

# Projet BIOTECH « Biocides, Occurrence, Traitement et Effluents Hospitaliers »

## PHASE 3 : Proposition de solutions pour limiter les rejets de biocides

### Rapport scientifique

**Auteur (organisme)** Marie DEBORDE (IC2MP UMR CNRS 7285),  
Florence PONTLEVOY (Serep), Cyril PRINTEMPS-VACQUIER (Veolia Eau - Centre  
Régional Atlantique), Alexis AUBIGNAC (Veolia Eau - OFIS), Sophie BOURCIER  
(LCM UMR CNRS 9168), Edith NICOL (LCM UMR CNRS 9168), Florence LASEK  
(IC2MP UMR CNRS 7285).

Mai 2019

Document élaboré dans le cadre de l'appel à projets « Innovation et changements de  
pratiques – Lutte contre les micropolluants des eaux urbaines » :



En partenariat avec :

## • AUTEURS

**Marie DEBORDE**, Maître de Conférences (IC2MP UMR CNRS 7285), [marie.deborde@univ-poitiers.fr](mailto:marie.deborde@univ-poitiers.fr)

**Nathalie KARPEL VEL LEITNER**, Directrice de Recherche (IC2MP UMR CNRS 7285), [nathalie.karpel@univ-poitiers.fr](mailto:nathalie.karpel@univ-poitiers.fr)

**Florence LASEK**, Doctorante (IC2MP UMR CNRS 7285), [florence.lasek@univ-poitiers.fr](mailto:florence.lasek@univ-poitiers.fr)

**Sylvie LIU**, Assistant Ingénieur (IC2MP UMR CNRS 7285), [sylvie.liu@univ-poitiers.fr](mailto:sylvie.liu@univ-poitiers.fr)

**Cyril PRINTEMPS-VACQUIER**, Responsable bureau d'études techniques (Veolia Eau - Centre Régional Atlantique), [cyril.printemps-vacquier@veolia.com](mailto:cyril.printemps-vacquier@veolia.com)

**Alexis AUBIGNAC**, Chef de projets Innovation (Veolia - OFIS), [alexis.aubignac@veolia.com](mailto:alexis.aubignac@veolia.com)

**Christelle PAGOTTO**, Ingénieure Qualité Assainissement (Veolia Eau - DTF), [christelle.pagotto@veolia.com](mailto:christelle.pagotto@veolia.com)

**Philippe PLAIRE**, Responsable développement Poitou-Charentes (Veolia Eau – Centre Régional Atlantique), [philippe.plaire@veolia.com](mailto:philippe.plaire@veolia.com)

**Hervé REISSER**, Ingénieur Qualité de l'eau et des Milieux Aquatiques (Veolia - DTP), [herve.reisser@veolia.com](mailto:herve.reisser@veolia.com)

**Thierry TROTOUIN**, Responsable Marchés industriels (Veolia Eau – Centre Régional Toulouse Pyrénées), [thierry.trotouin@veolia.com](mailto:thierry.trotouin@veolia.com)

**Sophie CORMERY**, Responsable de l'équipe Qualité des Rejets (Grand Poitiers), [sophie.cormery@grandpoitiers.fr](mailto:sophie.cormery@grandpoitiers.fr)

**Nathalie DELLA-VALLE**, Responsable du centre d'activité Traitement des Eaux Usées Qualité des Rejets (Grand Poitiers), [nathalie.della-valle@grandpoitiers.fr](mailto:nathalie.della-valle@grandpoitiers.fr)

**Sarah THEVENOT**, Maître de Conférences et Practicien Hospitalier (CHU Poitiers), [s.thevenot@chu-poitiers.fr](mailto:s.thevenot@chu-poitiers.fr)

**Ludovic BLANCHIER**, Coordonnateur Environnement (CHU Poitiers), [ludovic.blanchier@chu-poitiers.fr](mailto:ludovic.blanchier@chu-poitiers.fr)

**Olivier CASTEL**, Maître de Conférences et Practicien Hospitalier (CHU Poitiers), [olivier.castel@chu-poitiers.fr](mailto:olivier.castel@chu-poitiers.fr)

**Stéphane BOUCHONNET**, Ingénieur de Recherche (LCM), [stephane.bouchonnet@polytechnique.edu](mailto:stephane.bouchonnet@polytechnique.edu)

**Sophie BOURCIER**, Ingénieure de Recherche (LCM), [sophie.bourcier@polytechnique.edu](mailto:sophie.bourcier@polytechnique.edu)

**Edith NICOL**, Ingénieure d'Etude (LCM), [edith.nicol@polytechnique.edu](mailto:edith.nicol@polytechnique.edu)

**Christophe GENTY**, Ingénieur d'Etude (LCM), [christophe.genty@polytechnique.edu](mailto:christophe.genty@polytechnique.edu)

**Florence PONTLEVOY**, Directrice de Technavox filiale SEREP (SEREP), [florence.pontlevoy@serep.fr](mailto:florence.pontlevoy@serep.fr)

**Olivier ROSSELET**, Chargé d'affaires (SEREP), [olivier.rosselet@serep.fr](mailto:olivier.rosselet@serep.fr)

**Gaëtan RAUWEL**, Directeur Recherche et Développement (Laboratoires ANIOS), [G.Rauwel@anios.com](mailto:G.Rauwel@anios.com)

## • CORRESPONDANTS

**AFB : Olivier PERCEVAL**, Chargé de missions écotoxicologie (AFB), [olivier.perceval@afbiodiversite.fr](mailto:olivier.perceval@afbiodiversite.fr)

**Agence de L'Eau Loire Bretagne : Magali BARNIER**, Service collectivités et Industrie (Agence de l'Eau Loire Bretagne), [Magali.BARNIER@eau-loire-bretagne.fr](mailto:Magali.BARNIER@eau-loire-bretagne.fr)

**Hakim TALEB**, Chargé d'interventions Spécialisé Industries (Agence de l'Eau Loire Bretagne), [Hakim.TALEB@eau-loire-bretagne.fr](mailto:Hakim.TALEB@eau-loire-bretagne.fr)

**Droits d'usage** : accès libre  
**Niveau géographique** : national  
**Couverture géographique** : Agglomération de Poitiers  
**Niveau de lecture** : professionnels et experts



- **RESUME**

L'objectif de la phase 3 du projet BIOTECH, qui s'est déroulée de décembre 2016 à décembre 2018, a été de proposer des solutions pour limiter les rejets de biocides dans le réseau d'assainissement et les milieux.

Pour cela, la proposition d'un traitement innovant par ozonation catalytique a été étudiée pour réduire à la source ces composés dans les rejets au niveau des établissements émetteurs. Après optimisation des paramètres d'oxydation, une étude pilote du traitement des effluents de 2 établissements émetteurs (i.e. le CHU de Poitiers et sa blanchisserie) a été menée. Lors de ce travail, outre le suivi des paramètres globaux, l'abattement des 3 biocides les plus spécifiques des activités de soins a été évalué. De même, les produits de dégradation des biocides susceptibles d'être générés lors du traitement ont été identifiés et le suivi de l'écotoxicité a été réalisé. Enfin, à partir des résultats obtenus, pour chacun de ces effluents, le dimensionnement d'une unité de traitement adaptée à l'élimination des biocides a été proposé et une évaluation des coûts a été effectuée. Dans cette partie, à titre de comparaison, l'ensemble des résultats a été confronté à ceux obtenus lors du traitement des effluents par ozonation seule.

Parallèlement, un bilan des solutions alternatives éventuelles à l'usage des biocides et des bonnes pratiques pouvant être mises en œuvre au sein des établissements de santé pour réduire les rejets dans les eaux résiduaires a été établi. Dans cette partie, le choix de la méthode devant s'appuyer sur le niveau de risque pour garantir la sécurité des patients et du personnel au sein des établissements de soins, le champ d'application de chaque solution proposée a été discuté. De même, les avantages et inconvénients ont été avancés. Enfin, un retour d'expérience sur les actions engagées en la matière par le CHU de Poitiers durant ces dernières années a été réalisé.

- **MOTS CLES (THEMATIQUE ET GEOGRAPHIQUE) : BIOCIDES, TRAITEMENT, OZONATION CATALYTIQUE, SOLUTIONS ALTERNATIVES, BONNES PRATIQUES**



- **PROPOSAL OF SOLUTIONS TO LIMIT THE RELEASES OF BIOCIDES**
- **ABSTRACT**

The objective of phase 3 of the BIOTECH project, which ran from December 2016 to December 2018, was to propose solutions to limit the release of biocides into the sewerage network and the environment.

To attempt this goal, the proposal for an innovative treatment by catalytic ozonation has been studied to reduce these compounds in the discharges at the emitting establishments. After optimization of the oxidation parameters, a pilot scale treatment of effluents from 2 emitting establishments (i.e. CHU Poitiers and its laundry) was conducted. In addition to monitoring the global parameters, the reduction of the 3 most specific biocides of the health care activities was evaluated. Similarly, degradation products of biocides likely to be generated during treatment have been identified and ecotoxicity has been monitored. Finally, for each of these effluents, the treatment unit adapted to the elimination of biocides was proposed and a cost evaluation was carried out according to the results obtained. In this part, all the results were compared to those obtained during the treatment of the effluents by ozonation alone.

In parallel, a review of possible alternative solutions to the use of biocides and good practices that can be implemented in health facilities to reduce discharges into wastewater has been conducted. In this part, the scope of each proposed solution was discussed since the choice of the method is based on the level of risk to ensure the safety of patients and staff in health care facilities. Similarly, the advantages and disadvantages have been presented. Finally, a feedback on the actions initiated in this area by the University Hospital of Poitiers in recent years has been established.

- **KEY WORDS (THEMATIC AND GEOGRAPHICAL AREA) : BIOCIDES, TREATMENT, CATALYTIC OZONATION, ALTERNATIVES, PRACTICES**



- **SYNTHESE POUR L'ACTION OPERATIONNELLE**

Le projet BIOTECH, financé par l'AFB et l'Agence de l'Eau Loire Bretagne, a été retenu dans le cadre de l'appel à projets intitulé « Innovation et changements de pratiques – Lutte contre les micropolluants des eaux urbaines ». Dans le cadre de ce projet de recherche, 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 (Veolia 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, mais également pour proposer des solutions, allant de la prévention à la source au traitement, pour limiter ces rejets.

Dans le cadre de ce travail, 8 substances biocides (i.e. deux ammoniums quaternaires, une amine, un biguanide, deux isothiazolinones, un parabène et un alcool), choisies parmi les plus fréquemment utilisées par les établissements de santé en France ont été étudiées (Tableau A).

Tableau A Liste des molécules retenues dans le cadre du projet BIOTECH

Famille	Nom de la substance active	Indications	Consommations en France /an
Ammonium quaternaire	DIDAC : Chlorure de didecylidiméthylammonium	Détergent désinfectant de l'instrumentation Détergent-désinfectant de surface	1000 tonnes
Ammonium quaternaire	ABDAC : Chlorure de Benzalkonium	Antiseptique et désinfectant pour la peau Détergent-désinfectant de surface	700 tonnes
Amine	Bis (aminopropyl) laurylamine	Détergent-désinfectant de surface	400 tonnes
Biguanide	Digluconate de Chlorhexidine	Antiseptique et désinfectant pour la peau Détergent-désinfectant de l'instrumentation	150 tonnes
Isotiazolinone	MIT et CMIT : Méthylisothiazolone et Chlorométhylisothiazolone	Conservateur	< 20 tonnes chacun 30 à 50 tonnes (en mélange)
Parabène	Méthylparabène	Conservateur	30 tonnes
Alcool	Alcool benzylique	Conservateur	100 tonnes

Source des données pour les consommations : Laboratoires Anios

Lors des 2 premières phases du projet, 5 de ces 8 substances ont été observées dans le réseau d'assainissement de l'Agglomération de Poitiers (Figure A). Les ammoniums quaternaires (avec des concentrations de l'ordre de quelques dizaines de mg/L) et l'alcool benzylique (avec des concentrations moindres, de l'ordre de quelques dizaines de µg/L) ont été retrouvés en majorité au niveau du réseau d'assainissement jusqu'en entrée de station d'épuration. Pour ces molécules, le CHU serait le plus gros contributeur en DIDAC et en alcool benzylique. Toutefois, pour l'alcool benzylique, tout comme l'ABDAC, une émission plus diffuse provenant notamment du rejet des particuliers serait également observée. Enfin, bien que retrouvés de façon plus ponctuelle au niveau du réseau, tout comme le DIDAC, le digluconate de chlorhexidine et le bis(aminopropyl)laurylamine proviendraient majoritairement des activités de soins.

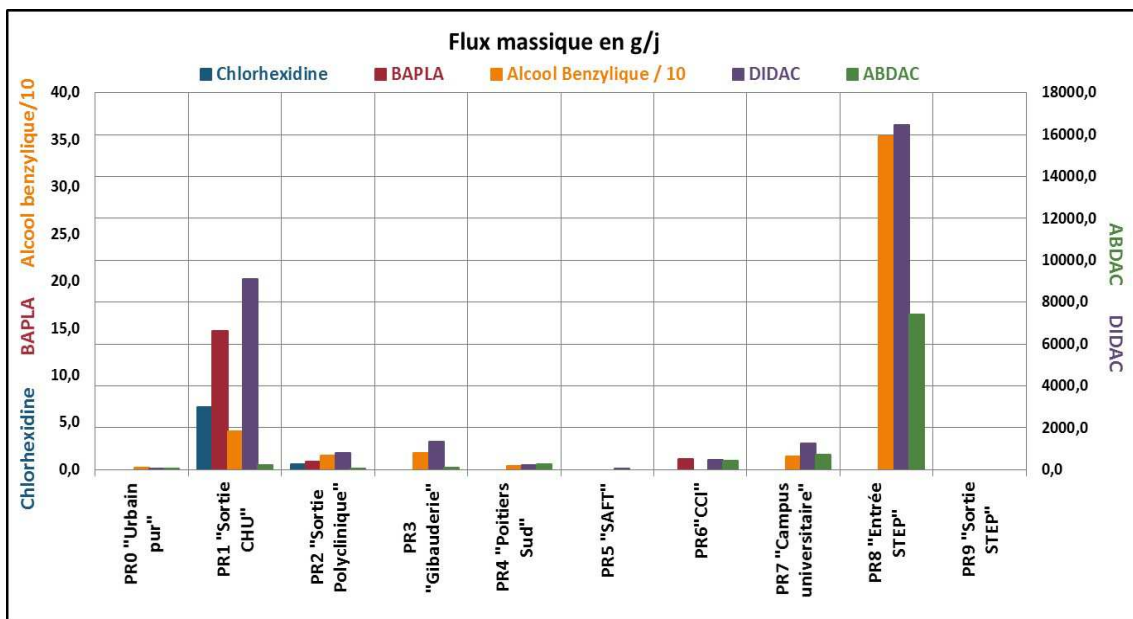


Figure A : Flux massiques obtenus pour les 5 biocides retrouvés dans le réseau dans le cadre du projet BIOTECH au niveau des différents points de prélèvements retenus pour les campagnes réseaux de la phase 1  
 Source des données : Veolia Eau et IC2MP

Au cours de ces premières phases, la stabilité et le devenir des biocides dans les eaux résiduaires ont également été étudiés et les éventuels impacts des biocides sur la biomasse des stations d'épuration et les milieux ont été évalués. En termes de stabilité dans les eaux résiduaires, il a été mis en évidence que les biocides pouvaient s'adsorber sur les matières en suspension (avec des pourcentages d'adsorption de 18 à 47% dans le cas du DIDAC, du digluconate de chlorhexidine et du bis(aminopropyl)laurylamine). De même, en présence d'un résiduel de chlore (issu des protocoles de désinfection des locaux au niveau des rejets hospitaliers), certains d'entre eux pourraient se dégrader pour générer des produits de transformation, *a priori* plus actifs vis-à-vis de *Vibrio fischeri*. Enfin, en ce qui concerne les impacts sur la biomasse des stations d'épuration et des milieux, des tests réalisés en mélange et à des concentrations similaires à celles retrouvées dans le réseau ont montré que la biomasse ne serait pas sensible à la présence des biocides. Par contre, pour les concentrations moyennes en biocides constatées dans les réseaux, une toxicité a été observée vis-à-vis de *Daphnia magna* et de *Vibrio fischeri*.

L'objectif de la phase 3 du projet BIOTECH, qui s'est déroulée de décembre 2016 à décembre 2018 a été de proposer des solutions pour limiter les rejets de biocides dans le réseau d'assainissement et les milieux.

Pour cela, la proposition d'un traitement innovant par ozonation catalytique a été étudiée et comparée au traitement par ozonation seule pour réduire à la source ces composés dans les rejets au niveau des établissements émetteurs. Après optimisation des paramètres d'oxydation, une étude pilote du traitement des effluents de 2 établissements émetteurs (i.e. le CHU de Poitiers et sa blanchisserie) a été menée. Puis, pour chacun de ces effluents, le dimensionnement d'une unité de traitement adaptée à l'élimination des biocides a été proposé et une évaluation des coûts a été effectuée.

A partir de ce travail, il a été montré que les biocides les plus représentatifs d'une activité de soins peuvent être dégradés par ozonation ou ozonation catalytique. Parmi ces composés cependant, le DIDAC est le composé le plus réfractaire au traitement. De plus, dans l'effluent de la blanchisserie, une élimination plus lente des biocides a été observée. Dans cette matrice, des conditions de traitement plus drastiques doivent donc être utilisées pour permettre un abattement significatif de ces composés. Lors du traitement des biocides, de nombreux produits de transformation ont été identifiés. Certains de ces sous-produits ont pu être observés lors de l'étude pilote du traitement des 2 effluents. Enfin, en termes d'écotoxicité, peu d'évolution de l'activité vis-à-vis de *V. fischeri* a été notée au cours

du traitement. En revanche, une nette diminution de la toxicité vis-à-vis de *P. sucapitata* et *D. magna Straus* a pu être observée dans les 2 matrices quel que soit le traitement considéré.

Ainsi, l'ozonation et l'ozonation catalytique sont des procédés efficaces pour éliminer les biocides. Cependant, pour des conditions de traitement équivalentes, des abattements généralement supérieurs sont observés en présence du catalyseur. D'un point de vue dimensionnement et coût, pour abattre 95% des biocides, une unité de traitement plus compacte (i.e. une plus petite cuve et une puissance d'ozonneur plus faible) serait nécessaire pour traiter l'effluent du CHU par ozonation catalytique. De plus, un coût au m<sup>3</sup> traité bien inférieur à celui par ozonation seule serait observé pour cet effluent. Dans le cas de l'effluent de la blanchisserie, la part de l'investissement serait plus importante et le coût de traitement au m<sup>3</sup> serait nettement plus élevée quel que soit le traitement considéré.

Parallèlement, un bilan des solutions alternatives éventuelles à l'usage des biocides et des bonnes pratiques pouvant être mises en œuvre au sein des établissements de santé pour réduire les rejets dans les eaux résiduaires a été mené. En effet, si l'usage de certains biocides est indispensable et ne peut être totalement écarté, des techniques utilisant la vapeur ou les microfibrilles sont aujourd'hui reconnues pour certaines applications. De plus, certaines pratiques telles que la méthode par imprégnation des bandeaux de lavage consistant à préparer au plus juste la quantité de produit strictement nécessaire à l'imprégnation des textiles utilisés pour l'entretien des surfaces ou, les méthodes de fiabilisation des dilutions (e.g. utilisation des centrales de dilution, marquage des bacs utilisés pour la désinfection de l'instrumentation,...) pourraient être systématiquement utilisées pour limiter les rejets. Au sein du CHU de Poitiers, la mise en place de ces méthodologies, a clairement été associée à une diminution des consommations en biocides.

Enfin, concernant les changements de pratiques, il est important de noter que le choix de la méthode doit s'appuyer sur le niveau de risque pour garantir la sécurité des patients et du personnel au sein des établissements de soins. Pour réduire les rejets, chaque changement d'habitude nécessite un travail étroit avec le service achat, un accompagnement du personnel (i.e. formation, sensibilisation), une organisation du travail adaptée et un suivi d'indicateurs de performance.

Pour en savoir plus :

Ce travail pluripartenarial a fait l'objet de :

- **6 communications orales**

Printemps-Vacquier C., Nicolas-Herman N., Pagotto C., Plaire P., Reisser H., Trotouin T., Cormery S., Della-Valle N., Ayraud Thévenot S., Blanchier L., Castel O., Deborde M., Karpel Vel Leitner N., Lasek F., Bouchonnet S., Bourcier S., Nicol E., Vujovich S., Rauwel G. Pontlevoy F. (2016) « Identification des principaux émetteurs de biocides dans le système de collecte des eaux usées de la Communauté d'Agglomération du Grand Poitiers et évaluation de la contribution du CHU à ces rejets ». *In Recueil de conférences des journées Informations Eaux, 22<sup>ème</sup> édition, Poitiers, France, 11-13 octobre 2016.*

Printemps-Vacquier C., Nicolas-Herman T., Pagotto C., Plaire P., Reisser H., Trotouin T., Cormery S., Della-Valle N., Ayraud Thevenot S., Blanchier L., Castel O.,\_Rauwel G. ; Lasek F., Karpel Vel Leitner N., Deborde M. (2017) « Identification des principaux émetteurs de biocides à l'échelle d'une agglomération » *12<sup>ème</sup> congrès international du GRUTTEE, Strasbourg, France, 24-26 octobre 2017.*

Lasek F.; Karpel Vel Leitner N., Ayraud-Thevenot S., Blanchier L., Castel O., Rauwel G., Deborde M. (2017) « Rejets de produits biocides issus des activités de santé dans un réseau d'eaux usées : Etude d'un centre hospitalier universitaire » *12<sup>ème</sup> congrès international du GRUTTEE, Strasbourg, France, 24-26 octobre 2017.*

Vujovic S., Bouchonnet S., Nicol E., Bourcier S., Lasek F., Karpel Vel Leitner N., Deborde M. (2017) "Stability of selected biocides in wastewater and structural elucidation of obtained transformation



products" *2nd International Caparica Conference on Pollutant Toxic Ions and Molecules, Caparica, Portugal, 6-9 Novembre 2017*

Pontlevoy F., Lasek F., Karpel Vel Leitner N., Blanchier L., Ayraud-Thevenot S., Castel O., Printemps Vacquier C., Plaire P., Pagotto C., Reisser H., Trotouin T., Rauwel G., Deborde M. (2018) « BIOTECH Project : Hospital effluents treatment by oxidation with ozone and catalytic ozonation processes – elimination of biocides » *In Proceedings of IOA International conference, Advances in Science and Engineering for Industrial Applications of Ozone and Related Oxidants, International ozone Association, Lausanne, Switzerland, September 5-7, 2018.*

Pontlevoy F., Lasek F., Karpel Vel Leitner N., Blanchier L., Ayraud-Thevenot S., Castel O., Rauwel G., Deborde M. (2018) « Campagne d'étude sur site de traitement des biocides dans des effluents du secteur de la santé, par procédé d'Ozonation Catalytique Supporté, OCS® » *In Recueil de conférences des journées Informations Eaux, 23<sup>ème</sup> édition, Poitiers, France, 9-11 octobre 2018.*

- **2 posters**

IC2MP, LCM, Grand Poitiers, Centre Hospitaliers Universitaire de Poitiers, Veolia Eau, Serep-Technavox, Laboratoires Anios. « Projet BIOTECH : Biocides, Occurrence, Traitement et Effluents Hospitaliers » Salon Aquaterritorial sur la gestion de l'eau de la région Grand Est, *Mulhouse, France, 21-22 septembre 2016.*

Lasek F., Deborde M., Karpel Vel Leitner N., Printemps-Vacquier C., Nicolas-Herman T., Pagotto C., Plaire P., Reisser H., Trotouin T., Ayraud-Thevenot S., Blanchier L., Castel O., Cormery S., Della-Valle N., Rauwel G. « Principaux émetteurs de produits biocides à l'échelle d'une agglomération : contribution d'un établissement hospitalier » *Conférence Eau et Santé, Lyon, France, 20 mars 2017.*

- **1 article**

Lasek F., Karpel Vel Leitner N., Rauwel G., Blanchier L., Castel O., Ayraud-Thevenot S., Deborde M. (2018) « Discharge of biocidal products from healthcare activities into a sewage system – a case study at a french university hospital » *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 4938-4951.

**Contacts :**

**IC2MP** : Institut de Chimie des Milieux et Matériaux de Poitiers UMR CNRS 7285 (M. Deborde : [marie.deborde@univ-poitiers.fr](mailto:marie.deborde@univ-poitiers.fr)) (porteur du projet)

**Veolia Eau** (C. Printemps-Vacquier : [cyril.printemps-vacquier@veolia.com](mailto:cyril.printemps-vacquier@veolia.com)) (coordinateur de la phase 1 du projet)

**Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers** (S. Thevenot : [s.thevenot@chu-poitiers.fr](mailto:s.thevenot@chu-poitiers.fr))

**Grand Poitiers** : Communauté d'Agglomération (N. Della-Valle : [nathalie.della-valle@grandpoitiers.fr](mailto:nathalie.della-valle@grandpoitiers.fr))

**Laboratoires ANIOS** : Fabricant de biocides (G. Rauwel : [G.Rauwel@anios.com](mailto:G.Rauwel@anios.com))

**Serep - Technavox** : Traitement industriel des eaux (F. Pontlevoy : [florence.pontlevoy@serep.fr](mailto:florence.pontlevoy@serep.fr))

**LCM** : Laboratoire de Chimie Moléculaire UMR CNRS 9168 (S. Bouchonnet : [stephane.bouchonnet@polytechnique.edu](mailto:stephane.bouchonnet@polytechnique.edu))



• **SOMMAIRE**

<b>1. Rappel du contexte et des objectifs .....</b>	<b>10</b>
<b>2. Proposition de dispositifs de traitement à la source des biocides.....</b>	<b>11</b>
<b>2.1. Etude laboratoire du traitement des biocides.....</b>	<b>12</b>
2.1.1. Protocoles et analyses.....	12
2.1.2. Identification des produits de transformation et suivi de l'écotoxicité.....	14
2.1.3. Etude laboratoire du traitement en matrice complexe.....	25
<b>2.2. Etude du traitement sur site.....</b>	<b>26</b>
2.2.1. Description du pilote, prélèvement des effluents et méthodes d'analyses.....	26
2.2.2. Optimisation des paramètres d'oxydation.....	29
2.2.3. Suivi des biocides, des paramètres globaux, des sous-produits et de l'écotoxicité	31
2.2.3.1. Etude du traitement de l'effluent du CHU.....	32
2.2.3.2. Etude du traitement de l'effluent de la blanchisserie.....	36
2.2.4. Interprétation des résultats par approche de type dite « omique ».....	42
2.2.4.1. Principe et approche employée pour l'interprétation des données.....	42
2.2.4.2. Résultats.....	44
<b>2.3. Bilan et évaluation des coûts.....</b>	<b>50</b>
2.3.1. Dimensionnement pour le traitement des effluents du CHU et de la blanchisserie	50
2.3.2. Evaluation des coûts.....	54
<b>3. Proposition de solutions pour limiter les rejets .....</b>	<b>56</b>
<b>3.1. Techniques alternatives à l'usage des détergents/désinfectants conventionnels .....</b>	<b>56</b>
3.1.1. Principe du bionettoyage .....	56
3.1.2. Action mécanique : textiles microfibres et méthodes mécanisées .....	58
3.1.3. Utilisation de la vapeur.....	60
3.1.4. Autres techniques alternatives en développement.....	61
<b>3.2. Bonnes pratiques et indicateurs.....</b>	<b>62</b>
3.2.1. Intégration des bonnes pratiques lors des achats.....	63
3.2.2. Intégration des bonnes pratiques lors de la réalisation de la fonction de bionettoyage.....	63
3.2.3. Indicateurs de performance .....	65
<b>3.3. Retour d'expérience sur les pratiques du CHU de Poitiers .....</b>	<b>66</b>
3.3.1. Historique des consommations en détergents-désinfectants et évolution des pratiques .....	67
3.3.2. Synthèse sur les solutions alternatives testées par le CHU.....	69
3.3.3. Indicateurs de suivi utilisés par le CHU.....	71
<b>3.4. Axes d'amélioration .....</b>	<b>72</b>
<b>4. Conclusion.....</b>	<b>74</b>
<b>5. Sigles &amp; Abréviations .....</b>	<b>75</b>
<b>6. Bibliographie .....</b>	<b>77</b>
<b>7. Table des illustrations .....</b>	<b>80</b>
<b>8. Annexes .....</b>	<b>84</b>
8.1. Analyse des résultats obtenus par LC-HR-MS/MS pour le bis(aminopropyl)laurylamine et ses sous-produits d'oxydation.....	84
8.2. Analyse des fragmentations obtenues en spectrométrie de masse pour les sous-produits d'oxydation du digluconate de chlorhexidine.....	91
8.3. Analyse des fragmentations obtenues par LC-HR-MS/MS pour les sous-produits d'oxydation du DIDAC.....	96
<b>9. Remerciements .....</b>	<b>106</b>

## PROJET BIOTECH – PHASE 3

### 1. Rappel du contexte et des objectifs

Les biocides, rassemblant des désinfectants et des détergents-désinfectants, sont très largement employés, notamment dans les établissements de santé. Toutefois, en raison des principes actifs qu'ils contiennent, substances susceptibles de détruire les membranes biologiques, ces produits possèdent un fort potentiel écotoxique et sont suspectés d'être à l'origine de la toxicité de certains effluents vis-à-vis des organismes aquatiques. Déversés dans les réseaux collectifs, ces composés pourraient donc impacter le fonctionnement des stations d'épuration (STEP) dont la plupart utilise des traitements biologiques. Par ailleurs, mal éliminés au niveau des STEP, ces composés pourraient induire des déséquilibres dans l'environnement (Takasaki *et al.*, 1994a ; Takasaki *et al.*, 1994b ; Bailey *et al.*, 1999 ; Domka *et al.*, 1999 ; Seifert et Domka, 2005 ; Leung, 2001 ; Tarazako *et al.*, 2002 ; Chapman, 2003 ; Russel, 2003 ; Dynes *et al.*, 2006 ; Martinez-Caballo *et al.*, 2007 ; Boillot, 2008 ; Buffet-Bataillons *et al.*, 2012 ; Jesus *et al.*, 2013 ; Zhang *et al.*, 2015 ; Di Nica *et al.*, 2017 ;).

L'objectif du projet BIOTECH est d'étudier la présence et le devenir de composés biocides dans les réseaux de collecte d'eaux usées urbaines, mais également d'évaluer, à l'échelle d'une agglomération, la contribution d'un établissement de soins (CHU) et de proposer des solutions pour limiter ces rejets. Pour cela, outre les tâches de coordination et de bilan et valorisation, 3 tâches scientifiques, correspondant aux phases 1 à 3 du projet ont été définies.

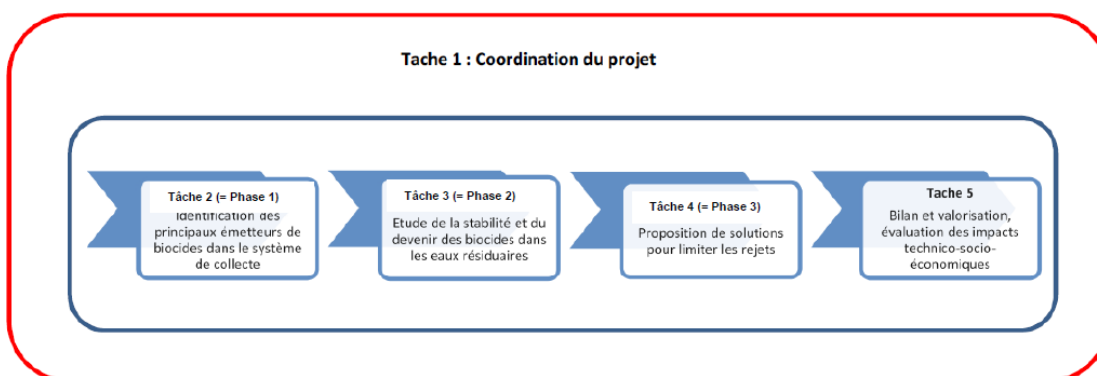


Figure 1 : Différentes tâches du projet BIOTECH

Lors de la phase 1 du projet (réalisée de mars 2015 à juillet 2016), 8 substances biocides (i.e. deux ammoniums quaternaires, une amine, un biguanide, deux isothiazolinones, un parabène et un alcool), choisies parmi les biocides les plus fréquemment utilisées par les établissements de santé en France ont été étudiées. Pour l'ensemble de ces substances, une cartographie des émetteurs potentiels (*via* l'outil ACTIPOL – Veolia Eau) et la réalisation d'enquêtes de terrain ont permis d'établir un premier bilan des sources et de localiser les acteurs stratégiques. A partir de ces résultats, des points de prélèvement sur le réseau ont été choisis et deux campagnes d'analyses ont eu lieu. Ces campagnes ont permis de mettre en évidence les biocides les plus retrouvés dans le réseau, mais également, de confirmer de manière générale les secteurs d'activité émetteurs et, à l'échelle d'une Communauté d'Agglomération comme celle du Grand Poitiers leurs contributions respectives. Enfin, cette approche a permis de mettre en évidence que certains biocides tels que les ammoniums quaternaires et l'alcool benzylique pourraient être rejetés par les particuliers. Pour ces molécules, une première évaluation de la part due aux rejets domestiques a été réalisée. Parallèlement, sur le site du CHU, une étude plus poussée de la présence dans les rejets des trois molécules les plus spécifiques d'une activité de soins a été réalisée. En prenant en considération les débits, pour chacune de ces substances, les flux massiques journaliers ont alors été déterminés et comparés aux quantités journalières consommées au niveau de chaque bâtiment du site. A partir de ces résultats, une discussion sur les pratiques ou les usages responsables de ces rejets a été initiée (Rapport phase 1).

Lors de la phase 2 du projet (réalisée de janvier 2016 à octobre 2018), 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 laboratoire de la stabilité et du devenir des biocides les plus spécifiques des activités de soins par hydrolyse, chloration et adsorption en milieux complexes a été réalisée. Puis 2 campagnes de prélèvements à différents moments de la journée au niveau du site du CHU et de la station d'épuration du Grand Poitiers ont été menées. A partir de ce travail, les fluctuations des quantités de biocides rejetées sur 24 h ont pu être appréciées. De même, une première estimation des quantités adsorbées sur les matières en suspension a été obtenue. Enfin, 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'impact du protocole de chloration utilisé pour la désinfection des locaux (i.e. utilisation de l'eau de javel ou du dichloroisocyanurate de sodium) sur leur formation et l'écotoxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri* ont été évalués. Parallèlement, pour les 5 biocides retrouvés dans le réseau lors des campagnes de la phase 1 du projet, une estimation des quantités journalières maximales susceptibles d'être rejetées dans le milieu par temps sec ou de pluie (via la station d'épuration et les déversoirs d'orage) a été réalisée. De même, quelques analyses terrains en sortie de station d'épuration et au niveau d'un déversoir d'orage ont été menées suite à des prélèvements par capteurs passifs. Enfin, une évaluation de l'impact de ces substances sur la biomasse des stations d'épuration et les milieux a été réalisée (Rapport phase 2).

Dans ce rapport, les résultats de la phase 3 portant sur la proposition de solutions pour limiter les rejets sont présentés. Le planning suivi pour cette phase est décrit dans le tableau ci-dessous :

Tableau 1 : Planning prévisionnel (en orange) et planning suivi (en rouge) pour la phase 3 du projet BIOTECH (de septembre 2016 à décembre 2018)

Résultats	2016				2017												2018											
	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Résultat 1-Proposition d'une optimisation de la gestion des flux au sein des établissements émetteurs (i.e. produits de substitution, isolement des flux les plus toxiques,...)																												
Résultat 2-Proposition de dispositifs de traitement en fonction de la qualité des effluents																												
Résultat 3-Etude laboratoire du traitement des biocides sélectionnés en eau pure et matrices complexes																												
Résultat 4-Etude du traitement sur le terrain (CHU et/ou STEP)																												
Résultat 5-Bilan et Evaluation des coûts																												

## 2. Proposition de dispositifs de traitement à la source des biocides

Dans cette partie, la proposition de dispositifs de traitement, associés à l'ozonation catalytique et adaptés à l'élimination des 3 biocides les plus représentatifs des activités de soins (i.e. digluconate de chlorhexidine, bis(aminopropyl)laurylamine et DIDAC) a été réalisée.

Pour ces composés, à l'issue des résultats de la tâche 2 (phase 1) du projet, le CHU est clairement apparu comme principal émetteur de DIDAC au niveau de l'Agglomération. De plus, il a été montré que le digluconate de chlorhexidine ou le bis(aminopropyl)laurylamine étaient majoritairement retrouvés dans les rejets hospitaliers. Comme initialement prévu lors de l'appel à projets, une étude pilote du traitement des effluents au niveau du site du CHU a donc été réalisée de façon à limiter au mieux (à la source) ce type de rejets dans le réseau.

Pour la seconde étude pilote, une étude du traitement des effluents à la sortie de la nouvelle blanchisserie utilisée pour le traitement du linge du CHU et de Montmorillon a été effectuée. A l'issue de la tâche 2 (Phase 1), un relargage significatif de biocide avait en effet été suspecté à ce niveau suite au nettoyage du linge.

## 2.1. Etude laboratoire du traitement des biocides

Cette étape, réalisée sur les 3 biocides les plus spécifiques des activités de soins (i.e. DIDAC, digluconate de chlorhexidine et bis(aminopropyl)laurylamine), avait pour objectif de maîtriser la dégradation des biocides en ozonation catalytique supportée et en ozonation simple et ainsi d'avoir un abattement progressif pour l'identification des éventuels sous-produits issus de leur dégradation. De même, lors de cette étape, des premiers essais d'oxydation des eaux de sortie du site du CHU et de la blanchisserie ont été menés de façon à mieux appréhender les paramètres dimensionnant de l'unité d'ozonation nécessaires lors de l'étude pilote sur le terrain.

### 2.1.1. Protocoles et analyses

➤ Protocoles d'ozonation et d'ozonation catalytique :

**Pour l'identification des produits de transformation**, toutes les expériences d'ozonation avec catalyseur (OCS) et sans catalyseur ( $O_3$ ) ont été réalisées en réacteurs fermés. Dans ces conditions, pour faciliter la recherche des sous-produits, les expériences ont été menées dans l'eau de distribution prélevée au robinet (matrice de faible charge organique) et la concentration initiale de chaque biocide a été fixée à 5 mg/L.

De façon à éliminer le chlore résiduel contenu dans l'eau du robinet, l'eau prélevée a été filtrée sur filtre en acétate de cellulose de porosité 0,45  $\mu m$  la veille de l'expérience. Lors de l'étude de l'impact de l'ozone, différents volumes de cette matrice ont été introduits dans des réacteurs en verre de 125 mL de manière à obtenir un volume de milieu réactionnel de 100 mL. Les réacteurs, placés sous agitation magnétique, ont ensuite été dopés en biocide (i.e. DIDAC, digluconate de chlorhexidine ou bis(amino)propyl)laurylamine) et différentes doses d'ozone sous forme d'eau ozonée ont été ajoutées (0 à 1,7 mg  $O_3/L$ ). Après consommation totale de l'ozone résiduel, les pourcentages de dégradation en biocides ont été déterminés puis l'identification des sous-produits d'oxydation et le suivi de l'écotoxicité ont été réalisés.

Pour l'étude de l'ozonation catalytique, un catalyseur (disque poreux de 40 mm de diamètre) a été introduit initialement dans les flacons de 125 mL, puis un protocole similaire à celui décrit pour l'ozone a été suivi.

**Lors des essais d'oxydation des eaux de sortie du site du CHU et de la blanchisserie**, des expériences en réacteurs semi-batch ont été menées. Dans ces conditions, les expériences ont été menées sur les concentrations en biocides présentes dans les effluents prélevés (Tableau 11) et les différentes doses d'ozone appliquées ont été obtenues en faisant varier la durée d'ozonation (barbotage d'ozone gaz produit à partir d'oxygène).

La Figure 2 présente le montage utilisé pour ces manipulations. Dans cette figure, 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.

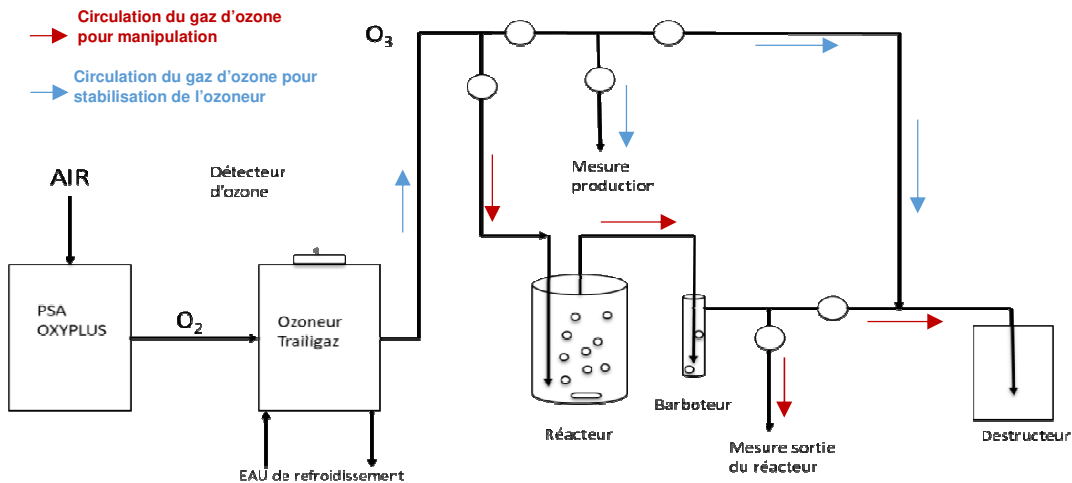


Figure 2 : Montage utilisé pour l'étude de la dégradation des biocides par l'ozone en fonction du temps  
Source des données : SEREP-Technavox

Lors des expériences, le gaz ozoné est dirigé en continu dans un réacteur cylindrique en verre (de 1 L) contenant l'effluent à oxyder. Au cours de ce bullage continu, une partie de l'ozone gaz se dissout dans la solution présente dans le réacteur et réagit 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 et l'ozone est transformé en dioxygène. Lors des expériences, 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 chaque manipulation, les conditions d'ozonation suivantes ont été :

- Débit de gaz ozone : 380 mL/min
- Dose d'ozone gaz introduit dans le réacteur : 1,7 gO<sub>3</sub>/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 gO<sub>3</sub>/L à 3,4 gO<sub>3</sub>/L d'effluent.

Lors de l'étude laboratoire du traitement des biocides, un prétraitement par décantation de la matrice (i.e. sortie CHU ou blanchisserie) a été employé avant l'oxydation. Des prélèvements d'échantillon pour analyses ont été réalisés pour différentes durées d'ozonation au cours de la manipulation. Pour chacun de ces échantillons, l'arrêt de la réaction a été obtenu par barbotage d'azote qui entraîne un stripping de l'ozone dissous.

#### ➤ Méthodes analytiques

Lors de ces manipulations, un suivi des biocides par UHPLC/MS après dilution des échantillons a été effectué selon la méthode développée dans la tâche 2 du projet (paragraphe 5.2.1 rapport Phase 1). De même, un suivi du Carbone Organique Total (COT) a été réalisé sur chaque prélèvement pour évaluer la minéralisation des composés et de la matrice. Enfin, une identification des produits de transformation a été menée et un suivi de l'écotoxicité a été réalisé.

Pour cela, pour l'identification des sous-produits, un module Elute (Bruker Daltonik, Brème, Allemagne) a été utilisé avec une colonne analytique *Phenomenex (Kinetex 2.6 μm Biphenyl 100A°100\*2.1 mm)*. Les paramètres de la méthode utilisée pour les séparations chromatographiques réalisées au LCM sont donnés dans le Tableau 2. Les analyses par spectrométrie de masse ont été réalisées sur un tims-TOF équipé d'une source d'électronébulisation (Bruker Daltonik, Brème, Allemagne). La tension appliquée sur le capillaire était de 3000 V. La température de désolvatation était de 200°C avec un débit d'azote en gaz desséchant de 8 L/min et 4 bar en gaz nébulisant. Le volume injecté était de 10 μL. Pour les

expériences de MS/MS, l'ion précurseur a été sélectionné dans le quadripôle puis fragmenté avec une énergie de collision variable comprise entre 7 et 40 eV. Les intégrations des pics des composés ont été réalisées sur les traces chromatographiques obtenues par LC-HR-MS/MS sur l'ion moléculaire à très faible énergie de collision (7 eV). La pression d'azote dans la cellule de collision était de l'ordre du  $10^{-3}$  mBar. Les compositions élémentaires ont été obtenues avec une tolérance inférieure à 5 ppm via le logiciel DataAnalysis. La calibration a été réalisée en utilisant le mélange ESI Tuning Mix (Agilent, Les Ulis, France) qui permet de réaliser la calibration sur une gamme de masse de m/z 100 à 1000.

Tableau 2 : Gradient chromatographique utilisé en couplage LC-MS

Temps (min)	Débit (mL/min)	A% (H <sub>2</sub> O + acide formique 0.1%)	B% (CH <sub>3</sub> OH + acide formique 0.1%)
0	0.2	80	20
8	0.2	20	80
10	0.2	0	100
12	0.2	80	20
18	0.2	80	20

Source des données : LCM

Lors des analyses, pour chaque échantillon, les solutions ozonées ont été diluées par 10 avec le solvant de la phase mobile.

Pour l'évaluation et le suivi de l'écotoxicité, le test d'inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri* a été employé (NF EN ISO 11348-3). 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.

### 2.1.2. Identification des produits de transformation et suivi de l'écotoxicité

Dans cette partie, 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 3, sont le résultat des doses sélectionnées pour chaque biocide étudié.

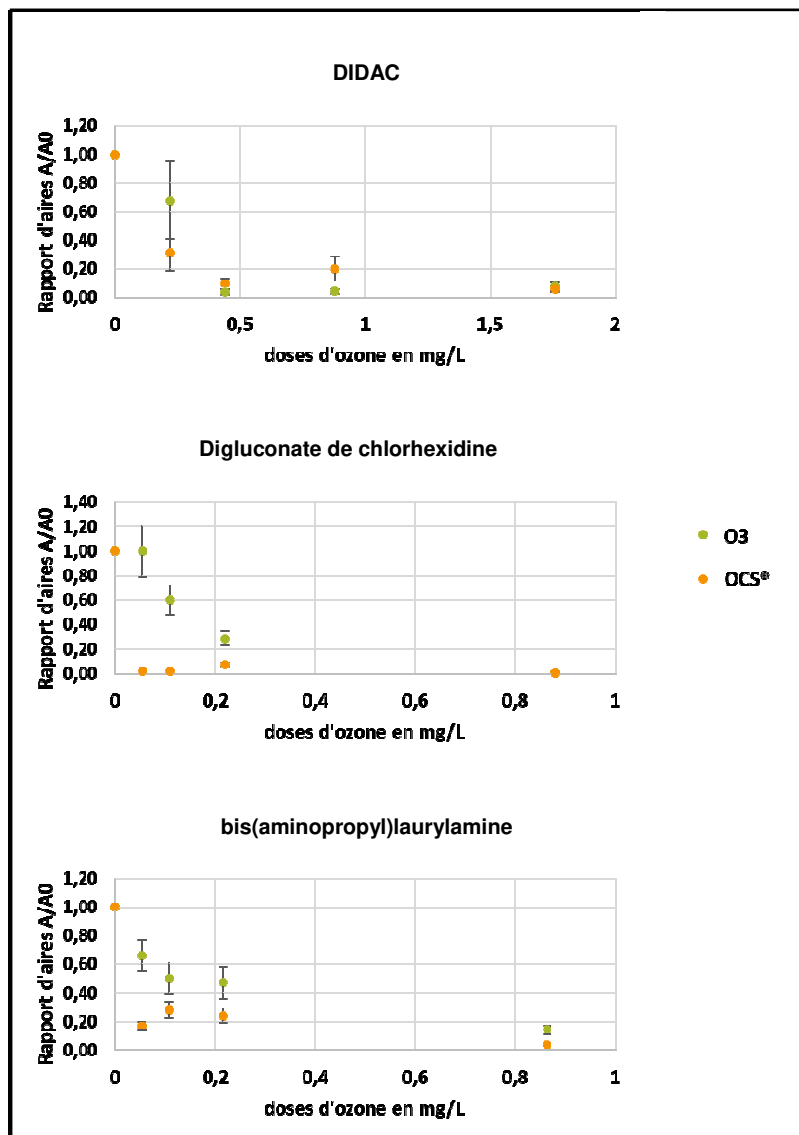


Figure 3 : Résultats du suivi de la dégradation des biocides par ozonation (O3) et ozonation catalytique (OCS®) en réacteur fermé. Matrice eau du robinet; pH ≈ 8 ; biocides séparés ; [DIDAC]<sub>0</sub> = [digluconate de chlorhexidine]<sub>0</sub> = [bis(aminopropyl)laurylamine]<sub>0</sub> = 5 mg/L.  
Source des données : SEREP-Technavox et IC2MP

Ces résultats montrent que le digluconate de chlorhexidine et le bis(aminopropyl)laurylamine se dégradent facilement dans l'eau du robinet par ozonation et ce, plus particulièrement en présence du catalyseur. En effet, pour 0,1 mgO<sub>3</sub>/L introduit (correspondant à 0,02 mgO<sub>3</sub>/mg de biocide initial), 50% d'élimination de ces biocides est obtenue par ozonation seule, alors que 70% de bis(aminopropyl)laurylamine et 100% de digluconate de chlorhexidine sont éliminés pour cette même dose en présence de catalyseur. Dans le cas du DIDAC, de plus fortes doses d'ozone sont nécessaires pour atteindre des abattements similaires. Pour cette molécule en effet, une dose d'ozone de l'ordre de 0,45 mgO<sub>3</sub>/L à 0,9 mgO<sub>3</sub>/L semble nécessaire pour obtenir un taux d'élimination de l'ordre de 90% (soit 0,1 à 0,2 mgO<sub>3</sub>/mg DDAC éliminé). Ce composé semble donc plus réfractaire au traitement.

#### ➤ Identification et suivi des produits de transformation

Pour chacun des échantillons obtenus, l'analyse par LC-HR-MS a permis, à partir de la mesure de masses exactes, d'obtenir des formules brutes pour chacun des sous-produits de réaction des biocides étudiés. Sur la base des fragmentations obtenues par analyse MS/MS et en consultant la réactivité et les mécanismes d'action de l'ozone et des radicaux hydroxyle présentés dans la littérature (Hoigné and Bader, 1983 ; Hoigné *et al.*, 2005 ; Muñoz and von Gunten, 2000 ; von



Gunten, 2003 ; Elmghari-Tabib *et al.*, 1982 ; Bailey, 1982 ; Lee and von Gunten, 2016 ; Simic *et al.*, 1971 ; Legube and Karpel Vel Leitner, 1999 ; Karpel Vel Leitner and Fu, 2005 ; Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2003), les structures les plus probables compatibles avec les sites d'attaque attendus ont alors été proposées.

Les Tableaux 3 à 10 présentent les résultats obtenus par LC-HR-MS pour les biocides (i.e. DIDAC, digluconate de chlorhexidine et bis(aminopropyl)laurylamine) et leurs produits de transformation : rapports m/z et composition élémentaire des ions moléculaires ainsi que les structures proposées pour les produits de transformations. Pour chaque composé, les schémas de fragmentation des ions moléculaires sont détaillés en Annexes 8.1 à 8.3.

**Dans le cas du bis(aminopropyl)laurylamine**, trois sous-produits ont été détectés au cours de l'ozonation et de l'ozonation catalytique (Figure 4). 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.

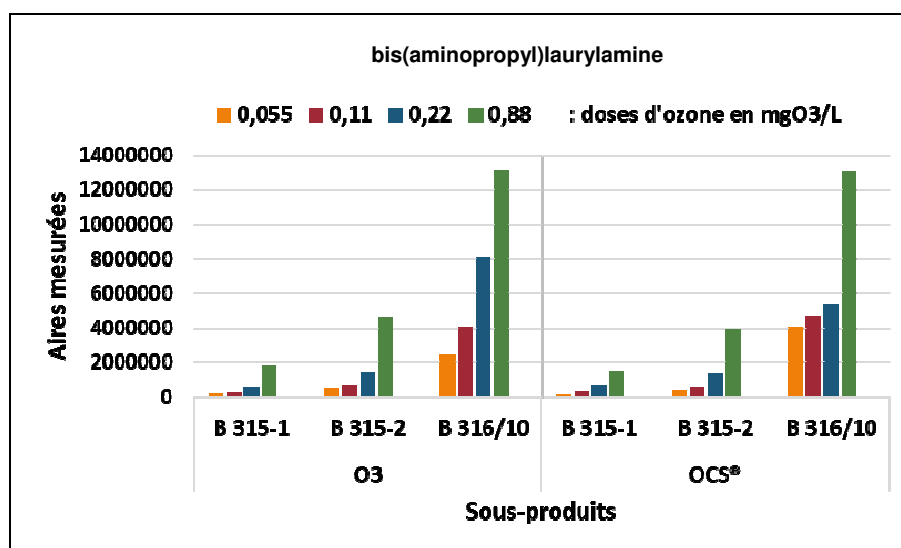
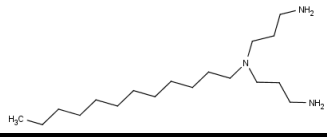
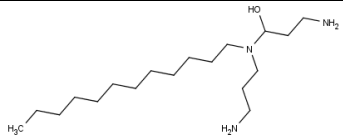
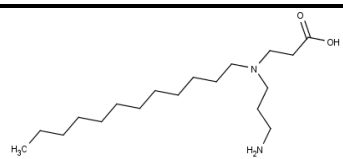



Figure 4: Evolution des sous-produits du bis(aminopropyl)laurylamine détectés dans les échantillons en fonction des doses d'ozone utilisées. Matrice eau du robinet ; réacteurs fermés ; [bis(aminopropyl)laurylamine]<sub>0</sub> = 5 mg/L (l'aire du composé B316, très majoritaire a été divisée par 10 pour visualiser l'ensemble des composés)  
Source des données : LCM

Les résultats présentés dans le Tableau 3 et en Annexe 8.1 ont permis de proposer des structures pour ces 3 composés. Les schémas de fragmentation en spectrométrie de masse des molécules protonées sont détaillés en Annexe 8.1.

Tableau 3 : Temps de rétention, composition élémentaire des ions moléculaires MH<sup>+</sup> obtenus par spectrométrie de masse (ESI<sup>+</sup>) et structures proposées pour les sous-produits d'oxydation du bis(aminopropyl)amine

Composé	Tr (en min)	Ion moléculaire MH <sup>+</sup>				Précision (ppm)	BDE <sup>*</sup>	Structure proposée pour le composé
		Composition élémentaire	m/z expérimental	m/z théorique				
Bis(aminopropyl)laurylamine	6,2	C <sub>18</sub> H <sub>42</sub> N <sub>3</sub>	300,3375	300,3373	-0,5	0		
B 316	6,8	C <sub>18</sub> H <sub>42</sub> N <sub>3</sub> O	316,3326	316,3322	-1	0		
B 315-1	7,7	C <sub>18</sub> H <sub>39</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	315,3003	315,3006	1	1		
B 315-2	8,2	C <sub>18</sub> H <sub>39</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	315,3003	315,3006	1	1		

\*BDE : Double bond Equivalency  
Source des données : LCM et IC2MP

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 bis(aminopropyl)laurylamine (Simic *et al.*, 1971 ; Elmghari-Tabib *et al.*, 1982 ; Hoigné *et al.*, 1985 ; Munoz and von Sonntag, 2000 ; von Gunten ; 2003). 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<sup>°</sup> 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 5).

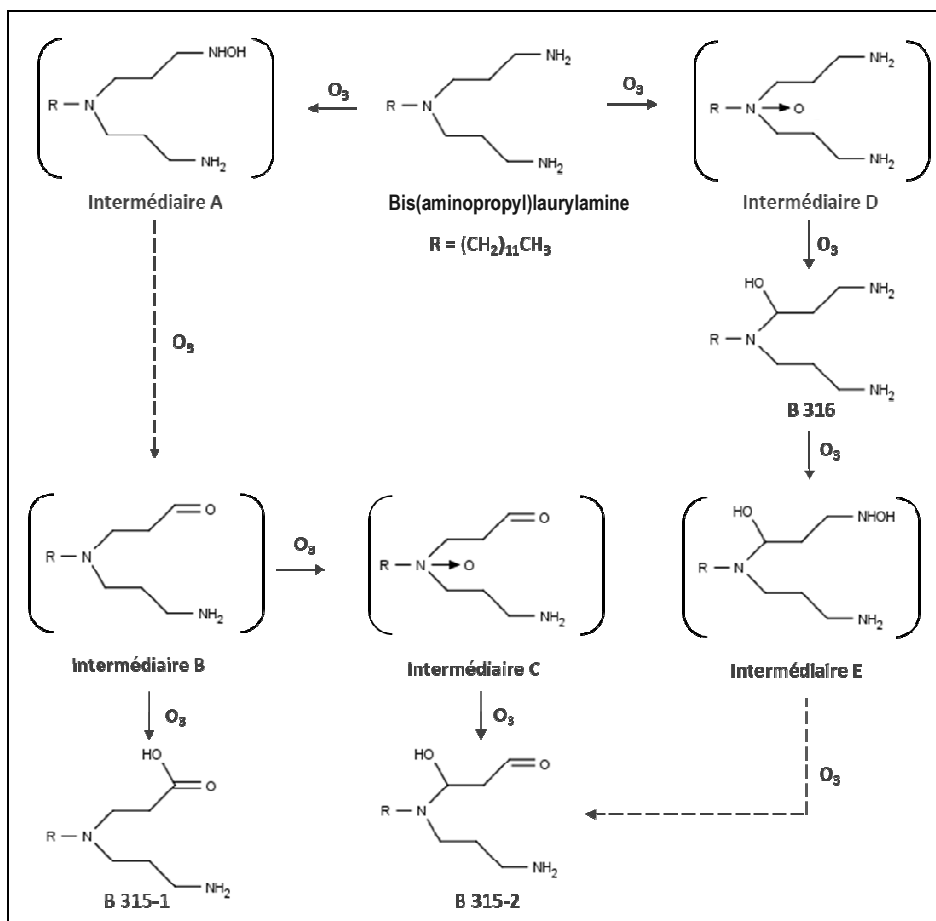


Figure 5 : Chemin réactionnel proposé pour la formation des sous-produits du bis(aminopropyl)laurylamine lors de l'ozonation :  
Source des données : IC2MP et LCM

Dans le cas du digluconate de chlorhexidine, deux sous-produits ont été détectés au cours des manipulations d'ozonation seule et d'ozonation catalytique (Figure 6). Contrairement aux sous-produits du bis(aminopropyl)laurylamine, une différence d'intensité pour 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.

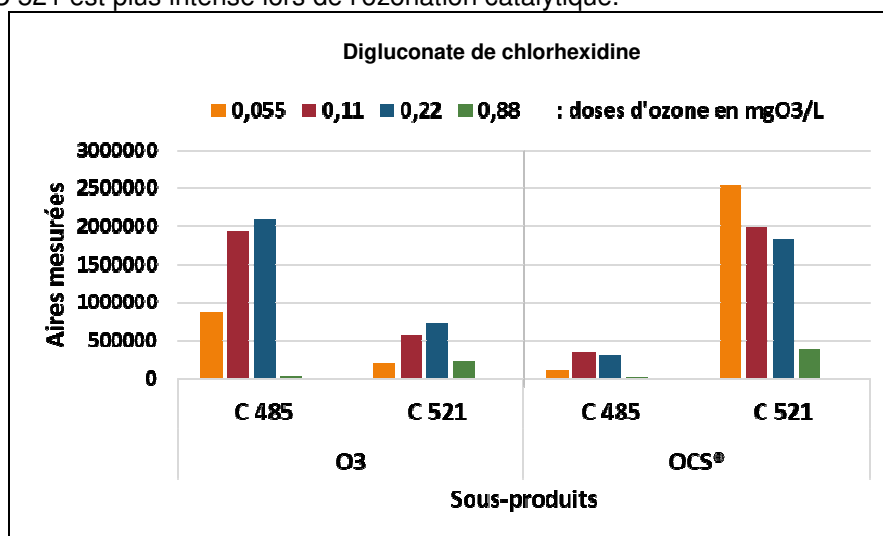
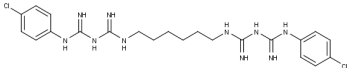
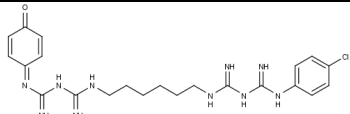
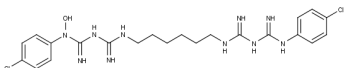


Figure 6 : Evolution des sous-produits du digluconate de chlorhexidine détectés dans les échantillons en fonction des doses d'ozone utilisées. Matrice EDR ; réacteurs batch ; [digluconate de chlorhexidine] = 5 mg/L  
Source des données LCM

Les résultats obtenus par spectrométrie de masse pour ces deux composés ainsi que les structures proposées sont présentés dans le Tableau 4 et en Annexe 8.2. De même, pour chacun de ces composés, l'analyse des spectres de MS/MS permettant de justifier les différentes structures est détaillée en Annexe 8.2.

**Tableau 4 : Temps de rétention, composition élémentaire des ions moléculaires MH<sup>+</sup> obtenus par spectrométrie de masse (ESI<sup>+</sup>) et structures proposées pour les sous-produits d'oxydation du digluconate de chlorhexidine**

Composé	Tr (en min)	Ion moléculaire MH <sup>+</sup>			Précision (ppm)	DBE*	Structure proposée pour le composé
		Composition élémentaire	m/z expérimental	m/z théorique			
Chlorhexidine	7,7	C <sub>22</sub> H <sub>31</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>10</sub>	505,2102	505,2105	-0,2	16	
C 485	5,7	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> ClN <sub>10</sub> O	485,2288	485,2287	-0,1	18	
C 521	5,9	C <sub>22</sub> H <sub>31</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>10</sub> O	521,2053	521,2054	0,5	18	

\*DBE : Double bond Equivalency  
Source des données : LCM et IC2MP

En accord avec les données de la littérature (Lee and von Gunten, 2016), ces composés proviendraient :

(i) soit d'une attaque initiale de l'ozone et des radicaux OH<sup>°</sup> 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) (ii) 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 7).

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

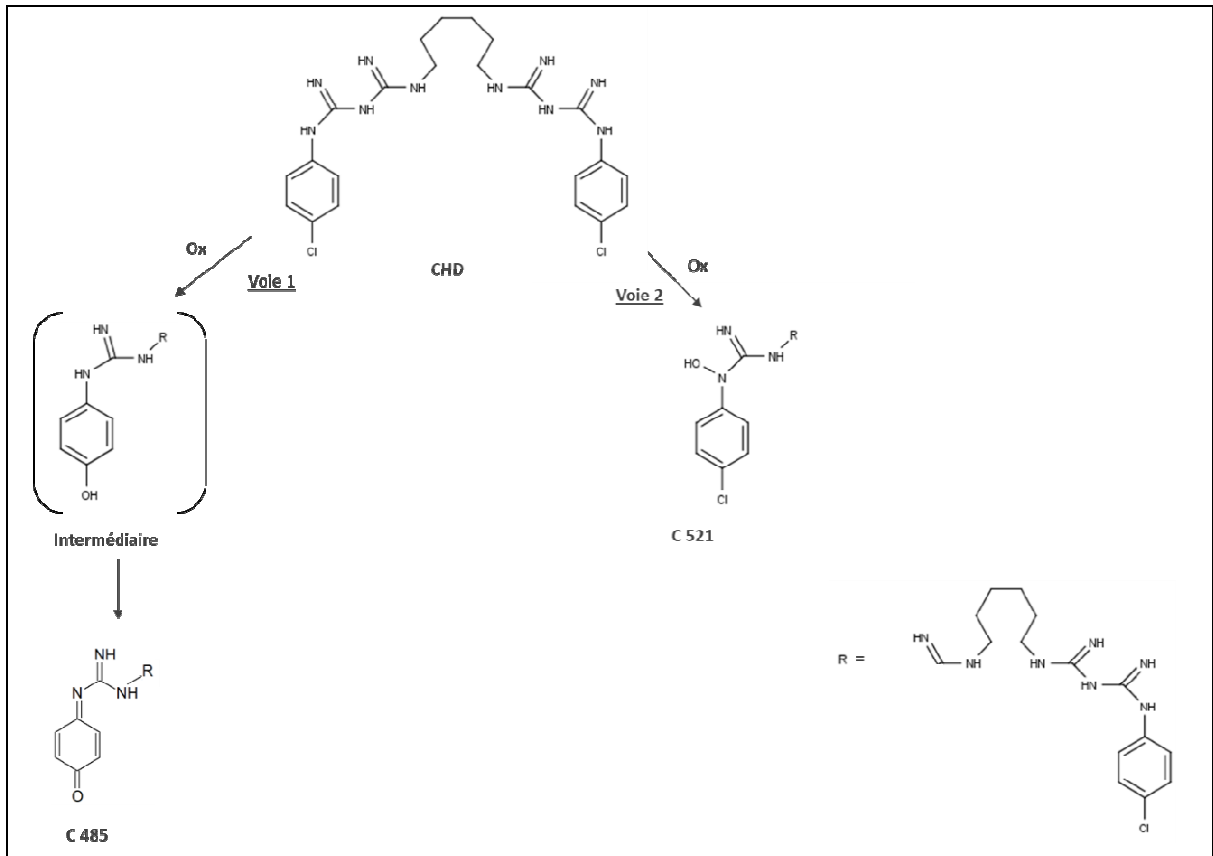


Figure 7 : Chemin réactionnel proposé pour la formation des sous-produits du digluconate de chlorhexidine lors de l'ozonation :  
 Source des données IC2MP et LCM

Enfin, **dans le cas du DIDAC**, 23 sous-produits ont été détectés. Parmi ces composés, plusieurs présentent des compositions élémentaires identiques. Pour l'interprétation des résultats, 6 groupes de sous-produits ayant la même composition élémentaire ont donc été définis dans la suite de ce rapport.

La Figure 8 présente l'évolution de la formation des sous-produits en fonction de la dose d'ozone appliquée lors de l'ozonation et de 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 des composés D 372, D 370 et D 354.

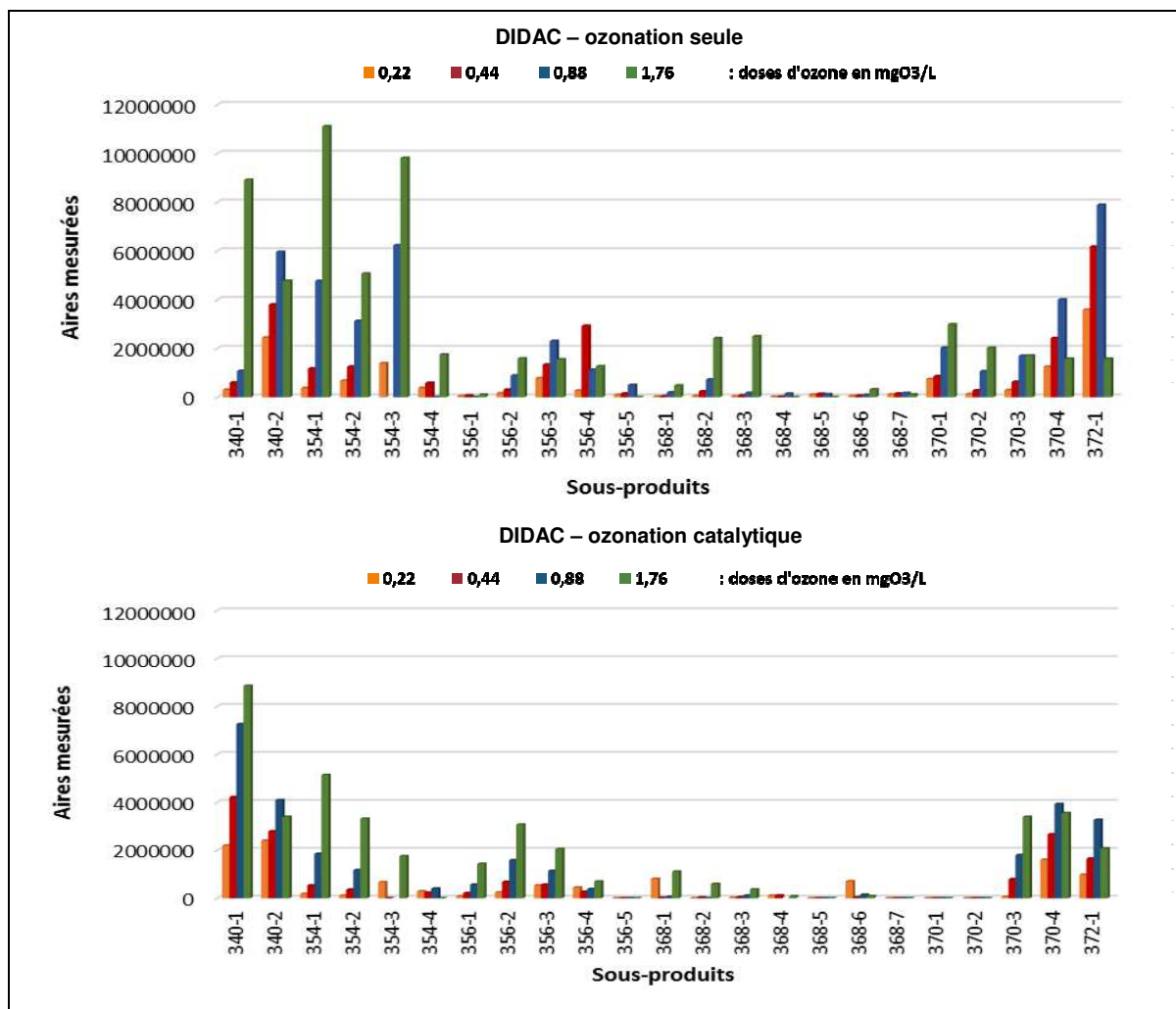


Figure 8 : Evolution des sous-produits du DIDAC détectés dans les échantillons en fonction des doses d'ozone utilisées. Matrice EDR ; réacteurs batch ; [DIDAC] = 5 mg/L ; (Pour une meilleure lisibilité des résultats, les aires affichées dans cette figure pour le composé D 340 ont été divisées par 10).  
Source des données LCM

Les Tableaux 5 à 10 et l'Annexe 8.3 présentent les résultats obtenus par spectrométrie de masse pour les différents groupes de sous-produits ainsi que les structures chimiques proposées. De même, pour chacun de ces composés, l'analyse des spectres MS/MS obtenues en spectrométrie de masse est détaillée en Annexe 8.3.

Tableau 5 : Temps de rétention, composition élémentaire des ions moléculaires obtenus par spectrométrie de masse (ESI+) et structures proposées pour les sous-produits D 340

Composé	Tr (en min)	Ion moléculaire				Précision (ppm)	DBE*	Structure proposée pour le composé
		Composition élémentaire	m/z expérimental	m/z théorique				
DIDAC	10,6	C <sub>22</sub> H <sub>48</sub> N	326,3796	326,3781	-1,4	0		
D 340-1	10,1		340,3577	340,3574	-0,9	1		
D 340-2	10,4	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub> NO	340,3579	340,3574	-1,4	1		

\*DBE : Double bond Equivalency  
Source des données : LCM et IC2MP

**Tableau 6 : Temps de rétention, composition élémentaire des ions moléculaires obtenus par spectrométrie de masse (ESI+) et structures proposées pour les sous-produits D 354**

Composé	Tr (en min)	Ion moléculaire				BDE*	Structure proposée pour le composé
		Composition élémentaire	m/z expérimental	m/z théorique	Précision (ppm)		
DIDAC	10,6	C <sub>22</sub> H <sub>48</sub> N	326,3796	326,3781	-1,4	0	
D 354-1	8,8	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> NO <sub>2</sub>	354,3371	354,3367	-1,2	2	
D 354-2	9,5		354,3368	354,3367	-0,5	2	
D 354-3	9,7		354,3370	354,3367	1	2	
D 354-4	10,0		354,3369	354,367	-0,6	2	

\*BDE : Double bond Equivalency  
Source des données : LCM et IC2MP

**Tableau 7 : Temps de rétention, composition élémentaire des ions moléculaires obtenus par spectrométrie de masse (ESI+) et structures proposées pour les sous-produits D 356**

Composé	Tr (en min)	Ion moléculaire				BDE*	Structure proposée pour le composé
		Composition élémentaire	m/z expérimental	m/z théorique	Précision (ppm)		
DIDAC	10,6	C <sub>22</sub> H <sub>48</sub> N	326,3796	326,3781	-1,4	0	
D 356-1	8,5	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub> NO <sub>2</sub>	356,3520	356,3523	1	1	
D 356-2	9,0		356,3519	356,3523	1,1	1	
D 356-3	9,2		356,3518	356,3523	1,3	1	
D 356-4	9,6		356,3524	356,3523	-0,2	1	
D 356-5	10,0		356,3525	356,3523	-0,6	1	

\*BDE : Double bond Equivalency  
Source des données : LCM et IC2MP

**Tableau 8 : Temps de rétention, composition élémentaire des ions moléculaires obtenus par spectrométrie de masse (ESI+) et structures proposées pour les sous-produits D 368**

Composé	Tr (en min)	Ion moléculaire				BDE*	Structure proposée pour le composé
		Composition élémentaire	m/z expérimental	m/z théorique	Précision (ppm)		
DIDAC	10,6	C <sub>22</sub> H <sub>48</sub> N	326,3796	326,3781	-1,4	0	
D 368-1	7,9	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> NO <sub>3</sub>	368,3162	368,3159	-0,7	3	
D 368-2	8,3		368,3154	368,3159	1,5	3	
D 368-3	8,6		368,3153	368,3159	1,7	3	
D 368-4	9,0		368,3160	368,3159	-0,2	3	
D 368-5	9,2		368,3151	368,3159	2,3	3	
D 368-6	10,0		368,3168	368,3159	-2,5	3	
D 368-7	10,3		368,3158	368,3159	0,8	3	

\*BDE : Double bond Equivalency  
Source des données : LCM et IC2MP



**Tableau 9: Temps de rétention, composition élémentaire des ions moléculaires obtenus par spectrométrie de masse (ESI+) et structures proposées pour les sous-produits D 370**

Composé	Tr (en min)	Ion moléculaire				BDE*	Structure proposée pour le composé
		Composition élémentaire	m/z expérimental	m/z théorique	Précision (ppm)		
DIDAC	10,6	C <sub>22</sub> H <sub>48</sub> N	326,3796	326,3781	-1,4	0	
D 370-1	7,7		370,3318	370,3316	-0,6	2	
D 370-2	8,7		370,3321	370,3316	-1,3	2	
D 370-3	9,5	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> NO <sub>3</sub>	370,3320	370,3316	-1,1	2	
D 370-4	10,2		370,3316	370,3316	-0,1	2	

\*BDE : Double bond Equivalency  
Source des données : LCM et IC2MP

**Tableau 10 : Temps de rétention, composition élémentaire des ions moléculaires obtenus par spectrométrie de masse (ESI+) et structures proposées pour les sous-produits D 372**

Composé	Tr (en min)	Ion moléculaire				BDE*	Structure proposée pour le composé
		Composition élémentaire	m/z expérimental	m/z théorique	Précision (ppm)		
DIDAC	10,6	C <sub>22</sub> H <sub>48</sub> N	326,3796	326,3781	-1,4	0	
D 372-1	9,4	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub> NO <sub>3</sub>	372,3469	372,3472	0,9	1	

\*BDE : Double bond Equivalency  
Source des données : LCM et IC2MP

La réaction de l'ozone moléculaire avec les chaînes alkyles est très faible voire négligeable. Au cours de l'ozonation, l'ensemble des sous-produits pourrait donc provenir d'une attaque électrophile des radicaux OH° sur les chaînes carbonées du DIDAC. Pour ces composés, la localisation exacte des oxydations n'a pas toujours clairement pu être précisée par spectrométrie de masse. Toutefois, les attaques successives semblent être orientées 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 envisagées. Enfin aucun produit de transformation issu de coupure de chaînes n'a été observé.

#### ➤ Suivi de l'écotoxicité

Lors de ces expériences, l'évolution de l'écotoxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri* pour différentes doses d'ozone appliquées a également été suivie. Les résultats obtenus dans ces conditions pour les 3 biocides étudiés sont présentés dans la Figure 9.

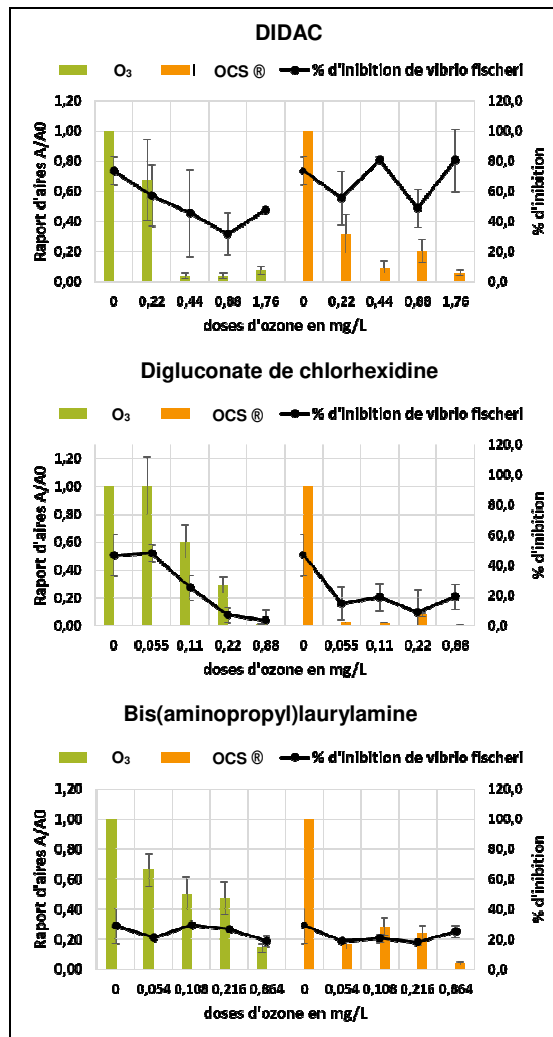


Figure 9 : Evolution de l'écotoxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri* pendant l'élimination des biocides par ozonation et ozonation catalytique. Matrice eau du robinet ; pH ≈ 8 ; réacteur batch ; biocides séparés ; [DIDAC]<sub>0</sub> = [digluconate de chlorhexidine]<sub>0</sub> = [bis(aminopropyl)laurylamine]<sub>0</sub> = 5 mg/L. résultats obtenus pour une dilution des échantillons au contact des bactéries au 1/20 pour le DIDAC, au 1/10 pour le digluconate de chlorhexidine et au 1/2 pour le bis(aminopropyl)laurylamine).  
Source des données : IC2MP

Ces résultats semblent montrer, dans le cas du DIDAC (molécule la plus réfractaire au traitement à l'ozone et la plus potentiellement active vis-à-vis de *Vibrio fischeri*), une diminution de l'écotoxicité au cours de l'ozonation seule. Pour ce composé en effet, 80% d'inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri* est observée avant la réaction alors que 40% à 50% d'inhibition est noté pour les plus fortes doses d'ozone employées. En ozonation catalytique, 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 digluconate de chlorhexidine, une diminution de l'activité vis-à-vis de *Vibrio fischeri* au cours de l'ozonation avec ou sans catalyseur a été observée. Le pourcentage d'inhibition obtenu pour les plus fortes doses d'ozone employées est inférieur à 20% en présence ou non de catalyseur.

Enfin, dans le cas du bis(aminopropyl)laurylamine (molécule la moins active vis-à-vis de *Vibrio fischeri*), aucun impact significatif sur l'évolution de l'écotoxicité n'est noté que ce soit avec ou sans catalyseur. Toutefois, pour une simple dilution au 1/2 des échantillons au contact des bactéries, le pourcentage d'inhibition reste faible pour l'ensemble des points.

### 2.1.3. Etude laboratoire du traitement en matrice complexe

Suite à l'identification des sous-produits d'oxydation, quelques essais d'oxydation par ozonation et ozonation catalytique de l'eau d'entrée de la station d'épuration de Saint-Julien l'Ars (petite station d'épuration située à proximité de Poitiers et servant de matrice de référence dans le cadre du projet BIOTECH (paragraphe 2.1.1 rapport Phase 2)) ont été réalisés. La Figure 10 présente la consommation d'ozone et l'abattement du COT obtenus dans ces conditions.

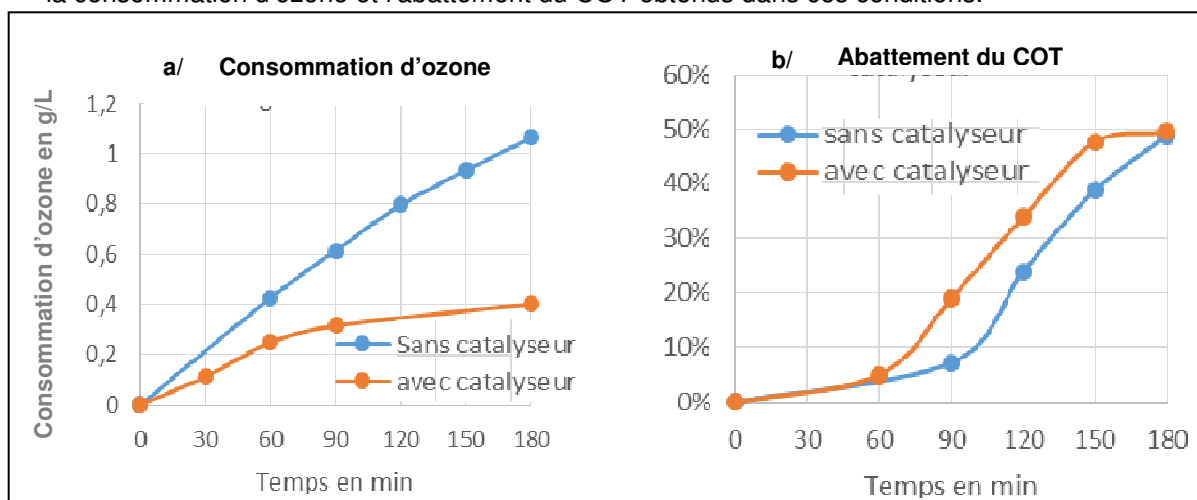


Figure 10 : Consommation d'ozone et abattement du COT obtenus au cours des expériences d'ozonation (avec et sans catalyseur) de la matrice de référence en réacteur semi-batch de 1 L  
Source des données : Serep-Technavox

Ces résultats montrent un impact du catalyseur sur la consommation d'ozone qui est lors du traitement de cette matrice jusqu'à plus de 2 fois moins importante dans les conditions étudiées (Figure 10). Ce paramètre est important dans le dimensionnement d'une installation de traitement et pour les coûts d'exploitation induits. De plus, un écart sur la minéralisation du COT d'environ 10% durant l'essai entre les procédés avec et sans catalyseur a été observé.

Dans cette partie de l'étude, quelques essais d'oxydation des eaux de sortie du site du CHU et de la blanchisserie ont également été menés en laboratoire de façon à mieux appréhender les paramètres dimensionnant de l'unité d'ozonation nécessaires lors de l'étude pilote sur le terrain.

Pour ces expériences, les concentrations en biocides et les paramètres physico-chimiques mesurés dans les matrices testées sont présentés dans le Tableau 11. Comme attendu suite aux résultats de la tâche 2 (Phase 1) du projet, des rejets significatifs de biocides (jusqu'à 3,5 fois ce qui est retrouvé au niveau du CHU dans le cas du DIDAC) sont observés au niveau de la nouvelle blanchisserie. De même, en termes de paramètres globaux, des valeurs de COT et de DCO plus importantes sont notées dans l'effluent de la blanchisserie.

Tableau 11 : Concentrations des biocides dans les effluents du CHU et de la blanchisserie lors des expériences sur pilote laboratoire

Matrice	CHU	Blanchisserie
DIDAC en µg/L	2039,1 ± 573,8	7098,2 ± 476,5
Diguconate de chlorhexidine en µg/L	36,5 ± 6,0	100,0 ± 5,0
Bis(aminopropyl)laurylamine 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 <sub>2</sub> /L	255 - 480	1078 - 1562
COT* en mg/L	97,0 - 124,8	263,4 - 438,0

\*valeurs obtenues lors de l'étude pilote

Source des données : IC2MP et SEREP-Technavox

Lors du traitement de ces matrices par ozonation et ozonation catalytique, l'évolution des biocides obtenus en réacteur semi-batch est présentée dans la Figure 11.

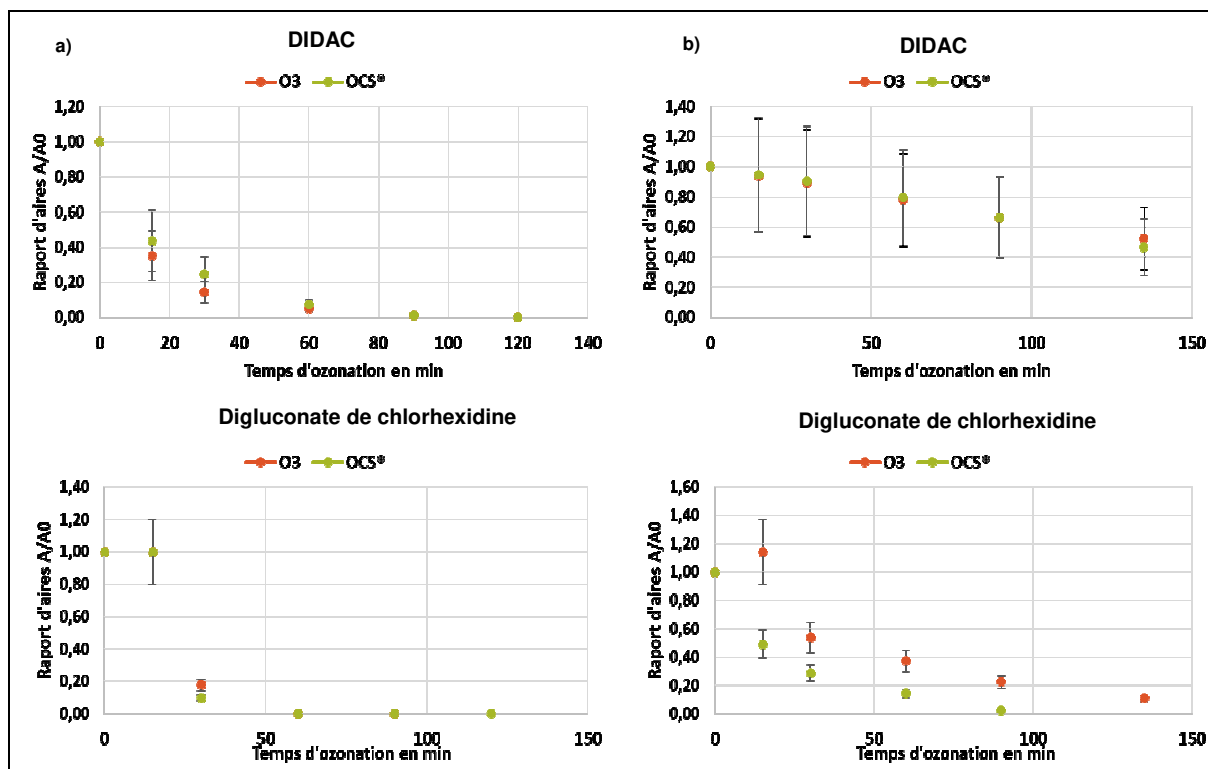


Figure 11 : Elimination des biocides au cours de l'ozonation et l'ozonation catalytique a) effluents du CHU et b) blanchisserie (expériences laboratoire réalisées en réacteurs semi-batch (1L) pour une dose d'ozone appliquée de 28,3 mgO<sub>3</sub>/min)  
Source des données : IC2MP et SEREP-Technavox

Dans le cas du bis(aminopropyl)laurylamine, une élimination totale, dès le premier point de prélèvement (i.e. après 15 min d'oxydation) a été observée quels que soient la matrice et le traitement étudiés (résultats non présentés).

Pour les autres molécules, une élimination rapide du DIDAC et du digluconate de chlorhexidine est notée dans la matrice du CHU. Pour ces deux composés, 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 gO<sub>3</sub>/L d'effluent. Dans cette matrice, la différence entre les expériences d'ozonation seule et d'ozonation catalytique n'est pas significative sur l'élimination des biocides. Toutefois, le catalyseur semble agir sur la consommation d'ozone.

Dans la matrice blanchisserie, l'élimination du DIDAC et du digluconate de chlorhexidine est plus lente que dans la matrice CHU. En ozonation et ozonation catalytique, un temps d'ozonation de 140 min (correspondant à 4 gO<sub>3</sub>/L) est nécessaire pour obtenir au moins 50% d'élimination du DIDAC. Dans cette matrice, pour le digluconate de chlorhexidine, 50% de la molécule est éliminée après 15 à 30 minutes d'ozonation. Cette molécule est donc moins réfractaire que le DIDAC au traitement.

## 2.2. Etude du traitement sur site

### 2.2.1. Description du pilote, prélèvement des effluents et méthodes d'analyses

#### ➤ Description du pilote

Le pilote, installé sur le site du CHU, a consisté en une unité mobile placée dans un container (Dimensions : L x l x H : 6 045 x 2 432 x 4 268; Poids en service : 5 200 kg ; dégagements nécessaires autour de l'appareil : 1,5 m minimum de chaque côté ; raccordement électrique : 400 VAC 3P + T – sans neutre ; puissance installée : 32 kW) (Figure 12). 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 12 : Unité pilote mobile intégrée dans un container utilisée dans le cadre du projet BIOTECH, sur le site du CHU  
 Source des données : SEREP-Technavox

Durant cette période, le container était équipé d'une pompe d'alimentation (150 L/h maximum), d'une ligne de production d'ozone ou ozoneur (capacité maximale de 0,35 kgO<sub>3</sub>/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 comprenait également une cuve de contact ozone/effluent d'un volume qui a été ajusté (154 – 168 L). Sur cette cuve étaient disposées une boucle d'injection d'ozone et une boucle de circulation sur cartouches de catalyseurs (1 ou 2 colonnes ; Figure 13). Une cuve de relevage de l'effluent traité a servi de bac tampon (réglé à 11 L) avant rejet.

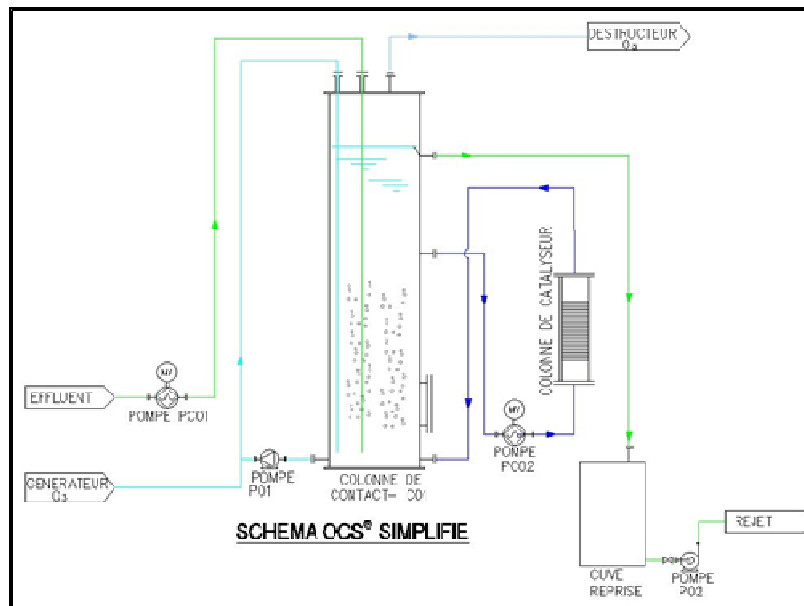


Figure 13: Schéma synoptique du pilote.  
 Source des données : SEREP-Technavox

Dans ces conditions, un traitement semi-continu (semi-batch) ou continu de l'effluent peut être réalisé :

- Les essais en mode « semi-batch » consistent à remplir l'unité OCS® avec un volume donné d'effluent à traiter tout en injectant de l'ozone en continu. L'effluent chargé en ozone circule en boucle sur le catalyseur pour être oxydé. Des prélèvements réguliers sont réalisés au niveau de la cuve de transfert pour un suivi analytique en fonction du temps. Les valeurs d'ozone en entrée (production) et en sortie dans les évènements sont également relevées. Ce type d'essai semi-batch est réalisé pour l'ensemble des configurations du plan d'expérience et aussi en phase de démarrage de chaque test préalablement au mode continu.
- Lors des essais en continu, la première étape consiste à réaliser une première phase selon le mode semi-batch dans le but d'enclencher ensuite le mode continu à partir d'un volume de cuve déjà traité et saturé en ozone soluble. Une fois cet état d'équilibre ainsi atteint, l'unité est alimentée en effluent brut en continu, tout en conservant le fonctionnement des boucles d'injection d'ozone et de recirculation sur le catalyseur. L'effluent traité ressort en continu du

système par effet de surverse de la cuve de transfert. Des prélèvements sont effectués régulièrement à la sortie de l'unité de traitement afin de suivre l'évolution du traitement.

Lors de l'utilisation de ce pilote, les paramètres suivants peuvent être réglés : la charge de catalyseur, la vitesse de passage sur le catalyseur et la dose d'ozone apportée.

Pour les essais sur site, 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. En mode continu, le débit d'effluent de 125 L/h a généralement été employé, la concentration en ozone dans le gaz a été réglée à 80 gO<sub>3</sub>/Nm<sup>3</sup> (5,6%) et le débit de gaz ozoné a été fixé à 1,2 m<sup>3</sup>/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 gO<sub>3</sub>/m<sup>3</sup> d'effluent. Un délai correspondant à trois fois le temps de contact de l'effluent dans le réacteur a été respecté lors du prélèvement des échantillons ozonés au niveau du bac tampon en sortie d'unité (délais minimum nécessaires pour atteindre l'état stationnaire du mode continu).

#### ➤ Prélèvements et prétraitement des effluents

Lors de ce travail, les essais de traitement sur site par ce pilote ont concerné deux types d'effluent (bâchée de 1 m<sup>3</sup> d'un effluent moyen issu de 4 prélèvements de 250 L réalisés à 12h, 15h, 17h et 19h) :

- Les eaux usées du bâtiment principal du CHU directement prélevées sur site. Sur ces effluents du CHU une décantation préalable a été effectuée et seul le surnageant filtré sur poche à 10 µm 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. Dans ce second cas, la blanchisserie étant située à 3 km du site, des volumes de 1 m<sup>3</sup> prélevés tous les matins dans la cuve de sortie du site ont été rapportés sur le site du CHU. Pour cet effluent, la charge de matières en suspension de la matrice étant faible, l'effluent a simplement été homogénéisé avant traitement sur le pilote.

#### ➤ Méthodes analytiques

Lors de la réalisation de cette étude, outre l'analyse de l'ozone et des biocides, un suivi des paramètres globaux (i.e. DCO, COT, pH, conductivité) a été réalisé. De même, pour certains échantillons, une recherche des sous-produits et une évaluation de l'écotoxicité ont été effectués.

Pour cela, une analyse par UHPLC/MS après dilution au 1/5 ou 1/2 selon la méthode développée lors de la tâche 2 (Phase 1) du projet (paragraphe 5.2.1 du rapport Phase 1) a été utilisée pour l'analyse des biocides.

Pour le suivi des sous-produits, des analyses LC-MS avec un système comparable à celui utilisé pour l'identification des sous-produits ont été effectuées (paragraphe 2.1.1). Dans ces conditions, pour chaque échantillon, 10 mL de solution ont été séchés puis repris par 1 mL de phase mobile avant centrifugation puis analyse.

Concernant l'évaluation de l'écotoxicité, plusieurs tests ont été réalisés :

- Un test d'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* suivant la norme NF EN ISO 6341, qui se réalise sur 24 heures et qui est un test de toxicité aiguë (à court terme) ;
- Un test d'inhibition de la croissance de l'algue *Pseudokirchneriella subcapitata* suivant la norme NF EN ISO 8692, qui se réalise sur 72 heures et qui est un test de toxicité chronique (à long terme) ;
- Un test d'inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri* suivant la norme NF EN ISO 11348, qui se réalise sur 30 minutes et qui est un test de toxicité aiguë.

Enfin, au cours de cette partie du projet, un traitement des données par une approche de type « omique » a été menée. Pour cela, les échantillons prélevés lors de l'étude terrain ont été analysés par une méthode de spectrométrie de masse à ultra haute résolution dite « omique ».

Cette méthode souvent utilisée en pétroliométrie et en métabolomique (Brown *et al.*, 2005 ; Hughey *et al.*, 2002) consiste à injecter l'échantillon en infusion directe après le minimum de préparation, et de le retraiter les données par des analyses statistiques. 500 µL de chaque échantillon ont été répartis en plusieurs flacons en verre puis congelés en vue d'une analyse simultanée. Chaque flacon a été centrifugé à 12 000 tr/min pendant 3 minutes puis 10 µL de surnageant ont été récupérés puis dilués au 50<sup>ième</sup> avec un mélange eau/méthanol « Tuning Mix » acide formique, de manière à se retrouver au final à une solution constituée de 45% eau, 45% méthanol, 10% « Tuning Mix », 0,1 % acide formique. Le « Tuning Mix » a été ajouté en tant que calibrant interne afin de faciliter l'analyse statistique et l'attribution de formules brutes.

Suite à un problème lors de la conservation des échantillons ozonés du CHU (points 1-2-3) l'analyse a été réalisée à partir des 10 mL d'échantillon séchés repris par 1 mL d'un mélange 80/20 H<sub>2</sub>O/MeOH 0,1 %AF, 10 µL de cette solution a été diluée au 500<sup>ième</sup> avant analyse.

Les analyses par spectrométrie de masse à ultra haute résolution ont été réalisées en électrospray en mode positif sur un FT-ICR Solarix 9.4T (Bruker). Chaque échantillon a été analysé dix fois en vue de l'analyse statistique. Pour chaque analyse, un temps d'accumulation de 0,2 s dans la cellule de collision a été fixé afin d'obtenir un courant ionique total entre 1 et 8E<sup>9</sup> ce pour limiter les effets de charge d'espace pouvant être observés dans des pièges à ions. Un total de 100 scans ont été accumulés avec une analyse à 4 Mpts menant à une résolution de 340 000 à  $m/z$  200.

Entre chaque analyse un lavage de la source a été réalisé en lavant par 3 fois 250 µL d'eau, puis 3 fois 250 µL de mélange (25% acétonitrile, 25% eau, 25% isopropanol, 25% méthanol), 3 fois 250 µL d'isopropanol puis 3 fois 250 µL de méthanol.

L'analyse statistique a été faite à partir d'une liste de rapports  $m/z$  pertinents. Cette liste a été créée après une recalibration interne automatique de chaque spectre grâce au « Tuning Mix » ajouté dans la solution avant l'analyse. Le regroupement des rapports  $m/z$  identifiés a été réalisé avec une tolérance de 10 mDa et un seuil de détection de 6000000 (correspondant à un rapport signal sur bruit S/N de 3). Chaque rapport  $m/z$  répondant à ces critères et se retrouvant dans plus de 5 analyses a ainsi été inscrit dans la liste des  $m/z$  utilisés pour l'analyse statistique.

### 2.2.2. Optimisation des paramètres d'oxydation

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. Pour cela, trois paramètres de dimensionnement sur le pilote ont été choisis comme facteurs d'étude du plan d'expériences avec des bornes min et max issues des connaissances acquises lors des expériences laboratoire :

- le nombre de colonnes de catalyseur (C : 1 ou 2),
- la production d'ozone (P : 78 g/h ou 147 g/h correspondant à un taux de traitement de 232 gO<sub>3</sub>/m<sup>3</sup> à 437 gO<sub>3</sub>/m<sup>3</sup> d'effluent pour un temps d'ozonation de 30 minutes et un volume de réacteur de 168 L)
- le débit de recirculation de l'effluent sur les cartouches de catalyseur (D : 260 L/h ou 780 L/h).

Dans ces conditions, le DIDAC étant apparu comme le composé le plus réfractaire au traitement suite à l'étude laboratoire, l'exploitation du plan d'expériences s'est faite en fonction des résultats obtenus pour ce composé.

La Figure 14 présente les résultats du plan d'expériences obtenus pour ce composé par ozonation catalytique OCS® de l'effluent du CHU. Dans cette figure, pour chaque expérience, la DCO résiduelle après 60 min de réaction est également présentée.



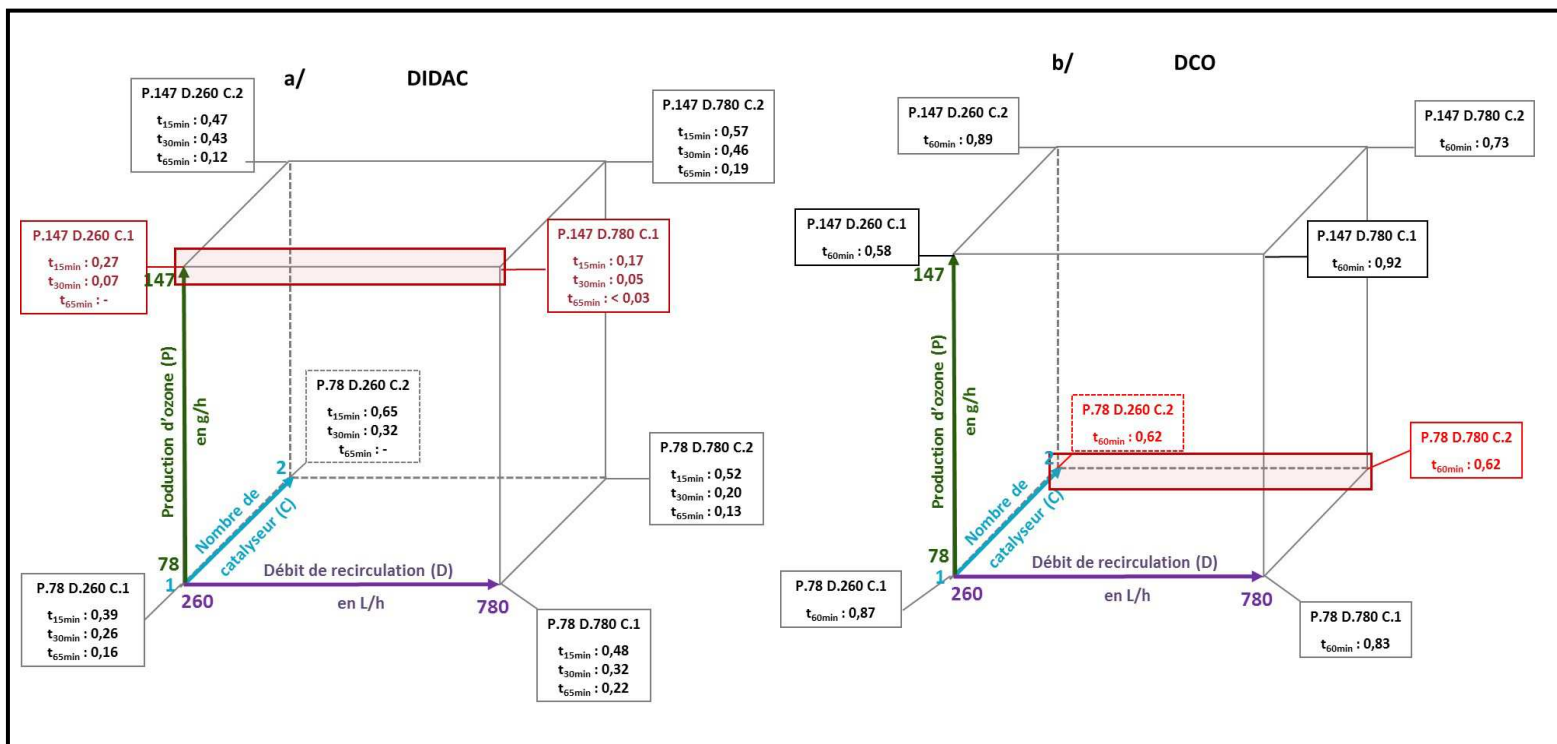


Figure 14 : Résultats du plan d'expériences obtenus par ozonation catalytique de l'effluent du CHU sur le pilote sur site : a/ Rapport d'aires A/A0 du DIDAC obtenu pour trois temps d'ozonation  $t=15\text{ min}$  ;  $t=30\text{ min}$  et  $t=65\text{ min}$  et b/ ratio  $[DCO]/[DCO]_0$  obtenu après 60 min de traitement. Pour ces expériences des conditions variables de production d'ozone (P), de débit de recirculation (D) et de quantité de catalyseur (C) ont été testées, les concentrations initiales en DIDAC et les valeurs initiales de DCO étaient :  $[DIDAC]_0 = 1067,9 \pm 449,4\ \mu\text{g/L}$  à  $2894,1 \pm 515,1\ \mu\text{g/L}$  ;  $DCO_0 = 356\ \text{mgO}_2/\text{L}$  à  $450\ \text{mgO}_2/\text{L}$ .

Source des données : SEREP-Technavox et IC2MP

D'après ces résultats, les meilleurs rendements d'élimination du DIDAC (marqués en rouge dans la Figure 14a) sont obtenus pour une forte production d'ozone et pour l'utilisation d'une seule colonne de catalyseur. Pour ce composé, il faudrait essentiellement jouer sur le débit de recirculation pour obtenir un rendement d'élimination optimal. Toutefois, concernant ce point, aucune tendance significative n'a pu être mise en évidence à partir des résultats obtenus.

Concernant la DCO, les meilleurs rendements d'élimination ont été obtenus en présence de 2 colonnes de catalyseurs (Figure 14b). Dans ces conditions, une consommation d'ozone globalement plus faible a également été observée (résultats non présentés).

A partir de ces résultats, les conditions de fonctionnement du pilote pour le traitement des effluents du CHU en mode continu ont été établies de façon à permettre au mieux l'élimination des biocides tout en minimisant la consommation d'ozone. Pour cela, les résultats ont été exploités par une approche par plan d'expériences factoriel complet, réalisée par le logiciel MINITAB®, pour déterminer les facteurs qui ont un effet significatif sur les réponses, identifier les effets des interactions entre facteurs et optimiser les performances. Le diagramme de Pareto, présenté dans la Figure 15 et issu de cette exploitation, permet de déterminer l'importance des différentes causes d'un phénomène. Il peut être montré dans ce diagramme que, pour éliminer le DIDAC, les seules interactions entre facteur significatives sont celles entre la production d'ozone et le nombre de colonnes de catalyseur.

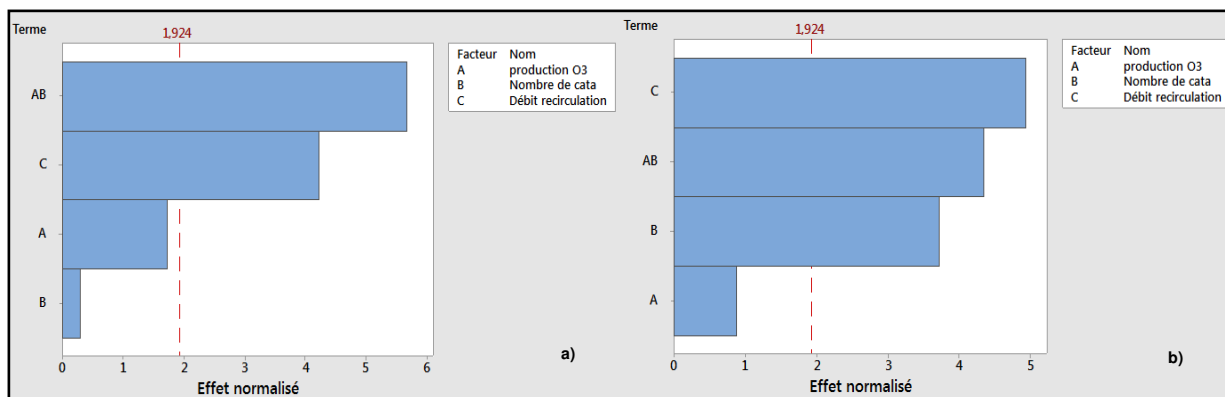


Figure 15 : Diagramme de Pareto des effets normalisés pour a) la réponse élimination du DIDAC et b) la réponse consommation d'ozone. Résultats obtenus avec une limite de significativité  $\alpha = 0.15$  ( $\alpha$  représentant le risque de conclure à tort qu'un facteur a un effet significatif). L'effet normalisé au seuil de signification d' $\alpha$  est de 1,924  
 Source des données : SEREP-Technavox

Les relations entre les différents facteurs sont présentées dans les graphiques de contour de la Figure 16. Dans ces graphiques, l'objectif principal étant l'élimination du DIDAC, les autres réponses abattement de la DCO et consommation d'ozone ont été pondérées pour limiter leur impact sur les facteurs. Dans ces conditions, il faut se placer dans la zone bleue foncée pour obtenir un rendement d'élimination du DIDAC supérieur à 95%. Le recoupement des conditions opératoires est délimité par les cercles rouges : production d'ozone 80 g/Nm<sup>3</sup>, 2 charges de catalyseur et un débit de recirculation à 450L/h.

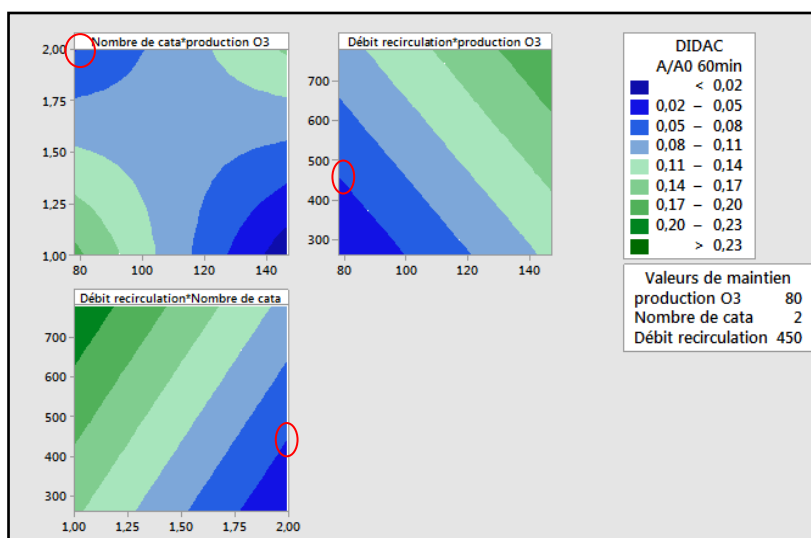


Figure 16 : Graphique de contour des zones d'élimination du DIDAC (rapport d'aire du DIDAC par rapport à l'aire initiale A/A0) en fonction des trois facteurs Production d'ozone, nombre de catalyseur et débit de recirculation.  
 Source des données : SEREP-Technavox

Ainsi, à partir de ces résultats (Figure 16), les conditions de fonctionnement du pilote pour le traitement de l'effluent du CHU en mode continu ont été établies de façon à permettre au mieux l'élimination des biocides tout en minimisant la consommation d'ozone. Ces conditions sont présentées ci-après dans le Tableau 12. Pour l'effluent de la blanchisserie, les molécules cibles étant les mêmes, des conditions de traitement identiques ont été utilisées dans un premier temps (Tableau 14).

### 2.2.3. Suivi des biocides, des paramètres globaux, des sous-produits et de l'écotoxicité

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 Blanchisserie ; 1 m<sup>3</sup> par bâchée). Pour le mode continu, en plus du prélèvement d'effluent en

entrée du pilote, trois prélèvements numérotés, espacés de 210 minutes (soit environ trois fois le temps de contact) ont été effectués en sortie 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 12 et 14 pour chaque effluent traité. 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).

### 2.2.3.1. Etude du traitement de l’effluent du CHU

#### ➤ Suivi des paramètres globaux et des biocides

Préalablement au fonctionnement en mode continu, des **essais d’ozonation et d’ozonation catalytique en mode semi-continu** ont été réalisés sur l’effluent du CHU selon les paramètres sélectionnés (Tableau 12). Dans ces conditions, les volumes du milieu réactionnel étant respectivement de 154 et 168 L, les doses d’ozone introduites de 84 et 96 gO<sub>3</sub>/h correspondent à des taux de traitement de 9 et 9,5 mgO<sub>3</sub>/L<sub>effluent</sub>/min lors du traitement par ozonation et ozonation catalytique. Le Figure 17 montre les résultats obtenus lors de ces essais pour le DIDAC et le digluconate de chlorhexidine. Ces résultats montrent que, malgré un taux d’ozone appliqué plus faible, le pilote conduit à une élimination du DIDAC très comparable au dispositif laboratoire au cours de l’ozonation seule (Figure 11), ceci, probablement grâce à un meilleur système de transfert d’ozone. Dans ces conditions, contrairement aux résultats obtenus lors de l’étude laboratoire, le catalyseur semble favoriser leur dégradation. Dans le cas du bis(aminopropyl)laurylamine, comme précédemment observé, une dégradation totale dès le premier point de prélèvement a été observée. A partir de ces résultats, il peut être noté que l’objectif d’optimisation des conditions opératoires par plan d’expérience (i.e. > 95% d’abattement des biocides) est bien atteint pour les 3 biocides étudiés.

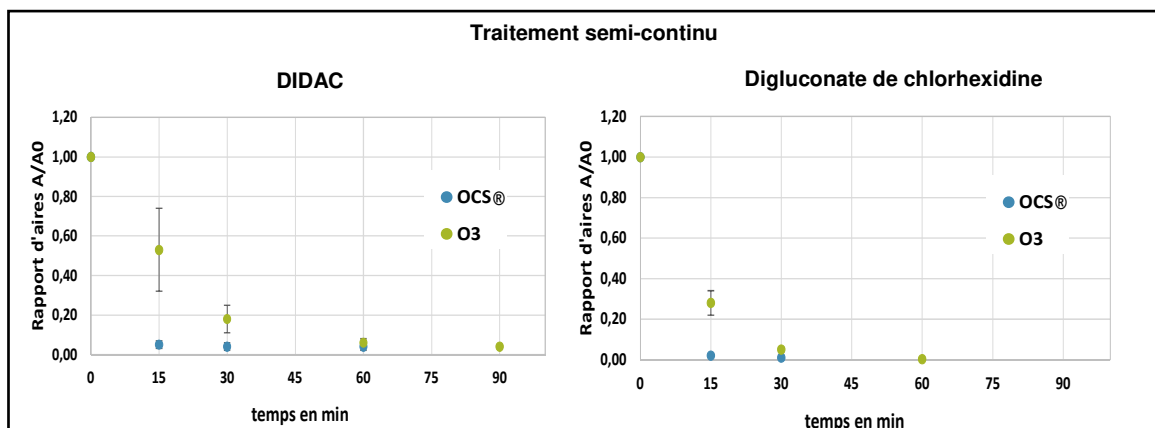


Figure 17: Dégradation du DIDAC et du digluconate de chlorhexidine pendant le traitement en semi-batch de l’effluent du CHU par ozonation et ozonation catalytique: O<sub>3</sub> : [DIDAC]<sub>0</sub> = 1962,4 ± 242,2 µg/L et [digluconate de chlorhexidine]<sub>0</sub> = 46,0 ± 9,5 µg/L ; DCO<sub>0</sub> = 306 mgO<sub>2</sub>/L et COT<sub>0</sub> = 97 mg/L ; doses d’ozone appliquées : 9 mgO<sub>3</sub>/L<sub>effluent</sub>/min lors du traitement pour ozone seul et OCS® : [DIDAC]<sub>0</sub> = 1603,6 ± 385,9 µg/L et [digluconate de chlorhexidine]<sub>0</sub> = 67,9 ± 12,0 µg/L ; DCO<sub>0</sub> = 306 mgO<sub>2</sub>/L et COT<sub>0</sub> = 106 mg/L ; doses d’ozone appliquées 9,5 mgO<sub>3</sub>/L<sub>effluent</sub>/min lors du traitement par ozonation catalytique.  
Source des données : SEREP-Technavox et IC2MP

En termes d’impact des traitements sur les paramètres globaux (Figure 18), un écart de 10% sur l’abattement du COT et de la DCO a été observé au cours de ces essais en présence ou non du catalyseur. Lors du traitement par OCS®, un abattement de 95% du DIDAC, est obtenu après 30 min de traitement et correspond à un abattement de 45% de DCO et COT. En présence d’ozone seul, 60 min de traitement sont nécessaires pour atteindre les mêmes taux d’abattement en DIDAC.

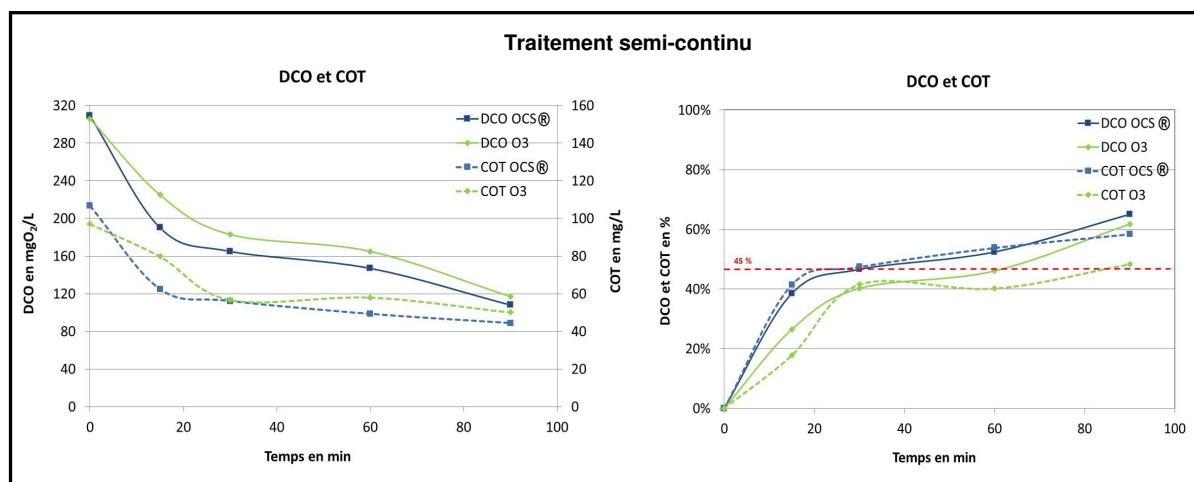


Figure 18 : Suivi de la DCO et du COT pendant le traitement en semi-batch de l'effluent du CHU par ozonation et ozonation catalytique:  $[DIDAC]_0 = 1962,4 \pm 242,2 \mu\text{g/L}$  et  $[\text{digluconate de chlorhexidine}]_0 = 46,0 \pm 9,5 \mu\text{g/L}$ ;  $DCO_0 = 306 \text{ mgO}_2/\text{L}$  et  $COT_0 = 97 \text{ mg/L}$ ; doses d'ozone appliquées :  $9 \text{ gO}_3/\text{Leffluent}/\text{min}$  lors du traitement pour ozone seul et OCS® :  $[DIDAC]_0 = 1603,6 \pm 385,9 \mu\text{g/L}$  et  $[\text{digluconate de chlorhexidine}]_0 = 67,9 \pm 12,0 \mu\text{g/L}$ ;  $DCO_0 = 306 \text{ mgO}_2/\text{L}$  et  $COT_0 = 106 \text{ mg/L}$ ; doses d'ozone appliquées  $9,5 \text{ mgO}_3/\text{Leffluent}/\text{min}$  lors du traitement par ozonation catalytique.  
Source des données : SEREP-Technavox

Plusieurs séries ont ensuite été menées en mode continu sur l'effluent du CHU de façon à comparer l'efficacité du procédé d'ozonation catalytique (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 12. 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 12) (cf rapports Phases 1 et 2). Le DIDAC et le digluconate de chlorhexidine sont observés dans tous les échantillons d'effluent brut. Seules les concentrations de bis(aminopropyl)laurylamine varient de manière plus importantes allant en dessous des seuils de détection jusqu'à  $109,1 \mu\text{g/L}$ . Pour cet effluent, trois conditions ont été testées sur le pilote : sans catalyseur, avec catalyseur et avec catalyseur après acidification de l'effluent avec des taux d'ozonation respectivement de 672, 768 et  $740 \text{ gO}_3/\text{m}^3$ .

Tableau 12 : Caractéristiques des bâchées CHU et conditions de traitements paramétrés sur le pilote

	Matrice		CHU			
	Procédé	OCS®	OCS®	O <sub>3</sub>	O <sub>3</sub>	OCS® pH = 6
Points		1,2,3	4,5,6	1,2,3	4,5,6	7,8,9
Conditions opératoires	[O <sub>3</sub> ] dans le gaz ozoné en g/Nm <sup>3</sup> / en %	80 / 5,3 %	80 / 5,3 %	70 / 4,9 %	70 / 4,9 %	77 / 5,4 %
	Dose O <sub>3</sub> appliquée en gO <sub>3</sub> /m <sup>3</sup> effluent	768	768	672	672	740
	Débit gaz ozoné en m <sup>3</sup> /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
Caractéristique de l'effluent brut	[DIDAC] <sub>0</sub> en μg/L	1603,6 ± 385,9	2469,4 ± 396,0	1962,4 ± 242,2	2083,9 ± 355,9	2439,4 ± 636,0
	[Chlorhexidine] <sub>0</sub> en μg/L	67,9 ± 12,0	53,5 ± 10,6	46,0 ± 9,5	61,5 ± 9,7	36,9 ± 9,9
	[bis(aminopropyl)laurylamine] <sub>0</sub> 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 <sub>2</sub> /L	255	255	306	360	480
COT en mg/L	97	72	106	106	125	
O <sub>3</sub> consommé et DCO éliminée	O <sub>3</sub> consommé en gO <sub>3</sub> /m <sup>3</sup> effluent	336	317	298	307	298
	DCO éliminée (mgO <sub>2</sub> /L)	117	132	63	138	213
	Rendement d'élimination de la DCO en %	46	52	20	38	44
	O <sub>3</sub> consommé en gO <sub>3</sub> /g DCO éliminée	2,9	2,4	4,7	2,1	1,4

\*OCS® avec deux colonnes de catalyseur  
Source des données : SEREP-Technavox et IC2MP

Les Figures 19, 20 et le Tableau 12 présentent les résultats obtenus dans ces conditions pour les paramètres globaux et les biocides.

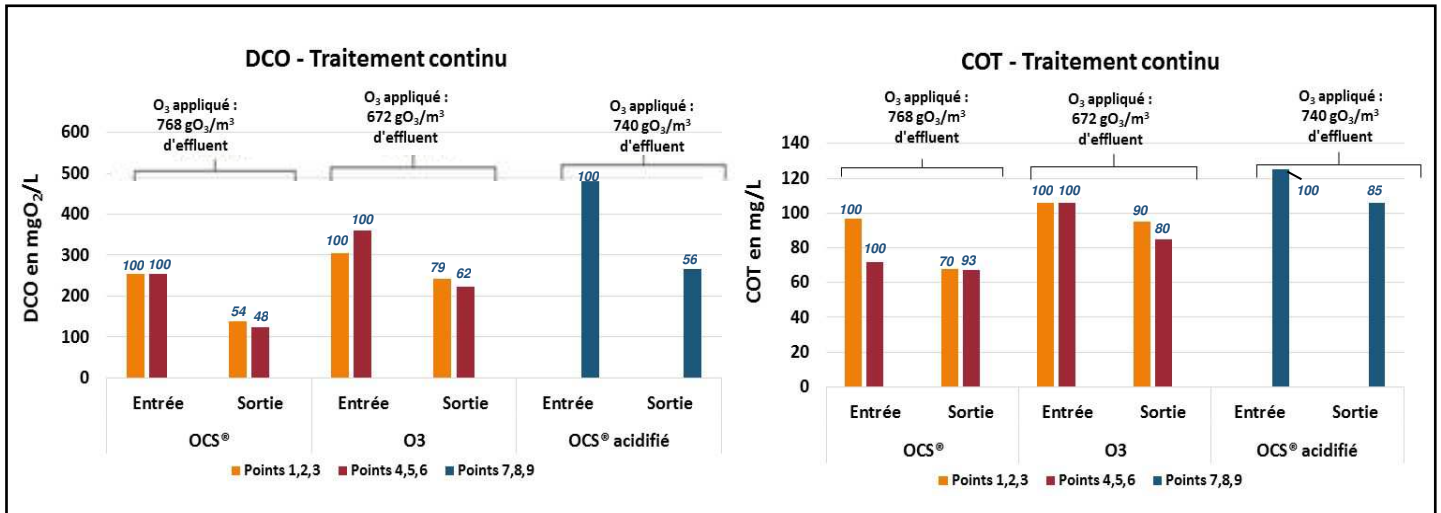


Figure 19 : Evolution de la DCO et du COT lors du traitement de l'effluent CHU avec le pilote terrain. (Les valeurs affichées en italique correspondent aux valeurs moyennes de pourcentage de COT et DCO restant après traitement suite aux 3 prélèvements)  
Données SEREP-Technavox

Lors de ces essais, une diminution de la DCO et du COT est observée pour toutes les conditions de traitement testées (Figure 19). Avec un taux d'ozone appliqué un peu plus élevé que par ozonation seule, de meilleurs taux d'élimination de la DCO et du COT sont observés avec catalyseur. Après acidification du milieu, en présence du catalyseur, aucune amélioration des pourcentages de dégradation de la DCO et du COT sont notés. Lors de cette dernière expérience cependant, une valeur de DCO initiale plus importante (480 contre 255 mg O<sub>2</sub>/L sans acidification) a été observée dans l'effluent. Si l'on compare en mgO<sub>2</sub>/L de DCO éliminée, 1,5 fois plus de DCO serait donc éliminée par OCS® après acidification du milieu (i.e. 213 contre 132 mg O<sub>2</sub>/L en absence d'acidification). Enfin, en termes de consommation d'ozone, parmi toutes les conditions de traitement étudiées, la plus faible consommation (i.e. 1,4 gO<sub>3</sub>/g DCO éliminée) a été observée par ozonation catalytique après acidification du milieu (Tableau 12). Ce point est important pour le dimensionnement d'une installation, puisque l'ozoneur est le poste le plus important en investissement et en consommation énergétique.

Les résultats du traitement en continu vis-à-vis du DIDAC et du digluconate de chlorhexidine dans l'effluent du CHU sont affichés dans la Figure 20.

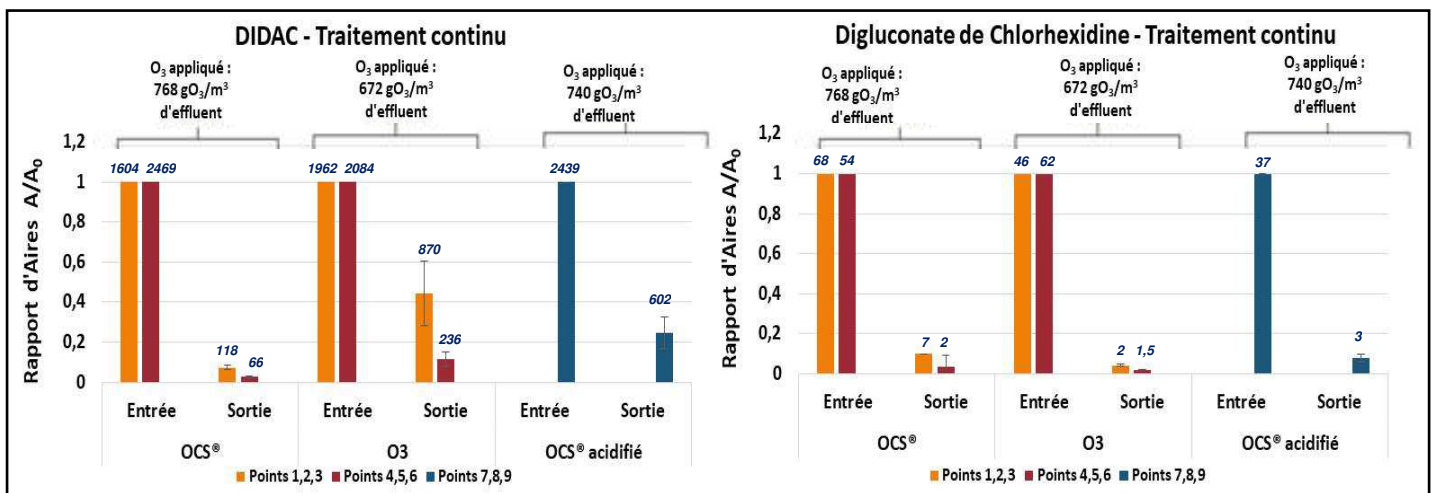


Figure 20 : Evolution du DIDAC et du digluconate de chlorhexidine lors du traitement de l'effluent CHU avec le pilote terrain. (Les valeurs affichées en italique correspondent aux concentrations moyennes en biocides obtenues suite aux 3 prélèvements exprimées respectivement en µg/L)  
Source des données : SEREP-Technavox et IC2MP

Lorsque le bis(aminopropyl)laurylamine 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 DIDAC et le digluconate de chlorhexidine sont encore détectables après traitement. Le taux d'élimination du digluconate de chlorhexidine est proche de 90% pour les trois conditions appliquées. De plus grandes différences sont observées entre les conditions testées pour le DIDAC. Pour ce composé, l'ozonation catalytique semble conduire à un meilleur rendement d'élimination que l'ozonation seule. Une baisse de pH ne semble pas favoriser l'élimination de cette molécule.

➤ Suivi des sous-produits

Aucun sous-produit du bis(aminopropyl)laurylamine et du digluconate de chlorhexidine n'a été observé lors de l'étude pilote menée dans l'effluent du CHU. En revanche, dans le cas du DIDAC, plusieurs produits de transformation ont pu être détectés. La Figure 21 montre, pour ces sous-produits, les intensités obtenues après ozonation et ozonation catalytique lors de l'analyse par LC-MS.

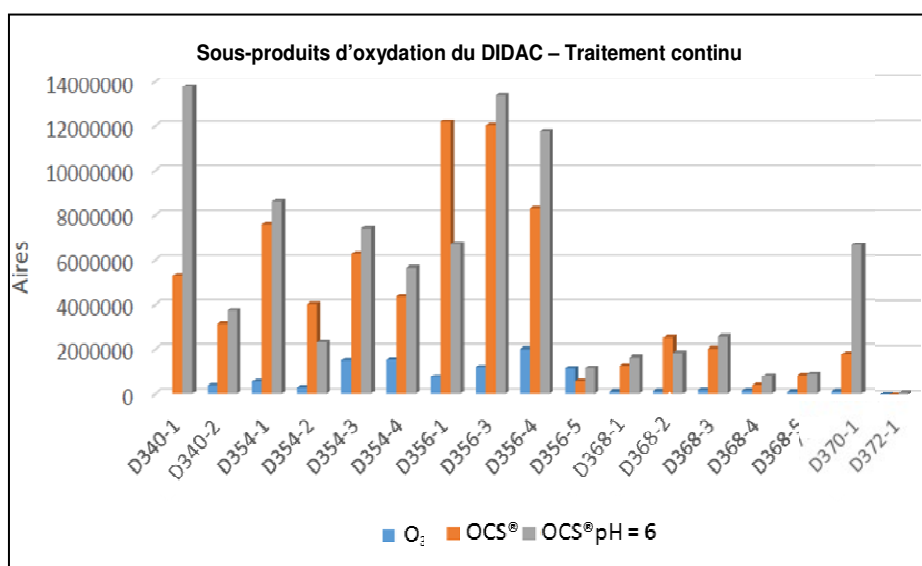


Figure 21 : Intensité des sous-produits d'oxydation du DIDAC observés lors de l'étude pilote menée sur l'effluent du CHU : doses d'ozone appliquées de 672, 768 et 740 gO<sub>3</sub>/m<sup>3</sup> d'effluent respectivement pour l'ozonation seule, l'OCS® et l'OCS® pH 6 (Pour une meilleure lisibilité des résultats, les aires affichées dans cette figure pour le composé D 340 ont été divisées par 10).  
Données : LCM

Comme lors des expériences menées en laboratoire dans l'eau du robinet (Figure 8), ces résultats montrent que 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.

➤ Suivi de l'écotoxicité

Concernant l'écotoxicité, des mesures d'inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri* ont été réalisées sur certains échantillons en sortie du pilote. La Figure 22 montre les résultats obtenus pour ces tests pour une dilution au 1/10 des échantillons au contact des bactéries.



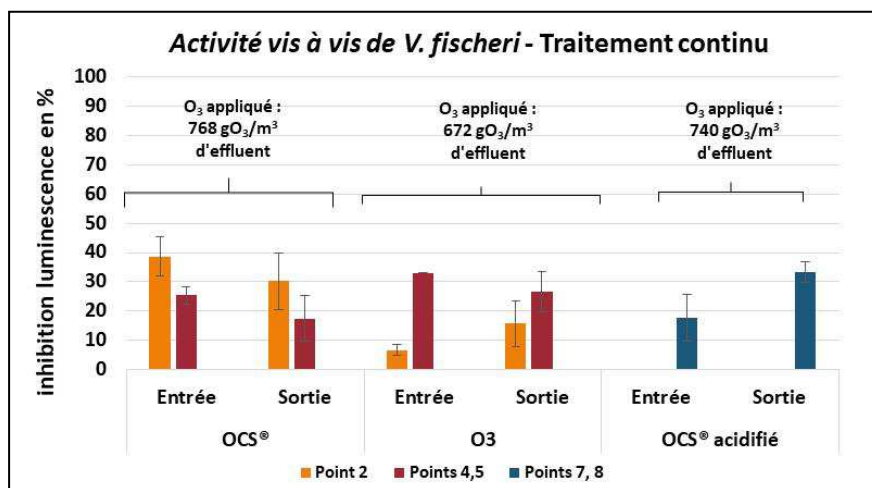


Figure 22 : Evolution de l'écotoxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri* avant et après traitement de l'effluent du CHU. (résultats obtenus pour une dilution au 1/10 des échantillons au contact des bactéries)  
Source des données : IC2MP

Dans ces conditions, des valeurs comprises entre 7% et 35% d'inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri* ont été mesurées sur les effluents du CHU avant traitement. Pour chaque essai, peu d'évolution de l'écotoxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri* a été observé après ozonation et ozonation catalytique.

Parallèlement à ces tests, pour une meilleure évaluation de l'activité biologique des échantillons, quelques mesures de toxicité ont également été réalisées sur *Daphnia magna Straus* et *Pseudokirchnella subcapitata*. Pour ces deux essais, les résultats présentés dans le Tableau 13 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 donc lorsque la toxicité diminue (contrairement aux résultats obtenus pour *Vibrio fischeri* qui indiquent un pourcentage d'inhibition de la luminescence obtenu pour un taux de dilution donné qui augmente avec la toxicité).

Tableau 13 : Ecotoxicité vis-à-vis de *Daphnia magna Straus* et *Pseudokirchnella subcapitata* lors du traitement de l'effluent CHU. Dose d'ozone appliquée : 670 gO<sub>3</sub>/m<sup>3</sup> - 770 gO<sub>3</sub>/m<sup>3</sup>.

Points	O <sub>3</sub>		OCS®		OCS® effluent acidifié	
	0	5	0	4	0	2
<i>Daphnia magna Straus</i> EC <sub>50</sub> /24h en %	16,8	86,0	-	> 90,0	17,7	> 90,0
<i>Pseudokirchnella subcapitata</i> EC <sub>50</sub> /72h en %	25,9	65,4	24,5	72,2	8,7	70,0

Source des données : Veolia Eau et IC2MP

Lors de la réalisation de ces tests, contrairement aux résultats obtenus avec *Vibrio fischeri*, une nette diminution de l'activité vis-à-vis de *Pseudokirchnella subcapitata* et de *Daphnia magna Straus* est observée après traitement de l'effluent par ozonation ou ozonation catalytique.

### 2.2.3.2. Etude du traitement de l'effluent de la blanchisserie

#### ➤ Suivi des paramètres globaux et des biocides

Comme pour l'effluent du CHU, **des essais préalables en mode semi-continu** ont précédé les essais en mode continu dans l'effluent de la blanchisserie. Dans ces conditions, une dégradation rapide dès les premiers points de prélèvements a été observée dans le cas du bis(aminopropyl)laurylamine. Pour le DIDAC et le digluconate de chlorhexidine, les résultats obtenus sur le pilote en mode semi-continu sont présentés dans la Figure 23. Dans cette matrice, l'élimination des composés étant plus lente que dans la matrice CHU, un traitement par ozonation catalytique après ajustement des paramètres d'ozonation (« OCS® adapté ») a également été testé. Dans ces conditions, une élimination totale du digluconate de chlorhexidine a été observée dès le premier point de prélèvement.



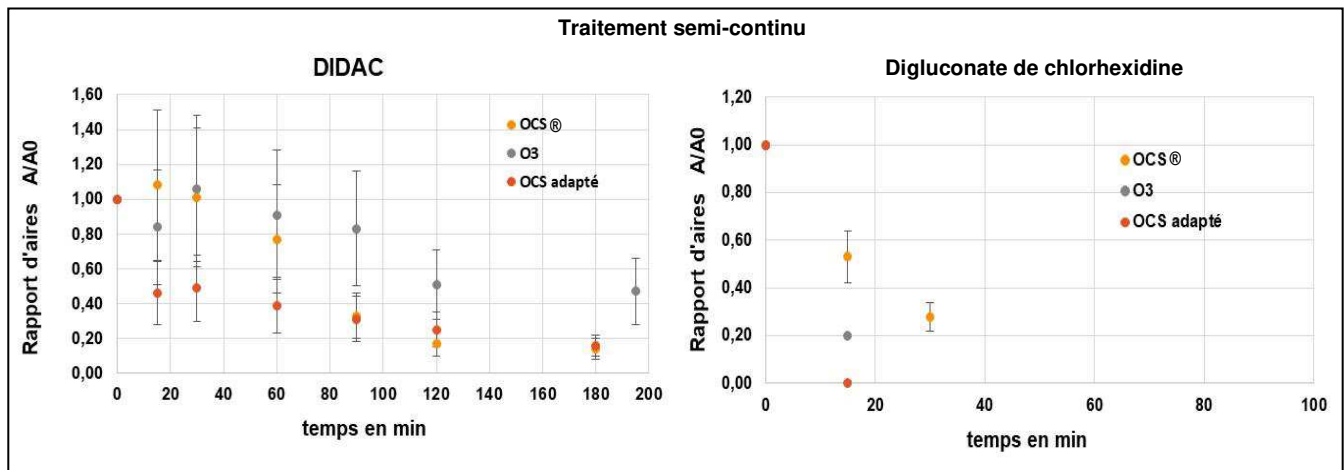


Figure 23 : Degré de dégradation du DIDAC et du digluconate de chlorhexidine pendant le traitement en semi-batch de l'effluent de la blanchisserie par ozonation et ozonation catalytique : OCS@ : 12 mgO<sub>2</sub>/L<sub>effluent</sub>/min ; [DIDAC]<sub>0</sub> = 3374,0 ± 267,7 µg/L ; [digluconate de chlorhexidine]<sub>0</sub> = 37,7 ± 5,4 µg/L ; DCO<sub>0</sub> = 1562 mgO<sub>2</sub>/L et COT<sub>0</sub> = 438 mg/L ; O<sub>3</sub> : 17 mgO<sub>3</sub>/L<sub>effluent</sub>/min ; [DIDAC]<sub>0</sub> = 2969,4 ± 795,5 µg/L ; [digluconate de chlorhexidine]<sub>0</sub> = 28,3 ± 15,7 µg/L ; DCO<sub>0</sub> = 1338 mgO<sub>2</sub>/L et COT<sub>0</sub> = 330 mg/L ; OCS@ adapté : 17 mgO<sub>2</sub>/L<sub>effluent</sub>/min ; [DIDAC]<sub>0</sub> = 3374,0 ± 267,7 µg/L ; [digluconate de chlorhexidine]<sub>0</sub> = 37,7 ± 5,4 µg/L ; DCO<sub>0</sub> = 1090 mgO<sub>2</sub>/L et COT<sub>0</sub> = 262 mg/L.  
Source des données : SEREP-Technavox et IC2MP

En termes d'impact sur la DCO et le COT, peu de différence sur l'abattement de la DCO a été observé au cours de ces essais en présence ou non du catalyseur (Figure 24). Quelles que soient les conditions opératoires étudiées, 35% d'élimination de la DCO est observé. En ce qui concerne le COT en revanche, un écart important d'abattement suivant le procédé a pu être noté (i.e. 8% en O<sub>3</sub> seul contre 28% en présence de catalyseur).

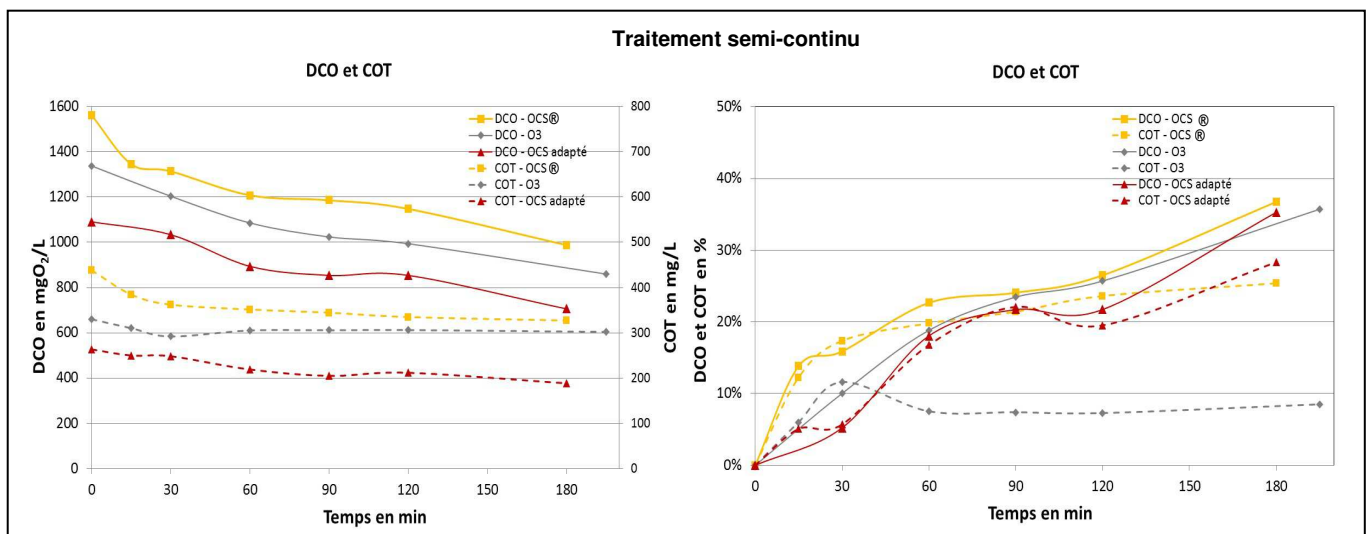


Figure 24 : Suivi de la DCO et du COT pendant le traitement en semi-batch de l'effluent de la blanchisserie par ozonation et ozonation catalytique : OCS@ : 12 mgO<sub>2</sub>/L<sub>effluent</sub>/min ; [DIDAC]<sub>0</sub> = 3374,0 ± 267,7 µg/L ; [digluconate de chlorhexidine]<sub>0</sub> = 37,7 ± 5,4 µg/L ; DCO<sub>0</sub> = 1562 mgO<sub>2</sub>/L et COT<sub>0</sub> = 438 mg/L ; O<sub>3</sub> : 17 mgO<sub>3</sub>/L<sub>effluent</sub>/min ; [DIDAC]<sub>0</sub> = 2969,4 ± 795,5 µg/L ; [digluconate de chlorhexidine]<sub>0</sub> = 28,3 ± 15,7 µg/L ; DCO<sub>0</sub> = 1338 mgO<sub>2</sub>/L et COT<sub>0</sub> = 330 mg/L ; OCS@ adapté : 17 mgO<sub>2</sub>/L<sub>effluent</sub>/min ; [DIDAC]<sub>0</sub> = 3374,0 ± 267,7 µg/L ; [digluconate de chlorhexidine]<sub>0</sub> = 37,7 ± 5,4 µg/L ; DCO<sub>0</sub> = 1090 mgO<sub>2</sub>/L et COT<sub>0</sub> = 262 mg/L.  
Source des données : SEREP-Technavox

Le Tableau 14 présente les paramètres utilisés lors du traitement de cet effluent en mode continu sur pilote ainsi que les concentrations en biocides et les teneurs en DCO et COT initiales mesurées avant chaque série de traitement. Les concentrations en DIDAC 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. Pour l'effluent de la blanchisserie, la pollution organique (DCO et COT) étant plus importante que celle de l'effluent du CHU (i.e. d'un facteur 4 à 5), plusieurs autres conditions de traitement ont été testées sur le

pilote après ajustement des paramètres de production d'ozone (80 g/m<sup>3</sup> à 140 g/m<sup>3</sup> 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 sur une gamme de 770 gO<sub>3</sub>/m<sup>3</sup> à 2100 gO<sub>3</sub>/m<sup>3</sup> d'effluent pour l'ozonation et l'ozonation catalytique (Tableau 14).

Tableau 14 : Caractéristiques des bâchées de la nouvelle blanchisserie et conditions de traitements paramétrés sur le pilote.

Matrice		Blanchisserie						
Procédé	OCS®	OCS®	O <sub>3</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>3</sub> adapté	OCS® Adapté	OCS® Adapté	
Points	1,2,3	4,5,6	1,2,3	4,5,6	1,2,3	1,2,3	4,5,6	
Conditions opératoires	[O <sub>3</sub> ]gaz en g/m <sup>3</sup> / en %	84 / 6 %	100 / 7 %	80 / 5,6 %	140 / 8,9 %	140 / 9,9 %	140 / 9,9 %	140 / 9,9 %
	Dose O <sub>3</sub> appliquée en gO <sub>3</sub> /m <sup>3</sup> effluent	806	960	768	1344	2100	2100	1732
	Débit gaz ozoné en m <sup>3</sup> /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
	Caractéristiques de l'effluent brut	[DIDAC] <sub>0</sub> 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
[Chorhexidine] <sub>0</sub> 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
[bis(aminopropyl)laurylamine] <sub>0</sub> 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 <sub>2</sub> /L		1502	1514	1164	1264	1164	1078	986
COT en mg/L		428	423	230	300	344	289	260
O <sub>3</sub> consommé et DCO éliminée	O <sub>3</sub> consommé en gO <sub>3</sub> /m <sup>3</sup> effluent	451	538	422	672	643	810	717
	DCO éliminée (mgO <sub>2</sub> /L)	306	344	288	350	430	508	388
	Rendement d'élimination de la DCO en %	20	23	25	28	37	47	39
	O <sub>3</sub> consommé en gO <sub>3</sub> /g DCO éliminée	1,6	1,7	1,5	1,9	1,6	1,7	1,8

\*OCS® avec deux colonnes de catalyseur

Source des données : SEREP-Technavox et IC2MP

Les Figures 25, 26 et le Tableau 14 présentent les résultats obtenus dans ces conditions pour les paramètres globaux et les biocides.

Dans le cas des paramètres globaux, la consommation d'ozone par m<sup>3</sup> d'effluent est plus importante pour la blanchisserie que pour le CHU. Cependant, ces résultats montrent que la DCO de la blanchisserie est moins réfractaire aux traitements que celle de l'effluent du CHU. Pour cette matrice en effet, moins de 2 gO<sub>3</sub>/gDCO éliminée sont consommés quelles que soient les conditions d'oxydation étudiées. Après ajustement des conditions d'oxydation (i.e. utilisation de doses d'ozone appliquées plus importantes plus adaptées à cet effluent), de plus forts taux d'élimination de la DCO et du COT sont observés. Dans ces conditions, comme dans l'effluent du CHU, de meilleurs pourcentages d'abattement de la DCO sont observés en présence de catalyseur.

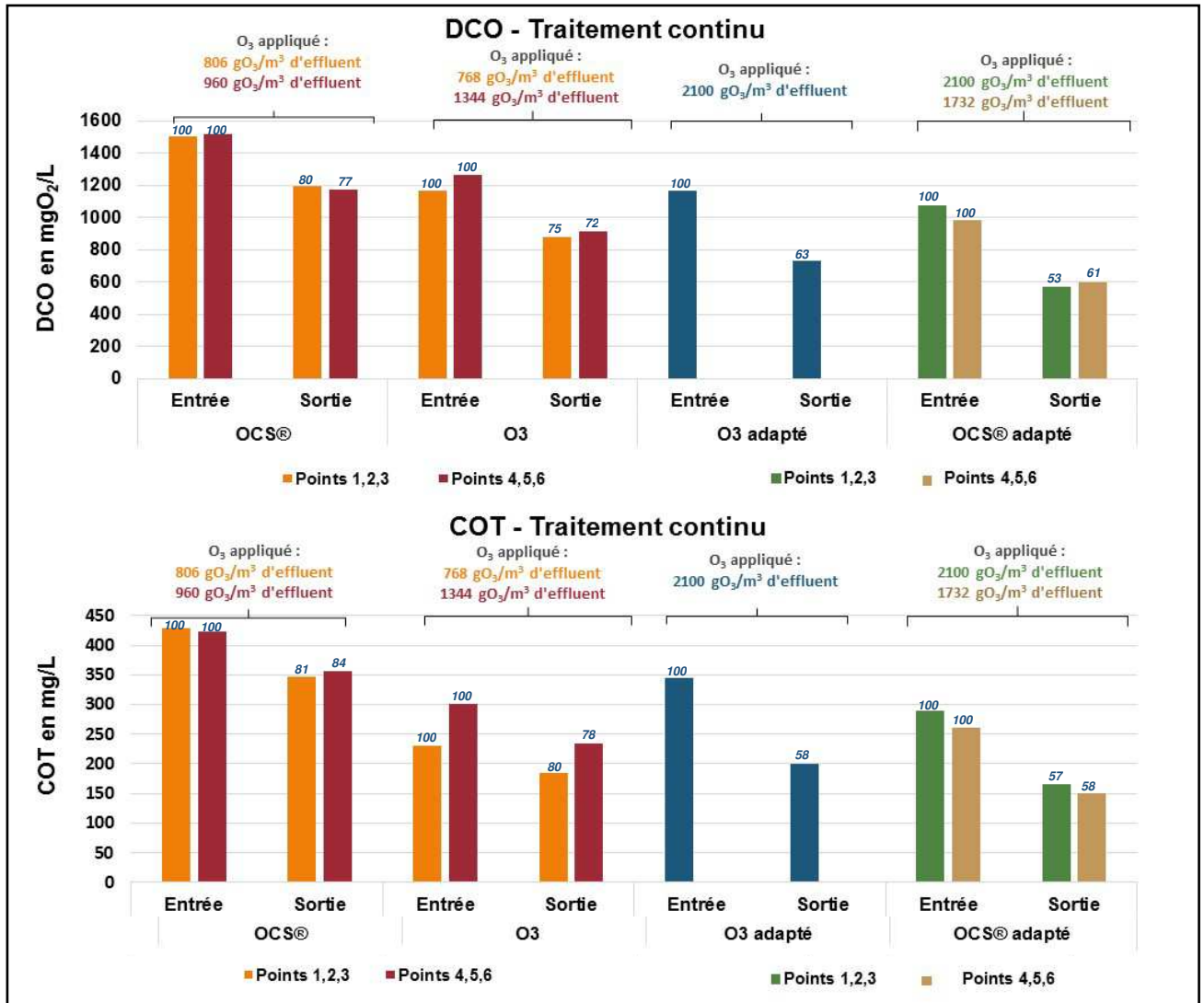


Figure 25: Evolution de la DCO et du COT lors du traitement de l'effluent Blanchisserie avec le pilote terrain (Les valeurs affichées en italique correspondent aux valeurs moyennes de pourcentage de COT et DCO restant après traitement suite aux 3 prélèvements)  
 Source des données : SEREP-Technavox

Dans le cas des biocides, seul le DIDAC a été observé après traitement dans ces effluents. La Figure 26 présente les résultats obtenus pour ce composé.

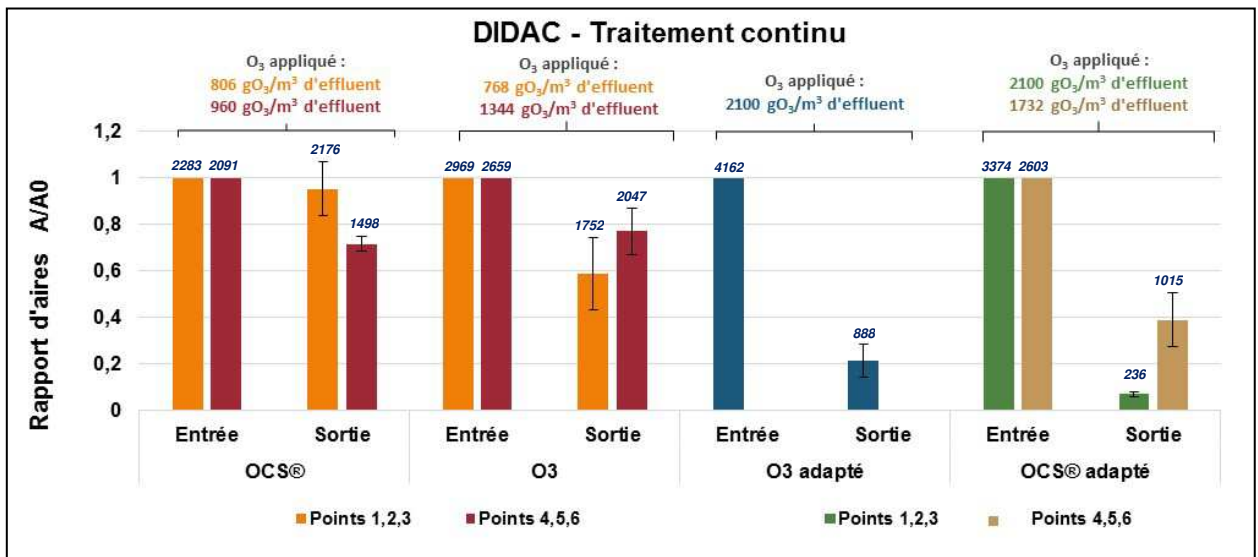


Figure 26 : Evolution du DIDAC lors du traitement de l'effluent Blanchisserie avec le pilote terrain. (Les valeurs affichées en italiques correspondent aux concentrations moyennes en biocides obtenues suite aux 3 prélèvements exprimées respectivement en µg/L)  
 Source des données : SEREP-Technavox et IC2MP

Ces résultats montrent, pour des doses d’ozone appliquées similaires à celles utilisées pour l’effluent du CHU (768 gO<sub>3</sub>/m<sup>3</sup> à 800 gO<sub>3</sub>/m<sup>3</sup> d’effluent), une efficacité comparable pour l’ozonation et OCS®. Dans ces conditions, les pourcentages d’élimination du DIDAC (Figure 26) sont en accord avec les données des expériences en mode semi-continu réalisées en laboratoire (Figure 11) et sur pilote (Figure 23).

Après ajustement des conditions d’oxydation, comme pour les paramètres globaux, de plus forts taux d’élimination du DIDAC (60% à 93% d’élimination) sont observés. Dans ces conditions, l’expérience d’ozonation catalytique pour une dose appliquée sur l’effluent de 2100 gO<sub>3</sub>/m<sup>3</sup> montre les meilleurs résultats de traitement de l’effluent vis-à-vis de ce composé (93% d’élimination).

➤ Suivi des sous-produits

Comme lors des essais réalisés sur l’effluent du CHU, aucun sous-produit du bis(aminopropyl)laurylamine et du digluconate de chlorhexidine n’a été observé lors de l’étude pilote menée sur l’effluent de la blanchisserie. En revanche, plusieurs sous-produits du DIDAC ont été observés.

Lors des essais d’ozonation et d’ozonation catalytique, moins de sous-produits d’oxydation du DIDAC sembleraient se former dans les conditions adaptées (Figures 27 et 28). Et en présence du catalyseur, de moins grandes intensités en produits de transformation sont observées pour les plus fortes doses d’ozone appliquées (i.e. points 1,2,3). Ceci pourrait en partie s’expliquer par leur oxydation dans ces conditions.

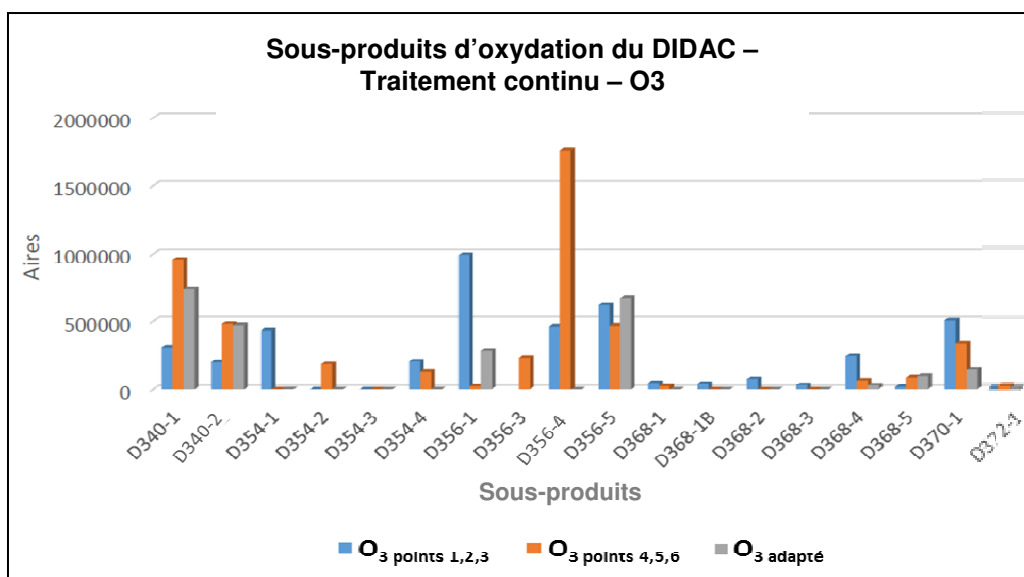


Figure 27 : Sous-produits d’oxydation du DIDAC observés lors du traitement par ozonation seule de l’effluent de la blanchisserie : doses d’ozone appliquées de 768, 1344 et 2100 gO<sub>3</sub>/m<sup>3</sup> respectivement pour O<sub>3</sub> points 1,2,3, O<sub>3</sub> points 4,5,6 et O<sub>3</sub> adapté (Pour une meilleure lisibilité des résultats, les aires affichées dans cette figure pour le composé D 340 ont été divisées par 10).  
Source des données : LCM

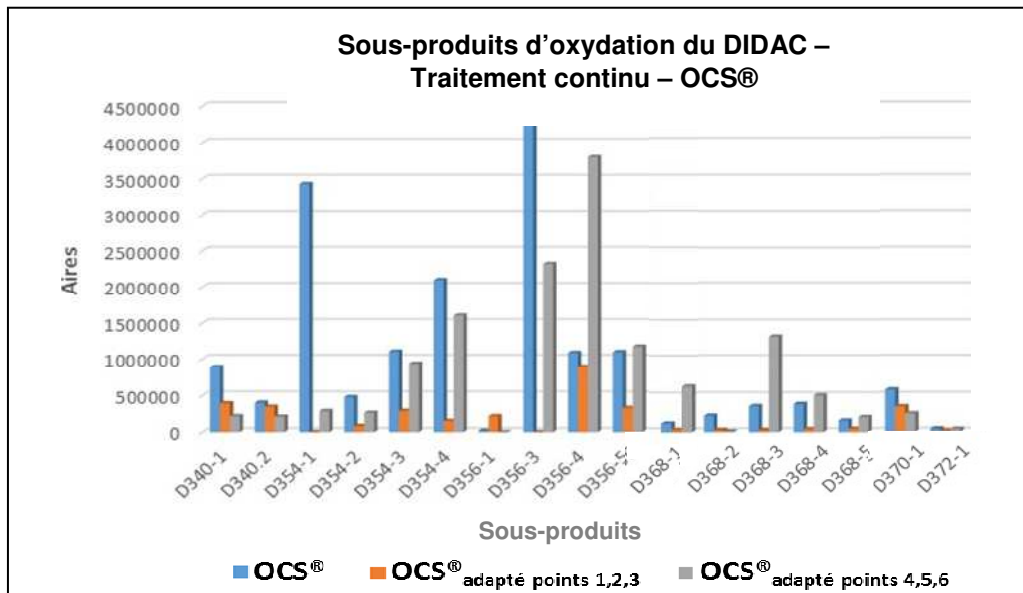


Figure 28 : Sous-produits d'oxydation du DIDAC observés lors du traitement par ozonation catalytique de l'effluent de la blanchisserie : doses d'ozone appliquées de 806, 2100 et 1732 gO<sub>3</sub>/m<sup>3</sup> respectivement pour OCS®, OCS® adapté points 1,2,3 et OCS® adapté points 4,5,6 (Pour une meilleure lisibilité des résultats, les aires affichées dans cette figure pour le composé D 340 ont été divisées par 10).  
Source des données : LCM

Si l'on compare les résultats obtenus en conditions adaptées, de plus fortes intensités en sous-produits ont été observés lors de l'OCS® pour une dose appliquée sur l'effluent de 1732 gO<sub>3</sub>/m<sup>3</sup> (Figure 29).

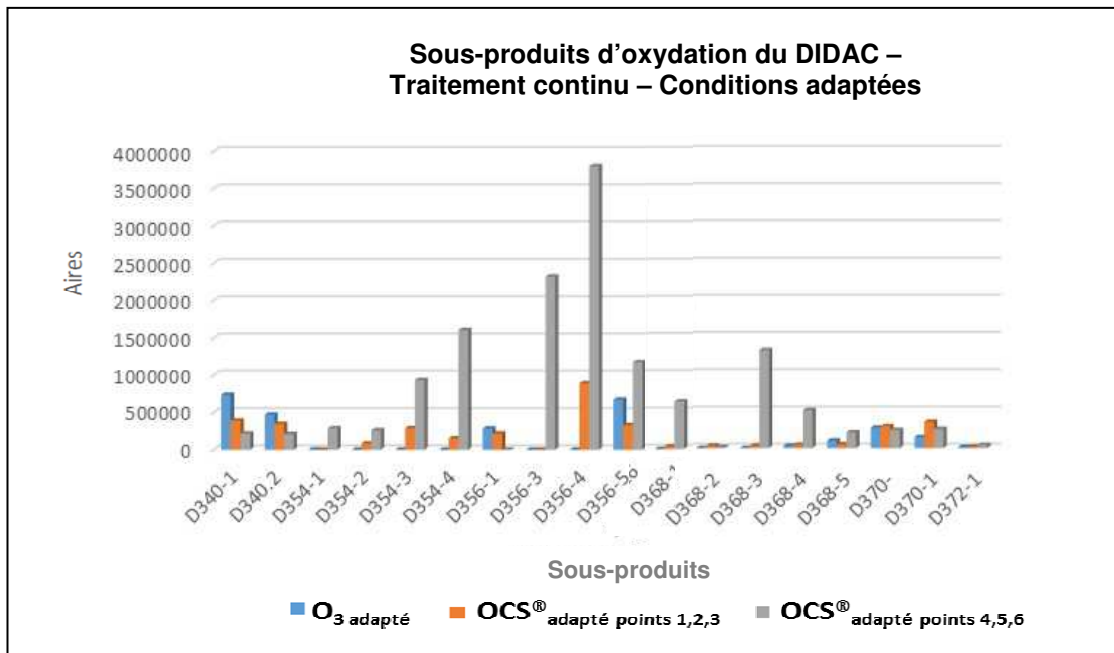


Figure 29 : Sous-produits d'oxydation du DIDAC observés lors du traitement par ozonation et ozonation catalytique en conditions adaptées de l'effluent de la blanchisserie : doses d'ozone appliquées de 2100, 2100 et 1732 gO<sub>3</sub>/m<sup>3</sup> respectivement pour O<sub>3</sub> adapté, OCS® adapté points 1,2,3 et OCS® adapté points 4,5,6 (Pour une meilleure lisibilité des résultats, les aires affichées dans cette figure pour le composé D 340 ont été divisées par 10).  
Source des données LCM

### ➤ Suivi de l'écotoxicité

Pour cet effluent, comme lors du traitement de l'effluent du CHU, des mesures d'inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri* ont été réalisées sur certains échantillons en sortie du pilote. La Figure 30 montre les résultats obtenus pour ces tests pour une dilution au 1/10 des échantillons au contact des bactéries.

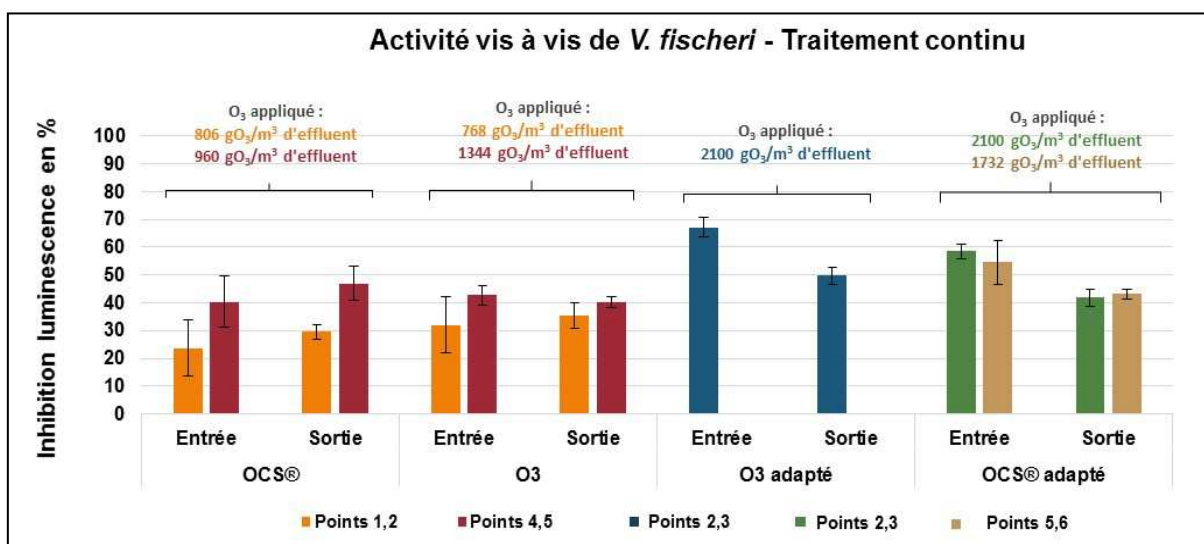


Figure 30 : Evolution de l'écotoxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri* avant et après traitement de l'effluent de la blanchisserie. (résultats obtenus pour une dilution au 1/10 des échantillons au contact des bactéries)  
Source des données : IC2MP

Dans ces conditions, 25% à 67% d'inhibition de la luminescence a été observé pour l'effluent brut. Comme dans l'effluent du CHU, ces résultats montrent peu d'évolution de l'écotoxicité au cours de l'ozonation ou de l'ozonation catalytique de l'effluent de la blanchisserie. Toutefois, les conditions de traitements adaptées sembleraient légèrement diminuer la toxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri*.

Pour cet effluent, seuls un point avant et un point après traitement par OCS® non adapté ont été testés sur *Daphnia magna Straus* et *Pseudokirchnella subcapitata*. Dans ces conditions, une diminution globale de la toxicité aiguë et chronique a été observée (Tableau 15).

Tableau 15 : Ecotoxicité vis-à-vis de *Vibrio fischeri*, *Daphnia magna Straus* et *Pseudokirchnella subcapitata* lors du traitement de l'effluent de la blanchisserie. Dose d'ozone appliquée : 960 gO<sub>3</sub>/m<sup>3</sup>

points	OCS®	
	0	5
<i>Daphnia magna Straus</i> EC <sub>50</sub> /24h en %	4,91	27,9
<i>Pseudokirchnella subcapitata</i> EC <sub>50</sub> /72h en %	0,97	27,5

Source des données : Veolia Eau et IC2MP

## 2.2.4. Interprétation des résultats par approche de type dite « omique »

### 2.2.4.1. Principe et approche employée pour l'interprétation des données

Pour cette partie, certains échantillons prélevés lors de l'étude terrain ont été analysés par une méthode dite « omique » utilisant la spectrométrie de masse à ultra haute résolution. Dans ces conditions, les millions d'ions détectés lors de l'analyse d'échantillons complexes rendent impossible toute analyse « manuelle » des données et en particulier la comparaison entre différents spectres. Des logiciels récents permettent de traiter ces « big data » par une approche statistique. Cette approche ne vise pas à suivre les biocides d'intérêt, ce qui est par ailleurs réalisé en couplage LC-MS, elle a pour objectif de caractériser une éventuelle modification de l'ensemble de la matrice (mélange complexe de substances organiques dissoutes, par exemple) sous l'effet d'un traitement.

L'outil utilisé dans cette étude a été le logiciel Metaboscape® commercialisé par le constructeur de l'instrument FT-ICR (Bruker). Il permet l'analyse statistique d'un grand nombre d'échantillons en se basant sur des analyses de type t-Test (test de Student). Il s'agit d'un test statistique permettant la comparaison des moyennes de deux groupes d'échantillons. Il existe différents



tests de Student, parmi lesquels le t-Test « non-apparié » (pour comparer deux groupes d'échantillons n'ayant *a priori* aucun lien) et le t-Test « apparié » (pour deux groupes d'échantillons jugés dépendants). Dans les deux cas, il s'agit d'un test statistique paramétrique dont la formule dépend de la moyenne et de l'écart-type calculés pour chacun des deux groupes d'échantillons. Dans cette étude nous avons utilisé un test de Student permettant la comparaison de deux échantillons appariés (avant et après traitement), ce qui implique de considérer que les différences entre les séries suivent une distribution normale. Il s'agit de savoir si les moyennes calculées pour chacune des populations sont significativement différentes. L'hypothèse H0 posée pour ce t-Test est qu'il n'y a pas de différence significative entre les échantillons avant et après traitement.

La réalisation d'un test de Student sur deux échantillons non appariés (après traitement par ozonation seule et après traitement par ozonation catalytique par exemple) aurait nécessité de disposer d'au moins 20 échantillons réels, à chacun des temps de prélèvement, pour chacun des deux traitements. Cela n'était pas possible dans le cadre de l'étude pilote. Néanmoins, les comparaisons ont été effectuées en considérant séparément chaque type de traitement sur la base des données disponibles.

L'analyse statistique a été réalisée à partir de listes d'ions répertoriant le rapport  $m/z$  (masse sur charge) et l'intensité pour chaque spectre de masse. Ces listes ont été créées après calibration interne automatique de chaque spectre grâce au mélange étalon ajouté dans la solution avant analyse. Les ions ont été extraits des spectres avec une tolérance de 10 mDa et un seuil de détection de 6 000 000 correspondant à un rapport signal sur bruit S/B de 3. Chaque rapport  $m/z$  répondant à ces critères, tout en étant présent dans au moins 6 analyses sur 10, a été répertorié dans la liste des  $m/z$  utilisés pour l'analyse statistique.

Un test de type t-Test (test de Student) a été appliqué pour identifier les *ions dont l'abondance diffère* significativement entre les échantillons à comparer. Pour chaque ion identifié, la valeur t du test a été calculée selon la formule :

$$t = \frac{m}{s / \sqrt{n}}$$

Avec m : moyenne de la différence entre les deux échantillons à comparer  
s : écart-type de la différence entre les deux échantillons à comparer  
n : taille de la série

Le degré de significativité (p-value) correspond au risque indiqué par la table de Student pour la valeur absolue de t. Plus la p-value est faible, plus la probabilité que l'hypothèse H0 soit vraie est faible (les deux groupes ont donc plus de probabilité d'être significativement différents).

Les résultats issus du t-Test sont représentés sous la forme d'un *volcano plot* (Figure 31 dans le cas de l'effluent du CHU avant et après traitement par OCS® à pH 6) traçant la valeur absolue du logarithme décimal de la p-value ( $-\log_{10} p\_value$ ) en fonction des valeurs du logarithme binaire du *fold change* ( $\log_2 fold\ change$ ) pour chaque ion. Le *fold change* est défini comme suit : soit A l'abondance moyenne d'un ion dans le groupe d'échantillons avant traitement et B l'abondance moyenne du même ion dans le groupe d'échantillons après traitement, le *fold change* correspond à B/A.

Sur la Figure 31, lorsqu'un point est de couleur orange, cela traduit une probabilité plus élevée (en comparaison des points de couleur noire) que l'abondance de l'ion correspondant soit significativement différente entre les spectres de masse des échantillons avant et après ozonolyse. Les points situés sur la gauche du *volcano plot* sont ceux pour lesquels une diminution du signal est observée après traitement et ceux situés sur la droite sont ceux pour lesquels une augmentation du signal est observée. Les points situés dans la partie haute du *volcano plot* sont les plus significatifs (p-Value la plus faible).

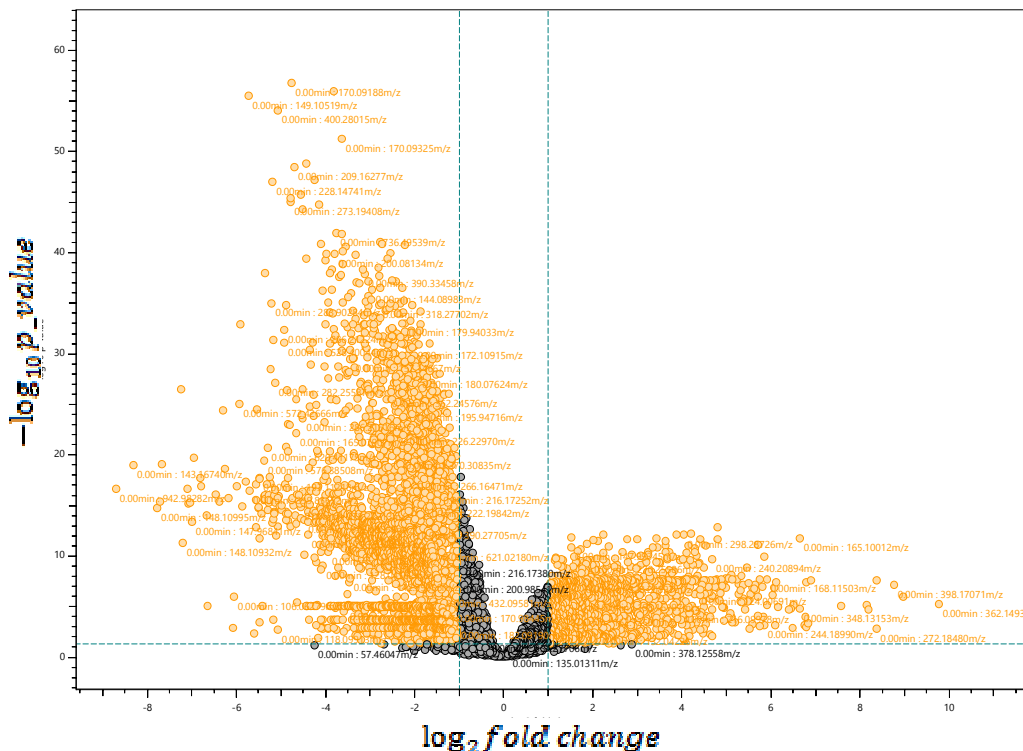


Figure 31 : Volcano plot obtenu suite à la comparaison de l'effluent du CHU avant et après ozonation catalytique à pH 6  
Source des données : LCM

A partir du *volcano plot*, une liste incluant les différents m/z observés, p-value, *fold changes* et abondance de l'ion pour chacune des analyses est extraite et reportée dans un tableau dont ne sont extraits que les mille ions pour lesquels la moyenne des abondances est la plus grande avant traitement ou après traitement. Ce premier tri permet de conserver la majorité du signal sans pour autant diluer l'information obtenue dans un trop grand nombre de données. A titre d'exemple, pour l'échantillon issu du CHU ayant subi un traitement par OCS® aux points 1,2,3, 7000 ions ont été extraits par le logiciel de retraitement statistique Metaboscape®. Cela correspond à un signal ionique total de  $1,9 \cdot 10^{11}$  avant traitement et  $2,1 \cdot 10^{11}$  après traitement. Les sommes des abondances des 1000 plus grands pics avant et après traitement sont respectivement de  $1,6 \cdot 10^{11}$  et  $1,7 \cdot 10^{11}$ . Conserver les milles pics majoritaires revient donc à considérer 86% du signal total de l'échantillon avant traitement, 82% pour l'échantillon après traitement.

Un second tri est effectué en fonction de la valeur de la p-value, une p-value inférieure à 0,01 signifiant que la probabilité que l'hypothèse H0 soit rejetée est de 99%. Il est considéré que les ions pour lesquels la p-value est supérieure à 0,01 ont une abondance qui ne varie pas significativement entre les deux conditions avant et après traitement.

Enfin un troisième tri est effectué sur la base de la valeur du *fold change* afin d'identifier les variations de plus grandes amplitudes (plus la valeur absolue du *fold change* est élevée, plus la différence d'abondance relative entre avant et après traitement est grande). Dans les conditions opératoires utilisées (introduction directe en source ESI), les développeurs de Metaboscape® recommandent de considérer comme non significative une valeur absolue de *fold change* inférieure à 2.

#### 2.2.4.2. Résultats

Au vue des différences supposées dans la composition des effluents (matière organique dissoute), les résultats des deux effluents, CHU et blanchisserie, ont été étudiés séparément.

Pour chacun des effluents, une première comparaison a été réalisée en fonction de la valeur du *fold change*, afin de voir l'effet de chaque traitement sur la variation de l'abondance globale des ions de la matrice. Une seconde comparaison a été effectuée en fonction des gammes de m/z des ions observés.



➤ Etude du traitement de l'effluent du CHU

La Figure 32 représente les **variations d'abondance en fonction des différentes valeurs absolues de fold change** lors du traitement de l'effluent du CHU par ozonation seule, OCS® et OCS® après acidification du milieu. Plus la valeur absolue du *fold change* est grande, plus la variation d'abondance avant et après traitement est grande. Dans cette figure, en raison d'un problème de conservation des échantillons, seuls les résultats obtenus pour les points 4,5,6 sont représentés pour l'ozonation seule. Dans le cas de l'OCS®, la moyenne des valeurs obtenues pour les points 1,2,3 et 4,5,6 a été considérée. En effet, des effets comparables ont été observés pour les 2 expériences (i.e. points 1,2,3 d'une part et 4,5,6 d'autre part).

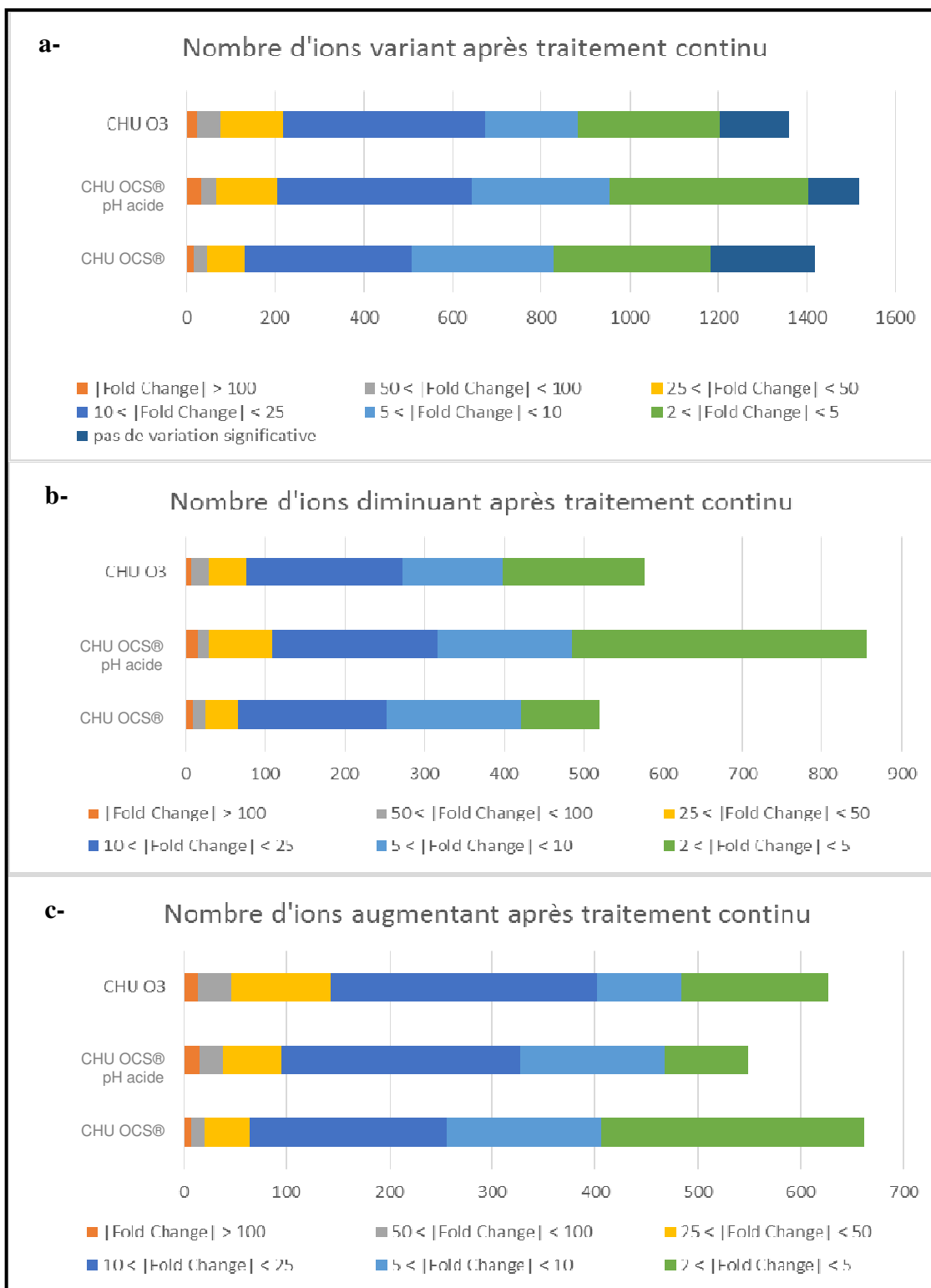


Figure 32 : Proportions d'ions dont l'abondance varie, diminue ou augmente en fonction du fold change suite aux différents traitements de l'effluent du CHU (doses d'ozone appliquées : 672, 768 et 740 gO<sub>3</sub>/m<sup>3</sup> pour l'ozonation, l'OCS® et l'OCS® à pH 6 respectivement)  
Source des données : LCM

Ces résultats montrent que le nombre d'ions dont l'abondance varie est sensiblement le même pour chacun des traitements étudiés (Figure 32a). Suite au traitement par ozonation seule, OCS® et OCS® en milieu acide respectivement, seulement 12%, 17% et 7% des ions les plus intenses ne subissent pas de variation significative de leur abondance (i.e.  $|\text{Fold Change}| < 2$ ). Ces traitements modifient donc considérablement la nature de la matrice, indépendamment ou non de leur effet sur les biocides ciblés. Toutefois, de manière générale, les amplitudes des variations engendrées par les trois traitements sont faibles et associées à des *fold changes* inférieurs à 25, même si une proportion d'ions non négligeable présente une variation d'intensité associée à un *fold change* compris entre 10 et 25, ce qui traduit une modification chimique importante. Enfin, la proportion d'ions ayant une variation significative (i.e.  $|\text{Fold Change}| > 2$ ) est la plus forte pour le traitement par OCS® à pH acide, ce qui signifie que ce traitement est celui qui affecte le plus la constitution chimique globale de la matrice étudiée.

En ce qui concerne les ions dont le signal diminue (Figure 32b), une plus grande quantité d'ions diminue lors du traitement par OCS® en milieu acide. Dans ces conditions, une plus forte diminution globale de l'intensité des ions les plus intenses (i.e.  $|\text{Fold Change}| > 25$ ) est également observée par rapport aux traitements par ozonation seul et OCS®.

Enfin, concernant les augmentations d'abondance (Figure 32c), il peut être noté que le nombre d'ions augmentant significativement est légèrement inférieur suite au traitement par OCS® en milieu acide. De même, une plus forte proportion d'ions augmentant avec un *fold change* compris entre 25 et 50 a été observée suite au traitement par ozonation. Ce dernier traitement conduit à donc une augmentation de certains ions plus importante que les deux autres traitements.

Ainsi, au vu de ces résultats, une plus grande modification de la matrice est observée suite au traitement par OCS® en milieu acide, plus d'ions semblent diminuer et ce de façon plus drastique par rapport aux autres traitements. Lors de l'ozonation seule, l'augmentation des ions semble plus significative que pour les autres traitements.

La Figure 33 compare les **nombre d'ions variant**, ainsi que ceux diminuant ou augmentant suite à chacun des traitements, **par catégories de rapports m/z**.

Ces résultats montrent que globalement c'est au niveau des ions les plus légers (i.e.  $m/z < 300$ ) que les effets des traitements sont les plus significatifs (Figure 33a). En termes, de diminution et d'augmentation (Figures 33b et 33c), il peut être noté que les ions de fort rapport  $m/z$  (i.e.  $> 300$ ) ont plus tendance à diminuer alors qu'une plus grande proportion d'ions de faible rapport  $m/z$  (i.e.  $< 300$ ) semble augmenter. Au cours du traitement, une dégradation des grosses molécules en molécules de plus faible poids moléculaire peut donc être supposée.

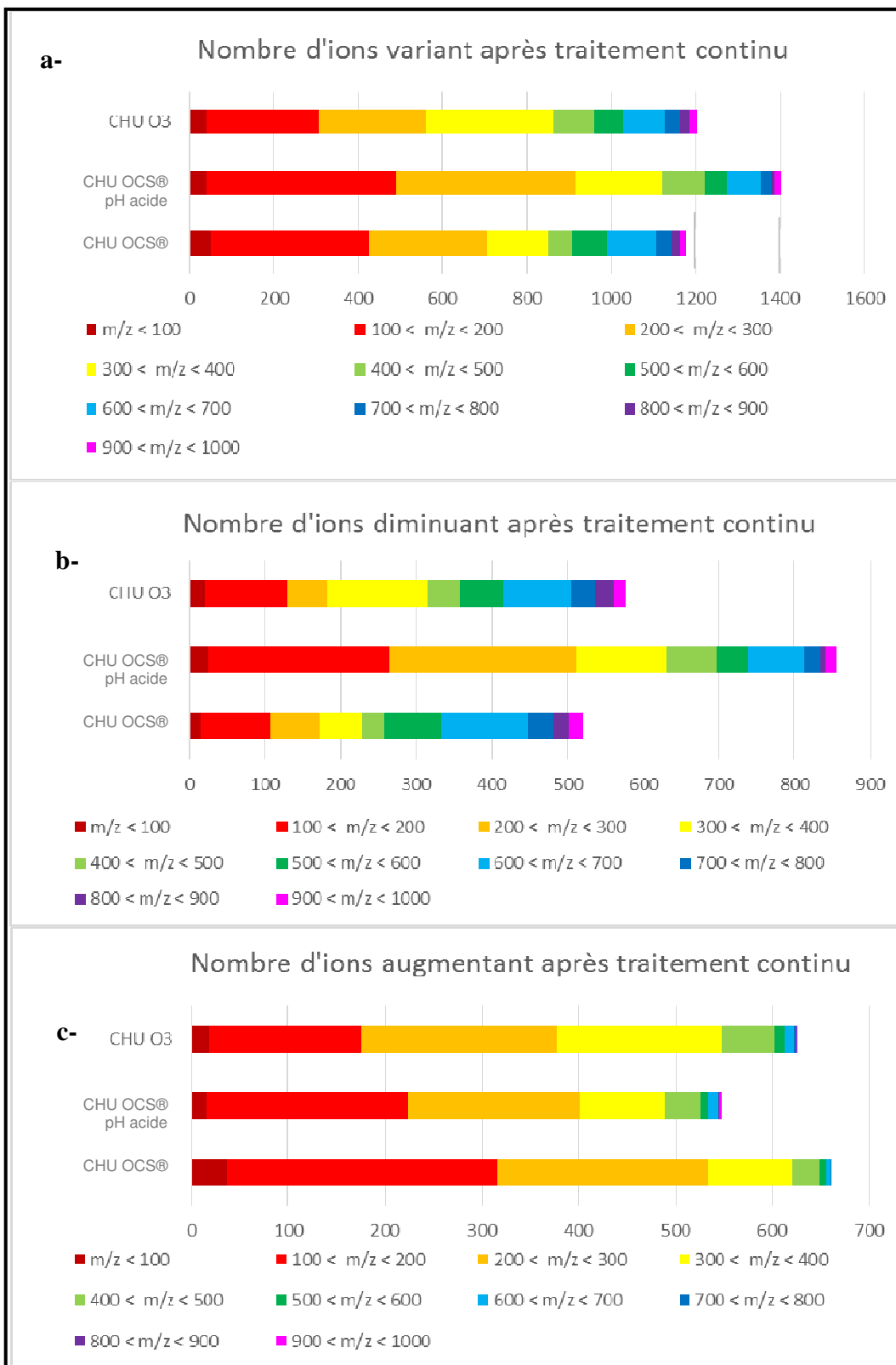


Figure 33 : Proportions d'ions dont l'abondance varie, diminue ou augmente significativement en fonction du rapport m/z suite aux différents traitements de l'effluent du CHU (doses d'ozone appliquées : 672, 768 et 740 gO<sub>3</sub>/m<sup>3</sup> pour l'ozonation, l'OCS@ et l'OCS@ à pH 6 respectivement)  
 Source des données : LCM

➤ Etude du traitement de l'effluent de la blanchisserie

Il a été montré lors de ce travail que les échantillons issus de la blanchisserie contenaient de nombreux polymères qui s'ionisent très facilement et conduisent à un effet de masquage des ions de la matière organique dissoute. Ces polymères, qui n'étaient pas observés pour les échantillons issus du CHU, contribuent à la formation des ions les plus intenses des spectres. Ainsi, la comparaison entre des traitements effectués sur l'effluent du CHU et l'effluent de la blanchisserie n'est pas possible. Dans cette partie, seuls les échantillons de la blanchisserie ont donc été comparés entre eux.

La Figure 34 représente les **variations d'abondance en fonction des différentes valeurs absolues de fold change** lors du traitement de l'effluent de la blanchisserie par ozonation seule et OCS® dans les différentes conditions étudiées. Ces résultats traduisent une modification significative de la composition chimique de la matrice. Quelles que soient les conditions de traitement étudiées, seul un faible pourcentage des ions les plus intenses ne subit pas de variation significative (i.e.  $|\text{Fold Change}| < 2$ ). Globalement peu de différences sont observées d'un traitement à l'autre.

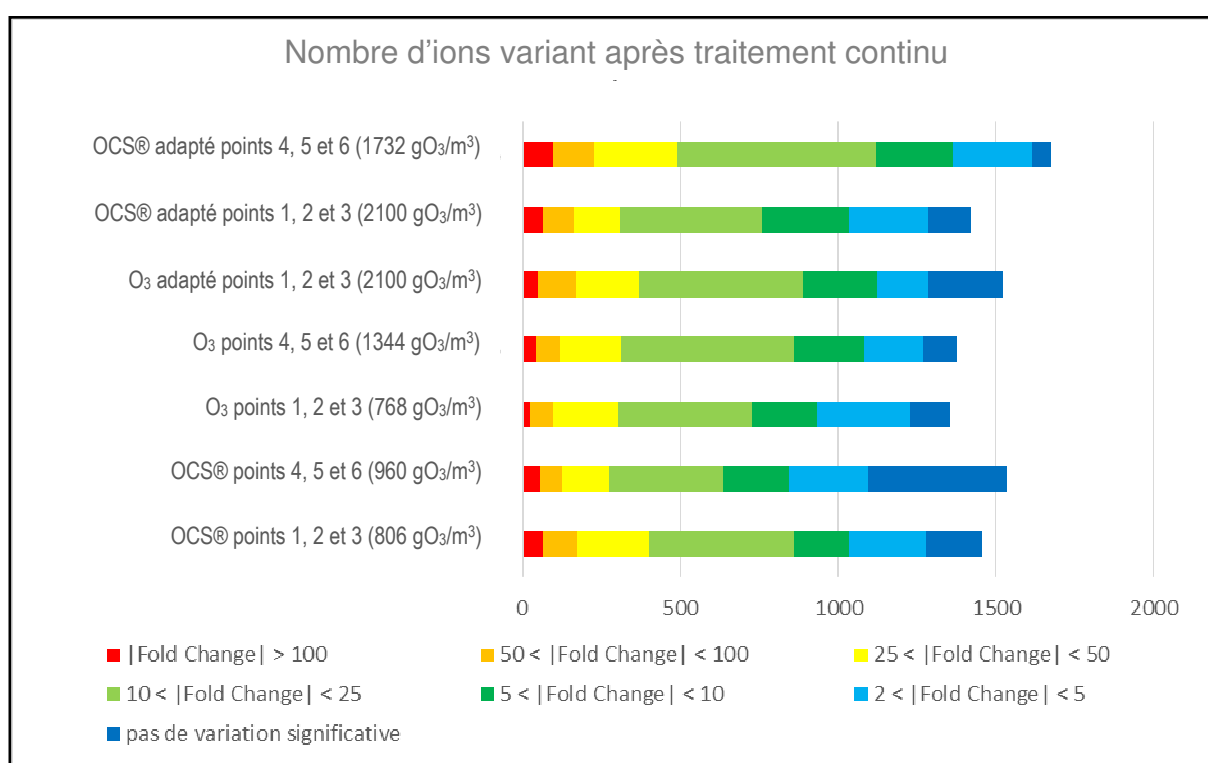


Figure 34 : Proportions d'ions dont l'abondance varie en fonction du fold change suite aux différents traitements de l'effluent de la blanchisserie (les valeurs affichées entre parenthèses correspondent aux valeurs de doses d'ozone appliquées lors du traitement)  
Source des données : LCM

La Figure 35 représente le nombre d'ions diminuant et augmentant en fonction des différentes valeurs absolues de *fold change* lors du traitement de cet effluent par ozonation seule et OCS® dans des conditions de traitement adaptées (i.e. doses ozone appliquées 2100 gO<sub>3</sub>/m<sup>3</sup> d'effluent pour l'OCS® et l'ozonation seule) ou non (i.e. doses ozone appliquées 806 et 768 gO<sub>3</sub>/m<sup>3</sup> d'effluent pour l'OCS® et l'ozonation seule).

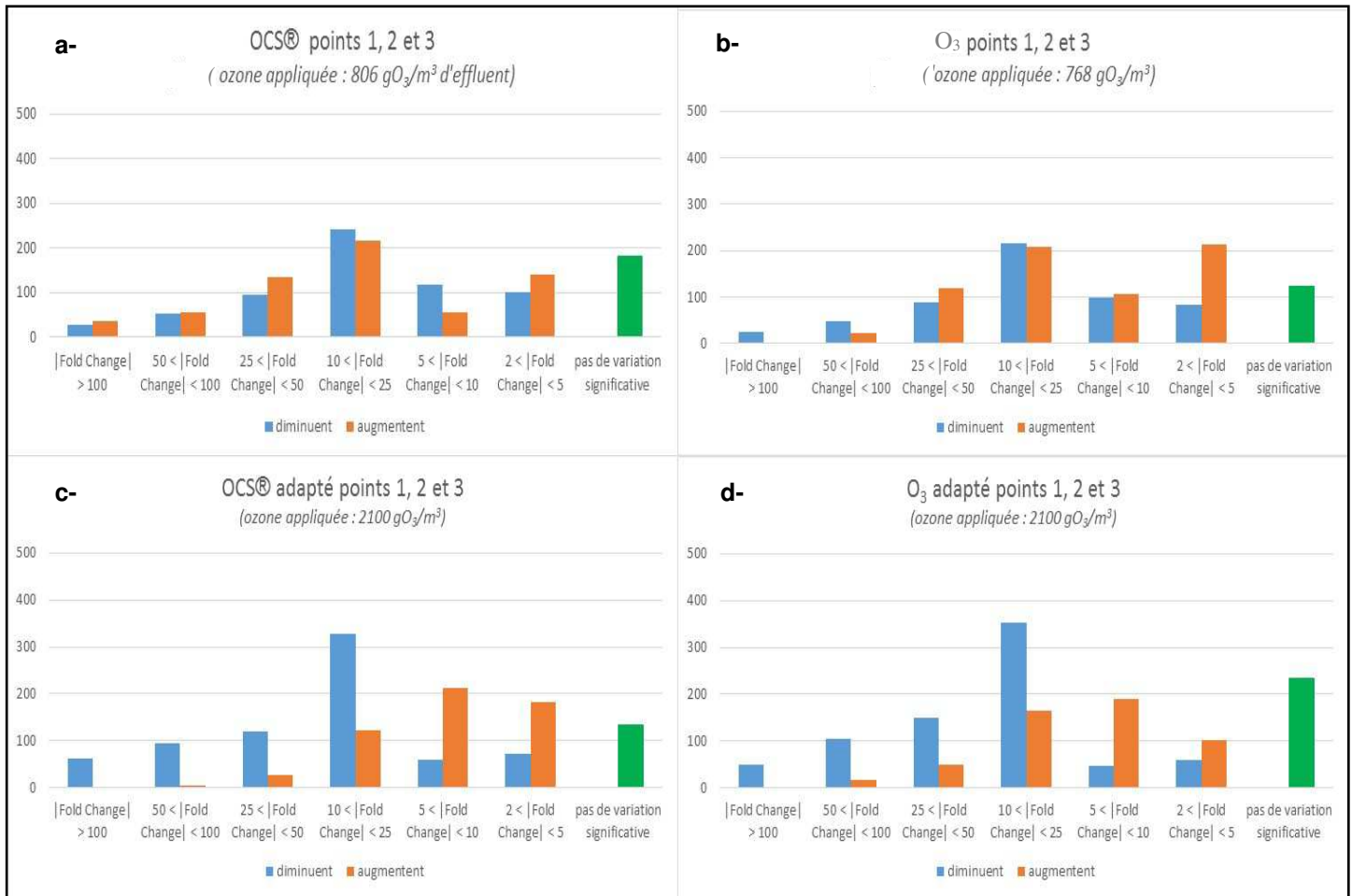


Figure 35 : Nombre d'ions augmentant ou diminuant en fonction du fold change après traitement de l'effluent de la blanchisserie par ozonation seule ou OCS®

Source des données : LCM

Pour des doses d'ozone proches ou équivalentes, ces résultats montrent des tendances comparables dans le cas de l'ozonation seule et l'OCS® (Figures 35a et 35b). Ainsi, en conditions non adaptées, la proportion d'ions qui diminuent est sensiblement la même que celle des ions qui augmentent quels que soient la valeur du *fold change* et le traitement considéré (i.e. ozonation ou OCS®). En conditions adaptées, aucune modification significative n'est notée. Cependant, globalement, une plus grande proportion d'ions qui diminuent et une plus petite proportion d'ions qui augmentent est observée (Figures 35c et 35d). Enfin, pour toutes les conditions de traitement étudiées, les *fold changes* qui concernent le plus grand nombre d'ions sont ceux compris entre 10 et 25.

La Figure 36 compare les **nombre d'ions variant** suite à chacun des traitements, **par catégories de rapports m/z**. Comme pour les *fold changes*, peu de différences sont observées d'un traitement à l'autre au niveau des m/z.

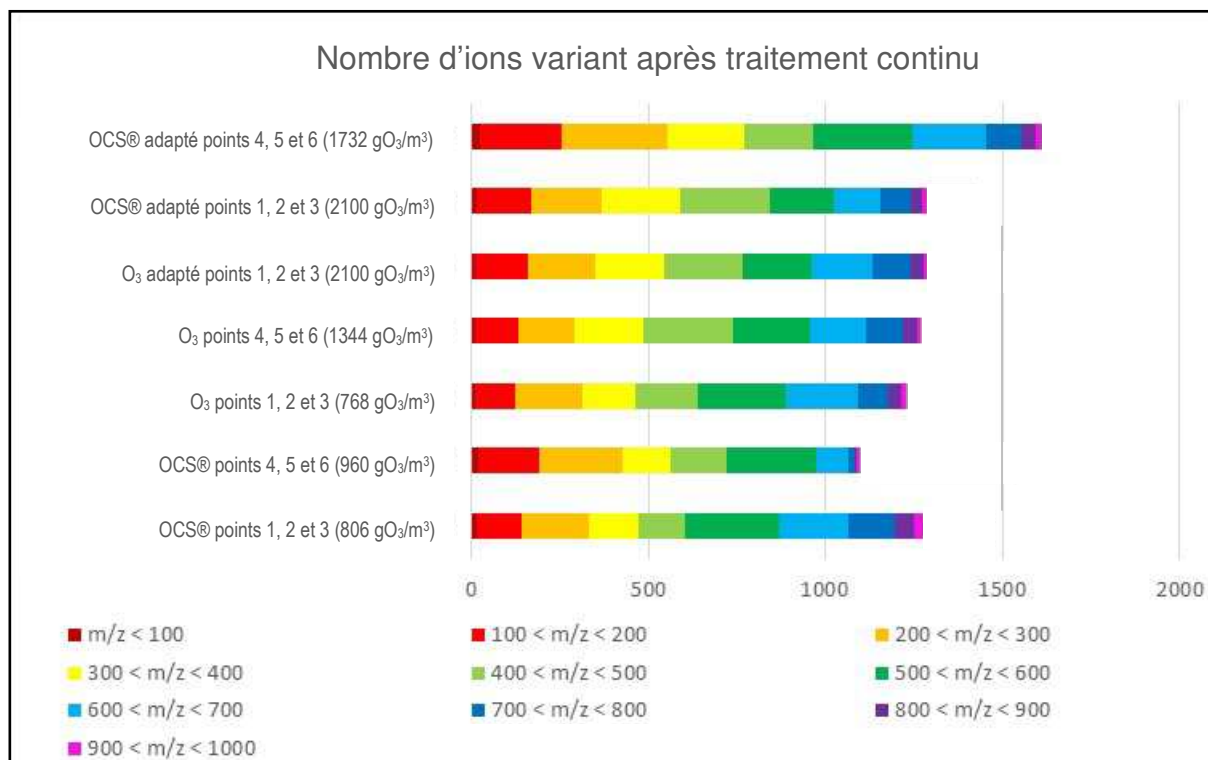


Figure 36 : Proportions d'ions dont l'abondance varie significativement en fonction des rapports m/z suite aux différents traitements de l'effluent de la blanchisserie (les valeurs affichées entre parenthèses correspondent aux doses d'ozone appliquées lors des différents traitements)  
Source des données : LCM

## 2.3. Bilan et évaluation des coûts

Les résultats obtenus lors de cette campagne d'essais ont permis d'établir les conditions opératoires de traitement des biocides dans les eaux du CHU et de la blanchisserie. A partir de ces conditions et des données de fonctionnement du CHU (débits annuels, périodicités,...), le dimensionnement d'une unité de traitement a alors pu être réalisé. Il permet d'avoir une vision sur les OPEX (*operational expenditure ; dépenses d'exploitation*) et les CAPEX (*capital expenditure ; dépenses d'investissement*) d'une unité.

### 2.3.1. Dimensionnement pour le traitement des effluents du CHU et de la blanchisserie

#### ➤ Objectifs et hypothèses de dimensionnement

Les informations collectées auprès des équipes du CHU ont permis de définir **les débits et les valeurs de DCO** à prendre en considération sur chaque site pour le dimensionnement.

Ainsi, au niveau du CHU, une DCO initiale de 450 mg/L correspondant à la DCO moyenne annuelle a été considérée. Pour cet effluent, les flux concernés par la présence des biocides présentent une périodicité à l'échelle de la journée. Afin de limiter le volume des stockages tampons d'effluent, il a été fait le choix de dimensionner les unités de traitement sur la base des débits observés pendant ces pics de production, avec un traitement en mode continu 24 h/24 et 7jours/7. Dans ces conditions, le débit de traitement nécessaire est de 43 m<sup>3</sup>/h.

Au niveau de la blanchisserie, une cuve tampon de 20 m<sup>3</sup> existante en sortie d'usine permet de lisser les productions qui sont périodiques sur la journée. Ainsi, un traitement en mode continu 24 h/24 et 7 jours/7 à 2,2 m<sup>3</sup>/h est nécessaire pour s'adapter à ce site. Concernant la DCO, une

valeur moyenne annuelle de 1300 mg/L est observée au niveau de cet effluent. Cette valeur a été considérée comme valeur initiale pour le dimensionnement.

Sur les 2 sites, des unités adaptées pour l'élimination des biocides ont été proposées pour le dimensionnement. Pour cela, les résultats de l'étude pilote ayant montré que, parmi les 3 biocides étudiés, le DIDAC était le plus réfractaire au traitement, les **conditions d'oxydation nécessaires pour abattre 95% de ce composé** ont été retenues.

Dans le cas de l'effluent du CHU, il a été montré qu'un tel abattement du DIDAC était associé à une élimination de 45% de la DCO au cours de l'OCS® ou de l'ozonation seule avec un gaz oxydant concentré en ozone à 6%. Dans ces conditions, des temps de contact de 30 et 60 min sont respectivement nécessaires pour atteindre les objectifs fixés avec l'OCS® et l'ozone seul (Figures 17 et 18). En termes de consommation en ozone, 2,1 g/g de DCO éliminée ont été observés dans le cas de l'ozonation seule et des valeurs de 1,4 à 2,4 g/g de DCO éliminée ont été relevées en présence de catalyseur suivant le pH étudié. Dans ce dernier cas, une consommation en ozone de 1,4 g/g de DCO obtenue à pH 6 a été retenue pour le dimensionnement. En milieu acide en effet, de meilleurs taux d'abattement sont généralement observés en présence du catalyseur (Karpel Vel Leitner and Fu, 2005 ; Abdelli and Karpel Vel Leitner, 2016). Cette tendance n'a pas été observée dans le cas du DIDAC lors de l'étude pilote réalisée à pH 6. Cependant, un seul essai a été réalisé. Ces résultats mériteraient donc d'être confirmés.

De la même manière, dans le cas de l'effluent de la blanchisserie, un abattement de 95% du DIDAC a pu être associé à une élimination de 45% de la DCO, pour un temps de contact de 126 min avec un gaz oxydant concentré en ozone à 10%, en présence de catalyseur (Figures 25 et 26). Un tel abattement du DIDAC n'a pas pu être obtenu par ozonation seule dans les conditions expérimentales testées lors de l'étude pilote. Des essais complémentaires sur ce point auraient été nécessaires pour déterminer les conditions de traitement adaptées. Toutefois, une extrapolation des résultats obtenus à 45% d'abattement de la DCO laisse envisager un taux de dégradation comparable du DIDAC en présence d'ozone seul pour un temps de contact de 165 min. Dans cette matrice, comme pour l'effluent du CHU, l'unité de traitement par ozonation seule a donc également été dimensionnée pour éliminer 45% de la DCO. En termes de consommation en ozone, une valeur moyenne de 1,7 g/g de DCO éliminée correspondant aux valeurs moyennes obtenues en ozonation seule et OCS® a été considérée.

Le Tableau 16 regroupe les hypothèses prises pour le dimensionnement.

**Tableau 16 : Objectifs et hypothèses de dimensionnement des unités d'OCS® et O3 seul pour le traitement des biocides dans les effluents du CHU et de la blanchisserie**

		Débit de traitement en m <sup>3</sup> /h	[O <sub>3</sub> ] dans le gaz ozoné en %	Temps de contact en min	DIDAC éliminé en %	DCO éliminée en %	DCO initiale en mgO <sub>2</sub> /L
Effluent du CHU	OCS®	43	6	30	95	45	450
	O <sub>3</sub>	43	6	60	95	45	450
Effluent de la blanchisserie	OCS®	2,2	10	126	95	45	1300
	O <sub>3</sub>	2,2	10	165	95	45	1300

Source des données : SEREP-Technavox

#### ➤ Présentation de l'unité d'OCS®

Les unités d'OCS® sont composées :

- d'une partie réacteur avec une cuve de contact, une ligne avec les modules de catalyseur (ligne rose Figure 37), une ligne de circulation de l'effluent (ligne bleue Figure 37) et une ligne de gaz (ligne verte Figure 37). Ces éléments sont placés en extérieur sur un skid de rétention.

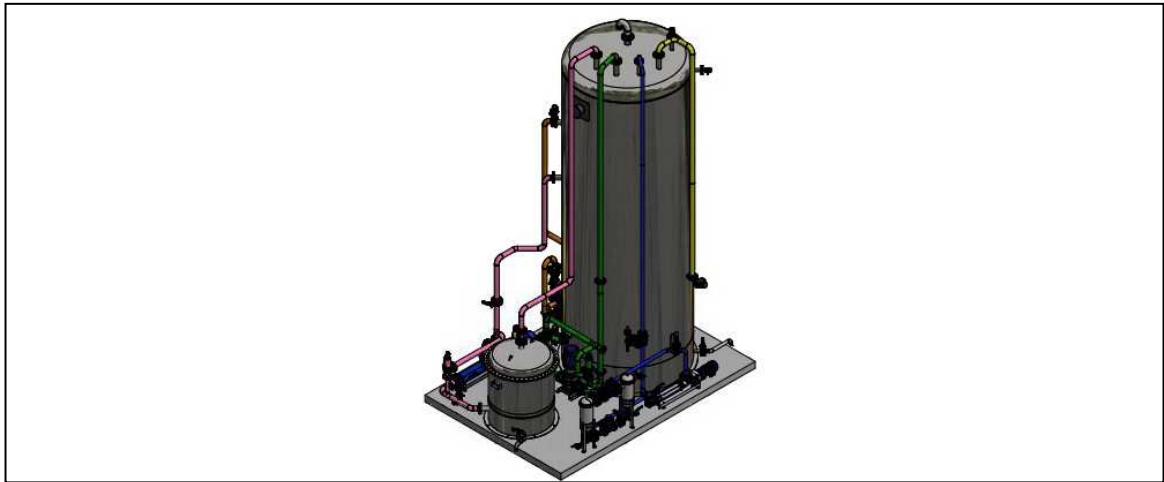


Figure 37 : Partie réacteur de l'unité d'OCS®  
Source des données : SEREP-Technavox

- d'une partie production d'ozone comprenant un ozoneur, son destructeur, une armoire électrique de commande automatique de l'unité. L'ozoneur étant alimenté par de l'oxygène, un stockage d'oxygène ou un PSA peuvent être utilisés. Le générateur d'oxygène type PSA est un appareil de production d'oxygène qui utilise la technologie d'adsorption par inversion de pression (PSA, ou *Pressure Swing Adsorption*) pour concentrer l'oxygène à partir de l'air ambiant. Ce générateur est une solution fiable et économique de production d'oxygène de bonne pureté sur site. Le choix entre les deux solutions se fait en fonction du coût de l'oxygène sur le site. Nous avons ici choisi d'utiliser la solution de stockage d'oxygène en se basant aussi sur le fait que le CHU est un établissement déjà consommateur d'oxygène.

Sur site, ces équipements peuvent être implantés dans un bâtiment comme présenté en Figure 38 ou dans un container équipé à cet effet.

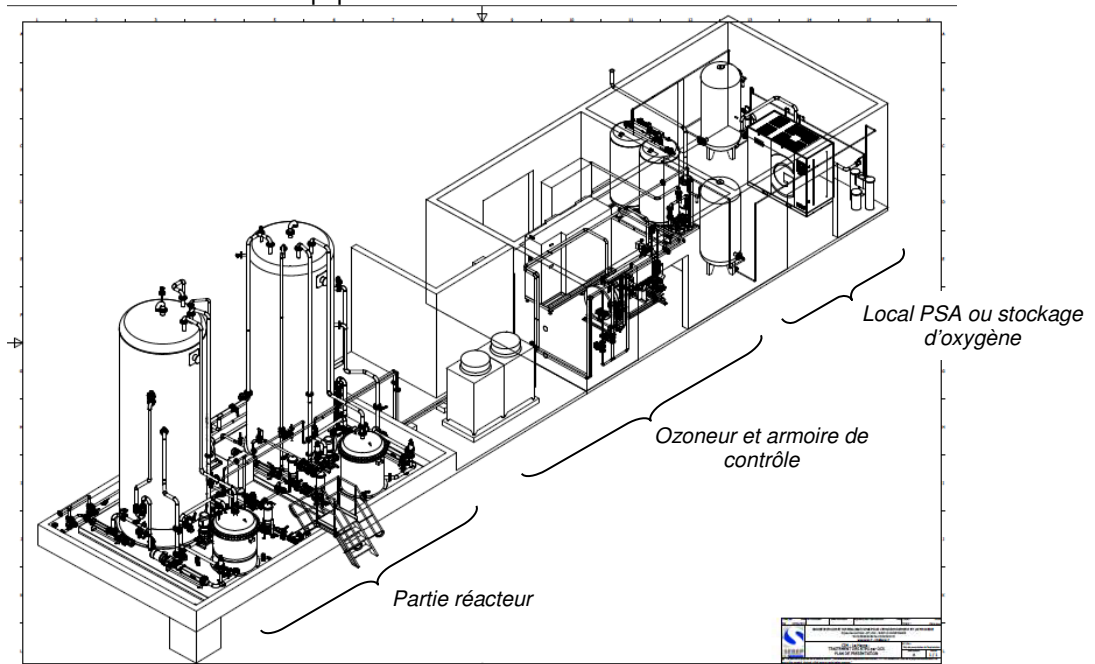


Figure 38 : Plan d'implantation de l'unité d'OCS® pour le traitement de l'effluent, avec la solution PSA dans ce cas  
Source des données : SEREP-Technavox

#### ➤ Dimensionnement pour le traitement des effluents du CHU

Ainsi, à partir des hypothèses présentées dans le Tableau 16, les bases de dimensionnement suivantes ont été définies pour le traitement de l'effluent en sortie générale du CHU (Tableau 17).



Tableau 17 : Bases de dimensionnement des unités d'OCS® et d'O3 seul pour le traitement de l'effluent sortie CHU

CHU		Temps contact min		
		30	60	
		OCS®	O3	
Débit alimentation		m3/h	43,04	43,04
<b>Cuve de contact</b>				
	volume	m3	10,8	21,5
	Nombre de cuve		2,0	2,0
<b>Boucle catalyseur</b>				
	Nombre de module de cata		70	
	Débit global boucle recirculation m3/h		86,1	86,1
<b>Ozoneur</b>				
	Besoin O3	kg/h	12,1	18,1
	Ozoneur type	kg/h	12,4	26,0
	Débit O2	Nm3/h	86	180

Source des données : SEREP-Technavox

Ce comparatif de dimensionnement met en évidence un des atouts du procédé d'OCS® par rapport à l'ozonation seule : la compacité de l'unité, tant sur la taille de la cuve de contact que sur la puissance de l'ozoneur nécessaire.

➤ Dimensionnement pour le traitement des effluents de la blanchisserie

De la même manière, les caractéristiques de dimensionnement présentées dans le Tableau 18 ont été définies pour l'effluent de la blanchisserie à partir des hypothèses de dimensionnement (Tableau 16).

Tableau 18 : Bases de dimensionnement des unités d'OCS® et d'O3 seul pour le traitement de l'effluent de la blanchisserie

Blanchisserie		Temps contact min		
		126	165	
		OCS®	O3	
Débit alimentation		m3/h	2,17	2,17
<b>Cuve de contact</b>				
	volume	m3	4,6	6,0
	Nombre de cuve		1,0	1,0
<b>Boucle catalyseur</b>				
	Nombre de module de cata		32	
	Débit global boucle recirculation m3/h		8,7	8,7
<b>Ozoneur</b>				
	Besoin O3	kg/h	2,2	2,2
	Ozoneur type	kg/h	2,6	2,6
	Débit O2	Nm3/h	18	18

Source des données : SEREP-Technavox

Pour le traitement de cet effluent, la différence entre les procédés réside dans la capacité à minéraliser la matière organique, plus importante avec l'OCS®, se traduisant au niveau du dimensionnement par un réacteur 20% plus grand et une absence de catalyseur pour une unité en ozone seul.

Il n'y a pas de différence du point de vue des CAPEX et des OPEX entre une unité OCS® et une unité O3 si l'on conserve pour unique objectif l'élimination des biocides (Cf paragraphe 2.3.2).

### 2.3.2. Evaluation des coûts

A partir des dimensionnements obtenus pour ces effluents, les valeurs d'OPEX (operational expenditure ; dépenses d'exploitation) et de CAPEX (capital expenditure ; dépenses d'investissement) ont été déterminées dans cette partie du projet.

Pour cela, les éléments suivants ont été pris en compte pour l'évaluation des CAPEX:

- L'ensemble des équipements de cuverie et tuyauterie tout en inox 316 L
- L'ensemble des équipements de groupe de pompage, régulation de débit
- Les châssis des équipements
- La ligne complète d'ozone avec l'ozoneur et ses périphériques (destructeur, groupe froid, analyseurs,...)
- L'armoire électrique de contrôle et commande de l'installation
- Les équipements de sécurité process : turbidimètres, sondes de pH, de température, d'ozone et d'oxygène ambiant
- L'audit, le montage et la mise en service de l'unité

Et en ce qui concerne l'évaluation des OPEX, les paramètres ci-dessous ont été considérés :

- L'électricité pour le fonctionnement de l'ozoneur et de l'ensemble des équipements tels que les groupes de pompage (0.075 €/kW).
- L'oxygène et l'azote pour l'alimentation de l'ozoneur (0,115 et 0,4 €/Nm<sup>3</sup>).
- Le renouvellement annuel d'une fraction de la charge de catalyseur due à une éventuelle usure mécanique de celui-ci.
- Les frais de maintenance et de conduite de l'installation qui sont évalués usuellement dans le milieu industriel à 6% de l'amortissement annuel (amortissement de l'investissement sur 5 ans).

Dans ces conditions, les calculs appliqués aux différents types d'effluents et différents procédés, ont permis d'aboutir à l'approche des coûts présentés dans le Tableau 19. Dans le cas du CHU, une différence significative sur les coûts est observée entre les procédés, notamment du fait des OPEX qui sont de 40% plus faibles en OCS® par rapport à l'ozone seule.

Tableau 19 : Coût du traitement des effluents sortie CHU et Blanchisserie par procédés OCS® et Ozonation seul : OPEX et CAPEX.

		CHU		Blanchisserie	
		OCS®	O3	OCS®	O3
m3 Traité par an		376680		18980	
DCO traité kg par an		75336		11388	
OPEX	Coût Total/an	218 432 €	382 343 €	56 748 €	54 933 €
	Coût /m3 traité	0,58 €	1,02 €	2,99 €	2,89 €
	Coût /kg DCO	2,90 €	5,08 €	4,98 €	4,82 €
CAPEX	Investissement	1180000	1380000	660000	660000
	Coût /m3 traité	0,63 €	0,73 €	6,95 €	6,95 €
	Coût /kg DCO	3,13 €	3,66 €	11,59 €	11,59 €
TOTAUX CAPEX OPEX	Coût /m3 traité	1,21 €	1,75 €	9,94 €	9,85 €
	Coût /kg DCO	6,03 €	8,74 €	16,57 €	16,41 €

Source des données : SEREP-Technavox

De même, la présentation des différents postes de charge dans les OPEX pour chaque filière de traitement est détaillée dans la Figure 39.

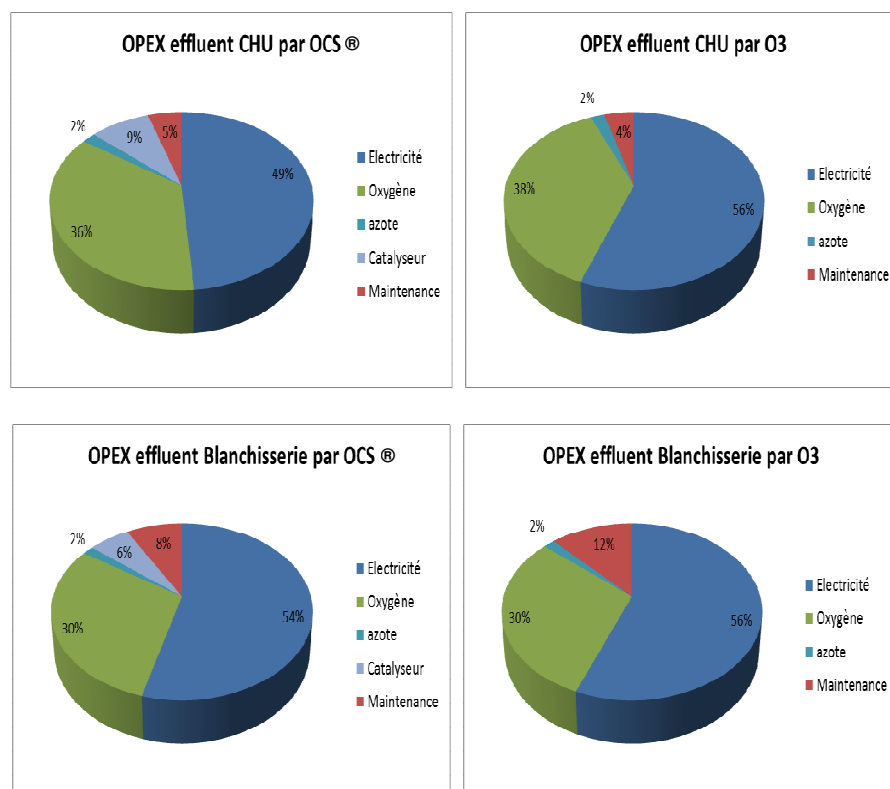


Figure 39 : Répartition des différents postes de charge dans les OPEX pour chaque filière de traitement  
 Source des données : SEREP-Technavox

La répartition des coûts d'exploitation (Figure 39) montre que l'essentiel des coûts se retrouve dans les postes d'électricité et d'oxygène. Cette simulation de coût est faite en considérant des charges et des débits constants sur 24h et sur tous les jours. La possibilité qu'offre ce type d'installation d'une conduite en temps réel en fonction de la variation des flux est un atout important pour la maîtrise des OPEX. Ces valeurs sont donc bien à considérer comme des valeurs maximales.

Il ressort de ces évaluations que le coût au mètre cube pour le traitement de l'effluent du CHU par OCS® est de l'ordre de l'euro/m<sup>3</sup> avec l'amortissement, et de l'ordre de 0,6 €/m<sup>3</sup> une fois l'unité amortie. Une telle unité permet d'éliminer les biocides avec 45% d'abattement de la DCO et permet également d'assurer la désinfection d'un effluent potentiellement chargé en éléments pathogènes. Par ailleurs, parallèlement à cette étude, le suivi de 47 substances médicamenteuses présentes dans l'effluent du CHU (résultats non présentées dans ce rapport) a montré, dans les mêmes conditions de traitement, la capacité de l'OCS® à éliminer ce type de composés (37 des molécules n'étant plus détectées après le traitement et > 95% d'abattement étant observé pour les 10 molécules restantes). Ce type de filière semble donc une solution technique intéressante pour le traitement de ces effluents très spécifiques. Comparée à l'ozonation, la mise en œuvre du procédé OCS® pour le traitement de l'effluent du CHU permet de diminuer les coûts au m<sup>3</sup> traité de l'ordre de 40%. Une utilisation préférentielle de ce procédé pour le traitement des biocides peut donc être envisagée.

Concernant l'effluent de la blanchisserie, le coût de traitement au m<sup>3</sup> de l'effluent est nettement plus élevé que celui du CHU. La part de l'investissement est dans ce cas plus impactant. Dans ce cas de figure, il serait intéressant d'étudier l'utilisation de cette technologie pour un traitement plus poussé permettant ainsi d'envisager une approche de traitement pour un objectif de recyclage de ces eaux en eaux de lavages. L'investissement servirait alors à limiter l'impact sur le prélèvement dans les ressources en eau.

### 3. Proposition de solutions pour limiter les rejets

La prévention des infections nosocomiales est une préoccupation majeure pour les établissements de santé (Otter *et al.*, 2011). Bien qu'il soit indispensable d'être rigoureux et vigilant vis-à-vis des infections et des épidémies hospitalières, ce risque impose une pression sur les services d'hygiène et peut entraîner un emploi accru de produits détergents-désinfectants. L'usage de ces produits peut cependant induire des risques pour la santé (exposition du personnel à des produits chimiques à risque), des risques pour l'environnement (impact sur les rejets en eaux, développement de phénomènes d'antibiorésistance (Chapman, 2003 ; Russel, 2003 ; Dynes *et al.*, 2006 ; Martinez-Caballo *et al.*, 2007 ; SCENIHR, 2009 ; Buffet-Bataillons *et al.*, 2012 ; Jesus *et al.*, 2013 ; Di Nica *et al.*, 2017) ou encore générer des surcoûts (consommation en produits et eau, traitement du déchet...).

A ce jour, l'usage de certains biocides est indispensable et ne peut clairement être totalement écarté. Toutefois, des solutions en vue de réduire l'usage de ces produits détergents-désinfectants en fonction des besoins des services hospitaliers tout en permettant de maintenir une bonne hygiène des surfaces peuvent parfois être proposées.

Ainsi, dans ce contexte, une revue des **solutions alternatives** éventuelles et des bonnes pratiques sur la base des connaissances actuelles et des données des divers intervenants du projet a été réalisée dans cette partie du projet.

Puis, dans un deuxième temps, un **bilan des actions engagées en la matière par le CHU de Poitiers** durant ces dernières années a été établi.

Enfin, des **propositions d'axes d'améliorations** pour la réduction des émissions et l'évaluation de l'efficacité de la démarche sont avancées.

#### 3.1. Techniques alternatives à l'usage des détergents/désinfectants conventionnels

En raison des inconvénients pouvant être associés à l'usage des produits chimiques, des techniques alternatives se sont développées. Chacune de ces techniques présente ses avantages et inconvénients, et ne peut en aucun cas substituer l'usage des produits chimiques pour certaines applications (e.g. pré-désinfection des dispositifs médicaux). La maîtrise du risque infectieux devant rester une des priorités, la disponibilité et la maturité des diverses techniques peuvent donc amener les responsables d'établissements à envisager diverses solutions.

##### 3.1.1. Principe du bionettoyage

L'usage de détergents-désinfectants vise à se débarrasser des germes qui colonisent les surfaces afin de se prémunir de tout risque d'infection de patients et du personnel par des agents biologiques pathogènes. L'application de ces produits intervient lors du bionettoyage des surfaces.

Ainsi, le bionettoyage est le « [...] *procédé destiné à réduire la contamination biologique des surfaces (norme NF X 50-790, 1995)*. Il est obtenu par la combinaison en 3 temps (CPIAS de Nouvelles Aquitaine, 2017) :

- d'un nettoyage,
- de l'évacuation de la salissure et des produits utilisés,
- de l'application d'un désinfectant. »

Au-delà du simple nettoyage des locaux, le terme de bionettoyage est employé pour désigner une opération de nettoyage **et** de désinfection, généralement par l'utilisation d'un produit détergent-désinfectant. En effet, le nettoyage est une opération d'entretien ayant pour vocation d'éliminer les salissures, avant tout macroscopiques. Il est un préalable indispensable à toute désinfection car la présence de salissures interfère avec l'efficacité de la désinfection. C'est un des principes de base de l'hygiène : « On ne désinfecte que des surfaces propres ». Ce seul nettoyage permettrait de réduire de 80% la charge microbienne environnementale, la désinfection permettant d'atteindre 95% à 99% d'efficacité.

La désinfection est quant à elle décrite comme une « opération au résultat momentané permettant d'éliminer ou de tuer les micro-organismes et/ou d'inactiver les virus indésirables portés par des milieux inertes contaminés, en fonction des objectifs fixés. Le résultat de cette opération est limité aux micro-organismes et/ou virus présents au moment de l'opération » (Norme NF T72101, 1981 ; CPIAS de Nouvelle Aquitaine, 2017).

Ainsi, en pratique, le nettoyage constitue une opération déterminante pour l'obtention de surfaces propres et à l'hygiène maîtrisée. L'efficacité des procédés de (bio)nettoyage tient à la combinaison des facteurs de nettoyage suivants, décrits par Sinner (1959) :

- action chimique,
- action mécanique,
- action thermique (température),
- temps d'action.

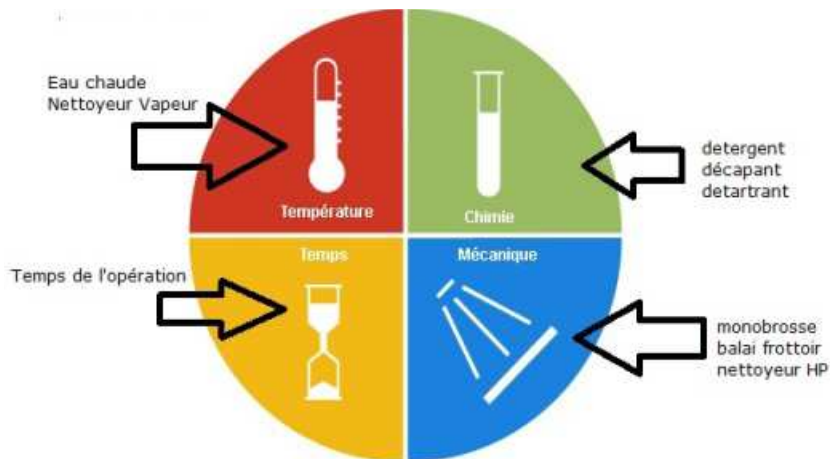


Figure 40 : Théorie du Cercle de SINNER  
Source des données : Sinner, 1959 cité par Carencu, 2017a

Lors du bionettoyage, la réduction d'une des composantes doit être compensée par l'un ou l'autre des facteurs. Ainsi, le développement de techniques de nettoyage appuyant les fonctions mécaniques ou thermiques peut offrir aujourd'hui une alternative possible au « tout chimique » basé sur l'usage de détergents-désinfectants. Cette dernière technique, largement répandue dans les établissements de santé associée à la fois des propriétés de détergence et de désinfection se caractérisant généralement par un bon pouvoir désinfectant (au regard des exigences normatives) mais une faible détergence (CPIAS de Nouvelle Aquitaine, 2017).

Par ailleurs, l'utilisation uniquement de détergents pourrait peut-être également être envisagée pour certaines applications (telles que le nettoyage des sols). Selon certaines études en effet, aucune diminution des taux d'infections nosocomiales associées à un usage en routine de désinfectants de surface pour les sols en comparaison avec un usage uniquement détergent n'aurait été prouvée (Recommendations of CDC and HICPAC, 2003 ; Dettenkofer *et al.*, 2004).

En conclusion, le choix des méthodes doit s'appuyer sur la fonction d'hygiéniste et sa capacité à évaluer les niveaux de risque pour garantir la sécurité du patient et du personnel. L'utilisation adaptée et raisonnée des produits biocides constitue un des premiers leviers d'action. Pour réduire l'usage des détergents désinfectants, deux techniques principales approuvées semblent faire consensus pour leur efficacité. Il s'agit de l'utilisation de textiles microfibres et de la technologie vapeur. Ces deux méthodologies sont déjà mises en œuvre au sein des services de soins du CHU de Poitiers.

### 3.1.2. Action mécanique : textiles microfibrés et méthodes mécanisées

La faculté des microorganismes à s'organiser en biofilm (communauté fixée sur les surfaces), est un facteur qui influe sur l'efficacité des désinfectants. En effet, cette communauté de microorganismes fortement imbriqués et inclus dans une matrice de substances polymériques extracellulaires consolidant la biomasse formée, constitue un écosystème complexe dans lequel différentes espèces de microorganismes s'équilibrent en fonction des conditions du milieu dans lequel il se forme. De plus, de par ses propriétés intrinsèques, le biofilm participe activement aux échanges de matériel génétique entre organismes. Au sein des biofilms, les microorganismes sont donc protégés de l'action des désinfectants : diffusion difficile en fonction de la taille du désinfectant, retenu des désinfectants en fonction de leur charge, épuisement de leur action en fonction de leur mode d'action, résistance due à un phénotype biofilm spécifique, tolérance (plutôt que résistance) des bactéries aux agents microbiocides, présence de bactéries dormantes dites « persisters ».

Ce biofilm, très adhérent représente 99% de la population microbienne, le reste étant des microorganismes sous leur forme plactonique. Les désinfectants étant généralement moins efficaces au niveau des biofilms, des techniques mécaniques peuvent être préconisées au niveau des surfaces. Ces techniques sont efficaces et nécessaires pour un bon nettoyage des surfaces et l'élimination du biofilm (Carenco, 2017b).

#### ➤ Les microfibrés

Les textiles microfibrés ont été conçus de manière à renforcer considérablement l'effet mécanique des fibres sur la surface à nettoyer.

Ces textiles, sous quelque format que ce soit (bandeaux réutilisables (Figure 41), gazes à usage unique...), sont définis par une masse linéique très faible, inférieure à 1 g/10 km (< 1 décitex). Ces fibres de quelques micromètres de diamètres (< 9 µm), de par leur finesse (inférieure à 1 décitex soit 10 fois plus fines qu'un cheveu) et leur densité, décollent facilement les salissures par la force mécanique (frottement sur les surfaces), par absorption capillaire et par attraction statique (balayage à sec) y compris dans les plus petites irrégularités des surfaces (Figure 42).

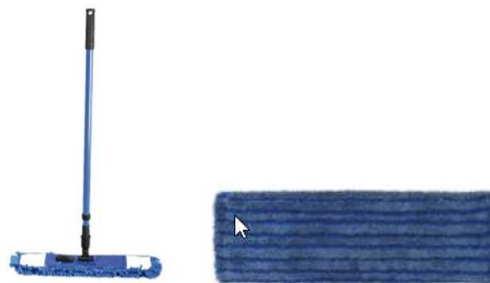


Figure 41 : Exemple de matériel microfibre (bandeau réutilisable)  
Source des données Carenco, 2017a ; Fiche Technique COLDIS

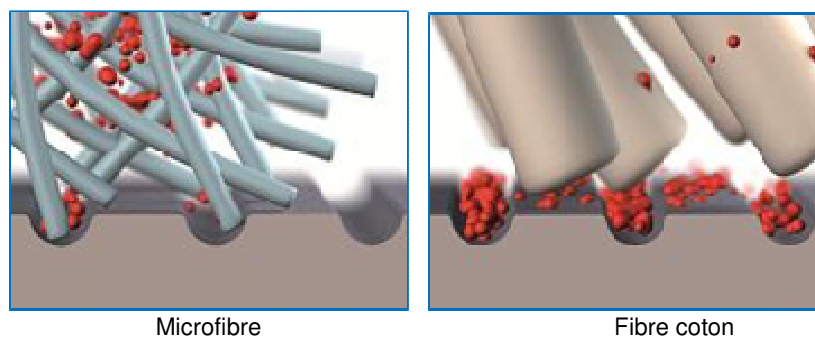


Figure 42 : Microfibre et fibre coton – différence de la taille des fibres et effet mécanique  
Source des données : DECITEX ([www.decitex.com/fr/microfibre](http://www.decitex.com/fr/microfibre))

Lors de leur utilisation, la forte augmentation du pouvoir mécanique permet ainsi de réduire l'usage des fonctions « chimie », « température » et « temps de contact » du cercle de Sinner (Figure 40).

Ces fibres sont généralement composées de polyester, polyamide, polypropylène ou acrylique. Leur action mécanique forte permet, au fil des entretiens, de limiter la formation du biofilm, et d'éliminer le film chimique laissé par l'emploi répété des détergents désinfectants utilisés sans rinçage pouvant contribuer à l'encrassement des surfaces. L'utilisation de ce type de fibres permet ainsi de répondre aux objectifs du (bio)nettoyage et réduire voire éliminer l'utilisation de produits.

Toutefois, ce type de technique n'est pas adapté pour toutes les situations. Ceci est à considérer au regard des zones à risque définies et des indicateurs de surveillance. Ainsi, **pour les sols**, au regard des propriétés de désincrustation et de rétention des particules, les recommandations prônent l'utilisation de la microfibre imprégnée d'eau, en usage de routine, en lieu et place des détergents et détergents-désinfectants (CIAPS de Nouvelle Aquitaine, 2017). En revanche, **pour les surfaces hautes** qui constituent un foyer de transmission manuportée de microorganismes, l'utilisation d'un détergent-désinfectant reste la pratique principale.

Le Tableau 20 récapitule les principaux avantages/inconvénients de ces textiles.

Tableau 20 : Avantages et inconvénients des microfibres

Avantages	Inconvénients
Très bonne action mécanique sur les salissures et sur tout type de surfaces Réutilisables – résistante dans le temps	Incompatible avec l'eau de Javel et les adoucissants textiles
Réduction de la consommation en produits chimiques et en eau (-80%) et temps de séchage réduit : limitation des risques de chutes sur sol mouillé. Ergonomie du poste de travail : 10 fois plus léger que le coton.	Pour le nettoyage des sols, des textiles microfibres à très faible masse linéique induisent une résistance forte incompatible avec l'ergonomie du poste de travail.
Limitation du relargage de particules : induisant une réduction des affections respiratoires allergiques	
Réduction du coût global (environ 60%) de blanchisserie pour le lavage des bandeaux versus lavage des fibres coton.	

Source des données : ARS PACA, 12 juin 2017 ; CPIAS de Nouvelle Aquitaine, 2017

Lors de leur utilisation, des recommandations sont émises quant au processus de lavage/séchage en blanchisserie de ces microfibres réutilisables. Ainsi, l'action mécanique du lavage est à privilégier ; les hautes températures (> 90 °C) et certains produits étant incompatibles avec ces fibres. Le séchage constitue une étape très importante afin que la fibre ne constitue pas un foyer de contamination en germes. La frange se doit d'être complètement sèche avant sa réutilisation.

#### ➤ Laveuses mécaniques

Comme pour les microfibres, l'intérêt des laveuses mécaniques est d'assurer une élimination des salissures adhérentes et du biofilm par une action mécanique forte et un usage raisonné des produits chimiques. L'action mécanique est assurée par la friction rotation de la brosse (ou du disque) de nettoyage et par la pression exercée par la machine sur la surface. L'efficacité est ainsi renforcée par rapport à un nettoyage manuel.

Différents systèmes ont été mis au point afin de s'adapter aux exigences des divers établissements et services. On trouve des auto-laveuses à disque, des équipements mono brosse ou à double-brosse horizontales, avec ou sans batterie (Figure 43). Ces systèmes sont notamment efficaces pour les sols rugueux (de type antidérapant). Elles peuvent être combinées avec un détergent ou utilisées sans produits, l'eau jouant le rôle de lubrifiant.



Mono brosse



Auto laveuse

**Figure 43 : Exemples de dispositifs de nettoyage mécanisés**  
Source des données : Carenco, 2017a

Comme pour les microfibres, les brosses et disques équipant ces dispositifs doivent faire l'objet d'un entretien rigoureux avant réutilisation.

### 3.1.3. Utilisation de la vapeur

Ce procédé met en œuvre un générateur de vapeur d'eau à une température comprise entre 120 °C et 160 °C et une pression de 4 à 6 bars. Les propriétés détergentes de ce procédé sont reconnues sur tout support. De plus, la vapeur induit un effet « biocide » du fait de la température et de la pression osmotique exercées sur les microorganismes (dénaturation des protéines, déstructuration des acides nucléiques, déstabilisation des parois et membranes cellulaires) (Pineau et Desbuquois, 2007). Son spectre d'activité est considéré comme très large. De plus, cette technologie n'induit pas de résistance bactérienne.

En 2004, un groupe de travail de la SF2H a conclu à l'activité bactéricide et lévuricide de la méthode vapeur tout en répondant aux exigences requises pour la désinfection des sols et des surfaces. Un projet de norme (PR NF T72-110) est paru en mars 2018 concernant l'activité biocide de la désinfection des surfaces par la vapeur.

En pratique, la technologie vapeur peut être appliquée à toutes les surfaces (meubles, matériaux, équipements...) selon les prescriptions des fabricants et donc à tous les locaux. Les fabricants ont ainsi développé des gammes de produits permettant une meilleure ergonomie du poste de travail avec des accessoires adaptés aux usages des agents de nettoyage (Figure 44). Parmi ces produits, certains permettant le couplage de la chaleur avec l'action mécanique appliquée par un bandeau microfibre peuvent constituer une solution dont les résultats permettent une maîtrise de l'hygiène des surfaces tout en réduisant considérablement les consommations en eau et/ou les risques pour le personnel en comparaison avec les techniques conventionnelles.

Comme pour les techniques de lavage humide des surfaces et notamment des sols, pour une pleine efficacité du dispositif, un essuyage ou balayage humide des surfaces est nécessaire. Il permet de piéger les poussières et salissures « volatiles » sans les remettre en suspension dans l'air ambiant.





Figure 44 : Exemple de chariot avec dispositif vapeur  
Source des données : CPIAS de Nouvelle Aquitaine, 2017

Sur le terrain, la mise en œuvre de cette technologie sur un établissement nécessite la définition des besoins et des protocoles d'intervention ainsi qu'une formation des équipes utilisatrices (cf. paragraphe 3.3 Retour d'expérience sur les pratiques du CHU). L'investissement pour l'achat du matériel est approximativement amorti grâce aux économies réalisées sur la réduction de l'usage de détergents-désinfectants (Di Majo and Laquaz, 2015).

Cependant, lors de l'utilisation de cette technique, l'encombrement des machines et le temps de préchauffage constituent un inconvénient. Ainsi, leur usage semble réservé au bionettoyage quotidien des secteurs interventionnels et des chambres des services d'hospitalisation (suite au départ d'un patient) et pour l'entretien de fond et des zones difficilement accessibles. Pour le simple nettoyage quotidien des chambres, les limites liées à leur utilisation rendent ces appareils moins pratiques selon les retours d'expérience des agents de service hospitaliers. De plus, des risques de brûlures peuvent être associés à l'utilisation de ces procédés.

Enfin, parallèlement à l'utilisation de la vapeur seule, certains procédés sont également couplés avec l'usage d'un détergent complémentaire. De même, des solutions couplant la vapeur avec du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), un désinfectant oxydant, peuvent également être proposées sur le marché. D'efficacité reconnue pour un usage spécifique de désinfection de matériel (usage localisé), cette solution pour le nettoyage des locaux (dispersion environnementale) impose cependant une évaluation rigoureuse par l'établissement car elle va libérer/vaporiser des radicaux libres très actifs (intervention hors présence humaine).

#### 3.1.4. Autres techniques alternatives en développement

##### ➤ Ozone

L'ozone  $O_3$  est un puissant oxydant, qui en raison de son instabilité est généré *in situ* lors de son utilisation. Actuellement, l'ozone est traditionnellement utilisé en désinfection de l'eau, en industrie agroalimentaire pour la désinfection des emballages, des aliments et chambres froides. Il est également couramment utilisé en blanchisserie où son efficacité permet une réduction de la consommation en produit détergent et des gains énergétiques importants (possibilité de travailler en eau peu chauffée - < 35 °C). Lors de cette dernière application cependant, il a été rapporté des interactions avec des produits lessiviels générant des sous-produits dont l'impact environnemental est à considérer.

En raison de son activité désinfectante, comme pour la vapeur, des dispositifs de terrain utilisant l'ozone ont été développés afin de pouvoir traiter les surfaces. C'est le cas notamment de certaines auto-laveuses équipées d'un générateur d'ozone. Toutefois, au regard des retours d'informations et de la bibliographie concernant les techniques de bionettoyage, l'usage de cette technologie au sein des établissements de santé apparaît à ce jour limité. En effet, l'application de ces techniques pose question quant aux concentrations d'ozone et à la sécurité du personnel intervenant et des patients. Des essais terrain et des garanties prises auprès des fabricants permettront à tout établissement de statuer sur la faisabilité de déployer cette technologie.

## ➤ Technologies UV

Les technologies UV, faisant appel au rayonnement UV de type C, sont classiquement utilisées dans le traitement de l'eau ou de l'air. Ainsi, certaines techniques se sont développées pour l'hygiène des surfaces. Parmi ces techniques, des unités mobiles de désinfection UV utilisées systématiquement hors présence humaine dans le cadre d'une désinfection de chambres suite à un départ de patient sont retrouvées. Pour cette application, l'intérêt de cette technique semble résider dans sa rapidité de mise en œuvre telle que rapportée par certains fabricants (en quelques minutes). Toutefois, lors de l'utilisation de ces unités il est important de faire face au problème des zones d'ombre, zones masquées que l'UV ne peut atteindre. Certains fabricants préconisent donc l'usage de deux unités combinées afin d'accroître les angles d'action des UV. Comme pour l'ozone, l'intérêt de cette technologie au sein des établissements de santé paraît limité (JETMIS du CHU de Québec, 2014 ; Hunt and Anderson, 2016).

## ➤ Produits biosourcés

Dans certains cas, des gammes de produits biosourcés<sup>1</sup> récemment développées pourraient permettre de répondre aux exigences de prise en compte de l'impact des produits conventionnels.

Ces produits présentent les caractéristiques conventionnelles de tout détergent à savoir :

- Une chaîne (ou cycle) carbonée aux propriétés hydrophobes
- Un pôle hydrophile chargé (anionique, cationique) ou non chargé (non ionique) qui permet la dissolution du produit dans l'eau
- La propension à former des micelles à partir d'une certaine concentration seuil (dite Concentration Micellaire Critique ou CMC) qui confère au tensio-actif sa capacité détergente, solubilisante et biocide.
- Une biodégradabilité minimale de 60% en 28 jours en condition aérobie (en présence d'oxygène).

Toutefois, pour ces produits biosourcés, la CMC est plus faible du fait de leurs caractéristiques intrinsèques (pôle hydrophile plus gros et chaîne carbonée plus courte). Des doses d'usage moins importantes qu'avec les détergents conventionnels peuvent donc être utilisées. Par ailleurs, leur impact sur l'environnement est bien moindre que celui des détergents conventionnels au regard de leur biodégradabilité. En effet, alors que certains détergents ne sont pas biodégradables en anaérobie et s'accumulent dans l'environnement (fonds des rivières et lacs), les produits biosourcés, pour certaines molécules, peuvent prétendre être biodégradables à plus de 95% (en milieux aérobie et anaérobie).

La surfactine fait partie de ces détergents biosourcés (Seydlova and Svobodova, 2008). Elle est synthétisée par une bactérie, *Bacillus subtilis*, et est reconnue comme étant l'un des surfactants les plus efficaces. Par ailleurs, elle posséderait des propriétés antimicrobienne et antifongique. Cette substance et les autres détergents biosourcés pourraient constituer des alternatives réelles à l'usage des produits détergents conventionnels issus de dérivés chimiques de pétrole. Dans certains produits, cette bactérie inoffensive est incorporée à la solution commercialisée, et entre en compétition sur les surfaces avec des germes potentiellement pathogènes.

Pour ces produits, la présence de certifications ou labels adéquats (cf. paragraphe 3.2.1) apportera à tout décisionnaire la garantie de leur efficacité.

## 3.2. Bonnes pratiques et indicateurs

L'évolution des techniques a permis de développer des outils de nettoyage performants. Leur mise en œuvre au sein d'un établissement impose l'implication de l'ensemble de la chaîne de décision et d'action que ce soient la direction, les services de soins, le service hygiène ou encore les achats. Ainsi, c'est aux différents niveaux de cette chaîne que doivent être intégrées les notions de bonnes pratiques pour limiter les rejets de détergents-désinfectants.

<sup>1</sup>Les produits biosourcés sont obtenus à partir de matières premières renouvelables issues de la biomasse. En substituant les matières fossiles utilisées par l'industrie, cette filière contribue à réduire notre dépendance aux ressources fossiles et certains impacts environnementaux et sanitaires de nos biens de consommation

### 3.2.1. Intégration des bonnes pratiques lors des achats

La fonction achat joue un rôle important dans la mise en place de nouvelles pratiques. Cette fonction est désormais portée, dans le cadre des Groupements Hospitaliers de Territoires (GHT), par l'établissement support permettant, par mutualisation, d'engendrer des diminutions de coûts. Cependant, la plupart des gains sont liés à la bonne définition du cahier des charges par l'acheteur et par le prescripteur au regard du juste besoin, des retours d'expérience et de l'évaluation des fournisseurs. Une définition claire des besoins et des objectifs est un prérequis à un achat de matériel adapté et à la réussite du changement.

Ainsi, le cahier des charges peut intégrer des exigences quant à l'impact environnemental des produits comme sa biodégradabilité. Concernant ce point, les certifications et écolabels développés pour les produits de nettoyage apportent une réponse et une garantie quant à l'impact du produit visé. Les écolabels tels que l'écolabel européen, NF Environnement ou encore Ecocert ont défini de nombreux critères en ce sens concernant :

- Les impacts des substances pour l'environnement et la santé,
- La nature et l'origine des composés utilisés,
- La consommation des ressources naturelles,
- Le cycle de vie du produit et de son emballage,
- L'accompagnement de l'utilisateur à l'utilisation de la juste dose.

Un des critères fondateurs de ces labels repose sur l'efficacité des produits qui se doit d'être *a minima* comparable aux produits de synthèse conventionnels. La biodégradabilité en milieu anaérobie (60% minimum), la restriction de l'usage de certaines substances sont d'autres conditions imposées.

Depuis mai 2018, la Commission Européenne a établi des critères définissant l'écolabel destiné aux prestations de « services de nettoyage intérieur » c'est-à-dire les prestations professionnelles de propreté récurrentes ou régulières à l'intérieur des bâtiments (en milieu classique). La désinfection est exclue du périmètre. Dix-neuf critères ont été définis dont sept sont obligatoires et douze optionnels. Parmi les sept critères obligatoires, on retrouve notamment l'usage de produits à 50% porteurs de l'écolabel européen, un dosage correct des produits d'entretien, des accessoires textiles pour 50% d'entre eux en microfibres, la formation du personnel aux écogestes et la mise en place d'un système de management environnemental.

Enfin, lors des achats, il est nécessaire de comparer les prix sur la base d'un coût de produit « prêt à l'emploi » c'est-à-dire rapporté au dosage pratiqué. En effet, un produit concentré dont le coût paraît plus important qu'un produit moins concentré verra son coût d'utilisation plus faible car la dilution apportée sera plus grande.

Exemple (Guide de l'achat public durable – achats de produits, matériels et prestations de nettoyage, 2009) :

- Produit A : 3 € / L dilué à 5% équivaut à 0,15 € le litre de solution prêt à l'emploi
- Produit B : 6 € / L dilué à 0,5% équivaut à 0,03 € le litre prêt à l'emploi.

Le produit B s'avère donc moins cher à l'utilisation.

### 3.2.2. Intégration des bonnes pratiques lors de la réalisation de la fonction de bionettoyage

#### ➤ Fonction de bionettoyage

Le bionettoyage nécessite de réelles compétences et la réussite de la démarche est conditionnée par la reconnaissance et la valorisation au sein de l'établissement de la fonction de bionettoyage (CPIAS de Nouvelle Aquitaine, 2017). Pour cela, la désignation d'un responsable de l'hygiène des locaux est préconisée par le CPIAS afin de coordonner la politique hygiène et en assurer l'application, le suivi et l'évaluation.

Pour assurer les fonctions de bionettoyage, le guide de bonnes pratiques d'entretien édité par le CPIAS rappelle le principe essentiel selon lequel les exigences de nettoyage et de désinfection sont fonction de nombreux facteurs comme la diversité des locaux, les activités et actes médicaux pratiqués et le type de patients. Ainsi, on ne peut appliquer les mêmes protocoles à tous les locaux alors que les risques infectieux, et donc les exigences, ne sont pas similaires. La

classification des locaux en 4 zones telle que préconisée dans le « Guide de l'achat public durable – achats de produits, matériels et prestations de nettoyage (2009) », est un prérequis permettant d'adapter les protocoles de (bio)nettoyage et la fréquence d'entretien. Toutefois, il est entendu que des situations cliniques particulières (épidémies, patients contaminés par une BMR/BHR...) appellent un renforcement des moyens déployés. Ainsi, le Haut Conseil de la santé publique a émis, dans son avis de juin 2008, des recommandations de bionettoyage particulier dans le cas de la maîtrise de la diffusion des infections à *Clostridium difficile* dans les établissements de santé.

Lors de la réalisation de la fonction d'entretien dans les établissements de santé, de nombreux risques professionnels liés aux techniques de nettoyage (troubles musculo-squelettiques, exposition à des produits chimiques irritant ou allergisant, risque de chute sur sol mouillé...) peuvent être rencontrés (CPIAS de Nouvelle Aquitaine, 2017). Ces accidents et pathologies peuvent impacter fortement l'organisation et le bon fonctionnement de la fonction nettoyage. Aussi, l'aspect ergonomique du poste de travail doit être un critère de choix des techniques d'entretien des surfaces au sein d'un établissement. Concernant les risques chimiques, il a été noté que les zones pour lesquelles la fréquence des opérations de nettoyage et l'usage de détergents-désinfectants sont les plus renforcées en raison du risque infectieux sont celles où le personnel est le plus exposé (Guide de l'achat public durable, 2009). Pour la pré-désinfection des instruments médicaux, la couverture des bacs de dosage peut prévenir et réduire le risque d'exposition par inhalation aux constituants volatils.

Lors de la mise en place des bonnes pratiques, la résistance aux changements de pratiques par le personnel reste souvent le premier frein. Aussi, la formation des équipes et leur accompagnement sont essentiels pour conduire ce changement. Lors de cette étape, la participation et la prise de conscience de tous les maillons de la chaîne sont la clé de la réussite (direction, direction des soins, l'équipe Hygiène, Agents des Services Hospitaliers (ASH), acheteurs). Dans ce sens, la désignation d'ASH référents permettant d'assurer le relai dans le déploiement des nouvelles pratiques et la consolidation de retours d'expérience constitue une action primordiale. En cas de besoin, la réactualisation des protocoles lors de changement de pratiques ou de produits et leur revue périodique dans le cadre d'une démarche qualité sont à prévoir (2 fois par an).

Ainsi, la réussite d'une telle démarche repose sur l'intégration de cette fonction dans le système de management de la qualité de l'établissement. Chacune des étapes du processus doit être intégrée, à savoir :

- La définition des zones d'interventions et des zones à risques,
- Les profils de postes,
- La qualification et formation du personnel,
- Les techniques et produits utilisés (cahier des charges),
- La rédaction et la validation des procédures,
- La planification des procédures,
- La traçabilité des procédures effectuées.

Et chacune de ces étapes doit faire l'objet d'une évaluation afin de s'assurer de l'adéquation et de la bonne application des processus.

#### ➤ Technique de nettoyage des sols

Concernant la technique de nettoyage des sols, le nettoyage à l'aide d'une microfibre imprégnée d'eau, sans produits détergents-désinfectants, doit être considéré. Toutefois, cette technique n'est pas toujours adaptée en fonction des zones d'interventions.

Lorsque l'utilisation de produits détergents-désinfectants est nécessaire, la méthode par imprégnation des bandeaux de lavage appliquée par le CHU de Poitiers s'avère la plus ergonomique et pertinente comparativement à la technique traditionnelle des « 2 seaux » par immersion dans la solution de nettoyage. Elle consiste à calculer la quantité de produit (solution de lavage) strictement nécessaire pour imprégner le bandeau lavant et permettre le nettoyage des surfaces (généralement les sols). Ainsi, en fin de service, un très faible voire aucun volume de produit (solution détergente) n'est rejeté au réseau d'eaux usées de l'établissement, limitant de fait les émissions polluantes. Elle apparaît comme une technique désormais de plus en plus mise en œuvre au sein des services hospitaliers.

Lors de l'utilisation de cette méthode, le juste dosage par l'utilisateur constitue un levier d'action important quant à la maîtrise des flux polluants émis (eau, déchets) et des coûts associés. Pour cela, l'utilisation de centrales de dilution a pour avantage de doser automatiquement et précisément la quantité de détergents-désinfectants nécessaire à la préparation de la solution. Cependant, l'utilisation de ces centrales impose de former les utilisateurs à leur manipulation, à leur entretien et à leur vérification. Il s'agit notamment de s'assurer régulièrement de la conformité du dosage c'est-à-dire que le volume de produit attendu est bien celui délivré par la centrale.

### 3.2.3. Indicateurs de performance

La mise en place d'indicateurs permettant l'évaluation de l'efficacité du changement de pratique s'avère primordiale pour la réussite de la démarche. Ainsi, dans le cadre de l'évaluation des performances d'une technique de (bio)nettoyage, des indicateurs doivent être définis afin de juger de l'efficacité du protocole testé.

La **consommation en produits** constitue un indicateur pertinent qui peut, entre autres, être évalué par :

- le suivi des commandes réalisées par le service achat,
- le suivi, dans les services, de l'état de consommation des bidons de produits dans les locaux de stockage.

Toutefois, en pratique, le suivi de la consommation des bidons n'est généralement pas réalisé dans les services. Ce point constitue donc une piste d'amélioration qui permettrait un suivi plus fin et plus représentatif que le retour des volumes d'achat.

En ce qui concerne **l'évaluation de l'efficacité du nettoyage**, les indicateurs peuvent s'appuyer :

- sur des techniques simples et réalisables sur le terrain comme la détermination du niveau d'encrassement après frottement d'un textile sur la surface considérée et comparaison avec une échelle de cotation telle que l'échelle de Bacharach (échelle de niveaux de gris corrélant un niveau d'encrassement de la surface).
- par le biais de prélèvements microbiologiques de surface par gélose de contact ou écouvillonnage permettant de comptabiliser et, au besoin, d'identifier les germes présents sur la surface. Selon les éléments bibliographiques consultés, ces prélèvements présentent un intérêt pour les mobiliers, équipements et dispositifs proches du patient. Toutefois, pour les sols et les murs, leur intérêt n'a pas été démontré au regard de la recontamination rapide des surfaces.

Un autre indicateur à considérer dans l'évaluation des nouvelles pratiques est leur **impact économique et organisationnel**. Pour cela, un large questionnaire adressé à 219 établissements de la région PACA en 2017 (avec 141 réponses) a permis de mettre en évidence un an après des changements des pratiques (i.e. changement de produits dans la majorité des cas (92%), modifications des procédures (82%) et/ou changement de matériel (56%)), les tendances suivantes :

- réduction de l'ordre de 45% de la consommation en détergents-désinfectants,
- réduction de 24% des coûts liés à l'achat des produits,
- réduction de 4% des accidents liés à la fonction entretien (ARS PACA, 2017).

D'une manière générale, au regard du faible coût des produits détergents-désinfectants, les économies réalisées sont plutôt liées aux dépenses d'énergie et de la réduction du nombre d'accidents de travail. Un calcul du retour sur investissement pourrait être réalisé. Toutefois, celui-ci s'avère bien souvent très complexe.

La définition d'un indicateur sur les accidents de travail liés à la fonction nettoyage peut être envisagée en collaboration avec la médecine du travail. Il s'agit de pouvoir évaluer l'impact des pratiques de nettoyage sur les accidents recensés tels que les chutes sur sol mouillé, les dermatites ou rhinites liés à l'usage des produits ou encore les brûlures ou les troubles musculo-

squelettiques. Cet indicateur, bien que non lié directement à la qualité des eaux rejetées par l'établissement, traduit les modalités d'organisation de la fonction, l'adéquation des pratiques avec l'ergonomie du poste.

Enfin, le **suivi des infections nosocomiales au sein de l'établissement et de la qualité des rejets** sont également à considérer.

En effet, corrélé avec l'évolution des pratiques de bionettoyage, le suivi des infections nosocomiales au sein de l'établissement permet de confirmer *in fine* la validité des protocoles mis en place. D'après les données bibliographiques à ce jour, cet indicateur n'a pas montré d'augmentation de l'incidence de ces infections lors des réductions d'usage de produits détergents-désinfectants (ARS PACA, 2017).

Le suivi de la qualité des rejets en eaux usées constitue, quant à lui, un indicateur de surveillance environnementale. Généralement, cette surveillance est prescrite par les autorisations de déversement et porte sur des paramètres physico-chimiques généraux relatifs aux émissions de macro-polluants particuliers ou organiques (DCO, DBO5, MES, azote global et phosphore total, hydrocarbures et graisses, quelques métaux - Metox) ou encore aux émissions de radioactivité globale pour les établissements disposant d'un service de médecine nucléaire. Des tests d'écotoxicité sont parfois prescrits dans les autorisations de déversement (e.g. mobilité de *Daphnia magna*, reproduction de *Ceriodaphnia*, croissance de micro-algues, etc.). Plus rarement, ou dans le cadre de réglementation spécifique de type ICPE, des mesures de micropolluants caractéristiques de l'activité sont réalisées (détergents cationiques / anioniques/ non ioniques, résidus de médicaments, résidus de produits désinfectants...). Concernant ce point, l'analyse des micropolluants caractéristiques de l'activité de soins peut être envisagée dans le cadre de l'établissement d'autorisation de rejets. Elle impose une bonne connaissance des produits employés tant par l'établissement que par la collectivité chargée d'établir cette autorisation. Une attention particulière doit néanmoins être portée sur les techniques d'analyses et résultats associés afin de permettre un suivi et une interprétation (reproductibilité des analyses, limite de quantification basse...). Il s'agit de pouvoir mesurer et interpréter des paramètres révélateurs des pratiques de nettoyage comme les teneurs en détergents anioniques, cationiques et totaux, les teneurs en désinfectants et sous-produits de désinfection.

### **3.3. Retour d'expérience sur les pratiques du CHU de Poitiers**

Le CHU de Poitiers s'est engagé depuis quelques années, et notamment au travers du projet BIOTECH, dans une démarche de connaissance et de maîtrise de ses rejets en eaux usées et particulièrement de ses émissions en produits détergents-désinfectants ou encore en médicaments.

La première phase du projet BIOTECH a permis de mettre en évidence dans les rejets trois biocides représentatifs des activités de soins et utilisés dans tous les services du CHU :

- un ammonium quaternaire : le chlorure de didécyldiméthylammonium (DIDAC),
- un biguanide : le digluconate de chlorhexidine,
- une amine : le bis(aminopropyl)laurylamine.

Ces trois substances proviennent essentiellement du nettoyage et de la désinfection de l'instrumentation et des surfaces mais également de l'usage antiseptique pour le digluconate de chlorhexidine. En effet, le DIDAC est principalement utilisé au niveau du CHU comme détergent-désinfectant de l'instrumentation, des surfaces et désinfectant du linge. Le digluconate de chlorhexidine est utilisé comme détergent-désinfectant de l'instrumentation et comme antiseptique de la peau et pour bain de bouche. Enfin, le bis(aminopropyl)laurylamine provient essentiellement des opérations de (bio)nettoyage des surfaces. Concernant cette dernière substance, une faible proportion des quantités consommées a été retrouvée dans les eaux usées en 2016 et 2017 (environ 10 à 30% de ce qui est consommé) du fait des modalités d'application de cette substance sur les surfaces (sans rinçage) et des pratiques préconisées au niveau du CHU visant à préparer au plus juste les quantités de produit nécessaires à l'imprégnation des textiles utilisés pour l'entretien des surfaces.

Toutefois, parallèlement à ces substances, l'utilisation de désinfectants pour la décontamination préventive ou curative de certains circuits d'eau peut aussi être significative dans certains

établissements (lutte contre les légionnelles, désinfection des circuits de dialyse, etc.). Ce point n'est pas abordé ici au regard des trois substances retenues.

### 3.3.1. Historique des consommations en détergents-désinfectants et évolution des pratiques

#### ➤ Historique des consommations

L'usage des produits détergents désinfectants est étroitement lié à l'activité de soins du CHU. Il est donc intéressant de comparer cette activité avec la consommation en produits.

La Figure 45 présente l'évolution de la fréquentation du CHU ainsi que les faits marquants de la vie du CHU tels que l'ouverture ou la fermeture d'un bâtiment. L'ensemble des données présentées dans cette figure a été communiqué par le service d'hygiène hospitalière du CHU. L'activité du centre hospitalier est ici représentée par les journées d'hospitalisation et de consultations.

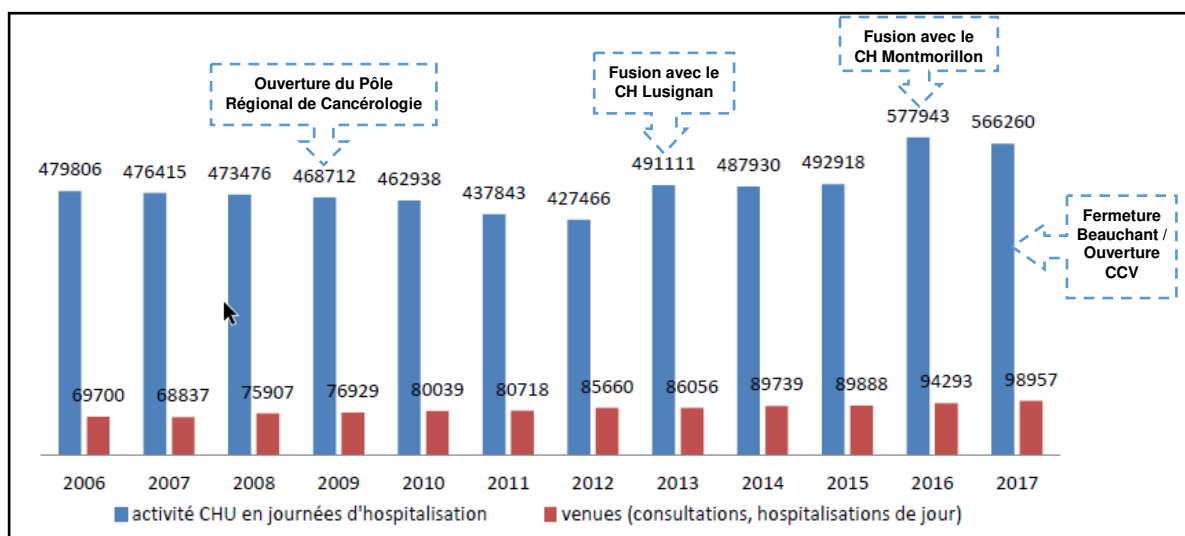


Figure 45 : Evolution de l'activité du CHU (en jours d'hospitalisation ou consultations) et faits marquant de son activité (CCV : Centre cardio Vasculaire)  
Source des données : CHU de Poitiers

Ces résultats montrent que l'activité du CHU est relativement stable entre 2006 et 2010 avec une tendance à la baisse pour les journées d'hospitalisation au profit d'une hausse en termes de venues, ce qui traduit le développement de la médecine ambulatoire. La baisse de fréquentation est significative en 2011 et 2012 (-5% environ). Enfin, la fusion avec le centre hospitalier de Lusignan en 2013 puis la fusion avec le centre hospitalier de Montmorillon en 2016 marquent dès lors des sauts d'activité, puisque l'activité globale du CHU intègre le volume d'activité de ces deux entités.

Les Figures 46 et 47 présentent l'évolution des consommations pour les activités de désinfection des instruments et pour les activités de nettoyage des surfaces. Dans ces Figures, un relevé de la consommation de chaque service n'ayant pas été entrepris à ce jour, la consommation en produits correspond aux volumes délivrés par le magasin central aux différents services de l'hôpital (données du service achats). Il s'agit donc de « consommations » calculées sur la base de volumes d'achat livrés dans les bâtiments et non sur des volumes consommés dans les services. Pour la désinfection de l'instrumentation, les volumes indiqués concernent les produits utilisés pour la préparation des bains de pré-désinfection. Ne sont pas inclus les produits destinés à la désinfection d'équipements spécifiques tels que les endoscopes dont les substances actives ne sont pas celles retenues dans le cadre du projet BIOTECH (et sont principalement représentées par l'acide peracétique).

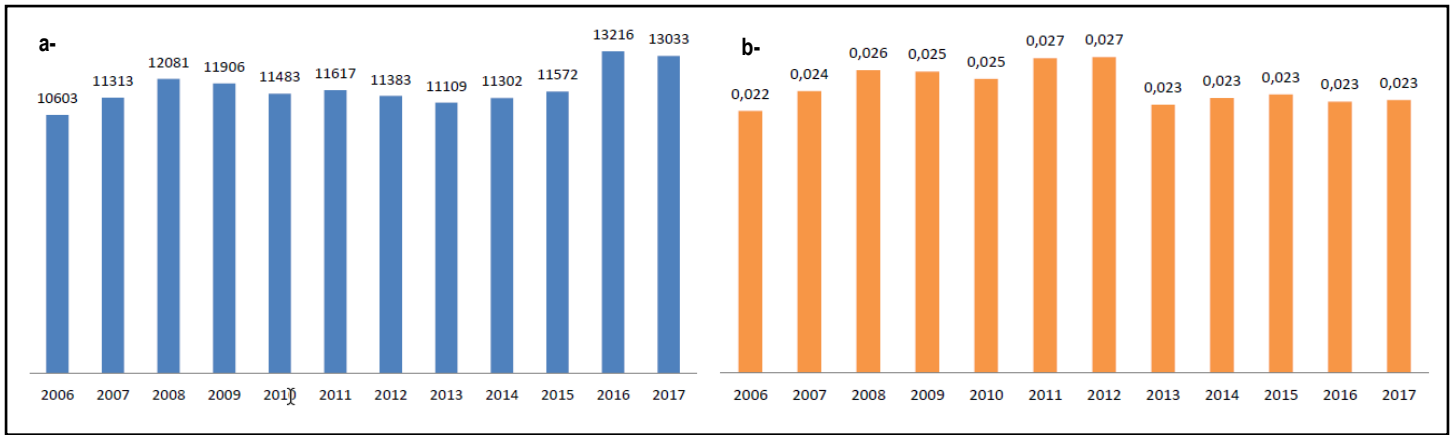


Figure 46 : Evolution de la consommation en détergent-désinfectant de l'instrumentation (a/ en Litres ; b/ en L/jour d'hospitalisation)  
Sources des données : CHU de Poitiers

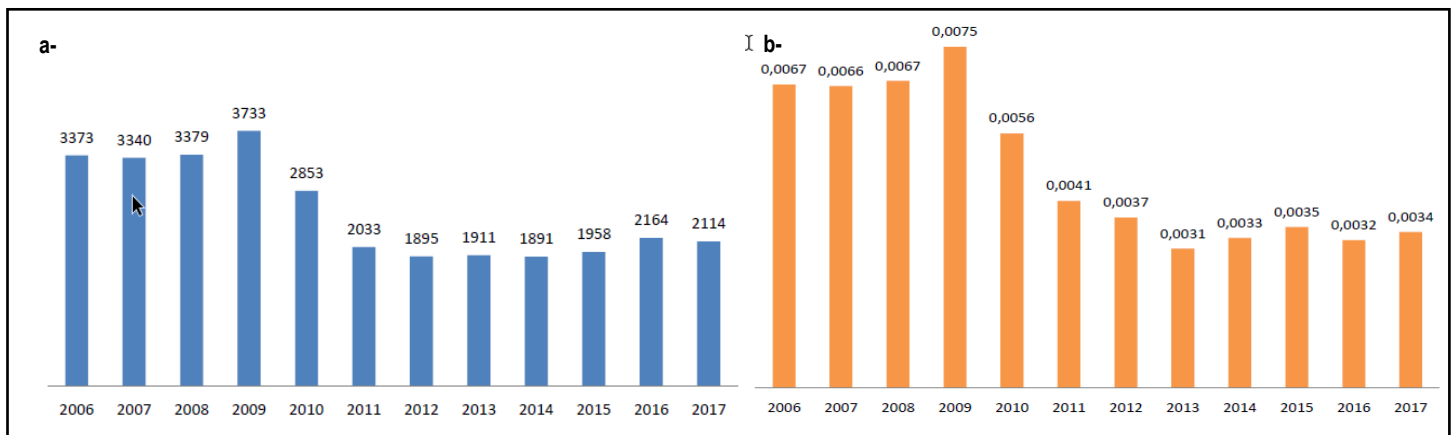


Figure 47 : Evolution de la consommation en détergent-désinfectant de surfaces (a/ en Litres ; b/ en L/jour d'hospitalisation)  
Sources des données : CHU de Poitiers

Le conditionnement actuellement utilisé par le CHU pour les détergents désinfectants de l'instrumentation se présente en bidons de 1 litre avec un doseur (5 mL de produit/litre d'eau). Le détergent-désinfectant de surface utilisé au sein des services du CHU est majoritairement conditionné en dosette à usage unique de 20 mL (à diluer dans 8 litres d'eau). Quelques bidons de cinq litres sont utilisés pour des usages restreints.

Ainsi, au regard de ces résultats, il peut être noté que :

- L'usage principal des produits détergents-désinfectants est destiné à la désinfection de l'instrumentation. Le volume de produit destiné à cet usage (environ 13 000 litres en 2016 et 2017) représente jusqu'à six fois la consommation en détergents-désinfectants de surfaces sur ces dernières années. Sa consommation annuelle globale (en litres/an) apparaît relativement stable au regard des évolutions structurelles du CHU. Néanmoins, en comparaison avec le volume d'activité, la consommation en désinfectant de l'instrumentation semble avoir reculé de près de 15% dès 2013 (0,027 L/jour d'hospitalisation en 2012 contre 0,023 L/jour en 2013). Cette réduction peut être liée à (i) une meilleure application des protocoles et du dosage des produits suite à la graduation des bacs de pré-désinfection, ou encore à (ii) l'intégration du CH de Lusignan dans le périmètre dont la spécialité, la gériatrie, est *a priori* peu consommatrice de désinfectants de l'instrumentation. Dans ce second cas, l'augmentation globale de la fréquentation du CHU liée au CH de Lusignan (194 lits) associée à une stabilité de la consommation en détergent-désinfectants de l'instrumentation induirait une réduction « artificielle » de la consommation par jour d'hospitalisation.
- En 2009, une inflexion de la consommation en désinfectants de surfaces s'est opérée. Alors que la consommation était relativement stable voire en légère augmentation entre 2006 et 2009, une chute importante de cette consommation a été mesurée de 2010 à 2012 (-24% en 2010, -29% en 2011 et -7% en 2012). Depuis 2013, elle est relativement stable (ou en léger retrait pour 2013) au regard de l'activité du CHU (Figures 46-47). Une évolution des pratiques de nettoyage au sein du CHU peut expliquer cette réduction (Tableau 21).



Dans ce retour d'expérience, outre l'activité de désinfection des endoscopes grande consommatrice de produits à des niveaux équivalents aux consommations pour la pré-désinfection de l'instrumentation (incluant principalement de l'acide peracétique), les éventuels désinfectants utilisés par la blanchisserie n'ont pas été comptabilisés dans les volumes présentés. Or, il a été noté lors des campagnes de prélèvements de 2016 (Phase 1 du projet BIOTECH) un impact significatif de la blanchisserie du site sur la qualité des rejets liés au nettoyage du linge ou des textiles utilisés pour l'entretien des locaux. Cet impact, pouvant provenir d'un relargage du linge et textiles imprégnés de substances détergentes et désinfectantes durant les lavages, pourraient également en partie être issue de l'utilisation directe de désinfectants au niveau de la blanchisserie. Concernant ce point, il est à noter qu'une nouvelle organisation de la blanchisserie a été mise en place au niveau du CHU à partir de mai 2017. Cette activité a été délocalisée du site du CHU. Ainsi, depuis cette date, l'impact éventuel de cette activité reste entier mais ne se fait donc plus au sein des réseaux d'eaux usées de l'hôpital. Le suivi de la qualité des rejets tel qu'abordé au paragraphe 3.3.3 apporte des précisions sur ce sujet.

### ➤ Evolution des pratiques

Comme abordé précédemment, la consommation en produits dépend des pratiques de nettoyage en vigueur au sein de l'établissement. Ainsi, certaines évolutions de ces pratiques ont pu contribuer à une réduction des consommations en produit détergents-désinfectants. Pour mieux comprendre les évolutions observées dans les Figures 46 et 47, ces actions, rapportées par le CHU, sont résumées dans le Tableau 21.

Tableau 21 : Actions menées par le CHU pouvant occasionner une évolution des consommations en détergents-désinfectants

Date	Action engagée	Observations
1998 à 2009	Introduction des franges de lavage à plat en partie en microfibre dès 1998 avec méthode par pré-imprégnation avec la juste quantité de produit. L'objectif est de ne pas préparer une trop grande quantité de solution de lavage qui ne serait pas utilisée et qui <i>in fine</i> serait rejetée au réseau d'eaux usées en fin de service. Déploiement progressif du dispositif (1 à 7 services par an avec un pic en 2009 (20 services inclus).	2009 et 2010 marquent une rupture dans la consommation en désinfectants des surfaces (-24% et -29%) traduisant vraisemblablement l'efficacité de cette méthodologie. Le matériel utilisé en 2018 reste similaire à celui utilisé en 1998.
2010	Réduction de la fréquence d'utilisation des désinfectants sur les sols de 2 jours/7 à 1 jour/7. <u>Moyens mis en œuvre</u> : ⇒ Formation des agents de nettoyage nouvellement recrutés ⇒ Mise en œuvre de nettoyeur vapeur pour les unités de soins (13 appareils en 2009).	Emploi de détergents 6 jours/7. Les appareils vapeur ont été introduits en 2005 avec 1 à 4 services équipés par an (1 appareil par service). 13 appareils ont été mis en service en 2009 puis 15 en 2012.
2011	Un audit mené en mai 2011 a montré que seuls 12% des bacs de pré-désinfection des instruments étaient préparés avec un dosage conforme. <u>Moyens mis en œuvre</u> : ⇒ Actualisation des protocoles ⇒ Graduation des bacs de chaque service	Seuls 15% des services avaient un bac gradué pour la bonne dilution du produit. Méconnaissance de la contenance du bac pour 43% des agents et de la dilution à appliquer par 35% des agents.
2014	Une vérification de la graduation des bacs menée en novembre 2014 a montré que 64% des bacs étaient gradués. <u>Moyens mis en œuvre</u> : ⇒ Marquage durable des bacs et sensibilisation des unités de soins	Amélioration du marquage par rapport à 2011
2018	Actualisation des protocoles de pré-désinfection de l'instrumentation	Impact à valider.

Sources des données : CHU de Poitiers

### 3.3.2. Synthèse sur les solutions alternatives testées par le CHU

Au-delà du maintien des compétences du personnel et de la vérification de l'adéquation des protocoles qui s'imposent à toute technique de nettoyage, chimique ou pas, deux solutions principales ont été testées et développées par les services du CHU de Poitiers. Il s'agit de la mise en place des textiles microfibres pour le nettoyage des sols et de la technologie vapeur pour le bionettoyage de chambres.

### ➤ Textiles microfibres

Les textiles contenant des microfibres ont été introduits au CHU comme outil de nettoyage des sols dès 1998 avec un déploiement progressif jusqu'en 2009 (année durant laquelle le déploiement et la mise en pratique ont atteint leur maximum). Il s'agit de frange de lavage à poche avec un mélange de microfibres en polyester et polyamide et de fibres en polypropylène. Les textiles utilisés par le CHU de Poitiers sont constitués de microfibres de 0,5 décitex.

Cette méthodologie, associée à la réduction de la fréquence d'application des désinfectants sur les sols, semble être à l'origine de la réduction importante des consommations en détergents-désinfectants de surface dès 2010 et 2011.

Toutefois, dans certains services, un usage quasi quotidien de détergents-désinfectants a dû être maintenu. C'est le cas notamment 6 jours/7 pour le secteur protégé d'hématologie entretenu et 7 jours/7 pour les blocs, les laboratoires NSB3 et les chambres de patients en précautions complémentaires (isolement septique).

De plus, jusqu'à présent, les surfaces hautes ne sont pas concernées par ces textiles microfibres. Elles sont nettoyées au moyen de lavettes coton réutilisables après lavage en blanchisserie ou de lavette à usage unique en viscose et polyester pour les services considérés à risque infectieux (de niveaux 3 et 4). Au niveau du CHU, ces services constituent :

- la pharmacie (préparatoire, salle blanche)
- la zone de conditionnement de la stérilisation centrale
- les secteurs interventionnels (bloc, explorations invasives, radio interventionnelle)
- le secteur protégé d'hématologie
- les secteurs d'oncologie
- les réanimations
- les urgences/SMUR
- les salles d'accouchement
- l'imagerie
- l'endoscopie
- les secteurs de consultation au niveau desquels des actes échographiques sont réalisés (entretien du matériel)

La classification des services par le CHU s'est appuyée sur la démarche détaillée dans le guide « *Entretien des locaux des établissements de soins* » du C-CLIN Sud-Ouest (avril 2005) puis du guide « *Entretien des locaux dans les établissements de santé et établissements médico-sociaux - recommandations de bonnes pratiques* » de novembre 2017 et édité par le CPIAS qui remplace le premier guide cité précédemment (CPIAS de Nouvelle Aquitaine, 2017). Au niveau de ces services, 1 606 880 lavettes ont été consommées en 2017 (801 140 en 2014).

Récemment, parallèlement à ces pratiques, le CHU mène une réflexion sur la réduction de l'usage de produits détergents. Un test d'entretien mécanisé des sols par auto-laveuse sans détergent est alors envisagé.

### ➤ Nettoyage à la vapeur

Les nettoyeurs vapeurs ont été introduits dans les services en 2005. Les services ont été progressivement dotés de ces appareils : 1 à 4 services/an avec un appareil par service. On note que 13 appareils ont été mis en service en 2009 (ouverture du PRC) et 15 en 2012. Ceux-ci sont essentiellement utilisés dans le cadre des départs de patients ou lors des entretiens périodiques de fond.

Une évaluation des pratiques a été menée en 2014 par le CHU afin de comparer, en termes de temps passé la technique utilisant la vapeur et celle mettant en œuvre les produits chimiques. Les résultats issus des observations avec chronométrage des actions sont présentés dans le Tableau 22.

Tableau 22 : Evaluation et comparaison du temps passé selon la méthode de nettoyage des chambres des patients

Méthode	Nettoyage avec produits chimiques		Nettoyage à la vapeur		
	Localisation	Chambre A	Chambre B	Chambre C	Chambre D
Temps agents cumulé		2h 05 min	2h 30 min	2h 05 min	2h 02 min
Temps immobilisation chambre		1h 13 min	1h 28 min	1h 58 min	2h 02 min

Source des données : CHU

Ces résultats montrent un temps d'intervention (temps de préparation inclus) relativement similaire entre les deux techniques.

Le temps d'immobilisation (correspondant au temps d'intervention dans la chambre) s'avère en revanche plus long avec la technique à la vapeur qu'avec l'usage des produits. Cette différence pourrait en partie être imputée à une moins grande habitude de l'usage de cette technique par les opérateurs. En effet, cette technique avait été partiellement stoppée il y a quelques années suite à des incidents lors de l'usage de ces équipements (brûlures du personnel) témoignant d'une formation insuffisante des opérateurs. Dès lors, les services d'hygiène ont mis en place un système de formation permettant de délivrer une habilitation interne à la conduite du nettoyage à la vapeur.

Cependant le temps lié à la gestion des produits (commande, mise en stock, livraison aux services, évacuation des déchets...) et l'impact santé sur le personnel (notamment *via* la dégradation de la qualité de l'air intérieur occasionnée par l'usage de détergents-désinfectants) doivent également être considérés.

Aujourd'hui, les freins rencontrés par les services pour l'utilisation de la vapeur résident dans la disponibilité des appareils vapeurs (1 appareil par service), leur encombrement et leur fonctionnement rendant difficile l'intervention simultanée de deux agents pour réduire le temps d'immobilisation des chambres.

### 3.3.3. Indicateurs de suivi utilisés par le CHU

Le CHU a défini des indicateurs lui permettant de mesurer l'impact de son activité sur l'environnement et sur la sécurité sanitaire des patients et du personnel.

Le principal indicateur pour évaluer l'impact sur les rejets demeure le **suivi analytique** réalisé sur les principaux points de rejets en eaux usées du site. Ce suivi de la qualité des rejets en eaux usées est assuré par le CHU tous les semestres sur trois points de rejets principaux (i.e. l'exutoire du CHU, le rejet de la tour Jean Bernard et la blanchisserie, cette dernière notamment au titre de la réglementation ICPE).

Cette surveillance est prescrite par l'autorisation de déversement et porte sur des paramètres physico-chimiques généraux tels que :

- les propriétés minérales et physiques de l'effluent : pH, température et conductivité mesurés en début et fin de prélèvement et sur l'échantillon moyen
- des macropolluants particuliers et organiques (DCO, DBO<sub>5</sub>, MES, conductivité, azote global, phosphore total et graisses (MEH))
- des métaux (11 métaux – indicateur Metox)
- des micropolluants organiques (détergents anioniques, indice phénol) et sous-produits de désinfectants (AOX)
- les hydrocarbures totaux pour le point blanchisserie
- des substances radioactives (telles que l'iode 123, l'iode 131 ou encore le technétium 99) pour les services de médecine nucléaire (points du CHU)
- l'écotoxicité : test de toxicité vis-à-vis des Daphnies

Lors de cette surveillance, les prélèvements sont assurés par préleveur automatique sur 24 h avec un asservissement au débit pour l'exutoire principal du CHU et un prélèvement proportionnel au temps pour la blanchisserie. Pour ce dernier point, une mesure de débit a été

réalisée en parallèle. Un débitmètre de mesure continue sera implanté prochainement sur le rejet de la blanchisserie.

Les derniers résultats obtenus dans ces conditions en 2018 montrent des teneurs et indicateurs du même ordre de grandeur que les résultats retrouvés lors des campagnes précédentes. Ils traduisent un effluent faiblement biodégradable pour le CHU (rapport DCO/DBO5 de 3,2) et moyennement biodégradable pour la blanchisserie (rapport DCO/DBO5 de 2,7). L'effluent de la blanchisserie se caractérise par une charge de DCO-DBO5, des teneurs en détergents anioniques et Metox plus élevées et enfin par une écotoxicité plus importante que l'effluent global du CHU.

Lors de ce suivi, certains paramètres peuvent indirectement renseigner sur les émissions en détergents-désinfectants et leur impact. C'est le cas notamment de :

- La concentration en composés halogénés adsorbables (AOX) qui témoigne de l'usage de produits contenant des substances halogénées c'est-à-dire du chlore, du brome ou de l'iode. Elle révèle généralement l'utilisation de produits antiseptiques (povidone iodée), d'eau de Javel ou autres produits chlorés.
- La mesure en détergent anionique qui concerne une partie des détergents utilisés.
- Le test Daphnie témoignant de l'écotoxicité générale.

Toutefois, les composés objets de ce projet (DIDAC, bis(aminopropyl)laurylamine et chlorhexidine) ainsi que le détergent seul utilisé en routine sont des tensio-actifs cationiques. Ils ne sont donc pas quantifiés dans le suivi des rejets. Pour ces molécules, des concentrations significatives de DIDAC, chlorhexidine et bis(aminopropyl)laurylamine ont été mises en évidence dans le cadre du projet BIOTECH dans les rejets du CHU. De même, des concentrations comparables ont été mesurées dans les rejets de la blanchisserie, laissant suspecter un transfert puis relargage de ces substances lors du lavage des textiles utilisés pour l'entretien des locaux. Des analyses complémentaires en détergent cationique seraient donc nécessaires.

D'**autres indicateurs**, utilisés par le CHU, permettent de renseigner sur l'efficacité des mesures engagées et donc d'extrapoler un impact probablement positif sur la qualité des eaux rejetées.

Parmi eux, le bilan de la quantité de produits consommée constitue un indicateur de suivi pertinent. Pour cela, un suivi des volumes d'achats globaux est assuré par le CHU. Un suivi de la consommation *in situ* dans les services n'est pas, à ce jour, mis en œuvre. Une telle démarche permettrait de suivre au plus près les évolutions de consommation en fonction des modifications de pratiques.

De même, une stratégie de prélèvements de routine sur les surfaces hautes et les équipements patients a été mise en place depuis de nombreuses années par le service hygiène du CHU. Lors de ces prélèvements, les sols ne sont pas échantillonnés. Cet indicateur constitue un outil pédagogique pour le service d'hygiène afin notamment de mettre en évidence les surfaces fréquemment oubliées.

Enfin, un suivi de l'incidence des infections nosocomiales est réalisé par le CHU de Poitiers tous les trimestres. A ce jour, ce suivi n'a pas rapporté d'augmentation de l'incidence de ces infections en lien avec la réduction d'usage de produits détergents-désinfectants.

### **3.4. Axes d'amélioration**

Comme abordé précédemment, de nombreuses solutions sont à disposition pour réaliser les opérations de bionettoyage (toutes avec leurs avantages et leurs inconvénients). Pour limiter les rejets en produits biocides sans impacter le risque pour la santé, une réflexion doit donc être menée au sein des établissements consommateurs de biocides (tels que les établissements de soins) au regard de leur organisation, de leur structuration. Un plan d'action visant à renforcer l'usage de techniques moins impactantes tout en garantissant la maîtrise du risque infectieux pour les patients et le personnel doit être considéré.

Dans ce cadre, au sein des établissements de soins, les actions suivantes pourraient être engagées ou renforcées en plus de celles menées par le CHU de Poitiers :

- Etablissement d'une cartographie fine des besoins en matière de nettoyage et de désinfection de chaque service concernant les surfaces et le matériel pour s'assurer de la pertinence des choix effectués en aval.
- Fiabilisation des dilutions par la mise en place de centrales de dilution pour les services faisant appel à des conditionnements de produits sous format bidon. Poursuivre en ce sens le contrôle des marquages des bacs, au sein du CHU de Poitiers.
- Réalisation de tests de pratiques mettant en avant l'action mécanique, c'est-à-dire (i) le nettoyage à la microfibre et à l'eau des sols, sans produits, pour les zones d'intervention le permettant et définies par le service hygiène ou (ii) le nettoyage par équipement mécanisé (autolaveuse, monobrosse) pour les grandes surfaces.

Dans ce sens, le déploiement d'autres pratiques abordées dans le présent rapport pourra également être envisagé en fonction des retours d'expérience d'autres établissements et des garanties apportées par les fabricants de ces dispositifs. Les tests de nouvelles pratiques seront validés par des indicateurs tels que les prélèvements de surface ou le niveau d'encrassement de la surface (échelle de Bacharach).

- Poursuite de la mise en œuvre de la technologie vapeur.
- Organisation rigoureuse du circuit de commande et de distribution des produits de nettoyage et de désinfection, en se basant sur les réels besoins des services. Un suivi par service des quantités consommées pourrait être mis en place.
- Déploiement d'indicateurs complémentaires quant à la validité des choix et des protocoles tels que l'analyse dans les rejets d'eaux usées de paramètres représentatifs de l'activité de l'établissement (e.g. les détergents cationiques, détergents totaux et substances spécifiques des désinfectants) ou le suivi des accidents du travail liés à la fonction nettoyage.
- Pour les achats, intégration aux marchés des exigences en matière de composition des produits et de réduction du nombre de références. Un critère lié à l'obtention d'écolabels ou équivalents pourrait être introduit. Des essais préalables de produits écolabellisés ou biosourcés pourraient permettre d'établir le cahier des charges précis.

Concernant ce point, à efficacité égale, la démarche d'achat des produits doit inclure la dimension durable ; définir des critères permettant d'intégrer à la fois des considérations techniques et économiques et des considérations environnementales et sociales (limitation des risques pour le personnel).

Dans tous les cas, comme évoqué précédemment, quelle que soit la pratique envisagée, la réussite de la démarche repose sur une formation de l'ensemble des intervenants à la prise en main et à l'appropriation des nouvelles pratiques. Un accompagnement des équipes et une organisation adaptée du service garantiront la pérennité des mesures prises et l'adhésion du personnel.

Bien entendu, sur le terrain, cette démarche ne doit pas se limiter aux seuls établissements de santé. Elle doit être déployée à l'ensemble des établissements médico-sociaux, également grands consommateurs de produits, pour lesquels des marges de manœuvre existent pour adapter leur démarche.

## 4. Conclusion

Dans le cadre de ce travail, la proposition d'un traitement innovant par ozonation catalytique a été étudiée et comparée au traitement par ozonation seule pour réduire à la source les biocides dans les rejets au niveau des établissements émetteurs. A partir d'expériences réalisées en laboratoire et d'une étude pilote du traitement des effluents de 2 établissements émetteurs (i.e. le CHU de Poitiers et sa blanchisserie) il a été montré que :

- Les biocides les plus représentatifs d'une activité de soins peuvent être dégradés par l'ozonation ou l'ozonation catalytique. Parmi ces composés cependant, le DIDAC est le composé le plus réfractaire au traitement.
- Dans l'effluent de la blanchisserie, une élimination plus lente des biocides a été observée. Dans cette matrice, des conditions de traitement plus drastiques doivent donc être utilisées pour permettre un abattement significatif de ces composés.
- Lors du traitement des biocides à l'échelle laboratoire, de nombreux produits de transformation ont été identifiés. Certains de ces sous-produits ont pu être observés lors de l'étude pilote du traitement des 2 effluents.
- Enfin, en termes d'écotoxicité, peu d'évolution de l'activité vis-à-vis de *V. fischeri* a été notée au cours du traitement. En revanche, une nette diminution de la toxicité vis-à-vis de *P. sucapitata* et *D. magna Straus* a pu être observée dans les 2 matrices quel que soit le traitement considéré.

Ainsi, l'ozonation et l'ozonation catalytique constituent des procédés efficaces pour éliminer les biocides. Cependant, pour des conditions de traitement équivalentes, des abattements généralement supérieurs sont observés en présence du catalyseur. D'un point de vue dimensionnement et coût, pour abattre 95% des biocides, une unité de traitement plus compacte (i.e. une plus petite cuve et une puissance d'ozoneur plus faible) serait nécessaire pour traiter l'effluent du CHU par ozonation catalytique. De plus, un coût au m<sup>3</sup> traité bien inférieur à celui par ozonation seule serait observé pour cet effluent. Dans le cas de l'effluent de la blanchisserie, la part de l'investissement serait plus importante et le coût de traitement au m<sup>3</sup> serait nettement plus élevée quel que soit le traitement considéré.

En complément des traitements à la source des biocides, des solutions alternatives éventuelles à l'usage des biocides et des bonnes pratiques peuvent également être mises en œuvre au sein des établissements de santé, pour réduire les rejets dans les eaux résiduaires. En effet, pour certaines applications, des techniques utilisant la vapeur ou les microfibrilles sont aujourd'hui reconnues. De plus, certaines pratiques telles que la méthode par imprégnation des bandeaux de lavage consistant à préparer au plus juste la quantité de produit strictement nécessaire à l'imprégnation des textiles utilisés pour l'entretien des surfaces ou, les méthodes de fiabilisation des dilutions (e.g. utilisation des centrales de dilution, marquage des bacs utilisés pour la désinfection de l'instrumentation,...) pourraient être systématiquement utilisées pour limiter les rejets. Au sein du CHU de Poitiers la mise en place de ces méthodologies depuis quelques années, a clairement été associée à une diminution des consommations en biocides.

Enfin, concernant les changements de pratiques, il est important de noter que le choix de la méthode doit s'appuyer sur le niveau de risque pour garantir la sécurité des patients et du personnel au sein des établissements de soins. Pour réduire les rejets, chaque changement d'habitude nécessite un travail étroit avec le service achat, un accompagnement du personnel (i.e. formation, sensibilisation), une organisation du travail adaptée et un suivi d'indicateurs de performance.

## 5. Sigles & Abréviations

**ABDAC** : Chlorure de Benzalkonium

**AOX** : Halogène Organique Adsorbable

**ASH** : Agents des Services Hospitaliers

**BAPLA** : Bis(AminoPropyl)LaurylAmine

**BMR/BHR** : Bactérie Multi-Résistante / Bactérie Hautement Résistante

**CAPEX** : CAPital EXpenditure

**C-CLIN** : Comité de Lutte Contre les Infections Nosocomiales

**CCV** : Centre Cardio-Vasculaire

**CHU** : Centre Hospitalier Universitaire

**CMC** : Concentration Micellaire Critique

**CMIT** : Chlorométhylisothiazolone

**COT** : Carbone Organique Total

**DBO5** : Demande Biologique en Oxygène à 5 jours

**DCO** : Demande Chimique en Oxygène

**DIDAC** : Chlorure de DidécylDiméthylAmmonium

**EPS** : ExoPolySaccharides

**FT- ICR/MS** : Spectrométrie de Masse à Transformée de Fourier (à Résonance Cyclotronique Ionique)

**GHT** : Groupements Hospitaliers de Territoire

**HR-MS** : Spectrométrie de Masse à Haute Résolution

**ICPE** : Installation Classée pour la Protection de l'Environnement

**LC** : Chromatographie Liquide

**MEH** : Macropolluants organiques

**MES** : Matière En Suspension

**Metox** : Métaux TOxiques totaux

**MIT** : MéthylIsoThiazolone

**NBS3** : Niveau de Sécurité Biologique 3

**OCS®** : Ozonation Catalytique Supportée

**OPEX** : OPerational EXpenditure

**PSA** : Adsorption par inversion de pression (Pressure Swing Adsorption)

**PRC** : Pôle Régional de Cancérologie

**SF2H** : Société Française d'Hygiène Hospitalière

**STEP** : STation d'EPuration des eaux usées

**UV** : Ultra-Violet



## 6. Bibliographie

**Abdelli G., Karpel Vel Leitner N. 2016** : Oxidation of cyanuric acid in aqueous solution by catalytic ozonation. *Ozone : Science and Engineering*, 38(3) :233-241

**ARS PACA, 12 juin 2017** : Bilan d'une action menée en PACA visant à promouvoir les pratiques et achats responsables pour l'entretien des locaux en établissements sanitaires et médico-sociaux

**Bailey H.C., Elphick J.R., Potter A., Chao E., Zak B. 1999**: Acute toxicity of antiseptic chemical DDAC and IPBC, alone and in combination, to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Water Research*, 33, 2410-2414.

**Bailey P.S. 1982**: Ozonation in organic chemistry V2: Nonolefinic compounds. Academic Press, 499 p.

**Boillot C. 2008** : Evaluation des risques écotoxicologiques liés aux rejets d'effluents hospitaliers dans les milieux aquatiques. Thèse de l'INSA de Lyon.

**Brown S.C., Kruppa G., Dasseux J.L. 2005**: Metabolomics applications of FT-ICR mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews*, 24(2):223–231.

**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.

**Carenco P. 2017a** : Utilisation raisonnée des détergents en établissements sanitaires et médico-sociaux. 6<sup>ème</sup> conférence Eau et Santé du Graie « réduire les rejets de micropolluants liés aux pratiques de soin : quels leviers possibles ? » 20 mars 2017, Lyon.

**Carenco P. 2017b**: Environnementome – nouveautés sur les biofilms. 16<sup>ème</sup> journée méditerranéenne de prévention des infections nosocomiales, 07/11/2017, Aubagne.

**Chapman JS. 2003**: Biocide resistance mechanisms. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 51:133–138.

**CPIAS de Nouvelle Aquitaine, novembre 2017** : Entretien des locaux dans les établissements de santé et établissements médico-sociaux. Recommandations de bonnes pratiques.

**COLDIS**: Fiche technique "frange de lavage à poche microfibre 40 cm avec bandes grattantes réf. MF 135.

**Dettenkofer M, Wenzler Z, Amthor S, et al. 2004**: Does disinfection of environmental surfaces influence nosocomial infection rates? A systematic review. *American journal of infection control*, 32: 84-89.

**Di Majo P., Laquaz M. 2015** : Mise en évidence de solutions pour limiter les rejets polluants d'un établissement de soins : étude au centre hospitalier Alpes Léman, projet SIPIBEL RILACT, Tâche 4.2 « pratiques hospitalières », Livrable L1.

**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.

**Domka F., Brycki B., Seifert K., Szymanska K. 1999**: Microbiocide efficiency of APDA in denitrification and desulfurization processes. *Polish Journal of Environmental Studies*, 8:299–304.

**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.

- 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.
- 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.
- Hughey C.A., Rodgers R.P., Marshall A.G. 2002**: Resolution of 11 000 compositionally distinct components in a single electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrum of crude oil. *Analytical Chemistry*, 74(16):4145–4149.
- Hunt B., Anderson W.A. 2016**: Reduction of hospital environmental contamination using automatic UV room disinfection. *InfectionControl.tips*, 8: 1-19
- 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.
- Karpel Vel Leitner N., Fu H. 2005**: pH effects on catalytic ozonation of carboxylic acids with metal on metal oxides catalysts. *Topics in catalysis*, 33:249–256.
- Kasprzyk-Hordern B., Ziólek M., Nawrocki J. 2003**: Catalytic ozonation and methods of enhancing molecular ozone reactions in water treatment. *Applied Catalysis B: Environmental*, 46:639–669.
- 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., Karpel Vel Leitner N. 1999**: Catalytic ozonation: a promising advanced oxidation technology for water treatment. *Catalysis Today*, 53:61–72.
- Leung H.W. 2001**: Ecotoxicology of glutaraldehyde : Review of environmental fate and effects studies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 49, 26-39.
- Martínez-Carballo E., González-Barreiro C., Sitka A., Kreuzinger N., Scharf S., Gans O. 2007**: 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.
- Ministère de l'Économie. Direction des affaires juridiques, juillet 2009** : « Guide de l'achat public durable – achats de produits, matériels et prestations de nettoyage ».
- 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.
- NF EN 11348-3. 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 ISO 6341. 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 8692. AFNOR. International Organization for Standardization 2012b**: Water quality - Fresh water algal growth inhibition test with unicellular green algae.

- Norme Française 1995** : Activités de service de nettoyage industriel – Lexique de la propreté. NF X50-790 AFNOR.
- Norme Française 1981** : Antiseptiques et désinfectants – Vocabulaire. NF T72-101 AFNOR.
- Otter J.A., Yezli S., French G.L. 2011** : The role played by contaminated surface in the transmission of nosocomial pathogens. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 32(07):687-699.
- Pineau L., Desbuquois C. 2007** : La désinfection par la vapeur : efficacité microbiologique. *Revue Hygiènes*, XV(4): 305-311.
- Recommandations of CDC and Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC), 2003**: Guidelines for environmental control in healthcare facilities.
- 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.
- Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR), Bruxelles, Commission européenne, Direction générale de la santé et des consommateurs, 2009** : Assessment of the Antibiotic Resistance Effects of Biocides.
- Sinner H. 1959**: Uber das waschen mit haushltwaschmaschinen. Haus Heim-Verlag.
- Seifert K., Domka F. 2005**: Inhibiting Effect of Surfactants and Heavy Metal Ions on the Denitrification Process. *Polish Journal of Environmental Studies*, 14(1):87-93.
- Seydlova G., Svobodova J. 2008**: Review of surfactin chemical properties and the potential biomedical applications. *Central European Journal of Medecine*, 3(2): 123-133.
- 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.
- Takasaki A., Hashida T., Fujiwara S., Kato K.I., Nishihara T. 1994a** : Bacterial action of a quaternary ammonium disinfectant didecyldimethyl ammonium chloride, against *Staphylococcus aureus*. *Japanese Journal of Toxicology and Environmental Health*, 40, 344-350.
- Takasaki A., Hashida T., Kato K.I., Moriyama T., Nishihara T. 1994b**: Action of a quaternary ammonium on cell membrane of *Staphylococcus aureus*. *Japanese Journal of Toxicology and Environmental Health*, 40, 520-526.
- Tarazako N., Yamamoto K., Iwasali K. 2002**: Subacute toxicity of woodpreservatives, DDAC and BAAC, in several aquatic organisms. *Journal of Health Science*, 48, 359-365.
- UETMIS, CHU de Québec. 2014**: L'utilisation d'un système automatisé pour la désinfection des surfaces de l'environnement de soins par rayonnement ultraviolet de type C. Rapport d'évaluation 11-14.
- Von Gunten U. 2003**: Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation. *Water Research*, 37:1443–1467.
- Zhang C., Cui F., Zeng G.M., Yang Z.Z., Yu Z.G., Zhu M.Y., 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.

## 7. Table des illustrations

Figure 1 : Différentes tâches du projet BIOTECH .....	10
Figure 2 : Montage utilisé pour l'étude de la dégradation des biocides par l'ozone en fonction du temps .....	13
Figure 3 : Résultats du suivi de la dégradation des biocides par ozonation (O <sub>3</sub> ) et ozonation catalytique (OCS®) en réacteur fermé. Matrice eau du robinet; pH ≈ 8 ; biocides séparés ; [DIDAC] <sub>0</sub> = [digluconate de chlorhexidine] <sub>0</sub> = [bis(aminopropyl)laurylamine] <sub>0</sub> = 5 mg/L .....	15
Figure 4: Evolution des sous-produits du bis(aminopropyl)laurylamine détectés dans les échantillons en fonction des doses d'ozone utilisées. Matrice eau du robinet ; réacteurs fermés ; [bis(aminopropyl)laurylamine] <sub>0</sub> = 5 mg/L (l'aire du composé B316, très majoritaire a été divisée par 10 pour visualiser l'ensemble des composés).....	16
Figure 5 : Chemin réactionnel proposé pour la formation des sous-produits du bis(aminopropyl)laurylamine lors de l'ozonation : .....	18
Figure 6 : Evolution des sous-produits du digluconate de chlorhexidine détectés dans les échantillons en fonction des doses d'ozone utilisées. Matrice EDR ; réacteurs batch ; [digluconate de chlorhexidine] <sub>0</sub> = 5 mg/L .....	18
Figure 7 : Chemin réactionnel proposé pour la formation des sous-produits du digluconate de chlorhexidine lors de l'ozonation : .....	20
Figure 8 : Evolution des sous-produits du DIDAC détectés dans les échantillons en fonction des doses d'ozone utilisées. Matrice EDR ; réacteurs batch ; [DIDAC] = 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). .....	21
Figure 9 : Evolution de l'écotoxicité vis-à-vis de <i>Vibrio fischeri</i> pendant l'élimination des biocides par ozonation et ozonation catalytique. Matrice eau du robinet ; pH ≈ 8 ; réacteur batch ; biocides séparés ; [DIDAC] <sub>0</sub> = [digluconate de chlorhexidine] <sub>0</sub> = [bis(aminopropyl)laurylamine] <sub>0</sub> = 5 mg/L. résultats obtenus pour une dilution des échantillons au contact des bactéries au 1/20 pour le DIDAC, au 1/10 pour le digluconate de chlorhexidine et au 1/2 pour le bis(aminopropyl)laurylamine). .....	24
Figure 10 : Consommation d'ozone et abattement du COT obtenus au cours des expériences d'ozonation (avec et sans catalyseur) de la matrice de référence en réacteur semi-batch de 1 L.....	25
Figure 11 : Elimination des biocides au cours de l'ozonation et l'ozonation catalytique a) effluents du CHU et b) blanchisserie (expériences laboratoire réalisées en réacteurs semi-batch (1L) pour une dose d'ozone appliquée de 28,3 mgO <sub>3</sub> /min) .....	26
Figure 12 : Unité pilote mobile intégrée dans un container utilisée dans le cadre du projet BIOTECH, sur le site du CHU .....	27
Figure 13: Schéma synoptique du pilote.....	27
Figure 14 : Résultats du plan d'expériences obtenus par ozonation catalytique de l'effluent du CHU sur le pilote sur site : a/ Rapport d'aires A/A0 du DIDAC obtenu pour trois temps d'ozonation t=15 min ; t=30 min et t=65 min et b/ ratio [DCO]/[DCO] <sub>0</sub> obtenu après 60 min de traitement. Pour ces expériences des conditions variables de production d'ozone (P), de débit de recirculation (D) et de quantité de catalyseur (C) ont été testées, les concentrations initiales en DIDAC et les valeurs initiales de DCO étaient : [DIDAC] <sub>0</sub> = 1067,9 ± 449,4 µg/L à 2894,1 ± 515,1 µg/L ; DCO <sub>0</sub> = 356 mgO <sub>2</sub> /L à 450 mgO <sub>2</sub> /L.....	30
Figure 15 : Diagramme de Pareto des effets normalisés pour a) la réponse élimination du DIDAC et b) la réponse consommation d'ozone. Résultats obtenus avec une limite de significativité α = 0.15 (α représentant le risque de conclure à tort qu'un facteur a un effet significatif). L'effet normalisé au seuil de signification d'α est de 1,924.....	31
Figure 16 : Graphique de contour des zones d'élimination du DIDAC (rapport d'aire du DIDAC par rapport à l'aire initiale A/A0) en fonction des trois facteurs Production d'ozone, nombre de catalyseur et débit de recirculation. ....	31
Figure 17: Dégradation du DIDAC et du digluconate de chlorhexidine pendant le traitement en semi-batch de l'effluent du CHU par ozonation et ozonation catalytique: O <sub>3</sub> : [DIDAC] <sub>0</sub> = 1962,4 ± 242,2 µg/L et [digluconate de chlorhexidine] <sub>0</sub> = 46,0 ± 9,5 µg/L ; DCO <sub>0</sub> = 306 mgO <sub>2</sub> /L et COT <sub>0</sub> = 97 mg/L ; doses d'ozone appliquées : 9 mgO <sub>3</sub> /Leffluent/min lors du traitement pour ozone seul et OCS® : [DIDAC] <sub>0</sub> = 1603,6 ± 385,9 µg/L et [digluconate de chlorhexidine] <sub>0</sub> = 67,9 ± 12,0 µg/L ; DCO <sub>0</sub> = 306 mgO <sub>2</sub> /L et COT <sub>0</sub> = 106 mg/L ; doses d'ozone appliquées 9,5 mgO <sub>3</sub> /Leffluent/min lors du traitement par ozonation catalytique.....	32
Figure 18 : Suivi de la DCO et du COT pendant le traitement en semi-batch de l'effluent du CHU par ozonation et ozonation catalytique: [DIDAC] <sub>0</sub> = 1962,4 ± 242,2 µg/L et [digluconate de chlorhexidine] <sub>0</sub> = 46,0 ± 9,5 µg/L ; DCO <sub>0</sub> = 306 mgO <sub>2</sub> /L et COT <sub>0</sub> = 97 mg/L ; doses d'ozone appliquées : 9 gO <sub>3</sub> /Leffluent/min lors du traitement pour ozone seul et OCS® : [DIDAC] <sub>0</sub> = 1603,6 ± 385,9 µg/L et [digluconate de chlorhexidine] <sub>0</sub> = 67,9 ± 12,0 µg/L ; DCO <sub>0</sub> = 306 mgO <sub>2</sub> /L et COT <sub>0</sub> = 106 mg/L ; doses d'ozone appliquées 9,5 mgO <sub>3</sub> /Leffluent/min lors du traitement par ozonation catalytique. ....	33

Figure 19 : Evolution de la DCO et du COT lors du traitement de l'effluent CHU avec le pilote terrain. (Les valeurs affichées en italique correspondent aux valeurs moyennes de pourcentage de COT et DCO restant après traitement suite aux 3 prélèvements).....	34
Figure 20 : Evolution du DIDAC et du digluconate de chlorhexidine lors du traitement de l'effluent CHU avec le pilote terrain. (Les valeurs affichées en italiques correspondent aux concentrations moyennes en biocides obtenues suite aux 3 prélèvements exprimées respectivement en µg/L).....	34
Figure 21 : Intensité des sous-produits d'oxydation du DIDAC observés lors de l'étude pilote menée sur l'effluent du CHU : doses d'ozone appliquées de 672, 768 et 740 gO <sub>3</sub> /m <sup>3</sup> d'effluent respectivement pour l'ozonation seule, l'OCS® et l'OCS® pH 6 (Pour une meilleure lisibilité des résultats, les aires affichées dans cette figure pour le composé D 340 ont été divisées par 10). ....	35
Figure 22 : Evolution de l'écotoxicité vis-à-vis de <i>Vibrio fischeri</i> avant et après traitement de l'effluent du CHU. (résultats obtenus pour une dilution au 1/10 des échantillons au contact des bactéries).....	36
Figure 23 : Dégradation du DIDAC et du digluconate de chlorhexidine pendant le traitement en semi-batch de l'effluent de la blanchisserie par ozonation et ozonation catalytique : OCS® : 12 mgO <sub>3</sub> /L <sub>effluent</sub> /min ; [DIDAC] <sub>0</sub> = 3374,0 ± 267,7 µg/L ; [digluconate de chlorhexidine] <sub>0</sub> = 37,7 ± 5,4 µg/L ; DCO <sub>0</sub> = 1562 mgO <sub>2</sub> /L et COT <sub>0</sub> = 438 mg/L ; O <sub>3</sub> : 17 mgO <sub>3</sub> /L <sub>effluent</sub> /min ; [DIDAC] <sub>0</sub> = 2969,4 ± 795,5 µg/L ; [digluconate de chlorhexidine] <sub>0</sub> = 28,3 ± 15,7 µg/L ; DCO <sub>0</sub> = 1338 mgO <sub>2</sub> /L et COT <sub>0</sub> = 330 mg/L ; OCS® adapté : 17 mgO <sub>3</sub> /L <sub>effluent</sub> /min ; [DIDAC] <sub>0</sub> = 3374,0 ± 267,7 µg/L ; [digluconate de chlorhexidine] <sub>0</sub> = 37,7 ± 5,4 µg/L ; DCO <sub>0</sub> = 1090 mgO <sub>2</sub> /L et COT <sub>0</sub> = 262 mg/L. ....	37
Figure 24 : Suivi de la DCO et du COT pendant le traitement en semi-batch de l'effluent de la blanchisserie par ozonation et ozonation catalytique : OCS® : 12 mgO <sub>3</sub> /L <sub>effluent</sub> /min ; [DIDAC] <sub>0</sub> = 3374,0 ± 267,7 µg/L ; [digluconate de chlorhexidine] <sub>0</sub> = 37,7 ± 5,4 µg/L ; DCO <sub>0</sub> = 1562 mgO <sub>2</sub> /L et COT <sub>0</sub> = 438 mg/L ; O <sub>3</sub> : 17 mgO <sub>3</sub> /L <sub>effluent</sub> /min ; [DIDAC] <sub>0</sub> = 2969,4 ± 795,5 µg/L ; [digluconate de chlorhexidine] <sub>0</sub> = 28,3 ± 15,7 µg/L ; DCO <sub>0</sub> = 1338 mgO <sub>2</sub> /L et COT <sub>0</sub> = 330 mg/L ; OCS® adapté : 17 mgO <sub>3</sub> /L <sub>effluent</sub> /min ; [DIDAC] <sub>0</sub> = 3374,0 ± 267,7 µg/L ; [digluconate de chlorhexidine] <sub>0</sub> = 37,7 ± 5,4 µg/L ; DCO <sub>0</sub> = 1090 mgO <sub>2</sub> /L et COT <sub>0</sub> = 262 mg/L.....	37
Figure 25: Evolution de la DCO et du COT lors du traitement de l'effluent Blanchisserie avec le pilote terrain (Les valeurs affichées en italique correspondent aux valeurs moyennes de pourcentage de COT et DCO restant après traitement suite aux 3 prélèvements) .....	39
Figure 26 : Evolution du DIDAC lors du traitement de l'effluent Blanchisserie avec le pilote terrain. (Les valeurs affichées en italiques correspondent aux concentrations moyennes en biocides obtenues suite aux 3 prélèvements exprimées respectivement en µg/L).....	39
Figure 27 : Sous-produits d'oxydation du DIDAC observés lors du traitement par ozonation seule de l'effluent de la blanchisserie : doses d'ozone appliquées de 768, 1344 et 2100 gO <sub>3</sub> /m <sup>3</sup> respectivement pour O <sub>3</sub> points 1,2,3, O <sub>3</sub> points 4,5,6 et O <sub>3</sub> adapté (Pour une meilleure lisibilité des résultats, les aires affichées dans cette figure pour le composé D 340 ont été divisées par 10). ....	40
Figure 28 : Sous-produits d'oxydation du DIDAC observés lors du traitement par ozonation catalytique de l'effluent de la blanchisserie : doses d'ozone appliquées de 806, 2100 et 1732 gO <sub>3</sub> /m <sup>3</sup> respectivement pour OCS®, OCS® adapté points 1,2,3 et OCS® adapté points 4,5,6 (Pour une meilleure lisibilité des résultats, les aires affichées dans cette figure pour le composé D 340 ont été divisées par 10).....	41
Figure 29 : Sous-produits d'oxydation du DIDAC observés lors du traitement par ozonation et ozonation catalytique en conditions adaptées de l'effluent de la blanchisserie : doses d'ozone appliquées de 2100, 2100 et 1732 gO <sub>3</sub> /m <sup>3</sup> respectivement pour O <sub>3</sub> adapté, OCS® adapté points 1,2,3 et OCS® adapté points 4,5,6 (Pour une meilleure lisibilité des résultats, les aires affichées dans cette figure pour le composé D 340 ont été divisées par 10).....	41
Figure 30 : Evolution de l'écotoxicité vis-à-vis de <i>Vibrio fischeri</i> avant et après traitement de l'effluent de la blanchisserie. (résultats obtenus pour une dilution au 1/10 des échantillons au contact des bactéries).....	42
Figure 31 :Volcano plot obtenu suite à la comparaison de l'effluent du CHU avant et après ozonation catalytique à pH 6.....	44
Figure 32 : Proportions d'ions dont l'abondance varie, diminue ou augmente en fonction du fold change suite aux différents traitements de l'effluent du CHU (doses d'ozone appliquées : 672, 768 et 740 gO <sub>3</sub> /m <sup>3</sup> pour l'ozonation, l'OCS® et l'OCS® à pH 6 respectivement).....	45
Figure 33 : Proportions d'ions dont l'abondance varie, diminue ou augmente significativement en fonction du rapport m/z suite aux différents traitements de l'effluent du CHU (doses d'ozone appliquées : 672, 768 et 740 gO <sub>3</sub> /m <sup>3</sup> pour l'ozonation, l'OCS® et l'OCS® à pH 6 respectivement) ...	47
Figure 34 : Proportions d'ions dont l'abondance varie en fonction du fold change suite aux différents traitements de l'effluent de la blanchisserie (les valeurs affichées entre parenthèses correspondent aux valeurs de doses d'ozone appliquées lors du traitement) .....	48
Figure 35 : Nombre d'ions augmentant ou diminuant en fonction du fold change après traitement de l'effluent de la blanchisserie par ozonation seule ou OCS® Source des données : LCM .....	49



Figure 36 : Proportions d'ions dont l'abondance varie significativement en fonction des rapports m/z suite aux différents traitements de l'effluent de la blanchisserie (les valeurs affichées entre parenthèses correspondent aux doses d'ozone appliquées lors des différents traitements) .....	50
Figure 37 : Partie réacteur de l'unité d'OCS®.....	52
Figure 38 : Plan d'implantation de l'unité d'OCS® pour le traitement de l'effluent, avec la solution PSA dans ce cas .....	52
Figure 39 : Répartition des différents postes de charge dans les OPEX pour chaque filière de traitement.....	55
Figure 40 : Théorie du Cercle de SINNER.....	57
Figure 41 : Exemple de matériel microfibre (bandeau réutilisable).....	58
Figure 42 : Microfibre et fibre coton – différence de la taille des fibres et effet mécanique.....	58
Figure 43 : Exemples de dispositifs de nettoyage mécanisés .....	60
Figure 44 : Exemple de chariot avec dispositif vapeur.....	61
Figure 45 : Evolution de l'activité du CHU (en jours d'hospitalisation ou consultations) et faits marquant de son activité (CCV : Centre cardio Vasculaire).....	67
Figure 46 : Evolution de la consommation en détergent-désinfectant de l'instrumentation (a/ en Litres ; b/ en L/jour d'hospitalisation).....	68
Figure 47 : Evolution de la consommation en détergent-désinfectant de surfaces (a/ en Litres ; b/ en L/jour d'hospitalisation).....	68
Tableau 1 : Planning prévisionnel (en orange) et planning suivi (en rouge) pour la phase 3 du projet BIOTECH (de septembre 2016 à décembre 2018).....	11
Tableau 2 : Gradient chromatographique utilisé en couplage LC-MS .....	14
Tableau 3 : Temps de rétention, composition élémentaire des ions moléculaires MH <sup>+</sup> obtenus par spectrométrie de masse (ESI <sup>+</sup> ) et structures proposées pour les sous-produits d'oxydation du bis(aminopropyl)amine .....	17
Tableau 4 : Temps de rétention, composition élémentaire des ions moléculaires MH <sup>+</sup> obtenus par spectrométrie de masse (ESI <sup>+</sup> ) et structures proposées pour les sous-produits d'oxydation du digluconate de chlorhexidine.....	19
Tableau 5 : Temps de rétention, composition élémentaire des ions moléculaires obtenus par spectrométrie de masse (ESI <sup>+</sup> ) et structures proposées pour les sous-produits D 340.....	21
Tableau 6 : Temps de rétention, composition élémentaire des ions moléculaires obtenus par spectrométrie de masse (ESI <sup>+</sup> ) et structures proposées pour les sous-produits D 354.....	22
Tableau 7 : Temps de rétention, composition élémentaire des ions moléculaires obtenus par spectrométrie de masse (ESI <sup>+</sup> ) et structures proposées pour les sous-produits D 356.....	22
Tableau 8 : Temps de rétention, composition élémentaire des ions moléculaires obtenus par spectrométrie de masse (ESI <sup>+</sup> ) et structures proposées pour les sous-produits D 368.....	22
Tableau 9 : Temps de rétention, composition élémentaire des ions moléculaires obtenus par spectrométrie de masse (ESI <sup>+</sup> ) et structures proposées pour les sous-produits D 370.....	23
Tableau 10 : Temps de rétention, composition élémentaire des ions moléculaires obtenus par spectrométrie de masse (ESI <sup>+</sup> ) et structures proposées pour les sous-produits D 372.....	23
Tableau 11 : Concentrations des biocides dans les effluents du CHU et de la blanchisserie lors des expériences sur pilote laboratoire .....	25
Tableau 12 : Caractéristiques des bâchées CHU et conditions de traitements paramétrés sur le pilote .....	33
Tableau 13 : Ecotoxicité vis-à-vis de <i>Daphnia magna</i> Straus et <i>Pseudokirchnella subcapitata</i> lors du traitement de l'effluent CHU. Dose d'ozone appliquée : 670 gO <sub>3</sub> /m <sup>3</sup> - 770 gO <sub>3</sub> /m <sup>3</sup> . .....	36
Tableau 14 : Caractéristiques des bâchées de la nouvelle blanchisserie et conditions de traitements paramétrés sur le pilote. ....	38
Tableau 15 : Ecotoxicité vis-à-vis de <i>Vibrio fischeri</i> , <i>Daphnia magna</i> Straus et <i>Pseudokirchnella subcapitata</i> lors du traitement de l'effluent de la blanchisserie. Dose d'ozone appliquée : 960 gO <sub>3</sub> /m <sup>3</sup> .....	42
Tableau 16 : Objectifs et hypothèses de dimensionnement des unités d'OCS® et O <sub>3</sub> seul pour le traitement des biocides dans les effluents du CHU et de la blanchisserie .....	51
Tableau 17 : Bases de dimensionnement des unités d'OCS® et d'O <sub>3</sub> seul pour le traitement de l'effluent sortie CHU.....	53
Tableau 18 : Bases de dimensionnement des unités d'OCS® et d'O <sub>3</sub> seul pour le traitement de l'effluent de la blanchisserie .....	53
Tableau 19 : Coût du traitement des effluents sortie CHU et Blanchisserie par procédés OCS® et Ozonation seul : OPEX et CAPEX. ....	54
Tableau 20 : Avantages et inconvénients des microfibrés.....	59
Tableau 21 : Actions menées par le CHU pouvant occasionner une évolution des consommations en détergents-désinfectants .....	69

*Tableau 22 : Evaluation et comparaison du temps passé selon la méthode de nettoyage des  
chambres des patients ..... 71*

## 8. Annexes

### 8.1. Analyse des résultats obtenus par LC-HR-MS/MS pour le bis(aminopropyl)laurylamine et ses sous-produits d'oxydation

Le Tableau A-1 présente les spectres de collision des ions moléculaires du bis(aminopropyl)laurylamine et de ses composés de dégradation.

Tableau A-1 : Spectres de collision des ions moléculaires du bis(aminopropyl)laurylamine et de ses composés de dégradation )

Composé	Ion moléculaire MH <sup>+</sup>		MS/MS de MH <sup>+</sup> (Energie de collision 30eV) Ions fragments (m/z)
	Composition élémentaire	m/z expérimental	
Bis(amino-propyl)laurylamine	C <sub>18</sub> H <sub>42</sub> N <sub>3</sub>	300,3375	283 (C <sub>18</sub> H <sub>39</sub> N <sub>2</sub> ) - 266 (C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> N)- 243 (C <sub>15</sub> H <sub>35</sub> N <sub>2</sub> ) - 226 (C <sub>15</sub> H <sub>32</sub> N) - 212 (C <sub>14</sub> H <sub>30</sub> N)-198 (C <sub>13</sub> H <sub>28</sub> N)
B 316	C <sub>18</sub> H <sub>42</sub> N <sub>3</sub> O	316,3326	299 (C <sub>18</sub> H <sub>39</sub> N <sub>2</sub> O) 282 (C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> NO)-259 (C <sub>15</sub> H <sub>35</sub> N <sub>2</sub> O)-242 (C <sub>15</sub> H <sub>32</sub> NO)-226 (C <sub>15</sub> H <sub>32</sub> N) -212 (C <sub>14</sub> H <sub>30</sub> N)-198 (C <sub>13</sub> H <sub>28</sub> N)
B 315-1	C <sub>18</sub> H <sub>39</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	315,3003	270 (C <sub>17</sub> H <sub>36</sub> NO)-242 (C <sub>15</sub> H <sub>32</sub> NO)-226 (C <sub>15</sub> H <sub>32</sub> N)-212(C <sub>14</sub> H <sub>30</sub> N)-198 (C <sub>13</sub> H <sub>28</sub> N)
B 315-2	C <sub>18</sub> H <sub>39</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	315,3003	298 (C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> NO <sub>2</sub> )-270 (C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> NO <sub>2</sub> )-258 (C <sub>15</sub> H <sub>32</sub> NO <sub>2</sub> ) - 226 (C <sub>15</sub> H <sub>32</sub> N)-212 (C <sub>14</sub> H <sub>30</sub> N)-198 (C <sub>13</sub> H <sub>28</sub> N)- 130 (C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> NO <sub>2</sub> )-116 (C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> NO <sub>2</sub> )

Pour les ions de faible m/z seuls les ions contenant de l'oxygène sont reportés dans ce tableau  
Source des données : LCM

#### ➤ Bis(aminopropyl)laurylamine

Le mécanisme de fragmentation obtenu en spectrométrie de masse pour la molécule de bis(aminopropyl)laurylamine protonée est présenté dans la Figure A-1.

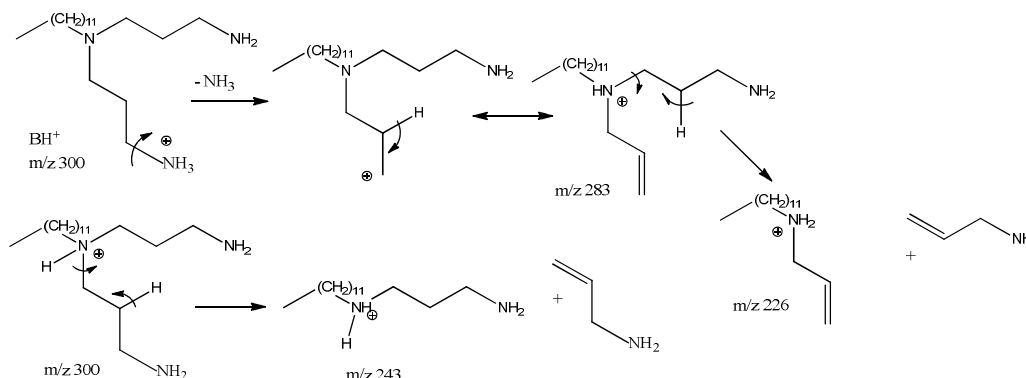


Figure A-1 : Mécanismes de dissociation par collisions du bis(aminopropyl)laurylamine protoné  
Source des données : LCM

#### ➤ Composé B 316

Le composé B 316 a gagné un atome d'oxygène par rapport au bis(aminopropyl)laurylamine. La présence de l'ion m/z 282 (C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>NO, élimination de deux molécules d'ammoniac à partir de l'ion moléculaire de B 316) et l'absence d'élimination de 33 uma (NH<sub>2</sub>OH) élimine la possibilité d'un composé oxydé sur un des atomes d'azote. De plus, la présence de l'ion m/z 198 (C<sub>13</sub>H<sub>28</sub>N) sur le spectre de collision nous permet d'éliminer la possibilité d'oxydation sur la chaîne alkyle. Plusieurs positions d'oxydation sont possibles en α des atomes d'azote ou sur le carbone du centre de la chaîne. Les schémas de fragmentation des trois molécules protonées possibles pour le composé B 316 sont proposés sur les figures A-2, A-3 et A-4.



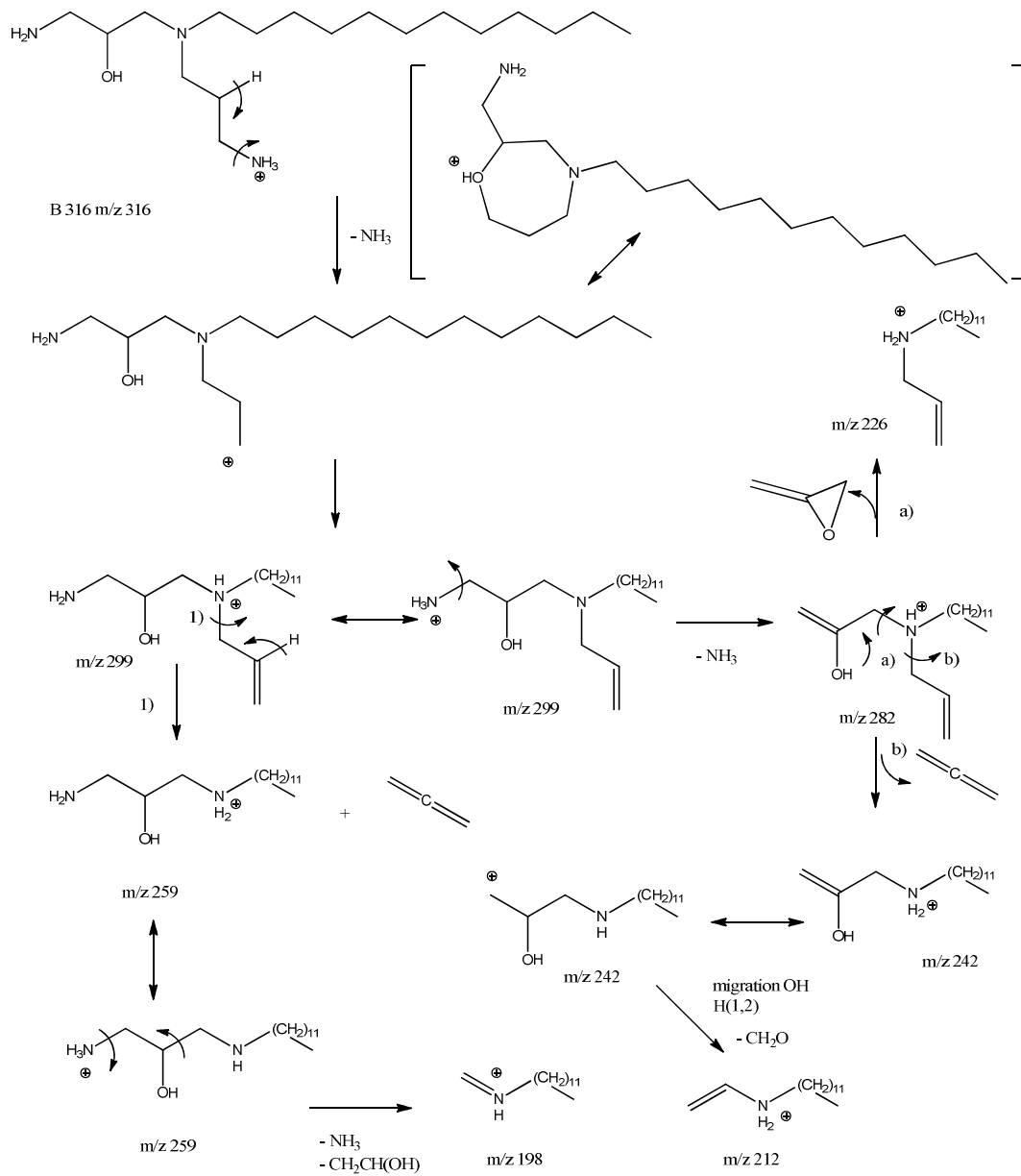
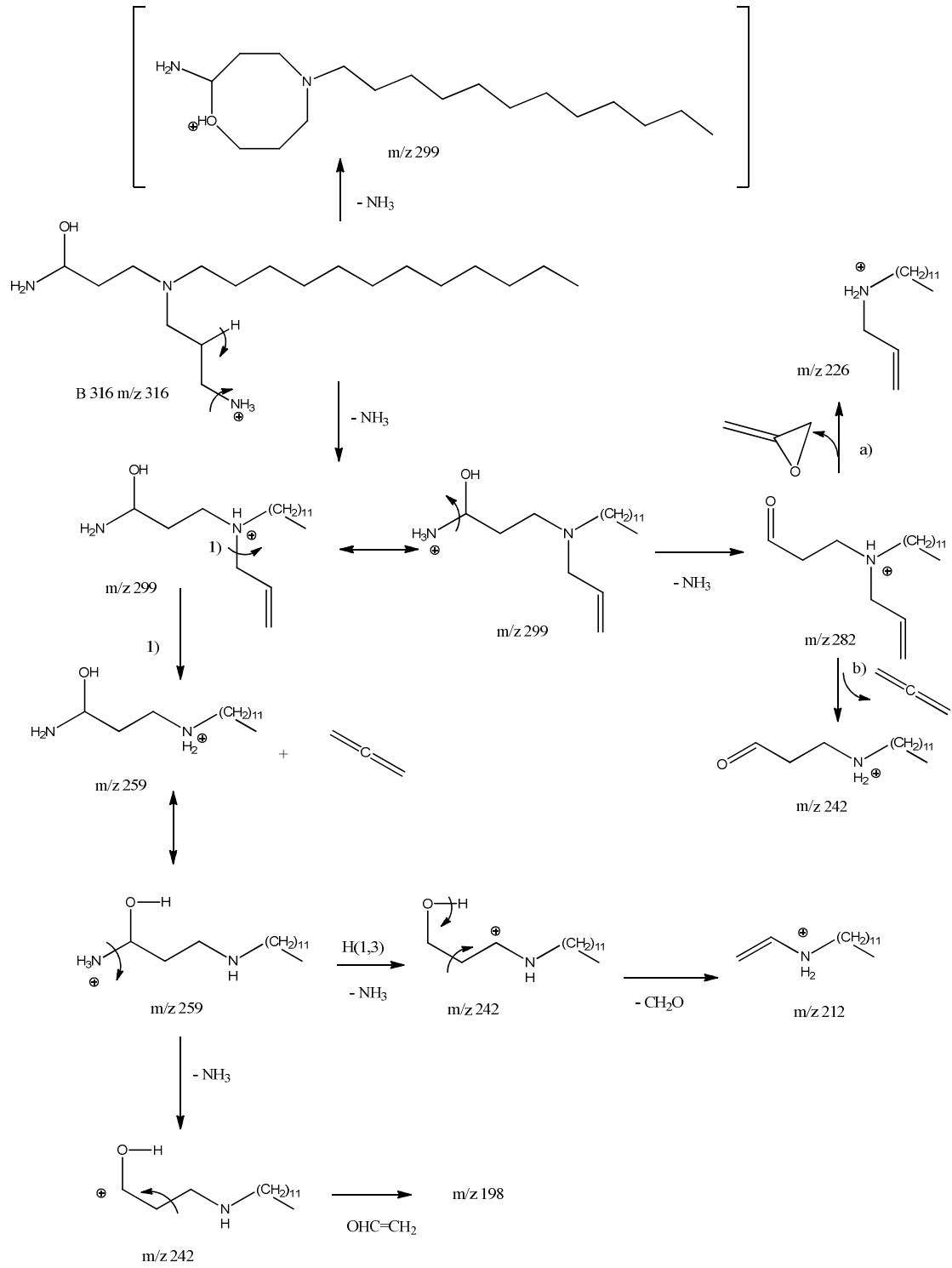


Figure A-2. Proposition de mécanisme de décomposition de l'ion moléculaire de B 316 pour la structure 1  
 Source des données : LCM



**Figure A-3 : Proposition de mécanisme de décomposition de l'ion moléculaire de B 316 pour la structure 2**  
 Source des données : LCM

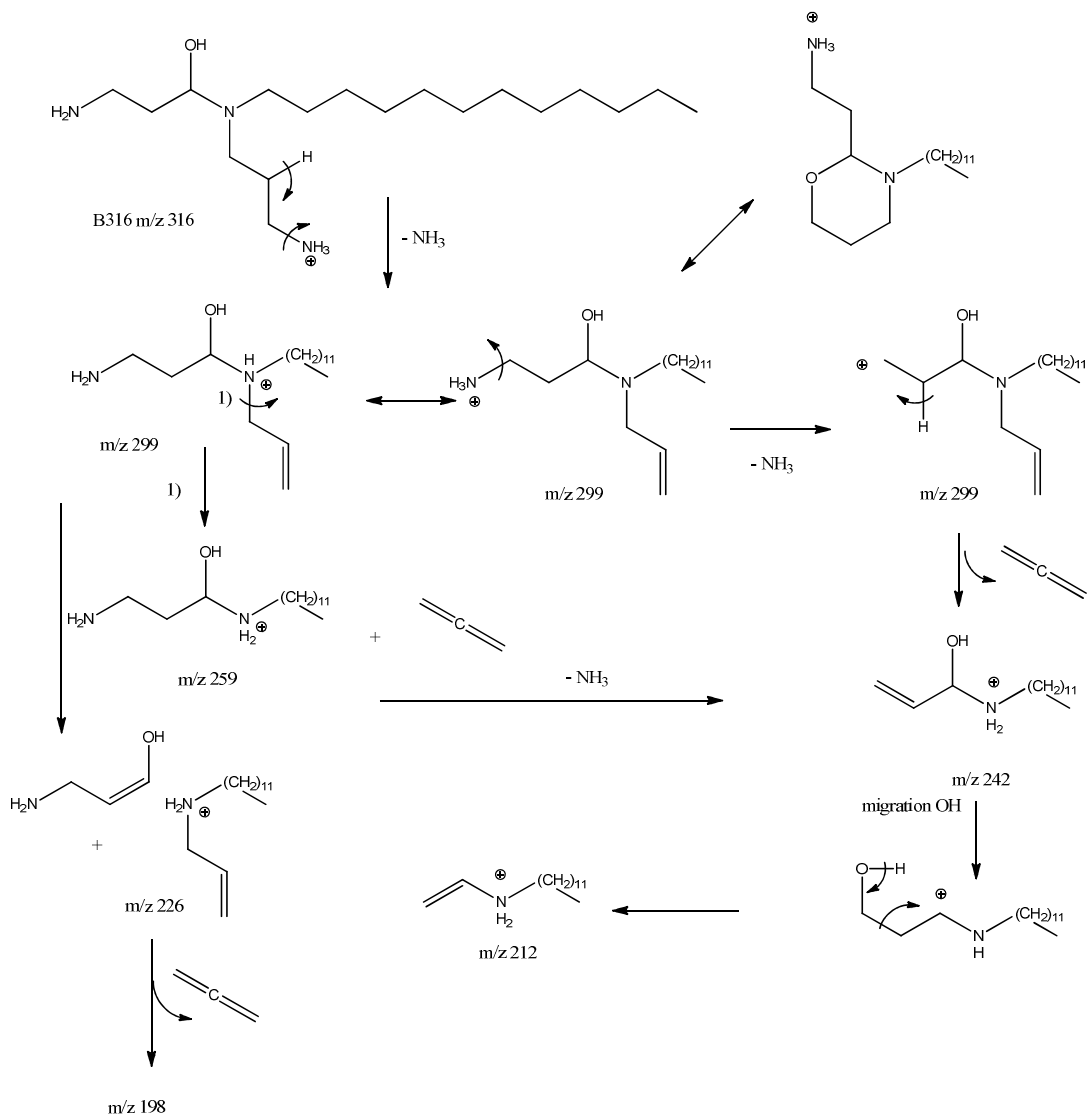


Figure A-4 : Proposition de mécanisme de décomposition de l'ion moléculaire de B 316 pour la structure 3  
Source des données : LCM

La décomposition des trois molécules protonées permet la formation des ions fragments observés. Cependant il semble surprenant qu'une perte d'eau à partir de la molécule protonée ne soit pas observée (ion au rapport m/z 298) dans le cas des propositions 2 et 3. Pour la proposition 2, la perte d'eau devrait être suivi d'une élimination de  $\text{NH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$  pour conduire à l'ion m/z 255 non présent sur le spectre de collision de l'ion moléculaire. En revanche, pour la molécule 3, l'élimination de  $\text{NH}_3$  à partir de  $\text{MH}^+$ , peut être suivi d'une cyclisation du fait de la présence de l'hydroxy. La stabilisation par la formation d'un cycle à 6 (Structure 3) est plus favorable que la formation d'un cycle à 7 ou 8 pour les structures 1 et 2 respectivement. En prenant ces remarques en compte, et considérant les sites d'attaque les plus probables lors de l'oxydation par ozonation ou  $\text{OCS}^+$ , la structure de la proposition 3 semblerait donc la plus probable.

#### ➤ Composé B 315-1

La composition élémentaire du composé B 315 est  $\text{C}_{18}\text{H}_{39}\text{N}_2\text{O}_2$ . Ce composé a gagné deux atomes d'oxygène, perdu un atome d'azote et trois atomes d'hydrogène par rapport au bis(aminopropyl)laurylamine.

Sur la base de la réactivité de l'ozone et des radicaux hydroxyle avec les principaux groupements fonctionnels du bis(aminorpropyl)laurylamine, nous avons supposé qu'une des fonctions amine primaire avait été complètement oxydée en acide carboxylique pour ce composé. Cette structure est en accord avec le spectre de collision de la molécule protonée présenté Figure A-5.

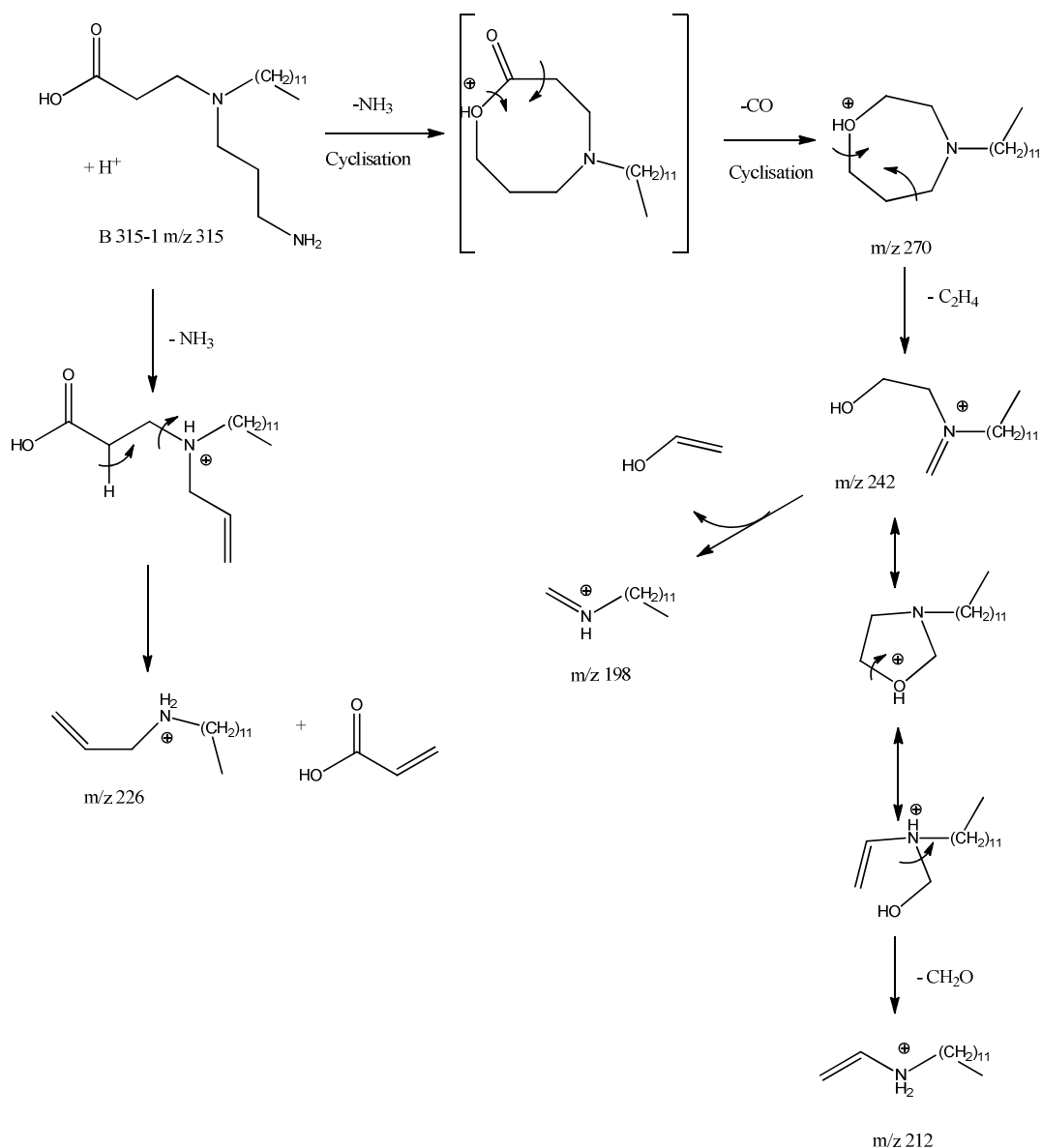
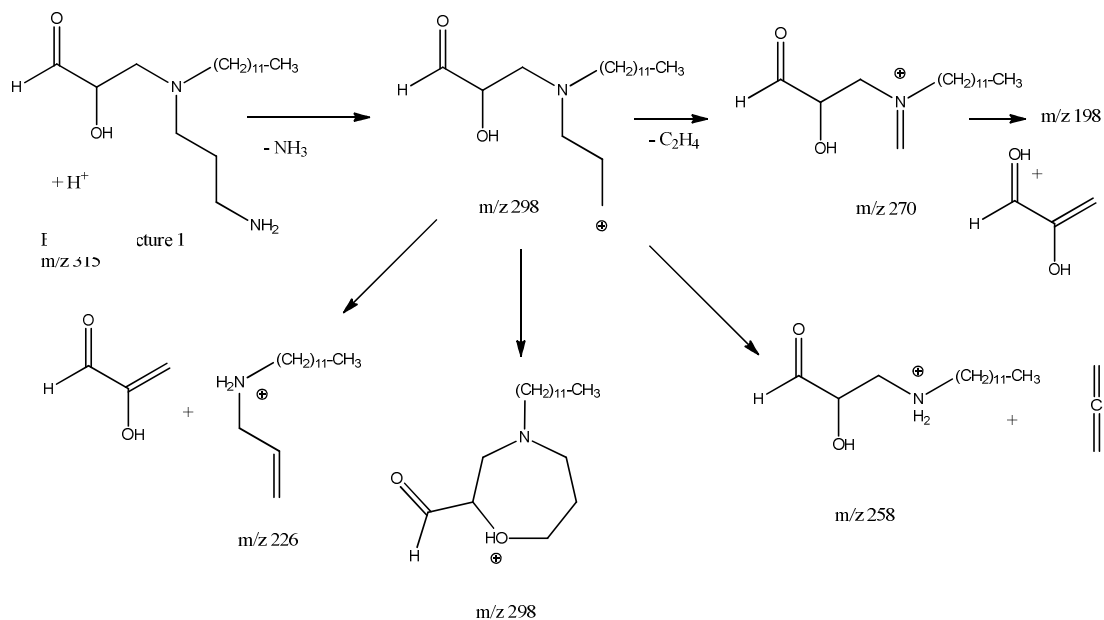


Figure A-5 : Proposition de mécanisme de décomposition de l'ion moléculaire de B315-1  
Source des données : LCM

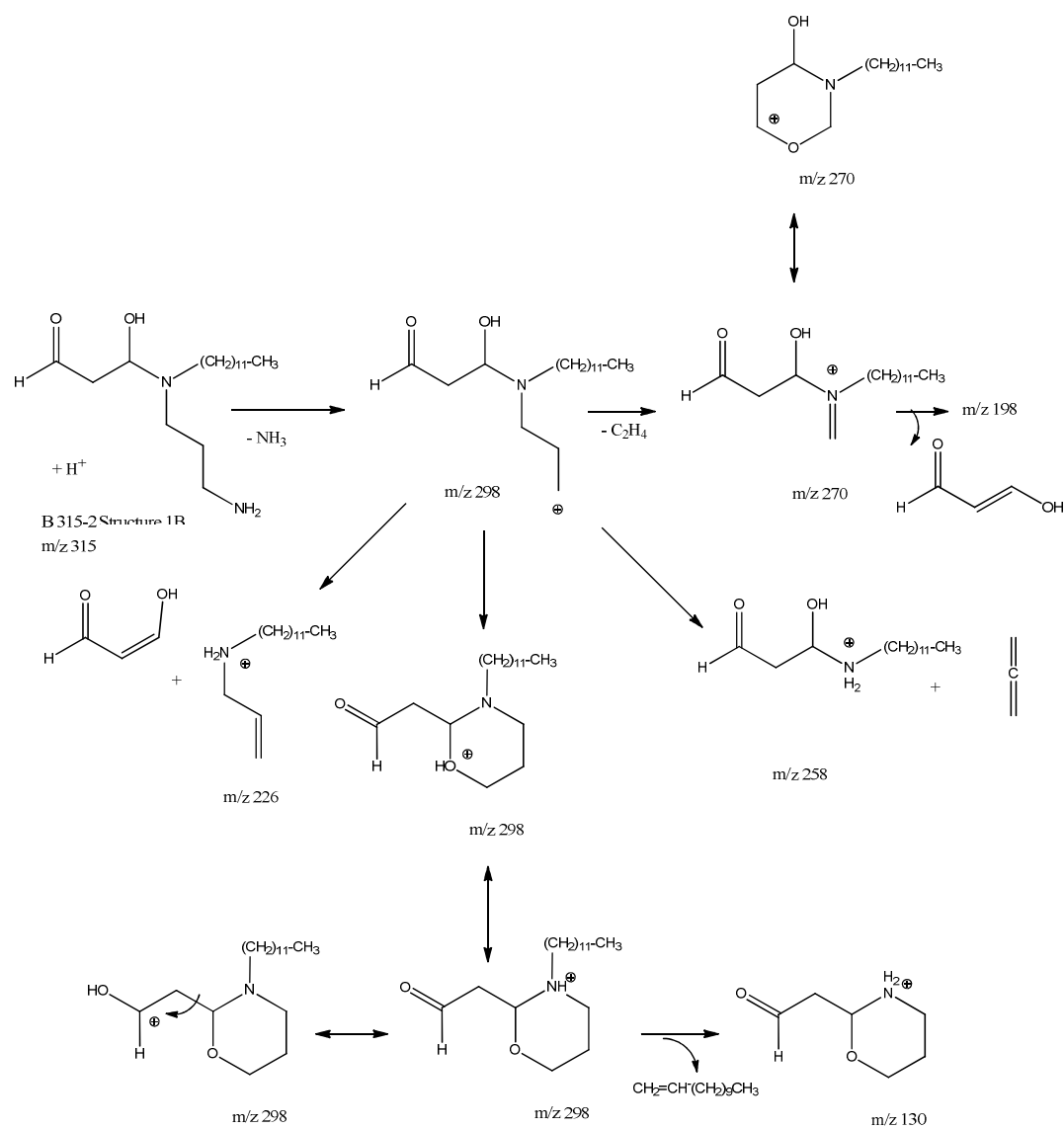
### ➤ Composé B 315-2

Le composé B 315-2 a la même composition élémentaire que le composé B 315-1. Pour ce composé, les ions obtenus au rapport m/z 298 et m/z 270 correspondent aux pertes de NH<sub>3</sub> et NH<sub>3</sub>+C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> respectivement. L'ion au rapport m/z 258 correspond aux éliminations de NH<sub>3</sub> et C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>. Ces fragmentations laissent supposer qu'une des chaînes aminées n'a pas été oxydée. Comme pour les autres composés, la présence de l'ion au rapport m/z 198 permet d'éliminer la possibilité d'oxydation de la chaîne alkyle.

A partir de ces informations, deux structures ont été envisagées pour le composé B315. Les mécanismes associés à la fragmentation des ions moléculaires sont représentés sur les figures A-6 et A-7.



**Figure A-6. Proposition de mécanisme de décomposition de l'ion moléculaire de B315-2 (Structure 1)**  
Source des données : LCM



**Figure A-7 : Proposition de mécanisme de décomposition de l'ion moléculaire de B315-2 (Structure 2)**  
Source des données : LCM

Toutefois, la stabilisation de l'ion  $m/z$  298 obtenu à partir de  $MH^+$  par perte de  $NH_3$  impliquant un cycle à 6 dans le cas de la proposition 2 est plus favorable que celle qui implique la formation d'un cycle à 7 dans le cas de la proposition 1. De plus, les mécanismes d'action de l'ozone et des radicaux hydroxyle sont plus favorables à la formation de la structure 2.

## 8.2. Analyse des fragmentations obtenues en spectrométrie de masse pour les sous-produits d'oxydation du digluconate de chlorhexidine

Le Tableau A-2 présente les spectres de collision des ions moléculaires de la chlorhexidine et de ses composés de dégradation.

Tableau A-2 : Spectres de collision des ions moléculaires de la chlorhexidine et de ses composés de dégradation (Energie de collision 30eV)

Composé	Ion moléculaire MH <sup>+</sup>		MS/MS de MH <sup>+</sup> (Energie de collision 30eV) Ions fragments (m/z)
	Composition élémentaire	m/z expérimental	
Chlorhexidine	C <sub>22</sub> H <sub>31</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>10</sub>	505,2102	488 (C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>9</sub> ) - 471 (C <sub>22</sub> H <sub>25</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>8</sub> ) - 378 (C <sub>16</sub> H <sub>25</sub> ClN <sub>9</sub> ) - 361 (C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> ClN <sub>8</sub> ) - 353 (C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> ClN <sub>8</sub> ) - 336 (C <sub>15</sub> H <sub>23</sub> ClN <sub>7</sub> ) - 319 (C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> ClN <sub>6</sub> ) - 311 (C <sub>14</sub> H <sub>24</sub> ClN <sub>6</sub> ) - 294 (C <sub>14</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>5</sub> ) - 195 (C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> ClN <sub>4</sub> ) - 184 (C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> N <sub>5</sub> ) - 170 (C <sub>7</sub> H <sub>9</sub> ClN <sub>3</sub> ) - 167 (C <sub>8</sub> H <sub>15</sub> N <sub>4</sub> ) - 142 (C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> )
C 485	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> ClN <sub>10</sub> O	485,2288	468 (C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> ClN <sub>9</sub> O) - 451 (C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> ClN <sub>8</sub> O) - 358 (C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> N <sub>9</sub> O) - 341 (C <sub>16</sub> H <sub>21</sub> ON <sub>8</sub> ) - 336 (C <sub>15</sub> H <sub>23</sub> ClN <sub>7</sub> ) - 333 (C <sub>15</sub> H <sub>25</sub> ON <sub>8</sub> ) - 319 (C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> ClN <sub>6</sub> ) - 316 (C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> N <sub>7</sub> O) - 299 (C <sub>15</sub> H <sub>19</sub> ON <sub>6</sub> ) - 291 (C <sub>14</sub> H <sub>23</sub> ON <sub>8</sub> ) - 274 (C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> ON <sub>5</sub> ) - 257 (C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> N <sub>4</sub> O) - 195 (C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> ClN <sub>4</sub> ) - 192 (C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>5</sub> O) - 175 (C <sub>8</sub> H <sub>7</sub> N <sub>4</sub> O) - 170 (C <sub>7</sub> H <sub>9</sub> ClN <sub>3</sub> ) - 150 (C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> N <sub>3</sub> O) - 133 (C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O) - 142 (C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> ) - 108 (C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> NO)
C 521	C <sub>22</sub> H <sub>31</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>10</sub> O	521,2053	488 (C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>9</sub> ) - 471 (C <sub>22</sub> H <sub>25</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>8</sub> ) - 378 (C <sub>16</sub> H <sub>25</sub> ClN <sub>9</sub> ) - 361 (C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> ClN <sub>8</sub> ) - 353 (C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> ClN <sub>8</sub> ) - 336 (C <sub>15</sub> H <sub>23</sub> ClN <sub>7</sub> ) - 319 (C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> ClN <sub>6</sub> ) - 311 (C <sub>14</sub> H <sub>24</sub> ClN <sub>6</sub> ) - 294 (C <sub>14</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>5</sub> ) - 195 (C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> ClN <sub>4</sub> ) - 184 (C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> N <sub>5</sub> ) - 170 (C <sub>7</sub> H <sub>9</sub> ClN <sub>3</sub> ) - 167 (C <sub>8</sub> H <sub>15</sub> N <sub>4</sub> ) - 142 (C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> )

Pour les ions de faible m/z seuls les ions contenant de l'oxygène sont reportés dans ce tableau  
Source des données : LCM

### ➤ Chlorhexidine

La Figure A-8 propose les principales voies de décomposition de l'ion moléculaire de la chlorhexidine.

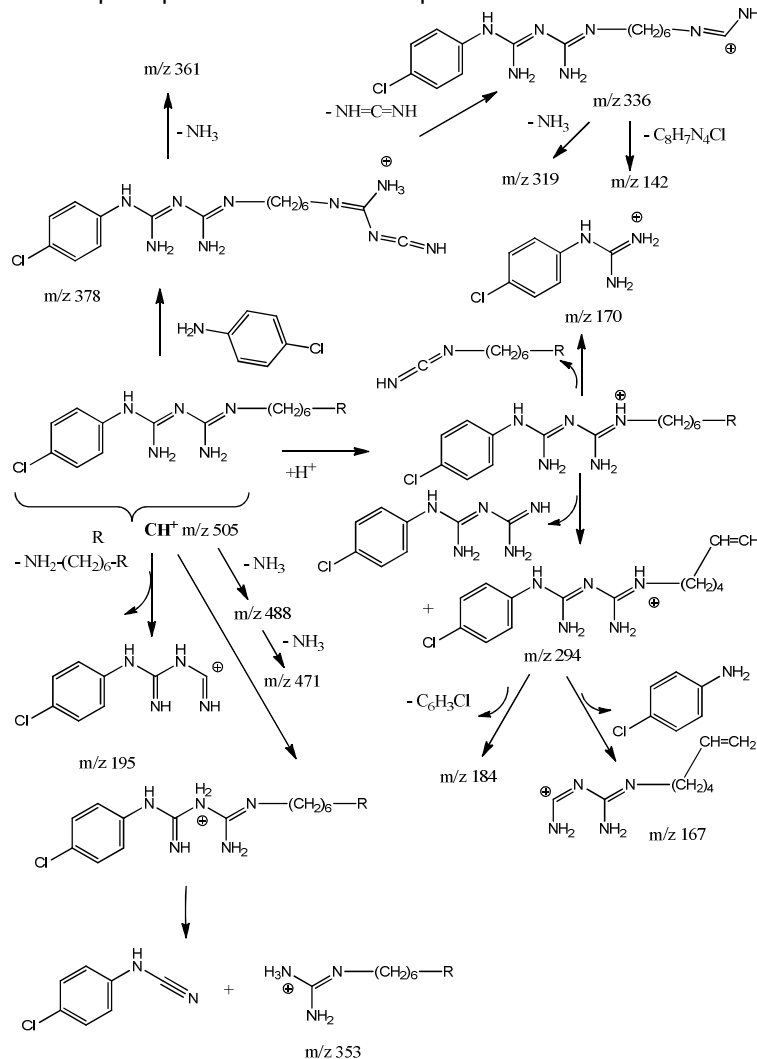


Figure A-8 : Mécanismes de dissociation par collisions de la chlorhexidine protonée (CH<sup>+</sup>)  
Source des données : LCM

➤ Produits de transformation

Le composé C 485 a perdu un atome de chlore et un atome d'hydrogène et a gagné un atome d'oxygène alors que le composé C 521 a gagné un atome d'oxygène. L'étude du schéma de fragmentation de la chlorhexidine protonée (Figure A-8) et les différences observées avec les spectres de collision des deux composés de dégradation ont été utilisés pour localiser le site d'oxydation pour chacun des composés. Comme la structure de la chlorhexidine est symétrique, une série d'ions ( $m/z$  336,  $m/z$  319,  $m/z$  195 et  $m/z$  170) est commune aux trois spectres de collision des ions moléculaires. Il s'agit des ions qui ont conservé le cycle aromatique avec le chlore. Une autre série d'ions est systématiquement décalée de 20 uma correspondant à la différence de masse entre les deux ions moléculaires ( $-\text{Cl}$  (35)  $-\text{H}$  (1)  $+\text{O}$  (16) ;  $m/z$  468,  $m/z$  451,  $m/z$  358,  $m/z$  341,  $m/z$  333,  $m/z$  316,  $m/z$  299,  $m/z$  291,  $m/z$  274, et  $m/z$  175). Enfin la présence d'ions oxydés de faible rapport  $m/z$  présentant plusieurs insaturations est en faveur d'une oxydation sur le cycle aromatique ou sur un azote substituant le cycle.

A partir des mécanismes d'ozonation, la formation du **composé C 485** pourrait provenir d'une attaque de l'ozone sur le carbone du cycle aromatique qui a perdu l'atome de chlore. D'après le schéma de fragmentation de l'ion moléculaire de la chlorhexidine et compte tenu des ions fragment obtenus sur le spectre de collision de ce composé, les collisions des ions  $m/z$  192, 175 et 150 ont été réalisées pour nous aider à localiser le site oxydé sur le composé. De même, nous avons aussi utilisé les spectres de collisions des ions fragments oxydés  $m/z$  133 et  $m/z$  108. Dans ces conditions, une élimination possible de CO à partir de  $m/z$  108, en accord avec la localisation de l'oxygène sur le cycle aromatique à la place du chlore, a été observée. Pour ce composé, la Figure A-9 présente le mécanisme de formation de l'ion  $m/z$  192 à partir de C 485.

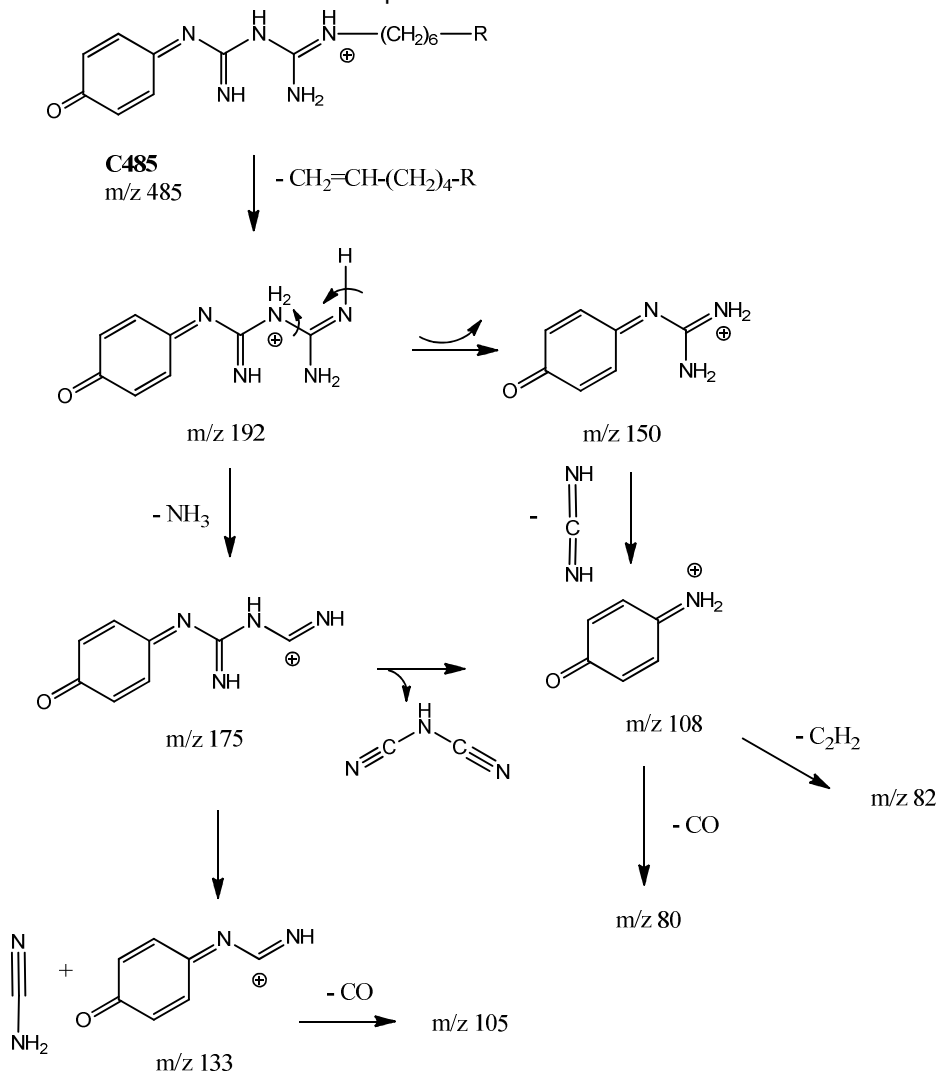


Figure A-9 : Mécanisme de formation de l'ion  $m/z$  192 à partir de C485 et décomposition de  $m/z$  192  
Source des données : LCM



Pour le **composé C 521**, une attaque initiale possible de l'ozone sur le cycle aromatique ou sur un des atomes d'azote de la chlorhexidine peut être envisagée d'après les mécanismes d'action de l'ozone et des radicaux hydroxyle décrits dans la littérature. En spectrométrie de masse, la présence de l'ion  $m/z$  108 ( $C_6H_6NO$ ) obtenu sur le spectre de collision de l'ion  $m/z$  192 est en accord avec une oxydation sur l'azote substituant le cycle aromatique ou sur un des carbones du cycle aromatique. Trois structures ont alors été envisagées, deux avec une oxydation sur le cycle (C521 A et C521 B) et la structure C521 C résultant d'une oxydation sur l'azote (Figure A-10).

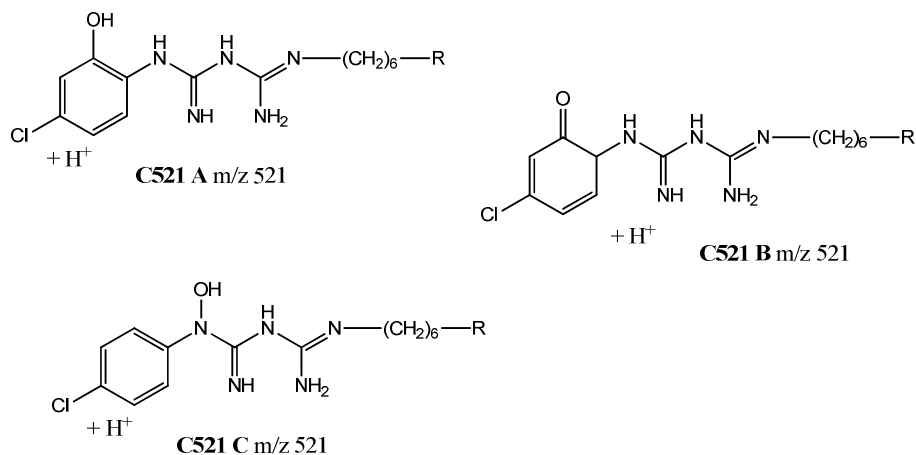


Figure A-10. Structures envisagées pour le composé C521.  
Source des données : LCM

Le spectre de collision de l'ion moléculaire du composé C 521 présente un ion fragment au rapport  $m/z$  485 qui correspond à une perte d'HCl à partir de  $m/z$  521. Pour ce composé, la structure de cet ion fragment pour chacune des structures envisagées a été dessinée afin de prédire les fragmentations suivantes et éliminer les structures les moins probables (Figures A-11 et A-12).

Dans ces conditions, il a pu être constaté que les structures C521 A et C peuvent conduire à l'ion observé sur le spectre de collision au rapport  $m/z$  133 alors que la fragmentation de l'ion  $m/z$  485 obtenu à partir de C521 B conduirait à la perte de CO. Cette structure a été alors éliminée puisque l'ion  $m/z$  457 n'est pas présent sur le spectre de collision.

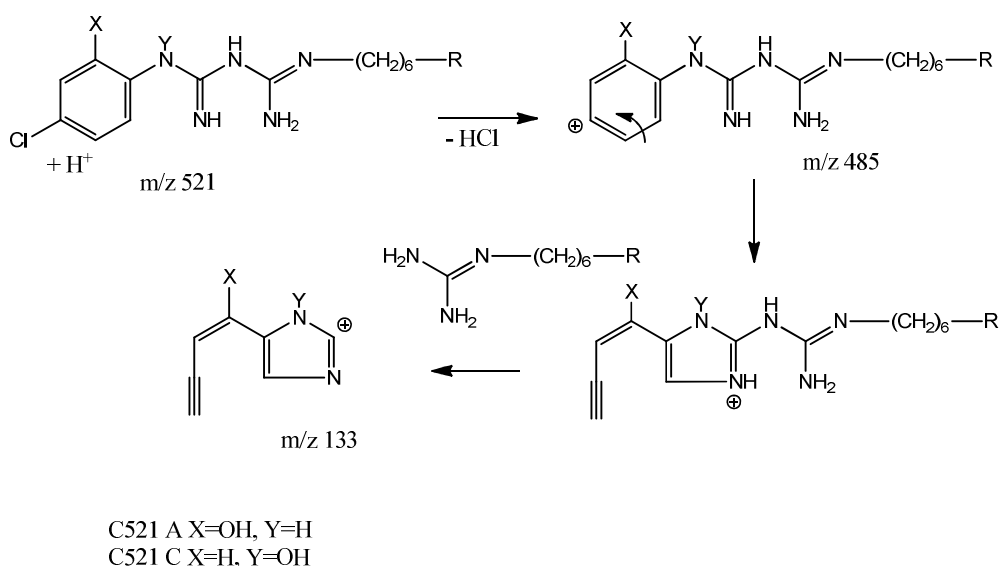


Figure A-11 : Prédiction de la fragmentation de l'ion C521 à partir des structures A et C  
Source des données : LCM

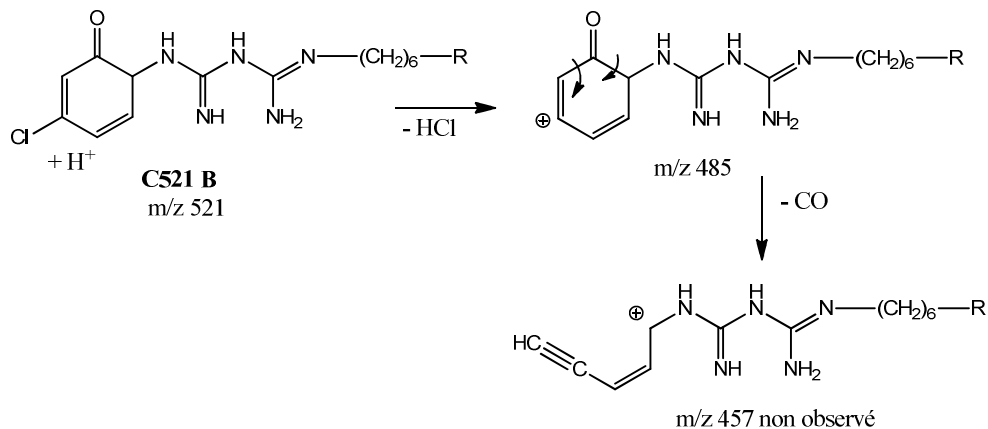


Figure A-12. Prédiction de la fragmentation de l'ion C521 à partir de la structure B.  
 Source des données : LCM

Pour déterminer la structure la plus probable pour le composé C 521, un spectre de collision sur l'ion  $m/z$  133 a alors été enregistré puisqu'on peut prévoir que la fragmentation de l'ion  $m/z$  133 pour les deux structures envisagées ne conduirait pas aux mêmes ions fragments (Figure A-13). Dans ces conditions, le spectre de collision de  $m/z$  133 a montré la formation d'un ion au rapport  $m/z$  77. Ainsi, la structure C a été proposée pour le composé C 521.

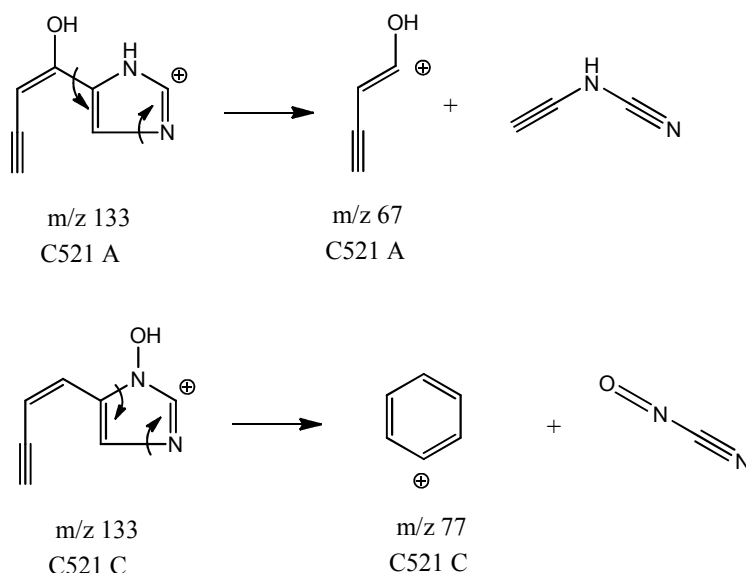
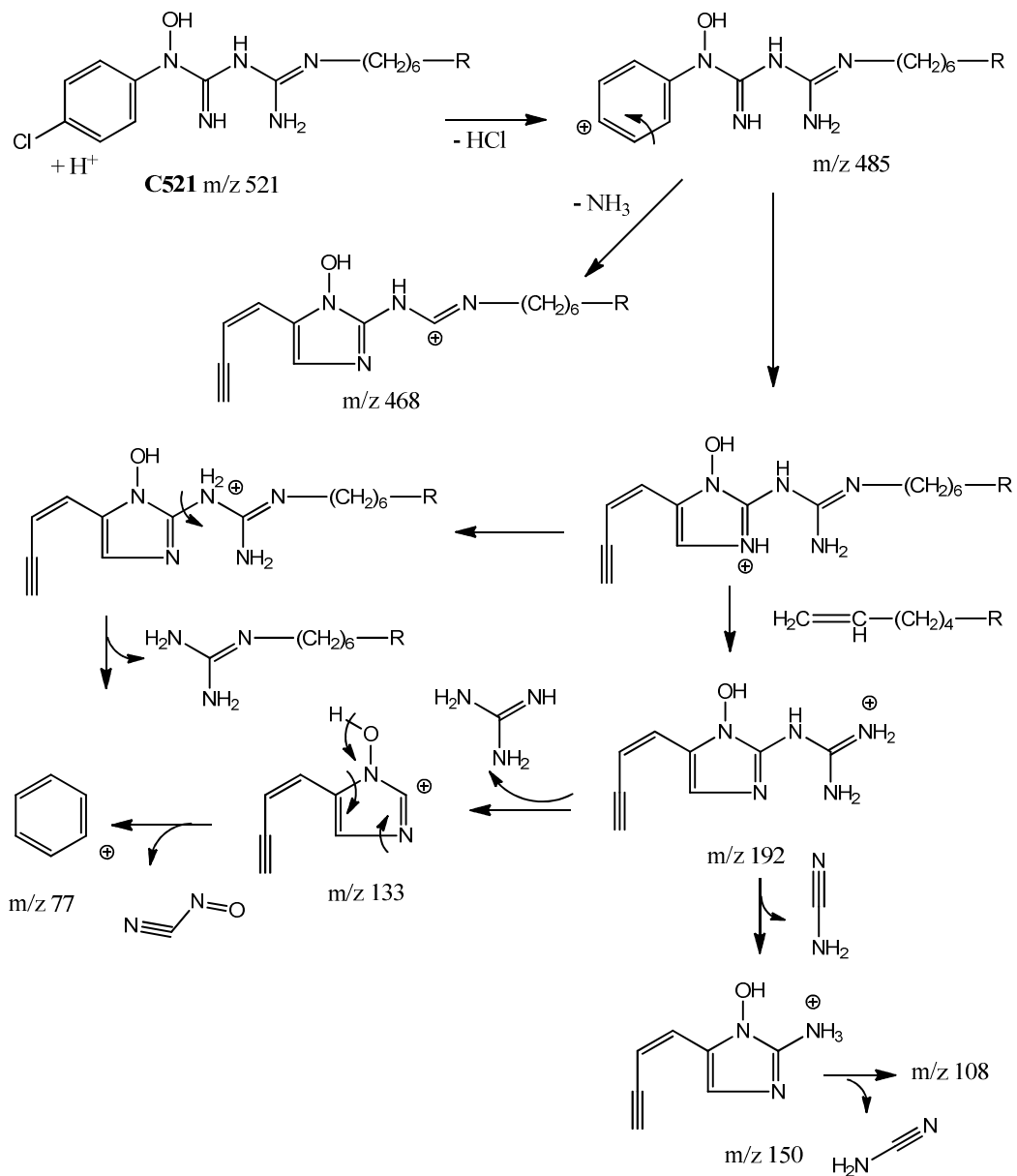


Figure A-13 : Prédiction de la fragmentation de l'ion  $m/z$  133 obtenu à partir des structures A et C  
 Source des données : LCM

Les principales voies de décomposition de l'ion moléculaire du composé C521 sont regroupées sur la Figure A-14.



**Figure A-14. Mécanismes de décomposition de l'ion moléculaire C521**  
 Source des données : LCM

### 8.3. Analyse des fragmentations obtenues par LC-HR-MS/MS pour les sous-produits d'oxydation du DIDAC

#### ➤ DIDAC

Le Tableau A-3 présente les spectres de collision de l'ion moléculaire du DIDAC

Tableau A-3 : Spectres de collision de l'ion moléculaire du DIDAC

Composé	Ions moléculaire		MS/MS de l'ion moléculaire (Energie de collision 30eV) Ions Fragments (m/z)
	Composition élémentaire	m/z expérimental	
DIDAC	C <sub>22</sub> H <sub>48</sub> N	326,3796	310 (C <sub>21</sub> H <sub>44</sub> N) – 186 (C <sub>12</sub> H <sub>28</sub> N)

Source des données : LCM

Pour ce composé, le schéma de fragmentation est présenté sur la Figure A-15. La fragmentation est induite par la charge. Chaque substituant de l'atome d'azote peut être éliminé sous forme neutre.

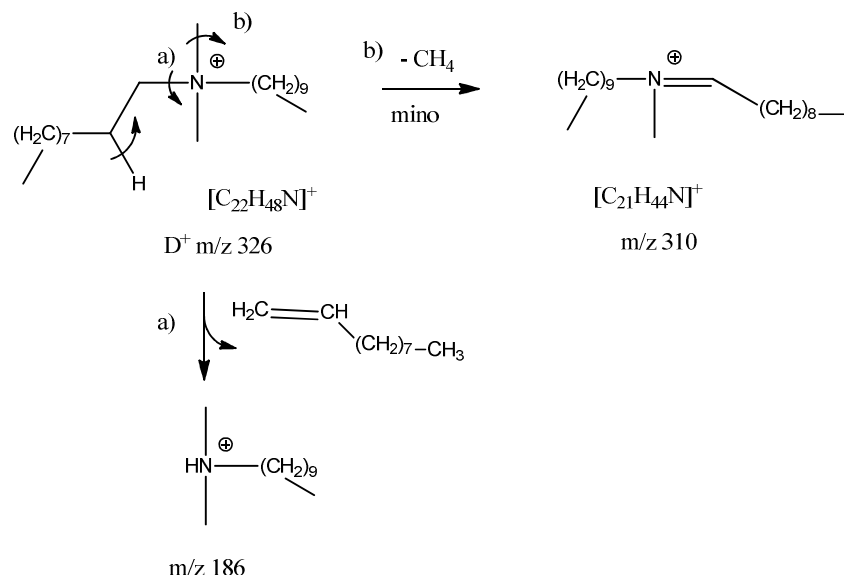


Figure A-15 : Proposition de mécanisme de fragmentation de l'ion moléculaire du DIDAC (D<sup>+</sup>)  
Source des données : LCM

#### ➤ Composés D 340

Les 2 composés de dégradation D 340 ont pour composition élémentaire C<sub>22</sub>H<sub>46</sub>NO, ce qui correspond à l'addition d'un atome d'oxygène et l'élimination de 2 atomes d'hydrogène par rapport au DIDAC. La molécule a gagné un carbonyle (aldéhyde ou cétone). Le Tableau A-4 présente les spectres de collision des ions moléculaires obtenus pour ces composés.

Tableau A-4 : Spectres de collision des ions moléculaires des sous-produits D 340

Composé	Ions moléculaires		MS/MS de l'ion moléculaire (Energie de collision 30eV) Ions fragments (m/z)
	Composition élémentaire	m/z expérimental	
D 340-1	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub> NO	340,3577	200 (C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> NO) - 186 (C <sub>12</sub> H <sub>28</sub> N) - 155 (C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> O) - 99 (C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O) - 85 (C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O) - 71 (C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O)
D 340-2		340,3579	186 (C <sub>12</sub> H <sub>28</sub> N) - 155 (C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> O) - 113 (C <sub>7</sub> H <sub>13</sub> O) - 71 (C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O)

\*Pour les ions de faible m/z seuls les ions contenant de l'oxygène sont reportés dans ce tableau  
Source des données : LCM

Les spectres de collision des ions moléculaires de ces deux composés permettent de mettre en évidence que l'oxydation a eu lieu sur une des chaînes alkyl. La présence de m/z 155 obtenu par perte de NH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> à partir de l'ion m/z 200 permet d'éliminer la possibilité d'une oxydation sur un

méthyl substituant l'azote. Un schéma général de fragmentation est présenté sur la Figure A-16 pour ces composés.

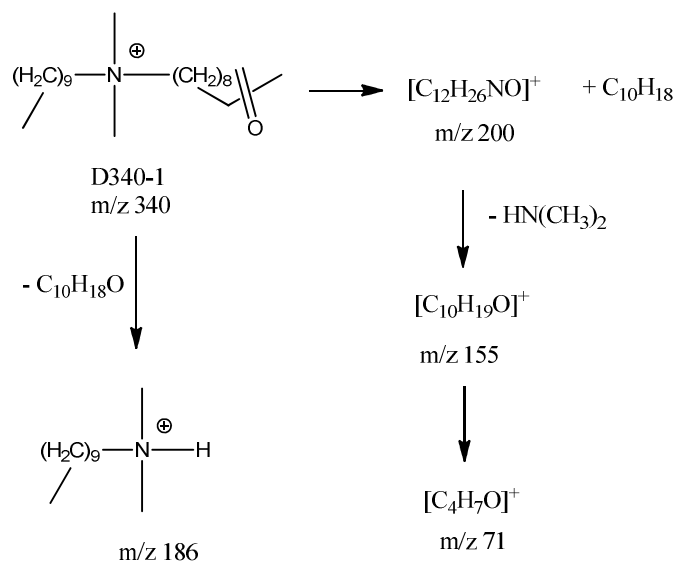


Figure A-16. Schéma général de décomposition de l'ion moléculaire D340  
Source des données : LCM

### ➤ Composés D 354

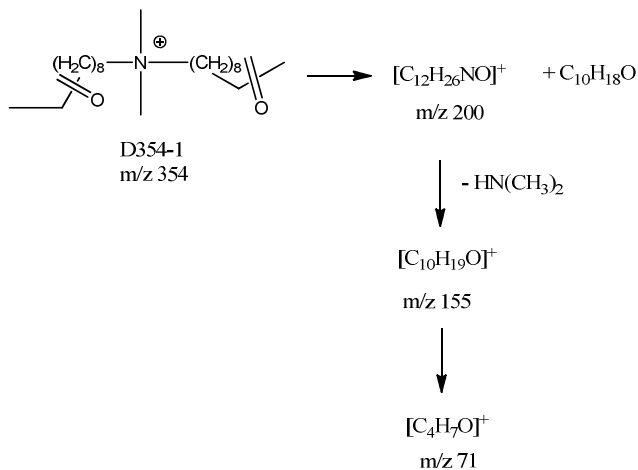
Les composés de dégradation D 354 ont pour composition élémentaire  $C_{22}H_{44}NO_2$ , ce qui correspond à l'addition de deux atomes d'oxygène et l'élimination de 4 atomes d'hydrogène. La molécule a gagné deux carbonyles (aldéhyde ou cétone). Le Tableau A-5 présente les spectres de collision des ions moléculaires obtenus pour ces composés.

Tableau A-5 : Spectres de collision des ions moléculaires des sous-produits D 354

Composé	Ions moléculaires		MS/MS de l'ion moléculaire et ions fragments (Energie de collision 30eV) Ions fragments (m/z)
	Composition élémentaire	m/z expérimental	
D 354-1	$C_{22}H_{44}NO_2$	354,3371	200 ( $C_{12}H_{26}NO$ ) -155 ( $C_{10}H_{19}O$ ) -71( $C_4H_7O$ ) MS/MS m/z 200 :184 ( $C_{11}H_{22}NO$ ) - 155 ( $C_{10}H_{19}O$ ) - 88 ( $C_4H_{10}NO$ ) -74 ( $C_3H_8NO$ ) MS/MS m/z 155 : 127 ( $C_8H_{15}O$ )
D 354-2		354,3368	214 ( $C_{12}H_{24}NO_2$ ) - 186 ( $C_{12}H_{28}N$ ) - 169 ( $C_{10}H_{17}O_2$ ) - 155 ( $C_{10}H_{19}O$ ) - 99 ( $C_6H_{11}O$ ) -71 ( $C_4H_7O$ ) MS/MS m/z 169 : 153 ( $C_9H_{13}O_2$ ) -111 ( $C_7H_{11}O$ )
D 354-3		354,3370	214 ( $C_{12}H_{24}NO_2$ ) -186 ( $C_{12}H_{28}N$ ) -169 ( $C_{10}H_{17}O_2$ ) -155 ( $C_{10}H_{19}O$ ) -151 ( $C_{10}H_{15}O$ ) -113 ( $C_6H_9O_2$ ) -99 ( $C_6H_{11}O$ )-97 ( $C_7H_{13}$ ) MS/MS m/z 169 : 153 ( $C_9H_{13}O_2$ )-141 ( $C_8H_{13}O_2$ ) -113 ( $C_6H_9O_2$ ) -97 ( $C_7H_{13}$ )
D 354-4		354,3369	214 ( $C_{12}H_{24}NO_2$ ) -169 ( $C_{10}H_{17}O_2$ ) -151 ( $C_{10}H_{15}O$ ) -127( $C_8H_{15}O$ ) -123 ( $C_8H_{11}O$ ) -109 ( $C_7H_9O$ ) -99 ( $C_6H_{11}O$ ) -71 ( $C_4H_7O$ ) MS/MS m/z 169 : 153 ( $C_9H_{13}O_2$ ) -141 ( $C_8H_{13}O_2$ ) -127 ( $C_8H_{15}O$ )-123 ( $C_8H_{11}O$ )-109 ( $C_7H_9O$ )-99 ( $C_6H_{11}O$ )-71 ( $C_4H_7O$ )

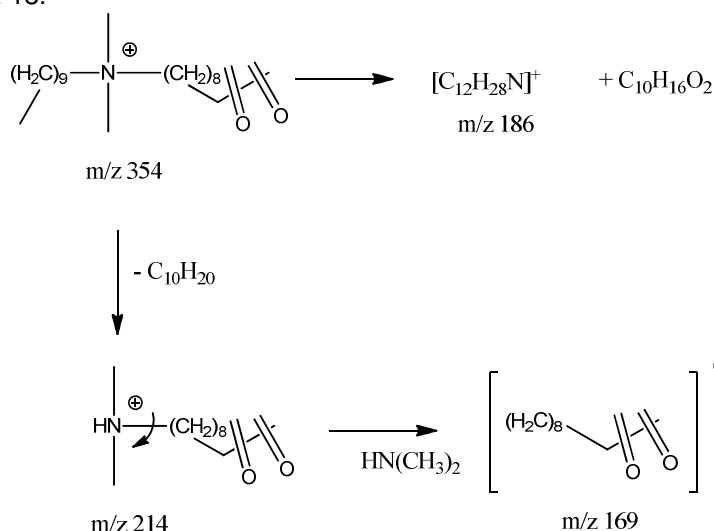
\*Pour les ions de faible m/z seuls les ions contenant de l'oxygène sont reportés dans ce tableau  
Source des données : LCM

L'étude de la fragmentation de l'ion moléculaire du composé D 354-1 permet de localiser les oxydations sur chacune des chaînes alkyles. L'ion m/z 200 de composition élémentaire  $C_{12}H_{26}NO$  est obtenu par rupture directe de la liaison N-C, sa fragmentation conduit à l'ion m/z 155 par perte de  $NH(CH_3)_2$  ce qui permet d'éliminer la possible oxydation des méthyles qui substituent l'atome d'azote. Les ions obtenus au rapport m/z 88 ( $C_4H_{10}NO$ ) et m/z 74 ( $C_3H_8NO$ ) sont issus de la décomposition de l'ion m/z 200, ils proviennent d'une chaîne alkyl oxydée différente. L'élimination de  $CH_4$  à partir de m/z 200 (formation de l'ion m/z 184) signifie que pour l'une des chaînes, le carbonyle n'est pas en  $\alpha$  de l'azote alors qu'il y est pour l'autre chaîne alkyle.



**Figure A-17 : Proposition de mécanisme de décomposition de l'ion moléculaire D354-1**  
 Source des données : LCM

Les trois autres **composés D 354 (2, 3 et 4)** suivent un schéma de fragmentation très proche. L'ion moléculaire conduit à la formation de deux ions aux rapports  $m/z$  186 ( $\text{C}_{12}\text{H}_{28}\text{N}$ ) et  $m/z$  214 ( $\text{C}_{12}\text{H}_{26}\text{NO}_2$ ) qui correspondent à l'élimination des chaînes alkyls avec la fonction amine. L'ion  $m/z$  186 ne comporte pas d'atome d'oxygène, cela signifie que ni la chaîne alkyle, ni les méthyl substituants l'atome d'azote n'ont été oxydés. L'ion obtenu au rapport  $m/z$  169 lors de la collision de l'ion  $m/z$  214 correspond à l'élimination de  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ . Le principe général de fragmentation de l'ion  $m/z$  354 est représenté Figure A-18.



**Figure A-18. Mécanisme de décomposition des ions moléculaires  $m/z$  354 observés pour les composés D 354-2, D 354-3 et D 354-4.**  
 Source des données : LCM

La fragmentation des ions  $m/z$  169 de composition élémentaire  $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{O}_2$  donne des éléments de différenciation pour les trois composés. La Figure A-19 présente les possibilités d'élimination de neutres en fonction du positionnement du carbonyl sur la chaîne alkyl.

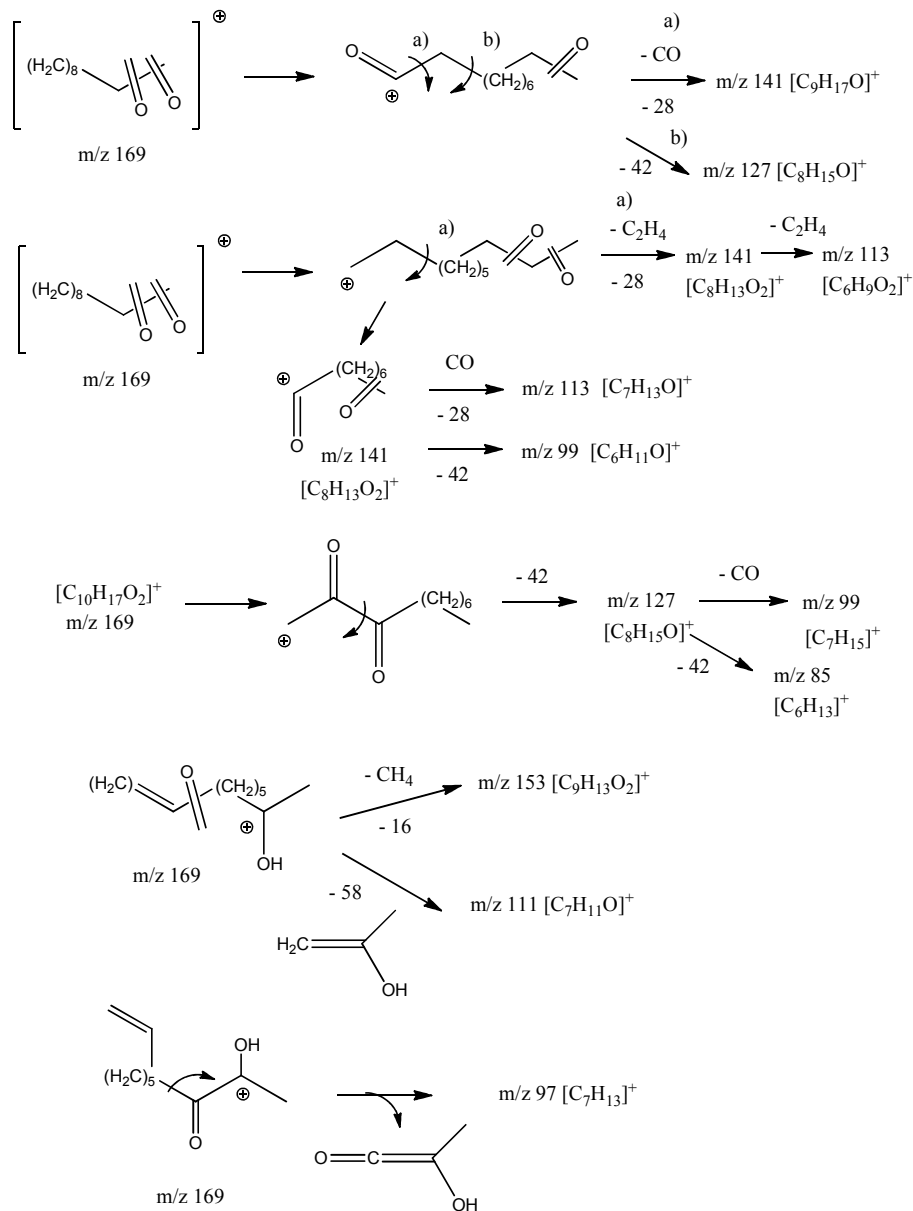


Figure A-19 : Mécanisme de décomposition des ions fragments m/z 169 en fonction du positionnement du carbonyl sur la chaîne alkyle  
Source des données : LCM

A partir de ces résultats les structures suivantes peuvent donc être envisagées.

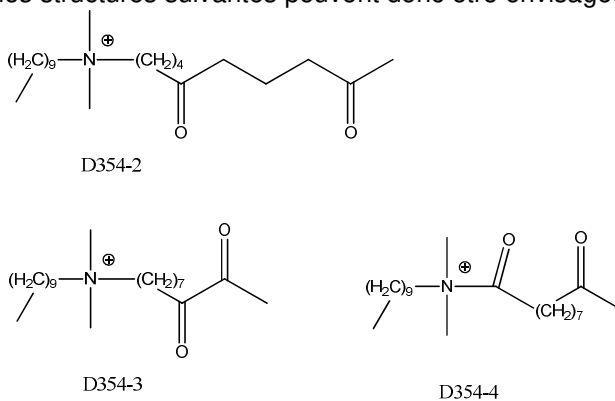


Figure A-20 : Structures proposées pour les composés D 354-2, D 354-3 et D 354-4  
Source des données : LCM

➤ Composés D 356

Les composés de dégradation D 356 ont pour composition élémentaire C<sub>22</sub>H<sub>46</sub>NO<sub>2</sub>, ce qui correspond à l'addition de deux atomes d'oxygène et l'élimination de 2 atomes d'hydrogène. La molécule a gagné un carbonyle (aldéhyde ou cétone) et une fonction hydroxy ou éther. Le Tableau A-6 présente les spectres de collision des ions moléculaires obtenus pour ces composés.

Tableau A-6 : Spectres de collision des ions moléculaires des sous-produits D 356

Composé	Ions moléculaires		MS/MS de l'ion moléculaire (Energie de collision 30eV) Ions Fragments (m/z)
	Composition élémentaire	m/z expérimental	
D 356-1		356,3520	202 (C <sub>12</sub> H <sub>28</sub> NO) -200 (C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> NO) -184 (C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> N) -155 (C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> O)-99 (C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O)-85 (C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O)
D 356-2		356,3519	200 (C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> NO) -184 (C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> N) -155(C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> O) -111 (C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> O) -113 (C <sub>7</sub> H <sub>13</sub> O)-85 (C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O)-71 (C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O)
D 356-3	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub> NO <sub>2</sub>	356,3518	326 (C <sub>21</sub> H <sub>44</sub> NO)-298 (C <sub>19</sub> H <sub>40</sub> NO) -200 (C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> NO) -186 (C <sub>11</sub> H <sub>24</sub> NO) -155 (C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> O)-111 (C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> O)
D 356-4		356,3524	326 (C <sub>21</sub> H <sub>44</sub> NO) - 312 (C <sub>20</sub> H <sub>42</sub> NO)-216 (C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> NO <sub>2</sub> )-202 (C <sub>12</sub> H <sub>28</sub> NO) -200 (C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> NO) -198 (C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> NO) -186 (C <sub>11</sub> H <sub>24</sub> NO) -184 (C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> NO) -153 (C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> O)-125 (C <sub>8</sub> H <sub>13</sub> O)-111 (C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> O)-97 (C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> O)-85 (C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O)-71 (C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O)
D 356-5		356,3525	216 (C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> NO <sub>2</sub> )-200 (C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> NO)-198 (C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> NO) -186 (C <sub>11</sub> H <sub>24</sub> NO) -171 (C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> O <sub>2</sub> )-155 (C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> O)-153 (C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> O)-113 (C <sub>7</sub> H <sub>13</sub> O)-111(C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> O)-97 (C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> O)-85 (C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O)-71 (C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O)

Pour les ions de faible m/z seuls les ions contenant de l'oxygène sont reportés dans ce tableau  
Source des données : LCM

Pour les **composés D 356-1 et D 356-2** la fragmentation de m/z 356 conduit à la formation des ions m/z 202 et 200 (Figure A-21). Ces ions ont perdu une chaîne alkyle oxydée. La présence de l'ion au rapport m/z 155 obtenu par perte de NH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> à partir de l'ion m/z 200 confirme que les méthyles n'ont pas été oxydés. La présence de l'ion oxydé à m/z 85 (C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>O) pour le composé D356-1, et la présence des ions m/z 85 et 71 (C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>O) pour le composé D356-2 permettent de localiser l'oxydation assez loin de l'atome d'azote.

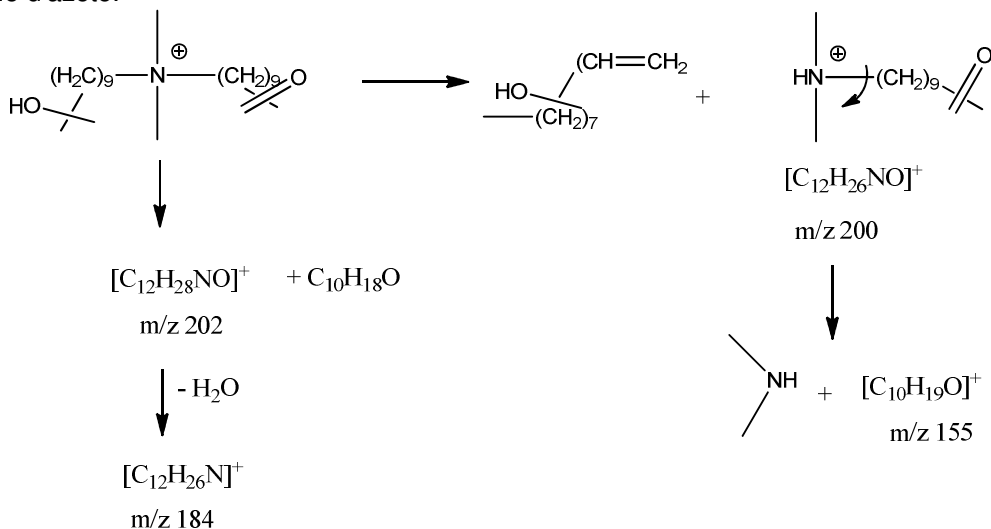


Figure A-21. Schéma général de fragmentation de l'ion moléculaire m/z 356 pour les composés 356-1 et 356-2.  
Source des données : LCM

Le spectre de collision de l'ion moléculaire des **composés D 356-3 et D 356-4** présente un ion m/z 216 de composition élémentaire (C<sub>12</sub>H<sub>26</sub>NO<sub>2</sub>), ce qui signifie qu'une des chaînes alkyles n'a pas été oxydée. De plus la présence de l'ion observé au rapport m/z 326 (élimination de CH<sub>2</sub>O à partir de l'ion moléculaire) permet de localiser un hydroxy sur un des méthyles et une fonction cétone sur une des chaînes alkyles.



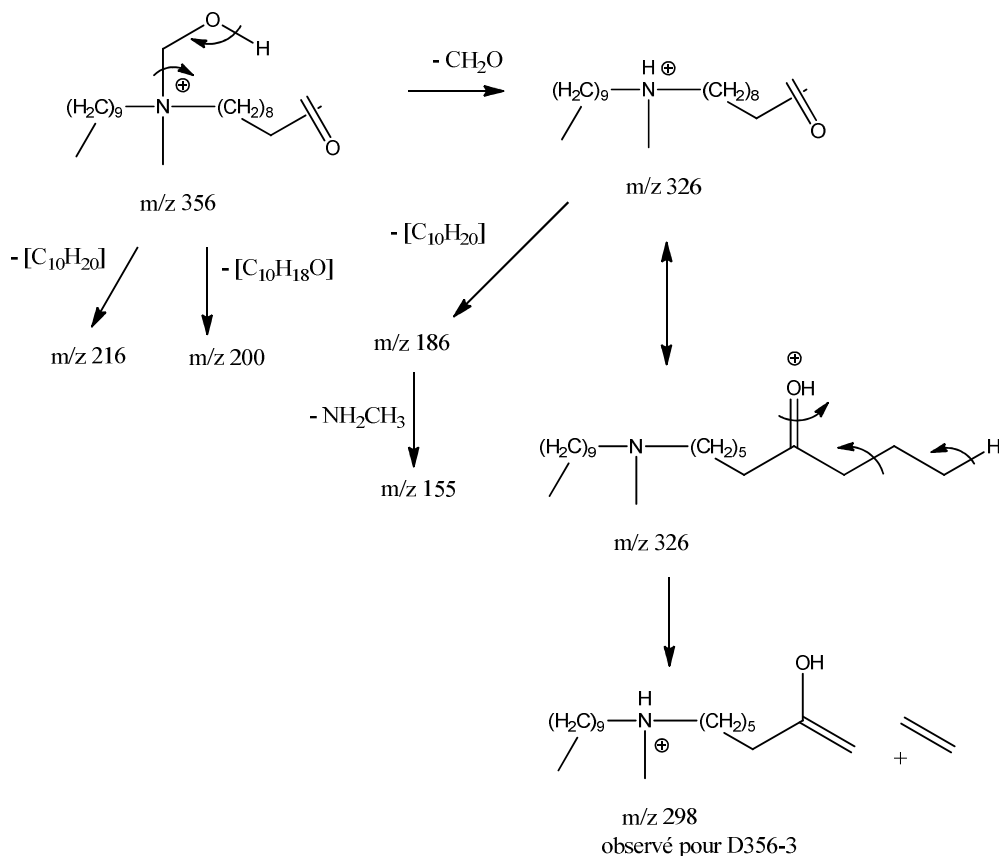


Figure A-22. Schéma général de fragmentation de l'ion moléculaire m/z 356 pour les composés 356-3 et 356-4.  
Source des données : LCM

Pour le **composé D356-5**, les ions m/z 216 (C<sub>12</sub>H<sub>26</sub>NO<sub>2</sub>), m/z 171 (C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>O<sub>2</sub>) et m/z 186 (C<sub>12</sub>H<sub>28</sub>N) permettent de localiser les deux atomes d'oxygène sur une des chaînes alkyles.

### ➤ Composés D 368

Les composés D 368 ont pour composition élémentaire C<sub>22</sub>H<sub>42</sub>NO<sub>3</sub>, ce qui correspond à l'addition de trois atomes d'oxygène et l'élimination de six atomes d'hydrogène. La molécule a gagné trois carbonyles (aldéhyde ou cétone). Le Tableau A-7 présente les spectres de collision des ions moléculaires obtenus pour ces composés.

Tableau A-7 : Spectres de collision des ions moléculaires des sous-produits D 368

Composé	Ions moléculaires		MS/MS de l'ion moléculaire (Energie de collision 30eV) ions fragments
	Composition élémentaire	m/z expérimental	
D 368-1		368,3162	214 (C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> NO <sub>2</sub> )-200 (C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> NO)-169 (C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> O <sub>2</sub> )-155 (C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> O)- 113 (C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> O <sub>2</sub> )-111 (C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> O)-99 (C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> )-97 (C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> O)-85 (C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O)- 87 (C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> )
D 368-2		368,3154	214 (C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> NO <sub>2</sub> )- 200 (C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> NO)-169 (C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> O <sub>2</sub> )-155 (C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> O)-151 (C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> O)-113 (C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> O <sub>2</sub> )-97 (C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> O)-85 (C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O)-71(C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O)
D 368-3		368,3153	214 (C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> NO <sub>2</sub> )-169 (C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> O <sub>2</sub> )-155 (C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> O) -127 (C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> )-123 (C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> O)-113 (C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> O <sub>2</sub> )-101 (C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>2</sub> )
D 368-4	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> NO <sub>3</sub>	368,3160	214 (C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> NO <sub>2</sub> ) -200 (C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> NO)-169 (C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> O <sub>2</sub> ) -155 (C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> O) -127 (C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> )-101 (C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>2</sub> )
D 368-5		368,3151	214 (C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> NO <sub>2</sub> ) -200 (C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> NO) -169 (C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> O <sub>2</sub> )-155 (C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> O) -127 (C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> )-99 (C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> )-71 (C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O)
D 368-6		368,3168	228 (C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> NO <sub>3</sub> )-183 (C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> O <sub>3</sub> )-169 (C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> O <sub>2</sub> )-155 (C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> O) -137 (C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> O)-123 (C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> O)-113 (C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> O <sub>2</sub> )-97( C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> O)
D 368-7		368,3158	228 (C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> NO <sub>3</sub> )-183 (C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> O <sub>3</sub> )-186 (C <sub>11</sub> H <sub>24</sub> NO) -169 (C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> O <sub>2</sub> )-155 (C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> O) -141 (C <sub>8</sub> H <sub>13</sub> O <sub>2</sub> )-113 (C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> O <sub>2</sub> )

\*Pour les ions de faible m/z seuls les ions contenant de l'oxygène sont reportés dans ce tableau  
Source des données : LCM

Pour les **composés D 368-1 à D 368-5**, les spectres de collision des ions moléculaires comportent :

- les ions  $m/z$  214 ( $C_{12}H_{24}NO_2$ ) et  $m/z$  200 ( $C_{12}H_{26}NO$ ) qui correspondent aux ions fragment de chacune des chaînes alkyles oxydées
- les ions  $m/z$  169 ( $C_{10}H_{17}NO_2$ ) et  $m/z$  155 ( $C_{10}H_{19}NO$ ) qui correspondent à l'élimination de  $NH(CH_3)_2$  pour chacun de ces ions (Figure A-23).

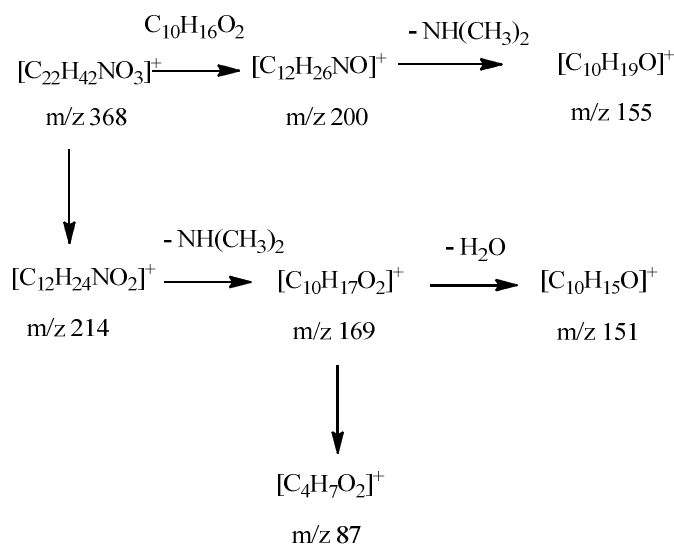


Figure A-23 : Schéma général de fragmentation de l'ion moléculaire  $m/z$  368 pour les composés de dégradation D 368-1 à D 368-5

Source des données : LCM

La formule développée suivante a ainsi été proposée (Figure A-24)

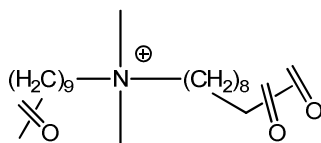


Figure A-24 : Structure proposée pour les composés D 368

Source des données : LCM

Les spectres de collision des **composés D 368-6 et D 368-7** présentent les mêmes ions avec des intensités relatives différentes. La nature des ions obtenus (Figure A-25) permet de conclure qu'une seule chaîne alkyle a été oxydée, l'élimination de  $NH(CH_3)_2$  à partir des ions  $m/z$  228 permet d'éliminer la possibilité d'oxydation sur les méthyles qui substituent l'azote.

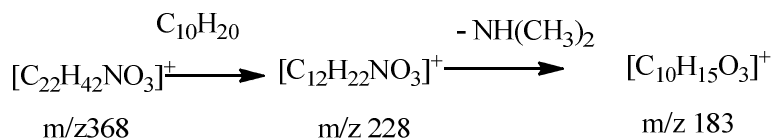


Figure A-25. Schéma général de fragmentation de l'ion moléculaire  $m/z$  368 pour les composés D 368-6 et D 368-7.

Source des données : LCM

Pour tous les composés de dégradation, les ions oxydés de faible rapport masse sur charge permettent de localiser l'oxydation à partir de la moitié de la chaîne alkyl.

➤ Composés D 370

Les composés D 370 ont pour composition élémentaire  $C_{22}H_{44}NO_3$ , ce qui correspond à l'addition de trois atomes d'oxygène et l'élimination de 4 atomes d'hydrogène. La molécule a gagné deux carbonyles (aldéhyde ou cétone) et une fonction hydroxy ou éther. Le Tableau A-8 présente les spectres de collision des ions moléculaires obtenus pour ces composés.

Tableau A-8 : Spectres de collision des ions moléculaires des sous-produits D 370

Composé	Ions moléculaires		MS/MS de l'ion moléculaire (Energie de collision 30eV) Ions Fragments (m/z)
	Composition élémentaire	m/z expérimental	
D 370-1	$C_{22}H_{44}NO_3$	370,3318	216 ( $C_{12}H_{26}NO_2$ )-214 ( $C_{12}H_{24}NO_2$ ) -200 ( $C_{12}H_{26}NO$ )-171 ( $C_{10}H_{19}O_2$ )-169 ( $C_{10}H_{17}O_2$ )-155 ( $C_{10}H_{19}O$ )-117 ( $C_6H_{13}O_2$ )-97 ( $C_6H_9O$ )-71 ( $C_4H_7O$ )
D 370-2		370,3321	216 ( $C_{12}H_{26}NO_2$ )-214( $C_{12}H_{24}NO_2$ ) -200 ( $C_{12}H_{26}NO$ )-169 ( $C_{10}H_{17}O_2$ )-167 ( $C_{10}H_{15}O_2$ )-155 ( $C_{10}H_{19}O$ )-141 ( $C_8H_{13}O_2$ )-127 ( $C_8H_{15}O$ )-113 ( $C_6H_9O_2$ )-97 ( $C_6H_9O$ )-85 ( $C_5H_9O$ )- 71 ( $C_4H_7O$ )
D 370-3		370,3320	230 ( $C_{12}H_{24}NO_3$ )- 186 ( $C_{12}H_{28}N$ )-185 ( $C_{10}H_{17}O_3$ )-167 ( $C_{10}H_{15}O_2$ )-155 ( $C_{10}H_{19}O$ )-153 ( $C_{10}H_{17}O$ )-139 ( $C_6H_{15}O$ )-125 ( $C_8H_{13}O$ )-111 ( $C_7H_{11}O$ ) -97 ( $C_6H_9O$ )
D 370-4		370,3316	324 ( $C_{21}H_{42}NO$ ) - 184 ( $C_{11}H_{22}NO$ )-153 ( $C_{10}H_{17}O$ )- 97 ( $C_6H_9O$ )

\*Pour les ions de faible m/z seuls les ions contenant de l'oxygène sont reportés dans ce tableau  
Source des données : LCM

Les **composés D 370-1 et D 370-2** ont deux oxydations sur une des chaînes alkyl et une sur l'autre. Les ions aux rapports m/z 141 et m/z 169 permettent d'éliminer la possibilité d'oxydation sur les méthyls qui substituent l'atome d'azote. La présence des ions m/z 214 et m/z 169 laissent supposer d'une co-élution de deux composés.

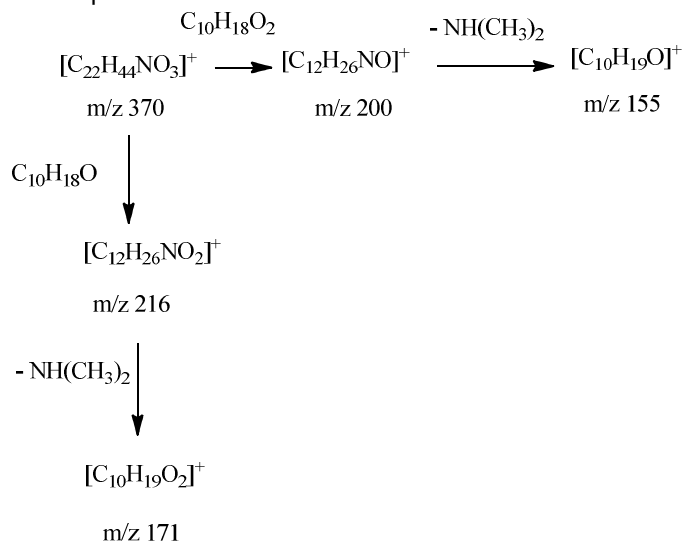


Figure A-26 : Schéma général de fragmentation de l'ion moléculaire m/z 370 pour les composés de dégradation D 370-1 et D 370-2  
Source des données : LCM

Le **composé D 370-3** a les trois oxydations sur la même chaîne alkyl. L'ion au rapport m/z 185 permet d'éliminer la possibilité d'oxydation sur les méthyls de l'atome d'azote.

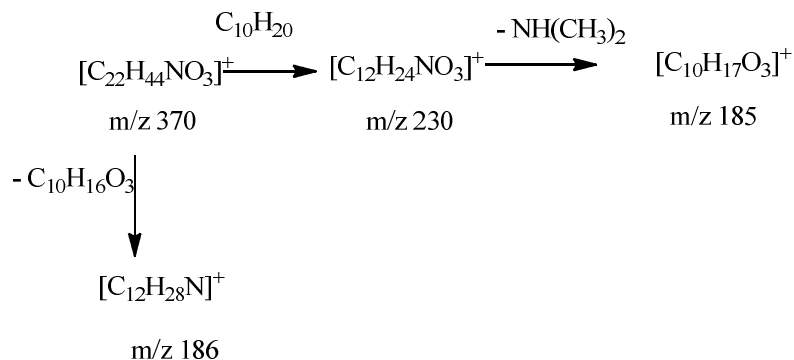


Figure A-27 : Schéma général de fragmentation de l'ion moléculaire m/z 370 pour le composé de dégradation 370-3  
Source des données : LCM

Le **composé D 370-4** perd  $[\text{CH}_2\text{O}_2]$  à partir de l'ammonium, ce qui suppose qu'une double oxydation a eu lieu sur un des méthyles qui substitue l'atome d'azote. La formation de l'ion au rapport m/z 155 de composition élémentaire  $[\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{O}]$  permet de localiser la troisième oxydation sur une des chaînes alkyl.

La structure supposée pour ce composé et le schéma de fragmentation proposé sont présentés dans la Figure A-28.

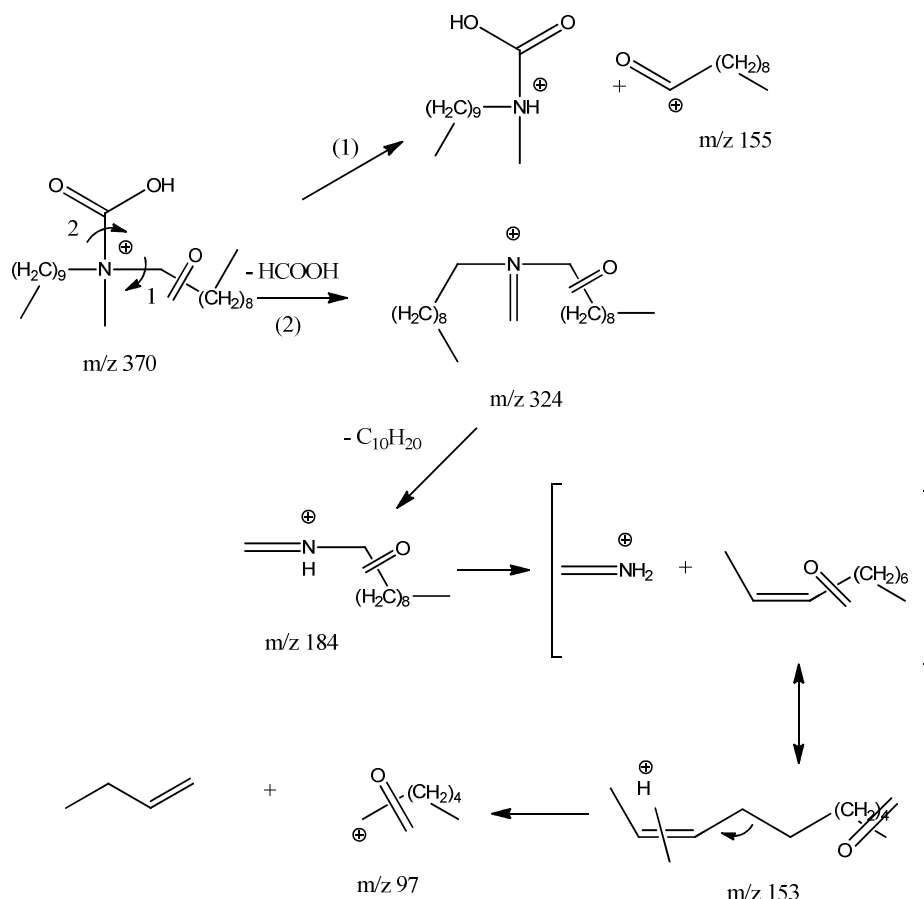


Figure A-28 : Schéma de fragmentation de l'ion moléculaire m/z 370 pour le composé de dégradation D370-4  
Source des données : LCM

### ➤ Composés D 372

Le composé D 372 a pour composition élémentaire  $\text{C}_{22}\text{H}_{46}\text{NO}_3$ , ce qui correspond à l'addition de trois atomes d'oxygène et l'élimination de 2 atomes d'hydrogène. La molécule a gagné un carbonyle (aldéhyde ou cétone) et deux fonctions hydroxy ou éther. Les résultats du spectre de collision de l'ion moléculaire sont regroupés sur le Tableau A-9.

Tableau A-8 : Spectres de collision de l'ion moléculaire du sous-produit D 372

Composé	Ion moléculaire		MS/MS de l'ion moléculaire (Energie de collision 30eV) Ions fragments (m/z)
	Composition élémentaire	m/z expérimental	
D 372-1	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub> NO <sub>3</sub>	372,3469	340 (C <sub>21</sub> H <sub>42</sub> NO <sub>2</sub> )- 298 (C <sub>19</sub> H <sub>40</sub> NO)-284 (C <sub>18</sub> H <sub>38</sub> NO)-186 (C <sub>12</sub> H <sub>28</sub> N)- 169 (C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> O <sub>2</sub> )

\*Pour les ions de faible m/z seuls les ions contenant de l'oxygène sont reportés dans ce tableau  
Source des données : LCM

Ces résultats montrent que l'ion moléculaire du composé D 372 se décompose pour donner un ion à m/z 186 (C<sub>12</sub>H<sub>28</sub>N) ce qui signifie qu'une des chaînes alkyles comporte les trois oxydations.

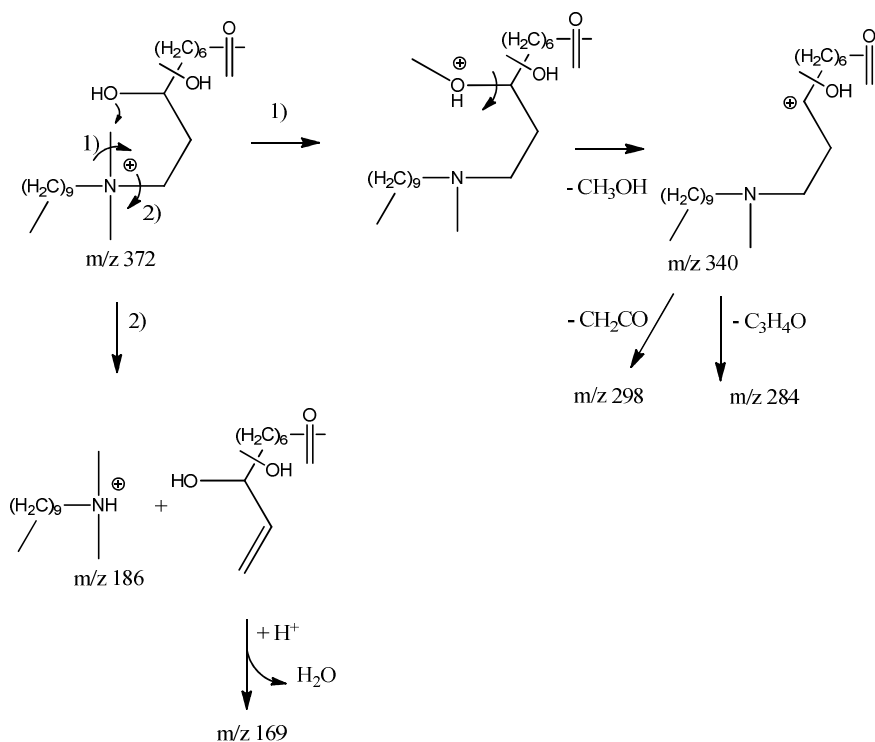


Figure A-29 : Schéma de fragmentation de l'ion moléculaire m/z 372 pour le composé de dégradation D372-1  
Source des données : LCM

## 9. Remerciements

Nous tenons à remercier Jérôme Canat, étudiant de Licence Professionnelle « Génie des procédés, Procédés de Dépollution et de Valorisation » en stage au sein de SEREP-Technavox, pour son aide précieuse, sa pertinence et sa motivation lors du démarrage de l'étude laboratoire du traitement des biocides.



Agence Française pour la Biodiversité  
Hall C – Le Nadar  
5, square Félix Nadar  
94300 Vincennes

01 45 14 36 00

[www.afbiodiversite.fr](http://www.afbiodiversite.fr)



Agence de l'Eau Loire Bretagne  
Délégation Centre-Loire  
9, avenue Buffon  
CS 36339  
45063.Orléans Cedex 2  
02 38 51 73 73

[www.eau-loire-bretagne.fr](http://www.eau-loire-bretagne.fr)