

Suivi de la biodégradation de la matière organique dissoute par spectrofluorescence 3D

DIOP Yacine Khadija
L3 Chimie

Calendrier du stage

→ Date initiale expérience : 12 / 04

→ Durée de l'expérience : 45 jours

→ Nouvelle date : 19 / 04

→ Bibliographie + Passage

d'échantillons de baignade

BIBLIOGRAPHIE

Goffin A., Guérin S., Rocher V., Varrault G. (2018) Towards a better control of wastewater treatment process : excitation-emission matrix fluorescence spectroscopy of dissolved organic matter as a predictive tool of soluble BOD5 in influents of six Parisian wastewater treatment plants.

Musabimana N. (2020). Le suivi *in-situ* de la matière organique dissoute et de sa biodégradabilité dans les milieux aquatiques par spectroscopie de fluorescence

Rapport sur les expériences de biodegradation de la matière organique dissoute à l'intention d'un échange avec des microbiologistes

Servais P., Barillier A., Garnier J. (1995) Determination of the biodegradable fraction of dissolved and particulate organic carbon in waters

Servais P., Billen G., Hascoët M. (1985) Determination of the biodegradable fraction of dissolved organic matter in waters

Varrault G. , Matar Z. , Parlanti E. , Rocher V. , Aquatic Organic Matter in the Seine basin : Sources, Spatio-Temporal Variability, Impact of Urban Discharges and Influence on Micro-pollutant Speciation

Introduction

La Matière Organique

Seine

Autochtone :



Allochtone :



Station de Traitement des Eaux Usées (STEU)

Rejets :



L'intérêt de la spectrofluorescence 3D



Spectrofluorimètre 3D

source: Colloque Piren Seine A. Goffin

- Analyse rapide (environ 15 minutes)
- 100 fois plus sensible que la spectrométrie UV-visible
- Permet de distinguer les différentes familles de MOD
- Pas de préparation des échantillons longue

Caractérisation de la MO

Problématiques pour les usines de potabilisation :

Traitement chimique et colmatage
des membranes



Création de sous-produits de
dégradation cancérigènes



Reviviscence bactérienne



Goût, couleur et odeur

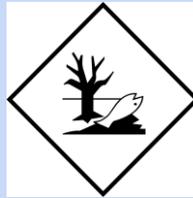
Caractérisation de la matière organique dissoute (MOD)

Problématiques dans les milieux aquatiques :

Cycle des nutriments et prolifération algales



Devenir, biodisponibilité et toxicité des micropolluants



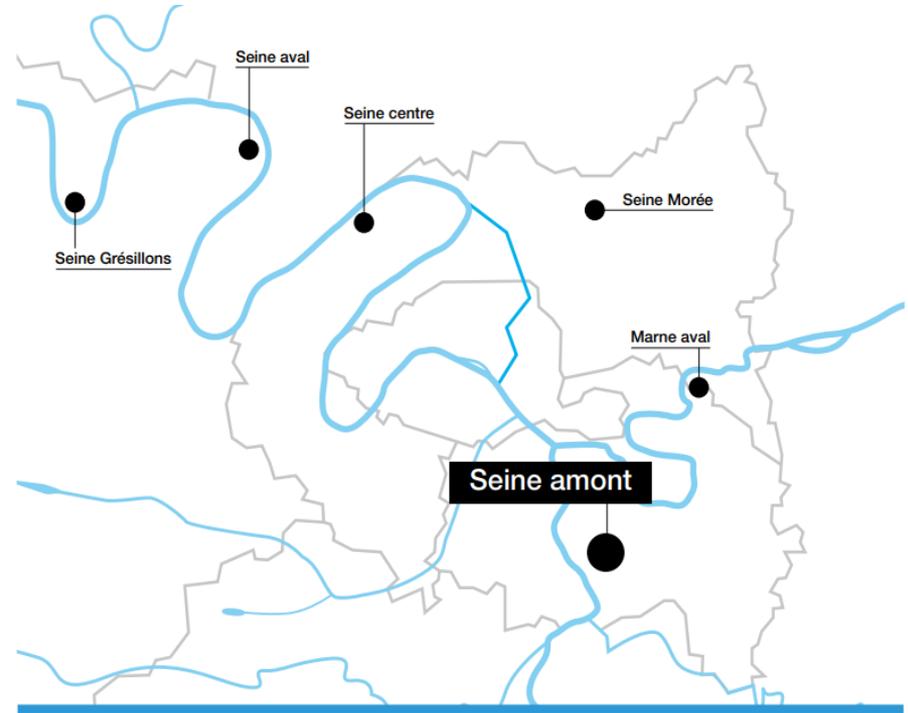
Désoxygénation des milieux et mortalité piscicole



- La MOD n'est pas la même au cours du temps et de l'espace
- L'implication de la MOD dépend de sa nature chimique et de sa concentration
- D'où l'importance de la caractériser

Objectifs du stage

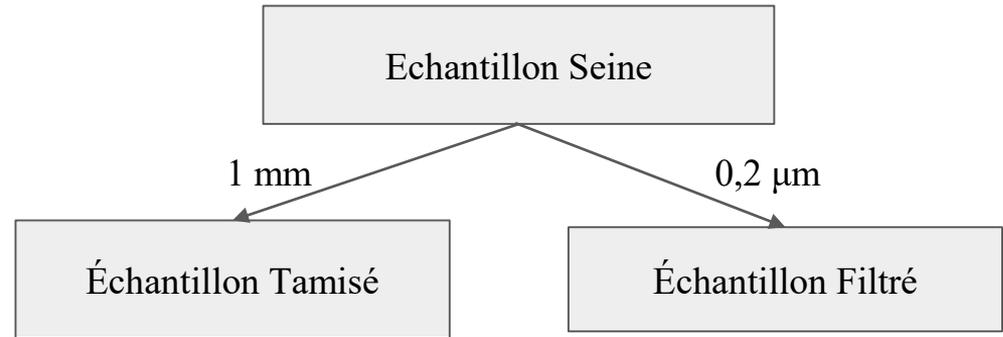
- Déterminer des indicateurs de fluorescence permettant d'avoir des informations sur les différents types de MOD :
 - rapidement biodégradable (3 à 5 jours)
 - lentement biodégradable (moins de 45 jours)
 - récalcitrante (non dégradable en 45 jours)
- Échantillon de Seine et de STEU en amont de l'agglomération Parisienne



Carte de la région de la répartition des STEUs dans la région parisienne
source : site du SIAAP

Matériels et Méthode

1. Filtration de nos échantillons
2. Pesée des béchers et mesure de la hauteur d'eau
3. Filtration et ajout de l'inoculum



$$V_{\text{inoculum}} = 0,5\% * V_{\text{échantillon dans le bécher}}$$



Matériel et méthode

4. Mise en Incubation

- A l'obscurité
- Sous agitation continue
- Recouvert avec de l'aluminium
- A température ambiante

5. Prise d'aliqots



Vial ambré de 15 mL et Vial pour le COT-mètre

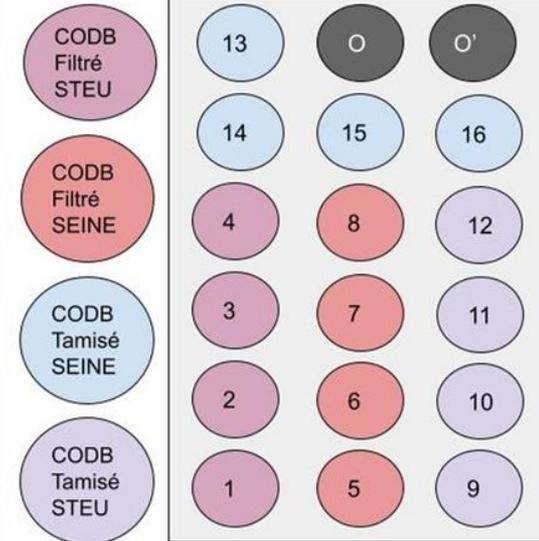


Table d'agitation réelle et schématique

Résultats de la mesure du carbone organique dissous (COD)



COT-mètre

source: manuel d'utilisation

- On obtient la [COD], en mg/L, de nos échantillons.
- Appareil de mesure automatisé (en moyenne 2h pour 8 échantillons + 4 blancs + 2 contrôles)

Résultats COD

Evolution de la concentration de carbone des échantillons filtrés et tamisés pour la Seine

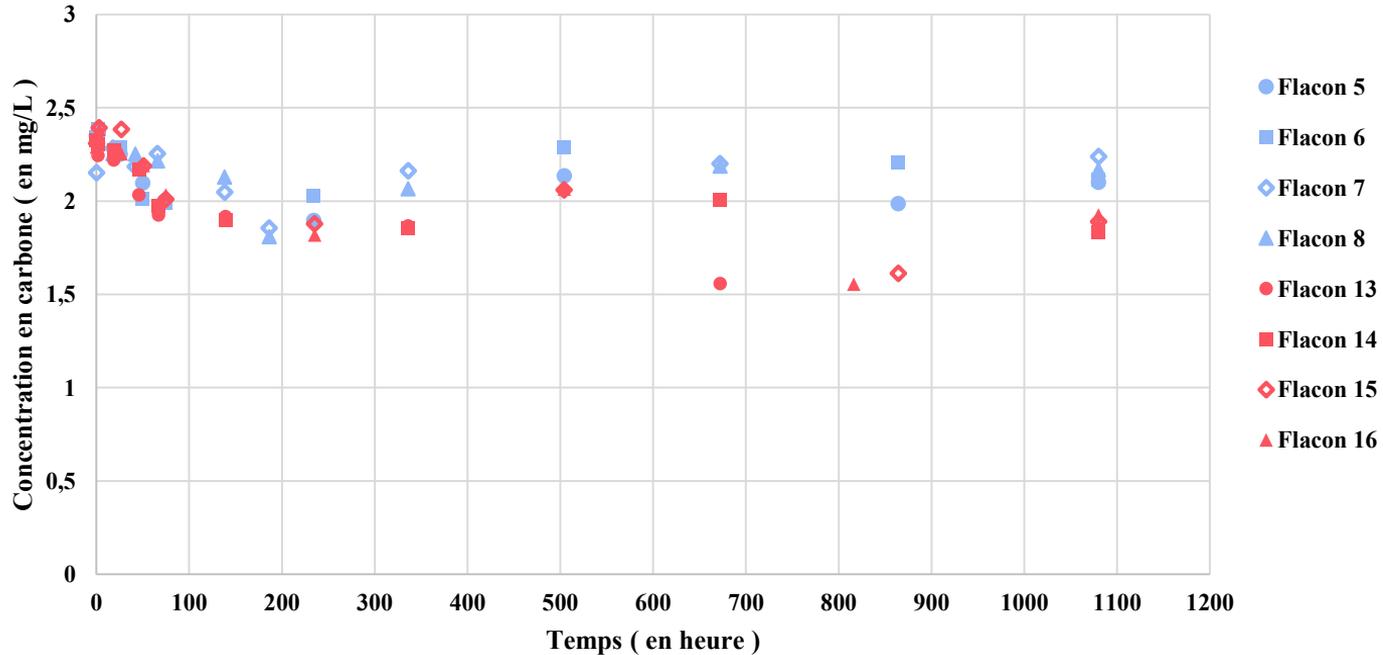
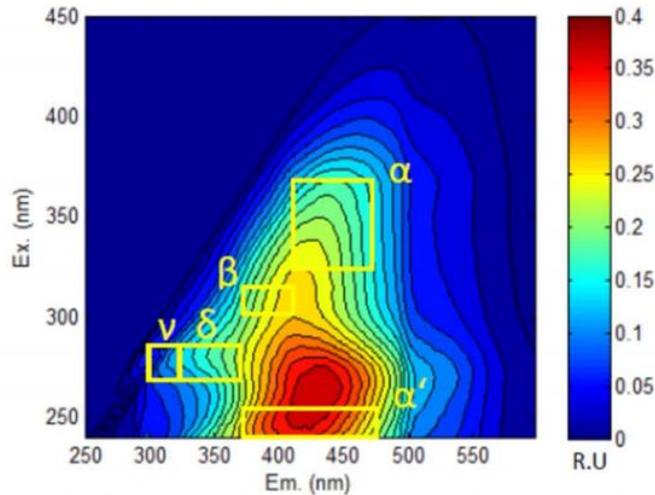


Figure 19 Évolution de la concentration en COD pour des échantillons filtrés (bleu) et tamisés (rouge)

Analyse des spectres de spectrofluorescence



Localisation des fluorophores de la MOD sur un spectre de fluorescence 3D d'eau de Seine (Choisy). **Source :** Goffin (2017)

Cobble (1996), Parlanti et al. (2000)

- Fluorophores d'intérêt :

- α (C) : substances humiques
- α' (A) : substances humiques + MOD récente
- β (M) : MOD récente + MOD issue d'activité biologique
- γ (B) : protéique de type tyrosine
- δ (T) : protéique de type tryptophane

7

Figure 6 : Localisation des fluorophores de la MOD sur un spectre de fluorescence 3D d'eau de Seine, source : Goffin 2017 Les spectres que nous avons obtenus sont en annexes.

Résultats de spectrofluorescence

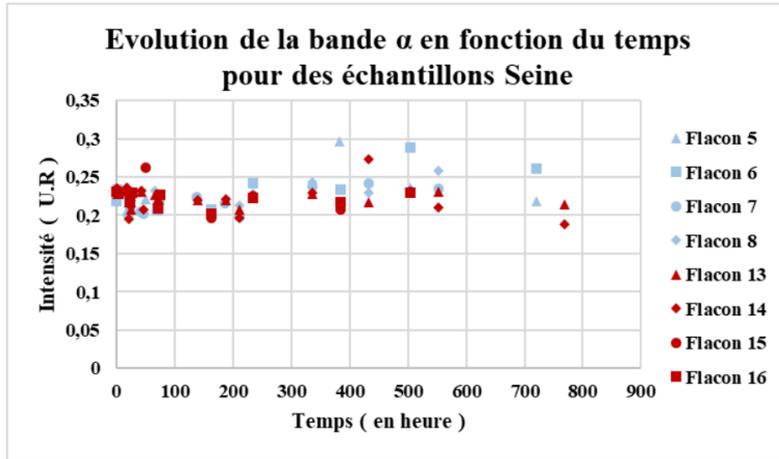


Figure 12 : Evolution de la bande α pour l'échantillon de Seine. (Échantillons filtrés : bleus et tamisés : rouge).

➤ Pas d'évolution des bandes α et α'

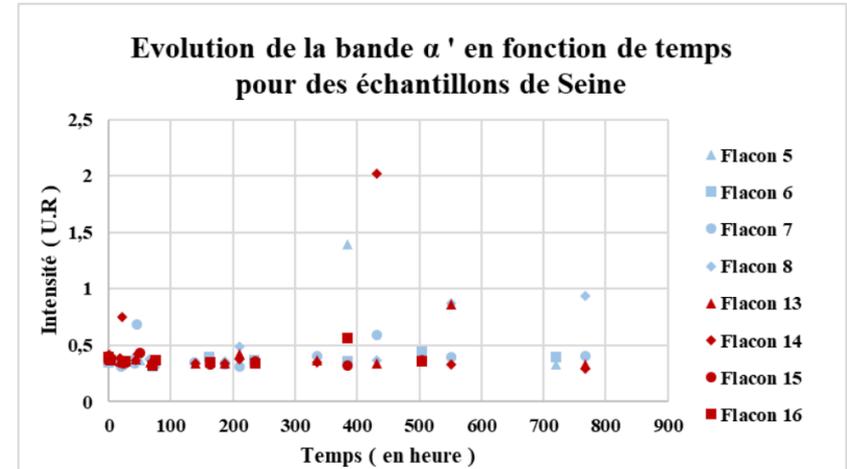
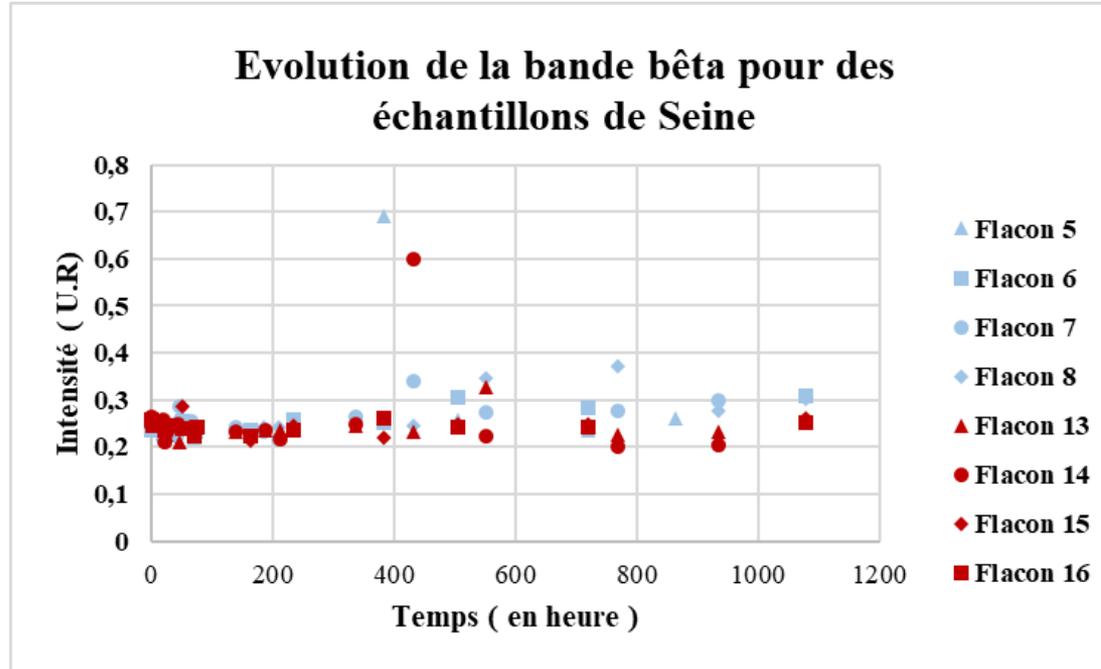


Figure 13 : Evolution de la bande α' pour l'échantillon de Seine. (Échantillons filtrés : bleus et tamisés : rouge).

➤ Pas de variations quantitatives des substances humiques et de la MOD récente

Résultats de spectrofluorescence



- Pas d'évolution de la bande β
- Pas d'activité biologique

Résultats de spectrofluorescence

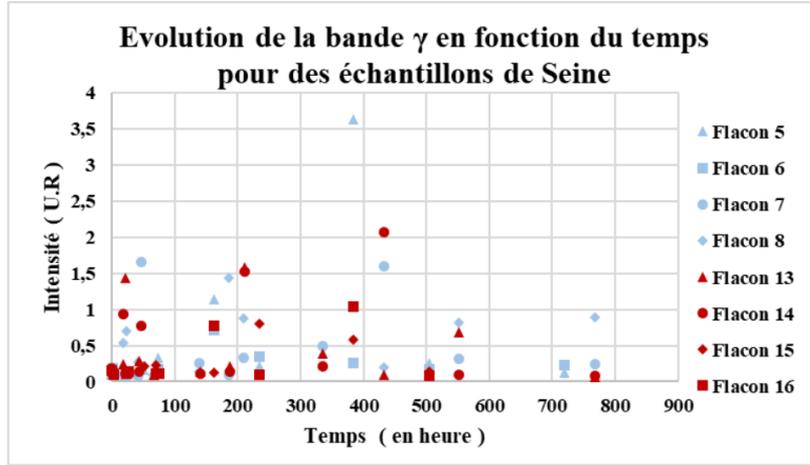


Figure 15 : Evolution de la bande γ pour l'échantillon de Seine. (Échantillons filtrés : bleus et tamisés : rouge).

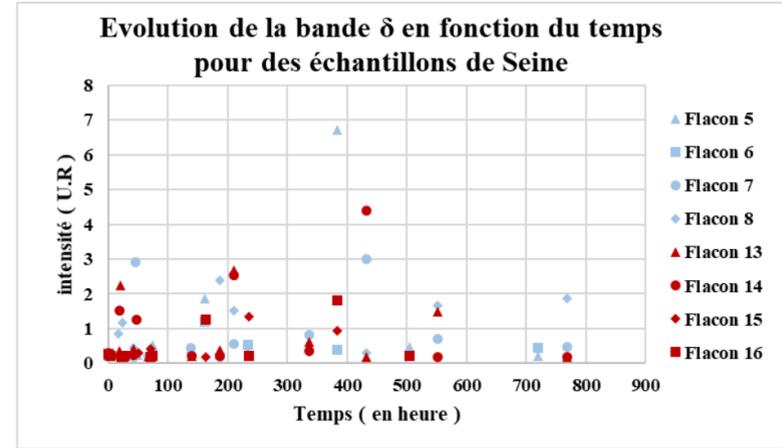


Figure 16 : Evolution de la bande δ pour l'échantillon de Seine. Les échantillons filtrés sont en bleus et les tamisés en rouge.

- Beaucoup de variations du signal de fluorescence

- Bandes considérées constantes en l'absence d'analyses complémentaires

Conclusion

- Avec le COT-mètre : - très peu de MO rapidement biodégradable
- présence majoritaire de MO récalcitrante
- Avec la spectrofluorescence 3D
pas de variations quantitatives : - des Substances Humiques
- de la MOD récente
- de l'activité biologique
- Analyses en microbiologie réalisées ultérieurement

Merci pour votre écoute !



Résultats COD



COT-mètre

source: manuel d'utilisation

1. Dilution
2. Acidification
3. Bullage (élimination du carbone non purgeable)
4. Combustion
5. Analyse IR

On obtient la [COD], en mg/L, de nos échantillons.

Fonctionnement spectrofluorescence

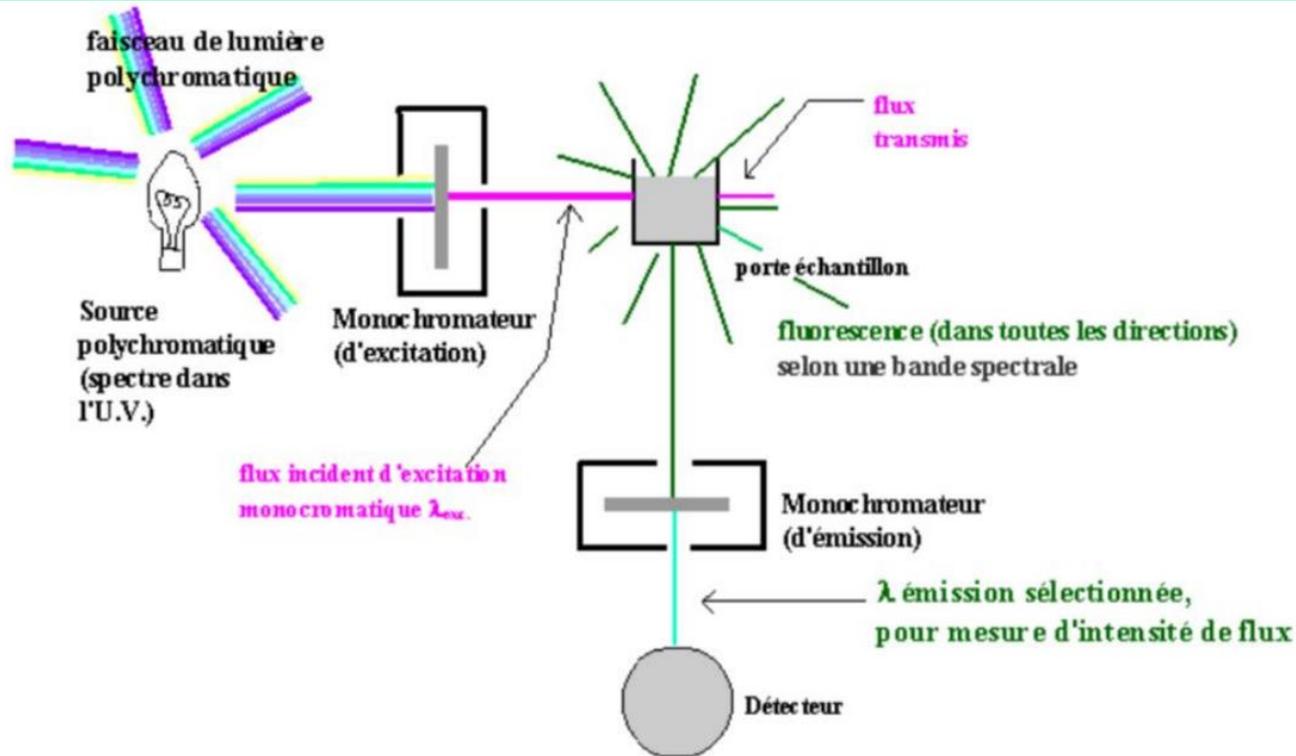


Figure 4 : Instrumentation du spectrofluorimètre 3D, tiré d'un fascicule de TP enseigné par N.Musabimana

Caractérisation de la MO

Problématiques pour les usines de potabilisation :

Traitement chimique et colmatage
des membranes
(Aoustin et al, 2001 ; Park et al, 2018)



Création de sous-produits de
dégradation cancérigènes
(Zhang et al, 2009 ; Tomlinson et al,
2016)



Reviviscence bactérienne
(Biyela, 2010)



Goût, couleur et odeur
(Proulx et al, 2010)

Caractérisation de la matière organique dissoute (MOD)

Problématiques dans les milieux aquatiques :

Cycle des nutriments et prolifération algales
(Bormann and Likens 1967)



Devenir, biodisponibilité et toxicité des micropolluants
(Louis et al, 2014 ; He et al,2016)



Désoxygénation des milieux et mortalité piscicole
(Harremoës, 1982)



- La MOD n'est pas la même au cours du temps et de l'espace.
- D'où l'importance de la caractériser

Résultats COD

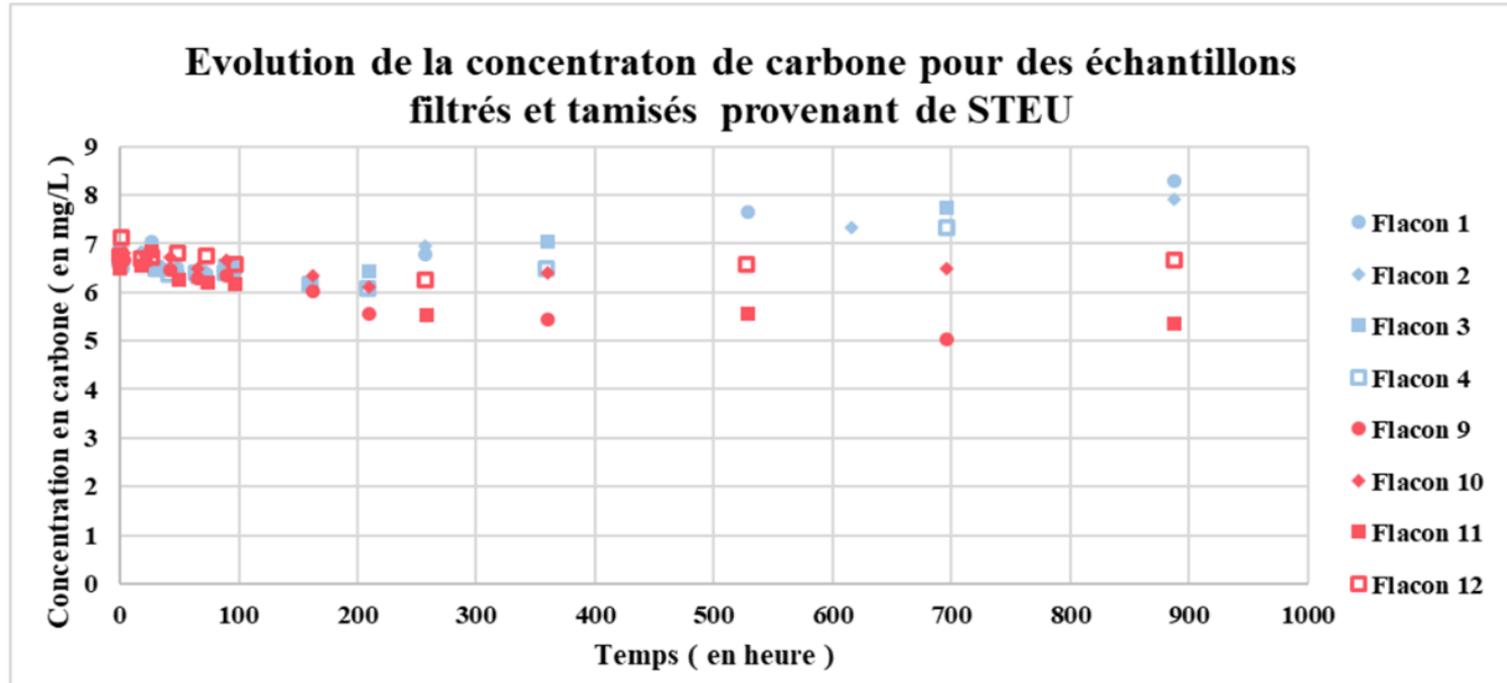
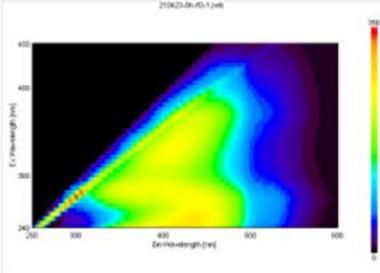
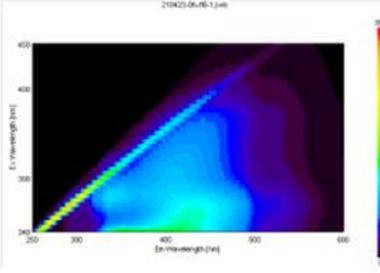
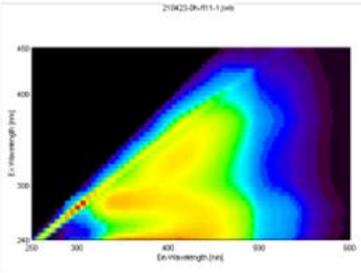
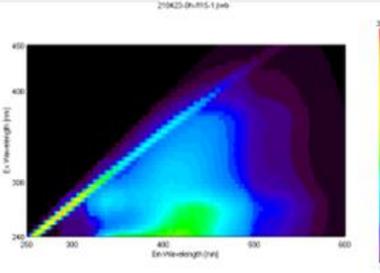
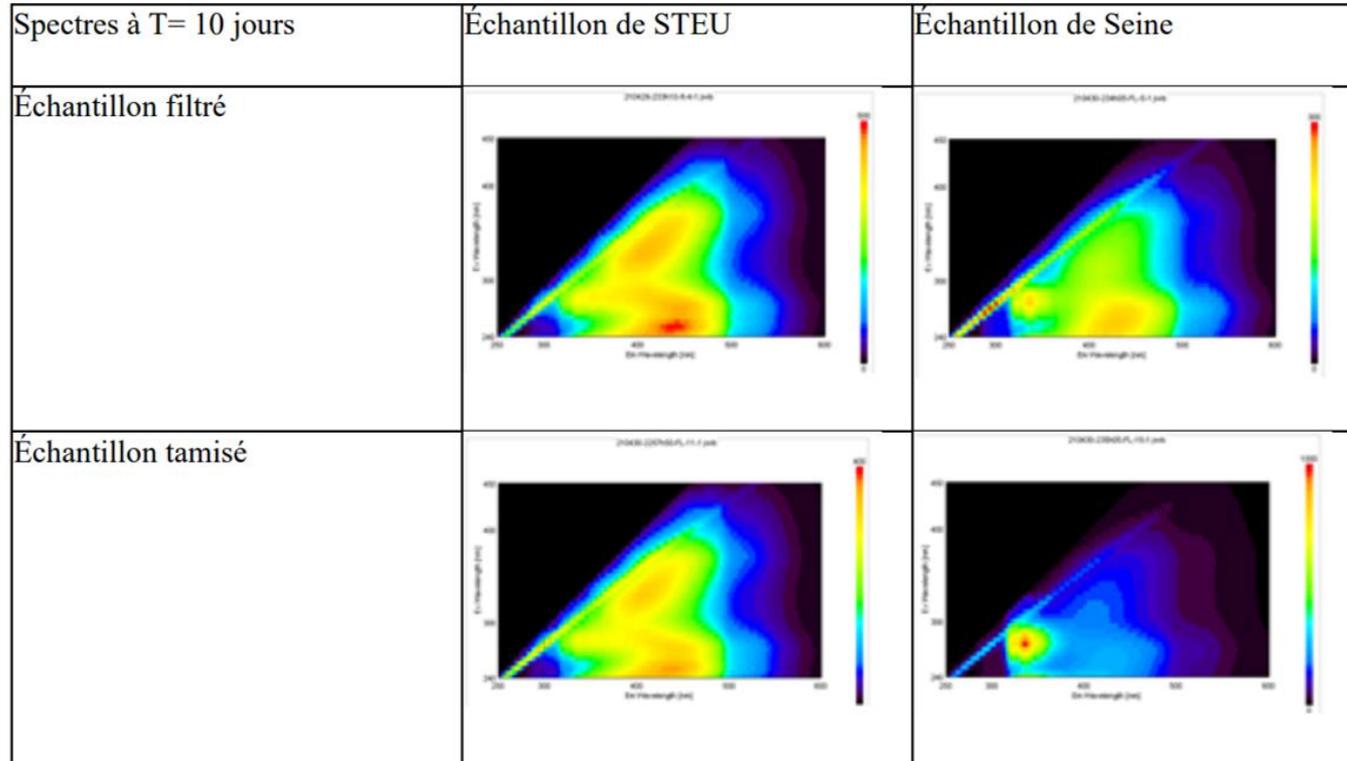


Figure 18 Évolution de la concentration en COD pour des échantillons filtrés (bleu) et tamisés (rouge)

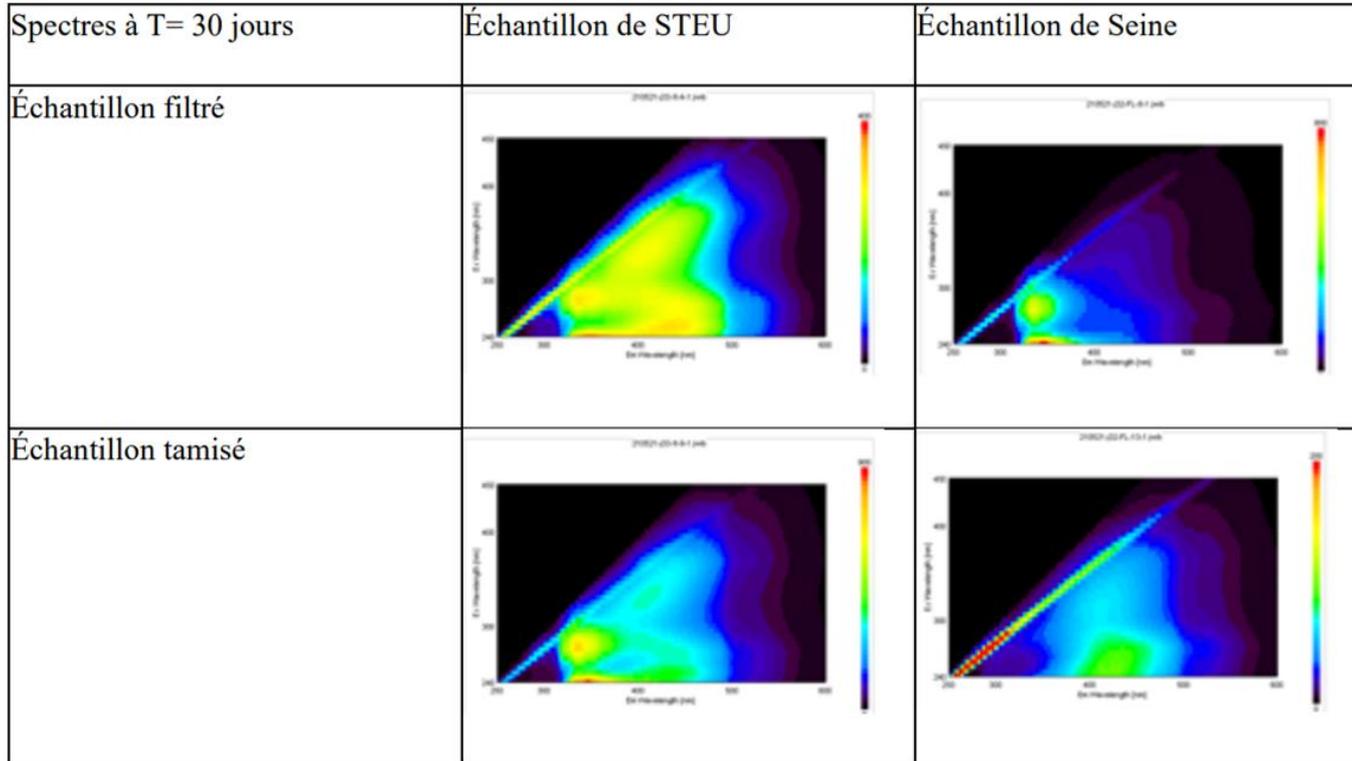
Spectres de spectrofluorescence 3D

| Spectres à T= 0 j | Échantillon de STEU | Échantillon de Seine |
|--------------------|---|--|
| Échantillon filtré |  <p>210K23-09-05-1 µm</p> <p>3D fluorescence heatmap showing intensity (color scale 0 to 500) as a function of excitation wavelength (nm, 250-600) and emission wavelength (nm, 250-600). The plot shows a strong diagonal signal and a broad peak in the 300-500 nm excitation range.</p> |  <p>210K23-09-05-1 µm</p> <p>3D fluorescence heatmap showing intensity (color scale 0 to 500) as a function of excitation wavelength (nm, 250-600) and emission wavelength (nm, 250-600). The plot shows a strong diagonal signal and a broad peak in the 300-500 nm excitation range.</p> |
| Échantillon tamisé |  <p>210K23-09-05-1 µm</p> <p>3D fluorescence heatmap showing intensity (color scale 0 to 500) as a function of excitation wavelength (nm, 250-600) and emission wavelength (nm, 250-600). The plot shows a strong diagonal signal and a broad peak in the 300-500 nm excitation range.</p> |  <p>210K23-09-05-1 µm</p> <p>3D fluorescence heatmap showing intensity (color scale 0 to 500) as a function of excitation wavelength (nm, 250-600) and emission wavelength (nm, 250-600). The plot shows a strong diagonal signal and a broad peak in the 300-500 nm excitation range.</p> |

Spectres de spectrofluorescence 3D



Spectres de spectrofluorescence 3D



Graphiques de spectrofluorescence 3D STEU

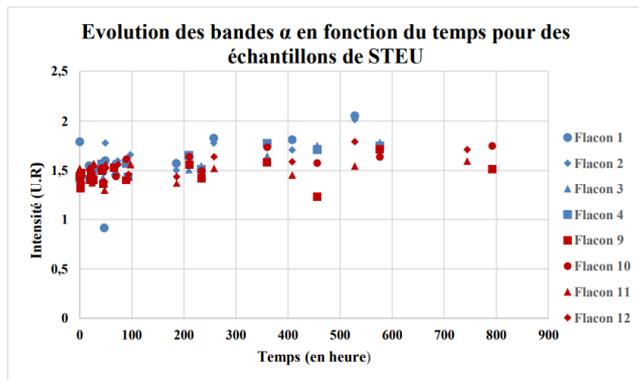


Figure 7 : Evolution de la bande α pour l'échantillon de STEU. (Échantillons filtrés : bleus et tamisés : rouge).

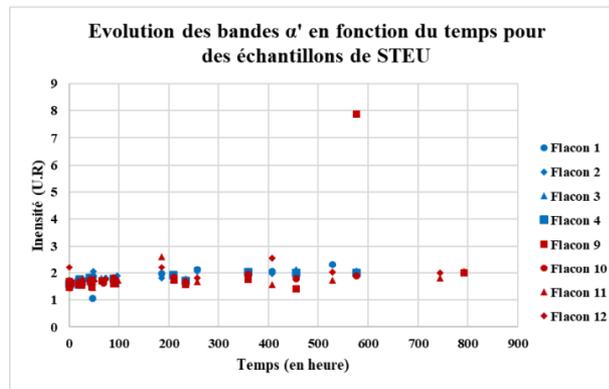


Figure 8 : Evolution de la bande α' pour l'échantillon de STEU. (Échantillons filtrés : bleus et tamisés : rouge).

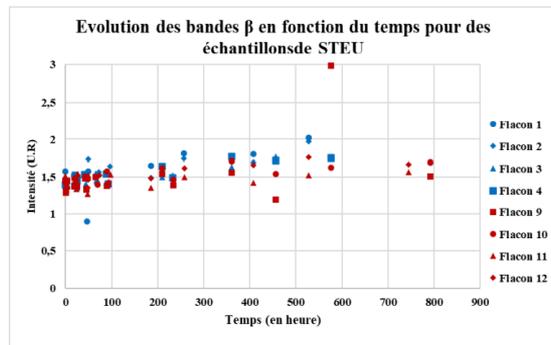


Figure 9 : Evolution de la bande β pour l'échantillon de STEU. (Échantillons filtrés : bleus et tamisés : rouge).

Graphiques de spectrofluorescence 3D STEU

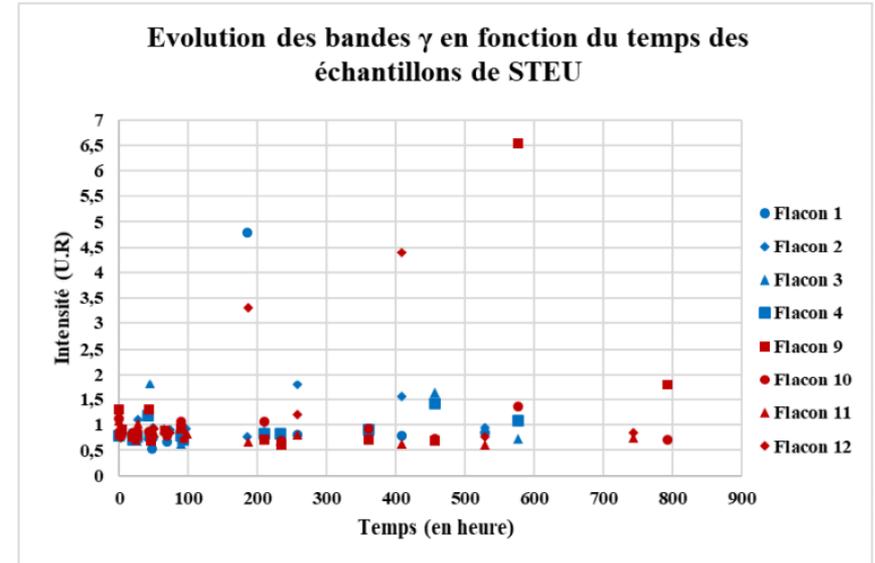
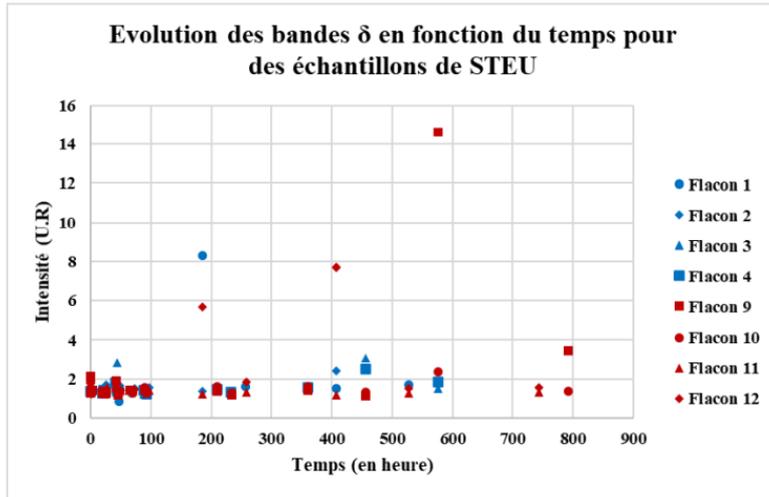


Figure 11 : Evolution de la bande δ pour l'échantillon de STEU. (Échantillons filtrés : bleus et tamisés : rouge)

Figure 10 : Evolution de la bande γ pour l'échantillon de STEU. (Échantillons filtrés : bleus et tamisés : rouge)