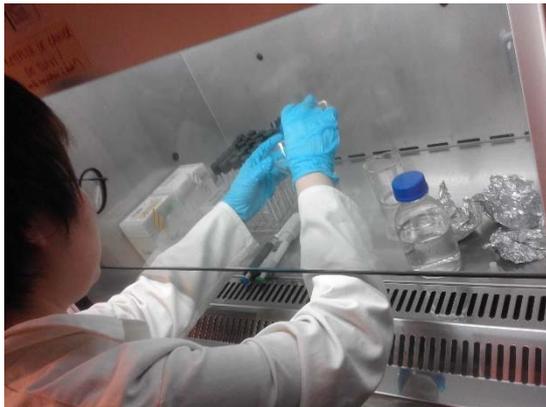


# Manuel « mesures »



## Module HYDRO Atelier eau et environnement urbain

Département VET, Ecole des Ponts  
Formation d'ingénieur 1A

2023 – 2024 (v2)

coordination : [martin.seidl@enpc.fr](mailto:martin.seidl@enpc.fr)

Module	<b>Atelier Eau et Environnement urbain</b>
Département	<b>VET</b>
Année	<b>2023-2024</b>
Date	<b>Février – Mai, les mercredis</b>
Enseignant responsable	Martin SEIDL (matin), martin.seidl@enpc.fr Bernard DE GOUELLO et Bruno TASSIN (après-midi)
Equipe enseignante	Philippe Dubois, Lucas Friceau, Arthur Guillot Le Goff, Mohamed Saad, Martin Seidl, Brigitte Vinçon Leite, Guilherme Calabro, Tinghao Huang, Hayath Zime Yerima,
Prérequis	Aucun

L'homme par ses différentes activités impacte profondément les milieux naturels, ainsi l'ingénieur doit aujourd'hui avoir la capacité de mesurer et d'interpréter le fonctionnement des écosystèmes et de leurs perturbations, pour pouvoir proposer des mesures adéquates de gestion ou de remédiation. Dans ce contexte, le module d'approfondissement " eau, mesure et environnement urbain" permettra aux étudiants :

- Objectifs du module
- d'identifier et analyser au travers d'un ensemble d'ateliers orientés sur la mesure environnementale, les interactions entre les fonctionnements physiques, chimiques et biologiques d'un milieu aquatique
  - de comprendre le fonctionnement des hydroécosystèmes, en liaison avec les activités socio-économiques de leur bassin versant
  - de concevoir des solutions pour la restauration écologique d'un cours d'eau et de son bassin versant, soumis à une pression anthropique majeure.

Programme du module

Les travaux des matinées sont organisés au travers de 8 ateliers pratiques, majoritairement sur le bassin versant du Merdereau, situé à proximité de l'école. Le bloc de huit 'ateliers est précédé des cours théorique et suivi de séance d'analyse et de restitution des données acquises. Chaque étudiant participe successivement à chacun des ateliers, où il est amené à une prise de conscience des difficultés spécifiques de la mesure au travers de l'instrumentation et de l'analyse des résultats. Un focus particulier est donné sur de nouvelles techniques d'instrumentation et de mesure à haute fréquence.

L'après-midi est dédiée à un sujet d'actualité. Après plusieurs interventions des spécialistes permettant de porter différents regards sur la question, les étudiants travaillent en petites équipes sur des sous-projets spécifiques durant la seconde moitié du module.

Adresse du site du module	<a href="https://educnet.enpc.fr/course/view.php?id=344">https://educnet.enpc.fr/course/view.php?id=344</a> <a href="https://www.leesu.fr/atelier-eau-et-environnement-urbain">https://www.leesu.fr/atelier-eau-et-environnement-urbain</a>
Modalités	13 séances de 3h heures 8h30 – 11h15
Contrôle des connaissances - Règles de validation du module	Le contrôle des connaissances est la participation aux séances et l'implication des étudiants, ainsi que sur la qualité de l'analyse des résultats obtenus, au travers d'un rapport et d'une soutenance
Effectif maximal	Effectif limité à 20 élèves
Département de rattachement	Département Ville Environnement Transport
Nombre de crédits ECTS	6 crédits ECTS
Code	HYDRO

Mise à jour : 7 juin 2024

## Sommaire des ateliers

1. **Qualité des eaux** p5  
Mohamed SAAD
2. **Microbiologie des eaux de baignade** p10  
Martin SEIDL
3. **Suivi du fonctionnement thermique et biologique des plans d'eau urbains** p16  
Brigitte Vinçon-Leite, Philippe Dubois, Arthur Guillot
4. **Caractérisation de la matière organique dissoute par spectrofluorimétrie 3D** p19  
Arthur Guillot
5. **Caractérisation de la pollution microplastiques dans l'environnement** p22  
Lucas FRICEAU
6. **Flux benthiques** p24  
Guilherme CALABRO
7. **Mesure de débit** p26  
Mohamed SAAD
8. **Gestion à la source du ruissellement urbain** p32  
**Sustainable stormwater management in urban areas**  
Hayath ZIME YERIMA and Tinghao HUANG,

## Module: ENPC VET, Atelier Eau et Environnement urbain (HYDRO) Atelier: Qualité eaux et chlorophylle a

Mohamed SAAD / Martin SEIDL

Mohamed.saad@enpc.fr / martin.seidl@enpc.fr - mars 2024

### 1. OBJECTIFS & CONTEXTE

L'atelier "qualité des eaux" a pour objectif :

- Apprendre à connaître les paramètres de base de qualité d'eau douce
- Savoir mesurer des paramètres de base sur le terrain et au laboratoire
- Savoir évaluer la qualité d'eau du lac de Bailly

Les paramètres de qualité permettent d'estimer l'état de santé (pollution) d'un plan d'eau. La comparaison de ces paramètres avec des valeurs obtenus dans des conditions géomorphologiques et climatiques comparables en absence d'activité humaine, permet de déterminer l'état du plan d'eau.

Les paramètres de qualités peuvent être divisés selon les processus de base qui les représentent :

- Physiques : température, conductivité, matières en suspension (MES), turbidité (ou transparence)
- Chimiques : pH, O<sub>2</sub>, <N>, <P>, anions, cations, *micro polluants etc*
- Biologiques : DBO<sub>5</sub>, chlorophylle-A, *bactéries etc*

Les paramètres physico-chimiques de base nous renseignent principalement sur la géomorphologie, l'hydrologie et les conditions climatiques (**conductivité, turbidité, MES, pH et température**). Une conductivité faible indique des eaux faiblement chargées en sel minéraux ou mélange des eaux pluviales. Une conductivité élevée indique en général une pollution. Une turbidité ou matières en suspension (MES), élevée peut indiquer par exemple l'érosion ou la surproduction algale.

Les paramètres chimiques nous renseignent sur la présence des éléments nutritifs comme l'azote et le phosphore (**NH<sub>4</sub>, NO<sub>3</sub>, PO<sub>4</sub>**) et un éventuel impact des activités humaines. Des teneurs en nutriments élevées indique une pollution domestique (fosses septique, lessives etc) ou agricole (engrais). Les éléments nutritifs déterminent la production algale (primaire).

Les paramètres biologiques donnent des valeurs intégratrices de la chaîne trophique de base. La concentration d'algues peut être estimée par la mesure de **chlorophylle-A**. Un état de surproduction algale est appelé l'eutrophisation. Une production de biomasse ou de matière organique élevée engendre une augmentation de la décomposition ou biodégradation. La quantité des matières organiques biodégradables est estimée par la mesure de demande biologique ou biochimique en oxygène (**DBO<sub>5</sub>**).

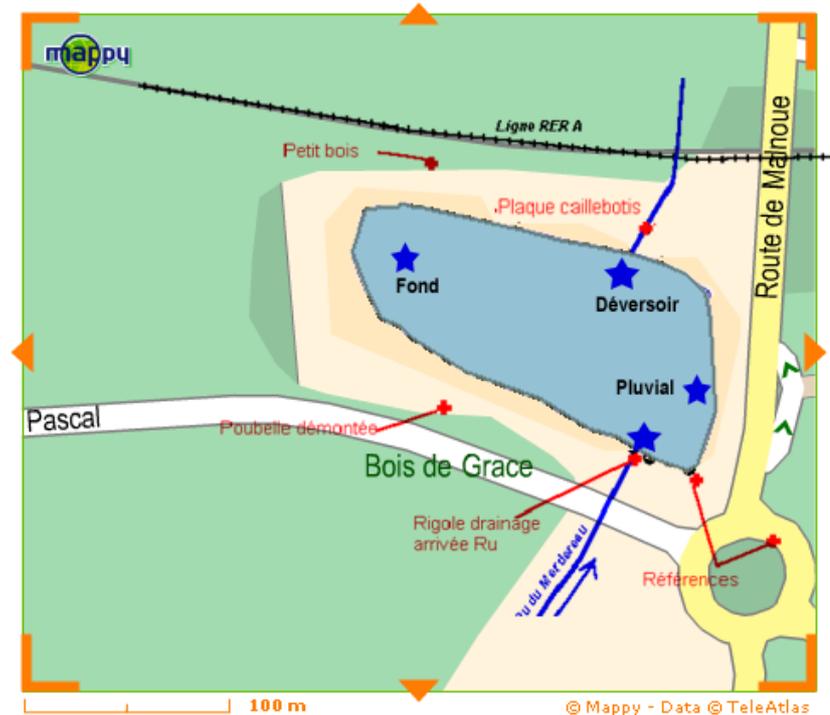
## 2. PRATIQUE

### 1.1 Visite de terrain

#### L'étang de Bailly

Il a une superficie de 1,25 ha. Sa capacité de stockage est de 55 000 m<sup>3</sup>. Il est traversé par le rû, et sa cote est contrôlée par un déversoir en étoile, permettant une grande longueur de déversement sur une surface restreinte et donc une très faible variation du niveau d'eau pour des pluies de retour peu importantes.

Sur le pourtour du lac des macrophytes (phragmites, carex, typha, iris) se sont développés, ainsi que des bosquets d'arbustes. Des oiseaux (canards, poules d'eau, ...) viennent y nicher. Par ailleurs le bassin a une vocation piscicole, et de nombreux pêcheurs s'y rassemblent aux beaux jours.



### 1.2 Prise de l'échantillon

Sur l'étang quatre points d'échantillonnage ont été fixés : Fond, Déversoir, Pluvial et Merdereau. Les échantillons sont pris 10 cm sous la surface de l'eau à la main ou au seau à 1 mètre du bord. Dans les deux cas, le récipient (flacon PEHD 1 litre) pour transporter et/ou stocker l'échantillon est rincé 3 fois avant la prise définitive. Le récipient est marqué du nom du point d'échantillonnage.

#### 1.2.1 Mesures des paramètres physico-chimiques de base in situ

Le restant de l'échantillon (seau) est utilisé pour les mesures des paramètres physico-chimiques : **Température, pH, conductivité et oxygène dissous (WTW), turbidité (HACH),**

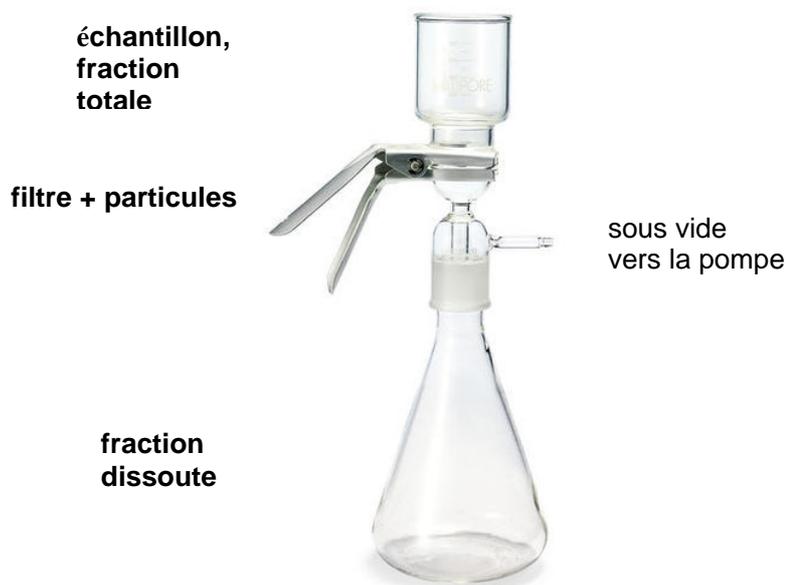
### 1.2.2 Traitement de l'échantillon au laboratoire

Par manque du temps, nous devons faire le choix de mesurer un de deux paramètres biologiques : Chlorophylle a ou la demande biologique en oxygène. Le choix s'est porté sur l'analyse de la « chlorophylle a ». Il est à noter, que pour la chlorophylle a, seuls les points « Déversoir » et « Merdereau » seront analysés et probablement le point « Centre » dans la mesure où l'atelier « Algues + suivi sondes » pourrait fournir l'échantillon avant le retour au laboratoire.

Chaque échantillon d'un litre est divisé en 2 parties :

<b>volume</b>	<b>paramètre</b>	<b>support</b>	<b>traitement</b>
200-500 mL	Chlorophylle A	Filtre GF/C non grillé Microfibres de verre	Un volume de 200-500 mL de chaque échantillon (2-3 échantillons) prélevé est filtré à l'aide d'un support de filtration en verre. Le filtrat est utilisé pour rincer le support de filtration puis jété. Le filtre avec de la biomasse est enroulé et déposé dans un tube en pp de 15 ml, fermé avec un bouchon, il est également protégé de la lumière avec un papier aluminium. Ce filtre sert à la mesure de la chlorophylle a. il sera conservé au congélateur en cas où le dosage de la chlorophylle ne sera pas à réaliser immédiatement (protocole ci-dessous).
200-500 mL	MES	Filtre GF/F grillé 520°C et pre-pesé	Un volume de 200-500 mL de chaque échantillon (4-5 échantillons) prélevé est filtré à l'aide d'un support de filtration en verre. Un volume d'environ 40 mL du filtrat de chaque échantillon est transvasé dans des tubes en verre ombré et annoté. Ces filtrats seront utilisés pour les mesures des matières organiques (atelier Fluo3D). Le filtre est remis dans une boîte de pétri en plastique annoté et séché à 40-60°C pendant 2-7 jours. Le filtre est pesé une fois séché pour déterminer la quantité des matières retenues et calculer la concentration en MES.

**Figure :** kit de filtration en verre pour des filtres de 47 mm de diamètre, avec une sortie vers une pompe à vide avec protection contre reflux.



### 1.3 Mesures de la Chlorophylle a

Les chlorophylles sont les pigments verts des végétaux capables de photosynthèse. Ces différentes chlorophylles ne diffèrent entre elles que par de petits détails de structure. Seule la chlorophylle *a* est constante pour tous les végétaux. Les chlorophylles sont responsables d'une partie importante, souvent majeure, de l'absorption de la lumière par les végétaux. La **chlorophylle a** (Chl a) est un indicateur indirect largement utilisé et accepté pour l'identification et l'estimation de la biomasse du phytoplancton, y compris les cyanobactéries. La méthode décrite par ce protocole est une méthode de dosage par spectrophotométrie UV-Visible. Bien que moins précises que les méthodes de dosage par HPLC et moins sensibles que celles par fluorescences, les techniques spectrophotométriques sont faciles à mettre en œuvre. Des ensembles d'équations à jour sont fournis, et une méthode simple utilisant 100% d'éthanol pour l'extraction de la **Chlorophylle a** est détaillée. Cette méthode est appliquée au LESSU sur des échantillons des lacs, elle est adaptée à l'appareillage que nous disposons. Le dosage de la **chlorophylle a** s'effectue sur un appareil Perkin Elmer – Lambda 35 par mesure de l'absorbance à plusieurs longueurs d'onde.

#### 1.3.1 Préparation des échantillons

Comme cité précédemment, Le principe de la méthode consiste à extraire, à l'éthanol absolu, la **chlorophylle a** se trouvant dans la phase particulaire de l'échantillon. Nous procédons par la suite à la mesure des absorbances dans le visible à différentes longueurs d'ondes. Ce dosage s'effectue sur des échantillons filtrés sur des membranes filtrantes en microfibrilles de verre de diamètre 47 mm et de 1,2 µm de porosité (filtre GFC, marque Whatman). Après filtration, d'un volume de 200-500 mL, le filtre est plié à l'aide des pinces métalliques, introduit dans un tube à essai (à fond conique) en polypropylène de 15 mL, le dosage s'effectue de la manière suivante :

- Ajouter 10 mL d'éthanol à 100% et agiter (vortexer) alternativement (énergiquement) en haut et en bas du tube pour briser le papier filtre (une agitation manuelle pourrait être bien efficace).
- Placer le tube pendant 10 min à 75 °C pour l'extraction de la **chlorophylle a** (bain-marie ou autre appareil de chauffage).
- Sonification pendant 10 min dans un bain à ultrasons contenant de l'eau déminéralisée et de la glace (cette étape peu réduire la turbidité des extraits).
- Si nécessaire, l'extraction peut être prolongée de 16 h à 4 °C.
- Centrifuger l'échantillon pendant 10 min, à 10 °C, 4000 tr/min. Assurez-vous qu'aucune particule de filtre reste dans la partie supérieure du tube.

NB : par manque de temps, les étapes marquées en rouge ne seront pas réalisables.

#### 1.3.2 Dosage des échantillons et expression des résultats

Le dosage sera effectué sur un spectrophotomètre UV Winlab – Lambda 35, de la marque PerkinElmer, piloté par un ordinateur, comme suivant :

- Préparer la séquence pour mesurer l'absorbance à plusieurs longueurs d'onde, en prévoyant un passage d'un blanc (solvant extraction : Ethanol) au début et après le passage d'une série de 3-5 échantillons.
- Réaliser le zéro de Spectrophotomètre avec le blanc (solvant d'extraction : Ethanol).
- Placer l'échantillon dans la cuvette et enregistrer l'absorbance à 632, 649, 665, 696 et 750 nm.

- Les valeurs d'absorbance à 632, 649, 665 et 696 nm doivent être corrigées en soustrayant la valeur enregistrée à 750 nm. L'absorbance des échantillons à 750 nm est révélatrice de la turbidité résiduelle non spécifique de l'échantillon et doit être de préférence inférieure à 0,010.
- Pour la quantification de la **Chlorophylle a** : utilisez la valeur d'absorbance corrigée à 665 nm et appliquez l'équation.1 pour obtenir la concentration en µg/L. La **Chlorophylle a** peut-être également quantifiée, en utilisant les valeurs d'absorbance corrigées à 632, 649, 665 et 696 nm et appliquer l'équation.2 pour obtenir la concentration en µg/L.

Les équations à appliquer sont les suivantes :

**Equation.1**

$$\text{Chl a } (\mu\text{g/L}) = 11,90 \times \text{Abs665} \times \text{Ve}/(\text{Vs} \times \text{l})$$

Où

Ve = volume d'extrait d'éthanol (mL)

Vs = volume d'échantillon d'eau (Litre)

l = longueur du trajet de la cuvette (cm)

**Equation.2**

Chl a (µg/L) =

$$\frac{[(0,06 \times \text{Abs632}) - (4,52 \times \text{Abs 649}) + (13,29 \times \text{Abs665}) - (1,74 \times \text{Abs696})] \times \text{Ve}}{(\text{Vsxl})}$$

A la fin de dosage, les résultats bruts de mesure sont enregistrés automatiquement dans un fichier brut, mais pour éviter tout problème de perte de résultats, il est conseillé de récupérer les données brutes dans un tableur (tel que Excel).

# Atelier: Microbiologie des eaux de baignade

Module : ENPC VET, Atelier Eau et Environnement urbain (HYDRO)

Martin SEIDL, martin.seidl@enpc.fr, mars 2024

## 1. OBJECTIFS & CONTEXTE

Des paramètres physico-chimiques et biologiques de qualité permettent d'estimer l'état d'un plan d'eau. La comparaison de des valeurs mesurées avec celles obtenus dans des conditions géomorphologiques et climatiques comparables mais en absence d'activité humaine, permet de déterminer le degré de contamination

Les paramètres microbiologiques nous renseignent plus spécifiquement sur la présence des microorganismes comme les bactéries ou les virus. La plupart est inoffensive pour l'homme mais certains peuvent être pathogènes. La technologie de marquage immunologique, combiné avec des marqueurs colorés spécifique, permet aujourd'hui d'identifier et de qualifier ces pathogènes. Pour le besoin de suivi de qualité d'eau on s'intéresse principalement à *Escherichia coli*, une bactérie indicatrice de possible présence des pathogènes issus du tube digestif humain et animal (mammifères et oiseaux).

L'Etat français contrôle régulièrement la qualité des principaux lieux de baignade. Ce contrôle effectué une fois par mois, permet de s'assurer de l'absence de pollutions ou d'organismes nuisibles, comme bactéries pathogènes ou des algues toxiques, sur les lieux de baignades. La norme de baignabilité est par exemple 1000 MPN /100 ml pour *E. Coli*. Pour savoir si l'on peut se baigner dans des eaux sans risque d'attraper une maladie ou d'être contaminé par une pollution on peut consulter le [site Baignades](#) du Ministère chargé de la santé publique.

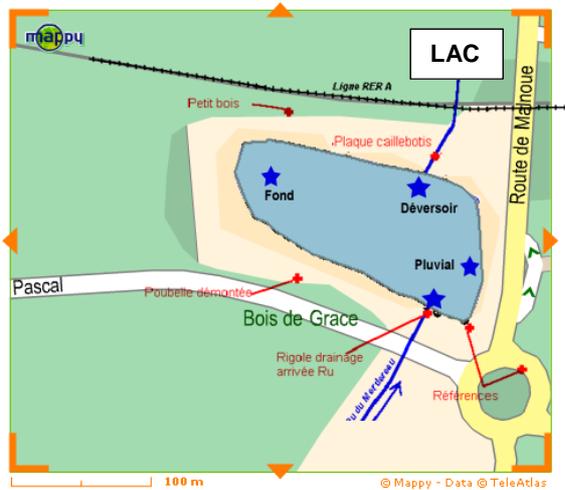
## 2. PRATIQUE

### 2.1 Prélèvements

#### L'étang de Bailly

L'étang se trouve sur l'avenue Blaise Pascal, à environ 650 mètre des bâtiments de l'Ecole en allant vers Noisiel, en face du stade du Bois de l'Etang. Il a une superficie de 1.25ha. Sa capacité est de 55 000 m<sup>3</sup>. Il est traversé par le ru, et sa cote est contrôlée par un déversoir en étoile, permettant une grande longueur de déversement sur une surface restreinte et donc une très faible variation du niveau d'eau pour des pluies de retour peu importantes. Sur le pourtour du lac des macrophytes (phragmites, carex, typha, iris) se sont développés, ainsi que des bosquets d'arbustes. Des oiseaux (canards, poules d'eau, grèbes huppés) viennent y nicher. Par ailleurs le bassin a une vocation piscicole, et de nombreux pêcheurs s'y rassemblent aux beaux jours. Sur l'étang 4 points d'échantillonnage existent : Fond, Déversoir, Pluvial et Merdereau. Le fond est un point peu perturbé et soumis aux écoulements des nappes du plateau, le Merdereau est l'entrée du lac Bailly provenant du lac en amont, le déversoir est le point de sortie le plus représentatif du lac et le point pluvial est le point pluvial est un point de drainage pluvial avec des possible branchements domestiques en amont.

Pour la microbiologie d'autres échantillons sont prise pour situer les eaux du lac par rapport aux autres eaux du territoire dans la mare devant le bâtiment Coriolis de l'ENPC, dans le récupérateur d'eau de pluie du jardins Pontanique et si possible d'autres eaux urbaines comme les eaux grises.



Plan du lac de Bailly avec les prélèvements LAC et le bâtiment Coriolis avec le prélèvement COR

## 2.2 Prise d'échantillon



Les échantillons sont pris 10 cm sous la surface de l'eau directement avec une main gantée dans un flacon de prélèvement ou à l'aide d'un seau à 1 mètre du bord. Les récipients de prélèvements (flacon PEHD 1litre pour analyse chimiques/ flacon en verre stérile pour les analyses microbio) sont rincés 3 fois avec l'échantillon avant la prise définitive. Le récipient est marqué (nom du point et la date d'échantillonnage) et transporté au laboratoire.

## 3. MESURES MICROBIOLOGIQUES

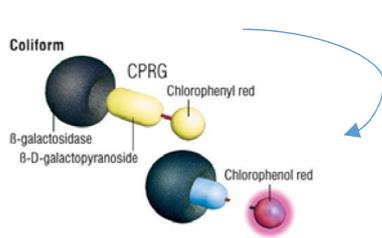
*Flore hétérotrophe totale, Coliformes, Escherichia Coli et si possible Entérocoques*

### 3.1 Principe

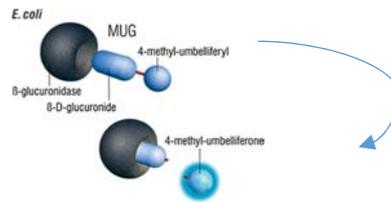
La détection des microorganismes non spécifiques se fait aujourd'hui encore de façon classique de comptage des colonies ayant poussées sur des géloses contenant des éléments nutritifs. Pour avoir une idée de la totalité des micro-organisme viable on utilise des boites stériles jetable avec gélose pré-coulée Compact Dry TC.

La détection des microorganismes spécifiques est basée sur le métabolisme sélectif d'un substrat coloré. Pour la détection de l'organisme normatif *Escherichia coli*, on utilise le test Colisure (IDEXX), qui détecte simultanément les coliformes totaux et *E. coli*. Le test utilise comme substrat (sources de nutriments) l'indicateur CPRG (chlorophenol red- $\beta$ -D galactopyranoside) et MUG (4-Méthylumbelliféryl- $\beta$ -D-glucuronide) relevant de la technologie (brevetée par IDEXX) "Defined Substrate Technology" pour détecter les coliformes et les *E. coli*. Les coliformes synthétisent l'enzyme  $\beta$ -galactosidase qui métabolise le CPRG et le fait passer du jaune au magenta. Les *E. coli* synthétisent la  $\beta$ -glucuronidase qui métabolise le MUG et génère ainsi une fluorescence, observable avec un éclairage UV.

Le test Enterolert détecte les Entérocoques d'une façon similaire avec un substrat adapté aux *Entérocoques*. On n'observe pas un changement de couleur mais uniquement un changement de fluorescence.



jaune -> violet = Coli



Si en plus du violet, bleu fluorescent = E. Coli

### 3.2 Matériel

#### Substrat

- Colisure de chez IDEXX pour les E. Coli et Coliformes
- Compact Dry TC de chez NPS pour la flore totale hétérotrophe

#### Prélèvement

- 3 flacons à bouchon en verre de 50 ml ou 100 ml, stérilisés
- Gant latex

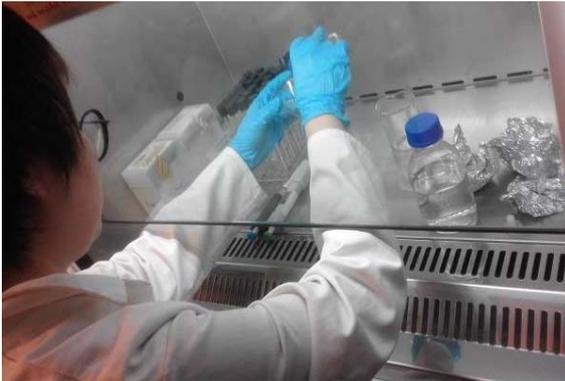
#### Dilution

- 1 Fiole 50 ml, stérilisée
- 2 Bêchers 50 ml ou 100 ml, stérilisés
- 1 Rack avec 20 Tubes en verre avec bouchon à vis, stérilisées
- 1 Rack vide
- 500 ml d'eau minérale, stérilisée
- Micropipettes 1 ml, 5 ml + cônes stérilisés
- Micropipette multicanaux
- « Haute à flux laminaire »
- Grande boîtes Pétri pour pipette multicanaux

#### Incubation

- Incubateur 35°C

### 3.3 Mise en incubation

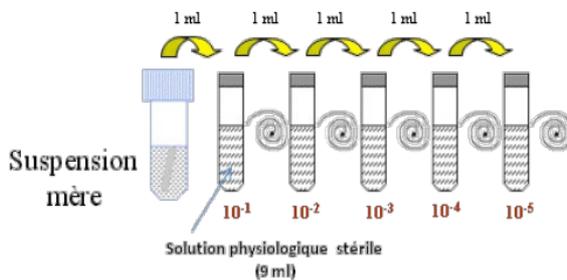


Manipulation sous « Haute à flux laminaire » !!

#### HETEROTROPHES

On fait une série de dilution dans des tubes d'essai en prenant 1 ml d'échantillon plus 9 ml d'eau distillée stérile. On dépose 1 ml de la dilution au centre de la gélose et on tourne doucement pour étaler l'échantillon, on referme la boîte et on laisse absorber 30 minutes avant d'empiler et transporter dans l'incubateur

Les boîtes sont incubées à  $35\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$  pendant 48 heures.



#### COLIFORMES

Substrat Colisure : Diluer 1 sachet dans 50 ml de l'eau stérile

Diluer les échantillons dans des tubes en verre de 20 ml, stérilisés avec de l'eau minérale stérile et du substrat (à concentration constante dans toutes les dilution) en obtenant volume final de 10 ml :

Exemples dilution :

1/2 : **5 ml substrat** + 5 ml échantillon

1/10 : **5 ml substrat** + 4 ml eau + 1 ml échantillon

1/100 : **4.5 ml substrat** + 4.5 ml eau + 1 ml dilution 1/10

1/1000 :

Une dilution positive (coloration violette) nous donne une indication sur la concentration à une dilution près

On peut améliorer la précision en travaillant avec nombreux répliques sur des microplaques de 96 puits (12 rangés de 8), chacun possédant un volume de 1 ml.

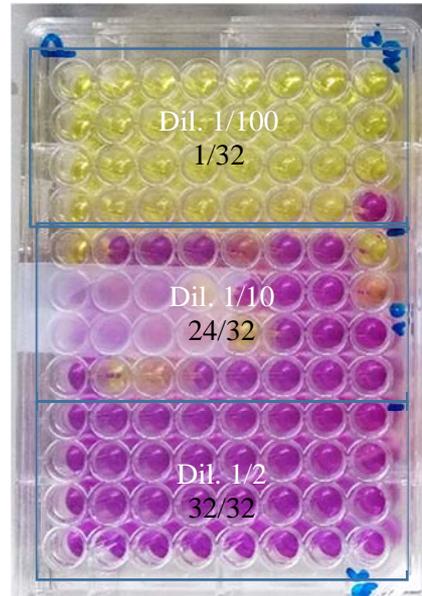
Sur une microplaque 96 puits stérile, on remplit ainsi par concentration, 4 rangés de 8, à l'aide d'une micropipette multicanaux (8) avec 180  $\mu\text{L}$  des dilutions faites auparavant (=6.4 ml). Chaque zone est à annoter avec un marqueur.

Les microplaques sont incubées à  $35\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$  pendant 24 heures.

### 3.4 Mesure /lecture des résultats

Lisez les résultats :

Chaque colonie est une CFU et doit être compté



Jaune = négatif

Magenta = coliformes totaux

Magenta + fluorescent = E. coli

#### Calcul des concentrations des microorganismes

**Boîtes Pétris : (CFU/100 ml).** Le nombre final (CFU) est la combinaison du nombre compté (n), du volume étalé (1 ml) et de la dilution (D). Si plusieurs comptages sont possibles on calcule la moyenne et l'écart type. Pour un comptage plus exacte on peut se servir de la grille et compter plusieurs fois.

$$N = (n / v / D) * 100 \text{ (Cfu/100 ml)}$$
$$N = \text{moyenne (100 000 ; 280 000 ; 144 000)}$$

**Microplaque : (MPN /100 ml)** Le nombres de puits positifs par concentration est noté et le numéro le plus probable des positifs par 100 ml est calculé avec le calculateur « MPN » de US EPA : <https://mostprobablenumbercalculator.epa.gov/mpnForm>. Utiliser les « settings » pour rentrer des valeurs spécifiques.

Comparez les résultats avec la norme de 1000 CFU/100 ml pour évaluer la baignabilité.

(<http://baignades.sante.gouv.fr/baignades/editorial/fr/controle/exemple.html>) pour *Escherichia coli*

*Comparez les échantillons entre eux et expliquer les éventuelle différence*

## REFERENCES

- Contrôle eau de baignade  
<https://baignades.sante.gouv.fr/baignades/editorial/fr/controle/organisation.html>
- Méthode commerciale Colisure /Colilert de chez IDEXX  
<https://www.idexx.fr/fr/water/water-products-services/colilert/>
- Validation scientifique de la méthode IDEXX  
TIWARI, Ananda, NIEMELÄ, Seppo I., VEPSÄLÄINEN, Asko, RAPALA, Jarkko, KALSO, Seija et PITKÄNEN, Tarja, 2016. Comparison of Colilert-18 with miniaturised most probable number method for monitoring of Escherichia coli in bathing water. Journal of Water and Health. février 2016. Vol. 14, n° 1, pp. 121-131. [DOI 10.2166/wh.2015.071](https://doi.org/10.2166/wh.2015.071).
- Basic Microbiology Techniques  
<https://conductscience.com/microbiology-techniques/>
- Bacteriological Analytical Manual (BAM)  
<https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam>
- Coliform Bacteria in Drinking Water  
<https://doh.wa.gov/community-and-environment/drinking-water/contaminants/coliform>
- Guidance on the Use of Heterotrophic Plate Counts in Canadian Drinking Water Supplies  
<https://www.canada.ca/en/health-canada/services/publications/healthy-living/guidance-use-heterotrophic-plate-counts-canadian-drinking-water-supplies.html>
- Most Probable Number from Serial Dilutions  
<https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-appendix-2-most-probable-number-serial-dilutions>
- Most Probable Number (MPN) Calculator  
<https://mostprobablenumbercalculator.epa.gov/mpnForm>

**Module : Suivi du fonctionnement thermique et biologique des plans d'eau urbains**  
**Mars - Mai 2024**

Brigitte Vinçon-Leite [b.vincon-leite@enpc.fr](mailto:b.vincon-leite@enpc.fr)

Philippe Dubois [philippe.dubois@enpc.fr](mailto:philippe.dubois@enpc.fr)

Arthur Guillot - Le Goff [arthur.guillot-legoff@enpc.fr](mailto:arthur.guillot-legoff@enpc.fr)

## **1 Objectif**

Cette séance est destinée à aborder les principaux éléments d'un suivi de la qualité de l'eau des écosystèmes lacustres en mettant en regard le fonctionnement physique et biogéochimique de ces milieux aquatiques. Les mesures seront réalisées sur l'étang de Bailly (Figure 1).



Figure 1 Etang de Bailly

## **2 Contexte**

### *2.1 Les plans d'eau urbains*

Un lac peut être défini comme un milieu aquatique d'eau douce dans lequel les vitesses de courant sont faibles. La profondeur est supérieure à 1 m et la surface supérieure à 1ha.

Les lacs urbains constituent des écosystèmes de très grande importance pour les nombreux services écosystémiques rendus : biodiversité, gestion des eaux pluviales, paysage, îlots de fraîcheur, loisirs... Le régime thermique et l'hydrodynamique de ces lacs, qui sont tout particulièrement impactés par le changement climatique, ont une forte influence sur leur fonctionnement écologique et sur le devenir des polluants dans la colonne d'eau. Il est important de mesurer la thermique et les variables physico-chimiques et biologiques afin de comprendre les couplages entre les fonctionnements hydrodynamique, biogéochimique et écologique, qui contrôlent l'évolution de l'écosystème.

### *2.2 Fonctionnement thermique*

L'importance de la dimension verticale dans les lacs explique l'apparition de la stratification thermique de la colonne d'eau à partir du printemps, en climat tempéré. Dans les plans d'eau de faible profondeur, la stratification thermique estivale est régulièrement interrompue par des épisodes de mélange (Figure 2).

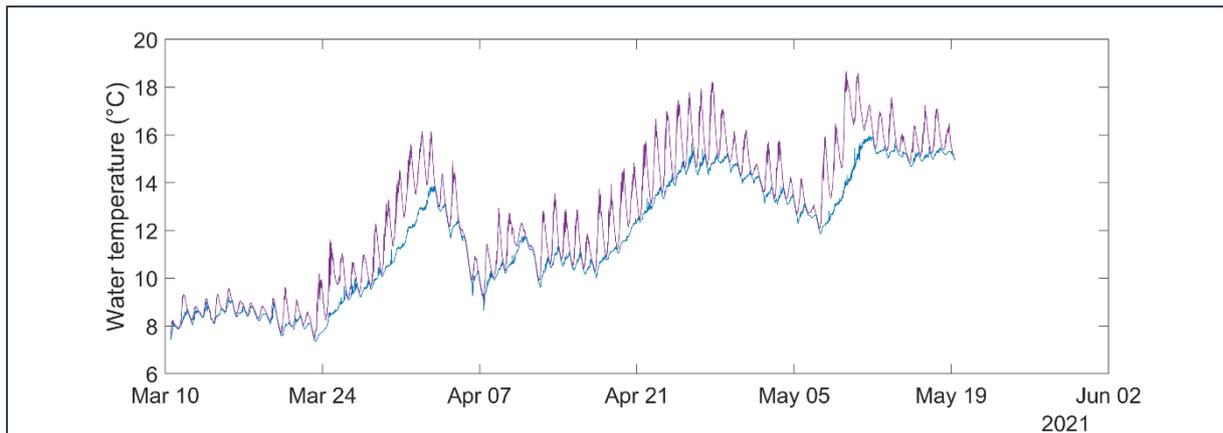


Figure 2 Mesures de température dans l'étang de Bailly, sous la surface et au-dessus du fond (2021)

### 2.3 Dynamique saisonnière du phytoplancton

Le suivi du phytoplancton (Figure 3) est essentiel pour l'évaluation de la qualité de l'eau et de la biodiversité d'un milieu aquatique. Pour comprendre la succession saisonnière du phytoplancton, plusieurs méthodes sont possibles. La plus précise est d'identifier les espèces phytoplanctoniques présentes, de quantifier leur abondance et leur biomasse dans des échantillons d'eau prélevés sur le terrain. En raison du temps long pour obtenir des données et des compétences approfondies nécessaires, une méthode de substitution basée sur la mesure de la chlorophylle-a est souvent utilisée. Toutes les cellules phytoplanctoniques contiennent de la chlorophylle-a, pigment indispensable pour réaliser la photosynthèse. La mesure de la concentration de chlorophylle-a peut être réalisée au laboratoire (voir séance « Chlorophylle »). De plus, la molécule de chlorophylle-a a la propriété d'émettre de la fluorescence à une longueur d'onde spécifique lorsqu'elle reçoit un rayonnement lumineux dans une longueur d'onde d'excitation spécifique. Cette propriété a permis le développement de sondes qui peuvent être déployées sur le terrain et permettent la mesure en temps réel de la chlorophylle.

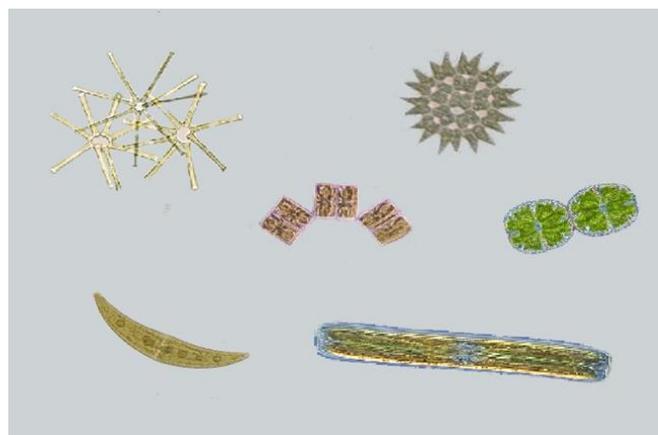


Figure 3 Quelques espèces de phytoplancton d'eau douce

### 3 Travail de terrain

#### 3.1 Le site d'étude : l'étang de Bailly

L'étang de Bailly est un bassin de rétention des eaux pluviales. Il est traversé par le ru du Merdereau, et sa cote est contrôlée par un déversoir. L'étang a une superficie de 1.25 ha et une profondeur d'environ 2m.

#### 3.2 Mesures de terrain

Le suivi de terrain prévoit la mesure de la température de l'eau sous la surface et au voisinage du fond de l'étang avec des capteurs (Figure 4). Ces capteurs seront installés au milieu du plan d'eau lors de la première séance sur le suivi, le 20 mars 2024.

Des mesures des profils de température, conductivité, pH et oxygène seront réalisées avec une sonde multiparamètre au même point. Des profils de chlorophylle seront également effectués avec une sonde fluorimétrique. Enfin la transparence de l'eau sera mesurée avec un disque de Secchi.

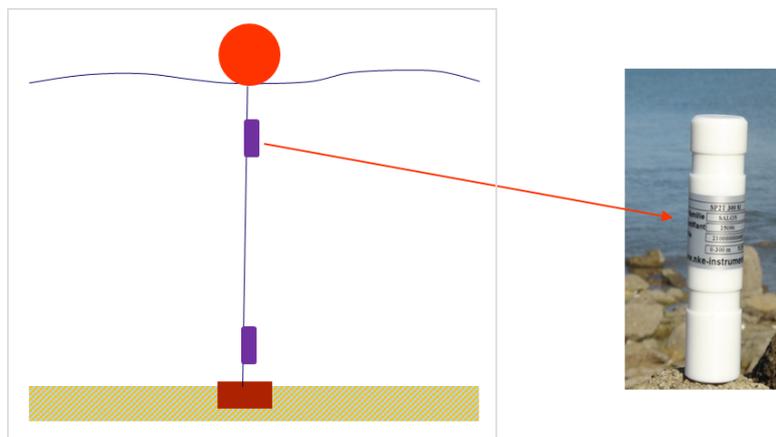


Figure 4 Mesure en continu de la température de l'eau

#### 3.3 Echantillonnage

Des échantillons d'eau seront prélevés pour des analyses en laboratoire de chlorophylle, de fluorescence de la matière organique dissoute et de bactéries indicatrices fécales. Ces analyses seront réalisées lors des séances dédiées de l'atelier.

#### 3.4 Tracé et analyse des mesures

A l'issue de chaque séance, les données enregistrées par les sondes seront téléchargées sur un ordinateur, au laboratoire. Le bon fonctionnement des sondes sera vérifié en contrôlant le contenu des fichiers. Les profils des mesures de phytoplancton et des variables physico-chimiques seront tracés.

## Atelier : Caractérisation de la matière organique dissoute par spectrofluorimétrie 3D

Arthur Guillot – Le Goff, [arthur.guillot-legoff@enpc.fr](mailto:arthur.guillot-legoff@enpc.fr)

### Contexte

La matière organique joue un rôle essentiel dans de nombreux processus environnementaux, biologiques et géochimiques. Comprendre sa composition et ses propriétés peut fournir des informations pour évaluer la qualité de l'eau, suivre la dégradation des déchets organiques, et étudier les cycles biogéochimiques.

Il existe de nombreuses méthodes permettant de caractériser la matière organique. Dans cet atelier, nous nous intéresserons aux méthodes de spectrofluorimétrie. Ces méthodes suscitent un intérêt croissant dans les sciences environnementales du fait qu'elles permettent une analyse rapide et non destructive des échantillons. Les domaines d'application sont variés : les eaux de surface (Romero González-Quijano et al., 2022), les eaux souterraines (Frank et al., 2018), les eaux marines (Parlanti et al., 2000) ou encore pour l'évaluation de la qualité microbienne (Baker et al., 2015).

En outre, le récent développement de capteurs *in situ* offre ainsi une approche efficace pour surveiller les changements dynamiques dans la matière organique au fil du temps.

Nous entendons par fluorescence, la propriété faisant qu'une molécule ayant été excitée par l'absorption d'énergie issue d'une source lumineuse (type UV/visible) réémet cette énergie sous forme d'un autre rayonnement. Pour qualifier et quantifier cette propriété de la matière organique dissoute, nous employons deux protocoles :

- La fluorescence d'émission simple (spectrophotomètre UV/visible) permet d'obtenir un spectre de l'intensité de fluorescence mesurée sur une plage de longueurs d'onde d'émission pour une longueur d'onde d'excitation fixée ;
- La fluorescence 3D (spectrofluorimètre 3D) permet de scanner simultanément les longueurs d'onde d'excitations et d'émissions (respectivement  $\lambda_{exci}$ ,  $\lambda_{emi}$ ). On obtient ainsi une matrice de l'intensité de fluorescence  $I(\lambda_{exci}, \lambda_{emi})$ .

À partir de ces mesures, une première analyse de ces spectres peut se faire par « peak-picking ». C'est-à-dire que nous relevons les maxima d'intensité de fluorescence dans certaines zones définies par une nomenclature (Coble, 1996).

Une seconde analyse peut se faire à partir de rapports des intensités à des longueurs d'onde caractéristiques, pour évaluer l'origine et le degré de transformation de la matière organique dissoute (Huguet et al., 2009; Zsolnay et al., 1999). On peut ainsi rapidement identifier des matières humiques provenant de la dégradation de feuillage ou des matières issues plutôt de la production planctonique.

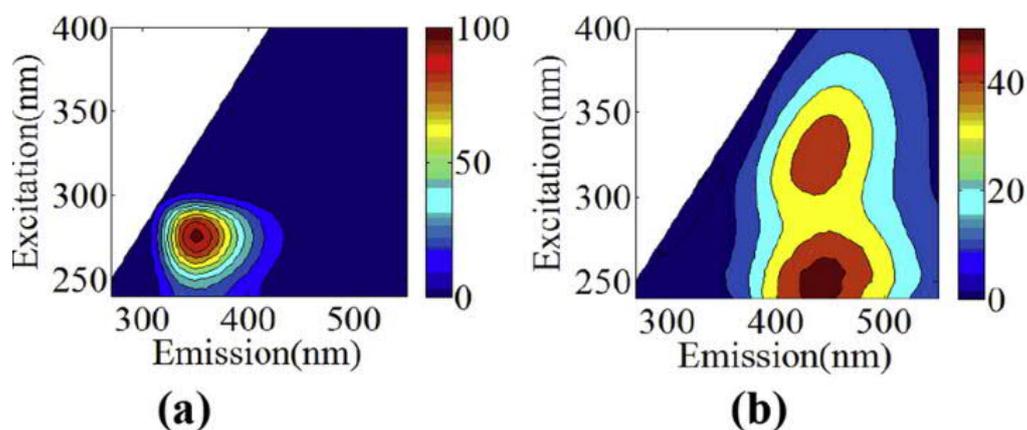


Figure 1 - Matrice d'excitation-émission d'une solution de 250 $\mu$ g/l de l'acide aminé tyrosine et d'une eau naturel (Wang et al 2015 <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.10.024>)

## Objectifs

L'objectif de l'atelier est de caractériser, par spectro-fluorimétrie, la matière organique dissoute issue des échantillons d'eau collectés aux différents points de l'hydro-système étudié, du plateau de la Cité Descartes et de l'étang de Bailly. On pourra ainsi comparer les matières organiques du lac (phytoplancton et processus du bloom algal), du ruisseau de Merdereau (retrouver les substances humiques des feuillus) et déceler peut-être pour de trace anthropogénique dans les rejets des eaux pluviales.

Sur une demi-journée, il est prévu :

- De comprendre le fonctionnement des appareils de laboratoire spectrophotomètre et spectrofluorimètre. Savoir préparer une mesure, quel matériel utiliser, comment les nettoyer avant chaque nouvelle mesure. Choisir la méthode de mesure adaptée ;
- De prendre en main et de faire des mesures sur les appareils de laboratoire : spectrophotomètre et spectrofluorimètre. D'abord sur un échantillon « blanc » d'eau ultra-pure, puis sur 4 ou 5 échantillons prélevés pendant un autre atelier ;
- De corriger les spectres fluo-3D à partir d'un échantillon blanc et du spectre d'émission simple avec l'utilisation de la librairie drEEM (<http://dreem.openfluor.org/>) ;
- D'explorer les premiers critères d'analyses : peaks (A, C, T, M) et rapports d'intensité (HIX, BIX).

## Bibliographie

- Baker, A., Cumberland, S.A., Bradley, C., Buckley, C., Bridgeman, J., 2015. To what extent can portable fluorescence spectroscopy be used in the real-time assessment of microbial water quality? *Science of The Total Environment* 532, 14–19. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.05.114>
- Coble, P.G., 1996. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Marine Chemistry* 51, 325–346. [https://doi.org/10.1016/0304-4203\(95\)00062-3](https://doi.org/10.1016/0304-4203(95)00062-3)
- Frank, S., Goepfert, N., Goldscheider, N., 2018. Fluorescence-based multi-parameter approach to characterize dynamics of organic carbon, faecal bacteria and particles at alpine karst springs. *Science of The Total Environment* 615, 1446–1459. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.095>
- Huguet, A., Vacher, L., Relexans, S., Saubusse, S., Froidefond, J.M., Parlanti, E., 2009. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. *Organic Geochemistry* 40, 706–719. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2009.03.002>

- Parlanti, E., Wörz, K., Geoffroy, L., Lamotte, M., 2000. Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. *Organic Geochemistry* 31, 1765–1781. [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(00\)00124-8](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(00)00124-8)
- Romero González-Quijano, C., Herrero Ortega, S., Casper, P., Gessner, M.O., Singer, G.A., 2022. Dissolved organic matter signatures in urban surface waters: spatio-temporal patterns and drivers. *Biogeosciences* 19, 2841–2853. <https://doi.org/10.5194/bg-19-2841-2022>
- Zsolnay, A., Baigar, E., Jimenez, M., Steinweg, B., Saccomandi, F., 1999. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere* 38, 45–50. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(98\)00166-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(98)00166-0)

## Atelier : Caractérisation de la pollution microplastiques dans l'environnement

**Lucas FRICEAU**, [lucas.friceau@enpc.fr](mailto:lucas.friceau@enpc.fr)

### Contexte :

Débutée dans les années 1950, la production mondiale de plastique n'a cessé de croître jusqu'à atteindre les 400 millions de tonnes (MT) en 2022 (PlasticsEurope, 2023). Les plastiques présentent une très grande diversité de propriétés chimiques et mécaniques tout en ayant un faible coût de production ce qui rend leur utilisation attrayante dans de nombreux domaines. Ces propriétés intéressantes sont favorisées par l'ajout de nombreux additifs (phtalates, retardateurs de flammes, bisphénols, ...) qui sont connus pour leurs toxicités [1]. Une telle production engendre des problèmes concernant la gestion en fin de vie des matériaux plastiques, lesquels finissent par s'accumuler dans les décharges ou dans l'environnement naturel [2].

Une fois dans l'environnement, sous l'influence de différents paramètres physico-chimiques (irradiation UV, abrasion, température, oxydation, ...) les déchets plastiques sont dégradés jusqu'à être réduit en morceaux de taille inférieure à 5 mm : les microplastiques (MP).

Le terme microplastique est employé pour la première fois par [3] pour désigner de petite particule de plastique. Cependant, ce n'est qu'à partir du milieu des années 2010 que l'intérêt pour la thématique des MP a considérablement augmenté (25 publications scientifiques contenant le mot « microplastiques » en 2013 contre 5362 publications en 2023 via « Scopus »).

La pollution de l'environnement par les MP est particulièrement problématique, ils peuvent circuler dans l'air, l'eau, le sol et se retrouver dans les organismes vivants. Leur petite taille favorise leur transport dans tous les écosystèmes, des plaines abyssales [4] jusqu'aux sommets des montagnes [5]. Des impacts avérés ont déjà été observés sur la faune [6] et la flore [7], montrant le besoin d'améliorer la compréhension globale de la problématique de la pollution par les MP.

Obtenir des résultats d'analyse d'échantillons environnementaux peut s'avérer très compliqué en raison des différences de matrices (eau, sol, retombée atmosphérique, sédiment, ...) mais aussi de caractéristiques bien spécifiques à chaque site de prélèvement. En effet préalablement aux analyses, un pré-traitement important et quasi-inévitable des échantillons est nécessaire afin d'isoler les MP.

Deux grandes étapes de purification sont généralement employées avant de pouvoir analyser les échantillons prélevés. L'élimination de la matière organique, généralement réalisée à l'aide de peroxyde d'hydrogène ou d'enzymes, ainsi que l'élimination de la matrice minérale par séparation densimétrique, tamisage couplé à un tri visuel ou encore par extraction à l'huile [8].

La caractérisation des MP peut avoir lieu après la réalisation d'un protocole de pré-traitement adapté à la matrice environnementale échantillonnée. Il existe différentes méthodes (spectrale, Py-GC-MS, identification visuelle) qui présentent chacune leur lot d'avantages et

d'inconvénients. Les méthodes spectrales telles que la spectroscopie Raman, la réflectance totale atténuée (ATR) ou encore la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) sont les plus couramment utilisées.

### Contenu de la séance :

L'objectif de la séance est de réaliser une simulation d'étude de la pollution par les microplastiques d'un échantillon naturel. En partant de l'échantillonnage jusqu'à la caractérisation de ce dernier.

Pour cela, la séance sera divisée en trois parties distinctes :

#### I. Méthode de prélèvement

Dans un premier temps, les diverses méthodes de prélèvement seront abordées. Un prélèvement de sol sera réalisé à l'aide d'une tarière à main à proximité de l'étang de Bailly pour initier les étudiants à l'une des méthodes d'échantillonnage couramment utilisée en sciences de l'environnement.

#### II. Pré-traitement d'un échantillon naturel

Dans cette seconde partie, les étudiants seront amenés à réaliser une séparation densimétrique ainsi qu'une digestion de la matière organique sur un échantillon de sol préalablement séché à l'étuve. Leur permettant de découvrir le pré-traitement majoritairement utilisé dans le domaine de la recherche sur la pollution par les microplastiques.

#### III. Caractérisation des microplastiques

Dans cette dernière partie, les étudiants découvriront la caractérisation des microplastiques par la méthode de réflectance totale atténuée (ATR), où seront analysés des MP issus d'un échantillon de sol préalablement traité.

Tout au long de la séance, les différentes manières de réaliser chacune de ces trois étapes seront abordées, discutées et critiquées.

### Références :

- [1] M. O. Fernandez et L. Trasande, « The Global Plastics Treaty: An Endocrinologist's Assessment », *J. Endocr. Soc.*, vol. 8, n° 1, p. bvad141, déc. 2023, doi: 10.1210/jendso/bvad141.
- [2] R. Geyer, J. R. Jambeck, et K. L. Law, « Production, use, and fate of all plastics ever made », *Sci. Adv.*, vol. 3, n° 7, Art. n° 7, 2017, doi: 10.1126/sciadv.1700782.
- [3] R. C. Thompson *et al.*, « Lost at Sea: Where Is All the Plastic? », *Science*, vol. 304, n° 5672, p. 838-838, mai 2004, doi: 10.1126/science.1094559.
- [4] L. Van Cauwenberghe, A. Vanreusel, J. Mees, et C. R. Janssen, « Microplastic pollution in deep-sea sediments », *Environ. Pollut.*, vol. 182, p. 495-499, nov. 2013, doi: 10.1016/j.envpol.2013.08.013.
- [5] I. E. Napper *et al.*, « Reaching New Heights in Plastic Pollution—Preliminary Findings of Microplastics on Mount Everest », *One Earth*, vol. 3, n° 5, p. 621-630, nov. 2020, doi: 10.1016/j.oneear.2020.10.020.
- [6] R. Colpaert, L. Petit Dit Grézériat, M. Louzon, A. De Vaufléury, et F. Gimbert, « Polyethylene microplastic toxicity to the terrestrial snail *Cantareus aspersus*: size matters », *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 29, n° 20, p. 29258-29267, avr. 2022, doi: 10.1007/s11356-021-15824-z.
- [7] J. Bethanis et E. E. Golia, « Micro- and nano-plastics in agricultural soils: A critical meta-analysis of their impact on plant growth, nutrition, metal accumulation in plant tissues and crop yield », *Appl. Soil Ecol.*, vol. 194, p. 105202, févr. 2024, doi: 10.1016/j.apsoil.2023.105202.
- [8] F. Radford, L. M. Zapata-Restrepo, A. A. Horton, M. D. Hudson, P. J. Shaw, et I. D. Williams, « Developing a systematic method for extraction of microplastics in soils », *Anal. Methods*, vol. 13, n° 14, p. 1695-1705, 2021, doi: 10.1039/D0AY02086A.

## Atelier : Flux benthiques

Guilherme CALABRO, [guilherme.calabro-souza@enpc.fr](mailto:guilherme.calabro-souza@enpc.fr)

### 1. Contexte e objectifs

Les milieux aquatiques contribuent activement aux cycles biogéochimiques (par exemple l'azote et le carbone) à différentes échelles territoriales (du local au mondial). L'anthropisation des paysages entraîne une détérioration de la qualité de l'eau des hydroécosystèmes, ce qui se traduit, par exemple, par une intensification des cycles biogéochimiques. Dans ces types de paysages, les apports historiques de contaminants favorisent l'accumulation de matière organique dans les sédiments. Celle-ci est minéralisée en aérobie ou en anaérobie par la faune et la flore de surface des sédiments, ce qui entraîne : (i) la consommation d'agents oxydants ( $O_2$ ,  $NO_2$ ,  $SO_4^{2-}$ , etc.) par le compartiment sédimentaire des eaux sus-jacentes ; (ii) l'accumulation dans les sédiments et la libération subséquente de contaminants ( $NO_3$ ,  $NH_4^+$ ,  $PO_4^{3-}$ ,  $CO_2$ , etc.) Dans le processus d'eutrophisation, par exemple, les nutriments et les ions métalliques sont libérés et la masse d'eau devient propice à la prolifération d'algues. À court terme, cela augmente le coût du traitement et sa l'utilisation pour la récréation, à long terme, cela entraîne une perte de biodiversité, un appauvrissement de l'oxygène et des émissions de gaz à effet de serre.

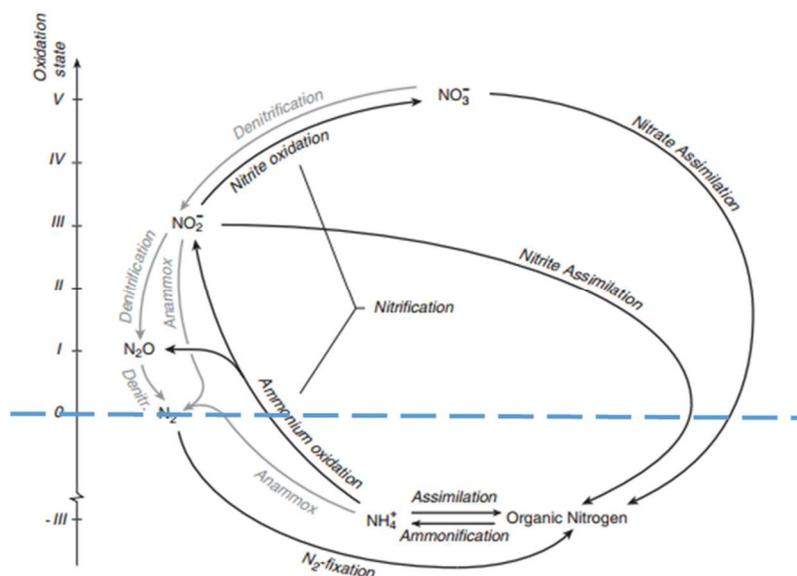


Figure 1 – Cycle de l'azote en fonction de ses états oxydatifs. La transposition à l'interface eau-sédiment (ligne bleue) permet de comprendre les processus dans le sédiment et dans l'eau en fonction de la disponibilité d'oxygène.

L'interaction entre l'eau et les sédiments dans les milieux aquatiques est connue sous le nom de flux benthique. L'intensité des flux benthiques varie en fonction des différents moteurs : activité des macroinvertébrés, hydrodynamique, flux d'agents oxydants, et plusieurs techniques sont utilisées pour quantifier ces flux. Dans cette atelier les étudiants auront comme objective de quantifier le flux d'oxygène et voire sa variation temporelle et sa représentation spatiale. L'atelier permet aux élèves d'avoir contact avec les différentes méthodes de mesure, sa prise en compte dans les modèles numériques et à avoir un regard critique pour apprendre à une prise de décision.

## 2. Pratique

### 2.1. Site de mesure et récupération d'échantillon

L'étang de Bailly est le site d'étude de cet atelier. Le site est décrit dans l'atelier "Qualité des eaux de baignade".

Sur le site, un élève prélève une carotte de sédiments. Ce prélèvement se fait à l'intérieur de l'étang à l'aide d'un cylindre en polycarbonate. Ce cylindre est enfoncé verticalement dans le sédiment de manière à ce que 50 % du cylindre soit rempli de sédiments et l'autre moitié d'eau recouvrant les sédiments.

### 2.2. Méthode de mesure

Une fois la carotte de sédiments prélevée et transportée, elle est stabilisée pendant environ 40 minutes (temps utilisé pour la partie théorique). Cela permet de rapprocher la carotte au conditions naturelles. La carotte, qui est un microcosme du lac, sera utilisée pour mesurer le flux d'oxygène. La technique utilisée est le micro-profil ex-situ. Il s'agit de mesurer une concentration à l'intérieur de l'interface sédiments-eau. Le profil de concentration en fonction de la profondeur obtenue exprime le flux. Un capteur optique est utilisé pour mesurer l'oxygène à différentes hauteurs de l'interface eau-sédiment.



Figure 2 – A) Carottage manuelle en lac (source : Universal Core Head Kit). B) Carotte sédimentaire obtenu en 2019 de l'étang de Bailly. Le sédiment est dans la partie inférieure de la carotte en gris et noir et dans la partie supérieure l'eau recouvrant les sédiments.

La comparaison des flux mesurés dans d'autres cours la même année ou les années précédentes permet une analyse temporelle du flux d'oxygène obtenu.

## 1. OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

Le présent mode opératoire a pour objet la description d'une méthode de mesure de débit d'un petit cours d'eau par **Traçage** ou **jaugeage par dilution** qui consiste à injecter dans le cours d'eau un **traceur** en solution et à suivre l'évolution de sa concentration au cours du temps. Lorsque la condition de bon mélange du traceur est assurée — et si absence de pertes d'eau dans le bief de dilution—, par **loi de conservation de la masse**, le facteur de dilution est directement proportionnel au débit de la rivière. Plusieurs générations de traceurs ont été historiquement utilisées, l'état de l'art actuel étant de privilégier les **traceurs fluorescents** (rhodamine, Fluorescéine) ou le **sel** de cuisine.

La méthode utilisée se base sur l'injection d'une solution de sel de cuisine (NaCl) à une concentration assez élevée (limite de solubilisation) et à un débit constant avec un suivi de l'injection avec le temps. Elle est appliquée sur le petit cours d'eau en aval de l'étang de Bailly (Champs sur Marne) de l'autre côté de la ligne du chemin de fer du RER A.

## 2. LEXIQUE

Débit du cours d'eau

NaCl : Sel de Cuisine

Conductimétrie (mesure de la conductivité de l'eau)

## 3. CONTEXTE

La mesure des débits d'une rivière répond à plusieurs finalités :

- De **gestion opérationnelle d'ouvrages hydrauliques** (aménagements hydro électriques, systèmes d'irrigation, réservoirs d'écêtement des crues ou de soutien des étiages...);
- De **dimensionnement** de ces ouvrages, par la connaissance des caractéristiques de ces cours d'eau ;
- De **protection des biens et des personnes**, par l'annonce des crues ;
- De **patrimoine**, par la constitution de séries d'observations de longue durée, indispensables pour connaître les évolutions des régimes des cours d'eau, sensibiliser les populations aux risques naturels, affecter une probabilité aux événements extrêmes (crues, étiages) ;
- D'**estimation** des flux des polluants se trouvant dans le cours d'eau.

Des nombreux techniques et équipements permettent de mesurer le débit d'un cours d'eau, mais sur le site expérimental concerné (sortie de l'étang de Bailly), il n'était pas envisageable d'installer des équipements de mesure en continu (trop couteux et site non sécurisé), nous nous sommes contentés de faire mesurer par les étudiants (pendant la période de ce module) d'une manière journalière la hauteur d'eau sur le déversoir. Ainsi, un atelier (deux ou trois fois par an selon le nombre d'étudiants et des groupes) est réalisé sur ce site permettant de déterminer ponctuellement le débit.

#### 4. PRINCIPE DE LA METHODE

Comme cité précédemment, Le principe de la méthode consiste à estimer le débit d'eau par traçage en utilisant un traceur chimique tel que le sel de cuisine (NaCl). Une solution de sel à une concentration de 4 M (mole/litre) est injectée. L'apport du sel est suivi par la mesure de la conductivité de l'eau, à l'aide d'une sonde de conductivité, à une distance d'environ 25 mètres en aval du point d'injection. A cette distance, l'homogénéité due à l'apport du sel est vérifiée. Le protocole est réalisé en deux étapes :

- Sur site par injection de la solution du sel, avec un suivi du débit d'injection et suivi de l'évolution de la conductivité avec le temps.
- Au laboratoire, par réalisation d'une gamme étalon à plusieurs points : concentration du sel/valeur de la conductivité, afin d'obtenir une droite de régression permettant de convertir les valeurs de conductivité, mesurées sur site, en concentration de NaCl.

#### 5. MATERIEL UTILISE

##### 5.1 Sur Site

- Dispositif d'injection constitué d'un tube cylindrique en PVC (diamètre = 11,75 cm) avec une graduation croissante de haut en bas (cm) permettant de suivre le temps d'injection. Le tube est muni dans sa partie basse d'un robinet de vidange et dans sa haute d'une petite ouverture de mise à pression atmosphérique, ce tube sera rempli de la solution de traçage (sel de cuisine) ;
- Un bidon contenant environ 12 litres d'une solution concentrée (appelée solution mère) de sel de cuisine à une concentration de 4 M ;
- Deux tiges en PVC (petit diamètre) coudés permettant de diriger la solution de sel (NaCl) juste au-dessus du cours d'eau ;
- Un conductimètre permettant de mesurer la conductivité de l'eau pendant la durée de l'injection du sel et jusqu'à le retour de la conductivité à l'état initial ;
- Une perche télescopique attachant la sonde de conductivité et permettant ainsi de mesurer la conductivité à 3 mètres de distance ;
- Deux chronomètres permettant de suivre le temps d'injection du sel et la lecture de la valeur de la conductivité toutes les 10 secondes.
- Deux flacons en Polypropylène de 1 litre permettant de prélever l'eau de milieu (prélèvement sur site en amont du point d'injection du sel).

## **5.2 Au Laboratoire**

- Deux flacons en Polypropylène de 1 litre contenant l'eau de milieu (prélevée sur site en amont du point d'injection du sel), cette eau sera comme eau de dilution pour la préparation de la gamme étalon du sel ;
- Des fioles jaugées (7-10) en verre de 100 mL ;
- Des béchers en verre de 100 mL ;
- Des pipettes automatiques avec des cônes correspondants pour le prélèvement des volumes du sel ;
- Le conductimètre pour mesurer la conductivité de différentes solutions de la gamme ;
- Des tubes de 50 mL en Polypropylène pour la mesure de la conductivité de différentes solutions de la gamme.

## **6. MODE OPERATOIRE**

Il est à noter, qu'avant le jour de l'atelier avec le groupe des élèves, deux tâches doivent être réalisées :

- Préparation de la solution mère (concentrée) du sel d'une concentration initiale d'environ 4 M, ainsi pour préparer une solution de 12 litres, il faut faire dissoudre 2805 g de sel de cuisine (NaCl) dans 12 litres d'eau déminéralisée. Cette solution est limite saturation, est doit être bien agitée pour obtenir une dissolution complète
- Vérification et calibration, si nécessaire, de la sonde de conductivité avec un étalon standard de chlorure de potassium à 0,01 M soit une conductivité de 1413  $\mu\text{S}/\text{cm}$

Comme décrit ci-dessus, l'atelier est réalisé pendant environ 3 heures et en deux temps : sur site et au laboratoire

### **6.1 Expérimentation sur site**

Sur le terrain et après avoir installé le dispositif d'injection en remplissant le tube d'injection avec la solution du sel (4 M) et mise à l'échelle de cette solution (niveau initial 5 cm), et après l'installation du dispositif de suivi de la conductivité à 25 mètres du point d'injection, la manipulation du traçage peut commencer. Les élèves sont partagés en deux sous-groupes :

- Un sous-groupe pour le suivi du temps d'injection (en notant le temps pour chaque 5 cm vidés) de la solution mère du sel d'une concentration de 4 M (appelée C1), cette suivie permettant par la suite de calculer le débit d'injection (appelé Q1),



Dispositif d'injection du traceur (sel)

- Un sous-groupe pour le suivi de l'évolution de la valeur de conductivité au cours de temps (une valeur est notée toutes les 10 secondes), cette suivie permet par la suite de tracer la courbe de la conductivité en fonction de temps et de connaitre la valeur de la conductivité au palier.

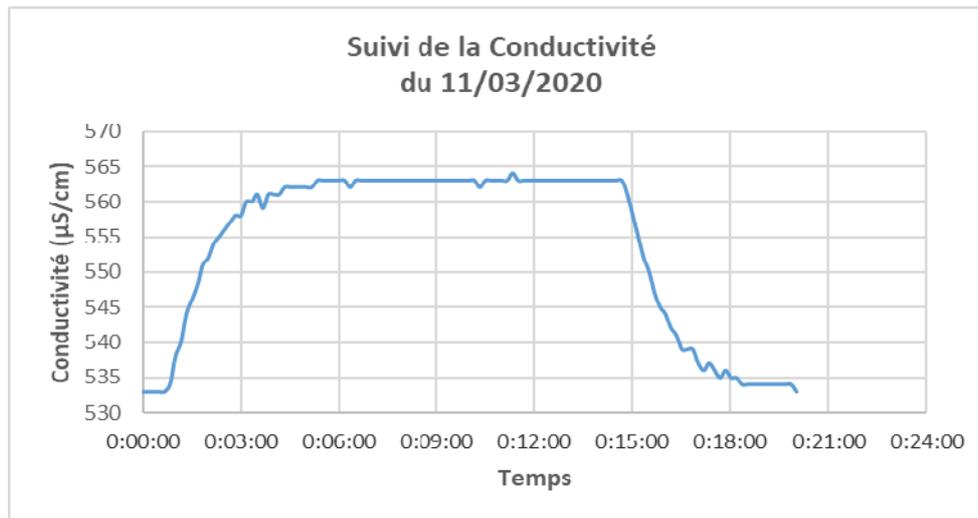
Il est à noter que le deux sous-groupes d'élèves déclenchent leurs chronomètres en même temps au début de l'injection et ils commencent à noter : l'un le temps nécessaire pour vider 5 cm de la solution de NaCl et l'autre la conductivité mesurée toutes les 10 secondes.

Le tableau ci-dessous est un exemple représentant les données de suivi de l'injection de la solution du sel

<b>Hauteur (cm)</b>	<b>début hh:mn:ss</b>	<b>fin hh:mn:ss</b>	<b>Delta t hh:mn:ss</b>
5-10	0:00:00	0:00:42	0:00:42
10-15	00:00:42	00:01:27	00:00:45
15-20	00:01:27	00:02:14	00:00:47
20-25	00:02:14	00:03:01	00:00:47
25-30	00:03:01	00:03:46	00:00:45
30-35	00:03:46	00:04:32	00:00:46
35-40	00:04:32	00:05:18	00:00:46
40-45	00:05:18	00:06:05	00:00:47
45-50	00:06:05	00:06:51	00:00:46
50-55	00:06:51	00:07:37	00:00:46
55-60	00:07:37	00:08:23	00:00:46
60-65	00:08:23	00:09:09	00:00:46
65-70	00:09:09	00:09:54	00:00:45
70-75	00:09:54	00:10:41	00:00:47
75-80	00:10:41	00:11:28	00:00:47
80-85	00:11:28	00:12:14	00:00:46
85-90	00:12:14	00:13:00	00:00:46
90-95	00:13:00	00:13:48	00:00:48

Le diamètre du tube d'injection (11,75 cm) ainsi que les données d'injection ci-dessus permettent de calculer le débit d'injection ( $Q_1$ ) en  $\text{cm}^3/\text{s}$  ou  $\text{mL}/\text{s}$ .

Concernant le suivi de la mesure de conductivité, la figure ci-dessous donne une aperçue de l'évolution de la valeur de la conductivité en fonction de temps.



Pour cet exemple, nous observons que la valeur de la conductivité devient constante après presque 4 minutes et 20 Secondes de début d'injection et cela dure jusqu'aux 14 minutes et 40 secondes (soit un palier des 10 minutes et 20 secondes). La valeur de la conductivité au palier (562-563  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) reflète le débit du cours d'eau, d'où la nécessité de convertir cette valeur de conductivité au palier en concentration du NaCl ( $C_2$  en M) qui permettra de déterminer le débit d'eau ( $Q_2$ ) au moment de la mesure.

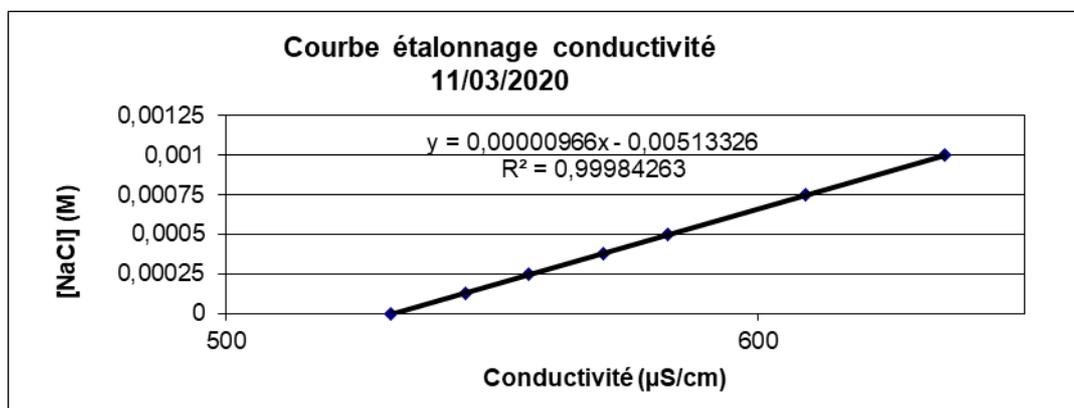
## 6.2 Expérimentation au laboratoire

L'atelier au laboratoire consiste à préparer une gamme étalon des plusieurs solutions à différentes concentrations en sel, mesurer la conductivité de chaque solution puis tracer la courbe de régression de la concentration en NaCl (M) en fonction de la conductivité ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ). La solution initiale (mère SM) de NaCl (4M) étant trop concentrée, nous commençons par préparer une solution fille (SF) de 0,1 M soit par dilution de la solution mère d'un facteur de 40 fois (2,5 mL de la solution 4M dans une fiole jaugée de 100 mL). L'eau de milieu du cours d'eau (prise sur site) est utilisée pour préparer cette solution fille et les différentes solutions de la gamme étalon par la suite.

Les solutions de la gamme étalon sont choisi en fonction de la valeur de la conductivité au palier due à l'apport du NaCl, ces solutions sont préparées dans des fioles jaugées de 100 mL, et les différents volumes de la solution fille sont prélevés à l'aide des pipettes automatiques. Le tableau ci-dessous regroupe les données de la préparation de cette gamme ainsi les valeurs de la conductivité pour les différentes solutions préparées.

[NaCl] (M)	Volume Solution fille (mL)	Conductivité ( $\mu\text{S/cm}$ )
0,000000	0,000	531
0,000125	0,125	545
0,000250	0,250	557
0,000375	0,375	571
0,000500	0,500	583
0,000750	0,750	609
0,001000	1,000	635

La figure ci-dessous représente la courbe de régression de la gamme étalon, les coefficients de la droite de régression permettent de déterminer la concentration du NaCl qui correspond à la conductivité au palier.



## 7. EXPRESSION DU RESULTAT

Le débit Q2 du cours d'eau (exprimée en mL/S ou L/mn), suite à l'expérimentation du traçage au NaCl, peut être déterminé par l'expression suivante :

$$Q2 = Q1 \times C1 / C2$$

Q1 : est le débit d'injection, exprimé en mL/S ou L/mn

C1 : est la concentration de la solution injectée du sel, exprimée en M (mole/litre)

C2 : est la concentration moyenne correspondant à la conductivité moyenne au palier, exprimée en M (mole/litre)

## Module: ENPC VET, Atelier Eau et Environnement urbain (HYDRO)

### Workshop: Sustainable stormwater management in urban areas

Hayath ZIME YERIMA, [hayath.zime-yerima@enpc.fr](mailto:hayath.zime-yerima@enpc.fr);

Tinghao HUANG, [tinghao.huang@enpc.fr](mailto:tinghao.huang@enpc.fr)

## 1. CONTEXTS & OBJECTIVES

---

With the progress of urbanization around the world, the increasing proportion of surface impermeability in cities has brought about more and more hydrological and water quality issues. As a countermeasure, sustainable urban drainage systems (SUDS) were brought into the limelight for on-site urban runoff management, urban heat island mitigation, groundwater recharge, urban greening, biodiversity enhancement, etc. From the hydrological perspective, SUDS (like rain gardens and stormwater trees) have the potential to retain stormwater, delay flow peaks, enhance evapotranspiration and recharge groundwater.

In this workshop, two pilot devices (i.e., rain garden and stormwater trees) will be studied. The two sites are located at ENPC&UGE campus within Sense-City equipment (a 400 m<sup>2</sup> city model equipped with various sensors and a movable climate chamber). The rain garden is a 7 m<sup>2</sup> cycle sunken area and the stormwater trees is a system consisting of 3 trees pots with shared inlet and underdrain.



Figure 1: Stormwater trees (left) and rain garden (right) in Sense City

The sensors within the rain garden and stormwater tree can provide observations on different hydrological processes. Each device receives runoff from an 85 m<sup>2</sup> asphalt pavement catchment.

The objectives of this workshop are:

- Introduce the concept of stormwater management, the challenges and countermeasures.
- Understand the design (layout) of the two pilot devices.

- Explore the working principle and operation of different sensors, with a special focus on inflow measurements (electromagnetic flowmeter and tipping bucket flowmeter).
- Understand the hydrological processes happening after a rain event.
- Check the water balance within a simulated event and evaluate the performance through different indicators (lag time, runoff reduction ratio, exfiltration volume, etc.).

## 2. PRACTICE

---

The two pilot devices usually receive runoff from nature rainfall. However, to avoid relying too much on weather, a simulated event with a controlled amount of water will be applied for each device. Note that in the field practice, each group will be assigned to one of the devices for the experiment, and later the data from all the groups will be processed and discussed together.

### FOR THE RAIN GARDEN:

1. Inject large quantity of water into the rain garden through a tank with an orifice.
2. Observe the hydrological processes in the garden via direct looking (for the surface ponding) and sensor reactions (for soil and bottom storage).
3. Analyze the data and evaluate the performance of the rain garden under this event.

### FOR STORMWATER TREES:

1. Block the connection between trees to control the water entering only into one tree.
2. Inject a small amount of water through the electromagnetic flowmeter.
3. Observe the time difference of inflow and outflow, and measure quantity of outflow via the tipping bucket flowmeter.
4. Analyze the data and evaluate the performance of the stormwater tree under this event.

The sensor data during the experiment period will be collected a few days after the field test (to capture the full hydrological process). After that, 3 (or more) activities (based Python Jupyter notebooks) will be sent to the students that aim to cover the following aspects:

1. Understand different types of data.
2. How to treat bucket flowmeter data (from tips to flowrate).
3. Water balance calculation and performance evaluation.

These activities are only for demonstration and explanation; no coding skills are needed.

### Supplementary materials:

(will be provided after the field experiment)

- cal\_tipping\_bucket\_flowrate.ipynb
- rain\_garden\_water\_balance\_results.ipynb
- stormwater\_trees\_water\_balance\_results.ipynb