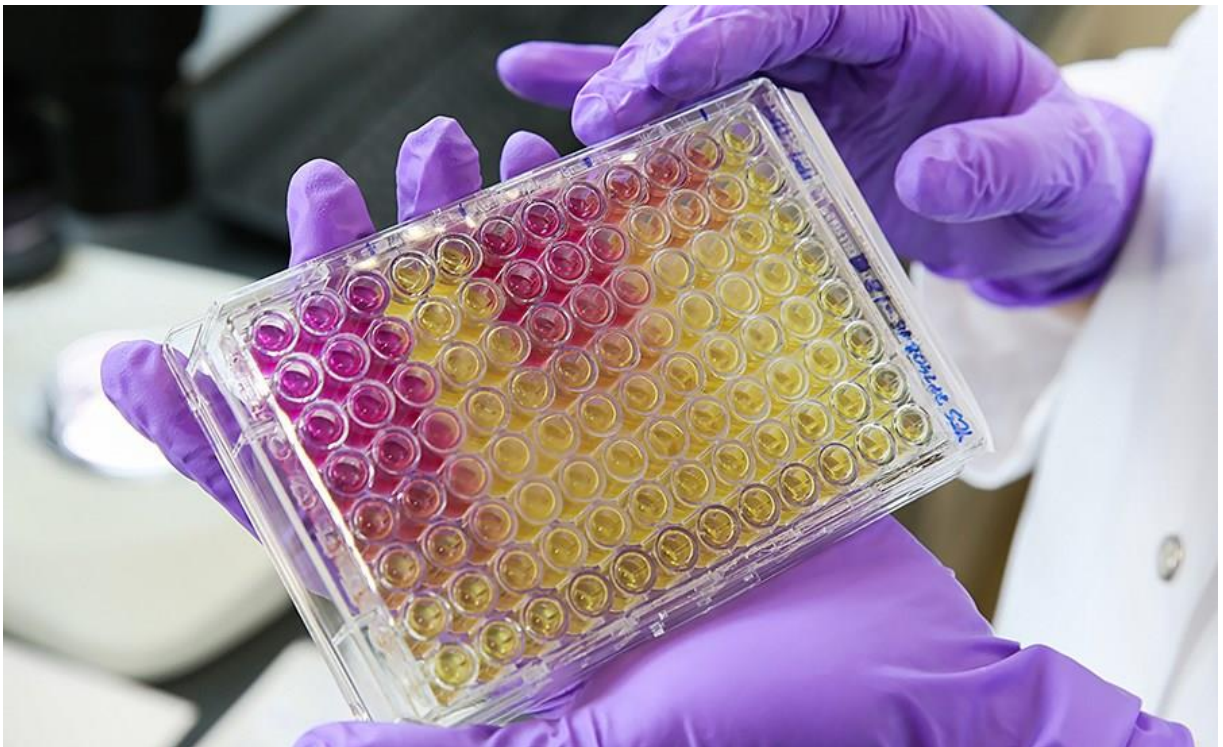


## STEP avec ozonation

Déterminer la mutagénicité avec le test  
d'Ames



Zofingen, en janvier 2024

Sur mandat du VSA, Association suisse des professionnels  
de la protection des eaux



## **ENVILAB AG**

Mühlethalstrasse 25, CH-4800 Zofingen

Téléphone +41 (0)62 745 70 50

[www.envilab.ch](http://www.envilab.ch), [info@envilab.ch](mailto:info@envilab.ch)

<b>Version</b>	<b>Date</b>	<b>Document</b>	<b>Élaboration</b>	<b>Partage</b>
4.0	18.01.2024	240118_Z3459.007 Mütagenität sur STEP avec ozonation 2022-23 v4.0.docx	Alessandro Piazzoli Samuel Christe Philipp Nasemann	Alessandro Piazzoli

## Contents

1	INTRODUCTION	4
1.1	Situation de départ	4
1.2	Description du projet	5
2	MÉTHODES	7
2.1	Prélèvement d'échantillons	7
2.2	Analyses	8
2.3	Extraction en phase solide	9
2.4	Biotests	10
3	RÉSULTATS	11
3.1	Données d'exploitation et analyses complémentaires	11
3.2	Tests d'Ames	13
4	DISCUSSION	15
4.1	Résumé et interprétation des résultats	15
5	CONCLUSION	17
5.1	Recommandation	18
5.2	Limitation de la validité de l'interprétation	18
6	BIBLIOGRAPHIE	19

# 1 INTRODUCTION

## 1.1 Situation de départ

La stratégie générale de la Confédération pour la réduction des micropolluants (MP) dans les eaux comprend l'extension ciblée des stations d'épuration des eaux usées (STEP). L'élément central est une étape d'épuration supplémentaire pour éliminer les micropolluants (traitement MP) des eaux usées.

Les eaux usées traitées biologiquement sont traitées à l'ozone ou au charbon actif (Lee, et al., 2013; Abegglen, et al., 2009; Abegglen, et al., 2012; Margot J., 2013).

Le VSA a publié une recommandation pour vérifier si le processus d'ozonation est adéquat pour un effluent spécifique. Ces vérifications sont exigées pour les investissements initiaux lors de l'extension de STEP avec une ozonation. Elles sont indemnisées à 75% (Wunderlin, 2021).

Le déroulement des vérifications est représenté dans la Figure 1.

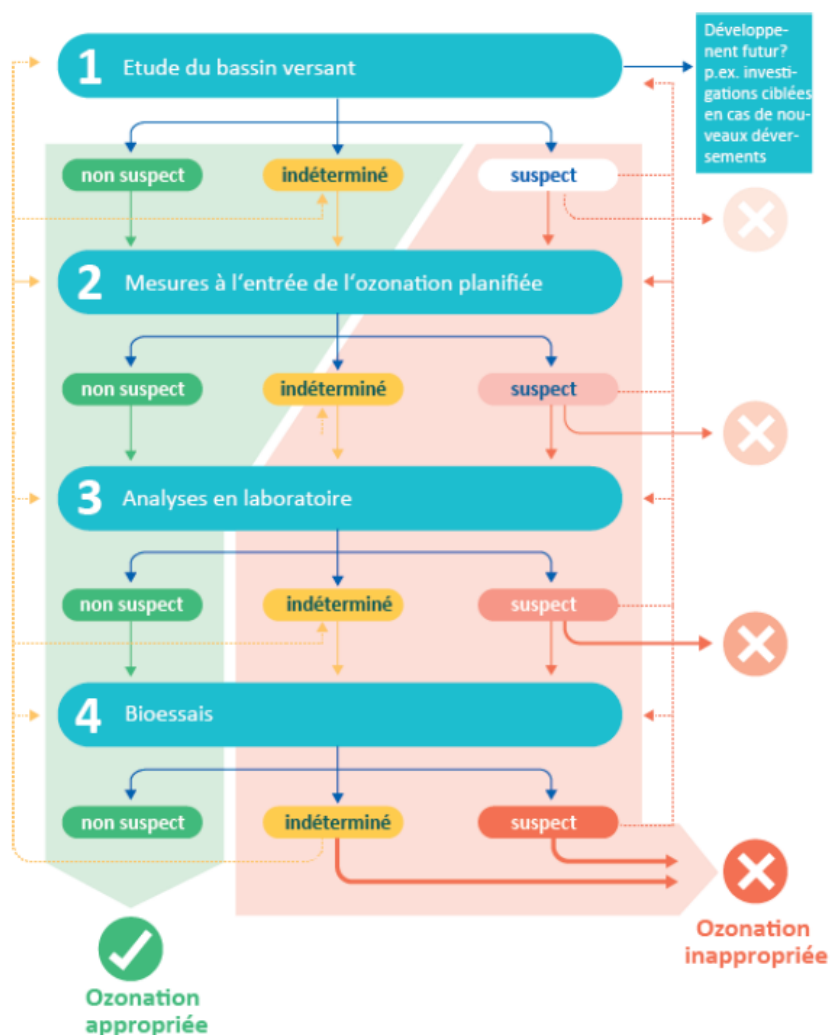


Figure 1 : Représentation schématisée du déroulement progressif des vérifications. Les traits pointillés (en jaune et rouge) indiquent que certaines vérifications devraient être réitérées en cas

**de résultats indéterminés/suspects, par exemple après la mise en oeuvre de mesures ciblées à la source. La mutagénicité est examinée à l'étape 4 avec le test d'Ames. Source : Wunderlin, 2021.**

Dans le module 4, des biotests sont utilisés pour détecter la formation de produits de transformation toxiques par l'ozonation. Le test d'Ames permet de mesurer l'effet mutagène. L'Eawag a réalisé une étude comparant la mutagénicité d'une eau usée ozonée à l'échelle industrielle/semi-industrielle et à l'échelle du laboratoire. Elle est arrivée à la conclusion que la mutagénicité pourrait être sous-estimée par les tests en laboratoire. Les raisons de cette divergence ne sont pas encore claires (Manasfi, et al.).

De plus, (Manasfi, et al.) ont trouvé un lien entre le nitrite dans l'eau épurée biologiquement et une augmentation de sa mutagénicité après ozonation. Celle-ci semble augmenter à partir d'une concentration de nitrite d'environ 0,2 mgN/L.

Le VSA a alors demandé à ENVILAB d'évaluer la situation chez certaines STEP. Il s'agissait d'étudier les éventuels effets mutagènes dus au traitement des eaux usées à l'ozone à des concentrations de nitrites inférieures et supérieures à 0,3 mgN/L. 0,3 mgN/L au lieu de 0,2 mgN/L a été choisi comme valeur de référence pour avoir une marge de sécurité.

Dans cette étude, la mutagénicité est déterminée par le test d'Ames en utilisant les souches bactériennes TA98 et TA100. Parallèlement, des échantillons supplémentaires ont été incubés avec les souches plus sensibles YG1041/1042 et YG7108 afin de vérifier l'adéquation de ces souches alternatives avec la méthode d'essai pour l'évaluation de la traitabilité des eaux usées à l'ozone (voir chapitre 2.4 pour plus de détails). Comme les souches de test utilisées réagissent avec une spécificité différente aux mutagènes, différentes classes de substances peuvent être évaluées. Ainsi, il y a plus de connaissances sur les risques environnementaux potentiels en aval des stations d'épuration.

## **1.2 Description du projet**

Au moment de l'appel à projet, sept STEP étaient en service avec une ozonation comme traitement MP. Le concept de l'étude prévoyait d'échantillonner ces sept STEP dans des conditions d'exploitation optimales (pauvres en nitrites), mais aussi dans des conditions suboptimales, avec des nitrites  $>0,3 \text{ mgNO}_2 \text{ -N/L}$  en entrée de l'ozonation. Il était prévu d'effectuer cinq prélèvements au total en cas de teneurs élevées en nitrites, car seules quelques STEP ont pu détecter des concentrations supérieures à  $0,3 \text{ mgNO}_2 \text{ -N/L}$  à la sortie du décanteur secondaire au cours des dernières années. L'hiver doux de 2022-2023 a cependant favorisé l'efficacité de la nitrification dans les STEP, de sorte que seuls trois prélèvements ont finalement pu être effectués avec des valeurs élevées en nitrites. En revanche, la mise en service d'installations d'ozonation supplémentaires sur deux autres STEP au cours du projet a permis de réaliser davantage de prélèvements que prévu initialement. Le Tableau 1 donne un aperçu des analyses prévues et réalisées.

**Tableau 1 : Analyses prévues et réalisées**

	Prévu	Réalisé
Nombre de STEP	7	9
Prélèvement avec nitrite < 0,3 mgNO <sub>2</sub> -N/L	7	12
Prélèvement avec nitrite > 0,3 mgNO <sub>2</sub> -N/L	5	3
Études avec de nouvelles souches YG	3 STEP	8 STEP

La première campagne de mesure a eu lieu à l'automne 2022, suivie d'une autre au printemps 2023. Certaines STEP ont été échantillonnées deux fois, d'autres une seule fois, avec des objectifs différents concernant des teneurs en nitrites variables ou des tests d'Ames plus étendus. Les détails concernant les STEP étudiées ainsi que leurs données d'exploitation sont présentés dans le Tableau 2. Les résultats sont anonymes. Le Tableau 3 donne un aperçu de la répartition temporelle et de la fréquence des différents prélèvements.

Les trois échantillons réalisés pour la comparaison entre les eaux pauvres en nitrites et les eaux riches en nitrites proviennent des STEP 2, 3 et 6. Les STEP 1, 4 et 7 ont fait l'objet d'un double échantillonnage malgré les faibles concentrations de nitrites, afin de les analyser en plus avec les souches YG. A l'exception de la STEP 8, celles-ci ont été appliquées à toutes les STEP.

**Tableau 2 : Données d'exploitation de la STEP au moment des prélèvements (source : www.micropoll.ch). L'ordre des STEP dans les tableaux suivants ne correspond pas à l'ordre dans cette liste.**

Station d'épuration <sup>1</sup>	Mise en service O <sub>3</sub>	Charge [EH]	dont habitants [EH]	dont industrie [EH]	Q <sub>moyen</sub> Temps sec [l/s]	Traitement biologique	Volume O <sub>3</sub> [m <sup>3</sup> ]	Temps de séjour O <sub>3</sub> Q <sub>Temps sec</sub> [min]
Morgenthal + Hofen <sup>2</sup>	2021	160'000	88'000	72'000	460	Boues activées avec nitrification et dénitrification	907	16.8
Altenrhein <sup>3</sup>	2019	120'000			221	Boues activées et biologie à biomasse fixée	2 x 385	30 (1 réacteur)
Werdhölzli <sup>2</sup>	2018	650'000	450'000	200'000	2'500	Procédé AI	4 x 1'535	40
Porrentruy <sup>2</sup>	2020	25'000	20'000	5'000	110	Boues activées avec nitrification et dénitrification	167	25
Neugut <sup>2</sup>	2014	105'000	50'000	55'000	200	Boues activées avec nitrification et dénitrification	530	37
Aadorf <sup>2</sup>	2022	27'000	19'000	8'000	150	Procédé AI	256	28.4
Bassersdorf <sup>2</sup>	2018	28'000	23'000	5'000	125	Boues activées avec nitrification et dénitrification	250	33
Reinach <sup>2</sup>	2016	45'000	30'000	15'000	240	Boues activées avec nitrification et dénitrification	2 x 180	25
Furthof <sup>2</sup>	2021	14'500	11'000	3'500	90	Procédé AI	295	55

<sup>1</sup> les données d'exploitation proviennent des fiches descriptives de la plateforme VSA Technique de traitement des micropolluants (<https://micropoll.ch/fr/realisations-dans-les-step/ozone/>)

<sup>2</sup> ces STEP ont un filtre à sable après ozonation

<sup>3</sup> STEP Altenrhein exploite un procédé combiné composé d'une ozonation + d'un filtre CAG

## 2 MÉTHODES

### 2.1 Prélèvement d'échantillons

Tous les prélèvements ont eu lieu par temps sec et ont été effectués par les STEP elles-même. Dans la mesure du possible, les échantillons ont été prélevés parallèlement aux prélèvements MP réguliers. Tous les échantillons ont été stockés à 4°C et envoyés par courrier A à ENVILAB.

Les numéros d'échantillons ont toujours été attribués dans l'ordre suivant : Entrée d'ozonation, Sortie d'ozonation, Sortie STEP.

**Tableau 3 : Désignation et description des échantillons pour les tests d'Ames**

Station d'épuration	Date de prélèvement de l'échantillon	Numéro d'échantillon (année)
STEP n°1	22.09.2022	5381 - 5382 (2022)
	10.04.2023	1783 - 1785 (2023)
STEP n°2	05.10.2022	5650 - 5652 (2022)
	14.02.2023	0732 - 0734 (2023)
STEP n°3	08.11.2022 (08h05)	6355 - 6357 (2022)
	08.11.2022 (15h35)	6358 - 6360 (2022)
STEP n°4	10.+11.10.2022	5763 - 5765 (2022)
	20.04.2023	2026 - 2028 (2023)
STEP n°5	06.10.2022	5699 - 5701 (2022)
STEP n°6	28.03.2023	1528 - 1530 (2023)
	03.04.2023	1634 - 1636 (2023)
STEP n°7	23.01.2023	0369 - 0371 (2023)
	04.05.2023	2163 - 2165 (2023)
STEP n°8	17.11.2022	6485 - 6487 (2022)
STEP n°9	20.04.2023	1964 - 1966 (2023)

## 2.2 Analyses

Le carbone organique dissous (COD) a été déterminé par oxydation thermique suivie d'une détection infrarouge (DIMATOC 2100) selon DIN EN 1484. Des tests en cuvette (Hach-Lange) ont été utilisés pour déterminer les teneurs en nitrites. Le bromure et son produit d'oxydation bromate ont été analysés par chromatographie ionique (bromure) et chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) chez ENVILAB. Cette méthode spécifique est hautement sélective et permet d'atteindre des limites de quantification basses pour le bromate (0,5 µg/L).

Les données relatives au taux d'épuration des composés traces organiques des différentes STEP proviennent de leur surveillance MP et n'ont pas été collectées séparément pour cette étude. Elles n'ont donc été collectées que pour une partie des STEP chez ENVILAB et en partie dans d'autres laboratoires sous contrat et ont été rassemblées pour les besoins de cette étude.

Les 12 composés traces organiques (substances de référence) ont été déterminés conformément aux ordonnances en utilisant une méthode LC-MS/MS hautement spécifique avec sMRM (*Scheduled Multiple Reaction Monitoring*)<sup>1</sup>. Les substances sont réparties en deux catégories : Catégorie 1, substances très facilement oxydables ; Catégorie 2, substances facilement oxydables. Le rapport entre les substances très facilement dégradables et les substances facilement dégradables doit être de 2:1. Le taux d'épuration d'au moins 80%, exigé par l'OEaux suisse, doit être déterminé par rapport aux eaux usées brutes, donc sur l'ensemble de la station d'épuration.

---

<sup>1</sup> La sélection des substances se base sur l'ordonnance départementale du DETEC (Département fédéral de l'environnement, des transports, de l'énergie et de la communication) : "Vérification du taux d'épuration atteint avec les mesures prises pour éliminer les composés traces organiques dans les stations d'épuration des eaux usées", se référant à l'ordonnance sur la protection des eaux (OEaux, état au 01.01.2016).



## 2.3 Extraction en phase solide

Pour les biotests, les échantillons ont été concentrés chez ENVILAB par extraction en phase solide. Pour cela, 1000 mL d'eau usée par échantillon sont concentrés par extraction en phase solide sur une cartouche Waters Oasis® HLB, puis élué et repris dans 1 mL de diméthylsulfoxyde après concentration. Cet enrichissement correspond à un facteur de 1000. Pour les échantillons à analyser avec les souches TA98 et TA100 +/-S9 ainsi que YG1041/1042 et YG7108 (dans deux laboratoires différents), deux échantillons de 1 mL ont été mélangés ensemble et divisés à nouveau. Au cours du projet, neuf échantillons ont été traités de manière identique en tant qu'échantillon à blanc (eau ultra-pure).

La concentration s'effectue selon le schéma suivant :

Filtrer l'échantillon (fibre de verre 0,7µm)  
ajuster le **pH** à **3** avec de l'acide chlorhydrique

1'000 mL d'échantillon (gravimétrique)



Enrichissement sur **Oasis® HLB (6cc)**  
env. 10mL / min

Conditionnement avec : 2mL d'hexane, 2mL  
d'acétone, 3x2mL de méthanol et 3x2mL  
d'eau ultra-pure (pH 3)



Après enrichissement, laisser sécher la car-  
touche à l'air libre

Eluer avec : 4x1mL acétone 2x1mL méthanol



Evaporer sous flux de N<sub>2</sub> jusqu'à quelques µL (max.  
30°C), puis reprendre dans **1mL** de diméthylsulfoxyde  
(DMSO)



## 2.4 Biotests

Les biotests permettent de déterminer des effets toxiques spécifiques de substances inconnues dans les eaux usées. Le test d'Ames détermine le pouvoir mutagène potentiel de différents produits chimiques ou d'un mélange de produits chimiques.

Les extraits obtenus par extraction en phase solide (voir paragraphe précédent) ont été testés avec les biotests suivants, réalisés par deux laboratoires de biotests différents :

- Test d'Ames avec les souches TA98 et TA100 : On utilise ici les souches TA98 (mutation par frameshift) et TA100 (substitution de paires de bases) de *Salmonella typhimurium*, avec ou sans activation métabolique par des cofacteurs (mélange +/-S9). L'observation d'une mutagénicité sans ajout de cofacteurs, resp. sans activation des molécules, indique la présence de substances ayant une mutagénicité directe.  
Ces souches sont actuellement utilisées pour les vérifications relatives à l'adéquation du processus d'ozonation. Les biotests ont été effectués chez Xenometrix ainsi qu'à la Bundesanstalt für Gewässerkunde (BfG) avec un facteur de concentration de 20x.
- Test d'Ames avec les souches YG1041/1042 et YG7108 : On utilise ici des souches de *Salmonella typhimurium* de la nouvelle génération. Les YG1041 et 1042 sont des souches TA98 et TA100 modifiées avec une activité accrue de la nitroréductase et de l'acétyltransférase et qui sont surtout plus sensibles à la mutagénicité des nitroaromatiques et des amines aromatiques (Hagiwara, et al., 1993). Par rapport à TA98 et TA100, ces souches se caractérisent globalement par une plus grande sensibilité à une plus large palette de substances.  
La souche YG7108 est hautement spécifique et très sensible aux agents alkylants grâce à l'expression du cytochrome P450 humain et de la NADPH-cytochrome P450 réductase humaine (Yamada, et al., 1997 ; Fujita, et al., 2001). Toutes les souches ont également été utilisées avec et sans activation métabolique (mélange +/-S9). Des analyses avec ces souches ont été réalisées exclusivement à la Bundesanstalt für Gewässerkunde (BfG) avec un facteur de concentration de 20x.

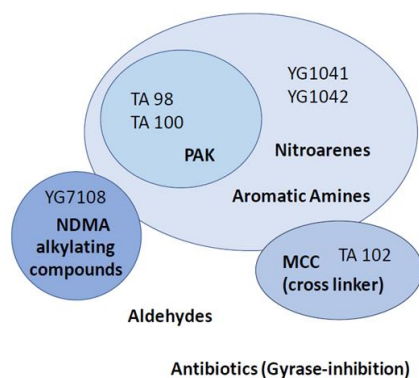


Figure 2 : Représentation schématique des souches d'Ames et des groupes de substances qui leur sont attribués. Source : Buchinger, 2022.

## **3 RÉSULTATS**

### **3.1 Données d'exploitation et analyses complémentaires**

Les données d'exploitation de la STEP au moment des prélèvements ainsi que les paramètres complémentaires des eaux usées pour les échantillons respectifs (carbone organique dissous (COD) et nitrite) sont présentés dans le Tableau 4.

Les échantillons critiques en termes de nitrites atteignent des concentrations comprises entre 0,26 et 0,81 mg NO<sub>2</sub> -N/L, couvrant ainsi un large spectre allant de légèrement en dessous à nettement au-dessus de la valeur indicative de 0,3 mg NO<sub>2</sub> -N/L.

Les doses spécifiques d'ozone dans les STEP concernées se situent entre 0,4 et 1,1 gO<sub>3</sub>/gCOD (sans considérer la dose d'ozone dans la STEP avec procédé combiné). La dégradation des composés traces organiques qui en résulte (entre 81% et 92%) était dans tous les cas suffisante pour répondre aux exigences de l'OEaux.

**Tableau 4 : Données d'exploitation de la STEP au moment des prélèvements.**

Station d'épuration	Date de prélèvement de l'échantillon	Volume d'eaux usées [m <sup>3</sup> /jour]	Nitrite en l'entrée de l'ozonation [mg NO <sub>2</sub> -N/L]	COD en entrée de l'ozonation [mg C/L]	Dose d'ozone [gO <sub>3</sub> /gCOD]	Température en entrée O <sub>3</sub> [°C]	Élimination de MP échantillon composite sur 24/48h	Bromure en d'entrée de l'ozonation [µg/L]	Bromate dans l'effluent d'ozonation [µg/L]
STEP n°1	22.09.2022	35'760 / 20'701 <sup>B</sup>	0.028	5.6	0.59	18.5	91%	50	<0.5
	10.04.2023	31'580 / 19'657 <sup>B</sup>	0.074	5.4	0.61	12.5	81%	45	<0.5
STEP n°2	05.10.2022	Aucune indication	<0.015	5.4	0.13	17.9	90%	nd	nd
	14.02.2023	Aucune indication	0.26	13.4	0.10	13.1	86%	nd	nd
STEP n°3	08.11.2022 (08h05)	139'394	0.14	6.2	0.73	16.8 (sortie de la STEP)	84%	37	1.0
	08.11.2022 (15h35)		0.43	6.4	1.02				
STEP n°4	10.+11.10.2022	6'531	<0.015	3.8	0.79	16.5	86%	29	1.1
	20.04.2023	9'590	<0.015	3.3	0.91	13.2	92% <sup>D</sup>	12	1.1
STEP n°5	06.10.2022	14'470	<0.015	4.9	0.40	20	82% <sup>C</sup>	41	<0.5
STEP n°6	28.03.2023	Aucune indication	0.81	6.3	0.79	11.9	nd	nd	nd
	03.04.2023	Aucune indication	0.086	5.3	0.87	11.5	89%	11	1.7
STEP n°7	23.01.2023	6'379	<0.015	4.5	0.59	11.7	91%	32	1.1
	04.05.2023	8'404	<0.015	3.4	0.65	14.0	91% <sup>A</sup>	27 <sup>A</sup>	1.4 <sup>A</sup>
STEP n°8	17.11.2022	Aucune indication	<0.015	6.4	0.63	15.1 (sortie de la STEP)	nd	nd	nd
STEP n°9	20.04.2023	5'920	0.027	3.7	0.80	13.3	90%	23	<0.5

nd : non déterminé

<sup>A</sup>: Valeurs pour l'échantillon global de 48 heures du 02+03.05.2023

<sup>B</sup>: volumes d'eaux usées de la STEP 1b et de la STEP de 1a

<sup>C</sup>: Valeurs pour l'échantillon composite sur 24 heures

<sup>D</sup>: sans tenir compte du benzotriazole (augmentation après l'ozonation) ; avec le benzotriazole, seulement 80% de taux d'élimination

### 3.2 Tests d'Ames

Les résultats des tests d'Ames sont présentés dans le Tableau 5. La bonne concordance des doubles déterminations de nombreux échantillons dans les deux laboratoires de test (Xenometrix et BfG) ainsi que les blancs (résultats non montrés) confirment la robustesse des résultats et excluent toute mutagénicité due à la préparation des échantillons. Les critères suivants ont servi de base à l'évaluation :

- La ligne de base est calculée à partir de la moyenne et de l'écart-type des contrôles négatifs, en regroupant les résultats des échantillons préparés en parallèle (le même jour).  
Le calcul est le suivant : Ligne de base = valeur moyenne + 1 écart-type.  
Les valeurs <1 sont mises à 1.  
**Les valeurs > 2x la ligne de base sont considérées comme suspectes.**
- Les extraits d'échantillon plus concentrés entraînent, comme on peut s'y attendre, un effet plus important (**dose-dépendance**).
- **Ce n'est qu'**avec des valeurs >2x la ligne de base, qui présentent **en plus** une dépendance de la dose, que l'on peut conclure à un potentiel mutagène.

La comparaison des résultats d'un même lot peut également fournir des informations supplémentaires. Outre l'évaluation *mutagène/non mutagène*, l'*augmentation* (↑), la *diminution* (↓) et l'*absence de changement* (↔) de la mutagénicité sont indiquées dans ce rapport.

Tableau 5 : Résumé des résultats du test d'Ames.

STEP		Nitrite [mgN/L]	TA98-S9	TA98+S9	TA100-S9	TA100+S9	YG1041-S9	YG1041+S9	YG1042-S9	YG1042+S9	YG7108-S9	YG7108+S9
STEP n°1	Entrée O3	0.028										
	Sortie O3											
	Sortie STEP											
	Entrée O3	0.074										
	Sortie O3											
	Sortie STEP											
STEP n°2	Entrée O3	<0.015										
	Sortie O3											
	Sortie STEP											
	Entrée O3	0.26										
	Sortie O3											
	Sortie STEP											
STEP n°3	Entrée O3	0.14										
	Sortie O3											
	Sortie STEP											
	Entrée O3	0.43										
	Sortie O3											
	Sortie STEP											
STEP n°4	Entrée O3	<0.015										
	Sortie O3											
	Sortie STEP											
	Entrée O3	<0.015										
	Sortie O3											
	Sortie STEP											
STEP n°5	Entrée O3	<0.015										
	Sortie O3											
	Sortie STEP											
STEP n°6	Entrée O3	0.086										
	Sortie O3											
	Sortie STEP											
	Entrée O3	0.81										
	Sortie O3											
	Sortie STEP											
STEP n°7	Entrée O3	<0.015										
	Sortie O3											
	Sortie STEP											
	Entrée O3	<0.015										
	Sortie O3											
	Sortie STEP											
STEP n°8	Entrée O3	<0.015										
	Sortie O3											
	Sortie STEP											
STEP n°9	Entrée O3	0.027										
	Sortie O3											
	Auslauf ARA											

mutagène   
  non mutagène   
  Éventuellement mutagène (>2x baseline à la conc. la plus élevée, mais pas de dépendance claire de la dose)

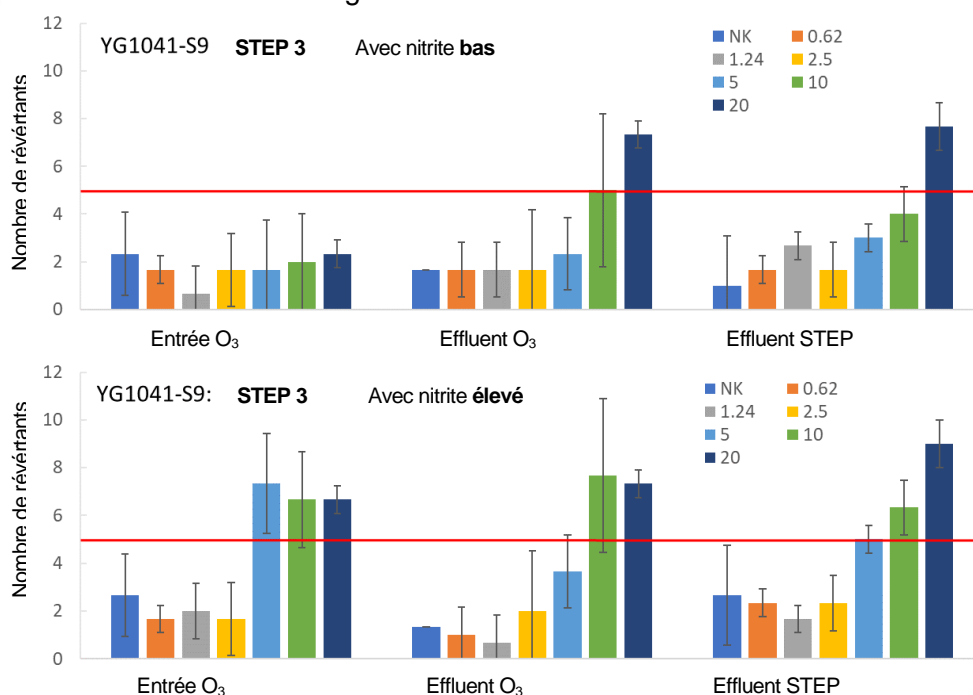
Augmentation ↑   
 Diminution ↓   
 Inchangé ↔

## 4 DISCUSSION

### 4.1 Résumé et interprétation des résultats

A une exception près, toutes les stations d'épuration concernées se distinguent par un potentiel mutagène dans au moins un échantillon en entrée d'ozonation, qui est généralement déjà dégradé par l'ozonation et n'est plus détectable après le traitement biologique complémentaire.

Dans quatre des stations d'épuration étudiées, le traitement à l'ozone augmente la mutagénicité pour au moins une souche : il s'agit de la STEP 6 (TA98+S9), de la STEP de 7 et de la STEP 5 (toutes deux YG7108-S9) ainsi que de la STEP 3 (YG1041-S9, YG1042-S9 et YG7108-S9). Le traitement biologique complémentaire (filtre à sable) élimine toutefois à nouveau ces effets mutagènes. La seule exception sans dégradation ou réduction est la STEP 3, où la mutagénicité est évaluée de manière très différente avec les différentes souches testées. Si l'on considère uniquement la souche YG1041+S9, le potentiel mutagène semble être réduit sur l'ensemble de la station d'épuration. Cependant, les tests effectués avec les souches YG1041-S9, YG7108-S9 et YG1042-S9 (uniquement en cas de nitrites élevés) indiquent plutôt une mutagénicité accrue ou, dans le meilleur des cas, constante en aval de la STEP. Pour la STEP 3, il est donc difficile d'évaluer la qualité de l'eau de manière globale.

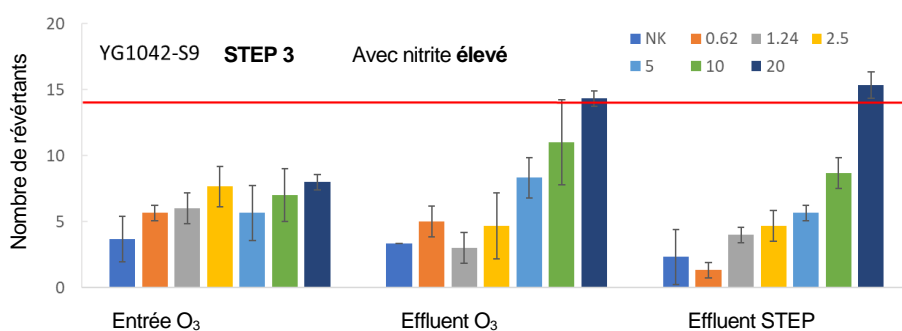


**Figure 3 : Résultats du test d'Ames avec la souche YG1041 sans cofacteur S9, en cas de nitrites bas et élevés à la STEP 3. La ligne rouge indique la valeur limite pour 2x la ligne de base. NK = contrôle négatif.**

Bien que la souche TA98 ait été mutagène à plusieurs reprises avec et sans activation S9, la souche YG1041 s'est révélée globalement beaucoup plus sensible. Dans plusieurs cas, elle a permis de détecter des effets mutagènes qui n'étaient

pas visibles avec les souches utilisées dans la procédure de test. Ce n'est qu'avec des concentrations élevées de nitrites dans l'effluent O<sub>3</sub> de la STEP 6 que la souche TA98+S9 a montré une mutagénicité, alors que la YG1041+S9 n'a pas réagi. La possibilité de suivre l'évolution du potentiel mutagène tout au long du processus s'est avérée être une possibilité d'utilisation particulièrement précieuse de la souche YG1041.

La souche TA100 n'a pas été déclenchée, ni avec ni sans activation S9, et la souche YG1042, plus sensible, n'a réagi qu'aux échantillons de la STEP 3. Comme déjà observé avec YG1041, YG1042 sans activation S9 présente un potentiel mutagène dans les eaux usées de l'effluent de l'ozonation et de l'effluent du filtre, ce qui indique à nouveau que les mutagènes responsables ne sont pas ou seulement partiellement dégradés dans le filtre à sable (voir Figure 4).



**Figure 4 : Résultats du test d'Ames avec YG1042 sans cofacteur S9, en cas de nitrite élevé à la STEP 3. La ligne rouge indique la valeur limite pour 2x la ligne de base.**

La souche YG7108 a indiqué un effet mutagène dans les eaux usées ozonées des STEP 7, 5 et 3 dans des conditions riches et pauvres en nitrites. Cependant, dans chaque cas, la mutagénicité a été bien réduite par l'effet biologique du filtre à sable (facteur 2 environ).

Il n'est pas possible d'évaluer définitivement si les nitrites ont un impact sur la formation d'effets mutagènes dans l'ozonation. Les données disponibles ne sont pas suffisantes à cet égard. La tendance est cependant que les eaux usées présentant des taux élevés de nitrites ont également tendance à produire des effets mutagènes. Si l'on considère la STEP 3, l'échantillon riche en nitrites semble produire davantage d'effets mutagènes (plusieurs souches réagissent). Alors qu'en cas de faibles concentrations de nitrites (0,14 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N/L), la formation de sous-produits mutagènes n'apparaît qu'avec l'ozonation, dans des conditions riches en nitrites (0,43 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N/L), un net potentiel mutagène est déjà présent en entrée d'ozonation qui n'est pas aggravé par l'ozonation. A la STEP 2 également, on observe avec le TA98-S9 une mutagénicité plus élevée en entrée et en sortie de l'ozonation par rapport à l'échantillon pauvre en nitrites. Cependant, l'effet mutagène direct (sans ajout du cofacteur S9) sur le TA98 dans l'entrée et la sortie de l'ozonation riches en nitrites de la STEP 2 indique plutôt une composition différente de l'eau et non pas le nitrite comme cause de l'effet mutagène. Cette affirmation est soutenue par la valeur COD plus élevée et pourrait indiquer qu'un composant réfractaire des eaux usées en est la cause réelle.



## 5 CONCLUSION

Les souches TA ne présentent pas d'effets mutagènes dans les effluents des STEP aménagées. Les résultats obtenus sur les grandes installations techniques concordent donc avec les résultats du test d'ozone selon la recommandation du VSA.

La souche TA98 réagit dans six échantillons en l'entrée de l'ozonation et dans certains cas après l'ozonation. La souche TA100 n'a pas montré d'effet mutagène dans aucun des cas analysés, ce qui correspond aux données collectées dans le cadre des vérifications relatives à l'adéquation du processus d'ozonation (données non présentées). La question de savoir si la souche TA100 doit continuer à être utilisée pour ces vérifications reste ouverte et doit être discutée.

En outre, il s'est avéré que les souches YG1041 et 1042 utilisées en plus étaient plus sensibles que les souches TA98 et 100 utilisées jusqu'à présent. Cela signifie que si TA98 indiquait une mutagénicité, la souche YG1041 l'indiquait également. Or, les souches YG1041 et 1042 ont indiqué un effet mutagène dans des échantillons supplémentaires. Comme les souches YG ne sont pas encore normalisées, leur utilisation doit encore être clarifiée dans le cadre des vérifications relatives à l'adéquation du processus d'ozonation.

Des valeurs de nitrites supérieures à 0,2 mg N/L en entrée de l'ozonation pourraient avoir une influence sur la formation de composés mutagènes. La base de données de ce projet est cependant trop petite pour pouvoir en juger de manière définitive.

## 5.1 Recommandation

Les conclusions et recommandations suivantes découlent de cette étude, notamment sur les vérifications relatives à l'adéquation du processus d'ozonation:

- Pour les niveaux 1 et 2 (données d'exploitation), les concentrations de nitrites devraient si possible également être prises en compte.
- Au niveau 4 (Biotest), les nouvelles souches YG1041 et YG1042 peuvent être introduites. Ces souches couvrent les mêmes effets mutagènes que TA98 et TA100, mais sont plus sensibles et plus larges. En particulier, la souche TA100 n'a pas démontré de mutagénicité et peut donc être remplacée par l'une des nouvelles souches.

## 5.2 Limitation de la validité de l'interprétation

Les déclarations ci-dessus se réfèrent aux analyses effectuées sur les STEP de septembre 2022 à mai 2023. Il s'agit dans ce projet d'échantillons momentanés, il est donc possible que certains échantillons reflètent une composition des eaux usées non représentative pour le point de prélèvement concerné. Les résultats peuvent différer pour d'autres compositions d'eaux usées. De plus, l'étendue des données est limitée.

### ENVILAB AG

L'analyse - notre passion



Alessandro Piazzoli

Directeur  
Analyse de traces organiques  
0041 62 745 70 53  
[alessandro.piazzoli@envilab.ch](mailto:alessandro.piazzoli@envilab.ch)



Samuel Christe

MSc. Chimie de l'environnement et écotoxicologie  
[samuel.christe@envilab.ch](mailto:samuel.christe@envilab.ch)

## 6 BIBLIOGRAPHIE

- Abegglen, Christian und Siegrist, Hansruedi. 2012.** *Mikroverunreinigungen aus kommunalem Abwasser - Verfahren zur weitergehenden Elimination auf Kläranlagen.* Bern : Bundesamt für Umwelt, 2012. Umwelt-Wissen Nr. 1214: 210S.
- Abegglen, Christian, et al. 2009.** *Ozonung von gereinigtem Abwasser - Schlussbericht Pilotversuch Regensdorf.* Dübendorf : Eawag, 2009.
- Buchinger, Sebastian. 2022.** Use of diagnostic strains in the Ames-test - Background and application. *Workshop zu den Ökotoxikologischen Untersuchungen von ozonierten Abwässern.* s.l. : Bundesanstalt für Gewässerkunde, 2022.
- Clemens von Sonntag, Urs von Gunten. 2012.** *Chemistry of Ozone in Water and Wastewater Treatment: From Basic Principles to Applications.* s.l. : IWA Publishing, 2012.
- Fujita, Ken-ichi, et al. 2001.** Construction of Salmonella typhimurium YG7108 strains, each coexpressing a form of human cytochrome P450 with NADPH-cytochrome P450 reductase. *Environmental and molecular mutagenesis.* 2001, Bd. 38.
- Hagiwara, Yuji, et al. 1993.** Specificity and sensitivity of Salmonella typhimurium YG1041 and YG1042 strains possessing elevated levels of both nitroreductase and acetyltransferase activity. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis.* 1993, Bd. 291, 3.
- Koppe, Paul und Stozek, Alfred. 1998.** *Kommunales Abwasser: seine Inhaltsstoffe nach Herkunft, Zusammensetzung und Reaktionen im Reinigungsprozess einschliesslich Klärschlämme.* Vulkan; Auflage: 4 (30. Dezember 1998) : s.n., 1998.
- Krauss, Longrée, Hollender. 2009.** Nitrosamines - a water safety risk? *Eawag News.* 2009, 66e.
- Lee, Minju, et al. 2013.** Analysis of N-nitrosamines and other nitro(so) compounds in water by high-performance liquid chromatography with post-column UV photolysis/Griess reaction. *Water Research.* 4893 - 4903. 47 2013.
- Manasfi, Tarek, et al.** "In Vorbereitung".
- Margot J., Kienle C., Magnet A., Weil M., Rossi L., de Alencastro L.F., Abegglen C., Thonney D., Chèvre N., Schärer M., Barry D.A. 2013.** Treatment of micropollutants in municipal wastewater: Ozone or powdered activated carbon? *Science of the Total Environment.* 2013, Bde. 461-462: 480-498.
- Oekotoxzentrum, Eawag-EPFL. 2016.** *Environmental Quality Standard (EQS) - Vorschlag des Oekotoxzentrums für: Bromat.* 2016.
- Wunderlin, Pascal. 2021.** *Abklärungen Verfahrenseignung Ozonung.* [pdf] s.l. : VSA, 2021.
- **2021.** *Abklärungen Verfahrenseignung Ozonung (Version 2.0).* [PDF] s.l. : VSA Micropoll-Plattform, 2021.
- Wunderlin, Pascal, et al. 2015.** Behandelbarkeit von Abwasser mit Ozon - Testverfahren zur Beurteilung. *Aqua & Gas.* 7/8, 2015.
- Yamada, Masami, et al. 1997.** New tester strains of Salmonella typhimurium lacking O6-methylguanine DNA methyltransferases and highly sensitive to mutagenic alkylating agents. *Mutation Research/Fundamenta and Molecular Mechanisms of Mutagenesis.* 1997, Bd. 381, 1.

**Zietzschmann, Frederik, et al. 2018.** *TestTools - Entwicklung und Validierung von schnellen Testmethoden zum Spurenstoffverhalten in technischen und natürlichen Barrieren des urbanen Wasserkreislaufs.* Berlin : TU Berlin, 2018.

