

# Suivi cinétique en HPLC-UV du diuron et de ses 2 précurseurs dans les eaux décantées de STEU artificielles polluées durant l'expérimentation en culture bactérienne

Dans le cadre du projet MIDI: **M**icroorganismes acteurs gouvernant la dégradation du **D**iuron dans la boue d'épuration durant le traitement biologique

*Stage Master 1 Sciences et Génie de l'Environnement  
Université de Paris – Université Paris-Est Créteil*

May-Siane MARIE-MARTHE

Maître de stage: My Dung JUSSELME

Juillet 2021

# Plan

---

## **I – Introduction**

## **II – Matériels et Méthodes**

1. Expérimentation biologique
2. Détection et quantification du diuron et ses deux précurseurs par analyse en HPLC-UV

## **III – Résultats**

1. Croissance bactérienne au cours du suivi cinétique
2. Détection et quantification du diuron et de ses précurseurs

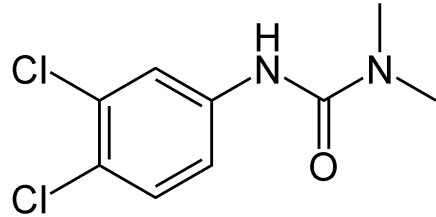
## **IV – Discussions et conclusions**

# I - Introduction

---

# Introduction

**Diuron**  
(C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O)

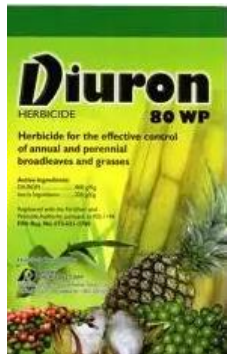


3-(3,4-Dichlorophényl)-1,1-diméthylurée



- Persistant
- S'accumule dans les sols et les sédiments
- T<sub>1/2</sub> dans le sol > 300 jours
- Micropolluant toxique

Substance « prioritaire » ciblée dans le cadre de la directive-cadre Européenne sur l'eau. (2000/60/CE, UE, 2001)

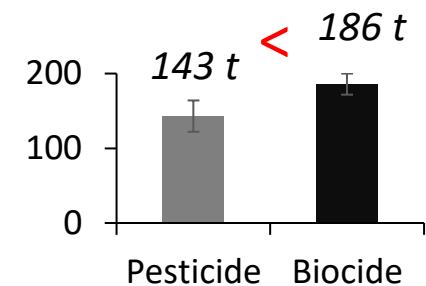


Produit phytosanitaire  
interdit en France en 2008



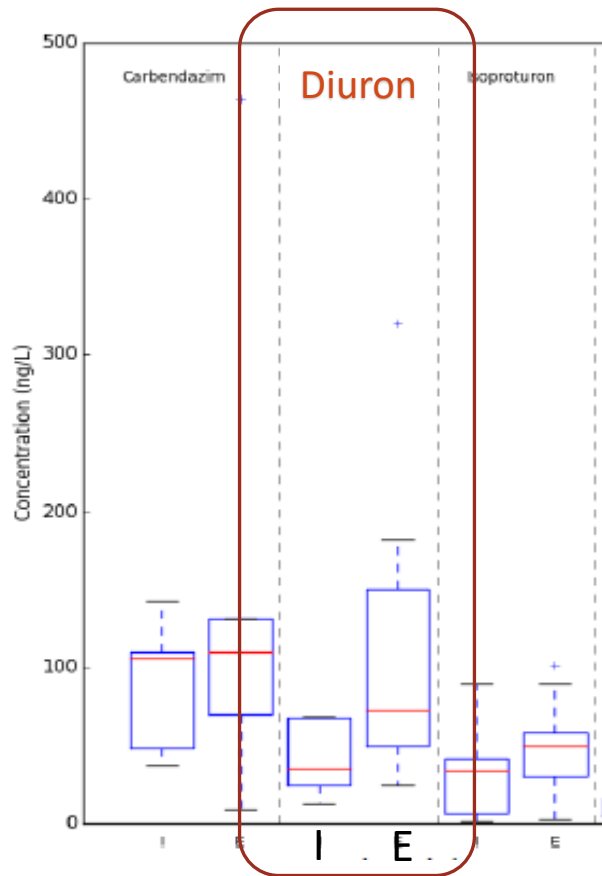
Actuellement en usage biocide

Les tonnages enregistrés

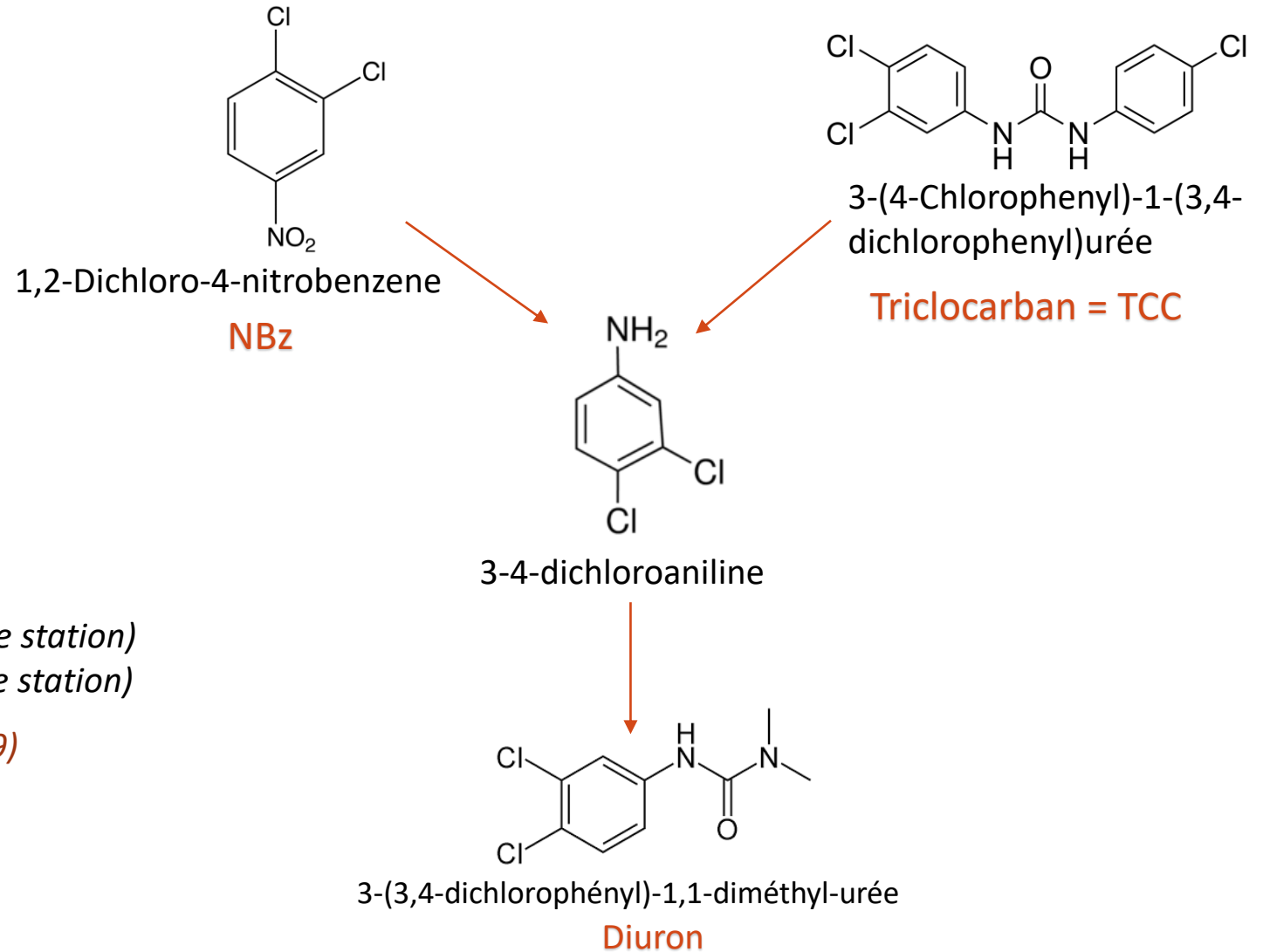


(Cerema, 2017)

# Contexte



➤ Concentration du Diuron sortie >>> entrée



# Objectifs

---

*Identifier et quantifier le diuron et ses deux précurseurs (le triclocarban et le 1,2-Dichloro-4-nitrobenzène) durant un traitement biologique en effectuant des analyses en HPLC-UV.*

# II - Matériels et Méthodes

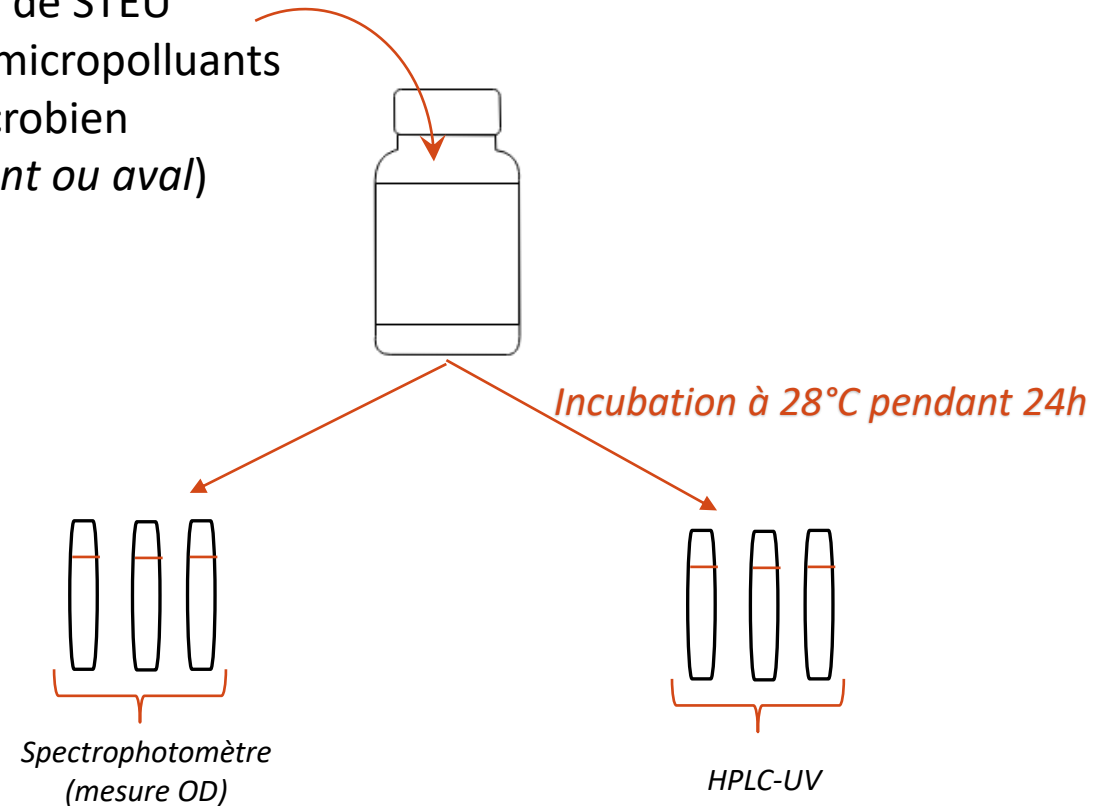
---

EXPÉRIMENTATION BIOLOGIQUE - ANALYSE CHIMIQUE

# 1. Expérimentation en milieu de culture

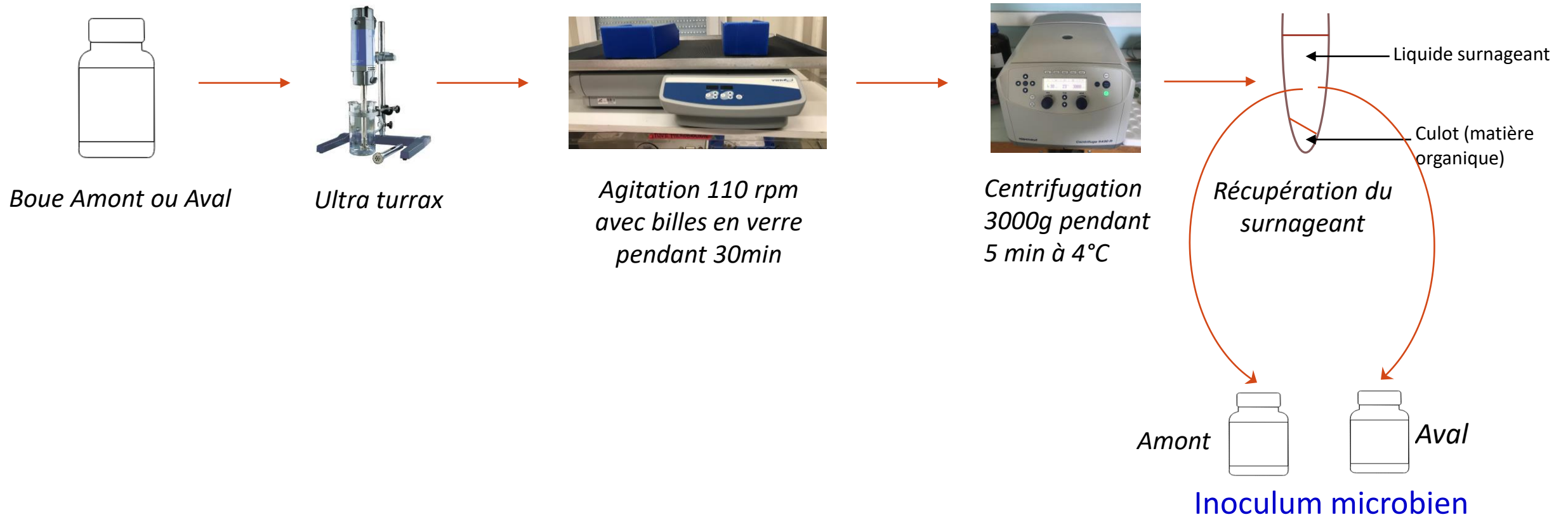
---

- Eau décantée de STEU
- Solution des micropolluants
- Inoculum microbien  
(*Boue amont ou aval*)





# Préparation des inocula microbiens



# Préparation d'eau décantée et de solution micropolluants

---

## - Eau décantée du SIAAP

Centrifugation à 3000g  
pendant 5 min



Stérilisation à 121°C  
pendant 20 min



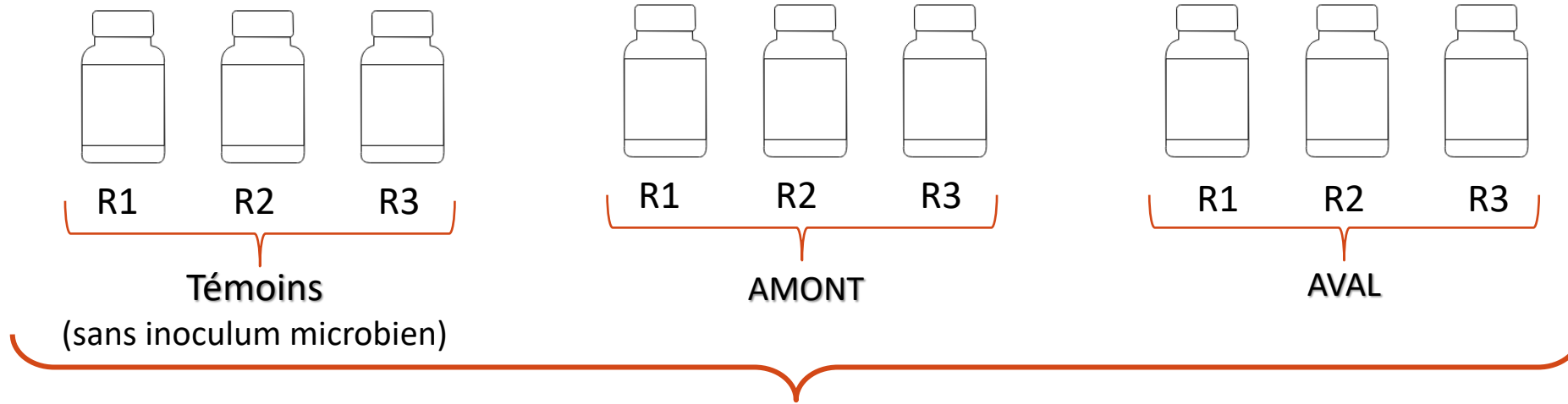
## - Solution mélangée de micropolluants



- Diuron
- Triclocarban
- 1,2-Dichloro-4-nitrobenzène

Chaque substrat à 400µg/L dans les échantillons finaux

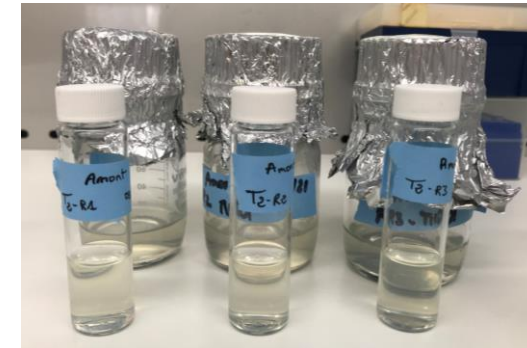
# Etape d'incubation



**Incubation à 28°C pendant 24h**

A chaque temps (T0, T2h, T4h, T8h et T24h):

- Mesure de la croissance bactérienne (spectrophotomètre)
- Détection et quantification du diuron et 2 précurseurs (HPLC-UV)



*A l'arrière: bouteilles mises à incuber*

*A l'avant: flacons de transfert et de conservation des échantillons au congélateur à chaque temps (T0, T1(2h), T2(4h), T3(8h) et T4(24h))*

## 2. Détection et quantification du diuron et ses deux précurseurs par analyse en HPLC-UV



*Système chromatographique liquide*

*Prominence Shimadzu*

Pompe à deux voies:

Eluant A : Eau ultrapure

Eluant B: Acétonitrile 10% qualité HPLC



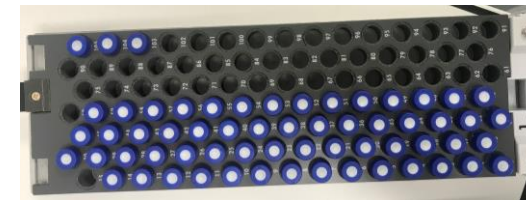
- **Colonne** : Ascentis Express C18
- **Température de la colonne** : 40°C
- **Débit de la phase mobile** : 1mL/min
- **Volume d'injection** : 10µL
- **Balayage de longueur d'onde de détection** : 190-800nm

### Longueurs d'onde optimales:

- Diuron: 249nm
- NBz et TCC: 258nm

### Séquence d'analyse comprenant:

- Blancs de MeOH de qualité HPLC
- Gamme d'étalonnage des trois substrats
- Contrôle
- Echantillons : homogénéisés et filtrés sur filtre-  
seringue de 0,45µm puis 0,2µm



*Plateau contenant la séquence d'analyse*

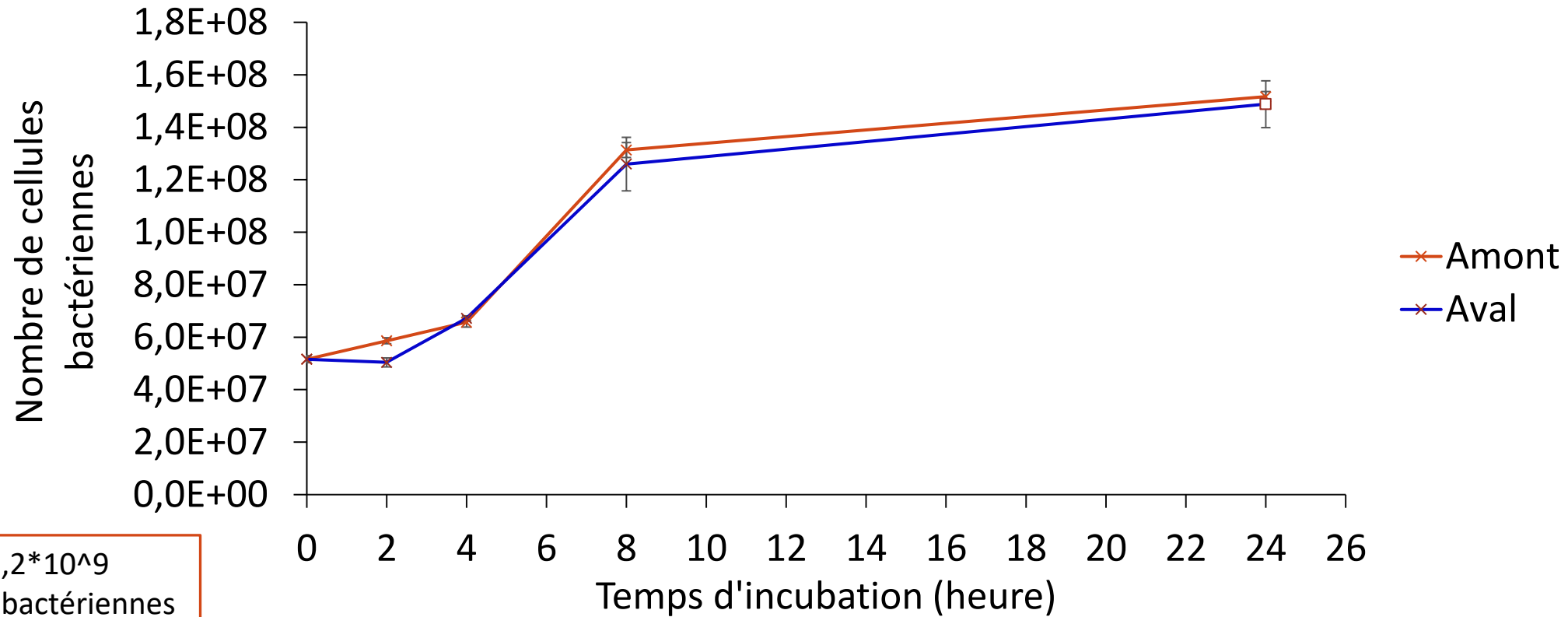
# III - Résultats

---

CROISSANCE MICROBIENNE AU COURS DU SUIVI CINÉTIQUE

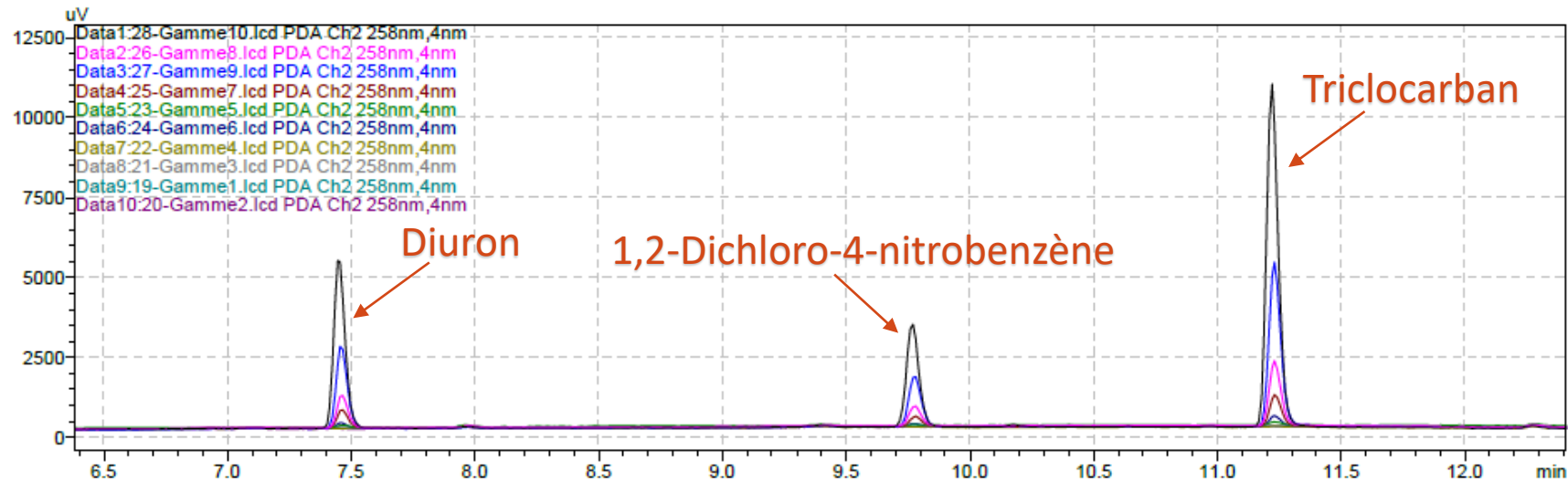
DÉTECTION ET QUANTIFICATION DU DIURON ET SES PRÉCURSEURS

# 3.1. Croissance bactérienne au cours du suivi cinétique



→ Croissance bactérienne significative entre 4h et 8h puis modérée jusqu'à 24h

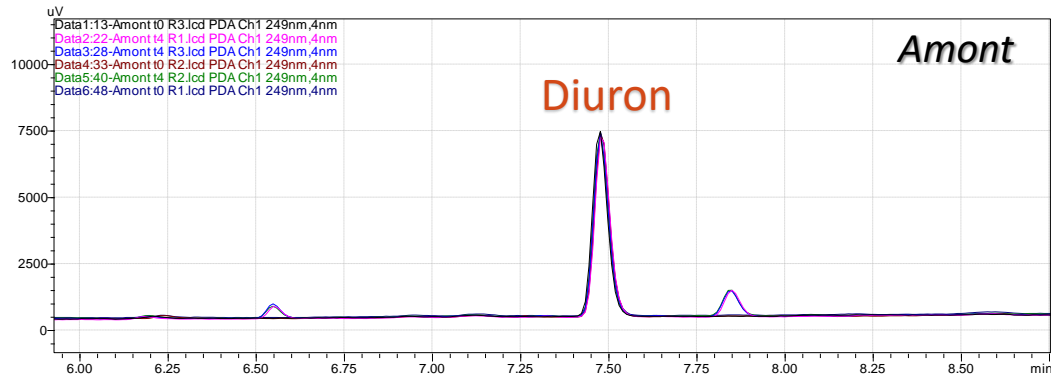
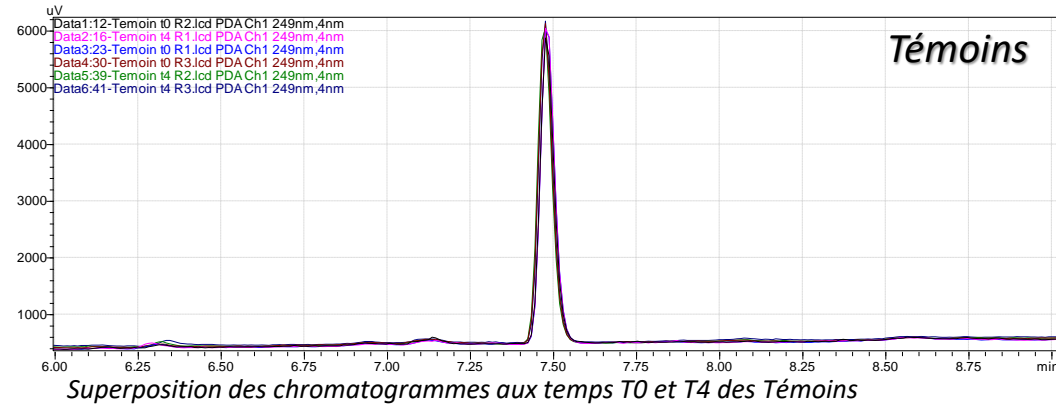
## 3.2. Détection du diuron et de ses précurseurs



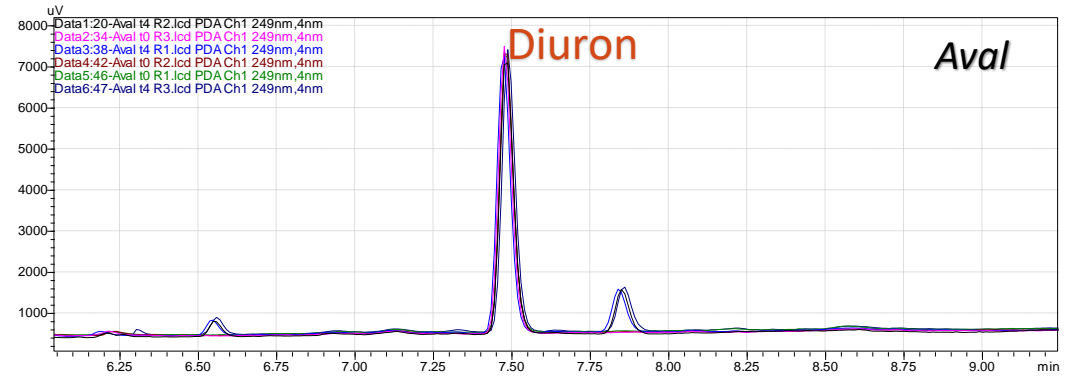
Standard	Temps de rétention (min)
Diuron	7,46
1,2-dichloro-4-nitrobenzène	9,78
Triclocarban	11,26

# Détection du diuron

Tr moyen = 7,46min



Superposition des chromatogrammes aux temps T0 et T4(24h) des échantillons Amont  
Apparition de deux nouveaux pics à T4 autour de la zone d'élution du diuron (6,55min et 7,85min)



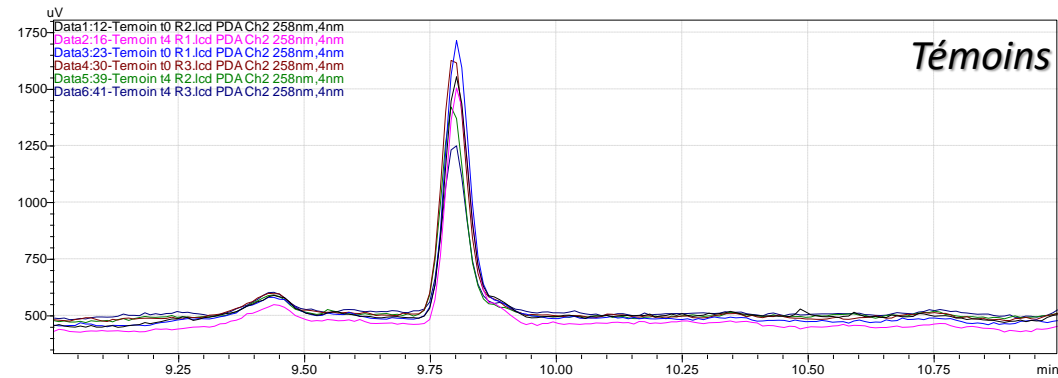
Superposition des chromatogrammes aux temps T0 et T4 des échantillons Aval  
Apparition de deux nouveaux pics à T4 autour de la zone d'élution du diuron (6,55min et 7,85min)

→ Détection des pics du diuron

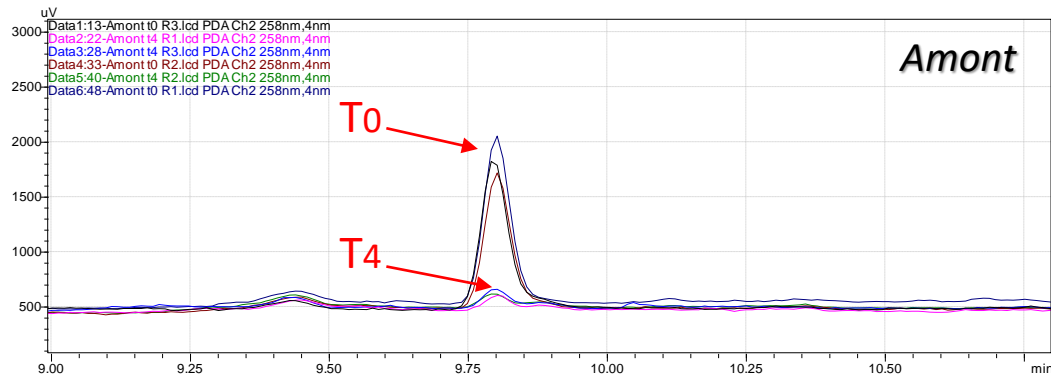


# Détection du 1,2-Dichloro-4-nitrobenzène

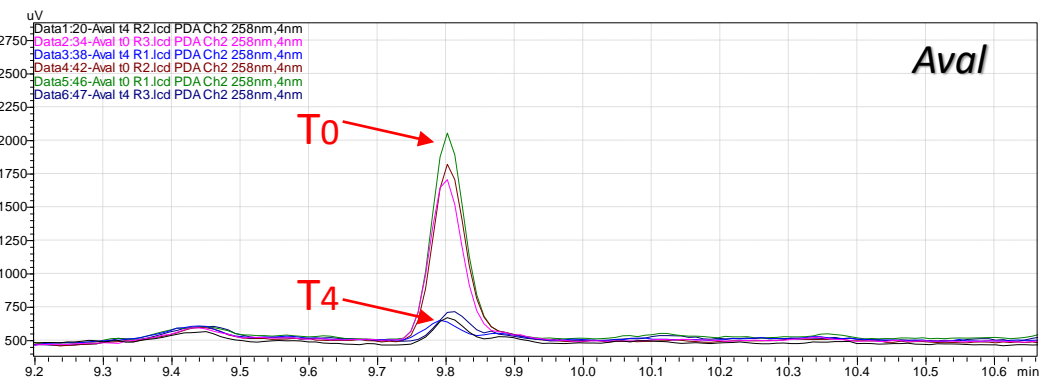
Tr moyen = 9,78min



Superposition des chromatogrammes aux temps T0 et T4 des Témoins



Superposition des chromatogrammes aux temps T0 et T4 des échantillons Amont

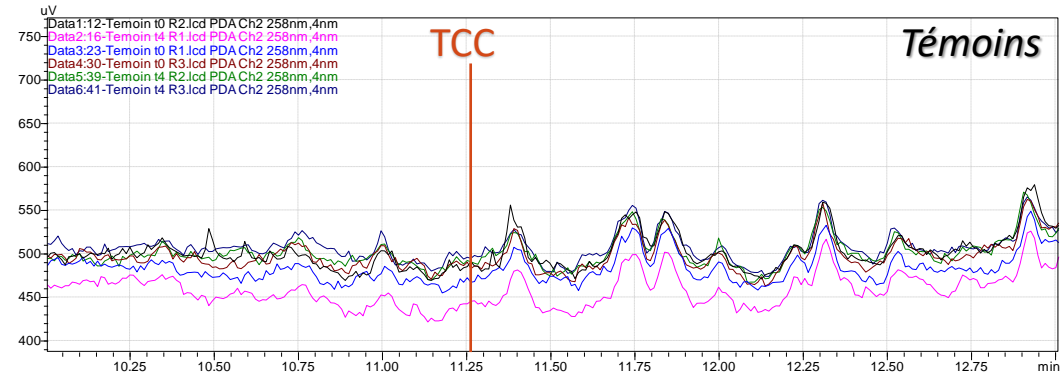


Superposition des chromatogrammes aux temps T0 et T4 des échantillons Aval

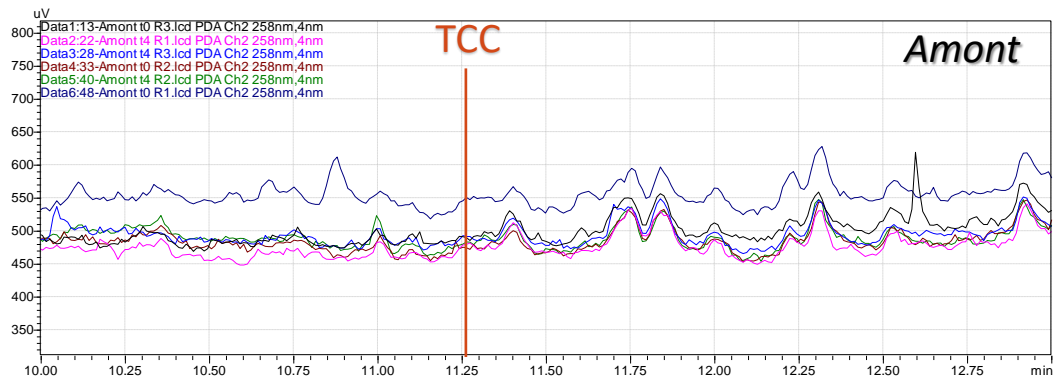
→ Détection des pics du 1,2-Dichloro-4-nitrobenzène

# Détection du triclocarban

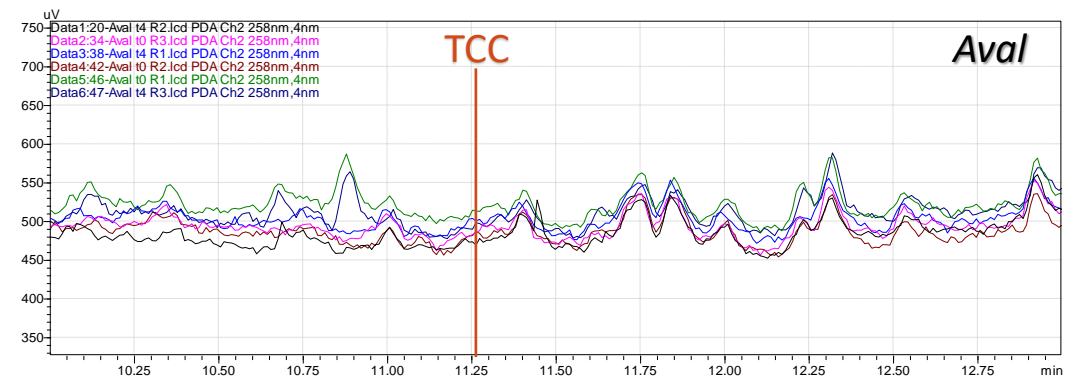
Tr moyen = 11,26min



Superposition des chromatogrammes aux temps T0 et T4 des témoins



Superposition des chromatogrammes aux temps T0 et T4 des échantillons Amont

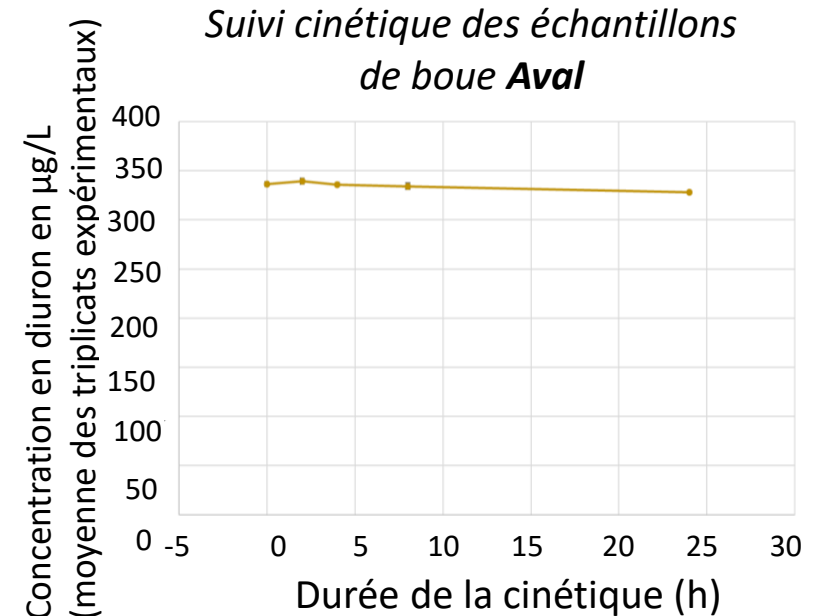
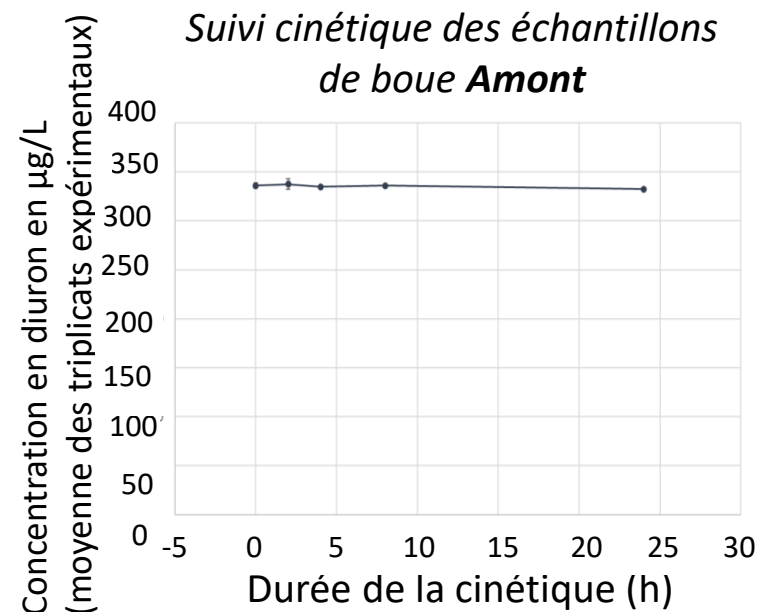
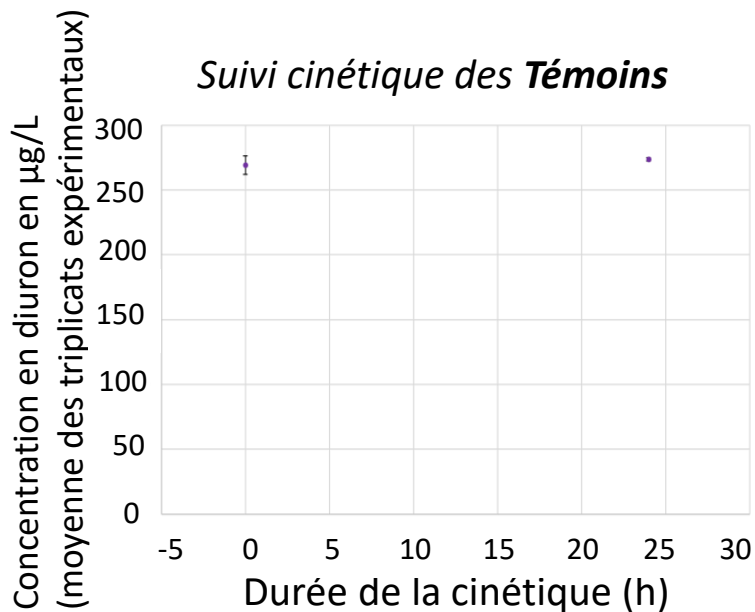


Superposition des chromatogrammes aux temps T0 et T4 des échantillons Aval

→ Aucun pic de triclocarban identifié

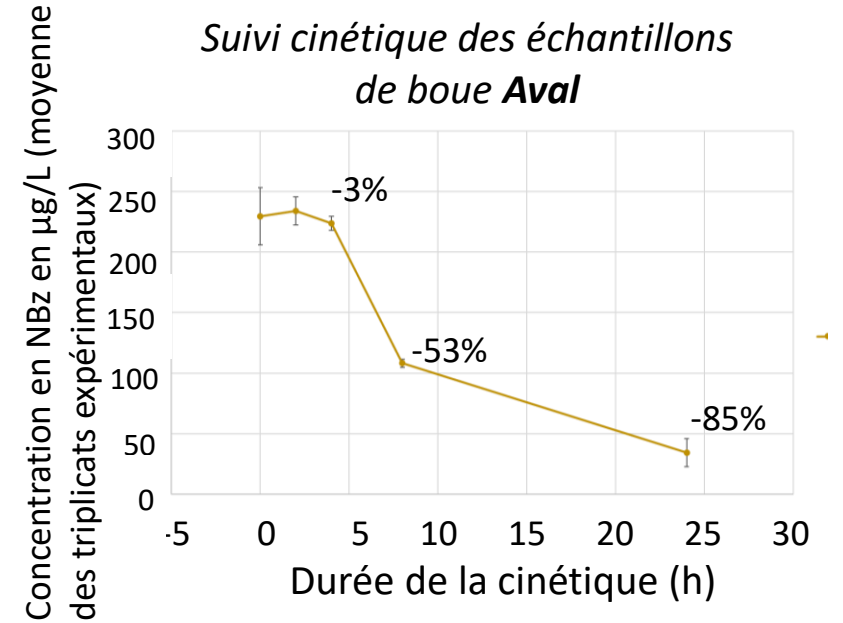
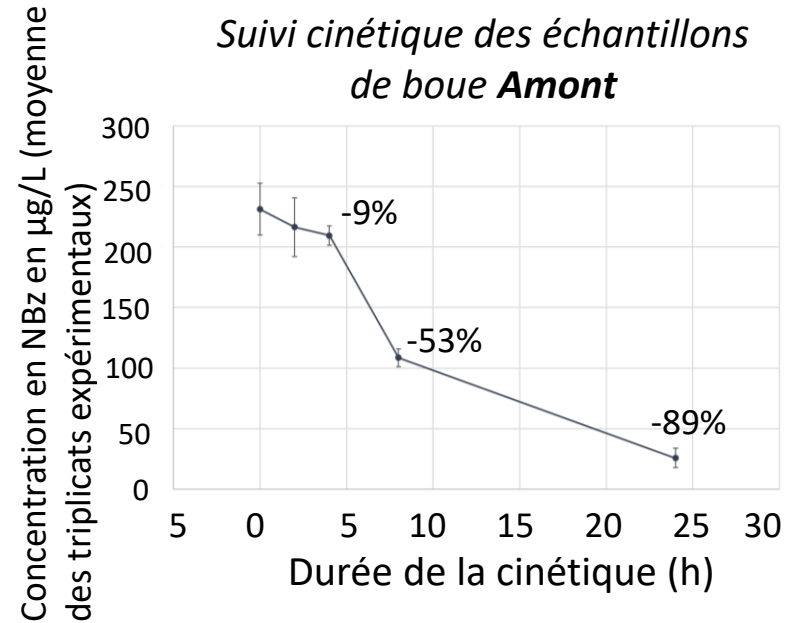
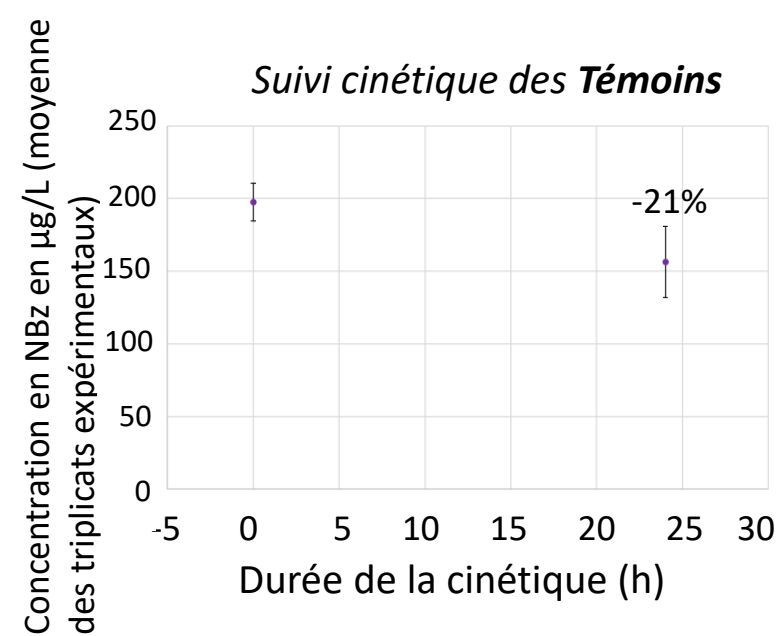
### 3.3. Quantification du diuron et de ses deux précurseurs au cours de leur évolution au cours du suivi cinétique

#### Concentration du diuron



→ Concentrations du diuron globalement constantes au cours du temps

## Concentration du 1,2-Dichloro-4-nitrobenzène



→ Témoin (sans inoculum microbien): -21% au bout de 24h

→ Forte diminution du NBz au bout de 24h pour les échantillons de boue amont et aval

# IV. Discussion et conclusion

---

Cas du diuron : Concentration constante



Hypothèse:

- Pas de dégradation
- Formation potentielle du diuron par le nitrobenzène

→ Tester le 1,2-Dichloro-4-nitrobenzène seul afin de voir s'il y a formation du diuron

Cas du triclocarban : Non détecté



Hypothèse:

- Absorption par le plastique → verre → Toujours non détecté
- Absorption par la matière organique

Merci pour votre attention !