

## Programme scientifique

### 1/Mise au point de la technologie d'épuration par DEL-UV

#### **(i) Développer un système de désinfection des eaux usées basé sur les technologies DEL-UV**

Une phase préliminaire sera dévolue à l'optimisation d'un système pilote de DEL-UV (échelle 1/20, 1000 DEL pour traiter 1L/s) en association avec la société Light Technologie.

Un objectif prioritaire de cette première étape est de déterminer les longueurs d'onde optimales pour une action germicide pérenne. En effet, des études réalisées sur lampe à vapeur de mercure (Hg) ont montré que certains microorganismes pouvaient s'adapter aux traitements UV (légionelles, amibes, phages, adénovirus...). Des phénomènes de réactivations cellulaires liés à la capacité des microorganismes à réparer des lésions à la lumière (photoréactivation) ou à l'obscurité (« dark-repair ») ont également été mis en évidence. Par ailleurs, les lampes UV moyennes pressions (MP) se révèlent plus efficaces que les lampes UV basses pression (BP). A cette égard, de nombreuses publications scientifiques montrent que l'utilisation de la seule longueur d'onde,  $\lambda=254$  nm ne permet pas de s'assurer de l'inactivation pérenne des microorganismes.

A plus longue échéance, l'optimisation d'un tel système de traitement de l'eau fera aussi appel à la modularité d'assemblage des DELs UV, lié à leur encombrement minime (1 ship de 4 DELs  $\leq 1$  cm<sup>2</sup>) qui permet de réaliser une grande diversité de formes géométriques. Ces développements tiendront compte des proportionnalités entre intensité du rayonnement UV, nombre de DELs utilisé et débit/volume d'eau traitée.

#### **(ii) Evaluer l'efficacité du système DEL-UV pour réduire les abondances de contaminants pathogènes et chimiques**

La validation du procédé DEL-UV pour le traitement de l'eau intégrera à chaque étape du projet divers paramètres microbiologique et chimiques de l'eau, concernant en particulier :

- l'abattement de la teneur en microorganismes pathogènes repris dans la législation européenne - Directive Eaux de Baignades 2006/7/CE- (et transcrite en droit français dans le décret 2007-983 du 15 mai 2007) : coliformes et streptocoques fécaux. Mais il faudra également vérifier l'abattement d'autres microorganismes (comme préconisé par le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (CSHPF) dans son avis du 15 mai 2006) : salmonelles, légionelles et spores de bactéries sulfito-réductrices. Il s'agira de vérifier l'abattement de 7 log minimum de ces microorganismes, préconisé par l'Organisation Mondiale de la santé en septembre 2006 (Safe Use of Wastewater Excreta and Wastewater, Geneva, WHO, 2006), voire l'absence de ces microorganismes après traitement UV.

L'ensemble de ces contrôles sera réalisé lors d'expérimentation simplifiées de laboratoire. Ces expériences utiliseront d'une part, des tests normalisés de remise en culture sur milieux spécifiques (analyse classique de qualité microbiologique de l'eau) et d'autre part, des méthodes moléculaires faisant appel à l'amplification génétique (PCR, « polymerase chain réaction » et PCR quantitative) permettant d'abaisser les seuils de détection de certains microorganismes pathogènes. Ces travaux concerneront en premier lieu l'étude de souches bactériennes uniques. Ils concerneront ensuite l'étude de ces abattement microbiens dans des microflores plus complexes du milieu naturel (e.g. effluents).

- le suivi des composés chimiques initialement présents dans les rejets de la station d'épuration et leur devenir sous l'action des radiations UV.

Le CSHPF en mai 2006 et l'Agence Française de Sécurité Sanitaire et de l'Environnement (AFSSET) en septembre 2008 recommandent un suivi des Matière En Suspension (MES), de la Demande Chimique en Oxygène (DCO), du pH et de la température au cours du traitement appliqué sur les eaux usées destinées à l'irrigation et à l'aspersion des espaces verts. Si le traitement appliqué sur des eaux usées est à base de rayonnements UV, ces organismes recommandent en plus de vérifier l'absence de génération:

1. de nitrites en cas de présence initiale de nitrates (230 nm);
2. d'ozone au sein de l'eau traitée (190 nm);

3. de sous-composés chlorés et/ou bromés ;
4. de sous-produits plus toxiques que les composés initialement présents (produits phytosanitaires et/ou pharmaceutiques).

## 2/ Evaluation de la potentialité de réutilisation des eaux traitées (arrosage ou irrigation)

Ce programme de travail concerne d'une part la faisabilité de la réutilisation d'eaux usées pour l'arrosage d'espaces verts de l'effluent traité par le procédé Ledpur.

Il soulève plusieurs questions fondamentales :

- 1) L'apport de l'effluent affecte-t-il la diversité et le fonctionnement des communautés microbiennes du milieu ? Autrement dit, l'effluent présente-t-il une toxicité ou favorise-t-il les microflore indigènes ?
- 2) Quelles populations microbiennes exogènes se maintiennent dans le sol face à l'antagonisme exercé par les microorganismes autochtones ?
- 3) Quel est l'effet des apports organiques et minéraux de l'effluent sur le développement végétal et, s'il est favorable, peut-il se substituer aux fertilisants traditionnels ?

Afin de répondre à l'ensemble de ces problématiques, des protocoles mettant en jeu différents traitements des eaux usées seront envisagés et sont décrits ci-dessous. Les travaux seront réalisés pour partie sous forme de test au laboratoire (Cf paragraphe ii) ci-dessus) et complétés par des mesures *in situ* sur l'île du Frioul.

L'île du Frioul est un site d'étude exemplaire dans le cadre de ce projet. Située au large de Marseille, cette île abrite une population permanente limitée à 200 habitants, un port de plaisance et quelques unités d'hébergement. Par comparaison, elle voit sa densité de population s'accroître notablement en période estivale (300 000 passagers transportés annuellement par les navettes maritimes). L'île est desservie en eau potable par une canalisation sous-marine. Les eaux usées sont collectées et traitées sur l'île dans une station d'épuration physico-chimique située à l'extrémité du port. Les effluents épurés sont ensuite rejetés en mer.

L'effluent d'eaux usées domestiques de l'île du Frioul, actuellement traité par un simple procédé de décantation avant d'être évacué en mer, sera soumis à différents traitements avant arrosage :

- traitement physico-chimique (le traitement mis en œuvre actuellement),
- traitement physico-chimique couplé à un traitement biologique en bassin d'aération,
- traitement physico-chimique couplé au traitement DEL-UV (procédé Ledpur),
- contrôle utilisant une eau d'arrosage classique.

Le traitement biologique de l'effluent sera assuré par un pilote de station d'épuration mis en place dans le LCP de l'Université de Provence (LCP UMR CNRS 6264). Des tests d'arrosage s'effectueront dans un premier temps sous serre et sur des plans de gazon qui correspondent au type végétal susceptible de bénéficier prioritairement de cet arrosage.

### **1) l'effluent présente-t-il une toxicité ou favorise-t-il les microflore indigènes ?**

Un effluent d'eaux usées, par ses caractéristiques chimiques et microbiologiques, est susceptible de modifier les communautés microbiennes de l'écosystème dans lequel il est déversé. En effet, la microflore introduite, notamment d'origine fécale, peut sensiblement modifier les équilibres microbiens du milieu récepteur. Par ailleurs, l'effluent peut présenter un risque chimique lié à son origine (présence de molécules à effet oestrogénique comme l'œstradiol ou les alkylphénols, dérivés de détergents) ou au traitement par les UV

(réduction des nitrates en nitrites). L'évolution de la structure et de la composition des communautés telluriques (diversité génétique ou fonctionnelle) et des activités enzymatiques exprimées (indicateurs de fonctionnement du sol) seront donc évaluées en fonction du traitement subi par l'effluent. Les mesures de la diversité taxonomique concerneront les gènes de l'opéron ribosomique (intergène des ADNr 16s et 23s), suffisamment conservés dans le vivant tout en étant variables d'une espèce à une autre pour évaluer la diversité des microflore bactériennes ou fongiques au moyen de méthodes moléculaires simple (PCR-RISA, RFLP) ou automatisées (PCR-ARISA, t-RFLP). Les activités microbiennes retenues seront celles impliquées dans les cycles biogéochimiques du carbone (cellulases, phénoloxydases...), de l'azote (arylamidase) et du phosphore (phosphatases acides et alcalines) principalement.

L'ensemble de ce travail permettra de déterminer si la fonctionnalité du sol est modifiée ou pas (à travers la mesure des activités microbiennes) et si cette modification peut être corrélée à un changement de la structure et/ou de l'abondance des communautés microbiennes du milieu récepteur qui sera analysé du point de vue génétique et fonctionnel (profil catabolique ou CLPP, catabolic level physiological profile).

## **2) *Quels populations microbiennes exogènes se maintiennent dans le sol face à l'antagonisme exercé par les microorganismes autochtones ?***

Les interactions microbiennes (antagonistes ou facilitatrices) constituent un des paramètres fondamentaux qui régit l'équilibre des communautés microbiennes dans les écosystèmes. Dans le cas présent, il sera important de suivre la persistance de la microflore d'origine fécale au niveau du sol afin d'optimiser les traitements de l'effluent. En d'autres termes, une partie de cette microflore sera potentiellement éliminée par les phénomènes de concurrence dus à la présence des microorganismes telluriques et les traitements préliminaires de l'effluent, destinés à diminuer la charge microbienne, pourront être éventuellement moins drastiques (avec en conséquence une limitation des coûts liés au traitement). Comme pour le paragraphe (ii) du programme scientifique *in vitro*, le suivi des contaminants fécaux dans le sol sera réalisé en parallèle avec des techniques classiques de remise en culture permettant de sélectionner les microorganismes indicateurs de pollutions fécales (majoritairement les coliformes, streptocoques fécaux et spores de sulfito-réducteurs) et avec des méthodes moléculaire permettant d'abaisser le seuil de détection de ces pathogènes (PCR quantitative).

## **3) *Quel est l'effet des apports organiques et minéraux de l'effluent sur le développement végétal et s'il est favorable, peut-il se substituer aux fertilisants traditionnels?***

La productivité végétale (poids sec/unité de surface) sera quantifiée après apport des différents types d'effluents afin de déterminer le traitement qui serait le plus favorable au développement végétal : le traitement biologique impliquant la minéralisation de la matière organique permet-il une assimilation plus rapide des nutriments par les végétaux ? La productivité végétale sera corrélée à l'évolution de la matière organique dans le sol, évaluée par RMN du solide du  $^{13}\text{C}$  : cette technique non destructrice (pas d'extraction en solvant organique mais analyse directe en champs magnétiques) permet de suivre les variations des concentrations des différents composés chimiques présents dans le sol (polysaccharides, phénols, lipides...) liées à la transformation de la matière organique. Ainsi des indices d'humification et de transformation de la matière organique peuvent être calculés. Ces études seront couplées à des analyses chimiques plus classiques (carbone et azote total, dosage du phosphore...).