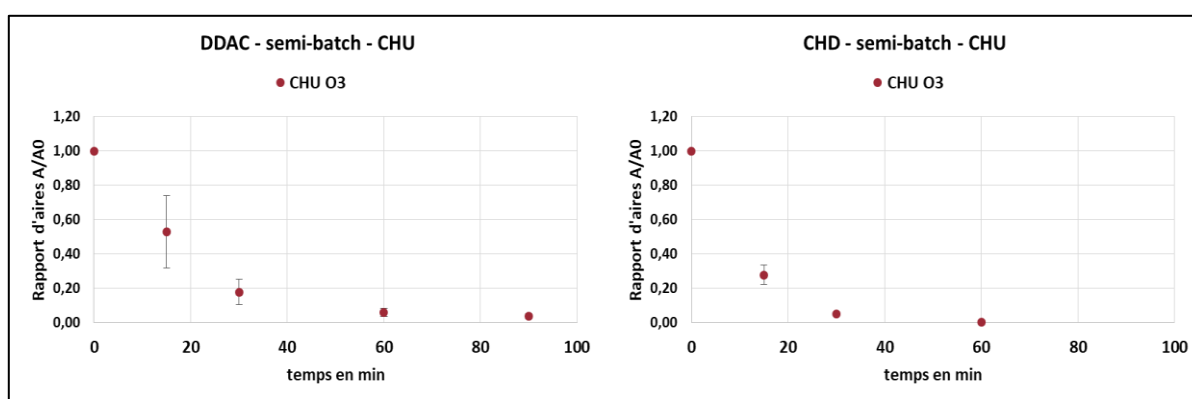


Figure 61 : Dégradation du DDAC pendant le traitement en semi-batch de l'effluent du CHU par ozonation seule. O₃ : [DDAC]₀ = 1962,4 ± 242,2 µg/L et [CHD]₀ = 46,0 ± 9,5 µg/L ; DCO₀ = 306 mgO₂/L et COT₀ = 61 mg/L ; dose d'ozone appliqué : 9,4 gO₃/m³effluent/min.

Plusieurs séries ont ensuite été menées en continu sur l'effluent du CHU de façon à comparer l'efficacité du procédé OCS[®] par rapport à l'ozonation seule, ainsi que l'impact du pH. Les caractéristiques des différentes bâchées d'effluents traitées et les conditions de traitement paramétrées sur le pilote sont indiquées dans le tableau 33. Les concentrations mesurées pour les biocides et pour les paramètres globaux (DCO, COT) sont de l'ordre de ce qui pouvait être attendu au regard des campagnes d'analyses sur le site du CHU (tableau 33) (tableau 14 partie II paragraphe V.2.1 et tableau 38 en annexe). Le DDAC et le CHD sont observés dans tous les échantillons d'effluent brut. Seules les concentrations de BAPLA varient de manière plus importantes allant en dessous des seuils de détection et jusqu'à 109,1 µg/L. Pour cet effluent, trois conditions ont été testées sur le pilote : sans catalyseur, avec catalyseur et avec catalyseur et effluent acidifié.

Tableau 33 : Caractéristiques des bâchées CHU et conditions de traitements paramétrés sur le pilote (Données : SEREP-Technavox et IC2MP).

Matrice	CHU				
	OCS®	OCS®	O ₃	O ₃	OCS® pH = 6
Points	1,2,3	4,5,6	1,2,3	4,5,6	7,8,9
[O ₃] dans le gaz ozoné en g/Nm ³ / en %	80 / 5,3 %	80 / 5,3 %	70 / 4,7 %	70 / 4,7 %	77 / 5,1 %
Débit gaz ozoné en m ³ /h	1,2				
Débit alimentation effluent en L/h	125				
Débit de recirculation sur le catalyseur (L/h)	450	450	-	-	450
Volume du milieu réactionnel (en L) / temps de contact (en min)	168 / 81	168 / 81	154 / 74	154 / 74	168 / 81
Dose O ₃ appliquée en gO ₃ /m ³ effluent	768	768	672	672	740
[DDAC] _{brut} en µg/L	1603,6 ± 385,9	2469,4 ± 396,0	1962,4 ± 242,2	2083,9 ± 355,9	2439,4 ± 636,0
[CHD] _{brut} en µg/L	67,9 ± 12,0	53,5 ± 10,6	46,0 ± 9,5	61,5 ± 9,7	39,9 ± 9,9
[BAPLA] _{brut} en µg/L	109,1 ± 32,6	48,0 ± 12,9	< LQ	95,2 ± 21,9	46,3 ± 12,9
pH	7,2	7,2	9,1	9,1	7,0 abaissé à 6
DCO en mgO ₂ /L	255	255	282	360	480
COT en mg/L	97	85	107	107	125
O ₃ appliqué en gO ₃ /gDCO initial	3,0	3,0	2,4	1,9	1,5
[O ₃]gaz évents en g/Nm ³	45	47	39	39	46
O ₃ consommé en gO ₃ /m ³ effluent	336	317	298	298	298
DCO éliminée (mgO ₂ /L)	117	132	57	134	213
O ₃ consommé en gO ₃ /g DCO éliminée	2,9	2,4	5,2	2,2	1,4

*OCS® avec deux colonnes de catalyseur

Lors de ces essais, une diminution de la DCO et du COT est observée pour toutes les conditions de traitement testées (figure 62). De meilleurs taux d'élimination de la DCO et du COT sont observés avec catalyseur pour des taux d'ozone cependant légèrement plus élevés.

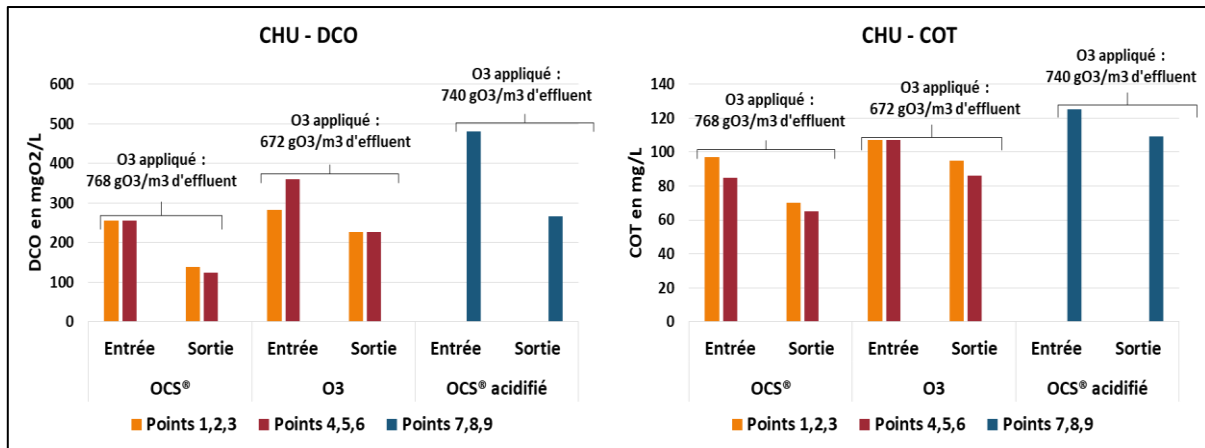


Figure 62 : Evolution de la DCO et du COT lors du traitement de l'effluent CHU avec le pilote terrain (Données SEREP-Technavox). Dose d'ozone appliquée : 672 gO₃/m³ à 768 gO₃/m³ (Données SEREP-Technavox).

Au cours des traitements, le pH a peu varié excepté pour celui avec ozonation seul où le pH initialement élevé (9,06) a diminué vers une valeur de l'ordre de 7.

Les résultats du traitement en continu vis-à-vis des biocides dans l'effluent du CHU sont affichés dans la figure 63.

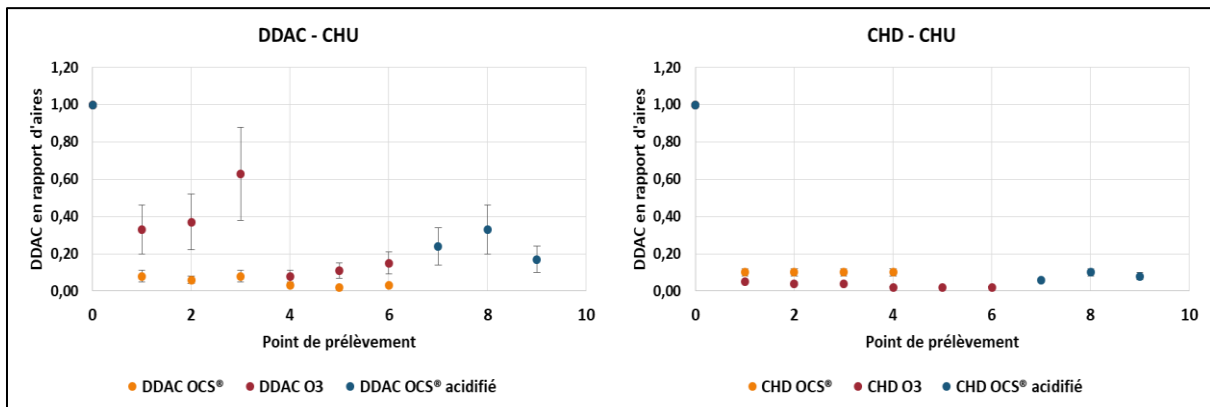


Figure 63 : Evolution du DDAC et du CHD lors du traitement de l'effluent CHU avec le pilote terrain. Dose d'ozone appliquée : 670 gO₃/m³ à 770 gO₃/m³.

Lorsque le BAPLA est présent dans cet effluent, il a été éliminé dans les trois conditions de traitement et ce, même pour la concentration initiale la plus élevée (résultats non présentés). Seuls le DDAC et le CHD sont encore détectables après traitement. Le taux d'élimination du CHD est proche de 90 % pour les trois conditions appliquées. En revanche, de plus grandes différences sont observées entre les conditions testées pour le DDAC. Les abattements observés sont en accord avec les résultats attendus au regard de l'étude laboratoire pour des doses d'ozone appliquées similaires (IX.2.1 figure 59, pour 30 min ; 850 mgO₃/L effluent). En revanche, par ozonation seule, l'abattement de DDAC observé en mode continu sur pilote est inférieur à celui obtenu en mode semi-continu (figure 61) pour une dose

d'ozone appliquée similaire (correspondant à 70 min d'ozonation en semi-continu). L'ozonation catalytique conduit à un meilleur rendement d'élimination du DDAC que l'ozonation seule. Une baisse de pH semble avoir un effet défavorable sur l'élimination de cette molécule.

IX.2.2.2.2 Sous-produits

Aucun sous-produit du BAPLA et du CHD n'a été observé lors de l'étude pilote menée dans l'effluent du CHU. En revanche, dans le cas du DDAC, plusieurs produits de transformation ont pu être détectés (figure 64).

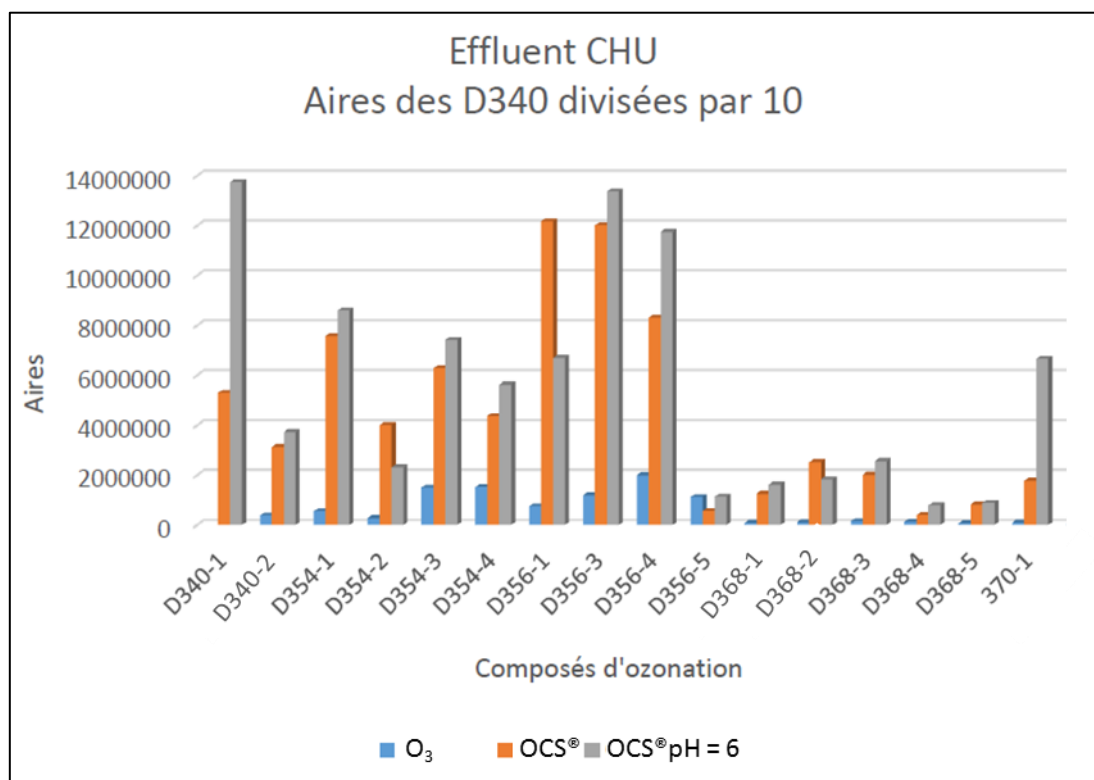


Figure 64 : Sous-produits d'oxydation du DDAC observés lors de l'étude pilote menée sur l'effluent du CHU (Données LCM).

Comme lors des expériences menées en laboratoire dans l'EDR (figure 58) le composé D 340 est le composé majoritairement observé sur le terrain dans cette matrice. En revanche, de plus grandes quantités de sous-produits semblent se former en présence du catalyseur.

IX.2.2.2.3 Ecotoxicité

L'écotoxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri* a été mesurée sur certains échantillons en sortie du pilote. Pour ces tests, le signal de luminescence d'échantillons non dilués atteignant la saturation de la réponse, les échantillons ont donc été dilués au 1/5. Les résultats sont présentés dans la figure 65.

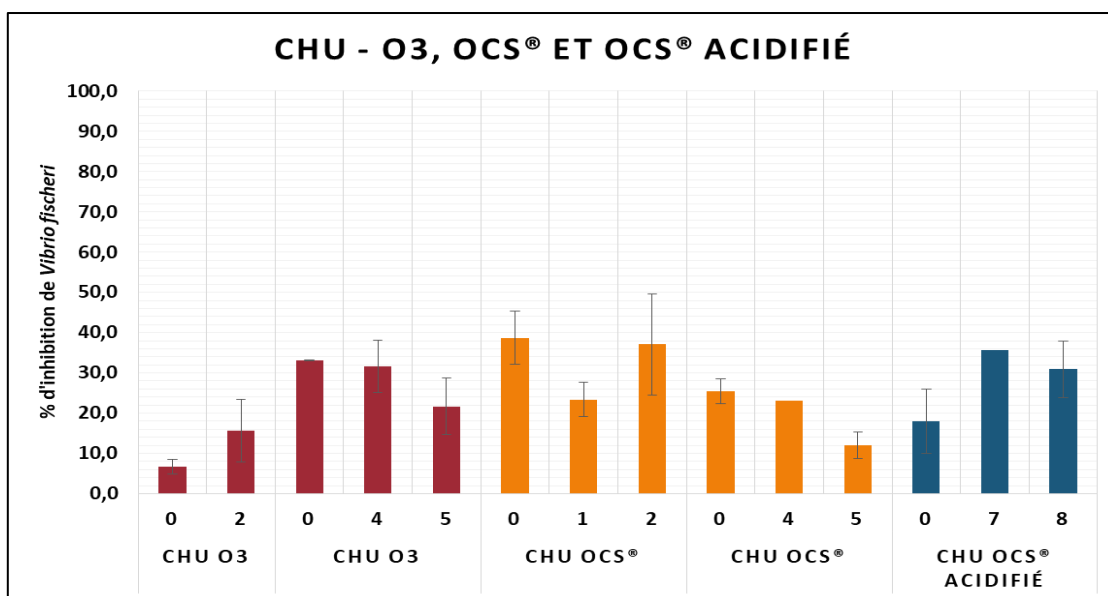


Figure 65 : Ecotoxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri* dans la matrice CHU sur échantillons dilués au 1/5. Dose d'ozone appliquée : 670 gO₃/m³ à 770 gO₃/m³.

L'écotoxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri* mesurée sur les effluents bruts du CHU dilués pour chaque essai est de l'ordre de 7 % à 35 % (figure 65). Globalement, les tests en ozonation seule et en OCS® montrent peu d'évolution de l'écotoxicité des échantillons vis-à-vis de *Vibrio fischeri*.

Parallèlement à ces essais menés au sein de l'IC2MP, quelques mesures de toxicité supplémentaires ont été réalisées sur *Daphnia magna Strauss* et *Pseudokirchnella subcapitata* (par Véolia Eau dans le cadre du projet). Ces tests permettent respectivement de mesurer la toxicité aiguë pour *Daphnia magna Strauss* comme pour *Vibrio fischeri* et la toxicité chronique pour *Pseudokirchnella subcapitata*. Pour ces deux essais, les résultats (tableau 34) sont affichés en pourcentage d'échantillon nécessaire pour générer 50 % d'effet (immobilisation des daphnies ou inhibition de la croissance des algues). Dans ces conditions les pourcentages affichés augmentent lorsque la toxicité diminue, contrairement aux résultats affichés pour *Vibrio fischeri* indiquant le pourcentage d'inhibition de la luminescence obtenu pour un taux de dilution donné qui augmente avec la toxicité.

Tableau 34 : Ecotoxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri*, *Daphnia magna Strauss* et *Pseudokirchnella subcapitata* lors du traitement de l'effluent CHU. (Données Véolia). Dose d'ozone appliquée : 670 gO₃/m³ - 770 gO₃/m³.

	CHU O3		CHU OCS®		CHU OCS® effluent acidifié	
	0	5	0	4	0	2
<i>Vibrio fischeri</i> % d'inhibition après dilution au 1/5 des échantillons	33,1	21,7	25,4	23,0	17,9	30,9
<i>Daphnia magna Strauss</i> EC ₅₀ /24h en %	16,8	86,0	-	> 90,0	17,7	> 90,0
<i>Pseudokirchnella subcapitata</i> EC ₅₀ /72h en %	25,9	65,4	24,5	72,2	8,7	70,0

Contrairement aux résultats obtenus avec *Vibrio fischeri*, au niveau du CHU, ces résultats montrent clairement que le traitement par ozonation seule et ozonation catalytique permet de réduire l'écotoxicité de l'effluent vis-à-vis de *Pseudokirchnella subcapitata* et *Daphnia magna Straus*.

IX.2.2.3 Effluent de la nouvelle blanchisserie

IX.2.2.3.1 Biocides

Une autre série d'essais sur pilote a concerné le traitement des effluents de la blanchisserie. Comme pour l'effluent du CHU, des essais préalables en mode semi-continu ont précédés les conditions en mode continu. Les résultats obtenus sur le pilote en mode semi-continu concernant l'élimination du DDAC sont présentés dans la figure 66 pour différentes conditions d'ozonation et différents temps de contact.

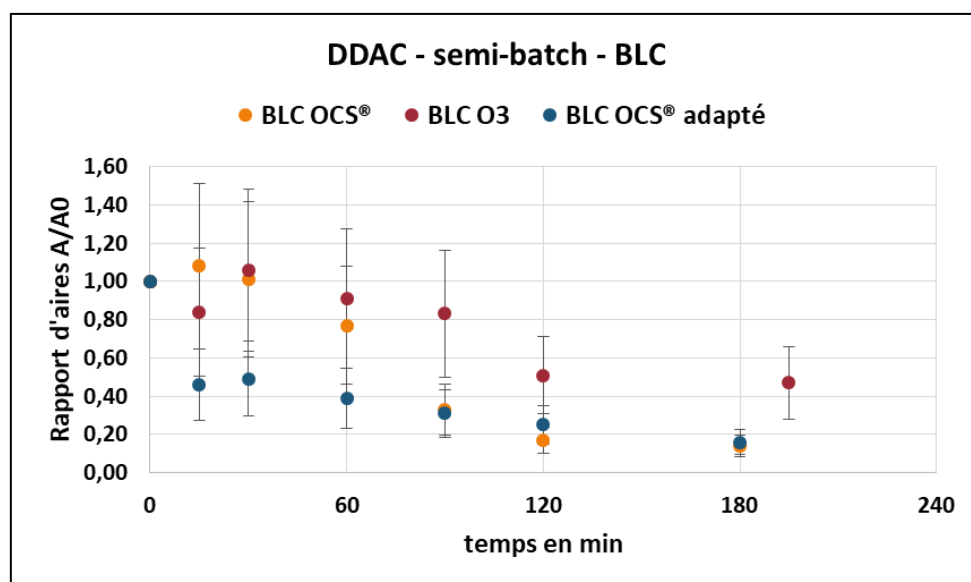


Figure 66 : Dégradation du DDAC pendant le traitement en semi-batch de l'effluent de la BLC. OCS® : 17 gO₃/m³effluent/min ; [DDAC]₀ = 4575,8 ± 495,5 µg/L ; DCO₀ = 1462 mgO₂/L et COT₀ = 438 mg/L ; O₃ : 11,4 gO₃/m³effluent/min ; [DDAC]₀ = 2969,4 ± 795,5 µg/L ; DCO₀ = 1338 mgO₂/L et COT₀ = 330 mg/L ; OCS® adapté : 17 gO₃/m³effluent/min ; [DDAC]₀ = 3374,0 ± 267,7 µg/L ; DCO₀ = 1090 mgO₂/L et COT₀ = 262 mg/L.

Concernant le traitement sur pilote de cet effluent en mode continu (11,4 gO₃/m³effluent/min), l'ensemble des paramètres utilisés sont présentés dans le tableau 35. Concernant les biocides, les concentrations en biocides et les teneurs en DCO et COT initiales mesurées avant chaque série de traitement sont également répertoriées dans ce tableau. Les concentrations en DDAC sont plus faibles qu'attendues au niveau de la blanchisserie au regard des prélèvements ayant servi à la réalisation des manipulations en laboratoire ; toutefois elles restent du même ordre de grandeur que celles obtenues au CHU au moment de l'étude pilote sur site.

Tableau 35 : Caractéristiques des bâchées de la nouvelle blanchisserie (BLC) et conditions de traitements paramétrés sur le pilote (Données : SEREP-Technavox et IC2MP).

Matrice	BLC						
	OCS*	OCS*	O ₃	O ₃	O ₃ adapté	OCS* Adapté	OCS* Adapté
Procédé	1,2,3	4,5,6	1,2,3	4,5,6	1,2,3	1,2,3	4,5,6
Points							
[O ₃]gaz en g/m ³ / en %	84 / 5,5 %	100 / 6,5 %	80 / 5,3 %	140 / 8,9 %	140 / 8,9 %	140 / 8,9%	140 / 8,9 %
Débit gaz ozoné en m ³ /h	1,2						
Débit alimentation effluent en L/h	125	125	125	125	80	80	97
Débit recirculation sur le catalyseur (L/h)	450	450	-	-	-	450	450
Volume (en L) / temps de contact (en min)	168 / 81	168/81	154 / 74	154 / 74	154 / 116	168 / 126	168 / 104
Dose O ₃ appliquée en gO ₃ /m ³ effluent	806	960	768	1344	2100	2100	1732
[DDAC] _{brut} en µg/L	2283,1 ± 400,4	2090,7 ± 538,0	2969,4 ± 795,5	2659,0 ± 189,7	4162,4 ± 312,0	3374,0 ± 267,7	2602,7 ± 291,3
[CHD] _{brut} en µg/L	44,1 ± 6,2	33,9 ± 13,3	28,3 ± 15,7	28,9 ± 5,7	36,2 ± 6,4	37,7 ± 6,4	54,5 ± 7,6
[BAPLA] _{brut} en µg/L	53,7 ± 14,8	103,7 ± 45,6	< LQ	52,7 ± 15,0	< LQ	28,0 ± 9,6	< LQ
pH	8,2	8,2	6,8	6,8	6,8	7,1	7,1
DCO en mgO ₂ /L	1502	1502	1338	1264	1392	1078	986
COT en mg/L	428	423	330	360	344	289	260
O ₃ appliqué en gO ₃ /gDCO initiale	0,54	0,64	0,57	1,06	1,51	1,95	1,76
[O ₃]gaz événements en g/m ³	37	45	36	70	NC	86	82
O ₃ consommé en gO ₃ /m ³ effluent	451	528	422	672		810	717
DCO éliminée (mgO ₂ /L)	286	311	483	363	683	492	371
O ₃ consommé en gO ₃ /g DCO éliminée	1,6	1,7	0,5	0,75	-	1,65	1,9

OCS avec deux colonnes de catalyseur

L'effluent de la blanchisserie présentant une pollution organique (DCO et COT) plus importante que l'effluent du CHU d'un facteur 4 à 5, en plus des conditions appliquées sur ce dernier, plusieurs autres conditions de traitement ont été testées sur le pilote : ajustement des paramètres de production d'ozone (80 g/m³ à 140 g/m³ de gaz) et de temps de contact (74 min à 126 min) pour l'ozonation et l'ozonation catalytique.

Différentes doses d'ozone ont ainsi été appliquées dans la gamme de 770 gO₃/m³ à 2100 gO₃/m³ d'effluent pour l'ozonation et l'ozonation catalytique (tableau 35). Dans ces conditions, les résultats montrent que la DCO de la blanchisserie semble moins réfractaire à l'ozonation que celle de l'effluent du CHU (moins de 2 gO₃/gDCO éliminée dans le cas de la blanchisserie).

Les résultats du traitement de l'effluent de la blanchisserie présentés dans la figure 67 montrent que pour cet effluent le catalyseur n'apporte pas d'amélioration.

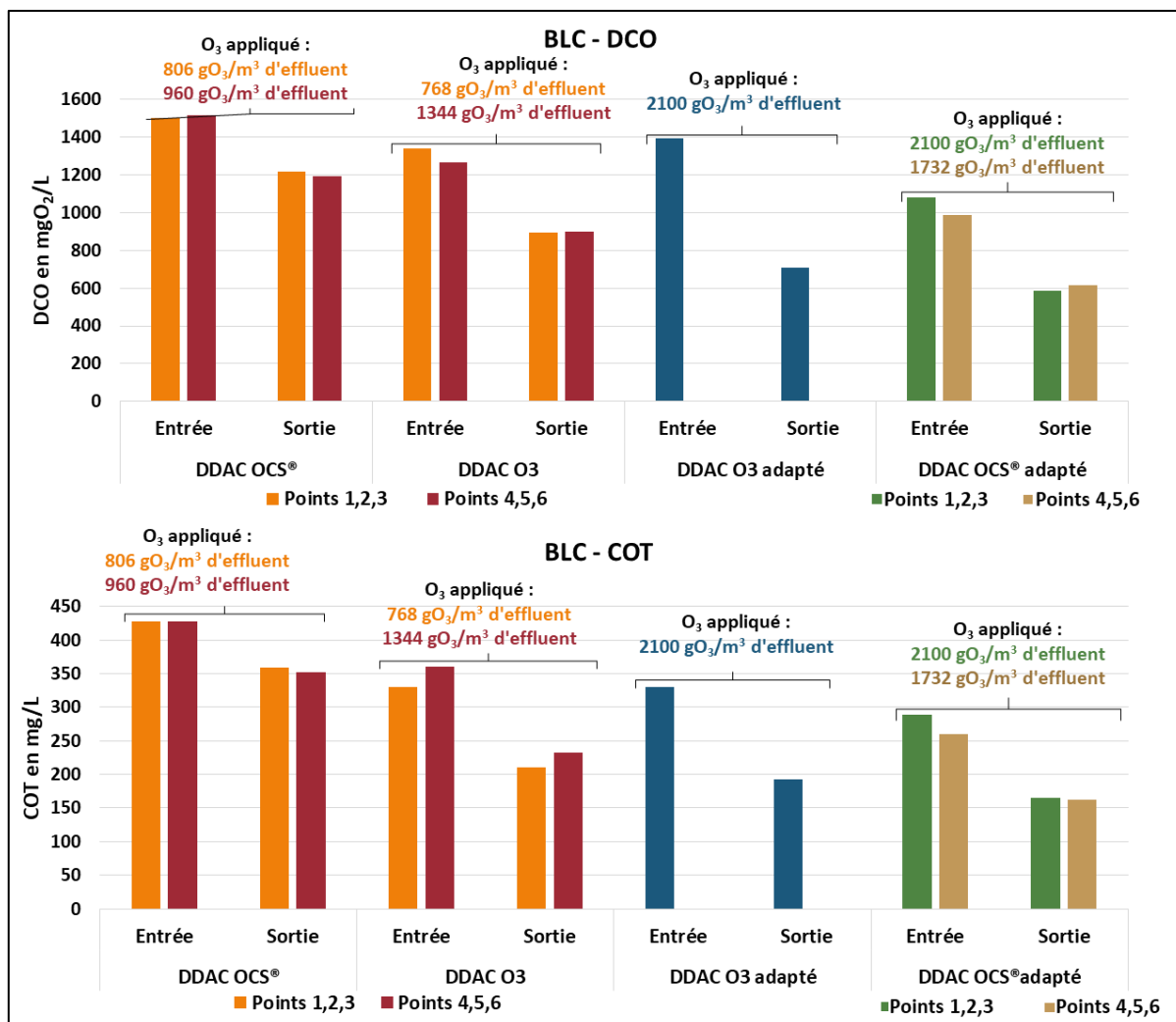


Figure 67 : Evolution de la DCO et du COT lors du traitement de l'effluent Blanchisserie avec le pilote terrain par ozonation et ozonation catalytique (Données SEREP-Technavox). Dose d'ozone appliquée : 768 gO₃/m³ à 2100 gO₃/m³ d'effluent.

Pour cet effluent, l'ozonation seule est plus efficace que l'ozonation catalytique pour le traitement de la DCO.

Les résultats concernant le DDAC, seul biocide détectable après traitement, montrent pour des doses d'ozone appliquées comparables au CHU (768 gO₃/m³ à 800 gO₃/m³ d'effluent) une efficacité comparable pour l'ozonation et OCS®. Les pourcentages d'élimination du DDAC (figure 68) sont en accord avec les données des expériences en mode semi-continu réalisées en laboratoire (paragraphe IX.2.1, figure 59) et sur pilote (figure 66).

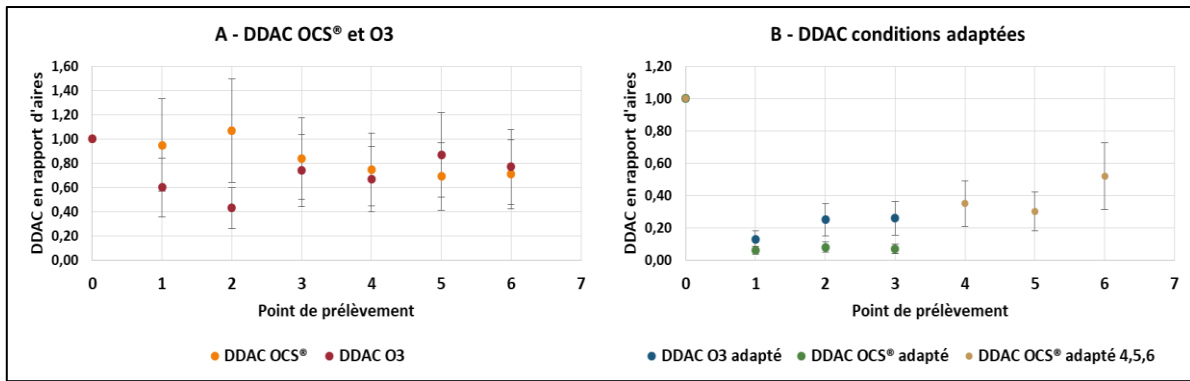


Figure 68 : Evolution du DDAC lors du traitement de l'effluent Blanchisserie avec le pilote terrain par ozonation et ozonation catalytique. Dose d'ozone appliquée : A : 770 gO₃/m³ à 960 gO₃/m³ d'effluent (OCS® points 1-6 et O₃ points 1-3) et 1344 gO₃/m³ d'effluent (O₃ points 4-6) B : 2100 gO₃/m³ d'effluent (O₃ adapté et OCS® adapté points 1-3) et 1730 gO₃/m³ d'effluent (OCS® adapté 4-6).

Ces rendements d'élimination n'étant pas assez satisfaisants, d'autres conditions plus adaptées (ajustements), consistant à utiliser des doses d'ozone appliquées plus importantes, ont été testées par l'utilisateur du pilote (SEREP-Technavox). Pour ces trois nouvelles conditions testées, l'élimination du DDAC est plus importante (55 % à 90 % d'élimination) (figure 68B). Dans les conditions adaptées, l'expérience d'ozonation catalytique pour une dose appliquée sur l'effluent vis-à-vis du DDAC (90% d'élimination).

IX.2.2.3.2 Sous-produits

Comme lors des essais réalisés sur l'effluent du CHU, aucun sous-produit du BAPLA et du CHD n'a été observé lors de l'étude pilote menée sur l'effluent de la blanchisserie. En revanche, plusieurs sous-produits du DDAC ont été observés.

Lors des essais d'ozonation et d'ozonation catalytique, moins de sous-produits d'oxydation du DDAC sembleraient se former dans les conditions adaptées (figure 69 et figure 70). Ceci pourrait s'expliquer en partie par leur oxydation dans ces conditions.

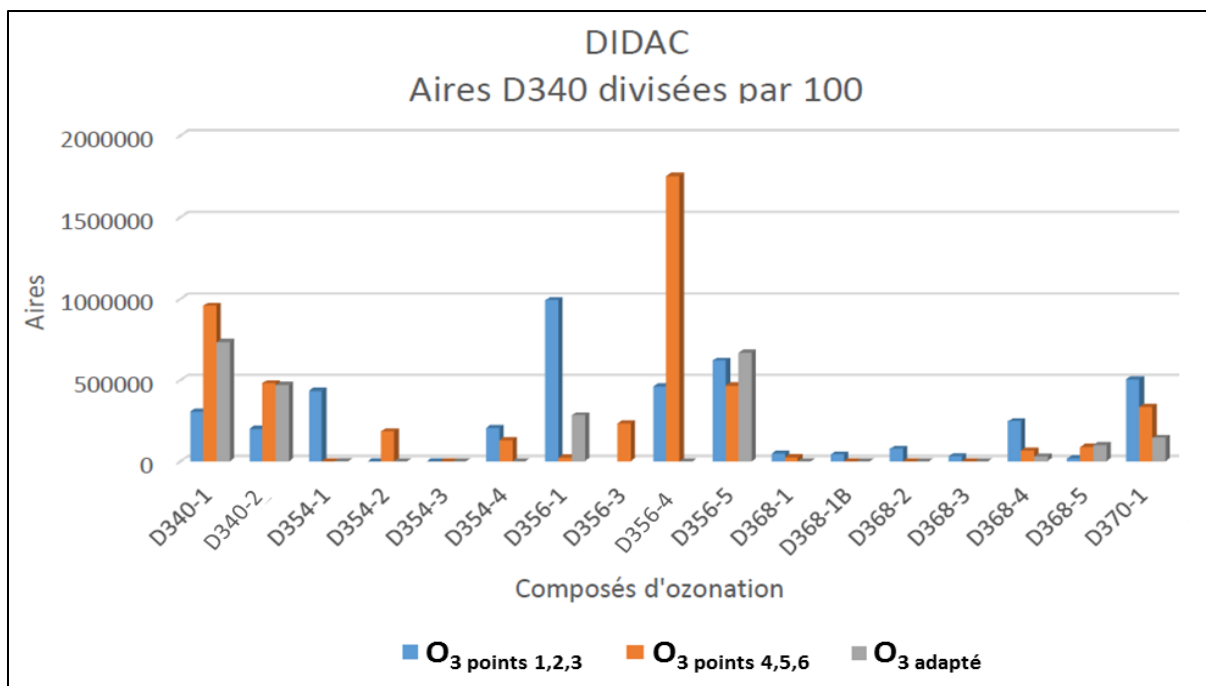


Figure 69 : Sous-produits d'oxydation du DDAC observés lors de l'étude pilote menée sur l'effluent de la blanchisserie en ozonation seule. (Données LCM)

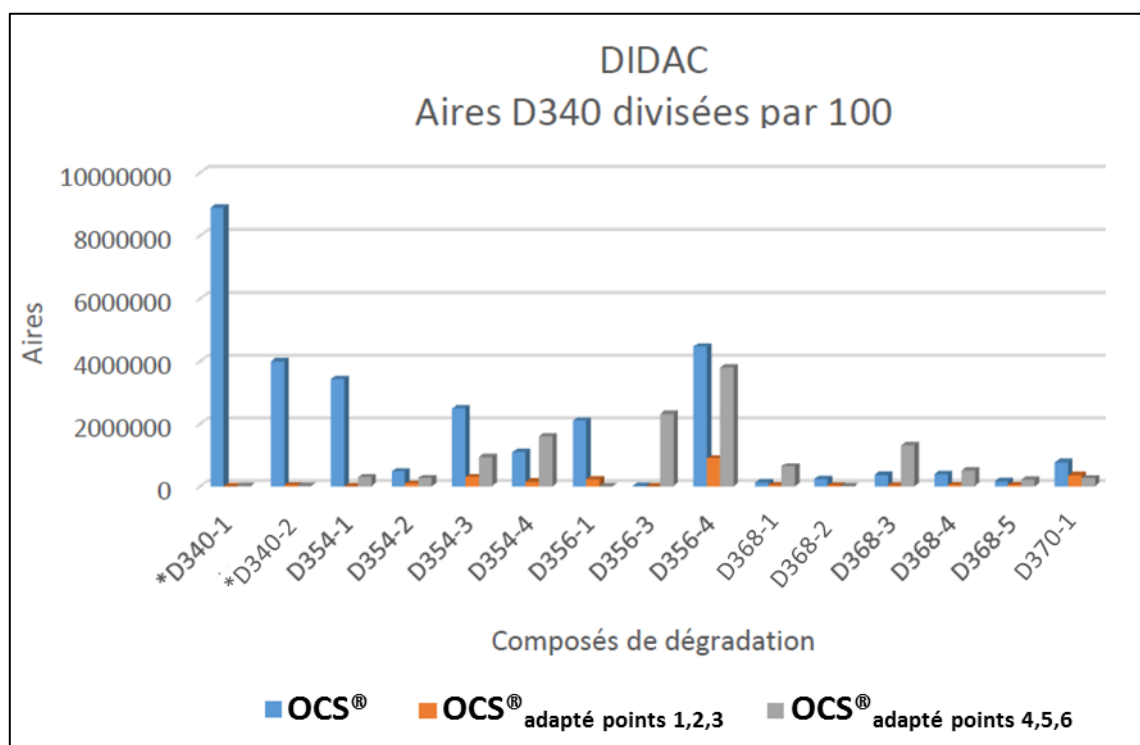


Figure 70 : Sous-produits d'oxydation du DDAC observés lors de l'étude pilote menée sur l'effluent de la blanchisserie en ozonation catalytique. (Données LCM)

Si l'on compare les résultats obtenus en conditions adaptées par l'ozonation seule et en présence de catalyseur plus de sous-produits ont été observés lors de l'OCS® pour une dose appliquée sur l'effluent de 1732 gO₃/m³ (figure 71).

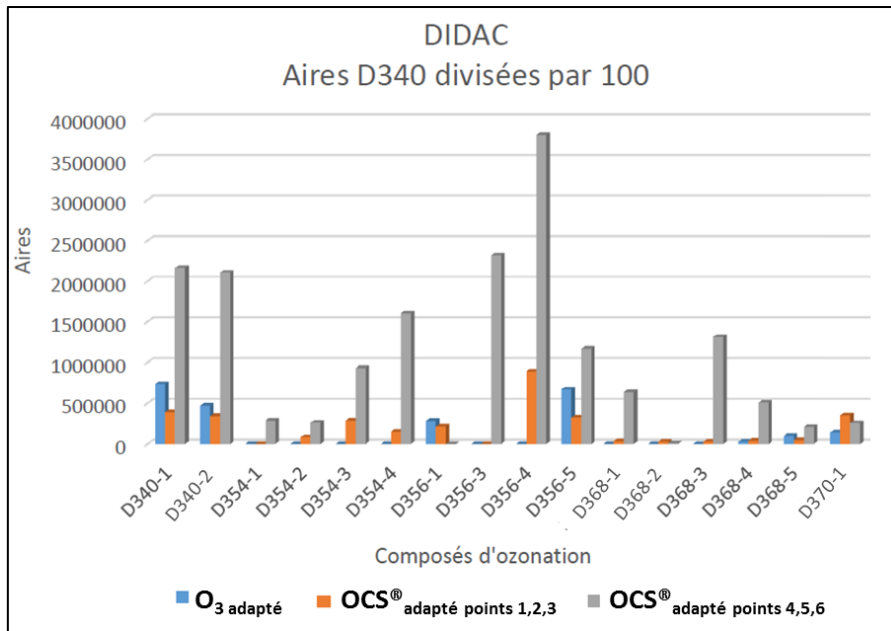


Figure 71 : Sous-produits d'oxydation du DDAC observés lors de l'étude pilote menée sur l'effluent de la blanchisserie, en ozonation adaptée et ozonation catalytique adaptée. (Données LCM)

IX.2.2.3.3 Ecotoxicité

De même que pour l'effluent du CHU, l'impact du traitement sur la toxicité de l'effluent dilué au 1/5 vis-à-vis de *Vibrio fischeri* a été évalué. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 72.

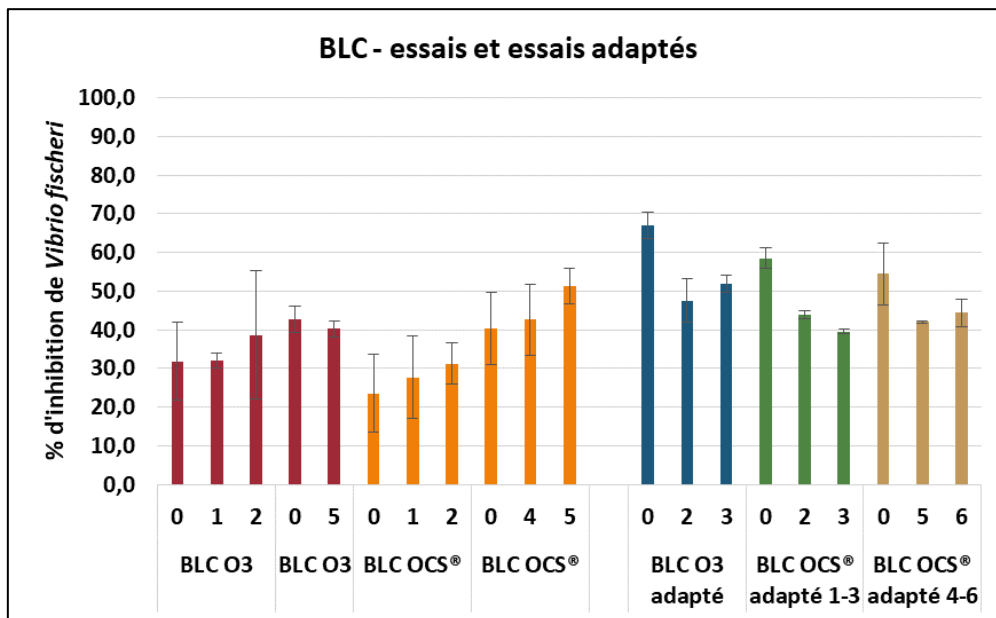


Figure 72 : Ecotoxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri* dans la matrice BLC sur échantillons dilués au 1/5 pour les tests avec paramètres de traitement non-adaptés et adaptés. Doses d'ozone appliquées : 768 gO₃/m³ à 2100 gO₃/m³ d'effluent (OCS® points 1-6 et O₃ points 1-3) ; 1344 gO₃/m³ d'effluent (O₃ points 4-6) ; 2100 gO₃/m³ (O₃ adapté et OCS® adapté points 1-3) ; 1730 gO₃/m³ d'effluent OCS® adapté points 4-6.

La toxicité de l'effluent brut préalablement dilué au 1/5 est comprise entre 25 % et 67 %. Comme dans l'effluent du CHU, ces résultats montrent peu d'évolution de l'écotoxicité au cours de l'ozonation ou

l'ozonation catalytique de l'effluent de la blanchisserie. Toutefois, les conditions de traitements non-ajustées sembleraient entraîner une légère augmentation de la toxicité tandis que les conditions de traitements adaptées sembleraient au contraire diminuer la toxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri*. Comme dans l'effluent du CHU, les mesures réalisées sur *Daphnia magna Strauss* et *Pseudokirchnella subcapitata* pour le point effluent blanchisserie brut et le point 5 de l'essai OCS® non adapté montrent une diminution globale de la toxicité aiguë et chronique (tableau 36).

Tableau 36 : Ecotoxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri*, *Daphnia magna Strauss* et *Pseudokirchnella subcapitata* lors du traitement de l'effluent CHU. (Données Véolia). Dose d'ozone appliquée : 960 gO₃/m³.

	points BLC OCS®	
	0	5
<i>Vibrio fischeri</i> % d'inhibition après dilution au 1/5 de l'échantillon	40,3	51,4
<i>Daphnie manga strauss</i> EC ₅₀ /24h en %	4,91	27,9
<i>Pseudokirchnella subcapitata</i> EC ₅₀ /72h en %	0,97	27,5

IX.2.2.4 Conclusions de l'étude pilote

Le traitement des deux effluents CHU et nouvelle blanchisserie par ozonation et ozonation catalytique supportée ont montré des résultats positifs sur l'élimination de DCO, du COT et des biocides suivis au cours de ce travail.

Le BAPLA, lorsqu'il est retrouvé dans les effluents, n'est en effet plus observé après traitement pour toutes les conditions testées et dans le cas du CHD seules des traces sont encore détectées après traitement dans la matrice CHU. Son taux d'élimination s'élève alors à hauteur de 90 % pour les doses d'ozone appliquées. Seul le DDAC, retrouvé dans les deux effluents dans les conditions de traitement appliqué, est plus réfractaire à l'ozone et l'ozonation catalytique.

Pour les deux effluents (CHU et BLC), une diminution globale de la DCO et du COT est visible après traitement. Dans l'effluent du CHU, la DCO est moins importante que dans l'effluent de la blanchisserie. Toutefois, les doses d'ozone consommées par unité de masse de DCO sont plus importantes. La DCO de cette matrice semble donc plus réfractaire au traitement. Dans cet effluent, le catalyseur semblerait favoriser la dégradation du DDAC.

Lors du traitement des deux effluents, plusieurs produits de transformation du DDAC ont été observés. Cependant, l'impact du traitement sur l'écotoxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri*, *Daphnia magna strauss* et *Pseudokirchnella subcapitata* semble plutôt positif. En effet, dans ces conditions de traitement étudiées une diminution de la toxicité a été généralement observée, même si pour l'effluent de la blanchisserie, le niveau de toxicité reste important aux conditions appliquées pour le traitement des biocides. Des tests plus poussés de l'évaluation de la toxicité pourraient cependant être menés.

SYNTHESE

Les produits biocides servent à lutter contre les micro-organismes indésirables et aujourd'hui de nombreuses activités humaines, dont le milieu hospitalier, les utilisent. A ce niveau, si leur consommation peut parfois être réduite, leur utilisation ne peut en revanche pas complètement être éliminée face aux problématiques et aux hauts standards d'hygiène de ces établissements pour lutter contre de nombreuses formes de contaminations et aider dans la lutte contre les maladies nosocomiales. Dans le milieu hospitalier, ces biocides sont essentiellement représentés dans des produits détergents-désinfectant, désinfectants pour surface et/ou instrumentation médicale ou encore sous forme de produits antiseptiques. Après utilisation, une grande partie de ces produits peut se retrouver dans les eaux usées. Actuellement, en Europe, seule la mise sur le marché de tels composés est réglementée et très peu d'entre eux ont été recherchés notamment dans les effluents hospitaliers par rapport à d'autres substances comme les médicaments. Pourtant, du fait de leurs propriétés intrinsèques ces composés pourraient être à l'origine de dysfonctionnement et de déséquilibres des milieux récepteurs.

Cette étude, réalisée sur l'Agglomération de Poitiers et plus particulièrement sur le site du CHU de Poitiers s'est intéressée à trois biocides représentatifs d'une activité de soins : Le chlorure de didecyldiméthylammonium (DDAC) détergent-désinfectant des surfaces et de l'instrumentation médicale, le digluconate de chlorhexidine (CHD) détergent de l'instrumentation médicale et antiseptique et le bis(aminopropyl)laurylamine (BAPLA) un détergent-désinfectant pour les surfaces. L'originalité de ces travaux de recherche a consisté en la réalisation d'un état des lieux des rejets de biocides spécifiques aux activités de soins dans le réseau d'eaux usées d'un hôpital, mais également à comprendre leur devenir et évaluer leurs réactivités dans les effluents. A l'issue de ce travail, l'étude d'un traitement à la source pour limiter ces rejets a été effectuée.

A l'échelle de l'Agglomération de Poitiers, les biocides ciblés sont principalement émis par les établissements de soins. Au niveau du CHU de Poitiers, une émission continue de biocides en différents points du réseau de collecte des eaux usées sur une journée a pu être observée, avec des quantités rejetées plus importantes dans la matinée et en début d'après-midi du fait des activités de soins et de nettoyage plus importantes durant cette période. Des concentrations comprises entre 30 µg/L – 150 µg/L pour le CHD et le BAPLA et entre 1000 µg/L – 4 000 µg/L pour le DDAC ont été observées en différents points du site du CHU jusqu'à la sortie. Au vu des résultats obtenus, il a été montré que les principaux apports de biocides dans les effluents proviendraient du nettoyage et de la désinfection de l'instrumentation et des surfaces pour le DDAC et le BAPLA. Pour le CHD, des quantités significatives seraient rejetées suite à l'usage antiseptique. Dans le cas du DDAC et du BAPLA utilisés pour les surfaces, sur la quantité retrouvée dans les rejets, une part non négligeable *via* la blanchisserie, vraisemblablement suite au nettoyage du linge et plus particulièrement des textiles utilisés pour

l'entretien des locaux et donc imprégnés de produit détergent-désinfectant, a pu être notée. Les concentrations observées dans les rejets sont cohérentes avec les quantités consommées indiquant une relative stabilité de ces composés. Néanmoins, dans le cas du BAPLA, un rejet limité de cette substance dans les eaux usées serait observé. Seulement 10 % à 30 % de ce qui est consommé a en effet été retrouvé dans les rejets à la sortie du site. Outre son application, sans rinçage, sur les surfaces, les pratiques préconisées au niveau du CHU visant à préparer au plus juste les quantités de produit nécessaire à l'imprégnation des textiles utilisés pour l'entretien des surfaces pourraient être à l'origine du faible rejet de cette substance dans les eaux usées. Ainsi, cette étude a permis une meilleure connaissance des rejets de biocides issus des activités de soins, des usages et/ou pratiques les plus propices à ce type de rejets. Au niveau de la station d'épuration, les biocides ont été retrouvés en entrée de station d'épuration à des concentrations comprises entre la dizaine et la centaine de microgrammes par litre, mais aucune des trois molécules n'a été observée en sortie de la station d'épuration avec la méthode d'analyse utilisée.

En termes de stabilité, en accord avec les informations issues de la littérature et leurs propriétés intrinsèques, il a été montré en laboratoire que les biocides étudiés sont stables et auraient un faible potentiel de biodégradation dans les effluents sur des périodes de temps courtes (< 6h). Sur les périodes de temps étudiées (\approx 3h), l'adsorption serait un phénomène rapide (palier d'adsorption < 30 min) et majoritaire quant à la disparition des biocides de la phase aqueuse. Dans le cadre de ce travail, quelques analyses réalisées sur le terrain ont montré que des quantités non négligeables (de 18 % à 47 %) des biocides présents dans les rejets seraient sous forme adsorbées sur les matières en suspension. De manière plus spécifique aux effluents hospitaliers, en présence d'un résiduel de chlore, apporté par les protocoles de désinfection des locaux à base d'eau de javel ou de dichlorisocyanurate de sodium, il a pu être mis en évidence que parmi les trois biocides le BAPLA pouvait se dégrader pour générer des produits de transformation, *a priori* plus actifs vis-à-vis de *Vibrio fischeri*. Cette bactérie marine reflète une bonne réalité des effets qui pourraient être produits sur des organismes présents dans les traitements biologiques des stations d'épurations. Au niveau du CHU, certains de ces sous-produits ont pu être observés en phase aqueuse. A ce niveau, la formation de ces composés ne semble pas dépendante du protocole de désinfection des locaux (i.e. eau de javel ou dichloroisocyanurate de sodium). De même, aucun impact sur la toxicité des effluents n'a été observé suivant le protocole employé.

Dans ce contexte, au vu des résultats obtenus, la proposition d'un traitement innovant utilisant l'ozone pour réduire à la source le rejet de ces composés par les établissements de soins a été étudiée. Le traitement par ozonation catalytique envisagé ici est à l'heure actuelle principalement employé sur des effluents industriels. En plus de pouvoir traiter les substances chimiques présentes dans les effluents du fait des forts potentiels oxydants des réactifs mis en jeu (ozone moléculaire et radicaux hydroxyle), ce traitement possède également un effet désinfectant qu'il peut être intéressant d'exploiter pour ce type d'effluent. L'étude à l'échelle laboratoire a consisté à déterminer les doses d'ozone nécessaires à l'élimination des biocides et à identifier des produits de transformation. Les différentes conditions de traitement appliquées sur un pilote sur site ont permis de confirmer que les procédés d'oxydation par ozonation et ozonation catalytique conduisent à une élimination des trois biocides étudiés présents dans l'effluent du CHU, le DDAC étant le plus réfractaire. Pour les doses d'ozone visant à l'élimination des biocides, la toxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri* varie peu alors qu'elle diminue significativement vis-à-vis de *Daphnia magna* et *Pseudokirchnella subcapitata*. Le traitement des effluents de la blanchisserie, identifiée comme source importante d'émission de biocides, a montré une DCO moins réfractaire à l'ozone que les effluents du CHU qui sont plus proches des effluents domestiques. Pour l'effluent du CHU et celui de la blanchisserie des doses d'ozone de l'ordre de 2 mgO₃/mgDCO à 3 mgO₃/mgDCO et 1,5 mgO₃/mgDCO₀ à 2 mgO₃/mgDCO₀ sont respectivement nécessaires pour une élimination de plus de 90% du DDAC. L'ozonation catalytique se montrerait plus efficace par rapport à l'ozonation seule pour l'élimination du DDAC principalement dans les matrices les plus réfractaires (effluent CHU versus Blanchisserie).

L'avancée des connaissances relatives à la situation des émissions de biocides en milieux hospitaliers à savoir :

- La gamme de concentrations retrouvées dans les rejets ;
- l'origine des principales activités émettrices ;
- la stabilité du CHD et du DDAC vis-à-vis du chlore utilisé en milieu hospitalier mais la réactivité du BAPLA ;
- l'adsorption significative de ces biocides sur la phase particulaire ;
- le traitement possible du DDAC, biocide le plus réfractaire, par ozonation ou ozonation catalytique ;

apporte des éléments essentiels pour une réflexion sur les mesures à prendre dans l'objectif d'une réduction de l'impact environnemental des biocides.

Les principaux leviers concernent les actions possibles au niveau des usages et des traitements.

Les modifications des pratiques, dont certaines ont déjà été entamées au CHU de Poitiers, consistent en la mise en place de protocoles visant à une utilisation raisonnée des biocides :

- utilisation de doses au plus juste ;
- mise en œuvre de lingettes à faible pouvoir de rétention des biocides (du type microfibrés) ;
- utilisation d'autres procédés de nettoyage (e.g. lampes UV, vapeur, ...) ;
- substitution par des produits biosourcés ou des produits à plus faible impact environnemental (H₂O₂, acide péracétique,...)

Concernant le traitement des biocides rejetés, la réflexion doit porter sur leur place, au plus près de la source d'émission ou au plus près du point de rejet dans le milieu naturel. Dans ces travaux les trois biocides étudiés sont spécifiques des usages hospitaliers. Ainsi l'absence de rejet diffus dans le réseau d'assainissement sur le secteur de Grand Poitiers tendrait à proposer un traitement à la source. L'étude ayant montré que ces biocides sont présents dans la phase aqueuse mais aussi sur la phase particulaire il conviendra de veiller à ce que le traitement mis en œuvre s'attaque à ces deux phases. Des travaux complémentaires seront nécessaires pour aborder la problématique liée à la phase particulaire (examen de la réversibilité de l'adsorption, possibilité de traitement par ozonation, traitement spécifique des boues, ...).

Le projet BIOTECH a montré que pour d'autres biocides les activités hospitalières ne constituent pas l'émetteur principal. Le choix pourra alors se porter sur un traitement au niveau de la STEP avec là encore une attention particulière sur le compartiment particulaire.

Les perspectives de cette étude relative aux biocides devront ainsi viser à :

- approfondir le comportement de la phase particulaire (rôle d'accumulation irréversible, d'autoépuration, relargage possible ?) afin d'orienter le choix et l'emplacement du traitement ;
- poursuivre l'identification des produits de transformation afin de préciser les taux de traitement à mettre en œuvre au-delà de l'élimination du biocide parent ;
- approfondir l'impact des concentrations en biocides retrouvées dans les rejets sur le développement d'éventuels phénomènes d'antibiorésistance ;
- Développer des techniques d'échantillonnage et d'analyse plus sensibles pour mieux rechercher la présence de ces composés dans les milieux

Pour conclure les biocides sont une classe de composés peu étudiés à ce jour dont certains, ceux que l'on a étudié, sont spécifiques d'une activité des soins. Afin de préciser le poids réel des établissements hospitaliers dans l'apport de micropolluants et de toxicité au niveau des stations d'épuration, et donc d'orienter la stratégie de traitement, il conviendrait en complément pour une vision globale, de développer une approche analytique permettant d'intégrer l'ensemble des constituants responsable de la pollution.

ANNEXES

Tableau 37 : Concentrations en DDAC, CHD et BAPLA obtenues lors des campagnes C1, C2 et C3.

DDAC			Concentrations				LD S/B		LQ S/B		LD stat		LQ stat		Valeurs seuils de quantification (SQ)
Réseau	Campagne	Dilution	en µg/L												
Laborit			-	-											
R1	C1	1/5	2098,5	+/- 328,7	39,6	132,2	176,6	591,9	176,6						
R2			933,1	+/- 118,5											
Sortie			1626,6	+/- 133,7											
Laborit		1/2	-	-	31,8	106,0	65,3	218,6	106,0						
R1	C2	1/5	3250,1	+/- 481,5	94,1	313,7	321,0	1069,9	321,0						
R2			2303,0	+/- 350,1											
Sortie			1768,8	+/- 275,5											
Laborit		1/2	101,6	+/- 7,5	4,1	13,6	15,6	52,0	15,6						
R1	C3	1/5	1515,4	+/- 300,5	25,1	83,5	171,6	571,9	171,6						
R2			2331,4	+/- 235,1											
Sortie			1550,0	+/- 204,4											
CHD			Concentrations				LD S/B		LQ S/B		LD stat		LQ stat		SQ
Réseau	Campagne	Dilution	en µg/L												
Laborit			-	-											
R1	C1	1/5	27,5	+/- 5,2	1,2	4,1	10,4	34,7	10,4						
R2			633,9	+/- 5,8											
Sortie			29,9	+/- 10,3											
Laborit		1/2	-	-	1,7	5,7	9,0	30,1	9,0						
R1	C2	1/5	55,9	+/- 10,9	3,8	12,7	23,3	77,5	23,3						
R2			97,2	+/- 39,0											
Sortie			59,7	+/- 17,8											
Laborit		1/2	-	-	0,1	0,2	2,1	7,2	2,1						
R1	C3	1/5	36,1	+/- 8,1	0,6	1,9	7,8	26,1	7,8						
R2			30,7	+/- 6,7											
Sortie			25,3	+/- 6,7											
BAPLA			Concentrations				LD S/B		LQ S/B		LD stat		LQ stat		SQ
Réseau	Campagne	Dilution	en µg/L												
Laborit			-	-											
R1	C1	1/5	24,7	+/- 5,5	5,4	17,9	11,2	37,2	17,9						
R2			25,4	+/- 11,6											
Sortie			19,8	+/- 6,7											
Laborit		1/2	-	-	3,2	10,8	5,1	17,2	10,8						
R1	C2	1/5	142,1	+/- 16,2	6,9	23,2	37,7	125,6	37,7						
R2			93,3	+/- 17,3											
Sortie			79,1	+/- 32,2											
Laborit		1/2	67,5	+/- 6,1	0,6	2,1	5,2	17,2	5,2						
R1	C3	1/5	31,8	+/- 3,4	1,1	3,8	9,2	30,8	9,2						
R2			17,9	+/- 5,0											
Sortie			36,1	+/- 14,1											

Tableau 38 : Valeurs des paramètres physico-chimiques obtenues lors des campagnes C4 et C5 au niveau du CHU (Campagnes C4/C5) (Données CHU et Grand Poitiers).

heure	R1		R2		Sortie	
	C4	C5	C4	C5	C4	C5
pH						
09h/10h	7,4	8,0	7,5	8,0	8,0	7,6
13h/14h	7,7	8,1	7,9	8,1	7,9	8,1
17h/18h	8,1	7,8	8,5	8,4	8,2	8,2
00h/01h	8,2	8,1	8,3	8,1	8,0	7,7
MES en mg/L						
09h/10h	350	590	330	290	250	1000
13h/14h	280	770	230	380	53	910
17h/18h	300	290	400	150	140	360
00h/01h	300	46	360	150	140	300
DBO₅ mgO₂/L						
09h/10h	270	340	250	280	170	500
13h/14h	190	350	170	370	87	420
17h/18h	230	310	170	160	80	340
00h/01h	130	93	210	100	99	180
DCO mgO₂/L						
09h/10h	760	1060	800	810	600	1330
13h/14h	610	1310	570	940	290	1220
17h/18h	770	840	690	430	320	720
00h/01h	580	270	750	240	320	370
Rapport DBO₅/DCO						
09h/10h	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4
13h/14h	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3
17h/18h	0,3	0,4	0,2	0,4	0,3	0,5
00h/01h	0,2	0,3	0,3	0,4	0,3	0,5
Débits en m³/h						
09h/10h	14,3	16,8	14,0	13,8	57,9	47,1
13h/14h	17,6	18,1	11,8	11,9	55,9	42,0
17h/18h	12,8	0,8	9,2	9,6	34,9	22,0
00h/01h	6,1	3,0	3,4	3,5	16,4	11,4

Tableau 39 : Valeurs des paramètres physico-chimiques obtenus lors des campagnes C4 et C5 au niveau de la STEP (Données CHU et Grand Poitiers).

heure	ESTEP		SSTEP	
	C4	C5	C4	C5
pH				
06h/10h	7,5	7,1	7,7	7,8
10h/14h	7,7	7,6	7,7	7,8
14h/18h	7,5	7,5	7,7	7,8
18h/22h	7,5	7,5	7,7	7,8
22h/06h	7,5	7,5	7,6	7,8
MES en mg/L				
06h/10h	685	940	3,6	4,4
10h/14h	530	510	8,8	3,2
14h/18h	445	365	2,8	3,2
18h/22h	465	400	4,4	2,8
22h/06h	360	410	0,8	2,8
DBO₅ mgO₂/L				
06h/10h	180	610	2,0	3,0
10h/14h	270	360	2,0	< 2
14h/18h	190	360	2,0	3,0
18h/22h	360	410	3,0	2,0
22h/06h	330	350	3,0	< 2
DCO mgO₂/L				
06h/10h	617	1094	20,2	44,9
10h/14h	932	975	13,8	44,7
14h/18h	859	912	17,5	41,3
18h/22h	957	852	18,4	36,9
22h/06h	772	750	17,4	41,9
Rapport DBO₅/DCO				
06h/10h	0,3	0,6	0,1	0,1
10h/14h	0,3	0,4	0,1	-
14h/18h	0,2	0,4	0,1	0,1
18h/22h	0,4	0,5	0,2	0,1
22h/06h	0,4	0,5	0,2	-
Débits m³/h				
06h/10h	1800	1590	1750	1380
10h/14h	3490	3640	3650	3670
14h/18h	3120	3100	3210	3010
18h/22h	2780	3100	2790	2870
22h/06h	3360	3700	4270	3960

Tableau 40 : Concentrations et valeurs seuils de quantifications en DDAC, CHD et BAPLA obtenues lors des campagnes C4 et C5. Dilution 1/5 des échantillons.

Dilution 1/5 Campagne	Point	Créneaux horaire	Valeurs en µg/L			
			DDAC	CHD	BAPLA	
C4	R2	09h/10h	2936,6 +/- 281,0	83,9 +/- 10,7	125,2 +/- 26,3	
		13h/14h	3921,0 +/- 819,0	53,9 +/- 25,2	87,4 +/- 24,0	
		17h/18h	1915,5 +/- 151,6	79,7 +/- 12,9	< Valeur seuil	
		00h/01h	2594,4 +/- 395,1	77,6 +/- 12,4	< Valeur seuil	
	Sortie CHU	09h/10h	1035,4 +/- 138,1	47,4 +/- 12,1	56,2 +/- 11,2	
		13h/14h	1984,0 +/- 213,8	42,5 +/- 10,7	51,2 +/- 10,2	
		17h/18h	2786,1 +/- 406,0	95,1 +/- 9,9	79,8 +/- 4,0	
		00h/01h	2345,8 +/- 545,2	118,0 +/- 11,4	32,7 +/- 10,1	
	Méthode	LD	83,4	0,2	6,9	
	Signal/bruit	LQ	278,1	0,6	22,8	
	Méthode	LD	336,4	11,4	14,9	
	Stat.	LQ	788,0	38,1	49,6	
	Valeur seuil de quantification			278,1	11,4	22,8
	C5	R2	09h/10h	3086,4 +/- 45,2	149,9 +/- 9,1	70,8 +/- 8,0
13h/14h			3477,0 +/- 1491,3	71,1 +/- 8,2	51,7 +/- 3,1	
17h/18h			3939,4 +/- 622,9	44,0 +/- 3,1	206,3 +/- 36,6	
00h/01h			1092,3 +/- 193,6	54,6 +/- 8,8	< Valeur seuil	
Sortie CHU		09h/10h	1160,7 +/- 97,8	43,9 +/- 5,5	77,8 +/- 6,8	
		13h/14h	4349,9 +/- 346,7	52,1 +/- 5,4	78,8 +/- 5,9	
		17h/18h	2608,5 +/- 222,7	45,0 +/- 5,6	267,5 +/- 44,2	
		00h/01h	520,6 +/- 132,2	29,8 +/- 5,4	45,8 +/- 6,1	
Méthode		LD	96,6	0,2	7,9	
Signal/bruit		LQ	322,0	0,8	26,4	
Méthode		LD	345,6	6,7	10,4	
Stat.		LQ	1151,9	22,2	34,8	
Valeur seuil de quantification			345,6	6,7	26,4	

Tableau 41 : Concentrations et valeurs seuils de quantifications en DDAC, CHD et BAPLA obtenues lors des campagnes C4 et C5. Dilution 1/2 des échantillons.

Dilution 2 Campagne	Point	Créneaux horaires	Valeurs en µg/L		
			DDAC	CHD	BAPLA
C4	R1	09h/10h	638,4 +/- 72,6	49,7 +/- 10,3	20,8 +/- 7,6
		13h/14h	958,9 +/- 253,3	52,8 +/- 6,1	21,1 +/- 2,1
		17h/18h	1519,9 +/- 236,0	40,2 +/- 4,4	20,3 +/- 3,5
		00h/01h	1730,7 +/- 568,1	96,5 +/- 7,3	15,4 +/- 3,2
	ESTEP	06h/10h	119,4 +/- 18,1	4,8 +/- 1,3	< Valeur seuil
		10h/14h	285,0 +/- 42,1	6,1 +/- 2,1	9,4 +/- 3,1
		14h/18h	444,5 +/- 69,3	5,1 +/- 1,3	14,0 +/- 3,3
		18h/22h	147,6 +/- 23,4	6,9 +/- 0,9	12,6 +/- 3,7
		22h/06h	246,5 +/- 22,9	4,8 +/- 1,4	11,0 +/- 2,7
	milieu STEP	moyen 24 h			
	SSTEP	06h/10h			
		10h/14h	< Valeur seuil	< Valeur seuil	< Valeur seuil
		14h/18h			
		18h/22h			
	22h/06h				
	Méthode	LD	10,8	0,04	1,1
	Signal/bruit	LQ	36	0,2	3,8
	Méthode Stat.	LD	61,4	3,2	4,6
		LQ	204,9	10,7	15,2
	Valeur seuil de quantification		61,4	3,2	4,6
C5	R1	09h/10h	675,0 +/- 57,6	49,6 +/- 2,8	16,5 +/- 1,5
		13h/14h	1042,1 +/- 93,0	31,3 +/- 3,5	8,3 +/- 1,2
		17h/18h	1088,4 +/- 75,7	34,0 +/- 1,5	11,7 +/- 1,7
		00h/01h	1862,8 +/- 172,8	27,9 +/- 3,2	9,9 +/- 1,9
	ESTEP	06h/10h	92,7 +/- 8,7	3,8 +/- 0,6	8,6 +/- 1,2
		10h/14h	103,9 +/- 17,1	4,3 +/- 1,0	5,2 +/- 0,7
		14h/18h	107,3 +/- 19,8	4,7 +/- 0,9	4,3 +/- 1,1
		18h/22h	388,4 +/- 39,6	9,1 +/- 1,0	16,6 +/- 2,6
		22h/06h	307,0 +/- 38,2	8,7 +/- 1,1	9,6 +/- 1,0
	milieu STEP	moyen 24 h			
	SSTEP	06h/10h			
		10h/14h	< Valeur seuil	< Valeur seuil	< Valeur seuil
		14h/18h			
		18h/22h			
	22h/06h				
	Méthode	LD	16,5	1,1	1,1
	Signal/bruit	LQ	54,8	3,5	3,7
	Méthode Stat.	LD	30,7	2,0	2,0
		LQ	116,6	6,8	6,6
	Valeur seuil de quantification		54,8	3,5	3,7

REFERENCES

-
- Abdallah P. (2014) Chloration de produits de soins corporels dans l'eau en présence d'ions bromure et d'azote ammoniacal. *Thèse de Doctorat. Chimie et microbiologie de l'eau. Poitiers*, 210 pp.
- Abdelli G., Leitner N.K.V. (2016) Oxidation of cyanuric acid in aqueous solution by catalytic ozonation. *Ozone: Science & Engineering*, 38:233–241.
- Abia L., Armesto X.L., Canle M.L., Garcia M.M, Santaballa J.A. (1998) Oxidation of aliphatic amines by aqueous chlorine. *Tetrahedron*, 54:521–530. doi:[10.1016/S0040-4020\(97\)10312-X](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(97)10312-X).
- Alexander M. (1981) Biodegradation of chemicals of environmental concern. *Science*, 211:132–138.
- Allion A. (2004) Environnement des bactéries et sensibilité aux biocides : mise au point d'une technique rapide pour déterminer in situ l'efficacité bactéricide d'agents antimicrobiens. *Thèse de Doctorat. Sciences du Vivant. ENSIA (AgroParisTECH)*, 195 pp.
- Altin A., Altin S. Degirmenci M. (2003) Characteristics and treatability of hospital (medical) wastewaters. *Fresenius Environmental Bulletin*, 12:1098–1108.
- Araújo P., Lemos M., Mergulhão F., Melo L., Simoes M. (2011) Antimicrobial resistance to disinfectants in biofilms. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*, 3:826–834.

-
- Baillet S., Cezard C., Colbeaux J.-P., Crombez S., Delaby F., Herdelin J.-L. Herait M., Houriez P., Jacob G., Jumelin-Diallo S., Lefebvre A., Le Vourch C., Mathieu-Nolf M., MMeurin C., Ochin D., Pascal E., Poulain B., Rogerie F., Vachee A., Van de Woestyne P. (2001) Guide méthodologique : les rejets hospitaliers, pp 98.
- Bailey P.S. (1982) Ozonation in organic chemistry V2: Nonolefinic compounds. Academic Press, 499 p.
- Basrani B.R., Manek S., Sodhi R.N., Filley E., Manzur A. (2007) Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. *Journal of endodontics*, 33:966–969.
- Bassarab P., Williams D., Dean J.R., Ludkin E., Perry J.J. (2011) Determination of quaternary ammonium compounds in seawater samples by solid-phase extraction and liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1218:673–677. doi:[10.1016/j.chroma.2010.11.088](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.11.088).
- Beltràn JF. (2003) Ozone Reaction Kinetics for Water and Wastewater Systems. *CRC Press*, 384 p.
- Berger P., (1997). Etude du mécanisme d'action des radicaux hydroxyle sur différentes fonctions azotées en milieu aqueux dilué. *Thèse de Doctorat. Chimie et microbiologie de l'eau. Poitiers*, 164 p.

- Billast N., Duffet A.-M., Dumartin C., Feldman P., Fossé F., Pourrier C., Robiquet A., Soumah, F. (2000) Recommandations de bonnes pratiques d'utilisation des antiseptiques et des désinfectants en milieu hospitalier. *CCLIN Paris-Nord*, 87 pp.
- Bine S., Boisgueérin B., Dennevault C., Dahmouh A., Fouchard A., Khati I., Lefebvre-Hoand I., Mauro L., Pereira E., De Peretti C., Renard-Dubois S., Renoux A., Trémoulu R., Vilain A., Vuagnat A., Yilmaz E. (2017) Les établissements de santé. In *Panoramas de la DREES santé*, 186 pp.
- Blancou J. (1995) History of disinfection from early times until the end of the 18th century. *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties*, 14:31–31.
- Bodnaruk P., Mertz E. (2015) Efficacy of an Enzyme-based Floor Cleaner Containing N,N-bis(3-aminopropyl)Laurylamine against Foodborne Pathogens on Four Flooring Types Used in Foodservice Environments. *Food Protection Trends*, 35:106–112.
- Boillot C., Bazin C., Tissot-Guerraz F., Droguet J., Perraud M., Cetre J.C., Trep D., Perrodin Y. (2008) Daily physicochemical, microbiological and ecotoxicological fluctuations of a hospital effluent according to technical and care activities. *Science of The Total Environment*, 403:113–129. doi:[10.1016/j.scitotenv.2008.04.037](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.04.037).
- Brunel C., Crignon A.-M., Feldman P., Godard M., Gourdet V., Harel A., Hofman M., Lerouge M., Paquette A., Soulet T., Vassal., Yakar V. (1999) Elimination des effluents liquides des établissements hospitaliers : Recommandations. *CCLIN Paris-Nord*, 74pp.
- Brycki B., Waligórska M., Szulc A. (2014) The biodegradation of monomeric and dimeric alkylammonium surfactants. *Journal of Hazardous Materials*, 280:797–815. doi:[10.1016/j.jhazmat.2014.08.021](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.08.021).
- Buffet-Bataillon S., Tattevin P., Bonnaure-Mallet M. Jolivet-Gougeon A. (2012) Emergence of resistance to antibacterial agents: the role of quaternary ammonium compounds—a critical review. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 39:381–389. doi:[10.1016/j.ijantimicag.2012.01.011](https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2012.01.011).

C

-
- Carraro E., Bonetta Si., Bertino C., Lorenzi E., Bonetta S., Gili G. (2016) Hospital effluents management: Chemical, physical, microbiological risks and legislation in different countries. *Journal of Environmental Management*, 168:185–199. doi:[10.1016/j.jenvman.2015.11.021](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.11.021).
- Chandran S., Singh R. (2007) Comparison of various international guidelines for analytical method validation. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 62:4–14.
- Chapman JS. (2003) Biocide resistance mechanisms. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 51:133–138.
- Cintra L.T.A., Watanabe S., Samuel R.O., da Silva Facundi A.C., de Azevedo Qieuz I.O., Dezan-Junior E., Gomes Filho J.E. (2014) The use of NaOCl in combination with CHX produces cytotoxic product. *Clinical oral investigations*, 18:935–940.
-

- Clara M., Scharf S., Scheffknecht C., Gans O. (2007) Occurrence of selected surfactants in untreated and treated sewage. *Water Research*, 41:4339–4348. doi:[10.1016/j.watres.2007.06.027](https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.06.027).
- Clasen T., Edmondson P. (2006) Sodium dichloroisocyanurate (NaDCC) tablets as an alternative to sodium hypochlorite for the routine treatment of drinking water at the household level. *International journal of hygiene and environmental health*, 209:173–181.
- Coates D. (1985) A comparison of sodium hypochlorite and sodium dichloroisocyanurate products. *Journal of Hospital Infection*, 6:31–40.
- Comninellis C., Kapalka A., Malato S. Parsons S.A., Poulios I., Mantzavinos D. (2008) Advanced oxidation processes for water treatment: advances and trends for R&D. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, 83:769–776.

D

- De Kouassi M. (2001) Les possibilités de la lutte microbiologique. *VertigO - la revue électronique en sciences de l'environnement*. [En ligne] Disponible sur : <https://journals.openedition.org/vertigo/4091?lang=en> [consulté le 14/09/2018].
- Deborde M., Pintemps-Vacquier C., Nicolas-Herman T., Lasek F. (2016) Projet BIOTECH : Biocides, Occurrence, Traitement et Effluents Hospitaliers. Phase 1 : Identification des principaux émetteurs de biocides dans le système de collecte et évaluation de la contribution du CHU à l'échelle de l'Agglomération. Rapport intermédiaire. Disponible sur : <https://www.documentation.eauetbiodiversite.fr/notice/projet-biotech-biocides-occurrence-traitement-et-effluents-hospitaliers-phase-1-identification-des-p0>, *Research report*.
- Deborde M., Von Gunten U. (2008) Reactions of chlorine with inorganic and organic compounds during water treatment—Kinetics and mechanisms: A critical review. *Water Research*, 42:13–51. doi:[10.1016/j.watres.2007.07.025](https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.07.025).
- Denyer S. (1990) Mechanisms of action of biocides. *International Biodeterioration*, 26:89–100.
- Denyer S.P., Stewart G.S.A.B. (1998) Hygiene and Disinfection Mechanisms of action of disinfectants. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 41:261–268. doi:[10.1016/S0964-8305\(98\)00023-7](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(98)00023-7).
- Di Nica V., Gallet J., Villa S., Mezzonotte V. (2017) Toxicity of Quaternary Ammonium Compounds (QACs) as single compounds and mixtures to aquatic non-target microorganisms: Experimental data and predictive models. *Ecotoxicology and environmental safety*, 142:567–577.
- Direction Générale de la Santé (2016) Pour une bonne gestion des déchets produits par les établissements de santé et médico-sociaux Déchets issus de médicaments Déchets liquides. *In (Guide pratique) Environnement et santé* (Ed.) 138 pp.

- Dodd M.C., Huang C.-H. (2004) Transformation of the antibacterial agent sulfamethoxazole in reactions with chlorine: kinetics, mechanisms, and pathways. *Environmental science & technology*, 38:5607–5615.
- Domka F., Brycki B., Seifert K., Szymanska K. (1999) Microbiocide efficiency of APDA in denitrification and desulfurication processes. *Polish Journal of Environmental Studies*, 8:299–304.
- Doré M. (1989) Chimie des oxydants et traitement des eaux. In : Paris: *Technique et Documentation Lavoisier*, 505p.
- Du Y., Lv X.-T., Wu Q.-Y., Zhang D.-G., Zhou Y.-T., Peng L., Hu H.-Y. (2017) Formation and control of disinfection byproducts and toxicity during reclaimed water chlorination: A review. *Journal of Environmental Sciences*, 58:51–63. doi:[10.1016/j.jes.2017.01.013](https://doi.org/10.1016/j.jes.2017.01.013).
- Dynes J.J., Lawrence J.R., Korber D.R., Swerhone D.W., Leppart G.G., Hitchcock A.P. (2006) Quantitative mapping of chlorhexidine in natural river biofilms. *Science of The Total Environment*, 369:369–383. doi:[10.1016/j.scitotenv.2006.04.033](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.04.033).

E

- Elmghari-Tabib M., Laplanche A., Venien F., Martin G. (1982) Ozonation des amines dans l'eau ozonation of amines in aqueous solutions. *Water Research*, 16:223–229.
- Emmanuel E., Keck G., Blanchard J.-M., Vermande P., Perrodin Y. (2004) Toxicological effects of disinfections using sodium hypochlorite on aquatic organisms and its contribution to AOX formation in hospital wastewater. *Environment international*, 30:891–900.
- Evens E., Blanchard J.-M., Keck G., Perrodin Y. (2001) Caractérisation chimique, biologique et écotoxicologique des effluents hospitaliers. *Dechets sciences et techniques*, 22:31–33.
- EPA (2018) United States Environmental Protection Agency. [en ligne] Disponible sur : <https://www.epa.gov/pesticide-registration/what-are-antimicrobial-pesticides> [consulté le 14/09/2018].

F

- Farrell A.P., Kennedy C.J., Wood A., Bennett W.R. (1998) Acute toxicity of a didecyldimethylammonium chloride-based wood preservative, bardac 2280, to aquatic species. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 17:1552–1557.
- Fekadu S., Merid Y., Beyene H., Teshome W., Gebre-Selassie S. (2015) Assessment of antibiotic- and disinfectant-resistant bacteria in hospital wastewater, south Ethiopia: a cross-sectional study. *Journal of Infection in Developing Countries*. 9 :149-156.
- Fernández P., Alder A.C., Suter M.J.-F., Giger W. (1996) Determination of the Quaternary Ammonium Surfactant Ditalowdimethylammonium in Digested Sludges and Marine Sediments by

G

- Garcia M., Ribosa I., Guindulain T., Sanchez-Leal J., Vives-Rego J. (2001) Fate and effect of monoalkyl quaternary ammonium surfactants in the aquatic environment. *Environmental Pollution*, 111:169–175.
- Gilbert P., Moore L. (2005) Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. *Journal of applied microbiology*, 99:703–715.
- Gombert B., 1999. Etude de l'oxydation par l'ozone en présence de catalyseurs solides de molécules organiques en milieu aqueux. *Thèse de Doctorat. Chimie et microbiologie de l'eau*. Poitiers, 143 p.
- Gouvernement du Canada (2017) Cadre de Gestion du Risque pour la chlorhexidine et ses sels. in *Environnement et Changement climatique Canada*, 25 pp.

H

- Hammond B.G., Barbee S.J., Inoue T., Ishida N., Levinskas G.J., Stevens M.W., Wheeler A.G., Cascieri T. (1986) A review of toxicology studies on cyanurate and its chlorinated derivatives. *Environmental Health Perspectives*, 69.
- Harris D. (2004) Quantitative chemical analysis. *Chem Listy*, 98:871–872.
- Heling I., Rotstein I., Dinur T., Szwec-Levine Y., Setinberg D., (2001) Bactericidal and cytotoxic effects of sodium hypochlorite and sodium dichloroisocyanurate solutions in vitro. *Journal of endodontics*, 27:278–280.
- Hentz M. (2013) Technical Paper Combining preservatives enhances protection of adhesives and sealants. *European Coatings Journal*, 4pp.
- Hoigné J., Bader H. (1983) Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water—II: dissociating organic compounds. *Water research*, 17:185–194.
- Hoigné J., Bader H., Haag W., Staehelin J. (1985) Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water—III. Inorganic compounds and radicals. *Water Research*, 19:993–1004.
- Hourlier F., Faur C., Gerente C., Lakel A., Masse A., Jaquen P., Le Cloirec P. (2011) Eaux grises : caractérisation, traitement et recyclage In *Environnement – Sécurité – Technologies de l'eau, Techniques de l'ingénieur* (Ed.), 26 pp.

Hugo W. (1991) A brief history of heat and chemical preservation and disinfection. *Journal of Applied Bacteriology*, 71:9–18.

|

Ikehata K., El-Din M.G. (2004) Degradation of recalcitrant surfactants in wastewater by ozonation and advanced oxidation processes: a review. *Ozone: science & engineering*, 26:327–343.

International Organization for Standardization (1998) Water quality - Determination of biochemical oxygen demand after n days (BOD_n) - Part 1: Dilution and seeding method with allylthiourea addition. NF EN 1899-1. *AFNOR*.

International Organization for Standardization (2002) Water quality - Determination of the chemical oxygen demand index (ST-COD) - Small-scale sealed-tube method. ISO 15705. *AFNOR*.

International Organization for Standardization (2005) Water Quality - Determination of suspended solids - Method by filtration through glass fibre filters. NF EN 872. *AFNOR*.

International Organization for Standardization (2009) Water quality - Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test). NF EN 11348-3. *AFNOR*.

International Organization for Standardization (2012a) Water quality - Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) - Acute toxicity test. NF EN ISO 6341. *AFNOR*.

International Organization for Standardization (2012b) Water quality - Fresh water algal growth inhibition test with unicellular green algae. NF EN ISO 8692. *AFNOR*.

International Organization for Standardization (2012c) Water quality - Determination of pH. NF EN ISO 10523. *AFNOR*.

International Organization for Standardization (2018) Water quality - Determination of free chlorine and total chlorine - Part 2 : colorimetric method using N,N-dialkyl-1,4-phenylenediamine, for routine control purposes. NF EN ISO 7393-2. *AFNOR*.

J

Jesus F.T., Oliveira R., Silva A., Catarino A.L., Soarez A.M.V.M., Nogueira A.J.A, Domingues I. (2013) Lethal and sub lethal effects of the biocide chlorhexidine on aquatic organisms. *Ecotoxicology*, 22:1348–1358. doi:[10.1007/s10646-013-1121-6](https://doi.org/10.1007/s10646-013-1121-6).

Jeffrey D. (1995) Chemicals used as disinfectants: active ingredients and enhancing additives. *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties*, 14:57–57.

- JO (2007) Article L. 521-1 du code de l'environnement *in* : Livre V : Prévention des pollutions, des risques et des nuisances - Titre II : Produits chimiques et biocides (partie réglementaire), *Journal Officiel* (Ed.).
- JOCE (1998) Directive 98/8/CE du Parlement européen et du Conseil du 16 février 1998 concernant la mise sur le marché des produits biocides, *in Journal Officiel des Communautés Européenne* (Ed.).
- JORF (2013) Arrêté du 9 octobre 2013 relatif aux conditions d'exercice de l'activité d'utilisateur professionnel et de distributeur de certains types de produits biocides. *In Journal Officiel de la République Française* (Ed.).
- JORF (2017) Arrêté du 24 août 2017 modifiant dans une série d'arrêtés ministériels les dispositions relatives aux rejets de substances dangereuses dans l'eau en provenance des installations classées pour la protection de l'environnement. *In Journal Officiel de la République Française* (Ed.).
- JOUE (1993) Directive 93/42/CEE du Conseil, du 14 juin 1993, relative aux dispositifs médicaux, *in Journal Officiel de l'Union Européenne* (Ed.).
- JOUE (2001) Directive 2001/83/CE du Parlement Européen et du Conseil du 6 novembre 2001 instituant un code communautaire relatif aux médicaments à usage humain, *in Journal Officiel de l'Union Européenne* (Ed.).
- JOUE (2009a) Directive 2009/128/CE du Parlement européen et du Conseil du 21 octobre 2009 instaurant un cadre d'action communautaire pour parvenir à une utilisation des pesticides compatible avec le développement durable (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE), *in Journal Officiel de l'Union Européenne* (Ed.).
- JOUE (2009b) Règlement (CE) N° 1107/2009 du Parlement Européen et du Conseil du 21 octobre 2009 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques et abrogeant les directives 79/117/CEE et 91/414/CEE du Conseil, *in Journal Officiel de l'Union Européenne* (Ed.).
- JOUE (2012) Règlement (UE) n ° 528/2012 du Parlement européen et du Conseil du 22 mai 2012 concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE, *in Journal Officiel de l'Union Européenne* (Ed.).
- Juergensen L., Busnarda J., Caux P.-Y., Kent R.A. (2000) Fate, behavior, and aquatic toxicity of the fungicide DDAC in the Canadian environment. *Environmental toxicology*, 15:174–200.

K

- Karpiński T., Szkaradkiewicz A. (2015) Chlorhexidine–pharmaco-biological activity and application. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 19:1321–1326.

- Kasprzyk-Hordern B., Ziótek M., Nawrocki J. (2003) Catalytic ozonation and methods of enhancing molecular ozone reactions in water treatment. *Applied Catalysis B: Environmental*, 46:639–669.
- Kern D.I., Schwaickhardt R.O., Mohr G., Lobo E.A., Kist L.T., Machado E.L. (2013) Toxicity and genotoxicity of hospital laundry wastewaters treated with photocatalytic ozonation. *Science of the Total Environment*, 443:566–572.
- Kern D.I., Schwaickhardt R.O., Lutterbeck C.A., Kist L.T., Alcayaga E.A.L., Machado E.L. (2015) Ecotoxicological and genotoxic assessment of hospital laundry wastewaters. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 68:64–73.
- Kido Y., Kodama H., Uraki F., Uyeda M., Tsuroka M., Shibata M. (1988) Microbial degradation of disinfectants. I. chlorhexidine-degrading bacteria isolated from activated sludge. *Eisei kagaku*, 34:10–14.
- Kirkham S., Cooke M. (2002) Regulatory Control of Biocides in Other Countries. in *The Biocides Business: Regulation, Safety and Applications*:103–140.
- Kreuzinger N., Fuerhacker M., Scharf S., Uhl M., Gans O., Grillitsch B. (2007) Methodological approach towards the environmental significance of uncharacterized substances—quaternary ammonium compounds as an example. *Desalination*, 215:209–222.
- Kümmerer K. (2001) Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources – a review. *Chemosphere*, 45:957–969. doi:[10.1016/S0045-6535\(01\)00144-8](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(01)00144-8).
- Kümmerer K. (2004) Resistance in the environment. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54:311–320.

L

- Laopaiboon L., Hall S., Smith R. (2002) The effect of a quaternary ammonium biocide on the performance and characteristics of laboratory-scale rotating biological contactors. *Journal of applied microbiology*, 93:1051–1058.
- Lee Y., Von Gunten U. (2016) Advances in predicting organic contaminant abatement during ozonation of municipal wastewater effluent: reaction kinetics, transformation products, and changes of biological effects. *Environmental Science: Water Research & Technology*, 2:421–442.
- Legube B., Leitner N.K.V. (1999) Catalytic ozonation: a promising advanced oxidation technology for water treatment. *Catalysis Today*, 53:61–72.
- Leitner N.K.V., Fu H. (2005) pH effects on catalytic ozonation of carboxylic acids with metal on metal oxides catalysts. *Topics in catalysis*, 33:249–256.
- Lim C.-H., Chung Y.-H. (2014) Effects of Didecyldimethylammonium chloride on sprague-dawley rats after two weeks of inhalation exposure. *Toxicological research*, 30.

-
- Maillard J. (2002) Bacterial target sites for biocide action. *Journal of applied microbiology*, 92:16S-27S.
- Martínez-Carballo E., Sitka A., González-Barreiro C., Kreuzinger N., Fürhacker M., Scharff S., Gans O. (2007a) Determination of selected quaternary ammonium compounds by liquid chromatography with mass spectrometry. Part I. Application to surface, waste and indirect discharge water samples in Austria. *Environmental Pollution*, 145:489–496. doi:[10.1016/j.envpol.2006.04.033](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.04.033).
- Martínez-Carballo E., González-Barreiro C., Sitka A., Kreuzinger N., Scharf S., Gans O. (2007b) Determination of selected quaternary ammonium compounds by liquid chromatography with mass spectrometry. Part II. Application to sediment and sludge samples in Austria. *Environmental Pollution*, 146:543–547. doi:[10.1016/j.envpol.2006.07.016](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.07.016).
- Martínez-Hernández V., Meffe R., Herrera-López S., de Bustamante I. (2016) The role of sorption and biodegradation in the removal of acetaminophen, carbamazepine, caffeine, naproxen and sulfamethoxazole during soil contact: A kinetics study. *Science of The Total Environment*, 559:232–241. doi:[10.1016/j.scitotenv.2016.03.131](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.131).
- Masuda M., Suzuki T., Friesen M.D., Ravanat J.-C., Cadet J., Pignatelli B., Nishino H., Ohshima H. (2001) Chlorination of guanosine and other nucleosides by hypochlorous acid and myeloperoxidase of activated human neutrophils catalysis by nicotine and trimethylamine. *Journal of biological chemistry*, 276:40486–40496.
- Matsushima H., Sakurai N. (1984) A selected ion monitoring assay for chlorhexidine in medical waste water. *Biological Mass Spectrometry*, 11:203–206.
- Mazzola P.G., Penna T.C.V., Da S Martins A.M. (2003) Determination of decimal reduction time (D value) of chemical agents used in hospitals for disinfection purposes. *BMC infectious diseases*, 3.
- McDonnell G., Russell A.D. (1999) Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clinical microbiology reviews*, 12:147–179.
- Meyer B., Cookson B. (2010) Does microbial resistance or adaptation to biocides create a hazard in infection prevention and control? *Journal of Hospital Infection*, 76:200–205.
- Ministère du Développement Durable et de l'Énergie, Direction Générale de la Prévention des Risques, Service de la Prévention des Nuisances et de la Qualité Environnementale, BSPC (2015) Notice explicative de l'arrêté « Certibiocide » du 9 octobre 2013 modifié relatif aux conditions d'exercice de l'activité d'utilisateur professionnel et de distributeur de certains types de produits biocides, 10 pp.
- Mondin A., Bogialli S., Venzo A., Favaro G., Badocco D., Pastore P. (2014) Characterization and quantification of N-(3-aminopropyl)-N-dodecyl-1,3-propanediamine biocide by NMR, HPLC/MS and titration techniques. *Chemosphere*, 95:379–386. doi:[10.1016/j.chemosphere.2013.09.049](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.09.049).
-

- Morente E.O., Fernández-Fuentes M.A., Burgos M.J.G., Abriouel H., Pulido R.P., Galvez A. (2013) Biocide tolerance in bacteria. *International journal of food microbiology*, 162:13–25.
- Mounier M., Pestourie N., Ploy M.-C., Denis F. (2009) Les détergents et les désinfectants : rôle en médecine (1re partie). *Antibiotiques*, 11:177–184. doi:[10.1016/j.antib.2009.06.002](https://doi.org/10.1016/j.antib.2009.06.002).
- Mulder I., Siemens J., Sentek V., Amelung W., Smalla K., Jechalke S. (2018) Quaternary ammonium compounds in soil: implications for antibiotic resistance development. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*:1–27.
- Müller-Pebody B., Muscat M., Pelle B., Klein B.M., Brandt C.T., Monnet D.L (2004) Increase and change in pattern of hospital antimicrobial use, Denmark, 1997–2001. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 54:1122–1126.
- Muñoz F., Von Sonntag C. (2000) The reactions of ozone with tertiary amines including the complexing agents nitrilotriacetic acid (NTA) and ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) in aqueous solution. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*:2029–2033.
- Murtough S.M., Hiom S.J., Palmer M., Russell A.D. (2001) Biocide rotation in the healthcare setting: is there a case for policy implementation? *Journal of Hospital Infection*. 48:1-6.

N

- Nishihara T., Okamoto T., Nishiyama N. (2000) Biodegradation of didecyldimethylammonium chloride by *Pseudomonas fluorescens* TN4 isolated from activated sludge. *Journal of Applied microbiology*, 88:641–647.
- Núñez O., Moyano E., Galceran MT. (2004) Determination of quaternary ammonium biocides by liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1058:89–95. doi:[10.1016/j.chroma.2004.08.085](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.085).

O

- OCDE (1999) Overview of Biocide Regulations in OECD Member Countries [En ligne] Disponible sur : <http://www.oecd.org/chemicalsafety/pesticides-biocides/2751500.pdf> [Consulté le 14/09/2018].
- Ogase H., Nagai I., Kameda K., Kume S., Ono S. (1992) Identification and quantitative analysis of degradation products of chlorhexidine with chlorhexidine-resistant bacteria with three-dimensional high performance liquid chromatography. *Journal of applied bacteriology*, 73:71–78.
- Olkowska E., Polkowska Ż., Namieśnik J. (2012) Analytical procedures for the determination of surfactants in environmental samples. *Talanta*, 88:1–13.

Orhan E.O., Irmak Ö., Hür D., Yaman B.C., Karabucak B. (2016) Does para-chloroaniline really form after mixing sodium hypochlorite and chlorhexidine? *Journal of endodontics*, 42:455–459.

Orias F., Perrodin Y. (2013) Characterisation of the ecotoxicity of hospital effluents: A review. *Science of The Total Environment*, 454–455:250–276. doi:[10.1016/j.scitotenv.2013.02.064](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.02.064).

Östman M., Lindberg R.H., Fick J., Björn E., Tysklind M. (2017) Screening of biocides, metals and antibiotics in Swedish sewage sludge and wastewater. *Water research*, 115:318–328.

P

Pauwels B., Verstraete W. (2006) The treatment of hospital wastewater: an appraisal. *J Water Health*, 4:405–416.

Prütz WA. (1998) Reactions of Hypochlorous Acid with Biological Substrates Are Activated Catalytically by Tertiary Amines. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 357:265–273. doi:[10.1006/abbi.1998.0822](https://doi.org/10.1006/abbi.1998.0822).

Q

Quinn M.M., Henneberger P.K., Braun B., *et al.* (2015) Cleaning and disinfecting environmental surfaces in health care: toward an integrated framework for infection and occupational illness prevention. *American journal of infection control*, 43:424–434.

R

Rodriguez-Mozaz S., Chamorro S., Marti E., Huerta B., Gros M., Sánchez-Melsio A., Borrego C.M., Barcelo D., Balcazar J.L. (2015) Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in hospital and urban wastewaters and their impact on the receiving river. *Water Research*, 69:234–242. doi:[10.1016/j.watres.2014.11.021](https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.11.021).

Rouillon S., Ourdanabia S., Jamart S., Hernandez C., Meunier O. (2006) Étude de l'efficacité d'un produit détergent désinfectant pour sols et surfaces sur les souches bactériennes isolées à partir de l'environnement hospitalier. *Pathol. Biol.* 54 :325–330.

Russell A. (2003) Biocide use and antibiotic resistance: the relevance of laboratory findings to clinical and environmental situations. *The Lancet infectious diseases*, 3:794–803.

Rutala W.A., Weber D.J. (1997) Uses of inorganic hypochlorite (bleach) in health-care facilities. *Clinical microbiology reviews*, 10:597–610.

-
- Sakagami Y., Yokoyama H., Ose Y. (1986) Degradation of Disinfectants by *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Activated Sludge: Identification of Degradation Products. *Eisei Kagaku*, 32:427–432.
- Sanders FT. (2003) The role of the EPA in the regulation of antimicrobial pesticides in the United States. *Pestic Outlook*, 14:251–255. doi:[10.1039/B314854H](https://doi.org/10.1039/B314854H).
- Santos L.H.M.L.M., Gros M., Rodriguez-Mozaz S., Delerue-Matos C., Pena A., Barcelo D., Montenegro M.C.B.S.M (2013) Contribution of hospital effluents to the load of pharmaceuticals in urban wastewaters: Identification of ecologically relevant pharmaceuticals. *Science of The Total Environment*, 461–462:302–316. doi:[10.1016/j.scitotenv.2013.04.077](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.077).
- Scott M.J., Jones M.N. (2000) The biodegradation of surfactants in the environment. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1508:235–251.
- Seifert K., Domka F. (2005) Inhibiting Effect of Surfactants and Heavy Metal Ions on the Denitrification Process. *Polish Journal of Environmental Studies*, 14.
- Sharma V.K., Johnson N., Cizmas L., McDonald T.J., Kim H. (2016) A review of the influence of treatment strategies on antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes. *Chemosphere*, 150:702–714.
- Simić M., Neta P., Hayon E. (1971) Pulse radiolytic investigation of aliphatic amines in aqueous solution. *International Journal for Radiation Physics and Chemistry*, 3:309–320.
- Stöckl D., D'Hondt H., Thienpont L.M. (2009) Method validation across the disciplines—critical investigation of major validation criteria and associated experimental protocols. *Journal of Chromatography B*, 877:2180–2190.

-
- Tanaka T., Murayama S., Tuda N., Nishiyama M., Nakagawa K., Matsuo Y., Isohama Y., Kido Y. (2005) Microbial degradation of disinfectants. A new chlorhexidine degradation intermediate (CHDI), CHDI-C, produced by *Pseudomonas* sp. strain no. A-3. *Journal of health science*, 51:357–361.
- Tanaka T., Ishii M., Nakano S., Mori Y., Yano Y., Iijima T., Takeda K., Jido Y. (2006) Microbial degradation of disinfectants: two new aromatic degradation products of chlorhexidine, chlorhexidine aromatic degradation product (CHADP)-4 and CHADP-6, produced by *Pseudomonas* sp. strain No. A-3. *Journal of health science*, 52:58–62.
- Tezel U., Pierson J.A., Pavlostathis S.G. (2006) Fate and effect of quaternary ammonium compounds on a mixed methanogenic culture. *Water research*, 40:3660–3668.

- Thiveaud D., Grimoud A.-M., Marty N., Roques C., Lodter J.-P., Chabanon G. (2005) Hygiène : structures, matériels, méthodes. *EMC - Odontologie*, 1:307–339. doi:[10.1016/j.emcodo.2005.10.001](https://doi.org/10.1016/j.emcodo.2005.10.001).
- Thomas J.E., Sem D.S. (2010) An in vitro spectroscopic analysis to determine whether para-chloroaniline is produced from mixing sodium hypochlorite and chlorhexidine. *Journal of endodontics*, 36:315–317.
- Tluczkiwicz I., Bitsch A., Hahn S., Hahn T. (2010) Emission of biocides from hospitals: Comparing current survey results with European Union default values. *Integrated Environmental Assessment and Management: An International Journal*, 6:273–280.
- Törneman N., Hallgren P. (2011) Chlorhexidine and p-chloroaniline. In *SWECO Environment Screening Report*, pp28.
- Tsai C., Lin S. (1999) Disinfection of hospital waste sludge using hypochlorite and chlorine dioxide. *Journal of applied microbiology*, 86:827–833.

U

- Uyeda M., Shiosaki T., Yokomizo K., Suzuki K., Uraki F., Tanaka T., Kido Y. (1996) Microbial degradation of disinfectants. Structures of chlorhexidine degradation intermediates, CHDI-B, CHDI-BR and CHDI-D, produced by *Pseudomonas* sp. strain No. A-3. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 42:121–126.

V

- Van Ginkel C., Hoenderboom A., Van Haperen A., Geurts M.G.J. (2003) Assessment of the biodegradability of dialkyldimethylammonium salts in flow through systems. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 38:1825–1835.
- Verlicchi P., Galletti A., Petrovic M., Barcelo D. (2010) Hospital effluents as a source of emerging pollutants: An overview of micropollutants and sustainable treatment options. *Journal of Hydrology*, 389:416–428. doi:[10.1016/j.jhydrol.2010.06.005](https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2010.06.005).
- Verlicchi P., Al Aukidy M., Galletti A., Petrovic M., Barcelo D. (2012) Hospital effluent: Investigation of the concentrations and distribution of pharmaceuticals and environmental risk assessment. *Science of The Total Environment*, 430:109–118. doi:[10.1016/j.scitotenv.2012.04.055](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.055).
- Verlicchi P., Al Aukidy M., Zambello E. (2015) What have we learned from worldwide experiences on the management and treatment of hospital effluent? — An overview and a discussion on perspectives. *Science of The Total Environment*, 514:467–491. doi:[10.1016/j.scitotenv.2015.02.020](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.02.020).
- Voisin A. (2012) Élaboration et étude de nouveaux biocides supportés respectueux de l'environnement. *Thèse de Doctorat. Sciences Chimiques. Bordeaux*, 238 pp.

Von Gunten U. (2003) Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation. *Water research*, 37:1443–1467.

W

Wang L.-S., Wei D.-B., Wei J., Hu H.-Y. (2007) Screening and estimating of toxicity formation with photobacterium bioassay during chlorine disinfection of wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, 141:289–294. doi:[10.1016/j.jhazmat.2006.07.001](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.07.001).

Wessels S., Ingmer H. (2013) Modes of action of three disinfectant active substances: a review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 67:456–467.

X

Y

Yang, K. (2017) South Korea Passes New Biocides Law (K-BPR) [En ligne] Disponible sur : <https://chemlinked.com/news/chemical-news/south-korea-passes-new-biocides-law-k-bpr> [consulté le 14/09/2018].

Yavuz M. (2013) Investigation of occurrence and fate of biocides in wastewater treatment plants and surface waters, (Rapport etude) 95pp.

Yildirim A., Metzler P., Lübbers H.-T., Yildirim V. (2015) Digluconate de chlorhexidine–histoire, mécanisme d’action et risques. *Swiss Dental Journal SSO*, 125:982–983.

Ying G.-G. (2006) Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment. *Environment international*, 32:417–431.

Yoshimatsu T., Hiyama K.-I. (2007) Mechanism of the action of didecyltrimethylammonium chloride (DDAC) against *Escherichia coli* and morphological changes of the cells. *Biocontrol science*, 12:93–99.

Z

Zaviska F., Drogui P., Mercier G., Blais J.-F (2009) Procédés d’oxydation avancée dans le traitement des eaux et des effluents industriels: Application à la dégradation des polluants réfractaires. *Revue des sciences de l’eau/Journal of Water Science*, 22:535–564.

Zhang C., Cui F., Zeng G.-M., Jiang M., Yang Z.-Z., Yu Z.-M., Shen L.-Q. (2015) Quaternary ammonium compounds (QACs): A review on occurrence, fate and toxicity in the environment. *Science of The Total Environment*, 518–519:352–362. doi:[10.1016/j.scitotenv.2015.03.007](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.007).

Zong Z., Kirsch L.E. (2012) Studies on the instability of chlorhexidine, part I: Kinetics and mechanisms. *J Pharm Sci*, 101:2417–2427. doi:[10.1002/jps.23151](https://doi.org/10.1002/jps.23151).
