

# Approches analytiques pour la caractérisation des micropolluants organiques dans les eaux urbaines

Julien Le Roux, Régis Moilleron

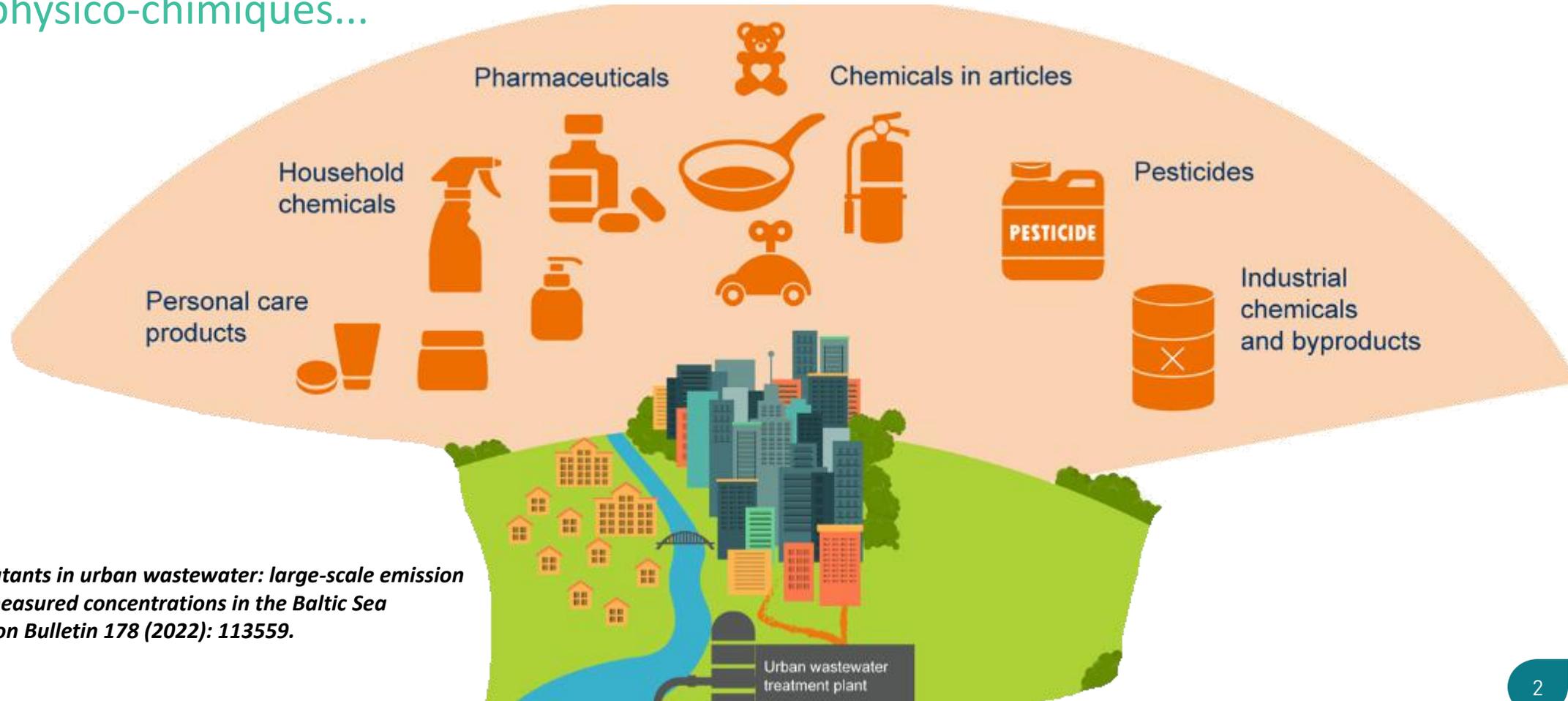
Journée AFSEP club IdF - 02 octobre 2024



laboratoire eau environnement systemes urbains

## ● Micropolluants dans l'environnement urbain

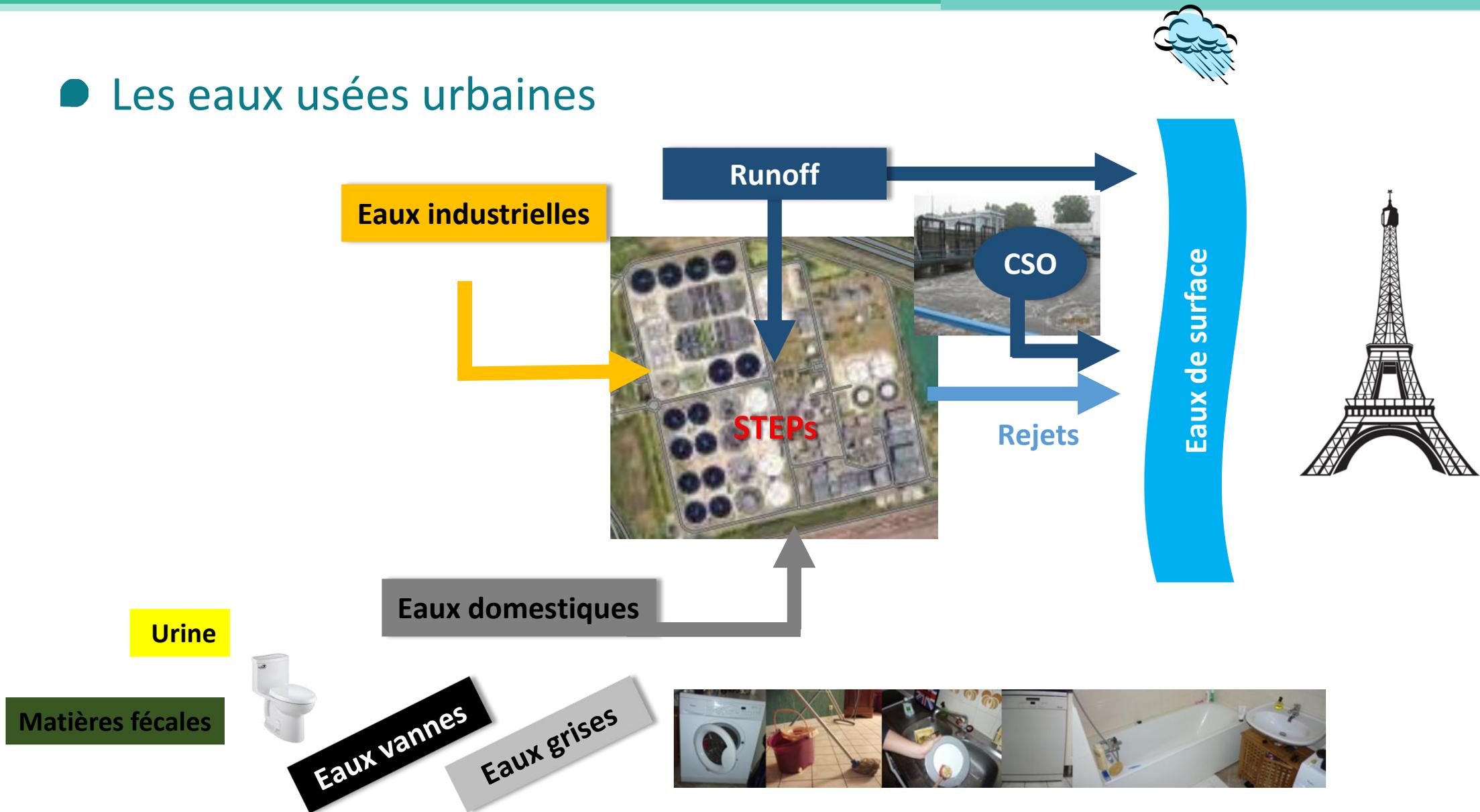
- Une grande diversité de sources... de familles chimiques... et de propriétés physico-chimiques...



*Undeman et al. "Micropollutants in urban wastewater: large-scale emission estimates and analysis of measured concentrations in the Baltic Sea catchment." *Marine Pollution Bulletin* 178 (2022): 113559.*

# Contexte

## Les eaux usées urbaines



## ● Rejets d'eaux usées (partiellement) traitées en STEP :

— → Contribuent de manière significative à la pollution en micropolluants

— → Dégradation de la qualité des eaux de surface

- Besoin de traitements de potabilisation plus performants
- Augmentation du prix de l'eau

— → Comment y remédier ?

- Améliorer la qualité des rejets ?
  - Limiter les rejets de contaminants (**Approche suisse** \* 1 : mise en place de nouveaux traitements en STEP pour atteindre 80% d'abattement pour 6 sur 12 micropolluants - RO 2016 4049)
- Améliorer les connaissances sur les niveaux de concentrations dans les eaux usées
  - Contrôle et réduction à la source (**Approche française**<sup>2</sup> : “diagnostic amont” suivi de 96 micropolluants)

\* Révision DERU en cours, approche suisse bientôt appliquée au niveau européen



1. DETEC ordinance on the verification of the treatment rate achieved with measures taken to eliminate organic trace compounds in wastewater treatment plants, Federal Office for the Environment, version 1.12.2016

2. Technical note of August 12, 2016 on the detection and reduction of micropollutants in raw water and treated wastewater from wastewater treatment plants.

# Les micropolluants étudiés au Leesu

Alkylphenols  
Bisphenol-A

Surfactants

Parabènes/Triclosan

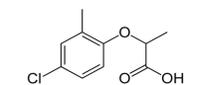
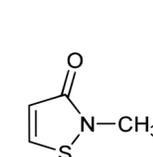
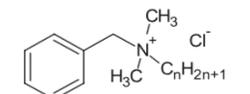
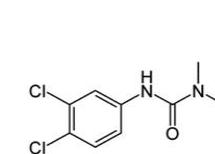
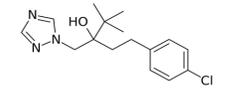
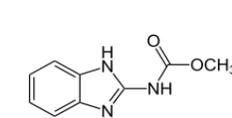
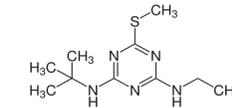
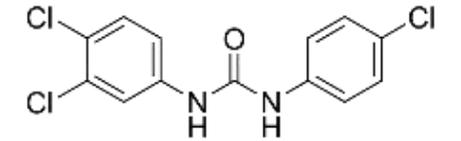
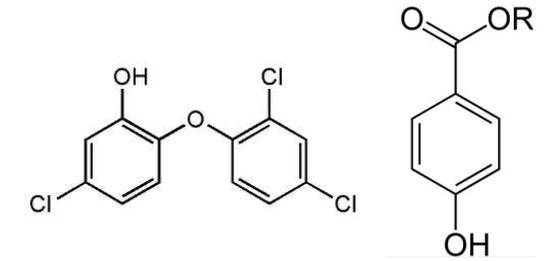
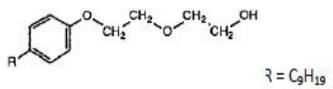
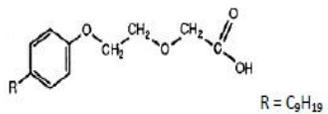
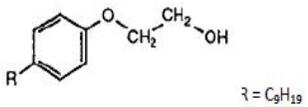
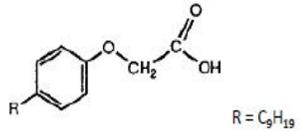
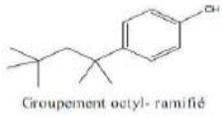
Conservateurs,  
fongicides

PAE (phtalates)

Plastifiants industriels

Biocides

Désinfectants, pesticides



# Exemple des phtalates dans les eaux grises

Thèse S. Deshayes (2012-2015)

**70% des volumes rejetés**

*Échantillons représentatifs de chaque type d'eaux grises*

*Groupe hétérogène représentatif de la population francilienne*



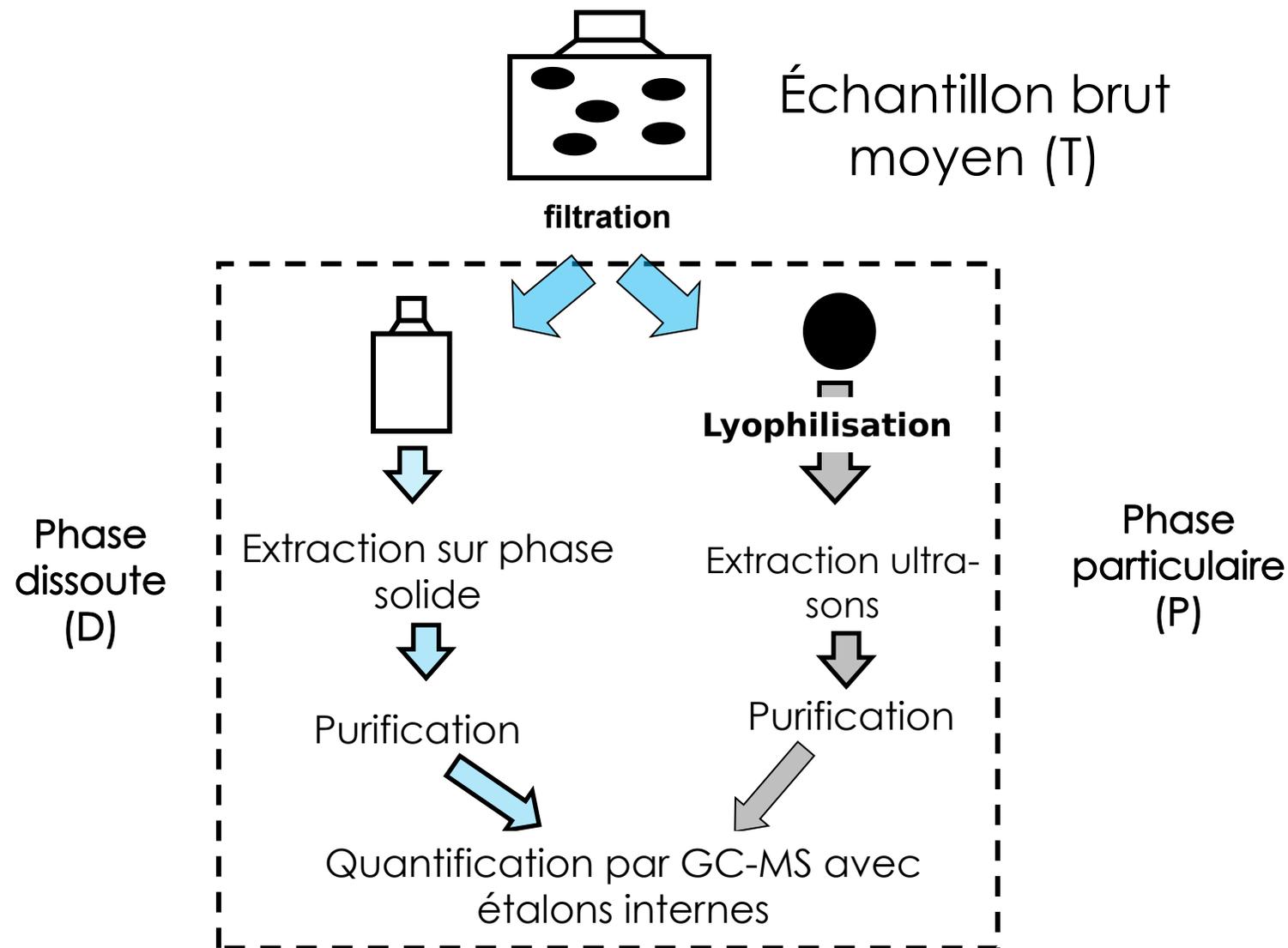
*Récupération de gros volumes (~ 70 L pour lave-linge)*

*Puis constitution d'échantillons moyens de 2,5 L*



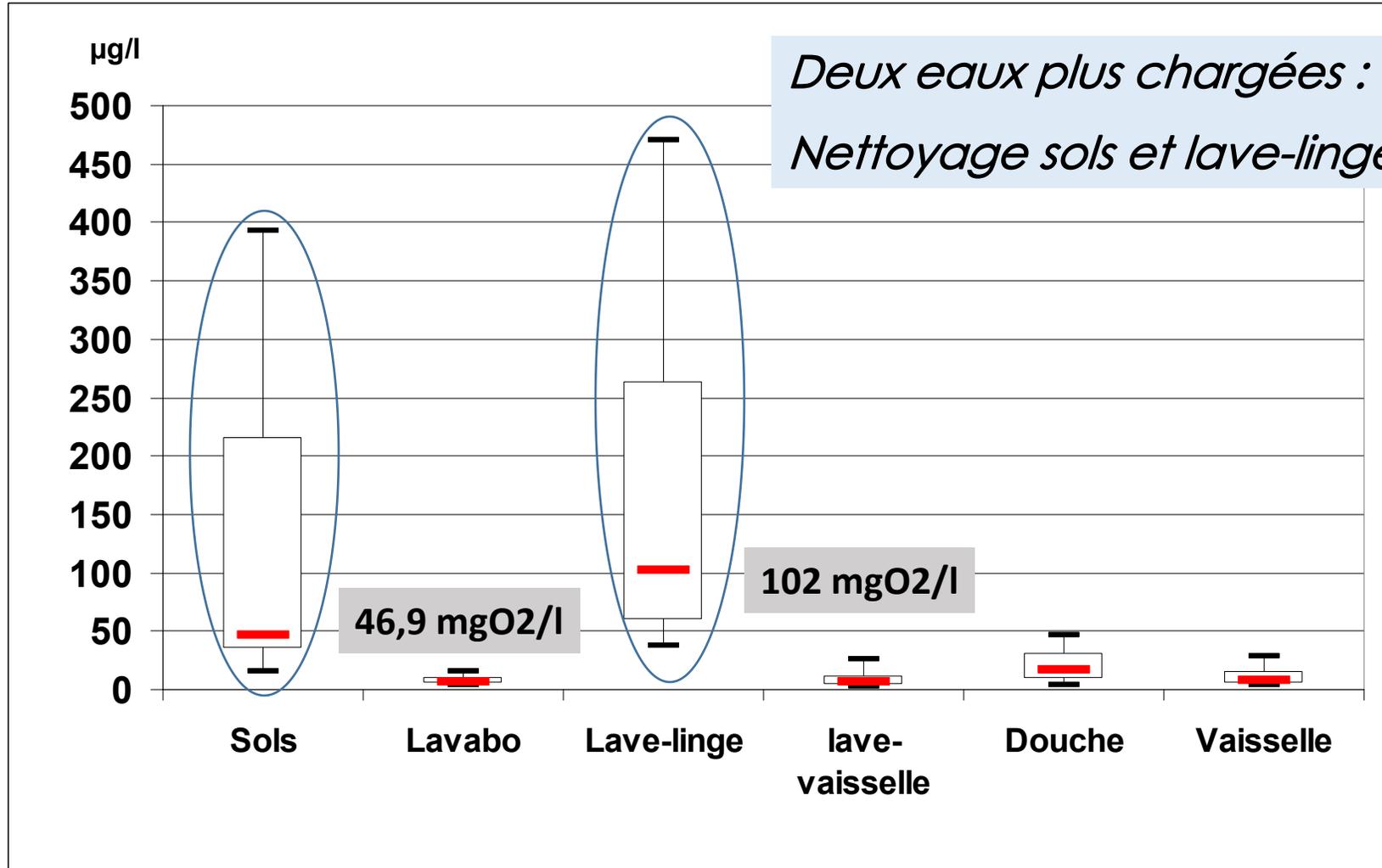
# Exemple des phtalates dans les eaux grises

## Méthode analytique

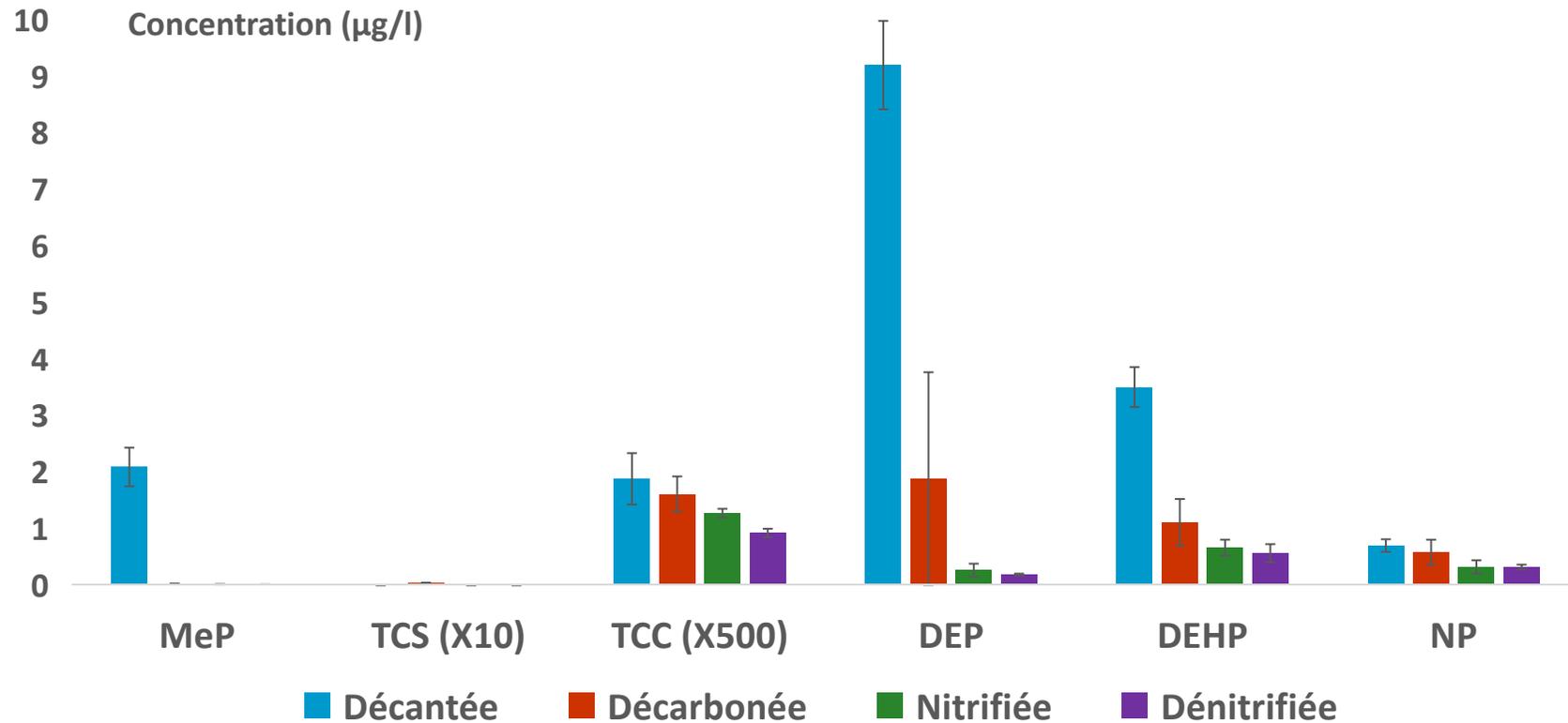


# Exemple des phtalates dans les eaux grises

## Concentrations : exemple du DEHP



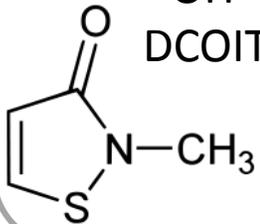
# Occurrence dans les STEPs et élimination



# Analyse de 18 biocides issus de matériaux de construction

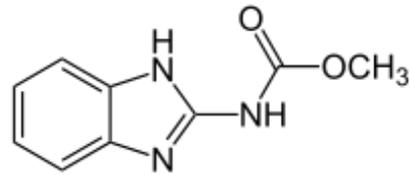
## Isothiazolinones

MIT  
CMIT  
BIT  
OIT  
DCOIT



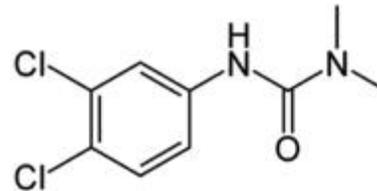
## Carbamates

Carbendazim  
IPBC



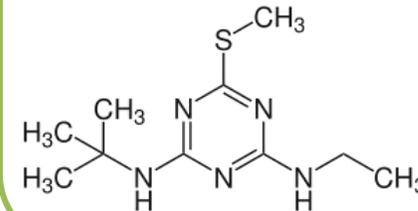
## Phenylureas

Diuron  
Isoproturon



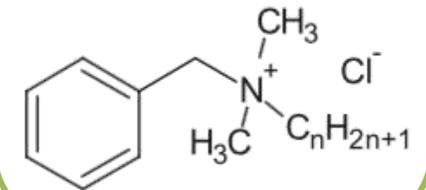
## Triazines

Terbutylazine  
Terbutryn  
Cybutryn



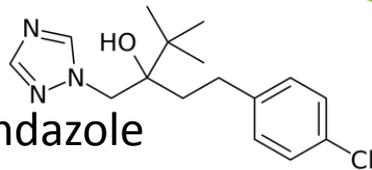
## Quaternary ammoniums

Benzalkoniums  
(C12-C16)



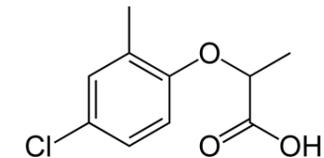
## Azoles

Tebuconazole, thiabendazole



## Phenoxy acid

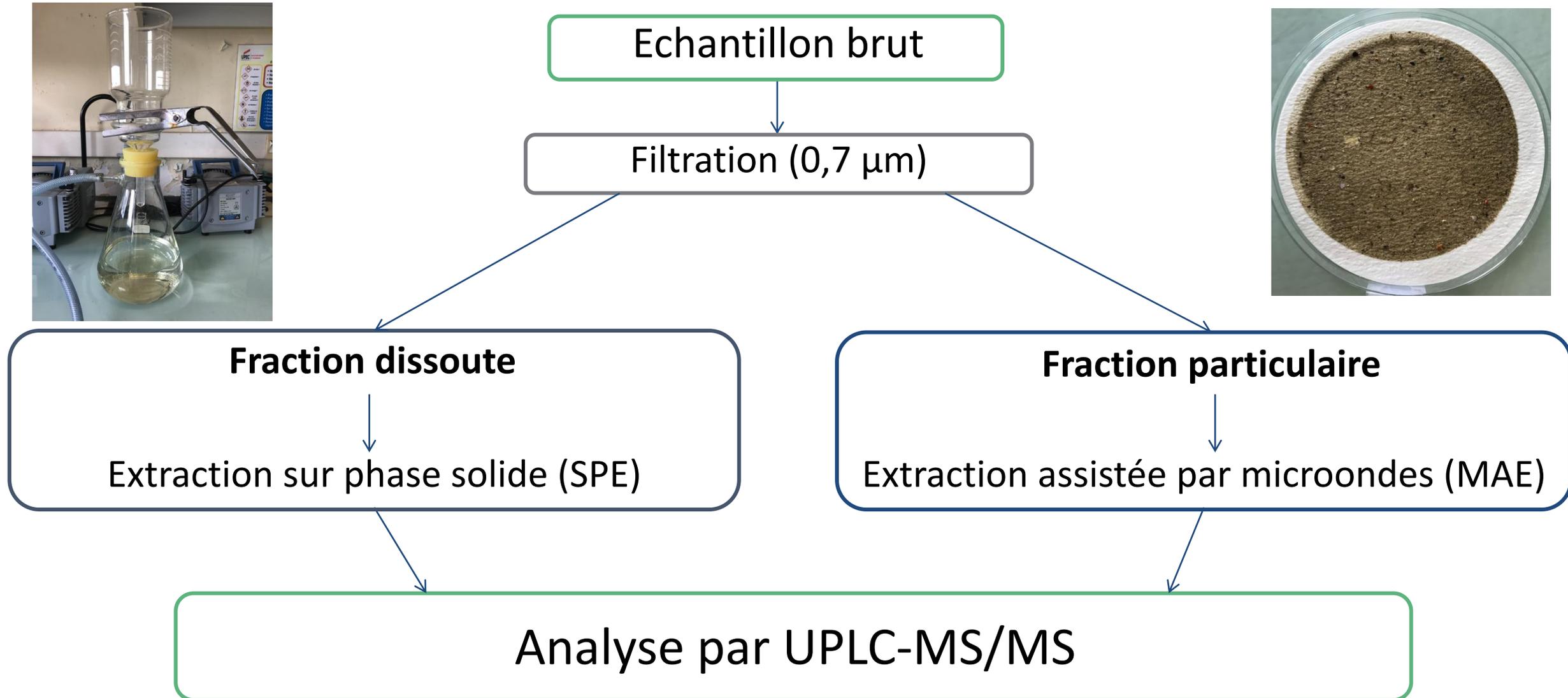
Mecoprop



→ Sélection basée sur :

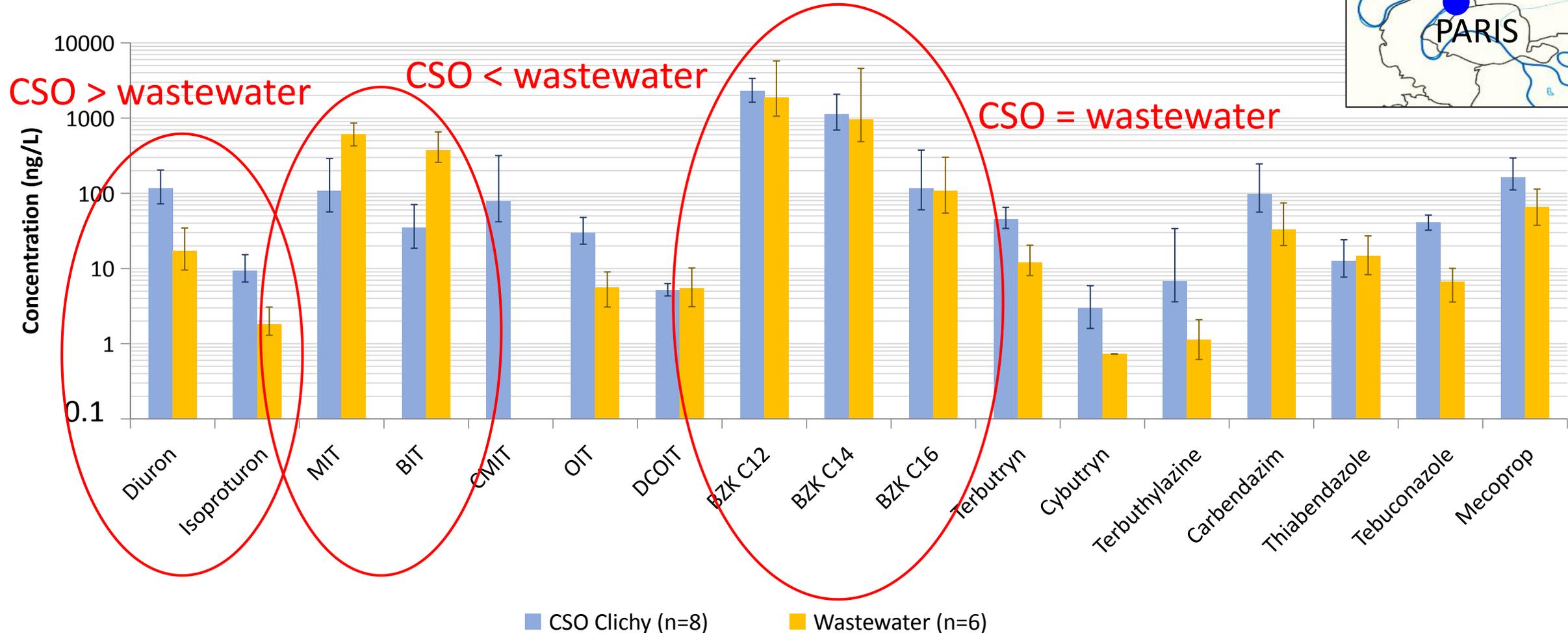
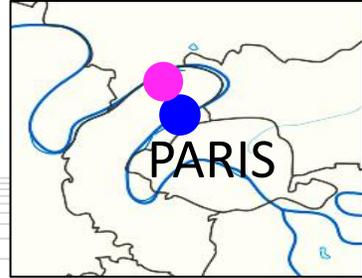
utilisation dans les **matériaux de construction**, **occurrences** dans les eaux et **écotoxicité**

# Analyse de 18 biocides issus de matériaux de construction



# Analyse de 18 biocides dans des matériaux de construction

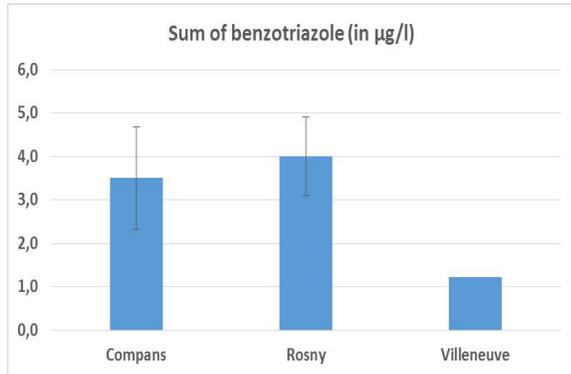
Comparaison des concentrations dans les **déversoirs d'orage** et dans les **eaux usées**



# Caractérisation des eaux de ruissellement

Analyses ciblées d'additifs retrouvés dans les matériaux et produits des voitures :

- benzotriazoles (peintures, plastiques)



- bisphenol-A (plastiques)

- alkylphénols (liquide de frein, huiles)

- phtalates (pneus, plastiques, peintures)

Deshayes et al. 2017 – ICUD conference



# Vers des approches d'observation

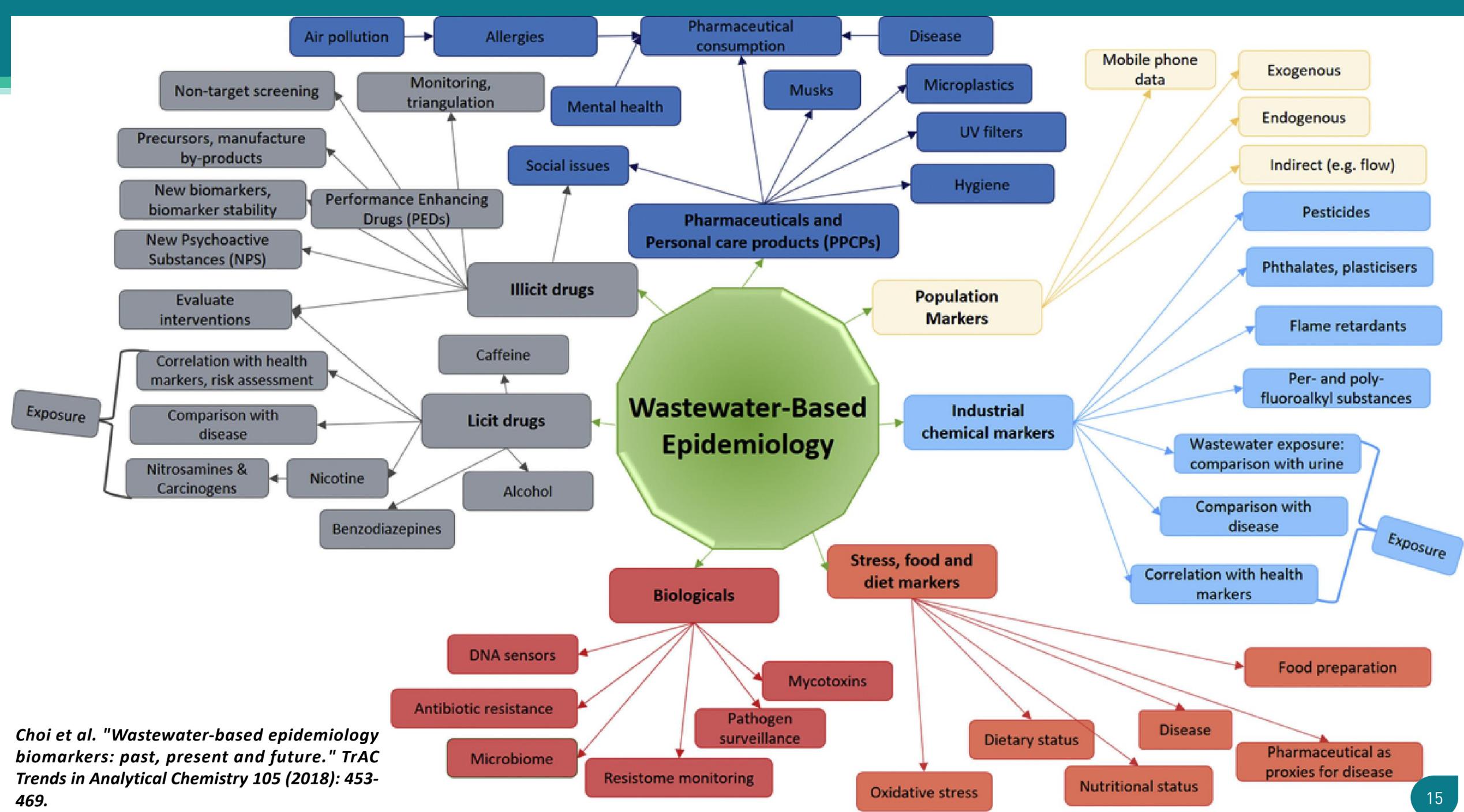
- Les eaux urbaines révélatrices des pratiques de consommation
  - *Epidémiologie basée sur les eaux usées (Choi et al., 2018)*
  - Déterminer la consommation et l'exposition à des produits chimiques ou des pathogènes par la population :
    - **SARS-CoV-2** (Australie, Japon, USA, France: réseau OBEPINE)
    - **Produits légaux** (caféine, alcool, tabac) et **illégaux** (cannabis, amphétamines, etc.)
    - **Produits pharmaceutiques** (antidépresseurs, antihistaminiques, etc.)
    - **Produits de soin corporels** (parabènes, filtres UV, biocides)
    - ...
- Création de l'observatoire de la Ville (programme OPUR puis SIAAP)
  - liens avec projets ANR EGOUT et PEPR WAHOO



Observations Géochimiques des Trajectoires Urbaines :  
relations avec indicateurs socio-économiques

<https://egout.cnrs.fr/>





Choi et al. "Wastewater-based epidemiology biomarkers: past, present and future." *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 105 (2018): 453-469.

# L'Observatoire de la ville

— démarré en 2020 pour 10 ans, gestion SIAAP (service public de l'assainissement francilien)

— Deux types de matrices

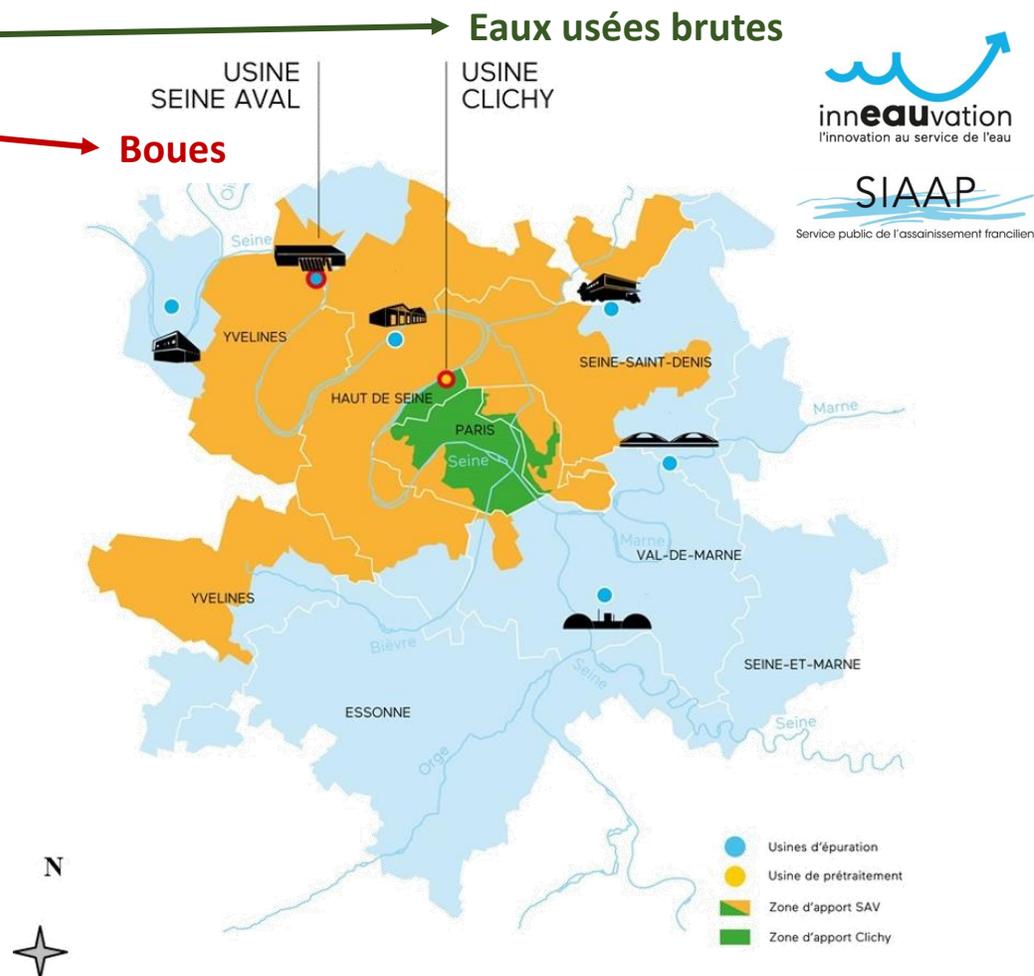
- échantillonnage mensuel

— Suivis :

- **Micropolluants (x 65)**
  - Pesticides
  - Biocides
  - Pharmaceutiques
  - Retardateurs de flamme
  - Métaux traces (Zn, Cu, Pb, Hg)
  - PFAS
- **Pathogènes (x 7)**
- **Virus (x 15)**

— Analyses non-ciblées HRMS

- GC
- LC

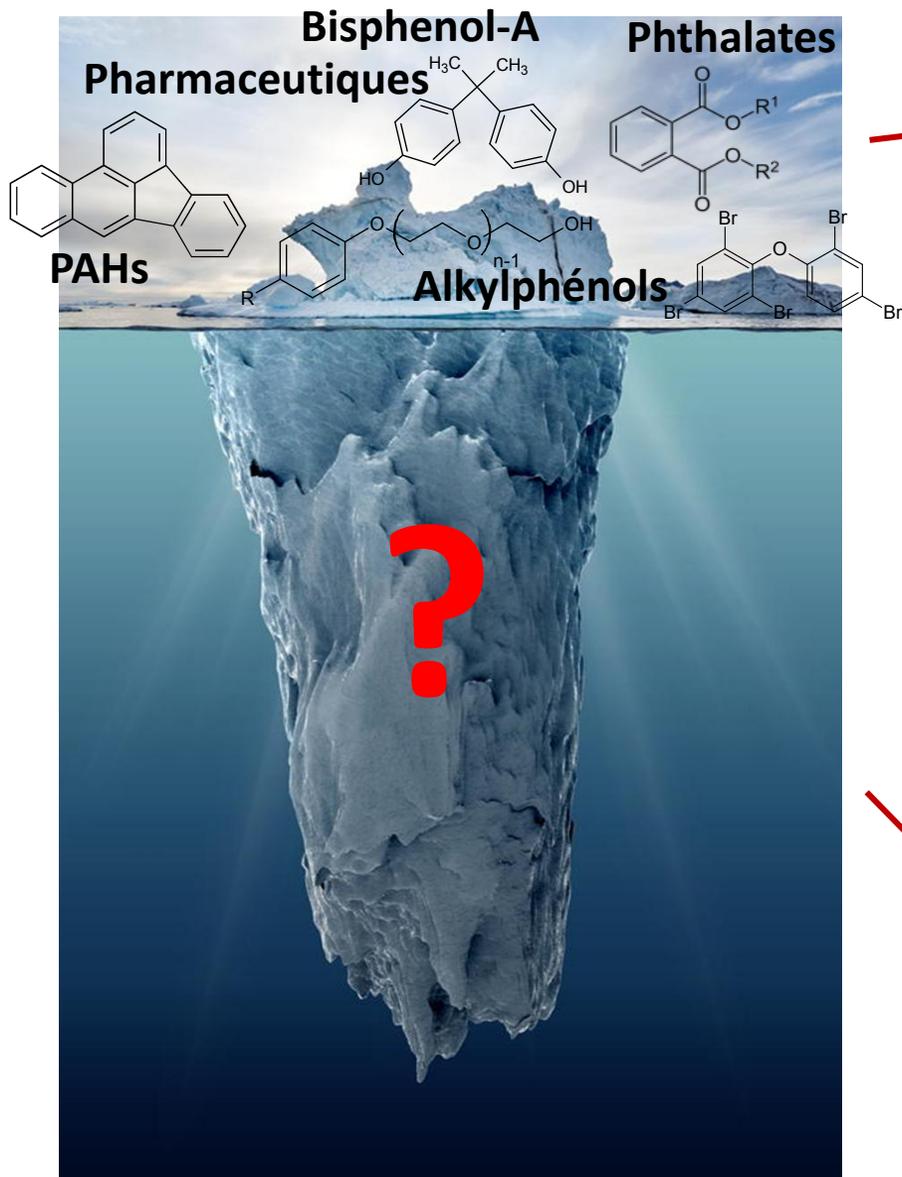


## ● Premiers résultats

### — Suivi débuté en 2021

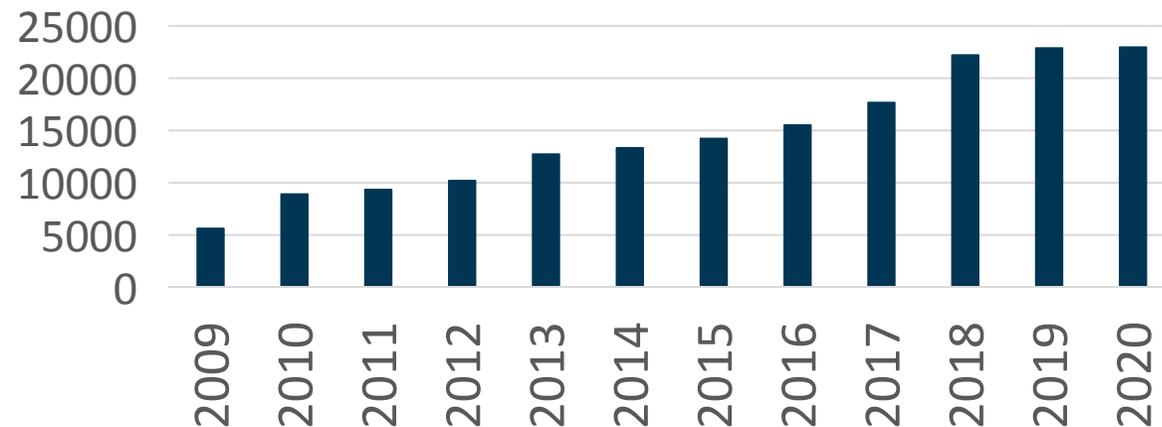
- Polluants jamais détectés (x 11) :
  - Sucralose, Heptachlore, Oestrone...
- Polluants avec occurrence entre 0 et 20% (x 10):
  - Isoproturon, 4n-Nonyphenol, Octylphenols...
- Polluants avec occurrence entre 20 et 80% (x15):
  - Diuron, Hg, BDE209, Benzo[*a*]Pyrene, 17 $\beta$ -oestradiol...
- Polluants avec occurrence > 80% (x27):
  - Cypermethrine, Zn, Cu, Pb, DEHP, Furosemide, Diclofenac...
  
- Virus :
  - 7 sur 15 détectés plus d'une fois
  
- Pathogènes :
  - Tous détectés à des concentrations entre  $10^4$  et  $10^{10}$  CFU/100 mL

# L'Observatoire de la ville : screening non-ciblé



→ Screening ciblé

Nombre de substances enregistrées  
(ECHA on 2020/04/07)



→ Screening non-ciblé par spectrométrie de masse haute résolution (HRMS)

Identification de composés émergents ?  
Tendances/évolutions temporelles ?

# L'Observatoire de la ville : screening non-ciblé

HRMS : premiers résultats

Analyse en composantes principales sur les échantillons de 2021

Tendances temporelles claires



# Analyses non-ciblées par HRMS

## Analyses par UPLC-IMS-QTOF

UPLC (Ultra-Performance Liquid Chromatography)

Column: C18 (Octadecylsilane)

Mobile phase: Ultrapure water + formic acid/ Acetonitrile + formic acid

ESI (Electrospray)

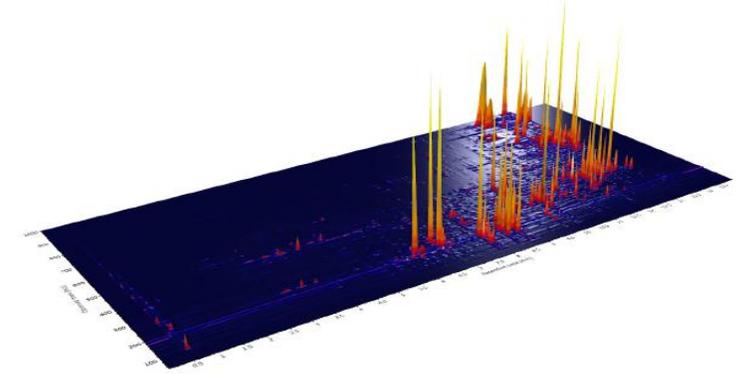
Ionization source in positive and negative mode

IMS (Ion mobility spectrometry)

Separation of ions according to their size and shape

QTOF

Coupling of two analyzers Q (Quadripole) and TOF (Time of Flight)



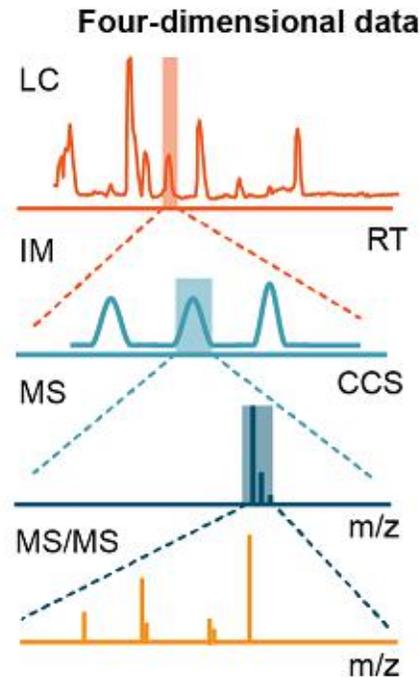
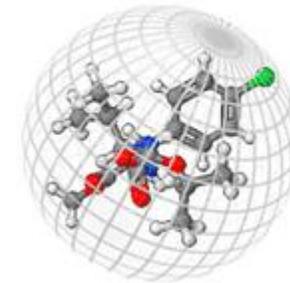
# Intérêt de la mobilité ionique

Vion<sup>®</sup> IMS QTof



Waters

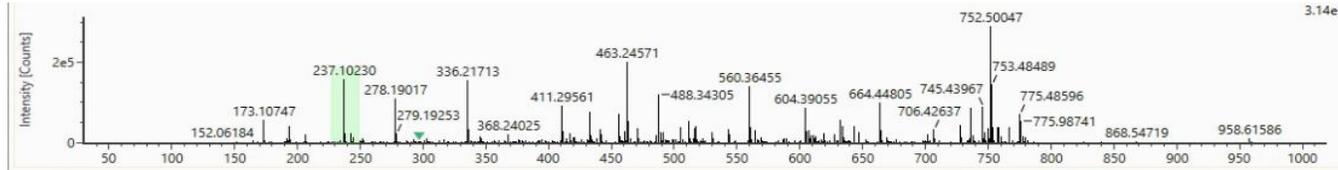
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



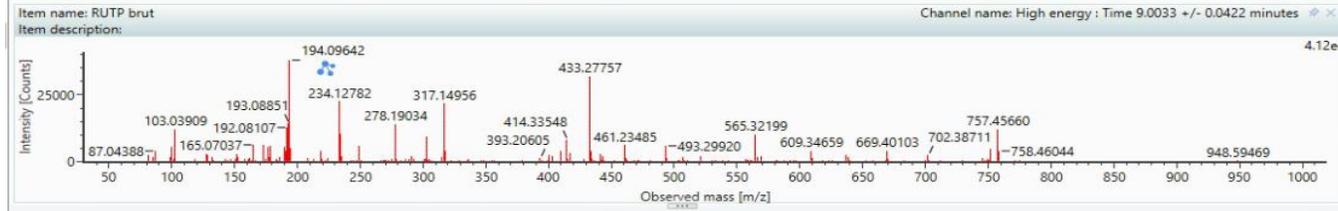
- **Collision cross-section (CCS)** : un paramètre d'identification supplémentaire, reproductible
- Nettoyage spectral
- Réduction des faux positifs en identification

# Intérêt de la mobilité ionique

Low energy



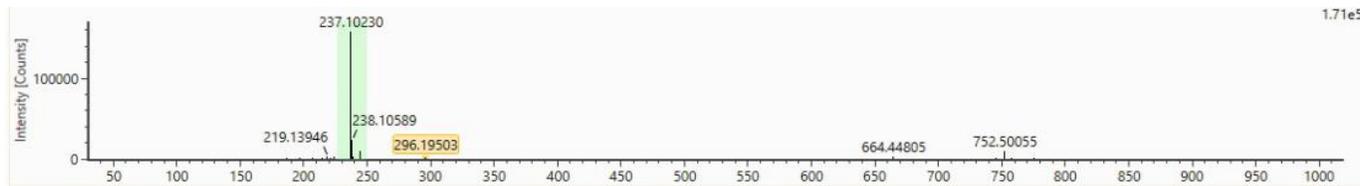
High energy



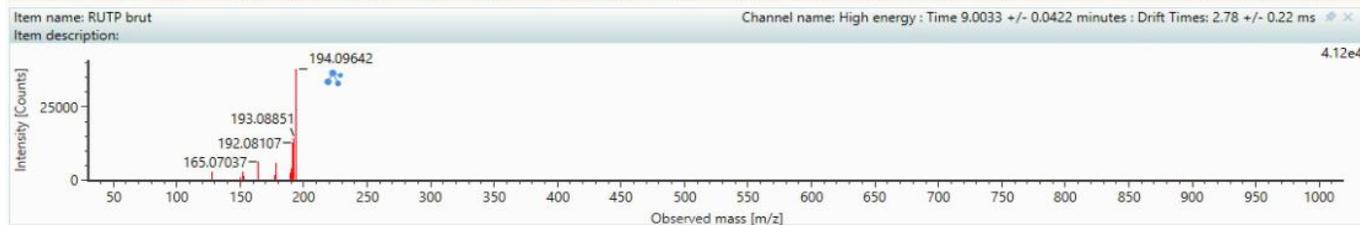
Sans IMS



Low energy



High energy



Avec IMS

**Plus de chances de retrouver le spectre dans des bibliothèques de spectres MS !**

# Analyses en mode suspect

Analyse de **suspects** (~400 molécules en base interne)

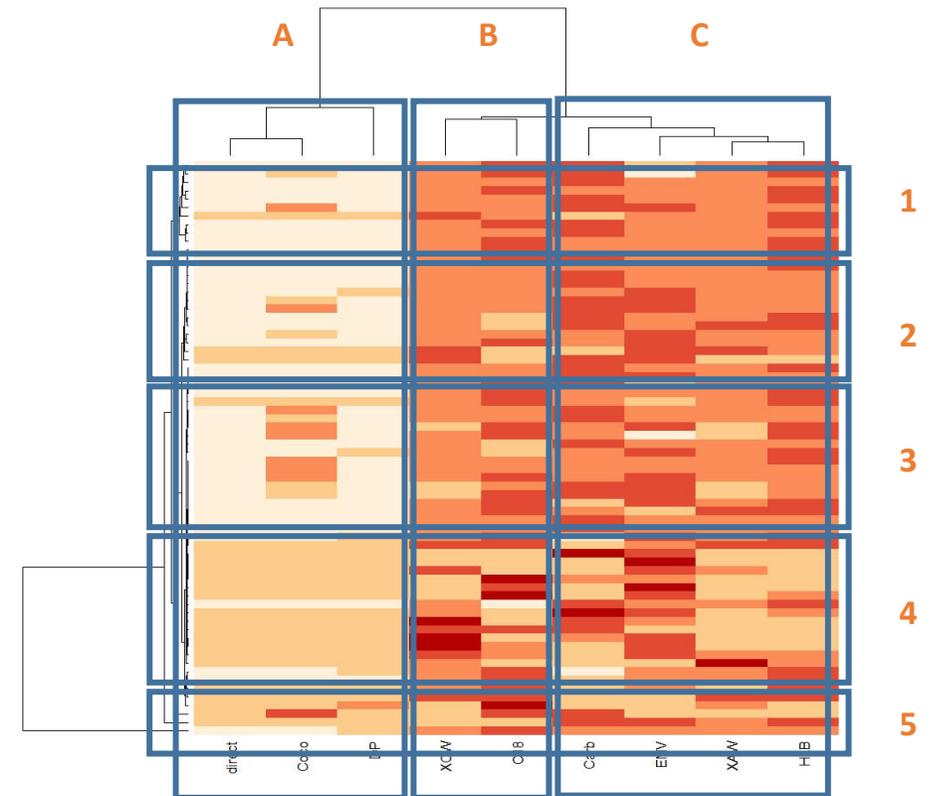
- Drogues
- Biocides
- Polluants majeurs des eaux urbaines
- Produits de transformation

**Présence ou absence** dans les séries d'échantillons

## Fiabilité des détections

car RT, m/z, spectres MS2 mais aussi CCS (mobilité ionique)

+ **bases externes** Waters CCS et screening (~2000 molécules)



# Développement d'une pipeline de traitement des données

Thèse J. Sade (2021-2024)

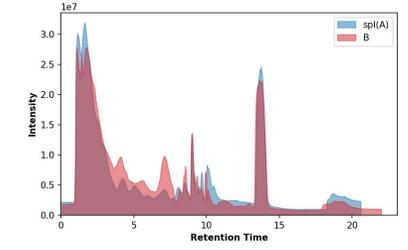
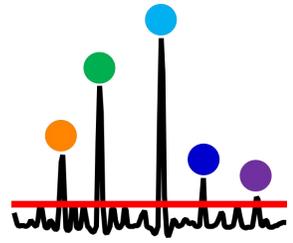


Récupération des données de UNIFI  
et conversion au format Parquet (tabulaire, compressé, rapide)

	scanid	retention_time	intensity	drift_time	mz
0	1	0.007410	0.0	0.284	556.259277
1	1	0.007410	4.0	0.284	556.262268
2	1	0.007410	0.0	0.284	556.265259
3	1	0.007410	0.0	0.426	556.250244
4	1	0.007410	2.0	0.426	556.253235



Détection des pics  
Compatible IMS



Alignement des échantillons

Annotation avec base de données de CCS  
expérimentales (11K)



MS/MS confirmation  
(~5500 spectres MS2)



# Développement de méthodes informatiques



PrimaryId	Item
81_3.79	82
3.34	815
640.20727_0.942	540
2.57	529
19_3.66	799
.5	262
.2	327
.2	343
5.85_99_3.04_773	
0_3.421_4.49_309	
0.16694_3.78_338	
4.121_8.77_413	
35.14849_4.4_297	
.27	252
_5.006_4.11_453	
294_6.16_473	
6_5.558_5.89_443	

Raw Plot

Plot type: 3D

Marker intensity threshold: 822,917.47

Sizes of markers: 100

Select sample(s)

- Blanc EUP 2 POS\_replicate\_1
- SIAAP 0gO3 POS\_replicate\_1
- SIAAP 0.2gO3 POS\_replicate\_1
- SIAAP 0.4gO3 POS\_replicate\_1
- SIAAP 0.6gO3 POS\_replicate\_1
- SIAAP 1.2gO3 POS\_replicate\_1
- SIAAP POOL POS\_replicate\_1
- SIAAP SINGER 0gO3 POS\_replicate\_1
- SIAAP SINGER 0.2gO3 POS\_replicate\_1
- SIAAP SINGER 0.4gO3 POS\_replicate\_1

Drop Time (µs)

RT (min)

m/z

- Visualisation des empreintes
- Statistiques multivariées (PCA...)

# Quelles méthodes d'extraction pour le non-ciblé ?

Echantillons liquides : extraction SPE multiphases

(Kern et al., 2009; Singer et al., 2016)



Eaux usées,  
urine...: 1 L



Filtration  
(GF/D et  
GF/F  
0,7 µm)



Solid-phase extraction (SPE)  
(HLB, ENV+, X-AW, X-CW)

Etalons internes et  
50 µL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>



Analyse par  
UPLC-ESI-IMS-QToF  
(BEH C18)

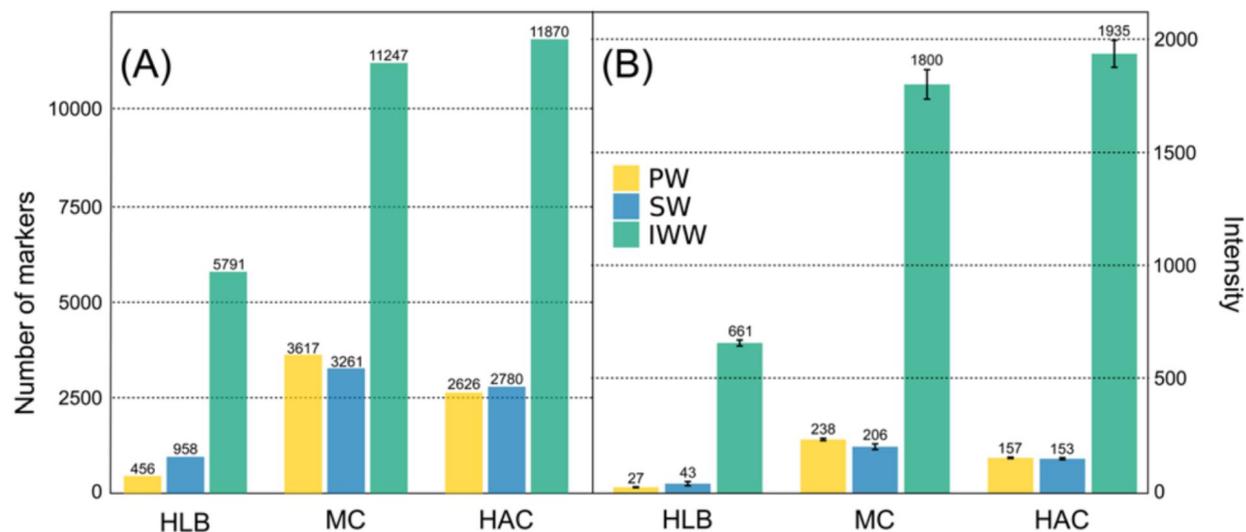
(injections x2)

Evaporation (à sec),  
vol. final 1 mL H<sub>2</sub>O:AcCN 80:20  
(solubilisation sous ultrasons + filtration 0,2 µm)

Waters™

Comparaison de différents protocoles pour analyses ciblées et non-ciblées à partir du même extrait

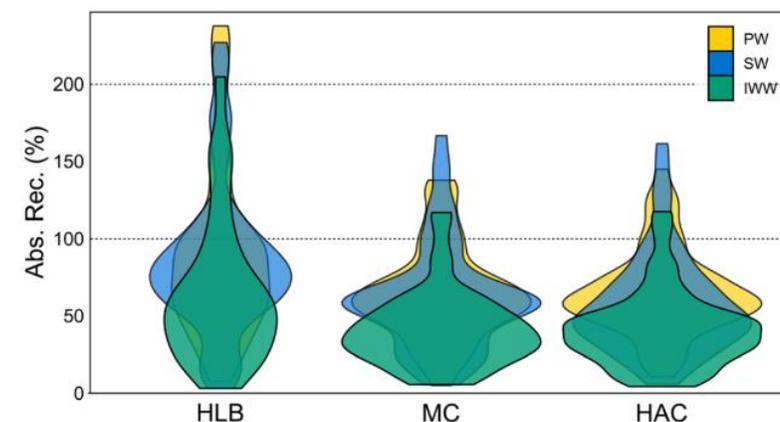
- HLB seule
- MC : HLB + X-AW + X-CW + ENV+
- HAC : HLC + X-AW + X-CW



Nombre et intensité des marqueurs HRMS détectés

Target and non-target screening of biomarkers in wastewater: towards a unique analytical methodology for sample preparation†

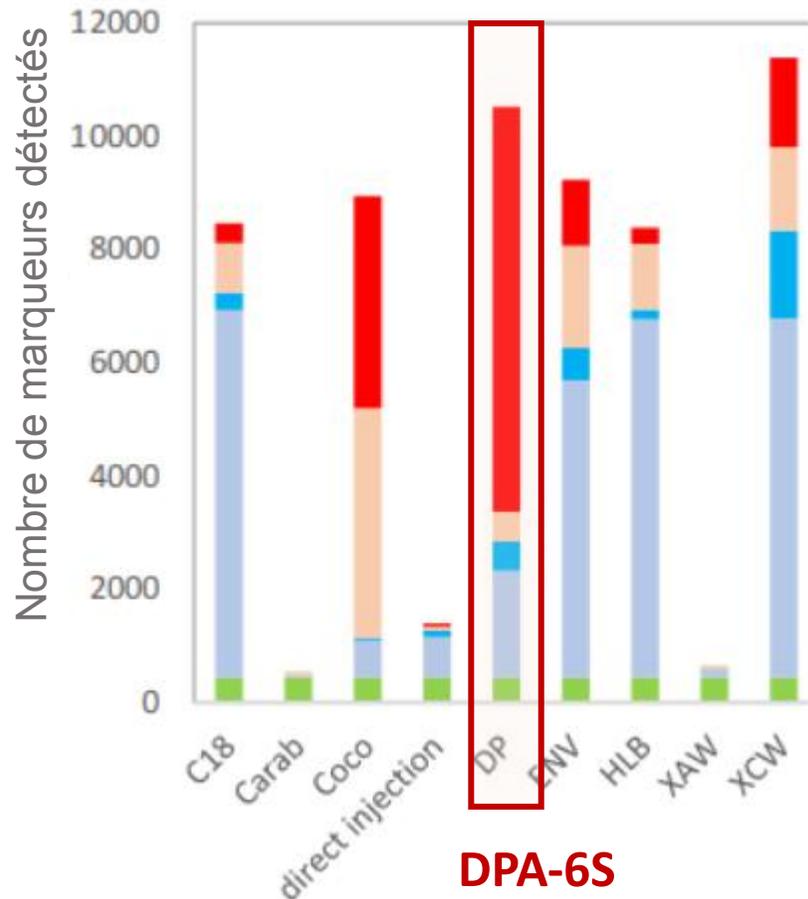
Gauthier Bernier-Turpin,<sup>a</sup> Thomas Thiebault,<sup>b</sup> Fabrice Alliot,<sup>b</sup> Emmanuelle Mebold,<sup>c</sup> Sabrina Guérin-Rechdaoui,<sup>d</sup> Marcos Oliveira,<sup>d</sup> Julien Le Roux,<sup>a</sup> and Régis Moilleron,<sup>a</sup>



Rendements d'extraction des composés ciblés (UPLC-MS/MS)

# Extraction SPE : des phases adaptées aux produits d'oxydation

**Ozonation** d'effluents traités de STEP :  
abattement des **micropolluants**, mais formation potentielle de **produits d'oxydation**



**Composés spécifiques de l'ozone**

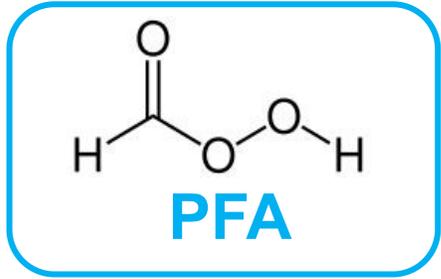
**ENV+ pourrait être remplacée par DPA-6S**

**dans le protocole multi-phases  
(HLB + X-CW + X-AW + DPA-6S)**

**pour récupérer plus de produits de dégradation  
formés par ozonation**

**Phase adaptée aux composés plus polaires**

# L'acide performique : un désinfectant émergent

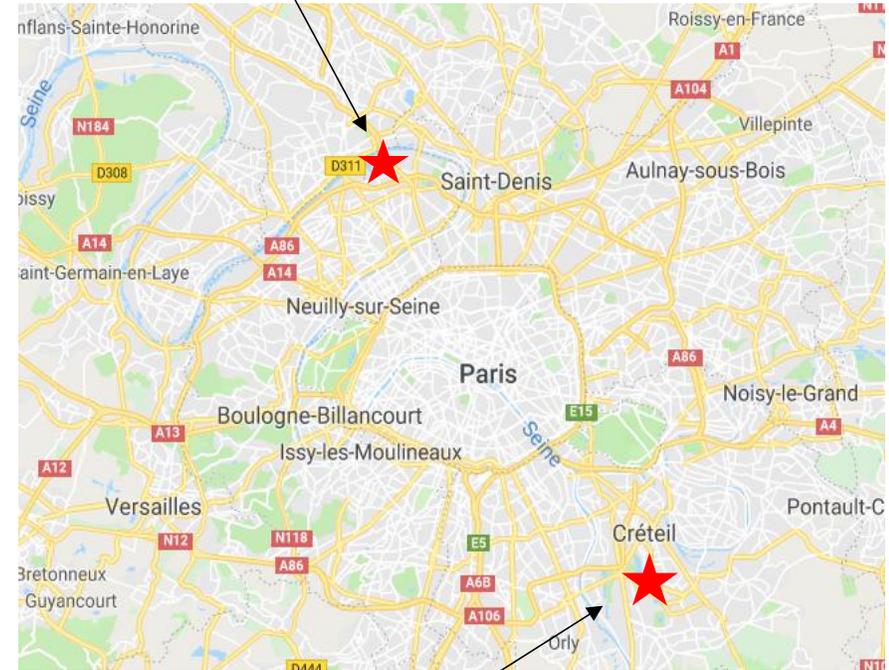


**SIAAP**  
Service public de l'assainissement francilien

## Baignabilité de la Seine



## STEP Seine Centre (Colombes) : Essais labos



## STEP Seine Amont (Valenton) : Essais échelle industrielle

# Analyses HRMS sur échantillons d'eaux traitées au PFA



STEU, Seine Amont  
2 618 000 E.H

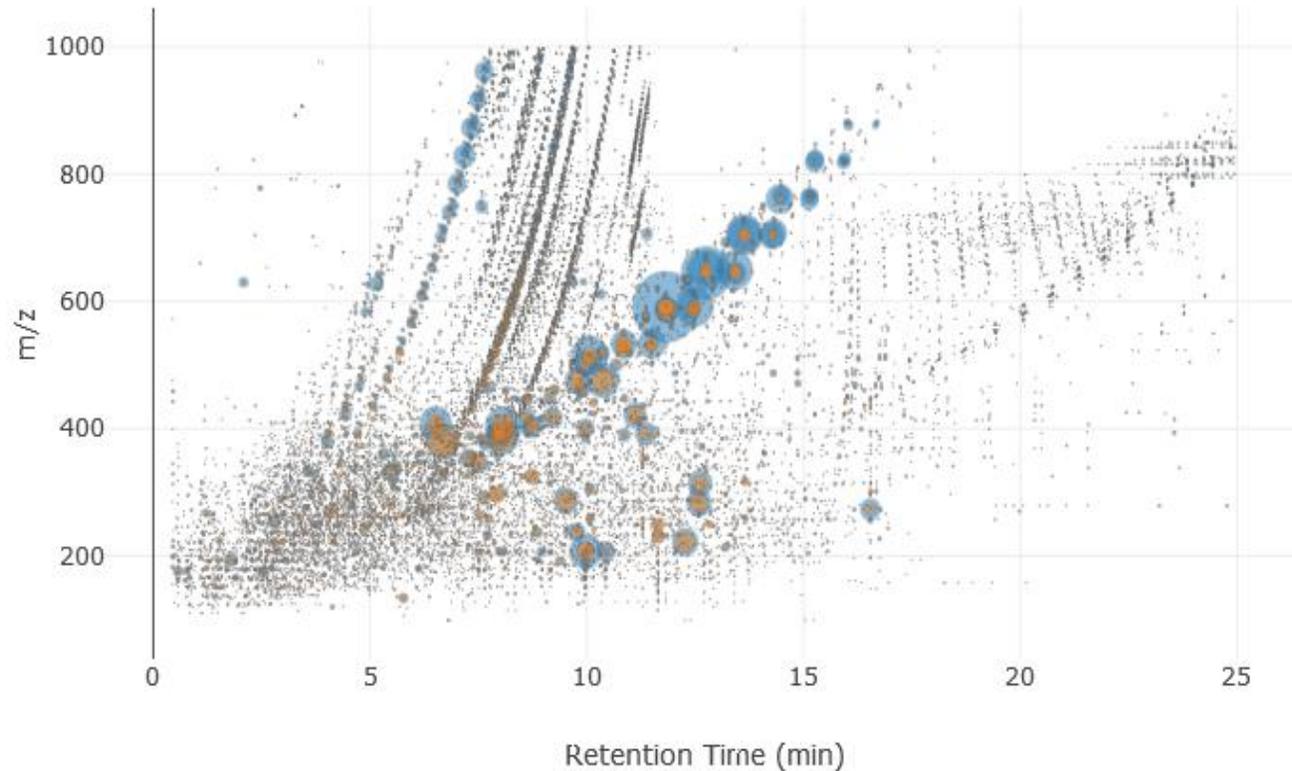
SIAAP

Service public de l'assainissement francilien

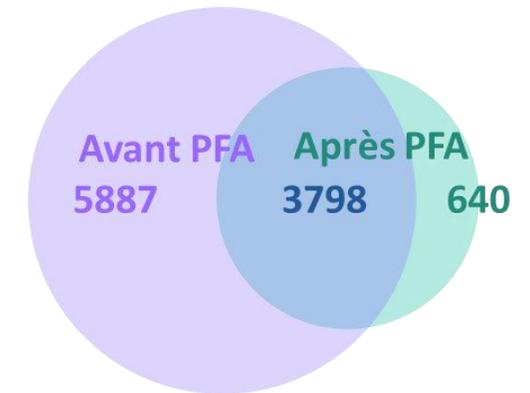
Effectiveness  
of Disinfecting  
Wastewater Treatment  
Plant Discharges

Case of chemical disinfection using performic acid

Edited by Vincent Rocher and Sam Azimi



- V0.1-S\_replicate\_3
- V0.1-d-S\_replicate\_3

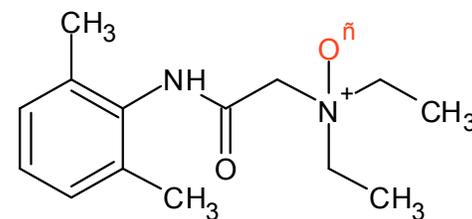


Nombre de marqueurs  
détectés

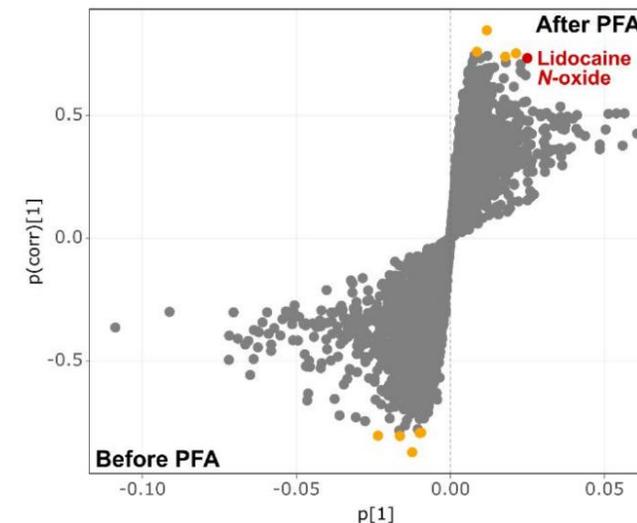
Ouvrage IWA – désinfection des  
eaux usées (SIAAP) – chapitre 4

# Identification de produits de dégradation

Disinfected markers	m/z	Retention time (min)	Drift time (ms)	p[1]	p(corr)[1]	Formule brute	iFit (%)
122.09622_1.701 1_3.14	122.09622	1.701	3.137	-0.0067	-0.609733	C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> N C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> FNO	60.22 39.78
251.17533_5.811 1_4.87	251.17533	5.811	4.867	-0.0282	-0.643974	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	87.46
324.04560_7.868 8_5.13	324.04560	7.868	5.127	-0.0289	-0.630778	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> ClF <sub>2</sub> NS 2	59.34
324.04562_7.992 2_5.14	324.04562	7.992	5.144	-0.0255	-0.623155	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> ClNO <sub>3</sub> S	93.56
411.25772_8.274 4_6.48	411.25772	8.274	6.477	-0.0139	-0.609606	C <sub>12</sub> H <sub>35</sub> FN <sub>4</sub> OS C <sub>22</sub> H <sub>39</sub> N <sub>2</sub> OPS	47.67 42.42
402.20091_9.557 7_6.37	402.20091	9.557	6.373	-0.0081	-0.63989	?	?



Lidocaïne N-oxyde

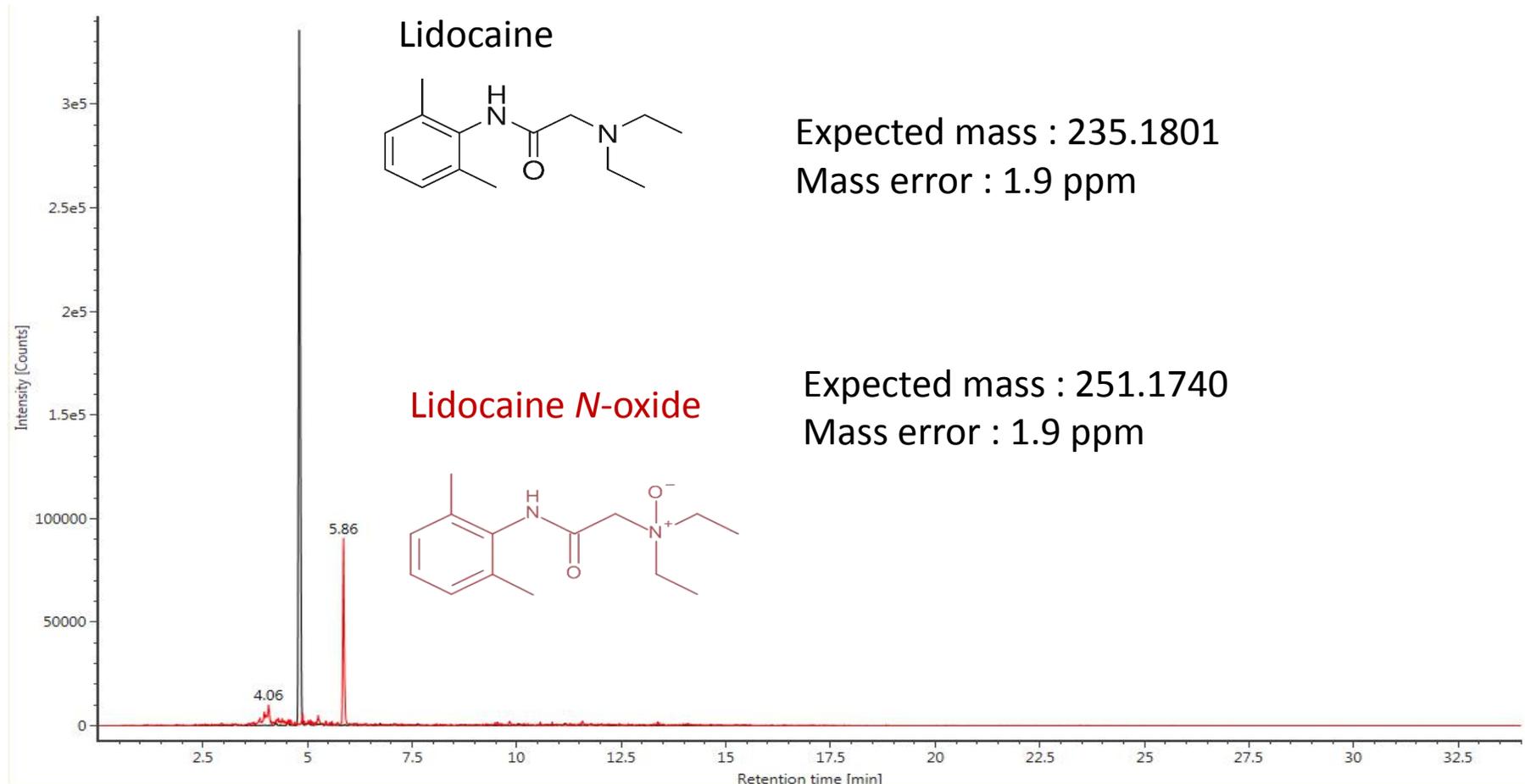


Lidocaïne : anesthésique local

N-oxyde : **produit d'oxydation** spécifique des échantillons désinfectés, identifié par analyse statistique discriminante (OPLS-DA)

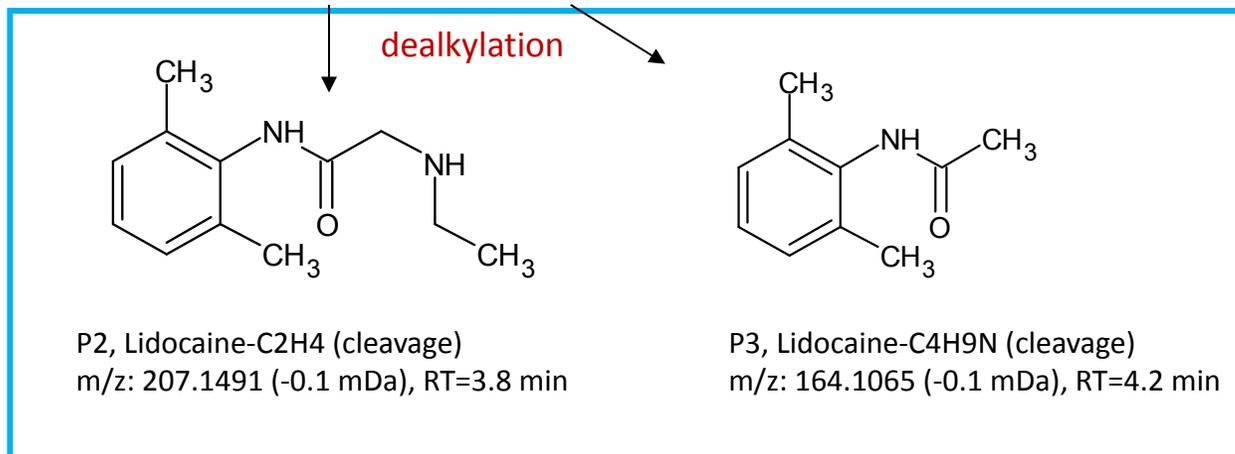
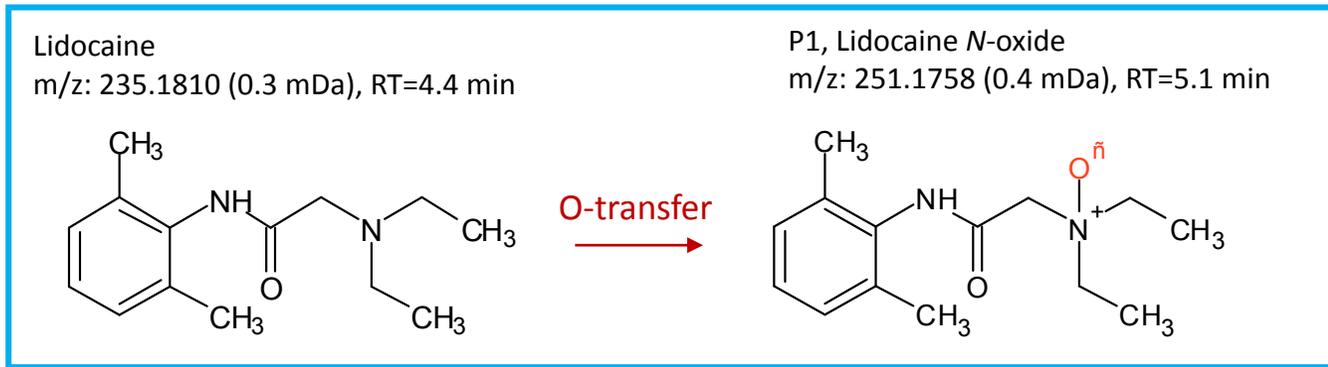
N-oxydes : persistantes dans l'environnement

# Identification et confirmation avec standards analytiques



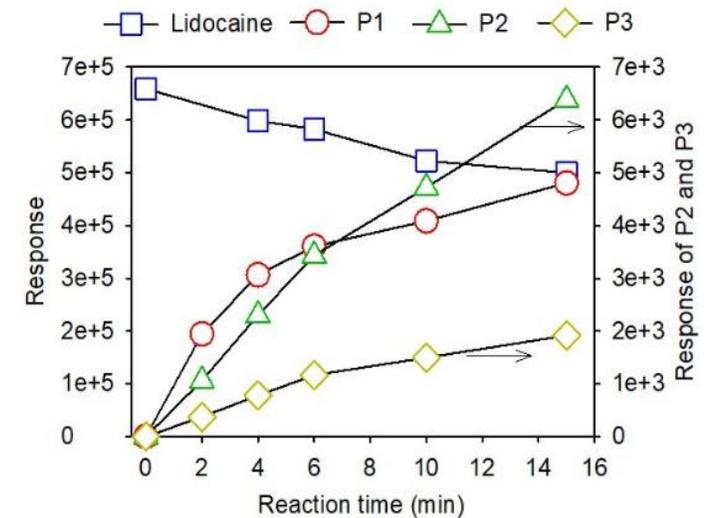
# Mécanismes de dégradation de la lidocaïne avec le PFA

~ 90% of lidocaine



<1% of lidocaine

## Semi-quantification

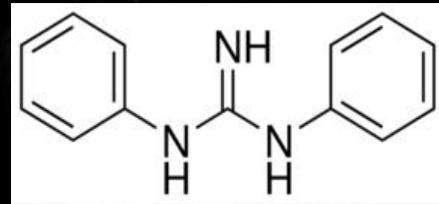


# Autre exemple d'application : eaux de ruissellement sur voirie

projet ROULEPUR



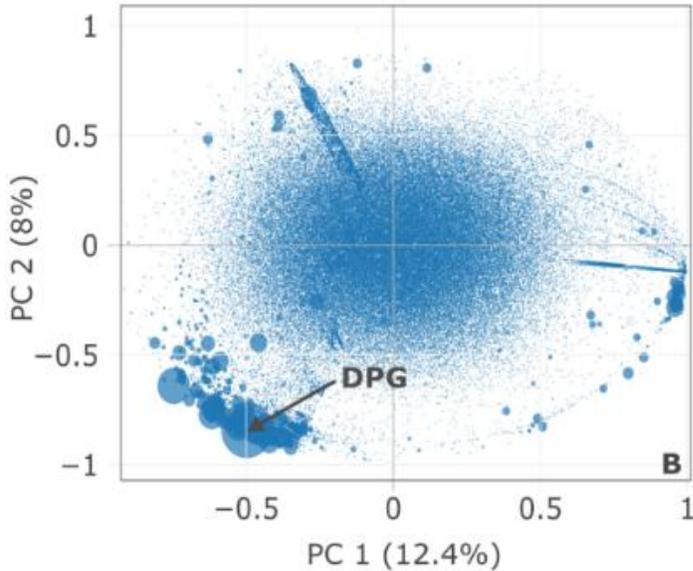
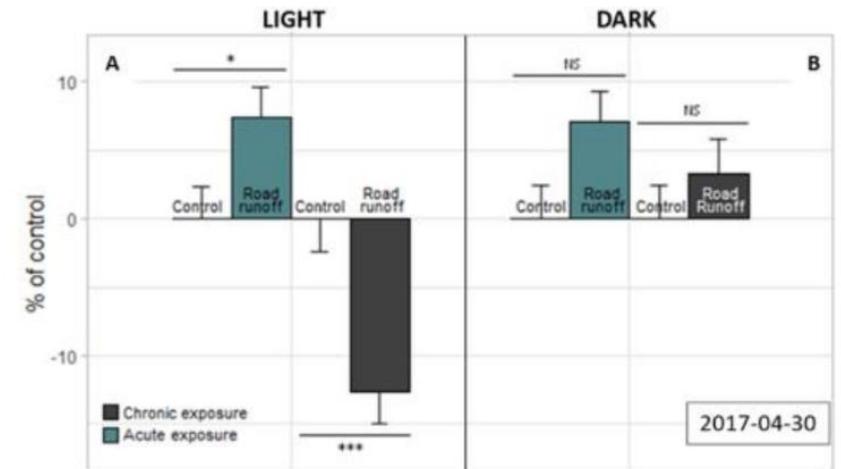
Lutte contre les micropolluants des eaux urbaines



Accélérateur de vulcanisation du caoutchouc  
Intermédiaire de synthèse



Liens avec les effets écotoxicologiques (poissons zèbres)



# Autre exemple d'application : eaux de ruissellement sur voirie

projet ROULEPUR



Identification en mode suspect  
de divers additifs/anti-oxydants issus des pneus sur divers  
sites et ouvrages d'infiltration



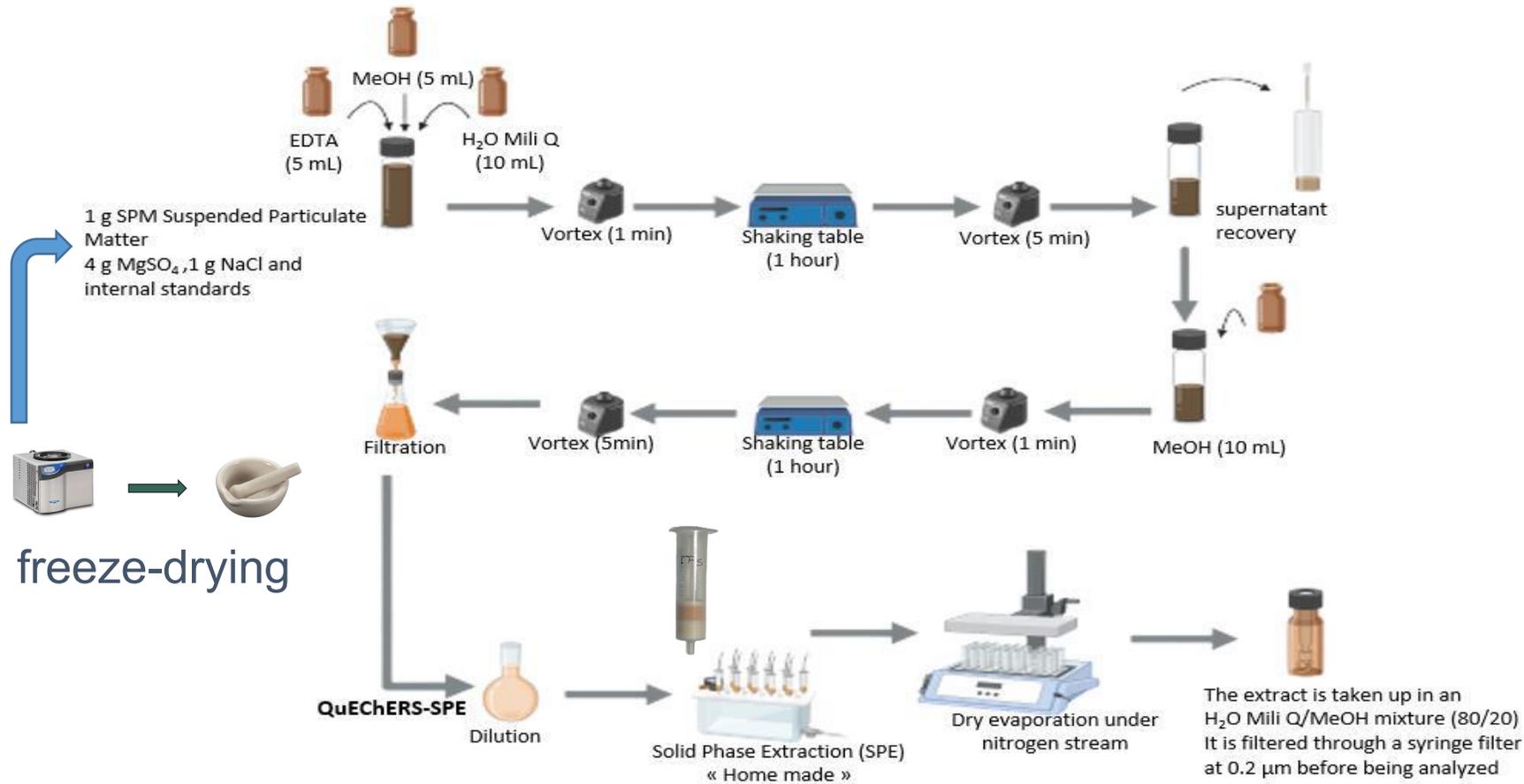
Substance	CAS	Raw Formula	Observed Ion ( <i>m/z</i> )	Mass Error (ppm)	Observed RT (min)	Observed CCS (Å <sup>2</sup> )	Confidence Level *
1,3-Diphenylguanidine	102-06-7	C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub>	212.1177	-2.4	5.02	143.5	1
1,3-Di-o-tolylguanidine	97-39-2	C <sub>15</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub>	240.1487	-3.4	6.43	151.0	2
6PPD-quinone	-	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	299.1744	-3.1	14.71	174.3	2
Benzotriazole	95-14-7	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> N <sub>3</sub>	120.0551	-4.1	4.14	113.0	1
2-Hydroxybenzothiazole	934-34-9	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> NOS	152.0158	-4.1	6.76	118.3	2
Aminobenzothiazole	136-95-8	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> S	151.0320	-3.0	3.33	118.8	2
tert-Butylhydroquinone	1948-33-0	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	167.1061	-3.3	5.52	126.7	3

Note: \* Confidence level was 1 when the substance was confirmed by injection of a reference standard, 2 when at least 3 fragments were present in the high-energy HDMS<sup>E</sup> spectra and 3 when less than 3 fragments were present.

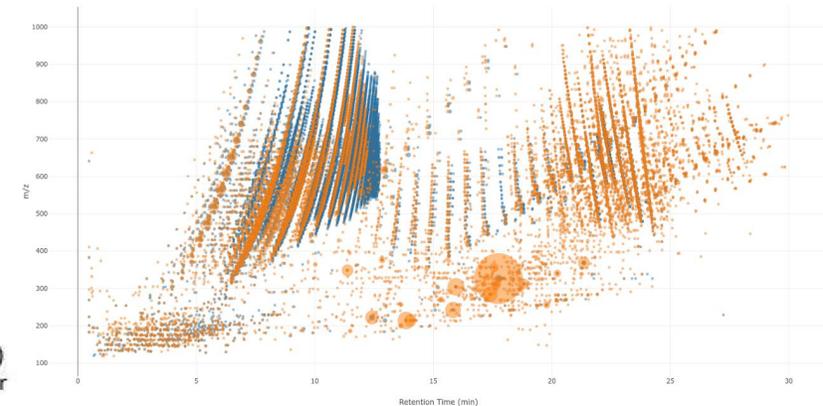


# Vers des matrices plus chargées...

Méthodes d'extraction : QuEChERS + SPE purification



“Cakes” - boues de STEP  
(digestion + deshydratation)  
STEP Seine Aval



Non-ciblé + ciblé  
(pharmaceutiques)

Merci pour votre attention

leesu

laboratoire eau environnement systemes urbains



École des Ponts  
ParisTech

