Colloque 2021 du PIREN-Seine – 14 & 15 octobre

Développement d'un capteur de fluorescence pour la caractérisation *in situ* et à haute fréquence de la matière organique en rivière

Gilles Varrault, Angélique Goffin, Nadège Musabimana, Sabrina Guérin, Vincent Rocher

Pourquoi s'intéresser à la MO ?

Implication de la matière organique dans un très grand nombre de processus

Processus biogéochimiques dans les milieux aquatiques :

- Equilibre autotrophie/hétérotrophie
- Cycle des nutriments → prolifération algale
- Désoxygénation des milieux → mortalité piscicole
- Spéciation, biodisponibilité et transport des micropolluants

En station de potabilisation :

- Colmatage des membranes
- Elimination des micropolluants
- Couleur, odeur, goût
- Sous-produits de désinfection cancérigènes
- Reviviscence bactérienne

Dépend de la nature chimique de la MO

- Variations spatio-temporelles de la MO et de sa nature chimique (phases 6 et 7 du Piren-Seine)
- En zone urbaine : variations fortement liées aux rejets urbains avec un fort gradient amont/aval agglomération

Nécessaire de caractériser la MO pour mieux comprendre les processus biogéochimiques dans lesquels elle est impliquée

La spectroscopie de fluorescence 3D: le principe

- Excitation des molécules organiques avec photons émis par une source (λ de 250 à 400 nm).

- L'état excité n'est pas stable:
  - ✓ Désexcitation des molécules organiques
  - ✓ Émission de photons dont la λ varie selon la nature de la molécule (fluorescence)

Les groupements fluorescents = fluorophores (Exc/Em)

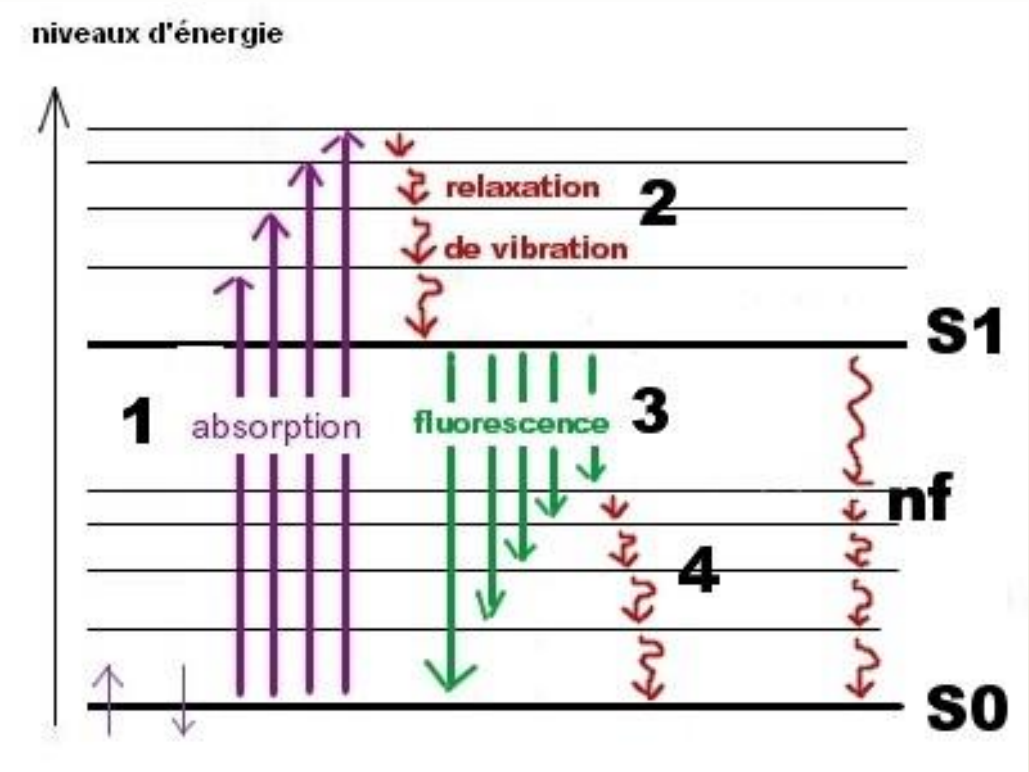
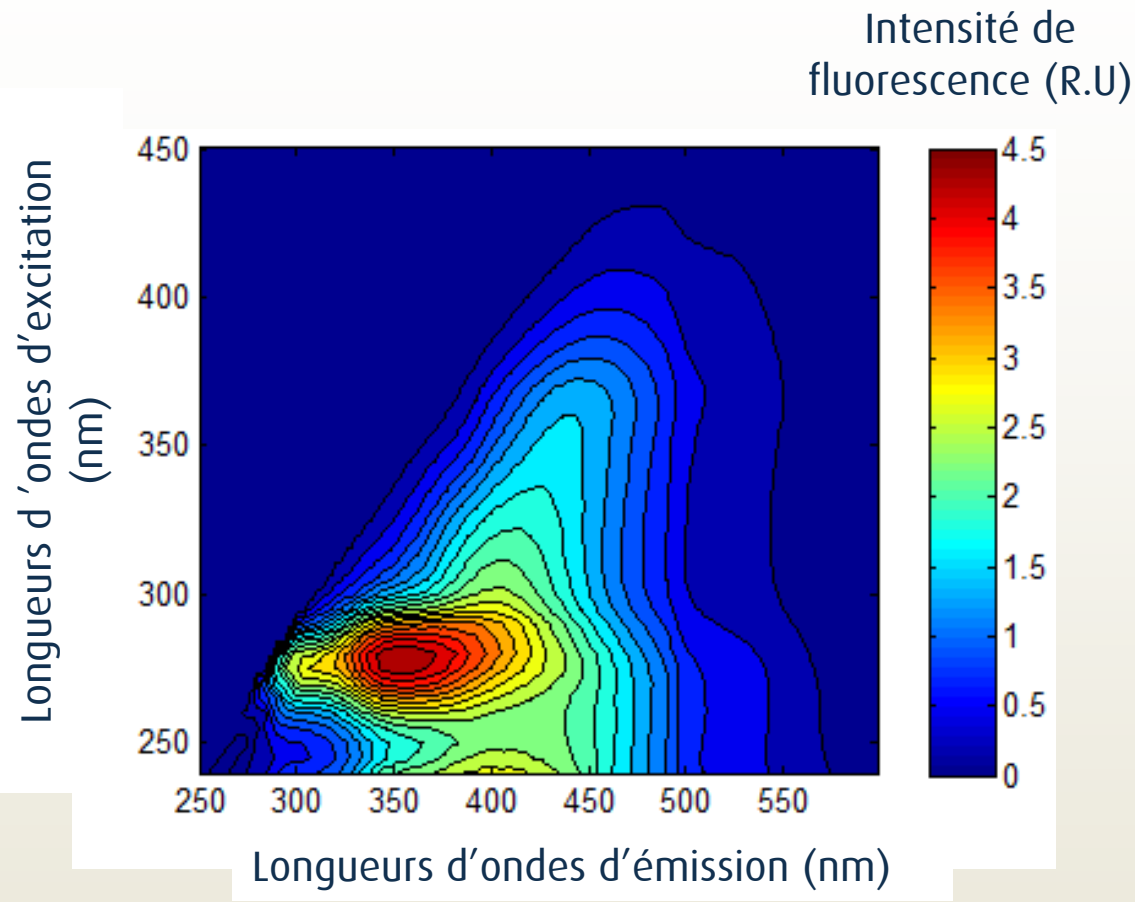


Diagramme de Jablonski simplifié

La spectroscopie de fluorescence 3D: le principe

- Pour chaque λ en Excitation, mesure des photons émis par fluorescence de la MO (λ 250 à 600 nm)
- L'intensité de fluorescence est mesurée pour chaque couple de longueurs d'onde (Exc/Em)

« Matrice Excitation/Emission » ou spectre de fluorescence 3D



Exemple de matrice d'excitation/émission d'une eau usée prétraitée

Traitement des matrices d'Exc/Em : bandes prédéfinies

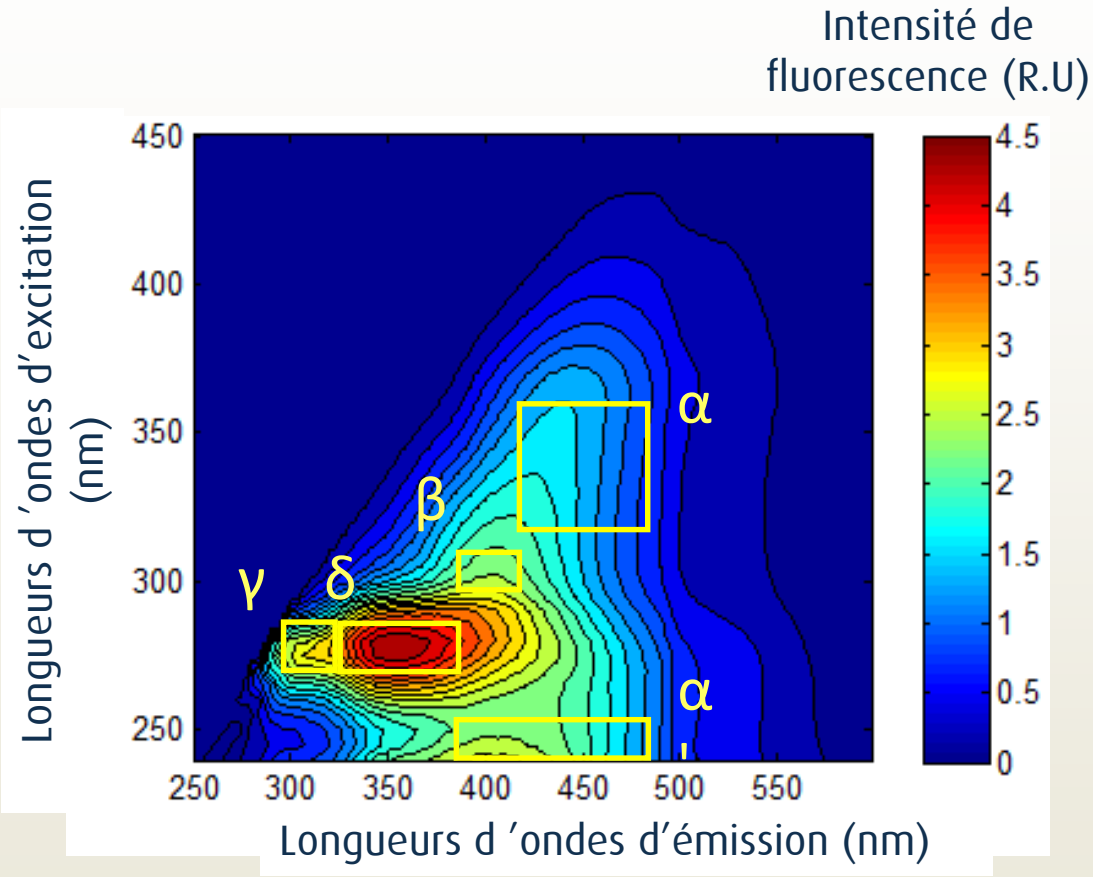
Zones de fluorescence qui correspondent à différents types de MO

Bandes prédéfinies: littérature

Les principales bandes

(Parlanti et al., 2000)

- Type protéinique
  - Bandes γ, δ
- Type substances humiques
  - Bandes α, α'



Exemple de matrice d'excitation/émission d'une eau usée prétraitée

Traitement des matrices Exc/Em: PARAFAC

Décomposition des spectres expérimentaux avec PARAFAC en un combinaison linéaire de composantes (fluorophores)

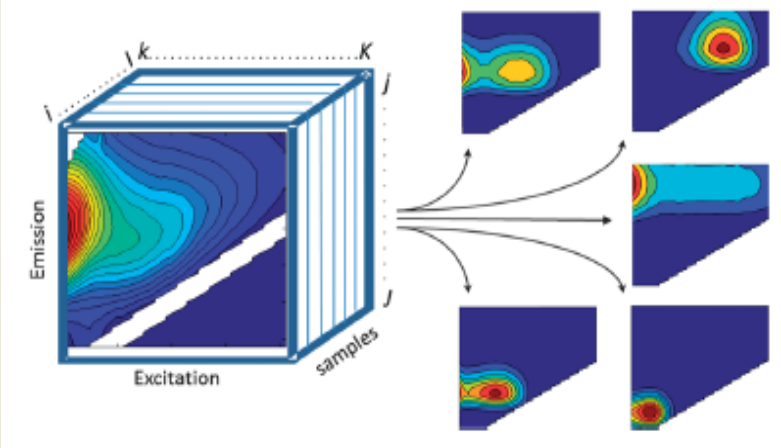
- Parallel factor analysis = Analyse de données multivariables (Bro, 1997)

$$x_{ijk} = \sum_{f=1}^{F} a_{if} b_{jf} c_{kf} + \varepsilon_{ijk}$$

Résidus
Données inexpliquées (fluorescence résiduelle, interférences….)

Données mesurées
i échantillons
j longueur d'onde d'émission
k longueur d'onde d'excitation

Données modélisées
Concentration de chaque composante
Propriétés d'émission
Propriétés d'excitation



Murphy et al., 2013

- Localisation de fluorophores
- Intensité de fluorescence modélisée (scores)

Traitement des matrices Exc/Em: PARAFAC

- **Dans le bassin de la Seine (Piren-Seine)**
  - ✓ 10 fluorophores dans eaux de surface (Goffin, 2017)
  - ✓ 6 fluorophores dans les eaux souterraines de la plaine de la Bassée *(Parlanti et al., 2018)*

- **Dans les eaux usées parisiennes (Mocopée)**
  - ✓ 6 fluorophores *(Goffin, 2017)*

- **Dans la littérature scientifique**
  - ✓ 5 à 10 fluorophores en général selon le type d'échantillon

- **Fluorophores potentiellement différents entre eaux usées et eau de rivière et même d'une rivière à l'autre**

Caractérisation de la matière organique dans les milieux aquatiques par spectroscopie de fluorescence 3D

- **Meilleure compréhension de la dynamique des concentrations et nature de la MOD**
  - ✓ Dans le bassin de la Seine *(Goffin 2017; Parlanti 2018; Varrault et al., 2019)*
  - ✓ Variations diurnes de la MO même avec des débits stables (*Carstea et al., 2010; Spencer et al., 2007)* → variations diurnes des sources de MO et/ou processus qui l'affectent

- **Prédiction de la concentration en COD en rivière** *(Goffin 2017)*

- **Traceur d'apport d'eaux usées en rivière** *(Matar et al., 2012; Zhou et al., 2016)*

- **Qualité microbiologique des eaux** (*Baker et al., 2015; Cumberland et al., 2012; Nowicki et al., 2019;Sorensen et al., 2015)*

Pourquoi la mesure à « haute fréquence » et *in situ* ?

- **Meilleur suivi de la dynamique de la MOD**
  - ✓ Rejets urbains de temps de pluie
  - ✓ Crue → Meilleure caractérisation des sources
  - ✓ Dysfonctionnement de stations d'épuration
  - ✓ Variations à l'échelle de la journée (même en conditions stationnaires)

    → Processus biologiques, photochimiques

- **Processus biogéochimiques liés à la MOD se déroulant à ces échelles de temps difficilement compatibles avec des prélèvements ponctuels**

- **Intérêt de la mesure *in situ***
  - ✓ Cadence analytique permet la mesure haute fréquence
  - ✓ Pas d'évolution de la MOD entre le prélèvement et l'analyse (MOD biodégradable !)
  - ✓ Pas de contamination des échantillons

Les sondes de fluorescence: quelle offre commerciale ?

- Revue des sondes commerciales réalisée en 2017/2018 et réactualisée en 2020
  - ✓ Principalement destinées à l'analyse des classes d'algues dans les milieux aquatiques
  - ✓ Pour celles destinées à analyse de la MOD, analyse de 2 à 3 fluorophores
- Analyse un grand nombre de fluorophores (plusieurs dizaines) nécessaire pour caractériser plus finement la MOD
- Offre commerciale non satisfaisante pour nos besoins

Développement d'une sonde au LEESU en collaboration avec le SIAAP

Post-doc Angélique Goffin (2018-2019)

FLUOCOPÉE

FLUOCOPÉE

Cahier des charges:

- **Grand nombre de fluorophores analysés**
- Système de contrôle de dérive de la mesure (correction du signal)
- Sensibilité suffisante pour utilisation dans les milieux aquatiques
- Exactitude des mesures
- Robustesse

FLUOCOPÉE

Réflexion sur le choix:

- Des sources d'excitation
- Du dispositif de sélection des photons émis par fluorescence et envoyés vers le détecteur
- Du type de détecteur (sensibilité)

Le développement de FLUOCOPEE

FLUOCOPÉE

Fin 2018

Preuve de concept

Montage réalisé au LEESU

2019

Conception prototypes fonctionnels avec un bureau d'étude spécialisé en optoélectronique

Amélioration continue jusqu'à la mi **2021**

Livraison du premier prototype « industriel » (V1) en juin 2021

Début 2022

- Livraison de 3 sondes supplémentaires (V2)
- Déploiement en STEU et rivière

Les performances de FLUOCOPEE

FLUOCOPÉE

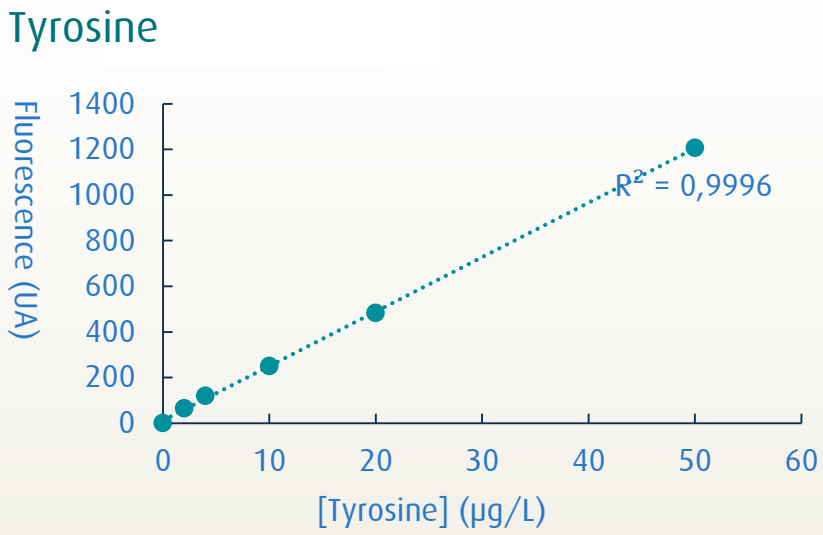
Analyse possible de 32 fluorophores

- Avantage clé pour une meilleure caractérisation de la MOD
- Mise en place de modèles prédictifs de paramètres physico-chimiques de la MOD
- Choix possible des fluorophores (Exc/Em) lors de la fabrication de la sonde

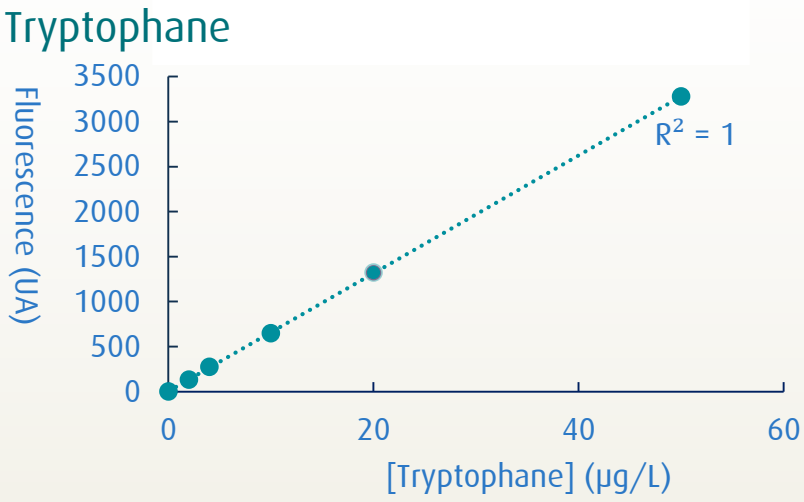
Les performances de FLUOCOPEE

Etalonnages pour 3 composés

- **Protéiniques:** tyrosine et tryptophane
- **Substances humiques:** acides humiques



Etalonnage FLUOCOPEE – solutions de tyrosine



Etalonnage FLUOCOPEE – solutions de tryptophane

Limites de quantification

- 0,5 et 2 µg.L^{-1} pour le tryptophane et la tyrosine
- 0,1 mgC.L^{-1} pour les acides humiques

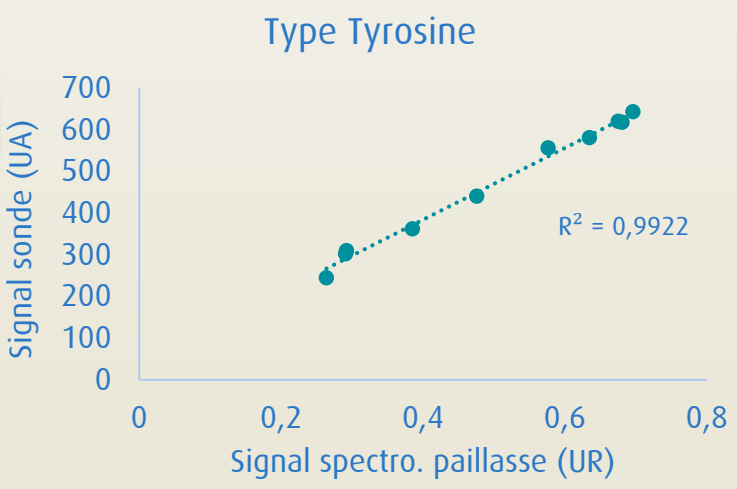
- **LQ de 7 à 25 fois inférieures aux concentrations minimales mesurées en Seine**
- **Compatibles avec une utilisation en filière de potabilisation**

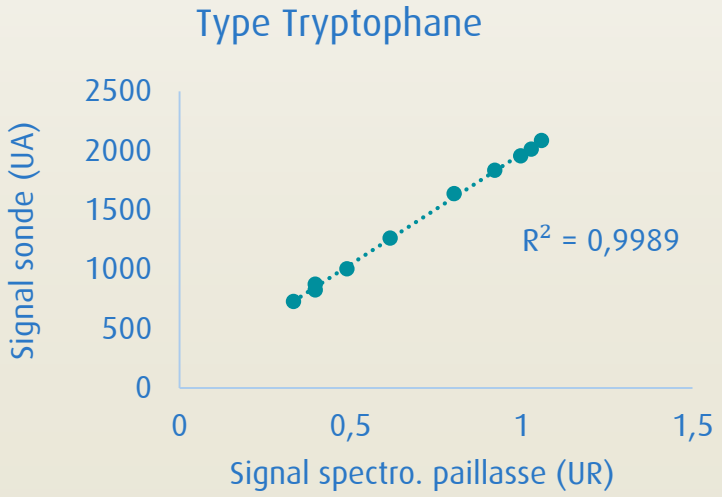
Les performances de FLUOCOPEE

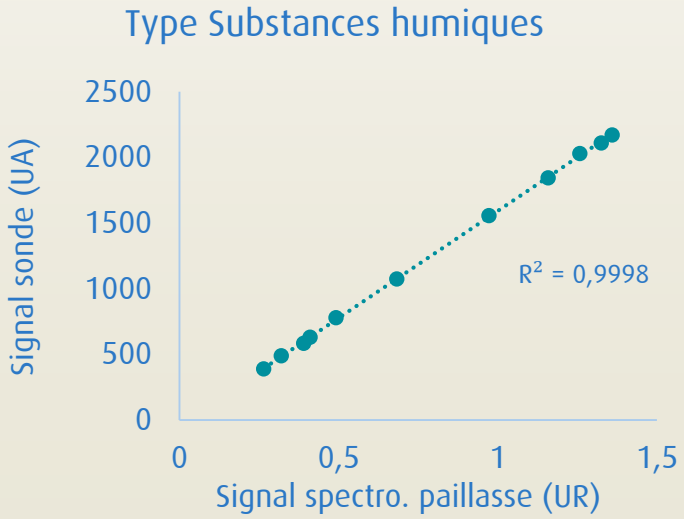
Justesse des mesures

- 80 mesures réalisées en laboratoire avec la sonde et un spectrofluorimètre de paillasse (référence)
- Solutions mélanges d'eau de Seine, entrée et sortie de STEU
- En moyenne et selon le fluorophore: 1 à 5% d'écart entre valeurs mesurées par la sonde et valeurs mesurées par spectro. paillasse
- Pour la quasi-totalité des cas: - de 10% d'écart entre la valeur mesurée par la sonde vs. valeurs mesurées par spectro. paillasse

Mélanges sortie STEU et eau de Seine







Les performances de FLUOCOPEE

FLUOCOPÉE

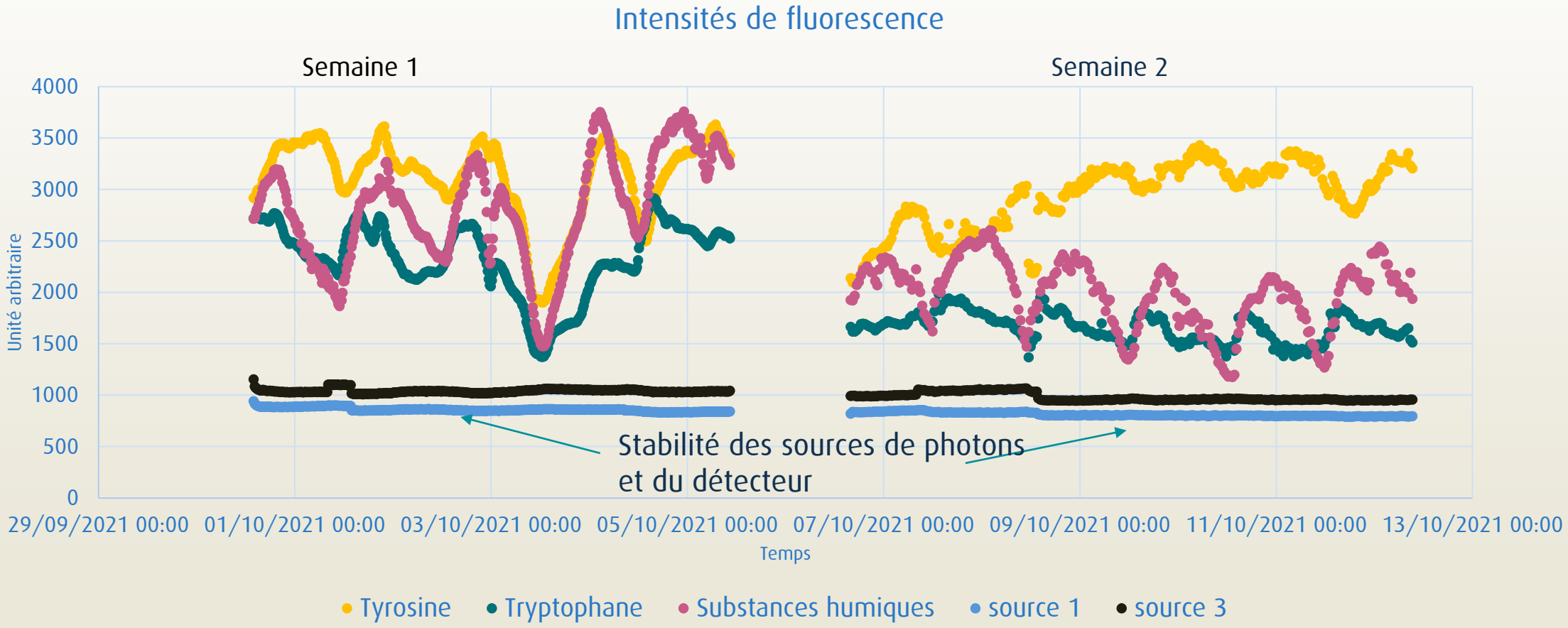
- Répétabilité des mesures
  - ✓ Ecart-type relatif inférieur à 3% sur toutes les répétitions effectuées
- Robustesse
  - ✓ ≈ 2000 séquences de mesure réalisées depuis juin sans dysfonctionnement (dont 800 dans eaux usées décantées)
  - ✓ Équivalent à 3 mois de mesures à une fréquence horaire
- Pas d'encrassement (pour l'instant!) dispositif anti-fouling efficace

Les premiers suivis en STEU

Mesure dans eaux usées après décantation (Hall d'essai de la STEU Seine-Centre)

- une mesure toutes les 15 à 30 minutes (près de 800 séquences de mesures)
- données brutes non traitées (moins de 10 points « aberrants » éliminés)

Variabilité des intensités de fluorescence à une échelle journalière et hebdomadaire



Les performances de FLUOCOPEE

- **Analyse possible de 32 fluorophores**
- Sensibilité (eau potable)
- Exactitude des mesures (justesse et répétabilité)
- Système de contrôle de dérive de la mesure

Dépôt de brevet en cours (LEESU/SIAAP)

Perspectives

FLUOCOPÉE

Tests automne 2021 - hiver 2022

Hall d'essai du SIAAP (eaux usées + eau de Seine)

- ✓ Robustesse, encrassement, exactitude des mesures
- ✓ Interférences (turbidité, température, filtre interne)
- ✓ Estimation maintenance nécessaire (calibration,...)

Déploiement début 2022 de 4 sondes

- ✓ STEU Seine Aval et Pierre Bénite à Lyon (échanges en cours)
- ✓ En rivière (Piren-Seine et MeSeine)
  - Meilleure compréhension des processus biogéochimiques en rivière
  - Traceur d'apports d'eaux usées, qualité microbiologique des eaux ?

Phase industrialisation en 2022 ?

Perspectives

Thèse N. MUSABIMANA (2020-2023)

Caractérisation de la biodégradabilité de la MOD par spectrofluorescence

- Recherche d'indicateurs (fluo) des différentes classes de MOD biodégradable (rapidement, lentement et «réfractaire») dans rejets urbains et rivières
- Alimenter les modèles biogéochimiques (0_2, N, P, GES, micropolluants,...) afin d'affiner les sorties des modèles.
- Notamment en « période transitoire » (rejets de temps de pluie, dysfonctionnement de stations d'épuration ou modification des traitements épuratoires appliqués, ...)

→ Suivi à haute fréquence et *in situ* des différentes classes de dégradabilité de la MOD

MERCI POUR VOTRE ATTENTION

Gilles Varrault, Angélique Goffin, Nadège Musabimana, Sabrina Guérin, Vincent Rocher

Laboratoire Eau Environnement et Systèmes Urbains
Service public de l'assainissement francilien
UNIVERSITÉ PARIS-EST CRÉTEIL
École des Ponts ParisTech