

**ÉLIMINATION DES COMPOSÉS PHARMACEUTIQUES DES EAUX DE
REJETS HOSPITALIERS PAR OXYDATION PAR VOIE HUMIDE**

par

Valérie Boucher

Mémoire présenté au Département de chimie en vue
de l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.)

FACULTÉ DES SCIENCES
UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE

Sherbrooke, Québec, Canada, septembre 2021

Le 2 septembre 2021

*Le jury a accepté le mémoire de Madame Valérie Boucher
dans sa version finale.*

Membres du jury

Professeur Pedro A. Segura

Directeur de recherche

Département de chimie

Professeure Céline Guéguen

Évaluatrice interne

Département de chimie

Professeur Jean-Philippe Bellenger

Président-rapporteur

Département de chimie

SOMMAIRE

Les eaux usées sont une voie d'entrée pour les médicaments dans nos rivières, car les traitements actuels ne sont pas appropriés pour ces composés. Les hôpitaux sont une source à considérer étant donné leurs eaux usées chargées en composés pharmaceutiques. C'est dans l'optique de répondre au problème de déchargement de médicaments dans l'environnement par les effluents hospitaliers que ce projet est né. Parmi les innombrables possibilités de traitement, l'oxydation par voie humide (OVH), un processus d'oxydation avancé qui utilise de l'air et de l'eau à des températures et des pressions élevées pour éliminer les composés organiques, semble une voie prometteuse. L'objectif du projet était d'évaluer l'application de l'OVH comme prétraitement des eaux usées des hôpitaux afin de retirer les composés pharmaceutiques avant de rejoindre les eaux usées municipales.

Afin de répondre au but de cette recherche, les dix composés les plus problématiques d'un hôpital local ont été déterminés selon leur abondance et toxicité, une méthode de quantification par spectrométrie de masse a été développée pour suivre les performances de dégradation et les paramètres du traitement à l'étude ont été optimisés. En complément, des analyses d'écotoxicité ont été réalisées afin d'évaluer l'impact du traitement sur la toxicité des effluents générés ainsi qu'une analyse technico-économique pour évaluer la faisabilité économique de son application en contexte réel.

L'étude a démontré que l'OVH atteint une performance de dégradation entre 95.0 et 99.1% des composés dopés à 10 µg/L dans des eaux usées hospitalières en seulement 15 minutes d'oxydation et ce même à faible demande chimique en oxygène (< 600 mg O₂/L). Les produits de dégradation générés semblent néanmoins plus toxiques que les produits de départ selon les tests de toxicité effectués sur un crustacé (*Daphnia magna*) et une bactérie (*Aliivibrio fischeri*). Les analyses ont également révélé un coût de 27\$ par mètre cube. Ce chiffre pourrait toutefois être moindre en préconcentrant l'effluent hospitalier d'abord.

Ces résultats sont un bon point de départ pour permettre aux collaborateurs du projet de continuer à développer leur procédé pilote en mode continu et ainsi arriver à trouver l'application la plus probable pour cette technologie verte. Le sujet a fait l'objet de présentation à un comité de gestion de l'environnement dans le réseau de la santé et certains

acteurs portaient un intérêt pour cette technologie dans le cadre de la construction d'un nouvel hôpital au Québec. Il y a assurément une préoccupation sur le terrain et un désir de trouver des solutions environnementales. Ce genre de recherche apporte les connaissances nécessaires pour y répondre. Les suites du projet vont se tourner vers les produits de transformation afin de découvrir l'éventail de molécules générées par la dégradation des composés primaires durant le procédé. Il serait également intéressant d'étudier la corrélation entre toxicité et biodégradabilité en fonction du temps d'oxydation.

Mots clés : Pharmaceutique, procédé d'oxydation avancée, traitement des eaux usées, hôpitaux, oxydation par voie humide, micropolluant, polluant émergent, dégradation

REMERCIEMENTS

Je voudrais tout d'abord remercier les collaborateurs proches. Je remercie le Centre de transfert technologique en écologie industrielle pour l'accès à leurs installations ainsi que leur expertise essentielle à la réalisation des expériences. Je remercie plus particulièrement Pascal Lemoine, Jean-François Vermette, Pedro Ramirez ainsi que Sophie Girard pour leur participation active au projet. Je remercie également le Centre intégré de santé et de services sociaux de la Montérégie-Est pour avoir partagé avec nous des données de leur réseau fondamentales ainsi que le groupe Synergie santé environnement pour avoir mis en relation divers acteurs du projet.

Tout projet ne peut évidemment pas voir le jour sans aide financière. Ainsi, je suis grandement reconnaissante envers le CRSNG qui a su appuyer en ce sens cette recherche.

Merci à tous les étudiants du laboratoire du professeur Segura d'avoir été des collègues aidants durant mon parcours. Je me dois également de remercier spécifiquement Philippe Venne pour toute la formation qu'il m'a fait bénéficier en spectroscopie de masse.

Finalement, un grand merci tout spécialement à mon directeur de recherche Pedro A. Segura qui a su être à l'écoute et me guider avec patience, rigueur et gentillesse.

TABLE DES MATIÈRES

Sommaire	iii
Remerciements.....	v
Table des matières.....	vi
Liste des tableaux.....	ix
Liste des figures	xi
Introduction.....	1
I.1. La problématique environnementale des composés pharmaceutiques	1
I.2. Les hôpitaux : une source à considérer.....	4
I.3. Un traitement à la source comme solution explorée.....	5
CHAPITRE 1 : Méthodologie	9
1.1 Sélection des composés problématiques.....	9
1.1.1 Approche expérimentale	9
1.1.2 Approche théorique.....	10
1.2 Développement d'une méthode de quantification en spectrométrie de masse	12
1.3 Bioessais avec <i>Daphnia magna</i>	13
1.3.1 Préparation des algues.....	14
1.3.2 Éclosion des daphnies	15
1.4 Traitement par oxydation par voie humide (OVH).....	18
1.4.1 Fonctionnement.....	18
1.4.2 Application.....	22
CHAPITRE 2 : Tests préliminaires de toxicité avec <i>D. magna</i>	22
2.1 Tests sur la <i>Daphnia magna</i>	22

2.2 Quantification de la 20-hydroxyecdysone chez <i>D. magna</i> pour évaluer la toxicité des mélanges des composés pharmaceutiques	24
2.3 Toxicité du mélange de composés pharmaceutiques	26
2.3.1. Test de survie	26
2.3.2 Test de fécondité	27
2.3.3 Quantification de la 20-hydroxyecdysone	29
CHAPITRE 3 : Élimination de composés pharmaceutiques des	31
effluents hospitaliers par oxydation par voie humide	31
Abstract	34
Introduction	35
3.1 Experimental methods	38
3.1.1 Chemicals and reagents.....	38
3.1.2 Selection of target pharmaceuticals	38
3.1.3 Sampling and preparation of hospital wastewater for quantification of target pharmaceuticals.....	39
3.1.4 WAO tests with spiked deionized water samples	40
3.1.5 WAO tests with spiked hospital wastewater samples.....	41
3.1.6 Analysis by liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry	41
3.1.7 Toxicity bioassays.....	42
3.1.8 Techno-economic analysis.....	43
3.2 Results and discussion	48
3.2.1 Selection of compounds.....	48
3.2.2 Quantification of target pharmaceuticals in hospital wastewater	49
3.2.3 Optimization of WAO.....	51
3.2.4 Toxicity bioassays.....	58

3.2.5 Techno-economic analysis	61
3.3 Conclusion	64
Acknowledgements	65
Author contributions	66
References	66
Supplementary information	72
Conclusion	86
Bibliographie.....	88

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Présentation des 10 composés à l'étude.....	11
Tableau 2. Critères de validation de la méthode de quantification.....	13
Tableau 3. Détermination de l'âge des individus de <i>D. magna</i> selon leur grosseur.....	14
Tableau 4. Paramètres de quantification.....	17
Tableau 5. Composition des solutions utilisées en LC-MS/MS	17
Tableau 6. Process simulation assumptions for the estimation of the CAPEX-OPEX for the removal of pharmaceuticals in hospital wastewater by WAO.....	46
Tableau 7. CAPEX-OPEX assumptions for the removal of pharmaceuticals in hospital wastewater by WAO. Currency is in Canadian dollars (CAD).	47
Tableau 8. Target pharmaceuticals selected according to their risk quotient. Carbamazepine, diclofenac, sulfamethoxazole and trimethoprim were added for comparison purposes.....	49
Tableau 9. Removal of pharmaceuticals in hospital wastewater by WAO at 290 °C with different conditions in duplicate experiments. Pharmaceuticals were spiked at 1500 µg L ⁻¹ in all cases except indicated otherwise.	56
Tableau 10. Mass and energy balance for a WAO unit of 86 L min ⁻¹	62
Tableau 11. CAPEX-OPEX for a WAO unit of 86 L min ⁻¹	63
Tableau 12. Multiple reaction monitoring transitions and optimized parameters for quantitative analyses by LC-QqQMS (Waters Micromass Quattro Premier XE Mass Spectrometer).....	72

Tableau 13. Multiple reaction monitoring transitions and optimized parameters for quantitative analyses by LC-QqQMS (Xevo TQ-S micro mass spectrometer).....	73
Tableau 14. Method performance for the analysis of spiked deionized water. This method was used for the optimization of WAO using spiked concentrations of target compounds at 1500 µg L ⁻¹	74
Tableau 15. Method performance for the analysis of untreated hospital wastewater. This method was used for the quantification of pharmaceuticals shown in Figure 11 of the manuscript.....	75
Tableau 16. Method performance for the analysis of WAO treated hospital wastewater. This method was employed to obtain the results shown in Table 8.	76
Tableau 17. Organic pharmaceuticals consumed in the local hospital	80
Tableau 18. Estimated amounts of the 25 top pharmaceuticals rejected in the hospital effluent using a conservative daily water consumption of 420.8 L/bed (number of beds = 166).....	83
Tableau 19. Energy balance for a WAO unit of 86 L min ⁻¹	84
Tableau 20. Cases for WAO unit sensitivity analysis	85

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Représentation de la solution proposée	8
Figure 2. Montage de la préparation des algues.....	15
Figure 3. Montage de l'exposition	16
Figure 4. Réacteur industriel d'un procédé OVH en continu	21
Figure 5. Structure de la 20-hydroxyecdysone (20E)	25
Figure 6. Suivi de la survie de la <i>D. magna</i> exposée au mélange de produits pharmaceutiques sur une période de 21 jours. Les barres d'erreur indiquent l'écart-type des mesures ($n = 6$). Aucune différence statistiquement significative ($p < 0.05$) n'a été observée d'après le test t de Student.	26
Figure 7. Suivi de la fécondité de la <i>D. magna</i> exposée au mélange de produits pharmaceutiques sur une période de 21 jours. Les barres d'erreur indiquent l'écart-type des mesures ($n = 6$). Les étoiles indiquent des différences statistiquement significatives ($p < 0.05$) d'après le test t de Student.	28
Figure 8. Quantification de la 20-HE après une exposition au mélange de produits pharmaceutiques sur une période de 21 jours. Les barres d'erreur indiquent l'écart-type des mesures ($n = 3$). Aucune différence statistiquement significative ($p < 0.05$) n'a été observée d'après le test t de Student.	29
Figure 9. Process flow diagram for removal of pharmaceuticals in hospital wastewater using a continuous WAO reactor.	44
Figure 10. Quantification of the target pharmaceuticals in hospital wastewater in three grab samples collected in three different days in 2019 ($n=1$). Length of error bars represents the uncertainty of the concentration determined with the standard additions method	51

Figure 11. Removal by WAO of the target pharmaceuticals during the exploratory temperature range test ($n=1$). Compounds were spiked at $1500 \mu\text{g L}^{-1}$ in deionized water.....	52
Figure 12. Removal by WAO of target pharmaceuticals spiked at $1500 \mu\text{g L}^{-1}$ each in deionized water at A: 200°C ; B: 250°C and C: 300°C . For each temperature $n=1$...	53
Figure 13. Optimization of WAO temperature at A: 20 min and B: 30 min residence times using a mixture of target pharmaceuticals spiked in deionized water at $1500 \mu\text{g L}^{-1}$ each. Data for pregabalin at 275°C did not pass QC tests and were rejected. For each temperature $n=1$	54
Figure 14. Effect of residence time of spiked deionized water and hospital wastewater on the <i>D. magna</i> EC_{50} and the <i>A. fischeri</i> EC_{20} measured at 48 h and 5 min, respectively. For both sets of data, length of error bars represents the 95 % confidence interval. For only one sample (hospital wastewater treated for 15 min) the fitting failed and no EC_{50} could be calculated for <i>D. magna</i>	60
Figure 15. Sensibility analysis of CAPEX – OPEX to the inlet flow rate for the WAO process.....	64

INTRODUCTION

I.1. La problématique environnementale des composés pharmaceutiques

Les contaminants d'intérêt émergent, comme son nom l'indique, regroupe des contaminants dont leur étude est relativement récente. Par exemple, cela peut être de nouveaux contaminants qui n'existaient pas auparavant, des contaminants plus traditionnels pour lesquels de nouvelles informations sont connues ¹ ou encore des composés qui n'étaient pas décelés auparavant dû à des méthodes analytiques pas assez sensibles à l'époque. Comme ils ne sont étudiés que depuis peu, ils sont également beaucoup moins connus et leurs effets ne font pas encore consensus dans la communauté scientifique. Le DDT, un insecticide, est un exemple de ce type de polluant contaminant qui a été utilisé à grande échelle pendant des décennies avant que des scientifiques ne démontrent les risques. Le DDT a été reconnu par la suite pour être très persistant, rester potentiellement dans l'environnement pendant des centaines d'années et il a été jugé comme cancérigène probable pour l'homme par l'Environmental Protection Agency (EPA) aux États-Unis ². Il a été considéré comme un contaminant émergent jusqu'à ce qu'il y ait assez de données pour entraîner son bannissement ¹. Les plastifiants, produits ignifuges, perturbateurs endocriniens et les composés pharmaceutiques en sont des exemples. Ces derniers, entrés dans cette catégorie depuis une ou deux décennies, sont le sujet de cette étude ¹.

Pourquoi les composés pharmaceutiques inquiètent-ils les scientifiques en environnement? Pour commencer, ces composés sont connus pour leur grande bioactivité. Cela amène donc des inquiétudes quant aux conséquences d'une exposition, même à faible concentration, sur la vie aquatique et la santé humaine. Plusieurs études ont soulevé des inquiétudes. Le diclofénac, un anti-inflammatoire non stéroïdien, a également été trouvé à causer du stress oxydatif (réponses adaptatives antioxydantes et dommages peroxydants) chez le poisson zèbre à des concentrations environnementales réalistes ³. Au niveau de la santé humaine, les effets possibles sont beaucoup moins évidents même si les produits pharmaceutiques sont détectés dans l'eau potable ⁴. Actuellement, l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a déclaré que les faibles concentrations détectées sont peu susceptibles de

provoquer un effet ⁵. Pourtant, des recherches se poursuivent à ce sujet et découvrent certains faits inquiétants : *Kaushik et al.* ont démontré récemment par exemple que les médicaments psychoactifs contenus dans l'eau potable pourraient potentiellement avoir un impact sur le cerveau d'un embryon (développement, croissance et régulation de systèmes neuronaux) ⁶. En effet, les composés pharmaceutiques, selon leurs résultats, pourraient traverser les barrières maternelles biologiques et altérer *in vitro* certains mécanismes génétiques et molécules impliquées ⁶.

Les produits pharmaceutiques ont une grande valeur pour notre société et leur accessibilité pour la population est un élément majeur de la santé publique. Cela en fait des substances dont leur utilisation est extrêmement difficile à réglementer. Contrairement à la médecine vétérinaire, il est très peu probable qu'un produit pharmaceutique destiné à la médecine humaine se fasse refuser l'accès au marché pour des considérations environnementales, car cela n'est pas inclus dans l'analyse des risques et bénéfices ^{7,8}. Ainsi, des molécules potentiellement dangereuses pour l'environnement sont utilisées et amenées sur le marché sans qu'il soit possible de réglementer leur consommation.

Un autre aspect inquiétant des composés pharmaceutiques est l'augmentation constante de leur consommation. Cela peut s'expliquer par plusieurs facteurs tels que le vieillissement et l'augmentation de la population, les changements dans la pratique clinique où il pourrait y avoir plus de prescriptions qu'avant pour certains cas, la venue de nouvelles molécules sur le marché grâce à la recherche et développement, etc. ⁹ Par exemple, entre 2000 et 2015 les pays de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) ont presque quadruplé leur consommation de médicaments pour abaisser le taux de cholestérol et presque doublé leur consommation d'antihypertenseurs, d'antidiabétiques et d'antidépresseurs ¹⁰. On peut supposer que s'il n'y a rien qui change, plus de médicaments seront consommés et davantage se retrouveront malheureusement dans l'environnement.

Bien que ce projet porte sur l'ensemble des composés pharmaceutiques, il est intéressant de s'attarder brièvement sur une sous-catégorie : les antibiotiques. Le déversement d'antibiotiques dans les eaux usées et dans l'environnement contribue à la résistance aux antibiotiques. Cela rend cette catégorie de polluant d'autant plus intéressante et pertinente

à étudier. Il a été démontré que la présence des antibiotiques dans l'environnement, même à faible concentration, contribue à la résistance aux antibiotiques ¹¹⁻¹³. L'efficacité de ces médicaments est vitale pour combattre la létalité de nombreuses maladies infectieuses notamment pour la santé publique, mais également pour l'élevage en agriculture. L'augmentation de la résistance aux antibiotiques pourrait engendrer 10 millions de morts par année et un coût international allant jusqu'à 100 billions \$ USD ¹⁴. En effet, un patient infecté par une bactérie résistante coûte en moyenne dans les pays de l'OCDE 10 000 à 40 000 USD de plus pour le traiter. Le Canada n'est pas épargné : 6,8% des patients hospitalisés seront infectés par une bactérie résistante ¹⁵. Réduire la présence d'antibiotiques dans différents environnements permettrait d'aider à ralentir cette grande problématique et par le fait même bénéficier économiquement des coûts épargnés.

Quel chemin emprunte le composé pharmaceutique? Il y a tout d'abord l'ingestion du médicament. À l'intérieur de l'organisme, ce dernier est métabolisé afin de rendre la molécule plus polaire pour faciliter son utilisation et excrétion. Après excrétion, la molécule se retrouve éventuellement dans les eaux usées jusqu'à la station d'épuration municipale où les traitements habituellement mis en place sont souvent inefficaces contre les composés pharmaceutiques ¹⁶⁻¹⁸. De plus, il arrive parfois aussi que surviennent des déversements directs des eaux usées dans les rivières causées par les fortes pluies, appelés surverses ¹⁹. L'efficacité des traitements dépend de la molécule à éliminer ainsi que du type de traitement. Par exemple, le taux d'efficacité à retirer le diclofénac varie grandement d'un traitement à l'autre (entre 0 et 90%) alors que l'ibuprofène est habituellement éliminé à un taux d'au moins 75% ¹⁶. Un autre exemple est la sulfaméthoxazole qui n'est retirée en moyenne qu'à 11% après un traitement primaire et secondaire de lit bactérien ²⁰. L'effluent est ensuite rejeté dans l'environnement avec encore plusieurs composés pharmaceutiques. Même dans le cas où le composé pharmaceutique est retiré des eaux usées, il peut se retrouver dans les boues pour ensuite être déposé dans les décharges ou encore être utilisé comme engrais sur les terres agricoles et ainsi contaminer les sols ²¹. L'épandage des boues usées sur les terres agricoles est une pratique courante ici même au Québec, bien qu'elle soit encadrée ²². Les composés pharmaceutiques empruntent ces chemins pour pénétrer l'environnement et ils sont effectivement détectés dans plusieurs matrices

environnementales ^{23,24}. Les eaux usées sont généralement considérées comme étant la principale source de produits pharmaceutiques provenant de la médecine humaine vers l'environnement. Elles contiennent évidemment toute l'excrétion par l'urine et les selles, mais également d'autres routes alternatives comme l'excrétion par la peau durant la douche ou encore en disposant de reste de médicaments dans les égouts ²⁵.

I.2. Les hôpitaux : une source à considérer

À première vue, les hôpitaux peuvent sembler comme une source intéressante à prendre en considération pour la charge de composés pharmaceutiques dans leurs eaux usées. Leur contribution en produits pharmaceutiques et de soins personnels (PPSP) serait jusqu'à 59% ²⁶. Dépendamment du type d'hôpital, de sa grosseur et du nombre de personnes qu'il dessert, ce qui se trouve dans un effluent hospitalier peut influencer grandement ce qui sera détecté dans l'environnement. Les hôpitaux peuvent jouer un rôle particulièrement important quant à la composition des effluents municipaux. Dans une étude réalisée au Portugal ²⁰, au moins 62 produits pharmaceutiques ont été détectés dans différents effluents hospitaliers sur les 78 composés étudiés. La charge pharmaceutique des eaux municipales provenant des hôpitaux peut être significative : 50% pour les analgésiques, 74% pour les antihistaminiques H2 et 49% pour les antibiotiques ²⁰. Par exemple, ce pourcentage atteindrait 56% pour la roxithromycine dans un hôpital en Australie ²⁷. Les hôpitaux rejettent des effluents beaucoup plus concentrés en produits pharmaceutiques que les eaux usées municipales ²⁰. Cela en fait un bon endroit pour un traitement à la source afin de réduire les concentrations environnementales des composés pharmaceutiques ²⁸. De plus, il semble que les effluents hospitaliers soient une importante source d'antibiotiques et de gènes de résistance aux antibiotiques et contribuent au développement de la résistance aux antibiotiques dans l'environnement ^{29,30}. Des antibiotiques ont été détectés à de fortes concentrations dans des effluents hospitaliers en Roumanie, c'est-à-dire jusqu'à 53.05 µg/L ³². Même avec un traitement conventionnel comme les boues activées et la désinfection au chlore, l'élimination est loin d'être complète (seulement de 55% pour l'ampicilline) ³². Une étude démontre également que deux gènes de résistance aux β-lactamines étaient surexprimés par rapport au milieu récepteur dans tous leurs échantillons d'effluents hospitaliers ³¹. Ainsi, un traitement efficace des effluents hospitaliers aiderait certainement

à ralentir aussi la grandissante problématique de la résistance aux antibiotiques. Pour ces raisons, il est nécessaire de trouver un moyen d'éliminer les produits pharmaceutiques dans les eaux des hôpitaux avant qu'ils se rendent dans les stations d'épuration municipales. La réponse au problème pourrait se trouver dans l'ajout d'un prétraitement de l'effluent hospitalier directement à la source.

1.3. Un traitement à la source comme solution explorée

De nombreux traitements des eaux existent ou sont actuellement en développement. Bien que les traitements d'eaux usées varient énormément entre les localités et les industries, ils tendent à suivre le même modèle ³¹. Des traitements ont été étudiés pour répondre à ce problème en éliminant les composés pharmaceutiques des eaux usées notamment les procédés d'oxydation avancée (POA) ³². Ces méthodes sont connues pour être efficaces contre une grande variété de contaminants, dont les composés pharmaceutiques (par exemple, plus de 99% de dégradation des composés pharmaceutiques contenus dans les eaux usées hospitalières est atteint lorsqu'elles sont traitées par O₃/UV ³²). Contrairement à plusieurs autres POA, l'oxydation par voie humide (OVH) n'a pas fait l'objet d'une étude portant sur l'application d'un traitement des eaux usées des hôpitaux ³². En effet, bien que l'OVH ait été étudié pour les eaux usées industrielles pharmaceutiques ³³⁻³⁵, l'application pour les eaux hospitalières serait nouvelle. De plus, la performance de cette méthode dans ce milieu à faible charge organique n'est pas bien connue. La section 1.4 explique plus en détails ce type de traitement.

Qu'est-ce qu'est l'OVH? Son principe est de générer un radical hydroxyle pour que ce dernier, par une série de réactions en chaîne, dégrade les polluants de l'échantillon. L'oxydation va briser les structures moléculaires complexes pour obtenir des structures plus simples. La matière organique est oxydée en phase liquide par l'oxygène dissous à haute température ³³.

L'un des grands avantages de l'OVH est sa grande efficacité bien connue depuis déjà quelques décennies. Par exemple, *Dietrich et al.* ont présenté dans leur papier de 1985 les résultats de dégradation par OVH de 30 composés provenant de diverses catégories de la liste des polluants prioritaires de l'EPA. De ces 30 composés, 22 ont eu un taux de

dégradation plus grand ou égal à 90%.³⁶ Il faut mentionner cependant que certaines molécules sont très résistantes au traitement et qu'il ne peut dégrader par exemple les biphényles polychlorés (BPC) et certains composés aromatiques et pesticides.³³ Un autre point important de l'OVH est qu'il induit une augmentation de la biodégradabilité des effluents. C'est ce qui permet par la suite de pouvoir compléter le traitement en le couplant avec des traitements biologiques. *Malik et al.* l'ont bien démontré en calculant l'indice de biodégradabilité, un ratio de la demande biochimique en oxygène pendant cinq jours sur la demande chimique en oxygène (DBO₅/DCO), des effluents d'une distillerie après traitement. Ils ont découvert que le temps d'oxydation et la biodégradabilité de l'effluent après traitement sont proportionnels. Une de leur expérimentation montre qu'à 200°C et 12 bar, l'indice de biodégradabilité passe d'environ 0,4 à 0,88 respectivement après 15 min et 120 min de traitement³⁷. Dans leur cas, l'indice souhaitable était de 0,4 pour un couplage avec un traitement biologique. Cette augmentation de la biodégradabilité avait amélioré le taux de biodégradation aérobie de 4 à 6 fois pour les effluents prétraités à l'OVH³⁷. Cela en fait un prétraitement qui pourrait être intéressant pour l'efficacité augmentée obtenue du procédé. L'OVH est considéré comme un procédé vert. Aucun ajout d'additif polluant n'est nécessaire au traitement, seulement les eaux usées et de l'air entrent dans le réacteur. Le côté environnemental du procédé est très intéressant aussi puisqu'il se fait sans émission de NO_x, SO₂, HCl, dioxines, furannes ou cendres volantes, donc les rejets gazeux sont considérés comme propres³³. C'est une alternative pertinente à l'incinération des boues étant donné que cela nécessite avant une étape de déshydratation très énergivore et coûteux³⁸. En plus d'être plus vert, la simplicité du procédé au niveau des réactifs peut permettre à l'OVH de se démarquer de d'autres POA. Par exemple, une grande quantité d'acide est nécessaire au procédé de Fenton qui génère le radical hydroxyle grâce à une décomposition de H₂O₂ par des ions ferreux³⁹. Cela doit se réaliser à pH acide (habituellement entre 2,0 et 4,0) pour éviter la formation d'hydroxydes de fer qui précipiteront⁴⁰. Des problèmes qui ne s'appliquent pas à l'OVH.

La performance de l'OVH à faible charge organique, comme les effluents hospitaliers, est peu connue puisque le traitement n'est pas utilisé dans ces conditions habituellement pour

des questions de coûts. La technique a été étudiée à quelques reprises avec des résultats prometteurs dans un contexte d'études environnementales sur le traitement d'eaux usées industrielles. C'est le cas notamment de l'acide salicylique, un polluant fréquemment retrouvé dans les eaux pharmaceutiques et cosmétiques dû à son utilisation dans plusieurs produits de soins de la peau, gels et colorants. Son traitement par OVH permet une conversion complète de l'analyte en 90 min ³⁵. Plusieurs autres composés organiques des eaux usées industrielles ont fait l'objet d'étude concernant l'OVH. Par exemple, le benzène, xylène, dichlorométhane, tétrachlorométhane et butanone obtiennent une dégradation de 99.6% et plus ³³. Des travaux ont traité également de la performance de dégradation de la charge organique d'eaux usées de compagnies pharmaceutiques ^{33,34}. Par contre, aucune étude n'a été trouvée sur un suivi de la dégradation par OVH sans catalyseur de composés pharmaceutiques dans des effluents hospitaliers.

Le Centre de transfert technologique en écologie industrielle (CTTÉI), un partenaire du projet, est la seule organisation au Québec à posséder l'équipement OVH dans leurs installations à Sorel-Tracy. Dans le cadre d'un projet ayant pour but d'explorer les possibilités d'applications pour cette technologie, plusieurs types de déchets ont été traités et ont donné des résultats préliminaires très positifs (boues municipales, pâtes et papiers, peinture, etc.). Par la suite, il a été décidé d'évaluer la faisabilité d'un tel traitement pour les effluents hospitaliers avant qu'ils ne rejoignent les eaux usées municipales comme montré à la Figure 1.

L'objectif de ce travail est d'étudier l'application de l'OVH comme prétraitement des eaux usées des hôpitaux afin de retirer les composés pharmaceutiques avant de rejoindre les eaux usées municipales. Pour ce faire, une sélection objective de composés les plus problématiques retrouvés dans les eaux usées hospitalières a été effectuée en estimant la toxicité et l'exposition (Chapitre 1 Section 1.1 et Chapitre 3). Ensuite, une méthode de quantification était nécessaire afin de suivre la dégradation par OVH de ces mêmes composés (Chapitre 1 Section 1.2 et Chapitre 3). Les conditions de l'OVH ont dû ensuite être optimisées afin de diminuer les coûts et ainsi s'approcher le plus d'une application réalisable (Chapitre 3). En dernier lieu, la toxicité des effluents après traitement a été mesurée sur la *Daphnia magna*, un crustacé (Chapitre 2).

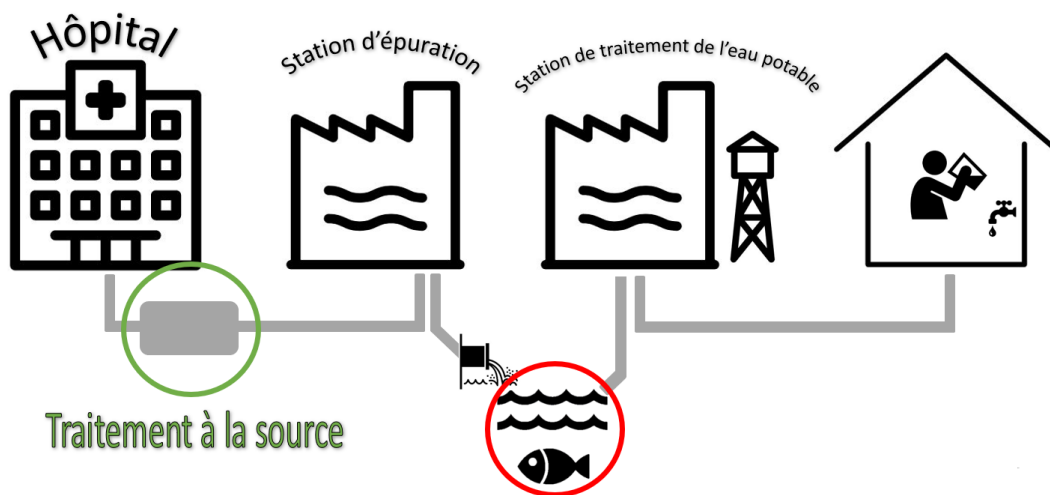


Figure 1. Représentation de la solution proposée

CHAPITRE 1 : MÉTHODOLOGIE

1.1 Sélection des composés problématiques

1.1.1 Approche expérimentale

Tout d'abord, avant même d'évaluer l'efficacité du traitement envisagé, il faut sélectionner les composés qui seront à l'étude de façon non arbitraire. Il a été choisi dans ce projet de tenter d'estimer les composés les plus problématiques. Il fallait commencer par déterminer les composés les plus susceptibles d'être retrouvés dans les effluents hospitaliers. La première approche considérée pour y arriver est celle dite «expérimentale».

Elle consiste à aller directement sur le terrain, échantillonner et quantifier une grande gamme de produits pharmaceutiques. L'échantillonnage en soi est un obstacle pour cette situation, car il est extrêmement difficile d'obtenir des échantillons représentatifs. Par exemple, l'acétaminophène pourrait environ doubler en concentration en seulement 4 h ⁴¹. De plus, des produits de contraste iodés, utilisés en radiographie, ont été quantifiés en plus grande concentration durant la semaine plutôt que la fin de semaine ⁴². Certaines classes de composés peuvent également avoir une consommation changeante avec les saisons comme les antibiotiques ⁴¹. Cela obligerait à réaliser un échantillonnage fréquent et très étendu dans le temps.

Par-dessus tout ça, il y a des fluctuations de débit d'une journée à l'autre (exemple: les journées de lessive vont consommer plus d'eau et l'écart pourrait aller de -12% à +13% par rapport à la moyenne de débit quotidien ⁴¹) ainsi que les variations saisonnières (exemple : la variation par rapport à la moyenne journalière pourrait aller de -41% à +72% sur une année ⁴¹).

Se baser seulement sur la littérature antérieure pour estimer ce qui se trouverait dans les eaux usées de cet hôpital aurait été bien peu précis, car les pratiques peuvent diverger selon les régions du globe et les hôpitaux ont leur spécialité avec certains départements parfois plus ou moins développés que d'autres. Donc, il était attendu que la réalité de leurs effluents soit assez divergente de la littérature.

En outre, il est important de noter à quel point cette méthode est longue. Cela inclut le développement complet d'une méthode de quantification avec sa validation. Il serait difficile d'être précis dans les recherches étant donné de la grande variabilité de ce qui peut y être trouvé selon le pays, la spécialité de l'hôpital, etc. Donc, il faudrait chercher un très grand nombre de composés dans une matrice chargée, ce qui peut constituer en soi un défi de taille. Le temps d'échantillonnage et d'analyse nécessaire serait non négligeable également. Les erreurs analytiques de la méthode de quantification choisie s'ajoutent à l'incertitude de l'approche expérimentale, sans oublier les risques de dégradation des composés durant l'échantillonnage et le transport ⁴¹.

1.1.2 Approche théorique

L'approche théorique quant à elle consiste à estimer la concentration des composés qui se retrouvent réellement dans les effluents en se basant sur des données de consommation des médicaments sans aller directement les quantifier. Elle apporte des valeurs moyennes annuelles habituellement sans vraiment tenir compte des fluctuations des concentrations sur le court terme. Cette approche permet d'obtenir une sélection objective de composés tout en étant relativement rapide. Par contre, il y a un écart entre ce qui se retrouve sur papier et ce qui se retrouve effectivement dans les effluents. Par exemple, une partie des excrétions des médicaments se font hors de l'hôpital, après la sortie du patient. Cette fraction rejoint plutôt les eaux municipales et non hospitalières. C'est le cas des médicaments cytostatiques utilisés en oncologie : seulement 5,5% sont excrétés dans les effluents hospitaliers ⁴¹.

De plus, il y a une différence entre ce qui est prescrit par la pharmacie de l'hôpital et l'administration effective du médicament (ex : patients qui ne se conforment pas à ce qui leur a été prescrit, patients qui décèdent, etc. ⁴¹). Une certaine quantité de médicaments, bien que limitée, n'est pas utilisée et est tout simplement retournée à la pharmacie de l'hôpital pour une utilisation ultérieure ou élimination appropriée ⁴¹. La variabilité de consommation de différents composés pharmaceutiques serait d'environ 22 à 44% d'une année à l'autre selon une étude réalisée en Australie ⁴³.

L'approche théorique a finalement été retenue pour la facilité à réaliser cette étape qui ne faisait pas partie du cœur du projet, mais seulement un point de départ. Elle est utile pour éviter les coûts d'une campagne d'échantillonnage si une grande précision n'est pas nécessaire ⁴¹. Donc, une compilation des données de consommation d'un hôpital de la région sur une période de neuf mois a été analysée dans ce but. Pour évaluer le risque engendré par la présence des composés dans l'environnement, il faut considérer également la toxicité de ces derniers. L'estimation de la toxicité s'est également réalisée de façon similaire avec des données de LC₅₀ trouvées dans la littérature et un logiciel d'estimation (TEST). Cette mesure est la concentration à laquelle le composé est considéré comme causant la mort de 50% d'une espèce ⁴⁴. Les données recueillies sont les LC₅₀ provenant de tests sur la *Daphnia magna*. Le chapitre 3 expliquera plus en détail la démarche utilisée.

Ainsi, les composés déterminés les plus problématiques sont présentés dans le tableau suivant. Ce sont sur ces composés que porteront l'étude.

Tableau 1. Présentation des 10 composés à l'étude

Composé pharmaceutique	Classification
Acétaminophène	Analgésique
Baclofène	Relaxant musculaire
Carbamazépine	Antiépileptique
Cétirizine	Antihistaminique
Diclofénac	Anti-inflammatoire
Gabapentine	Antiépileptique
Prégabaline	Analgésique
Quétiapine	Antipsychotique
Sulfaméthoxazole	Antibiotique
Triméthoprim	Antibiotique

1.2 Développement d'une méthode de quantification en spectrométrie de masse

Une méthode de quantification était nécessaire au projet dans le but de suivre la dégradation des composés pendant le traitement afin de bien évaluer son efficacité. La méthode choisie est par chromatographie liquide en phase inverse couplée à la spectrométrie de masse à triple quadripôle (LC-QqQMS). Dans le cas de la quantification directe des eaux usées, la préparation a été réalisée par extraction sur phase solide (SPE) afin de nettoyer l'échantillon et le préconcentrer avant l'analyse.

La source d'ionisation était un électroébuliseur (ESI) en mode positif. Le mode positif était l'ionisation la plus favorisée pour chacun des composés à l'étude. Une préparation de l'échantillon avec SPE est importante avant la ESI, car les contaminants pourraient interférer avec le courant et diminuer le rendement d'ionisation des analytes ⁴⁵.

L'étalonnage pour la quantification des eaux usées a été fait par la méthode des ajouts dosés. Un minimum de trois étalons a toujours été utilisé pour la quantification des eaux usées. La concentration de l'échantillon sans ajout peut ainsi être calculée selon les mesures obtenues. Un étalonnage interne aurait pu être utilisé, mais il aurait été coûteux de se procurer chaque étalon interne deutéré puisque la méthode quantifie plusieurs composés. La méthode par ajouts dosés est adéquate pour une matrice complexe telle des effluents hospitaliers, puisqu'elle minimise les effets de matrice. Un grand volume par échantillon et peu d'échantillons différents ont été analysés, ce qui convenait également pour cette méthode.

Les critères de performances utilisées sont présentés dans le Tableau 1. Ces critères proviennent de la Commission européenne de l'Union européenne ⁴⁶. En plus de ces éléments, les limites de quantification ont également été déterminées pour chaque composé.

Tableau 2. Critères de validation de la méthode de quantification

Critère	Exigence
Linéarité	Coefficient de détermination linéaire (R^2) > 0,99
Précision	Écart-type relatif < 20%
Exactitude	Erreur relative < 20%

Les détails de la méthode développée sont présentés dans le chapitre 3 dans la sous-section 2.6 «Analysis by liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry» de la section 2 «Experimental methods», tandis que les performances sont détaillées dans le «Supporting information».

1.3 Bioessais avec *Daphnia magna*

Les bioessais pour évaluer la toxicité chronique avaient pour but d'évaluer la toxicité du mélange de composés pharmaceutiques choisi pour l'étude afin de prouver la pertinence de cette sélection en démontrant l'impact que peuvent avoir ces composés dans le milieu aquatique. La méthode utilisée a été développée au laboratoire du professeur Segura et peut être retrouvée en détail dans le mémoire de Killian Barry dans la bibliographie ⁴⁷. Les tests de toxicité chronique ont été réalisés sur une période de 21 jours. Les daphnies étaient exposées à 6 µg/L de chaque composé suivant : acétaminophène, gabapentine, citalopram, phénytoïne, quétiapine, prégabaline, amlodipine, dompéridone, carbamazépine, diclofénac, sulfaméthoxazole, triméthoprim, cétirizine, baclofène et donépézil. Le choix des composés à l'étude a été expliqué à la section 1.1 du chapitre 1. Ces 15 composés constituaient la sélection initiale des composés problématiques. La sélection a été réduite à 10 composés pour l'article au chapitre 3 en raison de difficultés rencontrées à valider la méthode de quantification pour certains.

Trois points de terminaison ont été étudiés : la fécondité, la mortalité ainsi que la concentration en 20-hydroxyecdysone. La fécondité a été évaluée en comptant le nombre de néonates (progéniture de la daphnie) par rapport au nombre de daphnies adultes. Pour

ce faire, à chaque changement d'eau, les daphnies étaient classées selon leur grosseur par des filtres (voir Tableau 2). Afin de suivre seulement des daphnies du même âge, les progénitures sont retirées à chaque changement d'eau.

Tableau 3. Détermination de l'âge des individus de *D. magna* selon leur grosseur

Taille	Catégorie
> 900 µm	Adulte
Entre 560 et 900 µm	Juvéniles
< 560 µm	Néonates

Pour mesurer l'influence sur la mortalité, les daphnies immobiles (ou mortes) étaient comptées à chaque changement d'eau. Les daphnies immobilisées sont estimées dans le nombre de morts puisqu'il n'y a pas de moyen facile de différencier les deux états. Puis, le métabolite a été quantifié par spectrométrie de masse.

1.3.1 Préparation des algues

Des erlenmeyers contenant de l'eau ultra pure Milli-Q®, agitateur magnétique et recouvert d'un bouchon en mousse et de papier d'aluminium sont autoclavés pendant 1h15, puis laissés à refroidir pendant la nuit. 20 mL par 1 L de solution concentrée du milieu Bold modifié 50x (Sigma-Aldrich) sont ajoutés, le milieu est inoculé avec 1 mL/100 mL d'une solution concentrée d'algue *Raphidocelis subcapita* et un bouchon en mousse et le papier d'aluminium sont remis par-dessus. Ensuite, tout est placé sous une lampe fluorescente (2000 Lux) et agité pendant 10 à 14 jours. Puis, il y a décantation pendant au moins trois jours avant de concentrer le dépôt d'algues par un facteur de 20. Les daphnies sont alimentées avec 2 mL de ce concentré chaque jour.



Figure 2. Montage de la préparation des algues

1.3.2 Éclosion des daphnies

Les ephippias (œufs) des daphnies doivent être dans des conditions favorables à leur éclosion pour ensuite pouvoir utiliser les daphnies. Le milieu de culture de l'organisme est préparé avec quatre sels inorganiques : $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ à 294,0 mg/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ à 123,3 mg/L, NaHCO_3 à 64,8 mg/L et KCl à 5,8 mg/L. La solution est oxygénée avec un bullage de 10 min avant que les ephippias soient ajoutés. Puis, ce milieu est placé sous une lumière fluorescente de 2000 Lux pendant 72h.

1.3.3 Exposition

Le milieu de culture dans lequel les daphnies baigneront durant toute la durée du test est le même que celui utilisé pour leur éclosion. Douze aquariums ont été utilisés (six pour les contrôles sans exposition et six pour les daphnies exposées aux contaminants). Dans chaque aquarium, 25 daphnies s'y trouvaient dans 2 L de milieu de culture. Les contaminants sont ajoutés aux six aquariums exposés et la même quantité de méthanol contenu dans la solution de contaminants est ajoutée aux contrôles. Tous les aquariums sont mis dans un incubateur à $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$, 600 Lux et une alternance de 16 h de lumière pour 8 h de noirceur avec un bullage léger pour oxygéner la solution. Le milieu des aquariums est changé trois fois par semaine. Lors de ce changement d'eau, c'est à ce moment que les daphnies sont passées à travers des filtres de différentes grosseurs pour les compter afin de suivre la mortalité et fécondité.



Figure 3. Montage de l'exposition

1.3.4 Quantification du métabolite

À la dernière journée d'exposition, les daphnies sont mises dans 1mL de MeOH 1% acide formique avant d'être soniquées pendant 15 minutes. Puis, 800 μ L de cette solution est mélangé avec 50 μ L d'une solution de standard interne de Makistérone A (cette solution a été purifiée selon la méthode détaillée par Venne, et al. ⁴⁸ puisque la solution est contaminée avec la 20-hydroxyecdysone. Le solvant est ensuite complètement évaporé sous flux d'azote.

La dérivation des ecdystéroïdes est importante pour faciliter l'ionisation en ajoutant un groupement oxime, ce qui permet d'améliorer la sensibilité de la quantification ⁴⁸. Afin d'y parvenir, 1 mL d'une solution de chlorhydrate d'hydroxylamine à 100 g/L est ajouté, puis placé à l'étuve à 70°C pendant 90 minutes. L'isolation des composés dérivés se fait par extraction liquide-liquide avec 1,5 mL de méthyl tert-butyl éther. L'échantillon est ensuite placé à -20 °C pour obtenir une phase aqueuse congelée et mettre de côté la phase organique. Le tout est répété deux fois. La phase organique recueillie est ensuite évaporée sous flux d'azote. 150 μ L de méthanol sont ajoutés, puis les échantillons sont prêts pour la quantification.

La quantification est réalisée par LC-MS/MS. Les paramètres de quantification des deux composés sont au Tableau 3. L'ionisation se réalise par électronébullisation en mode positif (ESI+). Pour ce qui est de la chromatographie, c'est un système UPLC Acquity qui a été

utilisé couplé à un spectromètre de masse à triple quadripôle Quattro Premier (Waters Corp.). La colonne est l'UPLC Acquity Cortecs C₁₈+, 50×2,1 mm, 1,6 µm (Waters Corp.). Le gradient utilisé est le suivant : 0-7,9 min : 5-55% B; 7,9-8 min : 55-100% B; 8-10 min : 100% B; 10-10,01 min : 100-5% B; 10,01-13 min : 5% B. Le débit de la phase mobile est de 0,5 mL min⁻¹. Le volume d'injection est de 10 µL en mode boucle partielle avec une boucle d'injection de 20 µL. La température de l'échantillonneur était de 20 °C. Le voltage du capillaire est de 2,5 kV et celui du cône est de 50V. La température de la source est de 450°C. Le flux de gaz du cône est de 50 L h⁻¹. Le flux de gaz de désolvatation est de 700 L h⁻¹. La pression de collision est de 3,0 mbar.

Tableau 4. Paramètres de quantification

Composé	Temps de rétention (min)	Énergie de collision (eV)	Ion précurseur (m/z)	Ion produit (m/z)
20E	4,8	30	478,4	316,3
Makistérone A	5,5	30	492,4	316,3

La droite d'étalonnage est constituée de six concentrations de 20E : 0, 300, 500, 750, 1000, 1200 et 1500 pg/mL. Trois contrôles qualité de 20E étaient placées dans chaque analyse : 300, 500 et 750 pg/mL. Toutes les solutions de standards sont composées de méthanol et entreposées à -20°C.

La composition des solutions utilisées pour le LC-MS/MS est présentée au Tableau 4.

Tableau 5. Composition des solutions utilisées en LC-MS/MS

Solution		Composition
Phases mobiles	A	MeOH/ACN + 0,1 % acide acétique
	B	Eau + 0,1 % acide acétique
Solvants de rinçage	Fort	Méthanol
	Faible	Eau + 0,1 % acide acétique

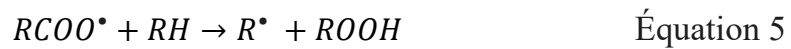
1.4 Traitement par oxydation par voie humide (OVH)

1.4.1 Fonctionnement

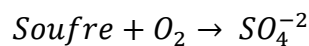
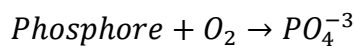
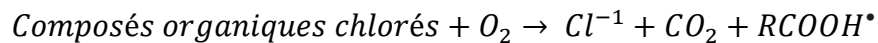
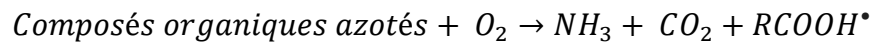
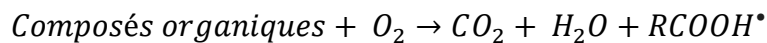
L'oxydation par voie humide (OVH) aussi connue sous le nom oxydation hydrothermale (OHT) est un traitement oxydant la matière solubilisée ou en suspension dans un échantillon aqueux. Comme mentionné à l'introduction, l'OVH fait partie des POA. Contrairement à d'autres traitements avancés tels que la déphosphatation chimique ou la filtration sur sable et charbon activé, les POA ne font pas qu'un transfert de phase de contaminants, mais une destruction ou modification des structures des molécules. Le principe de ces procédés est d'oxyder les contaminants par génération du radical hydroxyle ($\bullet\text{OH}$). Selon les techniques de cette catégorie, différents oxydants peuvent être utilisés comme l'ozone dans le cas de l'ozonation ou encore le peroxyde d'hydrogène. L'oxydant utilisé par l'OVH est l'oxygène et la source d'oxygène est l'air. C'est par oxydation et hydrolyse que les composés sont dégradés. Le procédé utilise une température élevée, donc la pression doit nécessairement l'être aussi afin de garder l'échantillon en phase liquide. Les expériences effectuées se déroulaient entre 200 et 300°C et la pression se rend jusqu'à environ 250 bar pour certains essais. Les conditions de haute température sont utilisées pour générer le radical hydroxyle, un oxydant puissant très peu sélectif qui s'attaque à presque toute matière organique contrairement aux oxydants sélectifs (ex. : ozone, chlore et dioxyde de chlore) qui ne s'attaquent en général qu'aux groupements riches en électrons⁴⁹. Ainsi, l'OVH et les autres POA ont le potentiel de bien dégrader tous les micropolluants ciblés et bien plus. C'est l'un des avantages de ces techniques : plusieurs types de polluants peuvent être traités en même temps.

Durant le procédé, les molécules sont brisées en de plus petites structures par des réactions radicalaires en chaîne. Bien que le mécanisme réactionnel du procédé ait déjà été détaillé par plusieurs auteurs^{38,50-53}, il reste très complexe et plusieurs modèles sont proposés^{54,55} parce que de nombreuses réactions peuvent avoir lieu simultanément jusqu'aux produits de dégradation pour chaque composé³⁸. En plus des réactions de co-oxydation (réactions entre un composé organique et les intermédiaires radicalaires d'un autre composé) sont

possibles, ce qui rend les réactions en OVH dépendantes de la composition de l'échantillon. Le pH va également avoir un effet (ex : habituellement les conditions alcalines vont réduire le pouvoir oxydant des radicaux libres intermédiaires ³⁸). Ci-dessous est présentée la chaîne de réactions proposée par Debellefontaine et Foussard ⁵⁰. Dans ces réactions, *R* représente une chaîne carbonée et *M* représente une espèce inerte dans le mélange réactionnel ^{51,56}.



Dépendamment de ce qui se trouvait dans l'eau à traiter initialement, il peut y avoir de l'ammoniaque provenant de composés azotés, du sulfate, etc. ³³ L'oxydation produit de l'eau, du dioxyde de carbone et d'autres composés intermédiaires puisque la minéralisation n'est généralement pas complète. Les composés sont dégradés généralement en petites molécules comme de petits acides carboxyliques, du méthanol, de l'éthanol ou de l'acétaldéhyde ³³. L'acide acétique résiste également bien à l'oxydation et se retrouvera souvent à la fin du traitement ⁵⁷. Pour cette raison, un traitement biologique est souvent couplé à la fin du procédé pour compléter cette oxydation incomplète ⁵⁸. Voici des exemples de réactions fréquentes qui se produiront durant un traitement : ³³



Le procédé utilisé à l'échelle d'essais laboratoire dans le cadre de ce projet était par « batch », c'est-à-dire que le traitement se fait de manière discontinue. Tout d'abord, l'échantillon était introduit manuellement directement dans le réacteur, puis ce dernier était refermé hermétiquement. L'échantillon était homogénéisé par une agitation de 2 min. Le chauffage est ensuite réalisé par résistance électrique jusqu'à température désirée. L'air est injecté par pompe et c'est à ce moment que débute l'oxydation de composés. Une vanne de prélèvement permettait d'échantillonner pendant le traitement. À la fin du traitement, il y a un temps de refroidissement pour retourner aux conditions initiales. Donc, le traitement se produit dans un réacteur fermé. Il n'y a pas d'entrée en continu d'échantillon. Quant au procédé industriel, il se fait typiquement en continu et est présenté dans la Figure 5. Ici, le réacteur est une colonne verticale à bulles. Le réacteur est adiabatique, la température est contrôlée par la pression. Les eaux usées (affluent) passent tout d'abord dans une série de préchauffeurs avant d'entrer à l'aide de pompes dans le bas de la colonne. Dans le bas de cette colonne s'y trouve de l'air compressé bullé constamment. L'oxydation se fait à l'interface entre les bulles et les eaux usées. Les eaux usées restent le temps désiré dans le réacteur pour atteindre les performances souhaitées. Lors du traitement, une certaine quantité de chaleur est absorbée par la vaporisation qui se passe dans le flux gazeux et de la chaleur est produite par l'oxydation des contaminants organiques. S'il y a beaucoup de matière organique dans les eaux usées, il y aura beaucoup d'oxydation ce qui causera un grand dégagement de chaleur. Après son passage dans la colonne, l'effluent chaud préchauffe l'affluent entrant dans la colonne. Dépendamment de la demande en oxygène (>15 g/L), le procédé peut être autosuffisant ce qui peut être très avantageux économiquement et énergétiquement ³³. Pour cette raison, l'OVH est souhaitable pour des effluents très chargés en matière organique, il est souvent utilisé lorsque l'effluent est trop dilué pour être incinéré, mais trop concentré pour un traitement biologique ⁵⁹. Après l'OVH, l'effluent ne peut être relâché directement dans l'environnement et subit souvent un post-traitement.

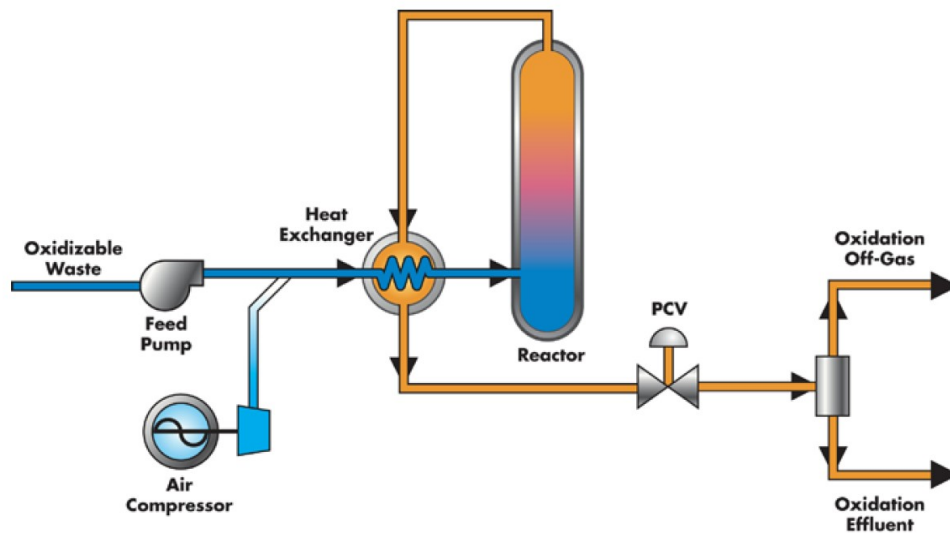


Figure 4. Réacteur industriel d'un procédé OVH en continu ³³

L'ajout de catalyseur (ex. : métaux nobles, oxydes métalliques et charbon activé) est également utilisé afin d'améliorer le taux de dégradation de la matière organique et diminuer le temps de résidence dans le réacteur ³³. Cependant, cet aspect du procédé ne sera pas étudié dans ce projet. L'OVH sans catalyseur n'est pas une technologie dépassée pour autant. Un type de catalyseur ne peut pas être le meilleur choix pour toutes les sortes d'eaux usées, ce qui nécessite beaucoup d'adaptation selon l'application ⁶⁰. De plus, Levec et Pintar concluent dans leur article qu'il pourrait être avantageux d'utiliser les deux techniques à la fois afin que la technique avec catalyseur vienne compléter seulement le traitement de l'OVH ⁶⁰.

Les coûts associés à l'OVH dépendent grandement du volume du réacteur, la demande chimique en oxygène des échantillons, la performance requise, les matériaux (certains plus résistants à un pH acide), etc.

1.4.2 Application

Plusieurs décennies ont passé déjà à apprivoiser cette technologie. Une des applications les plus connues est certainement le procédé Zimpro. Dans les années 1930, F.J. Zimmermann fonda la compagnie Zimpro (aujourd'hui Siemens Water Solutions) qui commercialisera le procédé ⁶¹. Ils ont fait la conception et construction de plus de 150 installations à travers le monde ⁶¹. À travers les années, l'OVH a trouvé un rôle utile dans le traitement des eaux usées industrielles (les procédés Zimpro, Athos et Bayer LoProx ³⁸). Plus récemment, la compagnie 3V Tech, une compagnie fournissant des solutions de traitements avancés, inclut l'OVH dans ses projets. Elle l'utilise particulièrement pour les eaux usées caustiques résultant par exemple du raffinage de pétrole et la production d'éthylène. Leur technologie se nomme « TOP® - Wet Air Oxidation ».⁶²

L'OVH est également un bon complément à des traitements par filtration membranaire. La filtration permet de retirer une très grande partie de la charge organique et l'OVH peut traiter le rétentat par la suite. Ainsi, la filtration préconcentre l'effluent qui sera ainsi mieux adapté pour l'OVH. Cela facilite aussi l'étape de se débarrasser du déchet de la filtration. Par exemple, l'OVH peut dans ces conditions atteindre un taux de minéralisation d'au moins 87% pour le traitement de produits pharmaceutiques et ainsi permettrait la décharge de tout l'effluent dans l'environnement (réglementations françaises et Convention internationale pour la prévention de la pollution par les navires) ⁶³.

CHAPITRE 2 : TESTS PRÉLIMINAIRES DE TOXICITÉ AVEC *D. MAGNA*

2.1 Tests sur la *Daphnia magna*

Des tests d'écotoxicité ont été effectués sur la *D. magna*. Elle fait partie de la centaine d'espèces de daphnies. Ces dernières sont des crustacés planctoniques entre 1 et 5 mm habitant les eaux douces à travers le monde. ⁶⁴ Ainsi, cet animal est représentatif de beaucoup de milieux aquatiques sur la planète. Elles se nourrissent par de la matière en suspension comme des algues.

La *D. magna* est une espèce très fréquemment utilisée en écotoxicité pour plusieurs raisons. Tout d'abord, sa taille est intéressante, car elle est visible à l'œil nu, ce qui la rend plus facile à étudier ⁶⁵. De plus, comme l'organisme est transparent, cela permet d'accéder à de l'information supplémentaire aux tests au microscope. Ainsi, il est possible d'observer leurs organes ou encore de voir si la daphnie est enceinte. En effet, les œufs sont placés dans la chambre à couvain située sur le dos sous la carapace de la daphnie ⁶⁴.

Ensuite, son utilisation en laboratoire est simple et peu coûteuse. Les daphnies de laboratoire sont gardées dans un type d'œuf qu'elles produisent : les ehippias. Ce sont deux œufs encapsulés dans une structure protectrice (éhippium). Il n'y aura pas d'éclosion tant que les œufs ne sont pas dans les conditions optimales. Ainsi, ils sont conservés au réfrigérateur plusieurs mois sans problème et dès que des daphnies sont nécessaires, ils sont mis dans les bonnes conditions pour l'éclosion. Trois jours plus tard, les daphnies sont prêtes à être utilisées. Même la culture des algues pour les nourrir est facile à réaliser en laboratoire ⁶⁴ : il suffit d'inoculer le milieu de culture préparé, laisser se développer les algues pendant 14 jours et de concentrer la solution obtenue après 3 jours de décantation.

Un autre avantage est l'atteinte de la maturité rapidement afin de bien suivre les effets sur le développement complet de la daphnie. Si elles sont bien nourries, les daphnies auront leurs premiers œufs entre la 5^e et 10^e journée à 20°C ⁶⁴. La croissance des daphnies est rapide ce qui permet une préparation rapide des expériences. Après un jour, l'embryon va éclore de l'œuf et restera seulement trois jours dans la chambre à couvain de la femelle avant la naissance ⁶⁴. Dans de bonnes conditions, la femelle produit une couvée d'œufs après chaque mue, c'est à dire aux 3 ou 4 jours jusqu'à la fin de sa vie (autour de deux mois en laboratoire) ⁶⁴. Donc, cela permet un suivi facile et rapide sur plusieurs générations. Aussi, chaque ponte chez la *D. magna* amène énormément d'individus à étudier (plus d'une centaine) ⁶⁴.

Un des principaux attraits des daphnies est qu'elles ont un mode de reproduction asexuée appelé la parthénogenèse ⁶⁴. Leurs progénitures sont en fait des clones de l'organisme. Cela a l'avantage de retirer toute variabilité génétique des expériences.

La popularité de cette espèce engendrée par toutes les raisons énumérées précédemment amène un engouement quant à son utilisation due à la facilité à comparer les résultats par la suite. Aujourd'hui, cet organisme est largement reconnu et utilisé. Les tests d'écotoxicologie avec la *D. magna* ont fait leur preuve depuis longtemps déjà et font partie désormais de réglementation du gouvernement canadien ⁶⁶, du gouvernement du Québec ⁶⁷ ou encore de l'Environmental Protection Agency (EPA) ⁶⁸. Les méthodes sont éprouvées depuis plusieurs années.

2.2 Quantification de la 20-hydroxyecdysone chez *D. magna* pour évaluer la toxicité des mélanges des composés pharmaceutiques

Les résultats présentés à la section 4.4 ont évalué la fécondité, survie et concentration de la 20-hydroxyecdysone (20E) sur 21 jours. La 20E, un ecdystéroïde, est un métabolite du règne animal et végétal dont la structure est représentée à la Figure 6 ⁶⁹. Ce composé a été identifié comme un possible biomarqueur de toxicité, car il est un métabolite essentiel à la survie de la daphnie. En effet, il semble jouer un rôle important pour l'organisme alors que la mue est induite par une augmentation du taux de 20E (observée au début de la période pré-mue) ⁷⁰. Quelques recherches récentes s'intéressent à ce possible biomarqueur de toxicité. Par exemple, grâce à leur utilisation, des résultats démontrent que la toxicité de la testostérone chez la *D. magna* serait expliquée par l'activité anti-ecdystéroïde associée à l'exposition de cette hormone ⁷¹. Cela démontre bien que les ecdystéroïdes régulent des procédés essentiels à la daphnie. Un autre exemple est celui du fénarimol, un fongicide agissant comme anti-ecdystéroïde, dont les effets de retardement sur la mue de la *D. magna* ont été complètement annulés par une exposition simultanée à la 20E ⁷². Plus directement, l'exposition de la femelle adulte *D. magna* par la 20E à 0.5 µM inhibe sa mue et/ou son ovulation. 53% des individus exposés n'ont eu ni mue ni ovulation et 13% ont eu une mue normale sans ovulation alors que 99% des contrôles ont eu une mue et ovulation normale ⁷³. D'un autre côté, une exposition de cadmium à la *D. magna* a déjà causé en réponse de tripler la concentration d'un ensemble d'ecdystéroïdes après 8 jours d'exposition à 20µg/L de cadmium, ce qui expliquerait les altérations de la mue chez les daphnies exposées ⁷⁴.

Cela a amené une réponse notable à la toxicité d'un possible polluant. Pourquoi cette approche métabolique est-elle intéressante? Lorsqu'un organisme est exposé à une substance capable de produire un effet toxique, il est attendu qu'il y ait une réponse métabolique. Cela permet de quantifier une réponse beaucoup plus subtile que d'autres points de terminaisons comme la mortalité. La méthode de quantification du métabolite 20E dans le cadre d'un test d'écotoxicologie pour évaluer la toxicité des contaminants émergents est une approche explorée par le laboratoire du professeur Segura (voir les publications en référence pour la méthode) ^{47,48}. Barry *et al.* avait obtenu une sensibilité du biomarqueur avec une exposition d'acide clofibrique et gemfibrozil. Une diminution significative du biomarqueur avait été observée après 21 jours à 1000 ng/L ⁴⁷. L'effet inverse avait néanmoins été observé lorsque ces deux composés ont été mélangés avec 17 autres composés à même concentration. Des interactions entre les composés sont probablement à l'origine de ce résultat, mais sont complexes et peu comprises. La quantification se fait par spectrométrie de masse (triple quadripôle) couplée à une chromatographie liquide (LC-QqQMS).

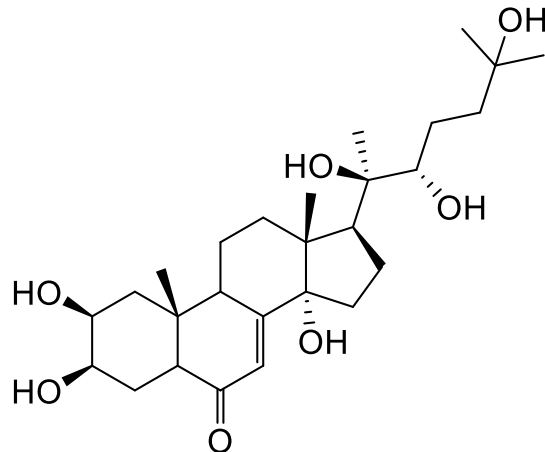


Figure 5. Structure de la 20-hydroxyecdysone (20E)

Le but de cette étude a été de démontrer la pertinence du choix des composés sélectionnés en prouvant la toxicité chronique du mélange à de faibles concentrations sur une période de 21 jours. L'hypothèse de travail a été que ces composés seraient toxiques à la vie aquatique et contribueraient à la pollution de nos rivières.

2.3 Toxicité du mélange de composés pharmaceutiques

Les résultats de cette section proviennent d'un test de toxicité chronique, c.-à-d. un test d'exposition de 21 jours à un mélange de composés pharmaceutiques à 6 µg/L. Cette concentration a été déterminée selon des données d'une publication⁷⁵ où des composés pharmaceutiques ont été quantifiés dans des effluents traités d'usines canadiennes de traitements des eaux usées. La concentration choisie se voulait représentative d'une situation extrême. Bien que la grande majorité des composés se trouvent sous 1 µg/L, certains composés ont été détectés à des concentrations bien supérieures : diclofénac (28,4 µg/L), ibuprofène (24,6 µg/L) et acide salicylique (59,6 µg/L)⁷⁵.

2.3.1. Test de survie

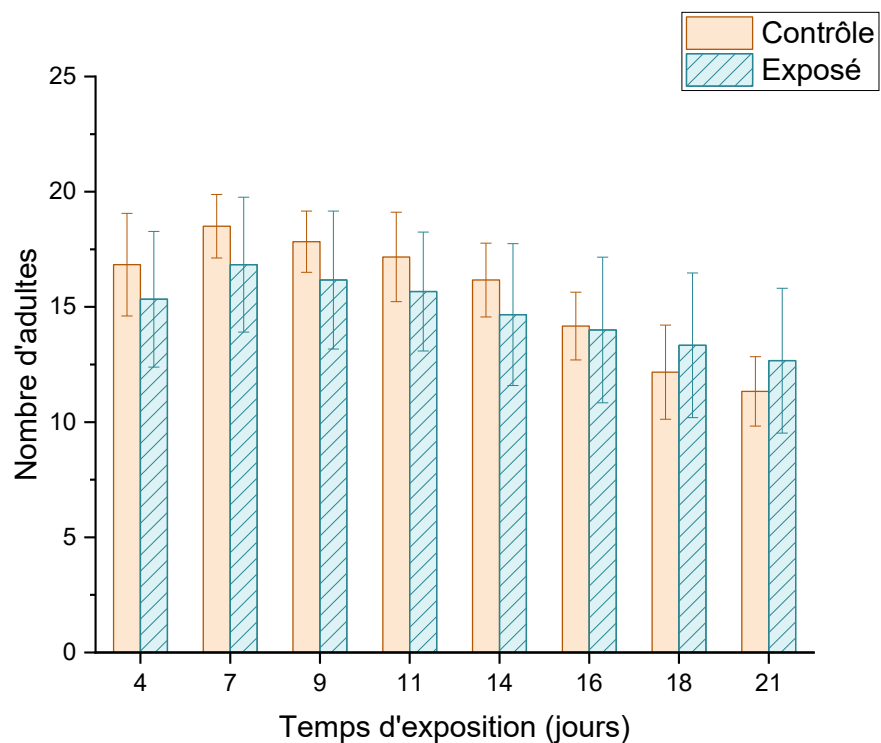
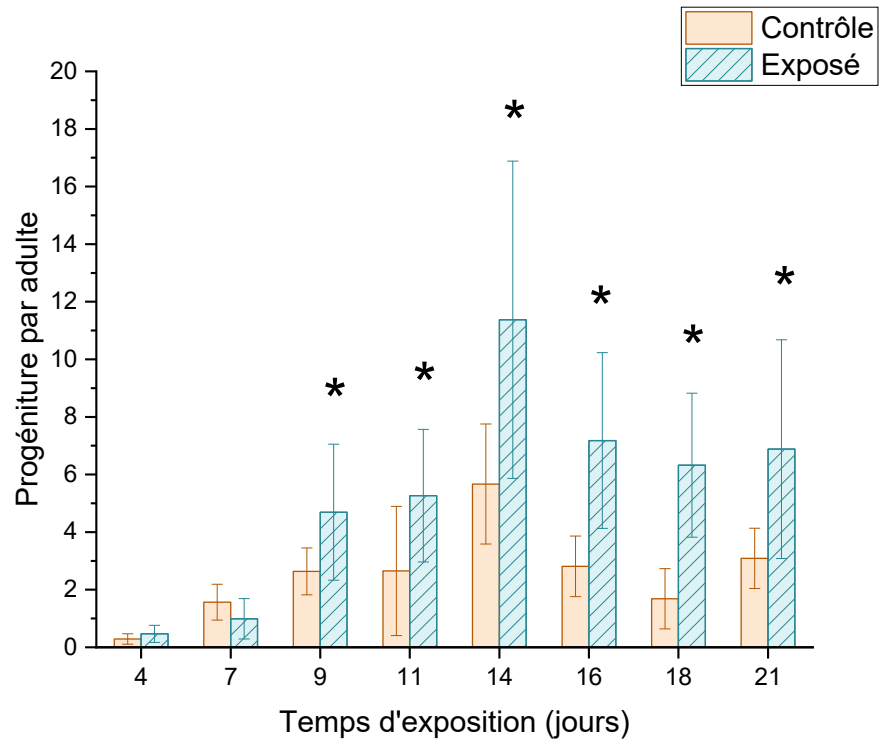


Figure 6. Suivi de la survie de la *D. magna* exposée au mélange de produits pharmaceutiques sur une période de 21 jours. Les barres d'erreur indiquent l'écart-type des mesures (n = 6). Aucune différence statistiquement significative ($p < 0.05$) n'a été observée d'après le test t de Student.

L'exposition aux 15 composés n'a engendré aucune différence significative au niveau de la survie des daphnies. Donc, aucune détection de toxicité pour ce point de terminaison. Ce résultat n'est pas très surprenant puisqu'en général les composés pharmaceutiques lors d'essais de toxicité chronique ne semblent pas avoir d'effets individuellement sur la *D. magna* jusqu'à 10 µg/L et même plus ^{76,77}. Même pour les mélanges médicaments, les concentrations environnementales ne semblent pas être problématiques pour l'instant ⁷⁸.

2.3.2 Test de fécondité

Comme observé à la Figure 8, la fécondité a été significativement augmentée à partir du jour 9 jusqu'à la fin du test. Bien que parfois une toxicité va plutôt amener une baisse de la fécondité (ex : chlorpromazine et propranolol chez *D. magna* ⁷⁹), une comparaison avec la littérature montre que ce n'est pas inhabituel pour certains organismes de répondre de cette façon. Parmi la dizaine de composés auxquels les daphnies ont été exposées, difficile de cibler précisément d'où vient cet effet et quels mécanismes sont impliqués. Il est encore plus difficile d'essayer de comprendre toutes les interactions entre les composés qui pourraient en être la cause. Une réponse adaptative appelée «hormèse de surcompensation» pourrait expliquer ces résultats. Cet effet est observé lors d'une exposition à de faibles niveaux de stress qui stimule une meilleure santé chez les organismes, une défense biologique favorable. Un exemple de ce phénomène a été observé avec la fluoxétine. Cet antidépresseur s'est avéré stimuler la ponte de la moule zébrée ⁸⁰. C'est loin d'être la première fois que cette réaction est observée plus précisément chez la *D. magna*. En effet, *Flaherty et al. 2005* ont trouvé la même réponse à ce médicament par la daphnie ⁷⁶. Cela s'explique par le fait que la fluoxétine est un inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine et peut occasionner une hausse de la biodisponibilité de la sérotonine en perturbant le système endocrinien des invertébrés. Chez ces organismes, la sérotonine est impliquée dans la régulation de l'ovogenèse, donc un déséquilibre peut occasionner un trouble de fécondité. Les résultats d'une exposition de la daphnie à de la TNT a également été attribué à cet effet après une exposition de 21 jours ⁸¹. Une amélioration de la croissance et de la reproduction avait été trouvée à de faibles concentrations (0.002-0.22 mg/L), alors que c'est l'effet inverse à des concentrations plus élevées (0.97 mg/L et plus).



* Valeurs significativement différentes ($p < 0.05$)

Figure 7. Suivi de la fécondité de la *D. magna* exposée au mélange de produits pharmaceutiques sur une période de 21 jours. Les barres d'erreur indiquent l'écart-type des mesures ($n = 6$). Les étoiles indiquent des différences statistiquement significatives ($p < 0.05$) d'après le test t de Student.

2.3.3 Quantification de la 20-hydroxyecdysone

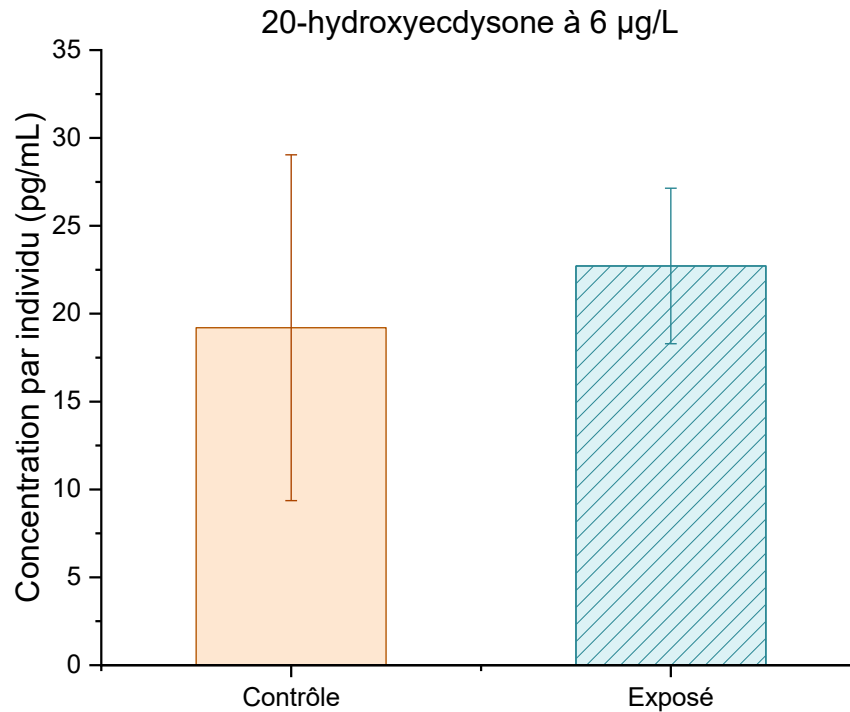


Figure 8. Quantification de la 20-HE après une exposition au mélange de produits pharmaceutiques sur une période de 21 jours. Les barres d'erreur indiquent l'écart-type des mesures ($n = 3$). Aucune différence statistiquement significative ($p < 0.05$) n'a été observée d'après le test t de Student.

Au niveau des taux de 20E chez les daphnies après exposition, il n'y a pas de démonstration d'effet négatif des composés chez la *D. magna* comme présenté à la Figure 9. Ce possible biomarqueur ne démontre aucun effet pour cette expérience même si la concentration étudiée est bien au-delà de ce qui se trouve dans les eaux de surface canadiennes ($< 1 \mu\text{g/L}$)⁷⁵. La première possibilité est que le cocktail de médicaments n'est pas toxique à cette concentration. Évidemment, ce type de test ne peut qu'évaluer l'effet combiné des contaminants. Cela n'amène aucune information sur l'apport individuel de chaque composé. Comme mentionné plus haut, il a déjà été observé par *Barry et al.* qu'un mélange

de composés annule les effets de certains composés ⁴⁷. Les interactions simultanées entre les différents produits pharmaceutiques pourraient bloquer les mécanismes du médicament menant à un effet néfaste ou tout simplement engendrer une réaction contraire chez l'organisme et ainsi atténuer les effets observés.

En définitive, les tests d'écotoxicité sur la *D. magna* de 15 contaminants à 6µ/L n'ont démontré aucun effet quant à la survie et sur le métabolisme de la 20E. Une réponse qui pourrait s'apparenter à une hormèse de surcompensation a toutefois été notée pour la fertilité, ce qui pourrait cacher une perturbation de l'organisme. Ainsi, les tests ont montré que les composés sélectionnés pourraient perturber la reproduction des daphnies à court terme sur une génération. Cela démontre que le choix de composés était pertinent. Par contre, davantage d'études multigénérationnelles sont nécessaires pour étudier les effets d'exposition à long terme. De plus, aucune conclusion ne peut être tirée sur la toxicité individuelle de chaque composé. Pour avoir une meilleure idée de la toxicité réelle, il faudrait également d'autres expérimentations incluant plusieurs espèces différentes.

CHAPITRE 3 : ÉLIMINATION DE COMPOSÉS PHARMACEUTIQUES DES EFFLUENTS HOSPITALIERS PAR OXYDATION PAR VOIE HUMIDE

Boucher V., Beaudon M., Ramirez P., Lemoine P., Volk K., Yargeau V., Segura P. A. (2021) Comprehensive Evaluation of Non-Catalytic Wet Air Oxidation as a Pretreatment to Remove Pharmaceuticals from Hospital Effluents. *Environmental Science: Water Research & Technology* 7:1301-1314. doi: 10.1039/d1ew00203a

Résumé

Cet article évalue la pertinence et la faisabilité économique d'une solution comme l'oxydation par voie humide pour traiter les eaux usées des hôpitaux. L'étude tente de répondre à la problématique du relâchement de composés pharmaceutiques dans l'environnement dû à l'inefficacité des traitements des eaux usées municipales actuellement utilisés. Dix composés ont été sélectionnés comme étant les plus problématiques d'un hôpital local pour ensuite suivre leur dégradation au cours du traitement OVH. Plus de 95% des composés initiaux ont pu être dégradés avec les paramètres optimisés et ce même à faible DCO ($< 600 \text{ mg O}_2 / \text{L}$). Par contre, le traitement serait très demandant au niveau énergétique selon l'analyse technico-économique et le débit nécessiterait de grosses installations. La préconcentration des eaux usées hospitalières juste avant l'OVH semble être la piste de solution la plus évidente. Les tests d'écotoxicité ont aussi démontré une toxicité augmentée après traitement probablement dû aux produits de dégradation.

Contribution de l'auteur

L'article «Removal of pharmaceuticals from hospital effluents by wet air oxidation» a été soumis le 18 mars 2021 au journal *Environmental Science: Water Research & Technology* (Royal Society of Chemistry). Il a été publié le 25 mai 2021 sous une autre version. L'auteure principale, Valérie Boucher, a rédigé toutes les sections sauf celles portant sur les essais d'écotoxicité. Ces sections ont été rédigées par Pedro A. Segura, Kalyssa Volk et Viviane Yargeau. Elle a également effectué toutes les manipulations et analyses

nécessaires aux résultats présentés dans l'article excepté les tests écotoxicologiques ainsi que l'étude technico-économique. Par contre, elle a réalisé plusieurs tests préliminaires d'écotoxicité sur la *D. magna* et l'analyse technico-économique a été réalisé entièrement à partir des résultats de l'auteure. Elle a participé activement à toutes les discussions d'orientation du projet en présence de son directeur de recherche, Pedro Segura et/ou des collaborateurs externes.

Removal of Pharmaceuticals from Hospital Effluents by Wet Air Oxidation

Valérie Boucher^a, Margot Beaudon^a, Pedro Ramirez^b, Pascal Lemoine^b, Kalyssa Volk^c, Viviane Yargeau^c, Pedro A. Segura^{a,}*

^a Department of Chemistry, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Canada

^b Centre de transfert technologique en écologie industrielle (CTTÉI), Sorel-Tracy, Canada
(CTTÉI), Sorel-Tracy, Canada

^c Department of Chemical Engineering, McGill University, Montréal, Canada

KEYWORDS

advanced oxidation process; micropollutant; emerging pollutants; techno-economic analysis; toxicity; bioassays

Abstract

Removal of pharmaceuticals from wastewater using chemical processes is a promising solution to mitigate pollution in drinking and surface waters. Wet air oxidation (WAO) is a highly efficient advanced oxidation process that uses air and water at high temperatures and pressures to remove high concentrations of organic compounds from various wastes. However, the elimination of pharmaceuticals in hospital wastewater with a low organic content by WAO has not yet been sufficiently explored. The objective of the present study was to evaluate both the efficiency and costs of WAO treatment to remove pharmaceuticals present in hospital effluents. First, a laboratory-scale WAO batch unit was used to optimize oxidation temperatures and residence times to achieve high elimination of ten pharmaceuticals of interest in spiked deionized water. Then, optimal conditions were applied to treat hospital wastewater effluents. Results showed that even at low chemical oxygen demand values ($< 600 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$), WAO at 290°C with 15 min residence time could remove between 95.0 % and 99.1 % of the target compounds spiked at $10 \mu\text{g L}^{-1}$ in hospital wastewater. Acute toxicity bioassays using the crustacean *Daphnia magna* and the bacterium *Aliivibrio fischeri* showed that the toxicity of hospital wastewater increased after WAO treatment, due to the generation of transformation products. However, since the intended use of WAO is as pretreatment for hospital effluents before municipal water treatment, it is not yet clear if WAO treated effluents could affect bacteria in activated sludge. The study included a techno-economic analysis to evaluate capital expenditures (CAPEX) and operational expenditures (OPEX) of an industrial-scale WAO unit to remove pharmaceuticals from the wastewater effluent of a local hospital. This analysis demonstrated that CAPEX for an 86 L min^{-1} WAO industrial-scale unit was \$ 2.35 M (in Canadian dollars), while OPEX was \$ 1.09 M, which corresponds to a relative price of \$ 27 per m^3 . Costs might be reduced by employing a preconcentration unit to increase hospital effluents chemical oxygen demand in smaller volumes which could also make the process autothermal while reducing investment and operating expenses.

Introduction

Over the past few decades, the occurrence of pharmaceuticals in the aquatic environment has been of increasing concern. A growing number of studies have shown that these micropollutants may have adverse effects on aquatic fauna and flora, and possibly on human health¹⁻⁴. For example, male fathead minnows exposed to ethinylestradiol at 4.0 ng L⁻¹ for 172 days posthatch did not develop testicular tissue¹ while diclofenac (0.5 µg L⁻¹ for 96h) caused oxidative stress on zebrafish⁵. In terms of human health, evidence of the adverse effects caused by chronic environmental exposure to pharmaceuticals seems less obvious despite the fact that these emerging contaminants are often detected in drinking water⁶. In fact, the World Health Organization (WHO) affirmed that the concentrations currently detected are unlikely to cause detrimental effects on human health⁷. Nonetheless, research on this subject continues as a recent study concluded that human neuronal cells exposed to a mixture of psychoactive pharmaceuticals composed of fluoxetine, venlafaxine, and carbamazepine, at relatively low concentrations (10 to 100 µg L⁻¹) could modify significantly the expression of genes and proteins associated with neurological disorders such as autism and Alzheimer's⁸. Another reason to be concerned by pharmaceuticals is that the presence of antibiotics in water bodies, even at low concentrations, could contribute to the natural selection of resistant bacteria⁹⁻¹¹.

Despite all of this, pharmaceuticals are of great value to society due to their importance for human health. Pharmaceutical consumption has increased in the last decades because of diverse factors such as aging and increase of the population, changes in clinical practices, discovery of new pharmaceuticals, etc.¹². For example, between 2000 and 2015, the Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) countries almost quadrupled their consumption of cholesterol-lowering drugs and nearly doubled their consumption of antihypertensives, antidiabetic, and antidepressant drugs¹³. Thus, several drugs that may present adverse effects for the environment are used more and more frequently. Contrary to veterinary compounds, pharmaceuticals will not be denied of market access due to environmental concerns; in fact, the risk-benefit analyses carried by this industry hardly ever include pharmaceutical environmental impact^{14, 15}.

Pharmaceuticals enter the environment principally via municipal wastewater as they are primarily excreted via urine and feces, either unchanged or as metabolites ¹⁶. Indeed, many pharmaceuticals are now detected in diverse water bodies and their concentrations are expected to increase over time ¹⁷⁻¹⁹. Thus, the elimination of pharmaceuticals in municipal wastewater is one of the most studied solutions to mitigate the occurrence of these micropollutants in the environment. However, conventional primary and secondary water treatment processes do not remove completely these micropollutants in municipal wastewater ^{20, 21}. These processes are effective in removing pathogens, nutrients and suspended matter but are not designed to remove pharmaceuticals. The removal percentage of pharmaceuticals varies significantly and depends on the substance observed and the treatment used. For example, ibuprofen is usually eliminated at more than 75% while the elimination of diclofenac varies between 0 and 90% ²⁰. Therefore, important quantities of pharmaceutical residues reach the environment because of inadequate wastewater treatment. Moreover, pharmaceuticals that have been removed by primary and secondary treatment processes can still end up in the environment. Compounds bound to municipal sludge can become bioavailable in soil or reach groundwater by leaching from agricultural lands when used as fertilizers or after residing enough time in landfills ²².

Hospitals are considered a major contributor to this problem and indeed, ²³ reported that their contribution to the content in pharmaceuticals and personal care products of municipal wastewater can be as high as 59%. In many cases, hospital effluents have higher concentrations of pharmaceuticals than municipal wastewater ²⁴, and they are also known to be an important source of antibiotics and antibiotic resistance genes in the environment ^{25, 26}. Therefore, hospital effluents can contribute significantly to the occurrence of micropollutants in sewage. For instance, a study in Italy showed that, in average, between 11% to 67% of the concentrations of 16 pharmaceuticals found in a municipal influent of a city with a population of 120000 came from the effluents of one hospital with 900 beds ²⁷. Depending on the size of the hospital and the composition of its effluents, treating hospital wastewater before they reach wastewater treatment plants seems a viable option to reduce inputs of pharmaceuticals in the environment ²⁷. Also, adding an on-site hospital wastewater treatment could be beneficial in slowing down the development of antibiotic

resistance in microorganisms. Such treatment could be beneficial for both the environment and society where, in OECD countries, an additional USD 10000 to 40000 is spent by hospitals to treat a patient infected by antimicrobial-resistant microorganisms ¹³.

To enhance the removal of pharmaceuticals during wastewater treatment, several tertiary treatments have been proposed, such as advanced oxidation processes (AOP) ²⁸. Unlike secondary treatment processes, AOPs remove organic contaminants by oxidation through the generation of hydroxyl radicals ($\bullet\text{OH}$), which are strong oxidants known to be effective against a wide range of organic pollutants ²⁸. To the authors' knowledge, among the diverse AOPs used for treating wastewater, wet air oxidation (WAO) remains one of the least studied up to date.

WAO uses water near but below the critical point of water (374 °C and 218 atm) combined with an oxidant, usually air, to oxidize organic compounds. In these conditions, organic compounds are broken down into smaller structures by a series of oxidation reactions set out by the presence of dissolved oxygen ²⁹. WAO is very effective to degrade organic compounds and removal rates above 99 % in industrial wastewater have been reported for contaminants such as benzene and xylene ²⁹. WAO is suitable for effluents heavily loaded with organic matter, more precisely for effluents that are too diluted to be incinerated but too concentrated for biological treatment ³⁰. Moreover, WAO tends to become autothermal as this highly exothermic process requires little external energy input for chemical oxygen demands (COD) above 20000 mg O₂ L⁻¹ ³¹. In that regard, WAO is an interesting alternative to incineration which might require a high energy-consuming dehydration stage. Also, WAO is considered a green process because there are no emissions of NO_x, SO₂, HCl, dioxins or furans ²⁹. However, the performance of WAO in treating effluents with low COD, such as hospital waters, remains unknown. Previous works have analyzed the performance of WAO for the treatment of pharmaceutical industry wastewater ^{29, 32, 33} but, to the authors' knowledge, the removal of pharmaceutical compounds in hospital wastewater by WAO has not yet been studied.

The objective of the present work was to determine if WAO could be applied efficiently and economically as a pretreatment to eliminate pharmaceuticals from hospital effluents

before being sent to the municipal sewer system. A series of tests with a batch WAO reactor was conducted to find the optimal oxidation temperature and residence time for a quasi-total elimination of 10 target pharmaceutical compounds in both spike deionized water and hospital wastewater. These experimental results allowed then the calibration of the CAPEX-OPEX estimation model for an industrial-scale unit under optimal reaction conditions.

3.1 Experimental methods

3.1.1 Chemicals and reagents

All pharmaceuticals (acetaminophen, gabapentin, quetiapine, pregabalin, carbamazepine, diclofenac, sulfamethoxazole, trimethoprim, cetirizine and baclofen) were purchased from Sigma-Aldrich Canada (Oakville, ON). Methanol (MeOH), water and formic acid were Optima LC/MS grade and were obtained from Fisher Canada (Ottawa, ON).

Stock solutions of each pharmaceutical were prepared in MeOH or water at 1000 mg L⁻¹. Stock solutions prepared in water or MeOH were stored, respectively, at 4°C and -20°C. The solutions were renewed at least every six months.

3.1.2 Selection of target pharmaceuticals

The hospital part of the study is located in the province of Quebec, Canada, has 166 beds and serves a population of about 51 000. To identify which pharmaceuticals should be targeted for WAO removal studies, a risk quotient was calculated for the most consumed compounds according to the hospital's inventory. Since the risk of a compound is determined by both exposure and hazard, the risk coefficient used here includes ecotoxicological and hospital pharmaceutical consumption data.

To evaluate potential exposure, the mass of pharmaceuticals (in kg) rejected in wastewater was calculated using the hospital's pharmaceutical consumption data for a 9-month period (March 5th to December 9th, 2017). The information received contained the number of units

and mass of active ingredient for each pharmaceutical in the hospital's inventory. Percentages of pharmaceuticals excreted unchanged, found in DrugBank ³⁴ or product monographs, were used to estimate the mass of each pharmaceutical discharged in the hospital effluents. Finally, concentrations of pharmaceuticals in the hospital effluents were calculated using an average daily water consumption per bed (420.8 L) in Québec ³⁵.

To determine hazard for each compound, median lethal concentration (LC₅₀) data (in mg L⁻¹) for *Daphnia magna* were obtained using the Toxicity Estimation Software Tool (T.E.S.T.), a program developed by the United States Environmental Protection Agency to estimate ecotoxicity values ^{36, 37}. When the software could not calculate LC₅₀ values, experimental values were used.

Equation 1 below describes how the risk quotient was calculated:

$$Risk\ quotient = \frac{Estimated\ concentration\ of\ pharmaceutical\ in\ hospital\ effluent}{LC_{50}\ Daphnia\ magna\ 48h} \quad (Eq.1)$$

3.1.3 Sampling and preparation of hospital wastewater for quantification of target pharmaceuticals

Samples of hospital effluents were collected at a discharge point from the hospital to municipal sewers on three different dates (February 8th, June 26th, and June 27th, 2019). First, suspended particles in wastewater samples were removed using 1.2-µm pore size hydrophilic glass fiber filters and then 0.45-µm pore size hydrophilic mixed cellulose ester membrane filters both made by MilliporeSigma (Burlington, MA). Then, the pH of samples was adjusted to 6.5 with NaOH 0.1 N or HCl 0.1 N and disodium ethylenediaminetetraacetate dihydrate (200 mg L⁻¹) was added to improve extraction recoveries. Samples were divided in 6 subsamples of 200 mL each and the target analytes were spiked into the subsamples at different concentrations (0, 25, 50 and 75 µg L⁻¹) according to the standard additions method. Next, the subsamples were extracted by solid-phase extraction. The cartridges used were Strata-X-CW polymeric weak cation

exchangers (Phenomenex) with a particle size of 33 μm , a sorbent mass of 200 mg and a cartridge volume of 6 mL. Before extraction, cartridges were conditioned by adding successively 5 mL of ACN-MeOH (1:1, v/v) and then 5 mL of water at pH 6.5. After loading the subsamples, cartridges were washed with 2×5 mL of water at pH 6.5. If analysis could not be done the same day, cartridges were dried, wrapped in aluminum foil and stored at -20°C until analysis. Elution was performed with 2×2.5 mL 5% NH_4OH in ACN-MeOH (1:1, v/v). Eluates were evaporated under a gentle nitrogen flow and then reconstituted to 400 μL with H_2O -MeOH (92:8, v/v) prior to analysis by liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry (LC-QqQMS).

3.1.4 WAO tests with spiked deionized water samples

WAO experiments with spiked deionized water samples were performed in a batch reactor model Cellule 2646 1000 made by TOP Industrie (Vaux le Pénil, France). The reactor has a volume of 150 mL and can withstand pressures and temperatures of up to 300 bar and 350°C , respectively. For each test, a fixed volume of spiked water is added to the reactor, then air is purged with nitrogen to create an inert atmosphere. The heating system is then set at the desired temperature and once this value is reached, a fixed amount of air (compressed to 140 bar) is injected to initiate the oxidation process. This study performed nine different tests to optimize WAO operating conditions, first, a temperature range test where samples were taken at eight different temperatures between 100°C and 300°C and then, three tests at 200°C , 250°C and 300°C where samples were taken at eight different times between 5 min and 60 min of residence time. Finally, three tests at 275, 290 and 300°C with 20 min residence time and two tests at 260°C and 275°C with 30 min residence time were performed. For these optimization tests, initial concentration of each target pharmaceutical was $1500\ \mu\text{g L}^{-1}$. After completing the tests, samples were refrigerated at 4°C until analysis by LC-QqQMS to measure the percentage removal of target pharmaceuticals.

3.1.5 WAO tests with spiked hospital wastewater samples

WAO tests with samples collected on January 27, 2020 were performed with a HA1001 model batch reactor manufactured by TOP Industrie. For each test, a sample volume of 150 mL was spiked with a concentrated pharmaceutical mixture to have the desired concentration ($1500 \mu\text{g L}^{-1}$ or $10 \mu\text{g L}^{-1}$) and then introduced in the reactor; air is purged with nitrogen to create an inert atmosphere. A heating ramp ($3 \text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ beginning at $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$) was then applied until reaching the target temperature and right after this, air (compressed to 140 bar) was injected in the reactor to start oxidation. WAO tests were performed at fixed values of temperature and residence times and at the end of the test, samples were collected and then frozen to $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ until analysis. Treated samples did not require further preparation and were injected directly into the LC-QqQMS instrument after thawing.

3.1.6 Analysis by liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry

Quantification of the target pharmaceuticals was performed by LC-QqQMS. Two instruments were used and most of the samples were quantified using a LC-QqQMS instrument consisting of a Quattro Premier mass spectrometer coupled to an Acquity ultra-performance liquid chromatograph, both manufactured by Waters (Milford, MA). The other LC-QqQMS instrument used was a Xevo TQ-S micro, also manufactured by Waters.

For both LC-QqQMS systems, chromatographic conditions were identical. The column was an Acquity UPLC HSS T3 ($2.1 \times 50 \text{ mm}$, $1.8 \mu\text{m}$) from Waters. The mobile phase was constituted of 0.1% formic acid in H_2O as solvent A and 0.1% formic acid in MeOH as solvent B and its flow rate was 0.5 mL min^{-1} . Wash solvents for the needle and the injection port are 900 μL of eluent A and 300 μL of eluent B. The elution gradient was: at initial time, 3% of solvent B; at 1 min, 3% B; at 13 min, 65% B, at 15 min, 67% B, at 16 min, 100% B; at 20 min, 100% B; at 21 min, 5% B; at 25 min, 5% B. The injection volume was 20 μL in full loop mode.

For both systems LC-QqQMS, mass spectrometry conditions were identical except for MRM transitions (Tables 11 and 12, Supplementary Information). Ionization was done by electrospray in the positive mode (ESI+). ESI source parameters were: source gas N₂, flow rate 0.5 mL min⁻¹; capillary voltage 1 kV; source temperature 150°C; desolvation temperature 500°C; cone gas flow 50 L Hr⁻¹. Analysis was done using multiple reaction mode (MRM). Masslynx software was used for data acquisition and QuanLynx software was used for all the data processing. The mean smoothing method was used for integration of MRM peaks. Method performance and quality control information are found in the Supplementary Information (Tables 13, 14, 15 and Section SI-1.2)

3.1.7 Toxicity bioassays

Two bioassays, the first based on immobilization of the crustacean *Daphnia magna* after 48 h of exposure and the second on the inhibition of bioluminescence of the bacterium *Aliivibrio fischeri* after 5 min of exposure were carried out to measure changes in sample toxicity before and after various levels of WAO treatment.

The acute immobilization bioassay using *D. magna* was based on the OECD Guideline 202³⁸ and it was carried employing the Daphtoxkit F magna microbiotest from EBPI (Burlington, ON). In this microbiotest, neonates are obtained from ephippia instead of stock cultures. Median effective concentrations (EC₅₀) are determined by fitting data of the percentage of immobilized daphnids after 48 h as a function of volume percentage of test sample with a dose-response model. Additional details on the protocol are found in the Supplementary Information (Section SI-1.3)

The *A. fischeri* acute bioluminescence inhibition bioassay was performed using the ISO 11348-1:2007 method as a basis and following the testing procedures provided with the testing kit. Briefly, acute toxicity was measured with a testing kit purchased from EBPI containing all necessary solutions and reagents to perform the assay. Toxicity was determined by the decrease in bioluminescence from *A. fischeri* and was measured by the Microtox® M500 analyzer (Strategic Diagnostics Inc.) in light intensity. The light intensity

values used to determine the 20% effective concentration (EC_{20}) were measured after 5 minutes of incubation time. Toxicity results are presented as volume percentage of the sample required to cause an effect in 20% of the luminescent bacteria. Additional details on the protocol are found in the Supplementary Information (Section SI-1.4).

3.1.8 Techno-economic analysis

The techno-economic analysis was based on an industrial WAO system for the treatment of hospital waters by using a semi-theoretical methodology developed by the Centre de transfert technologique en écologie industrielle (CTTÉI)³⁹. This methodology uses experimental results of chemical oxygen demand (COD) and elimination of pharmaceuticals in a batch reactor to estimate a plausible reaction performance at industrial scale in continuous mode. Then, a process flow diagram is generated with Prosim version 3.6, a process simulation software developed by ProSim Inc. (Labège, France). The related process simulation is calibrated with the estimated performance. Then, the mass and energy balances calculated with the simulation results feed the capital expenditures (CAPEX) and operational expenditures (OPEX) models allowing a first economic assessment of the process. It is worth noting that this is an early-study assessment with a great price deviation that can only be narrowed with further detailed engineering studies. Figure 10 shows the process flow diagram of the WAO process for pharmaceutical degradation in Prosim.

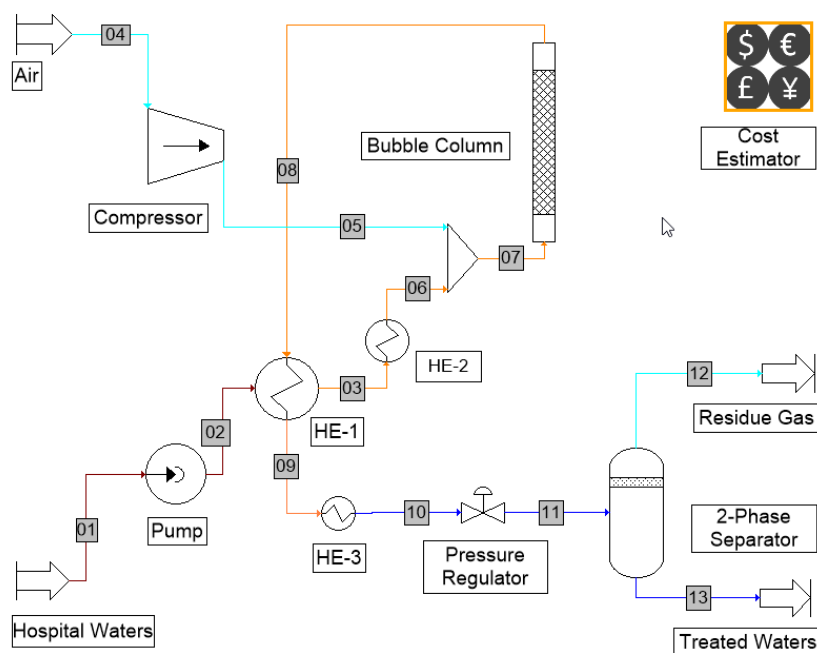


Figure 9. Process flow diagram for removal of pharmaceuticals in hospital wastewater using a continuous WAO reactor.

First, a liquid pump increases the pressure of the hospital water stream to approximately 90 bar, avoiding excessive vaporization inside the reactor. Then, HE-1, a tube and shell exchanger that uses the heat released by the exothermic reaction, increases the temperature of the liquid stream to 265 °C. HE-2, an exchanger that uses either electrical power or natural gas, provides the additional heating requirement to obtain a stream at 290°C and 90 bar, which are the optimal temperature and pressure settings for this specific WAO process. Simultaneously, a compressor allows the injection of air at the bottom of the bubble column reactor while ensuring a bubble regime flow with a uniform distribution of oxygen through the liquid phase ³³. The process simulation model considers a moderate factor of 1.1 for the excess of air, an assumption to be validated through pilot testing in a further project stage. Next, the treated water stream flows from the top of the column to HE-1 to heat the inlet liquid stream. After then, HE-3, an exchanger such as a vapour-compression refrigeration device, decreases the temperature of the treated water stream below 50°C followed by a pressure regulator that allows to stock the treated water and air mixture inside

an atmospheric separator. Finally, the offgas is released to the atmosphere while the treated water stream is sent to the municipal wastewater station for further treatment.

The experimental plan included eight preliminary kinetic tests with several residence times at a temperature of 290°C according to optimization results. The assumptions for the process simulation and the CAPEX-OPEX model are presented in Table 5 and 6.

Tableau 6. Process simulation assumptions for the estimation of the CAPEX-OPEX for the removal of pharmaceuticals in hospital wastewater by WAO.

Parameters	Assumption	Comments
Flow rate	86 L min ⁻¹	In the province of Quebec, the water consumption per hospital is estimated between 420.8 and 4665.8 L day ⁻¹ per bed ³⁵ . The value used in the model corresponds to the lower range of expected flow rate for 166 beds.
Total COD in hospital waters	1400 mg O ₂ L ⁻¹	Maximum COD value for typical hospital effluents according to literature ^{40, 41}
Total pharmaceutical concentration	150 µg L ⁻¹	Assuming a conservative value of about 15 µg L ⁻¹ for each of the ten target pharmaceuticals. Such value is conservative considering that concentrations higher than 50 µg L ⁻¹ have been detected in hospital effluents for single pharmaceutical ²³ .
Excess air factor	1.10	Presumption of satisfactory performance of an industrial bubble column with this excess factor; to be validated with pilot testing.
Reaction conditions (Temperature and residence time)	290°C and 15 min	Optimal conditions for temperature and residence time obtained from the results of WAO experiments described in the present study.
Operating pressure	87 bar	Pressure capable of limiting the vapour fraction in the column to 5%.
Organic load reduction	80% - 100%	According to COD reduction and removal of pharmaceuticals observed in the present study.
Model molecules	Glucose and acetaminophen	Glucose was chosen to model the organic load and acetaminophen for the pharmaceutical content given their availability in the software's thermodynamic database.
Thermodynamic model	Non-random two-liquid (NRTL)	According to CTTEI's experience for this specific type of process.

Tableau 7. CAPEX-OPEX assumptions for the removal of pharmaceuticals in hospital wastewater by WAO. Currency is in Canadian dollars (CAD).

Parameters	Assumption	Comments
Methodology	Functional modules +/- 50%	Preliminary price estimates (order of magnitude) from early studies and without engineering drawings.
Operating time	7920 h per year	24 h per day - 330 days per year - 35 days for maintenance.
Project life	15 years	To estimate the depreciation cost.
Exchange rate	1.5 CAD per EUR	Currency conversion needed as available price models are in euros.
Power fees	CAD 0.05 per kWh	Local power utility fee for industries.
Natural gas fees	CAD 0.25 per m ³	Average market price of natural gas in Québec taken from a 2019 market survey.
Labour	Technician: CAD 40 per h Engineer: CAD 70 per h	Labour fees taken from a 2019 market survey (CTTÉI). This study considers three technicians at 1/3 of the time and one engineer at 1/4 of the time.
Materials	Conventional steel (low pressure and clean fluids). Stainless steel (high pressure and dirty fluids). No corrosion resistance required due to low chloride content in tested samples.	
Other data	Duty free: no importation costs included. Estimates for a temporary (early) civil construction.	

3.2 Results and discussion

3.2.1 Selection of compounds

The consumption list of pharmaceuticals from the selected local hospital initially contained 70 different compounds for a total of 170.71 kg consumed between March 5th to December 9th, 2017 (Table 16, Supplementary Information). From this list, metabolization percentages were used to estimate the amount of each pharmaceutical present in the hospital effluents. After that, only the top 25 compounds were considered, since the other compounds represented less than 1 % of the total mass discharged by the hospital. Estimated concentrations of excreted pharmaceuticals in the effluents (Table 17 Supplementary Information) were then divided by the median lethal concentrations (LC₅₀) for *Daphnia magna* to determine risk quotients with Eq. 1 (Table 7). Unfortunately, some compounds were eliminated from the risk coefficient list due to technical reasons. For example, phenytoin and metformin, which were ranked among the top 25 compounds with high-risk quotients, were rejected due to inadequate LC-QQQMS method validation for these compounds. Some compounds were also removed for lack of metabolism or ecotoxicological data, e.g., docusate, allopurinol and thiamine. Finally, four compounds (carbamazepine, diclofenac, sulfamethoxazole and trimethoprim) were added to the list in order to compare the results with previous studies on elimination of pharmaceuticals by other AOPs. The ten compounds selected are presented in Table 7.

Tableau 8. Target pharmaceuticals selected according to their risk quotient. Carbamazepine, diclofenac, sulfamethoxazole and trimethoprim were added for comparison purposes.

Pharmaceutical	Type	Consumed mass (kg)	Excreted mass (kg)	LC ₅₀ ^a (mg/L)	Risk Quotient ($\times 10^{-3}$)
Acetaminophen	Analgesic	105.22	3.16	38.40	4.30
Baclofen	Muscle relaxant	0.045	0.04	42.38	0.05
Carbamazepine	Anticonvulsant	N.A.	N.A.	2.06	N.A.
Cetirizine	Antihistaminic	0.039	0.02	4.89	0.25
Diclofenac	Anti-inflammatory	N.A.	N.A.	4.19	N.A.
Gabapentin	Antiepileptic	1.84	1.84	37.07	2.60
Pregabalin	Analgesic	1.48	1.45	35.09	2.15
Quetiapine	Antipsychotic	1.70	0.08	32.00	0.14
Sulfamethoxazole	Antibiotic	N.A.	N.A.	5.69	N.A.
Trimethoprim	Antibiotic	N.A.	N.A.	23.23	N.A.

^a Values predicted by T.E.S.T. software, except for quetiapine (Pharmascience, 2019). N.A.: Not available.

3.2.2 Quantification of target pharmaceuticals in hospital wastewater

Results of the quantification of target pharmaceuticals in hospital effluents are shown in Figure 11. Only five out of the ten selected compounds were present at least one of the three collected samples. Baclofen, carbamazepine, gabapentin and pregabalin were not quantified in any samples, even if their limits of quantification (LOQ) were relatively low, 5.4 ng L⁻¹, 1.7 ng L⁻¹, 6.4 ng L⁻¹, and 26 ng L⁻¹, respectively (Table 14). Unfortunately, acetaminophen could not be quantified in the samples using the standard additions method. The concentration of the target pharmaceuticals varied substantially between both compounds and sampling times. For example, quetiapine and sulfamethoxazole were only observed in the sample collected on February 8th. On the other hand, diclofenac was not

observed in that sample but was observed on those collected on June 26th and June 27th with a difference of $\approx 48 \text{ ng L}^{-1}$ between these two days. As for trimethoprim, it was detected on both February 8th and June 27th samples, but with a difference of $\approx 80 \text{ ng L}^{-1}$. Such high variability in concentration data is in agreement with a previous study on pharmaceuticals in hospital effluents in Italy, showing differences of more than 50% between summer and winter values for some compounds and less than 5% for others ²⁵. Results obtained were also compared to a study of several hospital effluents in the UK ²³ and another study that took place in Italy ²⁷. In those studies, concentration ranges for diclofenac (3 to 530 ng L^{-1}), trimethoprim (68 to 1800 ng L^{-1}) and quetiapine (10 to 60 ng L^{-1}) were of same order of magnitude as the values reported in Figure 11. However, sulfamethoxazole was about 30 to 300 times more concentrated in UK study (900 to 6500 ng L^{-1}) compared to the present study and gabapentin was detected at concentrations of up to 90780 ng L^{-1} . Such disparities may be explained by pharmaceutical consumption differences, e.g., sulfamethoxazole was not part the hospital's inventory. Water consumption in Québec, the UK and Italy could also explain the results: Québec water consumption is between 420.8 L day^{-1} and 4665.8 L day^{-1} per bed ³⁵ while in the UK it is between 530 L day^{-1} and 1138 L day^{-1} and in Europe between 500 L day^{-1} and 1000 L day^{-1} ¹⁴². Finally, its also possible that the sampling point chosen was not representative of the hospital total pharmaceutical use.

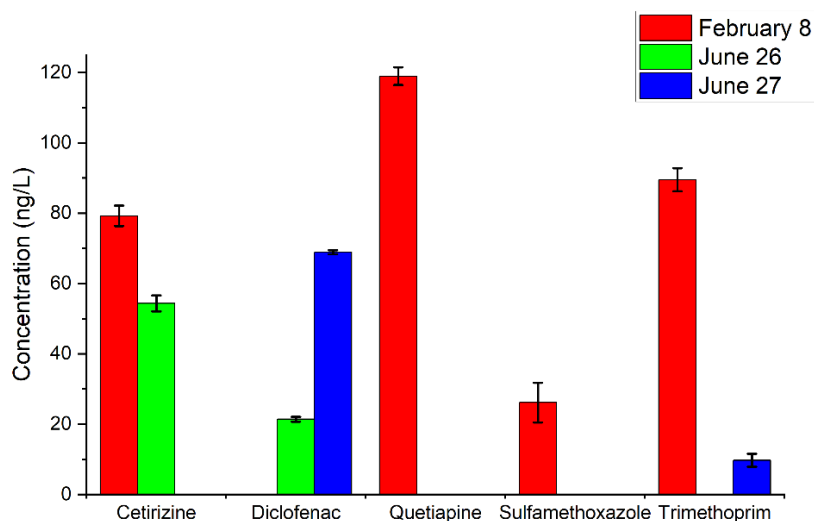


Figure 10. Quantification of the target pharmaceuticals in hospital wastewater in three grab samples collected in three different days in 2019 ($n=1$). Length of error bars represents the uncertainty of the concentration determined with the standard additions method ⁴³.

3.2.3 Optimization of WAO

3.2.3.1 WAO tests with spiked deionized water

Residence time and oxidation temperature were optimized to achieve maximum percentage removal of the ten target pharmaceuticals by WAO treatment. At first, an exploratory test was conducted to identify an effective oxidation temperature range in a single run (Figure 12). For this test, each compound was spiked at $1500 \mu\text{g L}^{-1}$ in deionized water. Addition of oxidant (air) was carried out at room temperature and samples were taken at selected temperatures during the heating process. Figure 12 shows that significant removals ($> 90\%$) were observed around 200°C for acetaminophen, baclofen, diclofenac, gabapentin, and pregabalin. However, removals were $< 70\%$ for carbamazepine, sulfamethoxazole, quetiapine, cetirizine, and trimethoprim. At 300°C , elimination of at least 90% was achieved for all compounds.

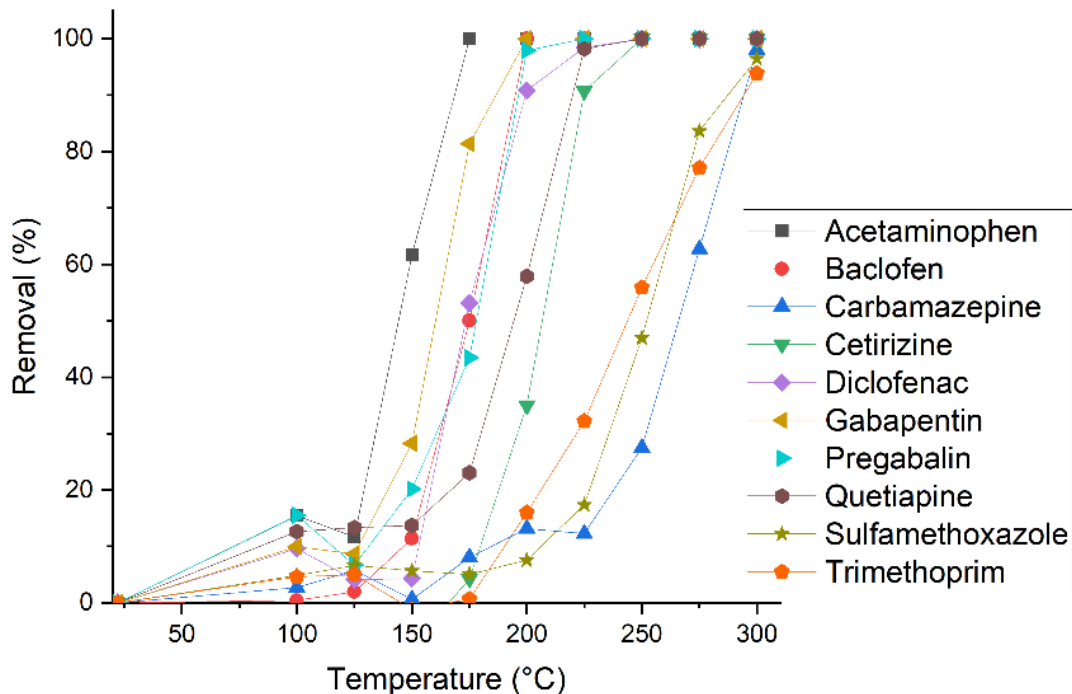


Figure 11. Removal by WAO of the target pharmaceuticals during the exploratory temperature range test ($n=1$). Compounds were spiked at $1500 \mu\text{g L}^{-1}$ in deionized water.

Three other trials were performed to evaluate the effect of the residence time (maximum 60 min) on the removal percentage at temperatures between 200 and 300 °C. Results are shown in Figure 13. The removal observed at 0 min is not caused by oxidation, since the oxidant (air) is yet to be added, but by thermal decomposition⁴⁴ or hydrolysis³¹ that could take place during the heating period.

Results in Figure 13 show that carbamazepine, sulfamethoxazole and trimethoprim are more resistant than gabapentin and diclofenac to WAO treatment. At both 200 and 250 °C, degradation of carbamazepine, sulfamethoxazole and trimethoprim is $< 75\%$, even after 60 min, while removal of gabapentin and diclofenac is $> 80\%$ before addition of oxidant. At 300 °C, almost complete removal (concentrations were $< \text{LOQ}$) for all compounds were observed after only 20 min.

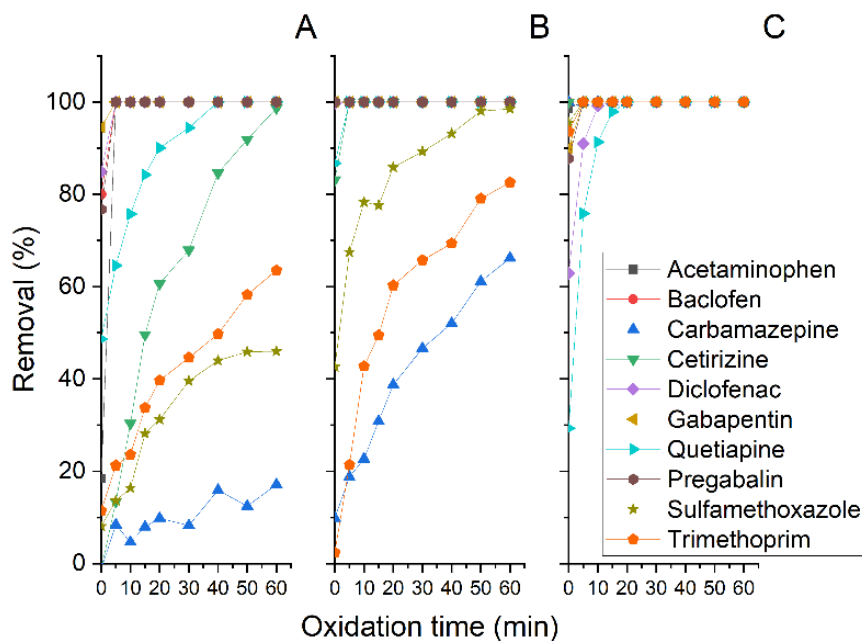


Figure 12. Removal by WAO of target pharmaceuticals spiked at $1500 \mu\text{g L}^{-1}$ each in deionized water at A: 200°C ; B: 250°C and C: 300°C . For each temperature $n=1$.

In an attempt to decrease WAO operating conditions of temperature and residence time, five conditions (275°C , 290°C , 300°C with 20 min residence time; 260°C , 275°C with 30 min residence time) were selected. Results in Figure 14A show that removal at 275°C was relatively low for carbamazepine (76%) and trimethoprim (68%); however, results for those two compounds at 290°C ($\geq 93\%$) were comparable to those obtained at 300°C ($\geq 97\%$). Figure 14B shows that a longer residence time at 275°C improved slightly both carbamazepine (86%) and trimethoprim (77%) removal percentages. Therefore, an oxidation temperature of 290°C and a residence time of 20 min were selected as optimal WAO conditions. It is worth noting that most compounds were degraded with subcritical water ($> 260^\circ\text{C}$) without oxidant. Nonetheless, WAO seems necessary to ensure the degradation of both resistant compounds (carbamazepine and trimethoprim). Additionally, we hypothesize most transformation products may only be removed completely after addition of oxidant. Experiments are under way to test this hypothesis.

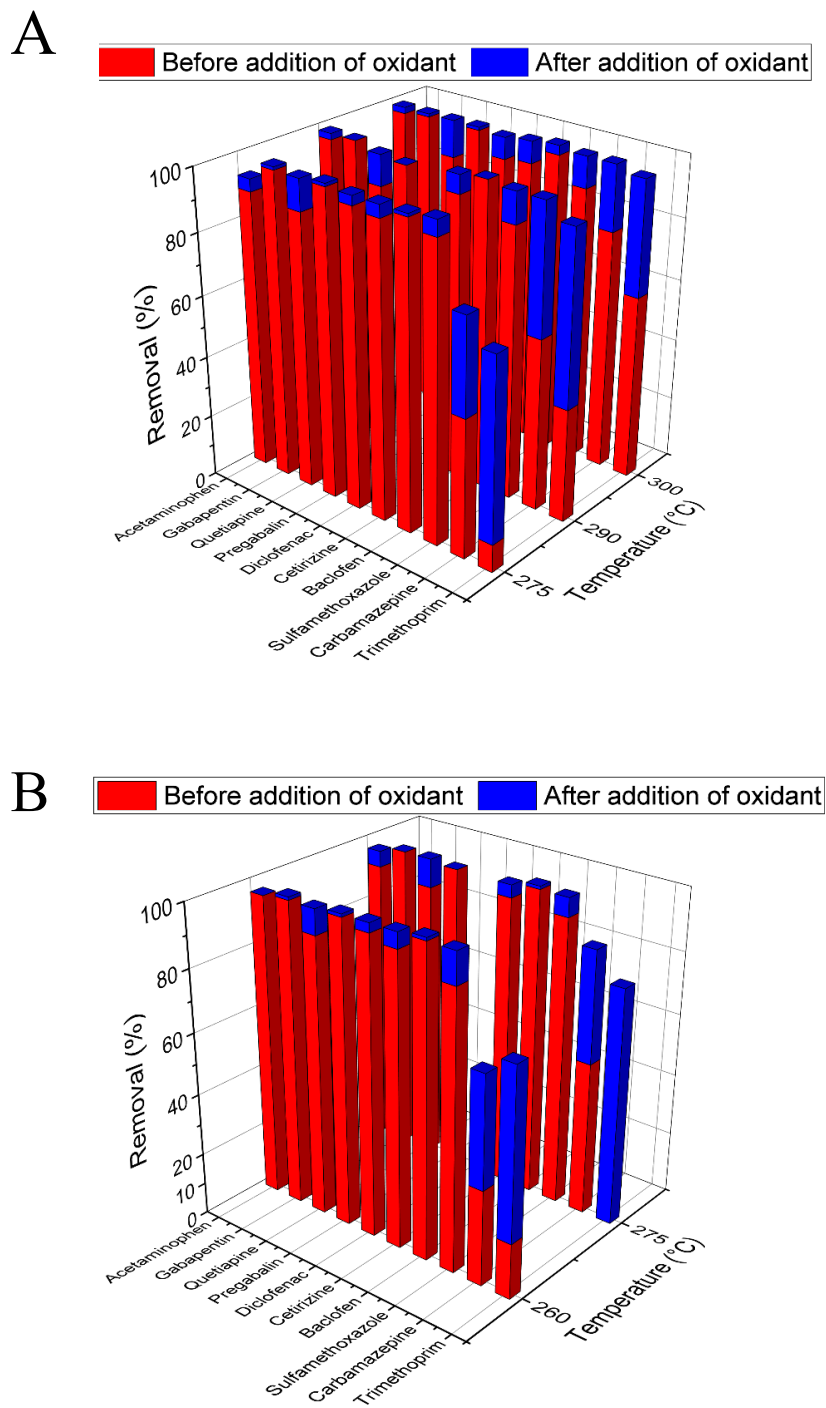


Figure 13. Optimization of WAO temperature at A: 20 min and B: 30 min residence times using a mixture of target pharmaceuticals spiked in deionized water at 1500 $\mu\text{g L}^{-1}$ each. Data for pregabalin at 275 $^{\circ}\text{C}$ did not pass QC tests and were rejected. For each temperature $n=1$.

Comparison between results of the present study and removal percentages obtained with other AOPs demonstrated that WAO gives equivalent or better removals for some of the tested pharmaceuticals ⁴⁵. For example, ozonation can remove completely carbamazepine, diclofenac, sulfamethoxazole and trimethoprim from Milli-Q water using ozone doses lower or equal to 4.5 mg L⁻¹ ⁴⁶. Treatment with UV radiation (540 mJ cm⁻²) and H₂O₂ (6 mg L⁻¹) of ultrapure water spiked with sulfamethoxazole, trimethoprim and diclofenac removed 91%, 68% and 99% of those compounds, respectively ⁴⁷. Ozonation combined with ozonolysis (20 kHz) was able to remove spiked diclofenac (94%), sulfamethoxazole (61%) and carbamazepine (56%), from distilled water, however removal efficiencies decreased in mixed solutions containing the three pharmaceuticals ⁴⁸. Nevertheless, it is difficult to evaluate the suitability of these AOP methods to remove pharmaceuticals since information on performance and costs at industrial scales is not often reported.

3.2.3.2 WAO treatment of spiked hospital effluents

To validate the optimized conditions performance experiments were conducted on real hospital wastewater (matrix effect). Based on quantification results of target pharmaceuticals in the hospital effluent (Figure 12), it was decided to spike each compound at 1500 µg L⁻¹ (same concentration used for optimization trials) in the sampled wastewater. Tests at 290 °C were carried out with residence times of 20 min (*n*=2) and 15 min (*n*=1), respectively. Table 8 shows that removal percentages obtained with a residence time of 15 min were comparable to those generated with 20 min. Thus, according to those results, the final optimal WAO conditions for target pharmaceuticals removal were an oxidation temperature of 290 °C and a residence time of 15 min. The two tests at 20 min also demonstrated that WAO removal reproducibility was high. For all compounds, except trimethoprim, removal differences were less than 3 percentage points.

Tableau 9. Removal of pharmaceuticals in hospital wastewater by WAO at 290 °C with different conditions in duplicate experiments. Pharmaceuticals were spiked at 1500 µg L⁻¹ in all cases except indicated otherwise.

Pharmaceutical	15 min ^a (%)	20 min ^a (%)	High COD ^b (%)	High COD, spiked at 10 µg L ⁻¹ ^b (%)
Acetaminophen	98.6	98.5; >99.4	99.4; >99.4	95.3; 99.0
Baclofen	99.1	98.8; 99.9	99.5; 99.7	95.2; 99.0
Carbamazepine	92.7	96.9; 99.8	99.6; 99.7	95.0; 99.0
Cetirizine	99.3	99.5; 99.9	99.5; 99.6	95.2; 99.1
Diclofenac	98.8	98.6; 99.9	99.5; 99.8	95.2; 98.9
Gabapentin	98.9	98.8; 99.8	99.5; 99.7	95.2; 99.0
Pregabalin	99.5	99.3; 99.9	99.5; 99.8	95.0; 99.0
Quetiapine	96.0	95.8; 99.4	99.2; 99.6	99.1; 95.2
Sulfamethoxazole	98.8	98.5; 99.9	99.6; 99.6	95.1; 99.0
Trimethoprim	85.9	86.3; 99.9	99.6; 99.6	95.0; 98.9

^a COD = 573 mg O₂ L⁻¹, ^b COD = 1400 mg O₂ L⁻¹, residence time = 15 min. Note: The 15 min experiment was performed only once.

3.2.3.3 Effect of initial chemical oxygen demand on removal

According to Boillot et al ⁴⁹, COD of a hospital effluent can vary up to about 800% within the same day. Then, to study the possible interference of other organic compounds in pharmaceutical removal in hospital waters by WAO, the test samples were spiked with each compound at 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ or 1500 $\mu\text{g L}^{-1}$ and glucose was added to raise the initial COD value to 1400 $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$, a realistic high limit found in hospital effluents ^{40, 41}.

The results in Table 8 show that, except for carbamazepine and trimethoprim, all the pharmaceuticals compounds are effectively removed from the hospital wastewater samples regardless the initial COD; in fact, elimination rates lie above 95% at all conditions of residence time and initial organic and pharmaceutical concentration. However, when analyzing carbamazepine and trimethoprim results, the results show a slight tendency towards better removal rates at higher initial COD that need to be confirmed by further experimental studies.

3.2.3.4 Effect of initial pharmaceutical concentration on removal

Pharmaceutical concentrations in hospital wastewater are much lower than 1500 $\mu\text{g L}^{-1}$. So that, hospital wastewater samples were spiked with each compound at a lower concentration of 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ that is found in other hospital effluents ^{24, 27, 50}. Glucose was also added to raise the initial COD value to 1400 mg L^{-1} . Results of WAO with optimized conditions (Table 8) showed a slight performance decrease in average of 3 percentage points with a lower initial pharmaceutical concentration. Since such difference is close to the observed WAO removal reproducibility, it is possible that the high variability of pharmaceutical concentrations found in hospitals effluents does not influence the WAO treatment performance under similar COD conditions.

3.2.4 Toxicity bioassays

Toxicity bioassays provides an overview of possible changes in the overall toxicity of hospital wastewater samples due to treatment. In AOP processes, multiple oxidation products of pharmaceuticals are usually formed^{45,51} and they can be, in some cases, more toxic than the parent compound. For example ozonation of bezafibrate, diclofenac and fenoprofen generated unknown transformation products that increased the toxicity of the samples towards bioluminescent bacteria⁵². The same effect was observed by⁵³ when removing atrazine, diclofenac, carbamazepine and ketorolac from effluent wastewater by photo-Fenton process; toxicity towards bioluminescent bacteria increased after about 20 min of treatment time. Few studies have successfully identified the transformation products responsible for such increase in toxicity since many compounds are generated simultaneously and synergistic effects could be observed. A study by⁵⁴ found that 3-amino-5-methylisoxazole, p-benzoquinone and possibly short-chain carboxylic acids explained a fraction of the toxicity observed when treating sulfamethoxazole spiked water by electro-Fenton. A paper by⁵⁵ also identified 2-hydroxy-4-(N-acetyl) aminophenol, 1,4-benzoquinone, benzaldehyde and benzoic acid as toxic oxidation products generated by electro-Fenton treatment of acetaminophen solution. In WAO, if residence times are long enough, small carboxylic acids are usually observed²⁹, however no studies have investigated the effect of WAO treatment on the toxicity of deionized water spiked with pharmaceuticals or hospital wastewater samples.

3.2.4.1 *D. magna* toxicity bioassays

Results of *D. magna* toxicity bioassays (Figure 15, red bars) show, as expected, that untreated samples have low toxicity or no measurable toxicity since target pharmaceuticals have acute toxicity at relatively high concentrations (2 to 42 mg L⁻¹, Table 7). For hospital wastewater, an EC₅₀ equal to (72 ± 28) % was measured. This value indicates 72 % (v/v) of that sample caused the immobilization of half of daphnids exposed to the sample for 48 h. However, after WAO treatment, an increase in toxicity was observed in both types of samples.

For the spiked deionized water samples, after 10 min of WAO treatment, an EC_{50} equal to $(18 \pm 3) \%$ was measured, and a slightly higher toxicity was observed at 25 min of WAO treatment [$EC_{50}=(13.0 \pm 0.8) \%$]. Such changes in toxicity could be explained by the formation of oxidation products more toxic to *D. magna* than the parent compounds during the WAO treatment. The same effect has already been observed in other types of AOP treatment, as mentioned earlier.

For the hospital wastewater samples, EC_{50} at 48h of exposure increased from $(72 \pm 28) \%$ to $(39 \pm 12) \%$ after 10 min residence time and did not change significantly up to 25 min of residence time [$EC_{50}= (31 \pm 11) \%$]. Interestingly, toxicity of treated hospital wastewater was always lower than the toxicity of the spiked deionized water. This suggests that the presence of relatively high concentrations of target pharmaceuticals in the spiked deionized water allowed the generation of high enough concentrations of oxidation products to produce a toxic effect. Hospital wastewater should contain numerous pharmaceuticals but as shown in Figure 11, their concentrations should not be particularly high. Also, other types of organic compound found in these effluents (e.g., primary metabolites) could be readily oxidable thus forming lesser amounts of toxic oxidation products. Future studies will focus on the nature and origin of these transformation products and their link with the observed toxicity.

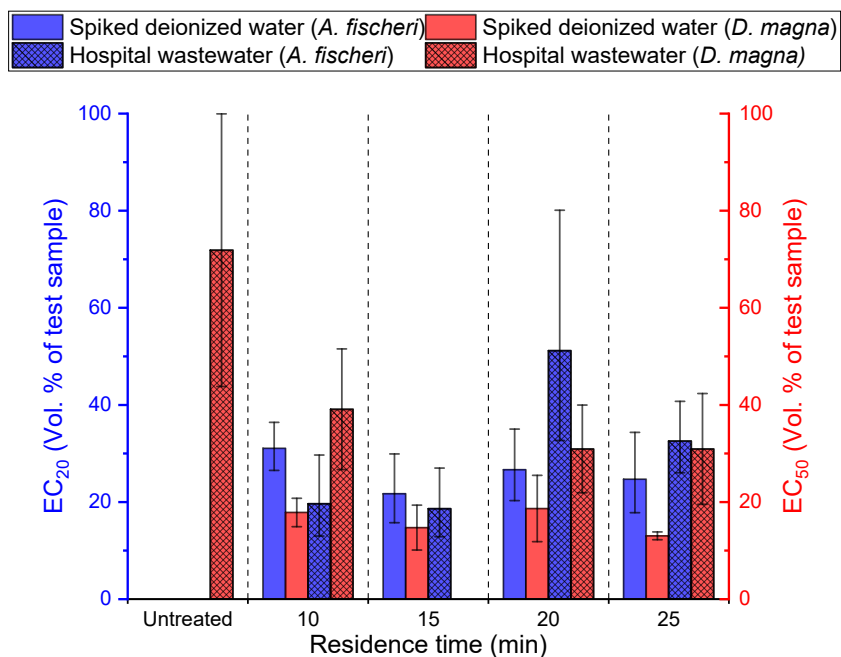


Figure 14. Effect of residence time of spiked deionized water and hospital wastewater on the *D. magna* EC₅₀ and the *A. fischeri* EC₂₀ measured at 48 h and 5 min, respectively. For both sets of data, length of error bars represents the 95 % confidence interval. For only one sample (hospital wastewater treated for 15 min) the fitting failed and no EC₅₀ could be calculated for *D. magna*.

3.2.4.2 *A. fischeri* toxicity bioassays

To complement the *D. magna* toxicity bioassay, acute toxicity tests were conducted using the bioluminescent bacterium *A. fischeri*. Results of the acute toxicity bioassay (Figure 15, blue bars) showed that both the untreated wastewater and spiked deionized water had no measurable toxicity. The volume percentage value reported for the other samples, represents the percent of the sample required to inhibit the bioluminescence of 20% of the bacteria (EC₂₀). The trends of the measured EC₂₀ are similar to the EC₅₀ reported for *D. magna*, and further support the formation of toxic transformation products during WAO treatment. For both types of water, the treated samples were more toxic than the untreated ones, but the toxicity does not appear to change significantly with the residence time. A

few differences were also observed between the results of both bioassays. The most important was that, unlike the *D. magna* bioassay, the *A. fischeri* bioassay could not generate EC₅₀ values. Such outcome can be explained by the sensitivity of both bioassays. It has been reported that the acute bioassay based on *D. magna* is more sensitive than the one based on *A. fischeri* towards organic compounds ^{56, 57}. In one study it was reported that differences of sensitivity between these two methods can be of a factor of up to 3000 ⁵⁶.

Nevertheless, while WAO generated toxic oxidation products towards *D. magna* and *A. fischeri*, the intended use of WAO is as a pretreatment for hospital wastewaters, not as a final treatment prior to discharge into the aquatic environment. Considering that the WAO effluent would be sent to a municipal wastewater treatment plants for further treatment, the toxicity towards daphnids is less relevant in that context. It is however unknown if the toxicity of the WAO treated waters observed on *A. fischeri*, might suggest possible effect on the bacteria in the activated sludge treatment step. To our knowledge, WAO succeeds in transforming non-biodegradable compounds into compounds more biodegradable by conventional wastewater treatment methods ⁵⁸. Therefore, by using WAO as pretreatment for hospital wastewater, the transformation products generated by WAO could be removed by secondary treatment in municipal wastewater plants.

3.2.5 Techno-economic analysis

3.2.5.1 Process Simulation

Tables 5 summarizes the mass and energy balances for the selected WAO unit based on the assumptions listed in Table 4 and a flow rate of 86 L min⁻¹. A more detailed version of this table is available in the Supplementary Information (Table 18).

Tableau 10. Mass and energy balance for a WAO unit of 86 L min⁻¹

Mass balance		
	Effluent	Treated effluent
Total flow (kg/h)	5188	5195
Total flow (L/min)	86	87
COD (mg/L)	1400	280
Acetaminophen concentration (µg L⁻¹)	150	≈ 0
Energy balance		
Total electricity consumption (MWh/year)	1049	
Heat consumption (GJ/year)	1484	
Energy balance (GJ/year)	2533	
Proportion electricity/heat (%)	41% / 59%	

3.2.5.2 CAPEX – OPEX

CAPEX-OPEX estimations for an 86 L min⁻¹ WAO unit are shown in Table 10. The total CAPEX of the project is CAD 2.35×10^6 which includes equipment procurement and installation. The annual OPEX is CAD 1.09×10^6 that corresponds to a relative price of CAD 27 per m³. The equipment costs account for almost 46% of the total initial investment while labour expenses account for 41% of the total operation costs; hence, equipment costs and labour expenses are plausible targets for cost optimization.

Regarding labour, project managers can explore human resources strategies such as personnel reassignment or outsourcing; this lies out of the scope of this work though. On the other hand, equipment costs usually decrease with lower inlet feeds as do OPEX. However, to decrease the inlet flow rate of hospital wastewater, the process setup must include an additional unit that concentrates the total chemical oxygen demand (COD) from the hospital effluent before sending it to the WAO unit such as reverse osmosis or ultrafiltration⁵⁹. Thus, a sensitivity analysis to estimate CAPEX and OPEX for the WAO unit (excluding the required concentration stage) as a function of the inlet flow rate was

performed. The definition of a suitable concentration unit and its subsequent pricing remain the subject of further studies.

Tableau 11. CAPEX-OPEX for a WAO unit of 86 L min⁻¹

Capital Expenditures (CAPEX)	
Item	Cost (CAD)
Studies and project management	250 000
Process equipment	1 075 000
Setup and Installation	775 000
Temporary civil works	250 000
Total	2 350 000
Operating Expenditures (OPEX)	
Item	Cost (CAD)
Electricity	52 500
Natural gas	35 000
Maintenance	72 500
Labour	450 000
Plant overhead	320 000
Depreciation	160 000
Total expenses	1 090 000
Annual treated volume (m ³)	41 000
OPEX per m ³	27

The results of the sensitivity analysis are illustrated in Figure 16 based on the parameters of the concentration unit indicated in Table 19 (Supplementary Information). These results show that CAPEX is about twice as sensitive to inlet flow rates as OPEX for this case of study; for instance, when comparing cases of 86 L min⁻¹ and 5 L min⁻¹, CAPEX decreases by 44% while OPEX decreases only by 20%. This is explained by the fact that air plays a

crucial role in OPEX estimations as the total COD remains unchanged regardless of the concentration factor; so that, air compression expenses remain the same for all scenarios considered. This sensitivity analysis excluded the CAPEX and OPEX related to the pre-concentration unit as those estimations should follow a selection between alternatives such as reverse osmosis or ultrafiltration. However, when considering a moderate concentration factor of 3.5 and thus a flow rate of 25 L min^{-1} , a realistic cost optimization would provide a CAPEX of CAD 1.77×10^6 and an OPEX of CAD 9.60×10^5 for the WAO unit.

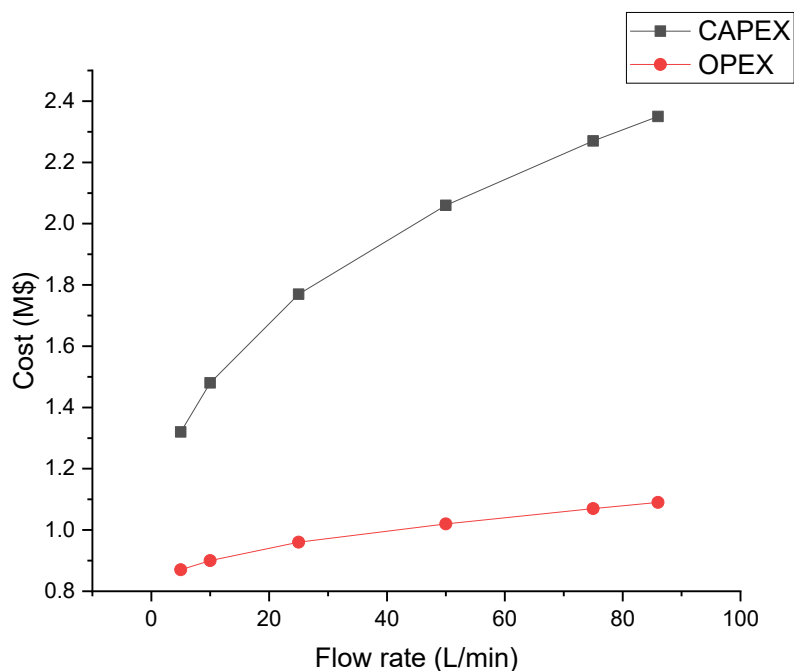


Figure 15. Sensibility analysis of CAPEX – OPEX to the inlet flow rate for the WAO process.

3.3 Conclusion

Results showed potential for the application of WAO to eliminate pharmaceuticals from hospital wastewater to prevent their released into municipal wastewater and minimize their presence and effect on the aquatic environment. According to optimization experiments, the optimal treatment conditions for ten pharmaceuticals of interest are 290°C for 15 min

(residence time). The present study demonstrated that WAO was able to reach high removal levels (> 95%) of pharmaceutical compounds even at low COD values (< 600 mg O₂ L⁻¹). However, to reach these operating conditions, the process demands a high energy consumption leading to high operating expenses as shown by the techno-economic analysis. This can be explained by the fact that WAO usually requires a COD greater than 20000 mg O₂ L⁻¹ for the exothermic oxidation reactions to be self-sustaining³¹ and in some cases energy generating, making hospital effluents a less energy-efficient target considering the low COD content (usually <1400 mg O₂ L⁻¹). In addition, the high flow of wastewater to be treated (estimated here at 125 m³ per day) requires an important WAO unit volumetric capacity.

Adding a preconcentration unit to the process would be beneficial since it will increase the initial COD load while reducing the volumetric capacity of the WAO unit. Indeed, this study's sensitivity analysis demonstrated that the CAPEX and OPEX for the studied WAO unit would decrease by adding such preconcentration unit. Moreover, the excess heat that might be released under this alternative approach could contribute to the profitability of operations.

The performed bioassays showed that the toxicity of samples treated by WAO increased with treatment time, suggesting that toxic transformation products were formed. However, in the context of using WAO as a pretreatment to municipal wastewater treatment, this residual toxicity might be removed during treatment at the wastewater treatment plant. The applicability of WAO process to remove recalcitrant compounds thus remain a promising approach for pretreatment of hospital wastewater.

Acknowledgements

We would like to thank the Centre Intégré de Santé et de Services sociaux de la Montérégie-Est (CISSSIE) for providing useful consumption data, the Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG) for their financial help and Synergie

Santé Environnement (SSE) for their help in communicating the results and in connecting the collaborators of this project.

Author contributions

All authors have given approval to the final version of the manuscript. Valérie Boucher was responsible for writing the manuscript, performing WAO optimization experiments and quantification of pharmaceuticals in wastewater. *D. magna* and *A. fischeri* bioassays were performed by Margot Beaudoin and Kalyssa Volk, respectively. Pedro Ramirez performed the technico-economic analysis. Viviane Yargeau supervised the work of Kalyssa Volk and revised the final version of the manuscript. Pascal Lemoine and Pedro Segura supervised the work of Valérie Boucher and Margot Beaudoin and they contributed to the experimental design, interpretation of results and manuscript revision.

References

1. R. Länge, T. H. Hutchinson, C. P. Croudace, F. Siegmund, H. Schweinfurth, P. Hampe, G. H. Panter and J. P. Sumpter, *Environ. Toxicol. Chem.*, 2001, **20**, 1216-1227.
2. J. L. Oaks, M. Gilbert, M. Z. Virani, R. T. Watson, C. U. Meteyer, B. A. Rideout, H. Shivaprasad, S. Ahmed, M. J. I. Chaudhry and M. Arshad, *Nature*, 2004, **427**, 630-633.
3. E. Touraud, B. Roig, J. P. Sumpter and C. Coetsier, *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 2011, **214**, 437-441.
4. M. Vasquez, A. Lambrianides, M. Schneider, K. Kümmerer and D. Fatta-Kassinos, *J. Hazard. Mater.*, 2014, **279**, 169-189.
5. S. Bio and B. Nunes, *Environ. Toxicol. Phar.*, 2020, 103394.
6. P. E. Stackelberg, E. T. Furlong, M. T. Meyer, S. D. Zaugg, A. K. Henderson and D. B. Reissman, *Sci. Total Environ.*, 2004, **329**, 99-113.

7. World Health Organization, *Pharmaceuticals in drinking-water*, WHO Press, Geneva, Switzerland, 2012. Available at: https://www.who.int/water_sanitation_health/publications/2012/pharmaceuticals/en/.
8. G. Kaushik and M. A. Thomas, *Sustain. Chem. Phar.*, 2019, **13**, 100148.
9. S. A. Kraemer, A. Ramachandran and G. G. Perron, *Microorganisms*, 2019, **7**, 180.
10. L. Sandegren, *Upsala J. Med. Sci.*, 2014, **119**, 103-107.
11. J. Bengtsson-Palme and D. J. Larsson, *Environ. Int.*, 2016, **86**, 140-149.
12. T. P. Van Boeckel, S. Gandra, A. Ashok, Q. Caudron, B. T. Grenfell, S. A. Levin and R. Laxminarayan, *Lancet Infect. Dis.*, 2014, **14**, 742-750.
13. OECD, *Health at a Glance 2017: OECD Indicators*, OECD Publishing, Paris, 2017. Available at: https://www.oecd-ilibrary.org/content/publication/health_glance-2017-en.
14. B. Kolar, C. Moermond and S. Hickmann, in *Pharmaceuticals in the Environment*, The Royal Society of Chemistry, 2016, DOI: 10.1039/9781782622345-00255, pp. 255-285.
15. A. Küster and N. Adler, *Philos. T. Roy. Soc. B*, 2014, **369**, 20130587.
16. C. G. Daughton and I. S. Ruhoy, *Environ. Toxicol. Chem.*, 2009, **28**, 2495-2521.
17. S. R. Hughes, P. Kay and L. E. Brown, *Environ. Sci. Technol.*, 2013, **47**, 661-677.
18. P. Verlicchi and E. Zambello, *Sci. Total Environ.*, 2015, **538**, 750-767.
19. K. Kümmerer, *J. Environ. Manage.*, 2009, **90**, 2354-2366.

20. A. Jelić, M. Gros, M. Petrović, A. Ginebreda and D. Barceló, in *Emerging and Priority Pollutants in Rivers: Bringing Science into River Management Plans*, eds. H. Guasch, A. Ginebreda and A. Geiszinger, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2012, DOI: 10.1007/978-3-642-25722-3_1, pp. 1-23.
21. S.-W. Nam, B.-I. Jo, Y. Yoon and K.-D. Zoh, *Chemosphere*, 2014, **95**, 156-165.
22. R. T. Williams, in *Human pharmaceuticals: assessing the impacts on aquatic ecosystems*, ed. R. T. Williams, SETAC Press, 2005, pp. 1-46.
23. T. S. Oliveira, M. Murphy, N. Mendola, V. Wong, D. Carlson and L. Waring, *Sci. Total Environ.*, 2015, **518**, 459-478.
24. L. H. Santos, M. Gros, S. Rodriguez-Mozaz, C. Delerue-Matos, A. Pena, D. Barceló and M. C. B. Montenegro, *Sci. Total Environ.*, 2013, **461**, 302-316.
25. W. P. Rowe, C. Baker-Austin, D. W. Verner-Jeffreys, J. J. Ryan, C. Micallef, D. J. Maskell and G. P. Pearce, *J. Antimicrob. Chemother.*, 2017, **72**, 1617-1623.
26. E. Szekeres, A. Baricz, C. M. Chiriac, A. Farkas, O. Opris, M.-L. Soran, A.-S. Andrei, K. Rudi, J. L. Balcázar and N. Dragos, *Environ. Poll.*, 2017, **225**, 304-315.
27. P. Verlicchi, M. Al Aukidy, A. Galletti, M. Petrovic and D. Barceló, *Sci. Total Environ.*, 2012, **430**, 109-118.
28. F. S. Souza, V. V. Da Silva, C. K. Rosin, L. Hainzenreder, A. Arenzon, T. Pizzolato, L. Jank and L. A. Féris, *J. Environ. Sci. Heal. A*, 2018, **53**, 213-221.
29. L. Y. Zou, Y. Li and Y.-T. Hung, in *Advanced Physicochemical Treatment Technologies*, eds. L. K. Wang, Y.-T. Hung and N. K. Shammass, Humana Press, Totowa, NJ, 2007, ch. 13, pp. 575-610.
30. A. Tungler, E. Szabados and H. A. M., in *Wastewater Treatment Engineering*, ed. M. Samer, IntechOpen, 2015, pp. 153-178.

31. V. S. Mishra, V. V. Mahajani and J. B. Joshi, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 1995, **34**, 2-48.
32. W. Zhan, X. Wang, D. Li, Y. Ren, D. Liu and J. Kang, *Water Sci. Technol.*, 2013, **67**, 2281-2286.
33. S. Collado, L. Garrido, A. Laca and M. Diaz, *Environ. Sci. Technol.*, 2010, **44**, 8629-8635.
34. D. S. Wishart, Y. D. Feunang, A. C. Guo, E. J. Lo, A. Marcu, J. R. Grant, T. Sajed, D. Johnson, C. Li and Z. Sayeeda, *Nucleic Acids Res.*, 2018, **46**, D1074-D1082.
35. Centre des technologies de l'eau, *Guide méthodologique d'audit de l'usage de l'eau en milieu institutionnel - Annexes*, Gouvernement du Québec, 2nd edn., 2014. Available at: <https://www.cteau.com/wp-content/uploads/2016/03/Annexes-ABCDEFGH-version-Mai-2014.pdf>.
36. J. Vestel, D. J. Caldwell, L. Constantine, V. J. D'Aco, T. Davidson, D. G. Dolan, S. P. Millard, R. Murray-Smith, N. J. Parke and J. J. Ryan, *Environ. Toxicol. Chem.*, 2016, **35**, 1201-1212.
37. T. Martin, *User's Guide for T.E.S.T. (version 4.2) (Toxicity Estimation Software Tool) A Program to Estimate Toxicity from Molecular Structure*, Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio, 2016.
38. Organisation for Economic Co-Operation and Development, *Test No. 202: Daphnia sp., Acute Immonilisation Test*, In: *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2: Effects on Biotic Systems*, OCDE Publishing, 2004.
39. P. Ramirez, J.-F. Vermette and S. Lefèvre, presented in part at the 17th European Meeting on Supercritical Fluids (EMSF 2019) - 7th European Meeting on High Pressure Technology, Ciudad Real, Spain, 2019-04-08, 2019.

40. M. I. Meo, S. Haydar, O. Nadeem, G. Hussain and H. Rashid, *Proc. Pak. Acad. Sci.*, 2014, **51**, 317-319.
41. P. Kajitvichyanukul and N. Suntronvipart, *J. Hazard. Mater.*, 2006, **138**, 384-391.
42. M. Gómez-Chaparro, J. García Sanz-Calcedo and L. Armenta-Márquez, *Urban Water J.*, 2018, **15**, 601-608.
43. J. N. Miller, *Analyst*, 1991, **116**, 3-14.
44. M. Carrier, M. Besson, C. Guillard and E. Gonze, *Appl. Catal. B-Environ.*, 2009, **91**, 275-283.
45. D. Kanakaraju, B. D. Glass and M. Oelgemöller, *J. Environ. Manage.*, 2018, **219**, 189-207.
46. S. K. Alharbi, W. E. Price, J. Kang, T. Fujioka and L. D. Nghiem, *Desalin. Water Treat.*, 2016, **57**, 29340-29351.
47. C. Baeza and D. R. Knappe, *Water Res.*, 2011, **45**, 4531-4543.
48. V. Naddeo, C. S. Uyguner-Demirel, M. Prado, A. Cesaro, V. Belgiorno and F. Ballesteros, *Environ. Technol.*, 2015, **36**, 1876-1883.
49. C. Boillot, C. Bazin, F. Tissot-Guerraz, J. Droguet, M. Perraud, J. Cetre, D. Trepo and Y. Perrodin, *Sci. Total Environ.*, 2008, **403**, 113-129.
50. M. J. Gómez, M. Petrović, A. R. Fernández-Alba and D. Barceló, *J. Chromatogr. A*, 2006, **1114**, 224-233.
51. B. De Witte, H. Van Langenhove, K. Demeestere and J. Dewulf, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, 2011, **41**, 215-242.
52. F. A. Almomani, M. Shawaqfah, R. R. Bhosale and A. Kumar, *Environ. Prog. Sustain.*, 2016, **35**, 982-995.

- 53. N. Klamerth, L. Rizzo, S. Malato, M. I. Maldonado, A. Agüera and A. R. Fernández-Alba, *Water Res.*, 2010, **44**, 545-554.
- 54. A. Dirany, S. E. Aaron, N. Oturan, I. Sirés, M. A. Oturan and J. Aaron, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2011, **400**, 353-360.
- 55. T. X. H. Le, T. Van Nguyen, Z. A. Yacouba, L. Zoungrana, F. Avril, D. L. Nguyen, E. Petit, J. Mendret, V. Bonniol and M. Bechelany, *Chemosphere*, 2017, **172**, 1-9.
- 56. A. Calleja, J. Baldasano and A. Mulet, *Toxic. Assess.*, 1986, **1**, 73-83.
- 57. M. W. Toussaint, T. R. Shedd, W. H. van der Schalie and G. R. Leather, *Environ. Toxicol. Chem.*, 1995, **14**, 907-915.
- 58. F. Luck, *Catalysis today*, 1999, **53**, 81-91.
- 59. A. Urtiaga, G. Pérez, R. Ibáñez and I. Ortiz, *Desalination*, 2013, **331**, 26-34.

Supplementary information

Section SI-1. Experimental methods

Tableau 12. Multiple reaction monitoring transitions and optimized parameters for quantitative analyses by LC-QqQMS (Waters Micromass Quattro Premier XE Mass Spectrometer).

Compound	RT^a (min)	Precursor ion (<i>m/z</i>)	CV^b (V)	Quantification Product ion (<i>m/z</i>)	CE^c (V)	Confirmation Product ion (<i>m/z</i>)	CE^c (V)
Acetaminophen	2.76	151.7	30	93.2	20	110.2	15
Baclofen	4.03	214.1	20	115.1	35	150.9	20
Carbamazepine	10.13	236.9	30	178.9	40	193.9	15
Cetirizine	11.30	389.1	30	165.9	40	200.9	20
Diclofenac	13.91	295.9	20	214.9	20	249.9	15
Gabapentin	3.66	171.9	25	137.3	15	154.4	15
Pregabalin	3.47	159.9	20	142.3	10	97.4	15
Quetiapine	8.74	383.9	40	253.3	25	221.3	35
Sulfamethoxazole	5.49	254.0	25	155.8	15	91.9	25
Trimethoprim	4.81	291.1	45	122.9	30	230.0	25

^a Retention time; ^b Cone voltage; ^c Collision energy

Tableau 13. Multiple reaction monitoring transitions and optimized parameters for quantitative analyses by LC-QqQMS (Xevo TQ-S micro mass spectrometer).

Compound	RT ^a (min)	Precursor ion (<i>m/z</i>)	CV ^b (V)	Quantification Product ion (<i>m/z</i>)	CE ^c (V)	Confirmation Product ion (<i>m/z</i>)	CE ^c (V)
Acetaminophen	2.72	152.0	35	82.0	22	92.8	22
Baclofen	4.02	214.0	10	115.7	32	151.0	17
Carbamazepine	9.98	237.1	30	193.6	16	179.0	34
Cetirizine	11.16	389.1	5	165.9	43	201.0	19
Diclofenac	13.69	296.0	5	250.0	12	214.9	19
Gabapentin	3.62	172.1	20	137.0	15	95.0	22
Pregabalin	3.45	160.0	10	142.0	10	97.1	14
Quetiapine	8.63	384.1	10	253.0	22	158.1	22
Sulfamethoxazole	5.40	254.0	10	92.0	28	107.9	24
Trimethoprim	4.75	291.1	10	123.0	23	230.0	22

^a Retention time; ^b Cone voltage; ^c Collision energy

Section SI-1.1. LC-QqQMS method performance

Since three types of samples with different sample preparation or mass spectrometers were analyzed (deionized water, untreated hospital wastewater, treated hospital water), method performance figures of merit such as limits of quantification, linearity, precision and trueness were measured in each case. They are found in Tables 13, 14 and 15.

Tableau 14. Method performance for the analysis of spiked deionized water. This method was used for the optimization of WAO using spiked concentrations of target compounds at 1500 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Compound	Linearity	LOQ ^a ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Precision ^b (%)	Trueness ^b (%)
Acetaminophen	0.9925	7.8	2.4	24.2
Baclofen	0.9972	16.6	6.9	10.7
Carbamazepine	0.9977	8.7	1.4	9.6
Cetirizine	0.9999	1.2	1.0	7.3
Diclofenac	0.9976	0.8	5.6	10.6
Gabapentin	0.9936	5.4	11.3	9.3
Pregabalin	0.9998	2.4	3.6	17.4
Quetiapine	0.9973	28.3	4.2	2.2
Sulfamethoxazole	0.9999	3.2	5.4	8.9
Trimethoprim	0.9945	12.2	3.9	7.9

^a Determined using the standard deviation of the concentration of 10 replicates ($5\mu\text{g L}^{-1}$, except quetiapine and trimethoprim for which $10\mu\text{g L}^{-1}$ was used) multiplied by 10. ^b Determined using a quality control sample spiked at $40\mu\text{g L}^{-1}$ ($n=5$).

Tableau 15. Method performance for the analysis of untreated hospital wastewater. This method was used for the quantification of pharmaceuticals shown in Figure 11 of the manuscript.

	Untreated hospital wastewater			
Compound	Linearity	LOQ ^a (ng L⁻¹)	Precision ^b (%)	Trueness ^b (%)
Acetaminophen	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
Baclofen	0.9950	5.4	1.8	7.8
Carbamazepine	0.9985	1.7	0.8	6.1
Cetirizine	0.9891	0.12	2.3	14
Diclofenac	0.9996	0.22	2.8	12
Gabapentin	0.9847	6.4	1.3	8.8
Pregabalin	0.9688	26	1.5	15
Quetiapine	0.9988	4.6	2.0	12
Sulfamethoxazole	0.9840	0.18	1.6	2.7
Trimethoprim	0.9958	0.74	3.1	4.9

^b Determined according to a S/N=10. ^b Determined using a quality control sample spiked at 150 ng L⁻¹ (*n*=5). N.A.: Not available. Acetaminophen could not be quantified in the untreated hospital wastewater samples.

Tableau 16. Method performance for the analysis of WAO treated hospital wastewater.

This method was employed to obtain the results shown in Table 8.

	WAO treated hospital wastewater			
Compound	Linearity	LOQ ^a (ng L⁻¹)	Precision ^b (%)	Trueness ^b (%)
Acetaminophen	0.9978	83	2.2	-1.1
Baclofen	0.9972	58	9.6	24
Carbamazepine	0.9973	4.3	14	12
Cetirizine	0.9970	16	45	7.1
Diclofenac	0.9976	9.0	17	13
Gabapentin	0.9972	147	2.2	9.7
Pregabalin	0.9970	26	13	18
Quetiapine	0.9928	10.0	11	12
Sulfamethoxazole	0.9978	5.2	12	3.2
Trimethoprim	0.9963	10	8.0	14

^a Determined using $10\times$ the standard deviation of 10 blank samples divided by the slope of the calibration curve, except for acetaminophen, carbamazepine, quetiapine and sulfamethoxazole ($10\times$ standard error of the calibration curve divided by the slope) ^b

Determined using a quality control sample spiked at 80 ng L⁻¹, except for gabapentin (2000 ng L⁻¹).

Section SI-1.2. Preparation of QC samples

For tests using batch reactor model Cellule 2646 1000, a volume of 0.5 mL of the test sample introduced in the reactor was pipetted in an amber vial and then diluted with 1.5 mL of deionized water was used as quality control (QC) sample. This dilution is the same as the sample will undergo in the reactor. During WAO tests, the QC sample is left at room temperature under the same conditions as the samples. At the end of the test, the QC sample is refrigerated at the same time as the test samples. Concentration values determined by LC-QqQMS should be the same for QC samples and tests samples collected immediately after dilution in the reactor. If there was a difference of more than 20% between these two values, the WAO test was considered invalid.

Section 1.3 *Daphnia magna* acute toxicity bioassay protocol and quality control

The culture medium used is standard freshwater prepared with the following salts in deionized water: NaHCO_3 (64.75 mg L^{-1}), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (294 mg L^{-1}), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (123.25 mg L^{-1}) and KCl (5.75 mg L^{-1}). The ephippia are rinsed and then transferred to a petri dish with 50 mL of the standard freshwater solution previously bubbled with air for 15 min. The hatching lasts 72 hours, at 20-22 ° C under lighting of 2000 ± 70 Lux. Five dilutions (C1 to C5) of the test sample with standard freshwater are evaluated during a test. Two hours before the test, daphnids were fed with spirulina powder in order to avoid high mortality (>10% of daphnids). The test plate consists of 30 wells: 6 rows (control, C1, C2, C3, C4 and C5) and 5 columns (one for transferring daphnids and four replicate exposure tests). Exactly five daphnids are then placed in each well of the test plate with 10 mL of standard freshwater (control) or the corresponding effluent dilutions. A piece of sealing film (Parafilm M) is placed on the test plate. After 24 and 48 hours of incubation ($20 \pm ^\circ\text{C}$, in darkness), the number of immobilized daphnids is counted. Daphnids not moving after gentle agitation are considered immobilized. These results allow the calculate the median lethal concentration (LC_{50}).

The quality control sample was a solution of potassium dichromate ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), a toxic reference substance. The following series of dilutions were used 3.2, 1.8, 1.0, 0.56 and 0.32 mg L^{-1} . The median lethal concentration (LC_{50}) obtained with QC samples at 24 h must be

located within the limits mentioned in the technical sheet of each Daphtoxkit (between 0.6 mg L⁻¹ and 2.1 mg L⁻¹). Also, the mortality rate in control daphnids must not exceed 10%. If so, the test is considered invalid because it means that part of the immobilization can be explained by something other than exposure to contaminants. LC₅₀ values were obtained after fitting the data on number of immobilized daphnids as a function of volume percentage of test sample using a dose-response model and the Levenberg Marquardt iteration algorithm in OriginPro 2021 developed by OriginLab (Northampton, MA). Quality of the fit was evaluated by the adjusted coefficient of determination (R'²). In all cases R'² was > 0.9 except one set of data (exposure to untreated hospital wastewater). For one sample (hospital wastewater treated by WAO for 15 min) the fitting failed and no LC₅₀ could be calculated.

Section SI-1.4 *Aliivibrio fischeri* acute toxicity bioassay protocol and quality control

Microtox bioassays were completed using standard kits purchased from EBPI and the Microtox M500 system. The testing kit included lyophilized *Aliivibrio fischeri*, reagent diluent, osmotic adjustment solution (OAS), and sample diluent. For each test, one vial of *Aliivibrio fischeri* was rehydrated with 1 mL of reagent diluent at 4 °C for 30 minutes. Before the assay, the reagent (*A. fischeri*) was incubated in the Microtox M500 at 15 °C for 30 minutes. To prepare the sample for the test, the pH was measured to ensure the test sample was between 6-8.5. All samples fell within this range, so no adjustment was required. Next, the salinity of the sample was adjusted by adding 1/10 of the sample volume of OAS. Then, the sample was diluted serially with sample diluent at a dilution factor of 1.5. Eight dilutions of the test sample were used for the analysis. After the reagent had properly incubated at 15 °C, 10 µL of reagent stock was pipetted into cuvettes with 500 µL of sample diluent also at 15°C. After stabilization for 15 minutes, initial light intensity readings of each cuvette (I₀) were taken. Next, 500 µL of each dilution of the test sample was transferred into the corresponding reagent cuvette. After five minutes, light intensity readings were taken again (I₅). EC₂₀ values were then calculated by the Microtox Omni Software. If the tested sample was not toxic enough to cause a measurable light inhibition, the sample was retested for confirmation of the results.

Two blanks were analyzed in each run. The blank consisted of 500 μL of sample diluent. When calculating the EC_{20} , all light readings were compared to the blanks. The blanks account for the natural death of the *A. fischeri*. If the blanks had an inadequate light reading at any point in the testing procedure, the results were not considered, and the test was restarted. As suggested by the EBPI kit, a positive control of phenol at a concentration of 45 mg L^{-1} was also used in each run. After 5 minutes, around 80% of light inhibition was observed in the positive control.

Section SI-2. Results

Tableau 17. Organic pharmaceuticals consumed in the local hospital

Pharmaceutical	Mass (kg)
Acetaminophen	1.05×10^2
Metformin	1.87×10
Docusate	6.28
Lidocaine	4.98
Sodium divalproex	4.55
Amoxicillin	2.63
Cefazoline	2.57
Acetylsalicylic acid	2.32
Pantoprazole	1.86
Gabapentin	1.84
Quetiapine	1.70
Naproxen	1.50
Pregabalin	1.48
Ciprofloxacin	1.30
Levetiracetam	1.22
Levodopa	1.20
Furosemide	1.04
Moxifloxacin	1.03
Venlafaxine	1.01
Phenytoin	9.00×10^{-1}
Dexlansoprazole	8.57×10^{-1}
Clopidogrel	6.75×10^{-1}
Amiodarone	5.20×10^{-1}
Clozapine	4.80×10^{-1}
Tetracaine	4.08×10^{-1}
Thiamine	3.60×10^{-1}
Oxazepam	3.57×10^{-1}
Sennosides	3.43×10^{-1}
Carbidopa	3.00×10^{-1}

Dimenhydrinate	2.59×10^{-1}
Citalopram	2.57×10^{-1}
Allopurinol	2.50×10^{-1}
Trazodone	2.25×10^{-1}
Isosorbide-5-mononitrate	2.10×10^{-1}
Atorvastatin	1.75×10^{-1}
Metoprolol	1.75×10^{-1}
Gliclazide	1.68×10^{-1}
Mirtazapine	1.08×10^{-1}
Methylprednisolone	1.04×10^{-1}
Amlodipine	9.73×10^{-2}
Domperidone	9.00×10^{-2}
Phenobarbital	9.00×10^{-2}
Salbutamol	7.44×10^{-2}
Morphine	7.35×10^{-2}
Donepezil	6.70×10^{-2}
Rosuvastatin	6.50×10^{-2}
Prednisone	6.00×10^{-2}
Hydromorphone	5.25×10^{-2}
Bisoprolol	4.83×10^{-2}
Baclofen	4.50×10^{-2}
Olanzapine	4.16×10^{-2}
Hydralazine	4.00×10^{-2}
Cetirizine	3.90×10^{-2}
Buspirone	3.70×10^{-2}
Metoclopramide	3.15×10^{-2}
Midodrine	2.90×10^{-2}
Procyclidine	2.65×10^{-2}
Perindopril	2.64×10^{-2}
Apixaban	2.52×10^{-2}
Lorazepam	2.20×10^{-2}
Betamethasone	1.95×10^{-2}
Dexamethasone	1.20×10^{-2}

Loperamide	1.04×10^{-2}
Risperidone	8.50×10^{-3}
Methadone	4.00×10^{-3}
Tamsulosin	3.28×10^{-3}
Clonazepam	2.95×10^{-3}
Levothyroxine	2.03×10^{-3}
Fentanyl	3.00×10^{-4}
Tiotropium	1.67×10^{-4}
TOTAL	170.71

Tableau 18. Estimated amounts of the 25 top pharmaceuticals rejected in the hospital effluent using a conservative daily water consumption of 420.8 L/bed (number of beds = 166).

Pharmaceutical	Estimated concentration in the effluent ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Metformin	979.23
Acetaminophen	165.08
Cefazoline	134.24
Amoxicillin	107.49
Gabapentin	96.22
Pregabalin	75.62
Ciprofloxacin	52.14
Furosemide	48.99
Levetiracetam	42.11
Lidocaine	26.06
Moxifloxacin	23.65
Acetylsalicylic acid	12.13
Divalproex	7.14
Levodopa	6.28
Carbidopa	5.49
Quetiapine	4.44
Rosuvastatin	3.06
Venlafaxine	2.63
Phenytoin	2.35
Baclofen	2.00
Thiamine	1.88
Citalopram	1.61
Allopurinol	1.31
Bisoprolol	1.26
Cetirizine	1.22
TOTAL	1803.64

Tableau 19. Energy balance for a WAO unit of 86 L min⁻¹

Power Consumption		
	Installed Power kW	Power Consumption MWh/year
Compressor	10	75
Pump	23	183
Cooling System	100	791
Total Power Consumption (MWh)		1049
Heat Consumption		
	Flow Nm³/h	Heat Consumption GJ/year
Natural gas	33.8	5344
Total Heat Consumption (MWh)		1484
Power and Heat		
Energy balance (MWh)		2533
Proportion		
Electricity		41%
Heat		59%

Tableau 20. Cases for WAO unit sensitivity analysis

Inlet Flow rate (L/min)	Concentration factor	COD (mg O₂/L)
5	17	23800
10	9	12600
25	3.5	4900
50	1.7	2380
75	1.2	1680
86	1	1400

CONCLUSION

La présence préoccupante des produits pharmaceutiques dans nos milieux aquatiques attire l'attention de plusieurs chercheurs. Leurs conséquences environnementales sont encore peu connues et cette problématique est démythifiée une recherche scientifique à la fois. L'article rédigé selon les travaux de ce mémoire représente une recherche scientifique complète explorant une solution à un enjeu d'actualité qui a été abordée de différentes façons avec une série de tests. Le projet aura permis de déterminer rapidement et simplement les dix composés problématiques selon les données de consommation d'un hôpital de la région afin de mettre en contexte l'évaluation de l'OVH. Une méthode de quantification en spectrométrie de masse aura été développée et validée spécifiquement pour cette étude afin de suivre la dégradation des composés choisis. De surcroît, les multiples tests réalisés avec l'OVH ont servi à optimiser les paramètres de l'expérience (15 minutes d'oxydation à 290°C) dans le but de mieux justifier une application réelle en milieu hospitalier. Sans oublier l'évaluation de la toxicité des effluents après traitement et l'analyse technico-économique qui viennent traiter le sujet sous d'autres angles.

Ce projet aura amené une démonstration de la haute performance de l'OVH à faible DCO dans des effluents hospitaliers réels (dégradation entre 95.0 et 99.1% à moins de 600 mg O₂/L en seulement 15 minutes). Les tests d'écotoxicité ont démontrés que l'OVH augmente la toxicité des effluents sur le crustacé *Daphnia magna* et la bactérie *Aliivibrio fischeri*. Ces résultats n'enlèvent toutefois pas la pertinence du traitement si les produits plus toxiques ne sont pas plus résistants aux traitements municipaux. L'étude technico-économique met en lumière également que cette application serait coûteuse (27\$ par mètre cube annuellement), que les besoins énergétiques sont élevés et qu'il pourrait être nécessaire d'ajouter au traitement une étape de préconcentration dans le contexte d'eaux usées hospitalières afin d'augmenter la DCO et diminuer le débit. Les résultats de l'étude sont un bon point de départ pour permettre au CTTEI de continuer les recherches appliquées de cette technologie verte avec un traitement en mode continu. D'ailleurs, il est prévu qu'un procédé pilote soit instauré à leurs installations prochainement. Une continuation du projet est actuellement réalisée au laboratoire du professeur Segura sur l'étude des produits de transformation. Cette partie très importante apportera des

éclaircissements quant au devenir des composés afin de mieux comprendre la chaîne complexe de dégradation que subissent les produits initiaux. Cela pourrait également aider à trouver ce qui provoque une toxicité augmentée après traitement. Il serait également intéressant d'étudier la corrélation entre toxicité et biodégradabilité selon la durée du traitement afin de continuer l'optimisation et la compréhension de l'avantage de la méthode. Ce genre de projet aide à trouver des solutions aux problématiques environnementales. Cette étude a d'ailleurs eu l'attention de quelques acteurs du milieu hospitalier, ce qui montre que ces technologies vertes peuvent avoir un réel impact.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) Sauvé, S.; Desrosiers, M. A Review of What Is an Emerging Contaminant. *Chem. Cent. J.* **2014**, 8 (1), 15.
- (2) Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). *Toxicological Profile for DDT, DDE, and DDD*; Atlanta, GA, 2019.
- (3) Bio, S.; Nunes, B. Acute Effects of Diclofenac on Zebrafish: Indications of Oxidative Effects and Damages at Environmentally Realistic Levels of Exposure. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **2020**, 78, 103394.
- (4) Stackelberg, P. E.; Furlong, E. T.; Meyer, M. T.; Zaugg, S. D.; Henderson, A. K.; Reissman, D. B. Persistence of Pharmaceutical Compounds and Other Organic Wastewater Contaminants in a Conventional Drinking-Water-Treatment Plant. *Sci. Total Environ.* **2004**, 329 (1), 99–113.
- (5) WHO. *Pharmaceuticals in Drinking-Water*; World Health Organization, 2012.
- (6) Kaushik, G.; Thomas, M. A. The Potential Association of Psychoactive Pharmaceuticals in the Environment with Human Neurological Disorders. *Sustain. Chem. Pharm.* **2019**, 13, 100148.
- (7) Kolar, B.; Moermond, C.; Hickmann, S. Veterinary Pharmaceuticals. **2016**, 255–285.
- (8) K ster, A.; Adler, N. Pharmaceuticals in the Environment: Scientific Evidence of Risks and Its Regulation. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **2014**, 369 (1656), 20130587.
- (9) Van Boeckel, T. P.; Gandra, S.; Ashok, A.; Caudron, Q.; Grenfell, B. T.; Levin, S. A.; Laxminarayan, R. Global Antibiotic Consumption 2000 to 2010: An Analysis of National Pharmaceutical Sales Data. *Lancet Infect. Dis.* **2014**, 14 (8), 742–750.

- (10) OECD. Pharmaceutical Consumption. In *Health at a Glance 2017: OECD Indicators*; OECD Publishing: Paris, 2017; pp 190–191.
- (11) Kraemer, S. A.; Ramachandran, A.; Perron, G. G. Antibiotic Pollution in the Environment: From Microbial Ecology to Public Policy. *Microorganisms* **2019**, 7 (6), 180.
- (12) Sandegren, L. Selection of Antibiotic Resistance at Very Low Antibiotic Concentrations. *Ups. J. Med. Sci.* **2014**, 119 (2), 103–107.
- (13) Bengtsson-Palme, J.; Larsson, D. G. J. Concentrations of Antibiotics Predicted to Select for Resistant Bacteria: Proposed Limits for Environmental Regulation. *Environ. Int.* **2016**, 86, 140–149.
- (14) O'Neill, J. *Antimicrobial Resistance: Tackling a Crisis for the Health and Wealth of Nations*; 2014.
- (15) Martin, P.; Abou Chakra, C. N.; Williams, V.; Bush, K.; Dyck, M.; Hirji, Z.; Kiss, A.; Larios, O. E.; McGeer, A.; Moore, C.; et al. Prevalence of Antibiotic-Resistant Organisms in Canadian Hospitals. Comparison of Point-Prevalence Survey Results from 2010, 2012, and 2016. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **2019**, 40 (1), 53–59.
- (16) Jelić, A.; Gros, M.; Petrović, M.; Ginebreda, A.; Barceló, D. Occurrence and Elimination of Pharmaceuticals During Conventional Wastewater Treatment. In *Emerging and Priority Pollutants in Rivers: Bringing Science into River Management Plans*; Guasch, H., Ginebreda, A., Geislinger, A., Eds.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2012; pp 1–23.
- (17) Nam, S.-W.; Jo, B.-I.; Yoon, Y.; Zoh, K.-D. Occurrence and Removal of Selected Micropollutants in a Water Treatment Plant. *Chemosphere* **2014**, 95, 156–165.
- (18) Shraim, A.; Diab, A.; Alsuhaime, A.; Niazy, E.; Metwally, M.; Amad, M.; Sioud, S.; Dawoud, A. Analysis of Some Pharmaceuticals in Municipal Wastewater of Almadinah Almunawarah. *Arab. J. Chem.* **2017**, 10, S719–S729.

- (19) Ville de Montréal. Surverses
http://ville.montreal.qc.ca/portal/page?_pageid=6497,54389572&_dad=portal&_schema=PORTAL (accessed Aug 25, 2020).
- (20) Santos, L. H. M. L. M.; Gros, M.; Rodriguez-Mozaz, S.; Delerue-Matos, C.; Pena, A.; Barceló, D.; Montenegro, M. C. B. S. M. Contribution of Hospital Effluents to the Load of Pharmaceuticals in Urban Wastewaters: Identification of Ecologically Relevant Pharmaceuticals. *Sci. Total Environ.* **2013**, 461–462, 302–316.
- (21) Williams, R. T. *Human Pharmaceuticals: Assessing the Impacts on Aquatic Ecosystems*; SETAC Press, 2005.
- (22) Hébert, M. *Guide Sur Le Recyclage Des Matières Résiduelles Fertilisantes Critères de Référence et Normes Réglementaires Édition de Décembre 2015*; Québec, 2015.
- (23) Segura, P. A.; François, M.; Gagnon, C.; Sauvé, S. Review of the Occurrence of Anti-Infectives in Contaminated Wastewaters and Natural and Drinking Waters. *Environ. Health Perspect.* **2009**, 117 (5), 675–684.
- (24) Kümmerer, K. The Presence of Pharmaceuticals in the Environment Due to Human Use – Present Knowledge and Future Challenges. *J. Environ. Manage.* **2009**, 90 (8), 2354–2366.
- (25) Daughton, C. G.; Ruhoy, I. S. Environmental Footprint of Pharmaceuticals: The Significance of Factors beyond Direct Excretion to Sewers. *Environ. Toxicol. Chem.* **2010**, 28 (12), 2495–2521.
- (26) Oliveira, T. S.; Murphy, M.; Mendola, N.; Wong, V.; Carlson, D.; Waring, L. Characterization of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Hospital Effluent and Waste Water Influent/Effluent by Direct-Injection LC-MS-MS. *Sci. Total Environ.* **2015**, 518–519, 459–478.
- (27) Ort, C.; Lawrence, M. G.; Reungoat, J.; Eaglesham, G.; Carter, S.; Keller, J. Determining the Fraction of Pharmaceutical Residues in Wastewater Originating

from a Hospital. *Water Res.* **2010**, *44* (2), 605–615.

- (28) Verlicchi, P.; Al Aukidy, M.; Galletti, A.; Petrovic, M.; Barceló, D. Hospital Effluent: Investigation of the Concentrations and Distribution of Pharmaceuticals and Environmental Risk Assessment. *Sci. Total Environ.* **2012**, *430*, 109–118.
- (29) Rowe, W. P. M.; Baker-Austin, C.; Verner-Jeffreys, D. W.; Ryan, J. J.; Micallef, C.; Maskell, D. J.; Pearce, G. P. Overexpression of Antibiotic Resistance Genes in Hospital Effluents over Time. *J. Antimicrob. Chemother.* **2017**, *72* (6), 1617–1623.
- (30) Szekeres, E.; Baricz, A.; Chiriac, C. M.; Farkas, A.; Opris, O.; Soran, M.-L.; Andrei, A.-S.; Rudi, K.; Balcázar, J. L.; Dragos, N.; et al. Abundance of Antibiotics, Antibiotic Resistance Genes and Bacterial Community Composition in Wastewater Effluents from Different Romanian Hospitals. *Environ. Pollut.* **2017**, *225*, 304–315.
- (31) Ambulkar, A.; Nathanson, J. A. Wastewater Treatment. *Encyclopedia Britannica*; 2021.
- (32) Souza, F. S.; Da Silva, V. V.; Rosin, C. K.; Hainzenreder, L.; Arenzon, A.; Pizzolato, T.; Jank, L.; Féris, L. A. Determination of Pharmaceutical Compounds in Hospital Wastewater and Their Elimination by Advanced Oxidation Processes. *J. Environ. Sci. Heal. Part A* **2018**, *53* (3), 213–221.
- (33) Zou, L. Y.; Li, Y.; Hung, Y.-T. Wet Air Oxidation for Waste Treatment. In *Advanced Physicochemical Treatment Technologies*; Wang, L. K., Hung, Y.-T., Shamas, N. K., Eds.; Humana Press: Totowa, NJ, 2007; pp 575–610.
- (34) Zhan, W.; Wang, X.; Li, D.; Ren, Y.; Liu, D.; Kang, J. Catalytic Wet Air Oxidation of High Concentration Pharmaceutical Wastewater. *Water Sci. Technol.* **2013**, *67* (10), 2281–2286.
- (35) Collado, S.; Garrido, L.; Laca, A.; Diaz, M. Wet Oxidation of Salicylic Acid Solutions. *Environ. Sci. Technol.* **2010**, *44* (22), 8629–8635.
- (36) Dietrich, M. J.; Randall, T. L.; Canney, P. J. Wet Air Oxidation of Hazardous

Organics in Wastewater. *Environ. Prog.* **1985**, 4 (3), 171–177.

- (37) Malik, S. N.; Saratchandra, T.; Tembhekar, P. D.; Padoley, K. V; Mudliar, S. L.; Mudliar, S. N. Wet Air Oxidation Induced Enhanced Biodegradability of Distillery Effluent. *J. Environ. Manage.* **2014**, 136, 132–138.
- (38) Bhargava, S. K.; Tardio, J.; Prasad, J.; Föger, K.; Akolekar, D. B.; Grocott, S. C. Wet Oxidation and Catalytic Wet Oxidation. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2006**, 45 (4), 1221–1258.
- (39) Kumar, V.; Singh, K.; Shah, M. P. Chapter 1: Advanced Oxidation Processes for Complex Wastewater Treatment. In *Advanced Oxidation Processes for Effluent Treatment Plants*; Shah, M. P., Ed.; Elsevier, 2021; pp 1–31.
- (40) Zaviska François ; Drogui, P. ; M. G. ; B. J.-F. Procédés d’oxydation Avancée Dans Le Traitement Des Eaux et Des Effluents Industriels: Application à La Dégradation Des Polluants Réfractaires. *Rev. des Sci. l’eau / J. Water Sci.* **2009**, 22 (4), 535–564.
- (41) Verlicchi, P. Pharmaceutical Concentrations and Loads in Hospital Effluents: Is a Predictive Model or Direct Measurement the Most Accurate Approach? In *Hospital Wastewaters: Characteristics, Management, Treatment and Environmental Risks*; Verlicchi, P., Ed.; Springer International Publishing: Cham, 2018; pp 101–133.
- (42) Weissbrodt, D.; Kovalova, L.; Ort, C.; Pazhepurackel, V.; Moser, R.; Hollender, J.; Siegrist, H.; McArdell, C. S. Mass Flows of X-Ray Contrast Media and Cytostatics in Hospital Wastewater. *Environ. Sci. Technol.* **2009**, 43 (13), 4810–4817.
- (43) Le Corre, K. S.; Ort, C.; Kateley, D.; Allen, B.; Escher, B. I.; Keller, J. Consumption-Based Approach for Assessing the Contribution of Hospitals towards the Load of Pharmaceutical Residues in Municipal Wastewater. *Environ. Int.* **2012**, 45, 99–111.
- (44) Gad, S. C. LD50/LC50 (Lethal Dosage 50/Lethal Concentration 50); Wexler, P. B. T.-E. of T. (Second E., Ed.; Elsevier: New York, 2005; pp 701–704.

- (45) Rusconi, F. *Manuel de Spectrométrie de Masse à l'usage Des Biochimistes*; Lavoisier, 2011.
- (46) Commission of the European Communities. Commission Decision (2002/657/EC) of 12 August 2002 Implementing Council Directive 96/23/EC Concerning the Performance of Analytical Methods and the Interpretation of Results. *Off. J. Eur. Communities* **2002**, L221, 8–36.
- (47) Barry, K. Effets Sous-Létaux d'un Mélange de Contaminants d'intérêt Émergent Sur l'espèce Modèle Daphnia Magna, Université de Sherbrooke, 2018.
- (48) Venne, P.; Yargeau, V.; Segura, P. A. Quantification of Ecdysteroids and Retinoic Acids in Whole Daphnids by Liquid Chromatography-Triple Quadrupole Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2016**, 1438, 57–64.
- (49) Lee, Y.; von Gunten, U. Oxidative Transformation of Micropollutants during Municipal Wastewater Treatment: Comparison of Kinetic Aspects of Selective (Chlorine, Chlorine Dioxide, FerrateVI, and Ozone) and Non-Selective Oxidants (Hydroxyl Radical). *Water Res.* **2010**, 44 (2), 555–566.
- (50) Debellefontaine, H.; Foussard, J. N. Wet Air Oxidation for the Treatment of Industrial Wastes. Chemical Aspects, Reactor Design and Industrial Applications in Europe. *Waste Manag.* **2000**, 20 (1), 15–25.
- (51) Li, L.; Chen, P.; Gloyna, E. F. Generalized Kinetic Model for Wet Oxidation of Organic Compounds. *AIChE J.* **1991**, 37 (11), 1687–1697.
- (52) Ingale, M. N.; Joshi, J. B.; Mahajani, V. V; Gada, M. K. Waste Treatment of an Aqueous Waste Stream from a Cyclohexane Oxidation Unit: A Case Study. *Process Saf. Environ. Prot.* **1996**, 74 (4), 265–272.
- (53) Mantzavinos, D.; Lauer, E.; Hellenbrand Rolf; Livingston, A. G.; Metcalfe, I. S. Wet Oxidation as a Pretreatment Method for Wastewaters Contaminated by Bioresistant Organics. *Water Sci. Technol.* **1997**, 36 (2), 109–116.

- (54) Hii, K.; Baroutian, S.; Parthasarathy, R.; Gapes, D. J.; Eshtiaghi, N. A Review of Wet Air Oxidation and Thermal Hydrolysis Technologies in Sludge Treatment. *Bioresour. Technol.* **2014**, *155*, 289–299.
- (55) Luan, M.; Jing, G.; Piao, Y.; Liu, D.; Jin, L. Treatment of Refractory Organic Pollutants in Industrial Wastewater by Wet Air Oxidation. *Arab. J. Chem.* **2017**, *10*, S769–S776.
- (56) Hoare, D. E.; Protheroe, J. B.; Walsh, A. D. Thermal Decomposition of Hydrogen Peroxide Vapour. *Nature* **1958**, *182* (4636), 654.
- (57) Mishra, V. S.; Mahajani, V. V.; Joshi, J. B. Wet Air Oxidation. *Ind. Eng. Chem. Res.* **1995**, *34* (1), 2–48.
- (58) May, W. G. Wet Air Oxidation. In *Scientific Advances in Alternative Demilitarization Technologies*; Holm, F. W., Ed.; Springer Netherlands: Dordrecht, 1996; pp 111–128.
- (59) Tungler, A. Wet Air Oxidation of Aqueous Wastes; Szabados, E., Ed.; IntechOpen: Rijeka, 2015; p Ch. 6.
- (60) Levec, J.; Pintar, A. Catalytic Wet-Air Oxidation Processes: A Review. *Catal. Today* **2007**, *124* (3), 172–184.
- (61) Siemens AG. *Zimpro® Wet Air Oxidation Systems: The Cleanest Way to Treat the Dirtiest Water. Water Solutions*; 2013.
- (62) 3V Tech S.p.A. Technologies et solutions - Eau Usée Caustique <https://www.3v-tech.com/fr/technologies-and-solutions/17/eau-usee-caustique> (accessed May 2, 2021).
- (63) Pinchai, C.; Monnot, M.; Lefèvre, S.; Boutin, O.; Moulin, P. Coupling Membrane Filtration and Wet Air Oxidation for Advanced Wastewater Treatment: Performance at the Pilot Scale and Process Intensification Potential. *Can. J. Chem. Eng.* **2020**, *98* (4), 969–978.

- (64) Ebert, D. Introduction to the Ecology, Epidemiology, and Evolution of Parasitism in *Daphnia*. *Natl. Libr. Med. Natl. Cent. Biotechnol. Inf.* **2005**.
- (65) Jonczyk, E.; Gilron, G. Acute and Chronic Toxicity Testing with *Daphnia* Sp. In *Small-scale Freshwater Toxicity Investigations: Toxicity Test Methods*; Blaise, C., Férard, J.-F., Eds.; Springer Netherlands: Dordrecht, 2005; pp 337–393.
- (66) Environnement Canada. *Méthode d'essai Biologique : Méthode de Référence Pour La Détermination de La Létalité Aiguë d'effluents Chez Daphnia Magna*; 2000.
- (67) CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Détermination de La Toxicité Létale CL50 48h Daphnia Magna*. MA. 500 – D.Mag. 1.1, Rév. 2; 2016.
- (68) US EPA. Acute Freshwater Crustacean Bioassay: 48 Hour Acute Toxicity Test Using *Daphnia Magna* or *Daphnia Pulex*. In *Compendium of ERT toxicity testing procedures*; U.S. Environmental Protection Agency; Office of Solid Waste and Emergency Response: Washington, DC, 1991.
- (69) National Center for Biotechnology Information. 20-Hydroxyecdysone | C27H44O7 - PubChem Database, CID=5459840, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/20-Hydroxyecdysone> (accessed Jun 23, 2020).
- (70) Martin-Creuzburg, D.; Westerlund, S. A.; Hoffmann, K. H. Ecdysteroid Levels in *Daphnia Magna* during a Molt Cycle: Determination by Radioimmunoassay (RIA) and Liquid Chromatography–Mass Spectrometry (LC–MS). *Gen. Comp. Endocrinol.* **2007**, *151* (1), 66–71.
- (71) Mu, X.; LeBlanc, G. A. Developmental Toxicity of Testosterone in the Crustacean *Daphnia Magna* Involves Anti-Ecdysteroidal Activity. *Gen. Comp. Endocrinol.* **2002**, *129* (2), 127–133.
- (72) Mu, X.; LeBlanc, G. A. Environmental Antiecdysteroids Alter Embryo

Development in the Crustacean *Daphnia Magna*. *J. Exp. Zool.* **2002**, 292 (3), 287–292.

- (73) Sumiya, E.; Ogino, Y.; Miyakawa, H.; Hiruta, C.; Toyota, K.; Miyagawa, S.; Iguchi, T. Roles of Ecdysteroids for Progression of Reproductive Cycle in the Fresh Water Crustacean *Daphnia Magna*. *Front. Zool.* **2014**, 11 (1), 60.
- (74) Bodar, C. W. M.; Voogt, P. A.; Zandee, D. I. Ecdysteroids in *Daphnia Magna*: Their Role in Moulting and Reproduction and Their Levels upon Exposure to Cadmium. *Aquat. Toxicol.* **1990**, 17 (4), 339–350.
- (75) Metcalfe, C.; Miao, X.-S.; Hua, W.; Letcher, R.; Servos, M. Pharmaceuticals in the Canadian Environment. In *Pharmaceuticals in the Environment: Sources, Fate, Effects and Risks*; Kümmerer, K., Ed.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2004; pp 67–90.
- (76) Flaherty, C. M.; Dodson, S. I. Effects of Pharmaceuticals on *Daphnia* Survival, Growth, and Reproduction. *Chemosphere* **2005**, 61 (2), 200–207.
- (77) Han, G. H.; Hur, H. G.; Kim, S. D. Ecotoxicological Risk of Pharmaceuticals from Wastewater Treatment Plants in Korea: Occurrence and Toxicity to *Daphnia Magna*. *Environ. Toxicol. Chem.* **2006**, 25 (1), 265–271.
- (78) Wolfe, D.; Schorr, M.; Hanson, M.; Nelson, C. H.; Richards, S. M. Hazard Assessment for a Pharmaceutical Mixture Detected in the Upper Tennessee River Using *Daphnia Magna*. *Glob. J. Environ. Sci. Manag.* **2015**, 1 (1), 1–14.
- (79) de Oliveira, L. L. D.; Antunes, S. C.; Gonçalves, F.; Rocha, O.; Nunes, B. Acute and Chronic Ecotoxicological Effects of Four Pharmaceuticals Drugs on Cladoceran *Daphnia Magna*. *Drug Chem. Toxicol.* **2016**, 39 (1), 13–21.
- (80) Fong, P. P. Zebra Mussel Spawning Is Induced in Low Concentrations of Putative Serotonin Reuptake Inhibitors. *Biol. Bull.* **1998**, 194 (2), 143–149.
- (81) Stanley, J. K.; Perkins, E. J.; Habib, T.; Sims, J. G.; Chappell, P.; Escalon, B. L.;

Wilbanks, M.; Garcia-Reyero, N. The Good, the Bad, and the Toxic: Approaching Hormesis in *Daphnia Magna* Exposed to an Energetic Compound. *Environ. Sci. Technol.* **2013**, *47* (16), 9424–9433.