



Inactivation photodynamique des indicateurs de pollution fécale et des pathogènes dans l'eau par photosensibilisants naturels et synthétiques sous la lumière visible

Présentée par:

Sonia SABBAGH

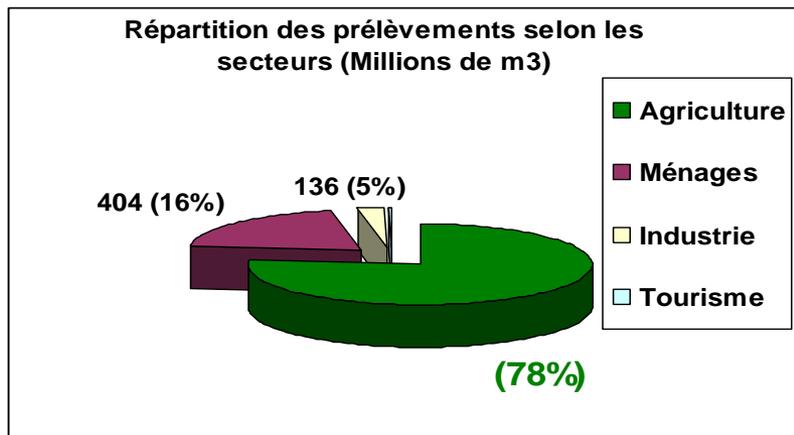
**Docteur en Sciences Biologiques
Attachée de Recherche Agricole à l'INRGREF
Spécialité: Microbiologie (Eaux Usées)**

Ecole chercheurs francophone de "Biotechnologie pour le Traitement de l'Eau et des Déchets" 2011, 06-11 Juin 2011, Narbonne, France



Le total des ressources en eau de la Tunisie: 4860 Mm³/an

Objectif national



Entrée STEP

CF: 10⁴ à 10⁶
germes/100 ml

Sortie STEP

CF: 10² à 10⁵
germes/100 ml

Volume d'EU collectées = 244 Mm³
Volume d'E U II = 238 Mm³
Volume d'EU réutilisées = 63 Mm³ (< 30%) (ONAS, 2009)



Procédés classiques:

- Chloration,
- Infiltration
- Percolation,
- Lagunage,
- UV, X, Solaire
- Ozone, H₂O₂

Procédés nouveaux :

- Photocatalyse: TiO₂
- Photosensibilisation:
colorants-photosensibilisants

S
A
B
B
A
H
I
S
O
N
I
A

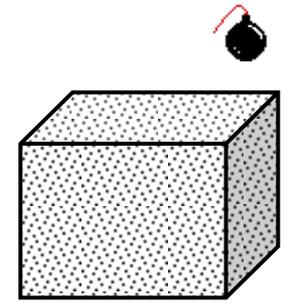


● Définition:

$h\nu$



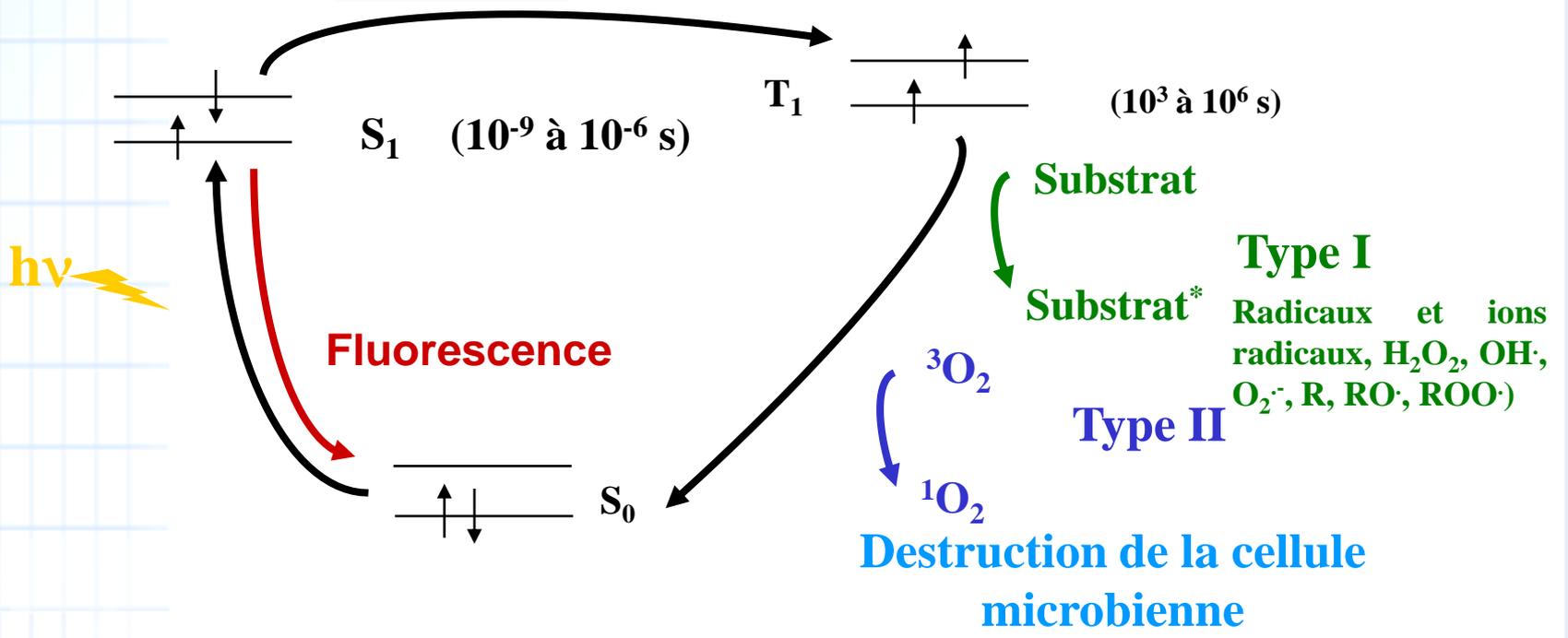
Conséquence



▶ **Changement**
▶ **Photo chimique**
▶ **Photo physique**

● Mécanisme

Croisement Intersystème (ISC)





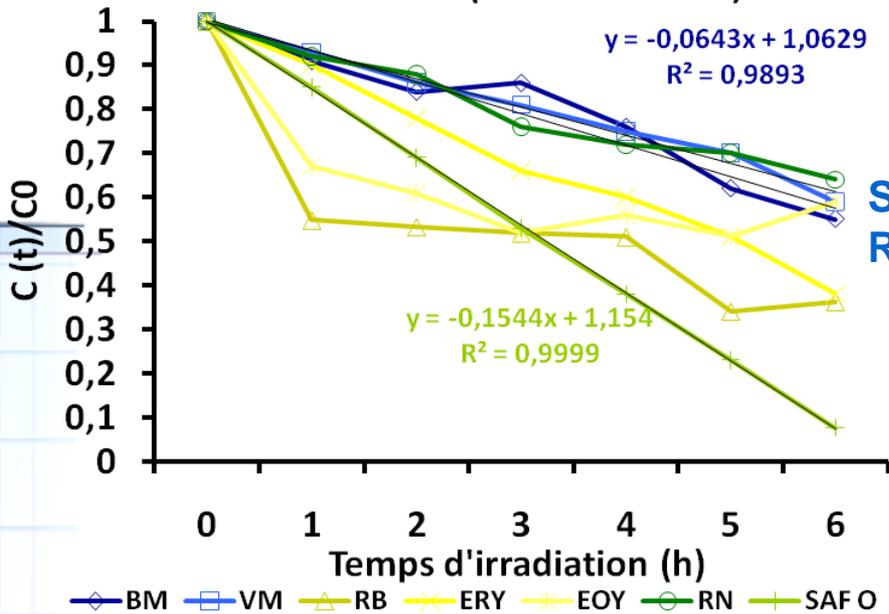
Propriétés photophysiques et photochimiques des différents PS testés

Famille	Ps	PM (g.mol ⁻¹)	λ_{\max} (nm)	Charge	ϵ (M ⁻¹ .cm ⁻¹)
Porphynes	Porphyrine	1363,36	422	4 +	1,97 10 ⁵
Xanthènes	Rose bengale	1017,65	549	2 -	1,136 10 ⁵
	Erythrosine	879,87	526	2 -	7,75 10 ⁴
	Eosine Y	691,86	517	2 -	7,71 10 ⁴
Phénothiazines	Bleu de méthylène	373,9	670	1 +	91 10 ³
	Violet de méthylène	256,33	580	0	6,8 10 ⁴
Phénazines	Rouge neutre	289	452	1 +	9,65 10 ³
	Safranine O	350,85	420	0	1 10 ⁴

S
A
B
B
A
H
I
S
O
N
I
A



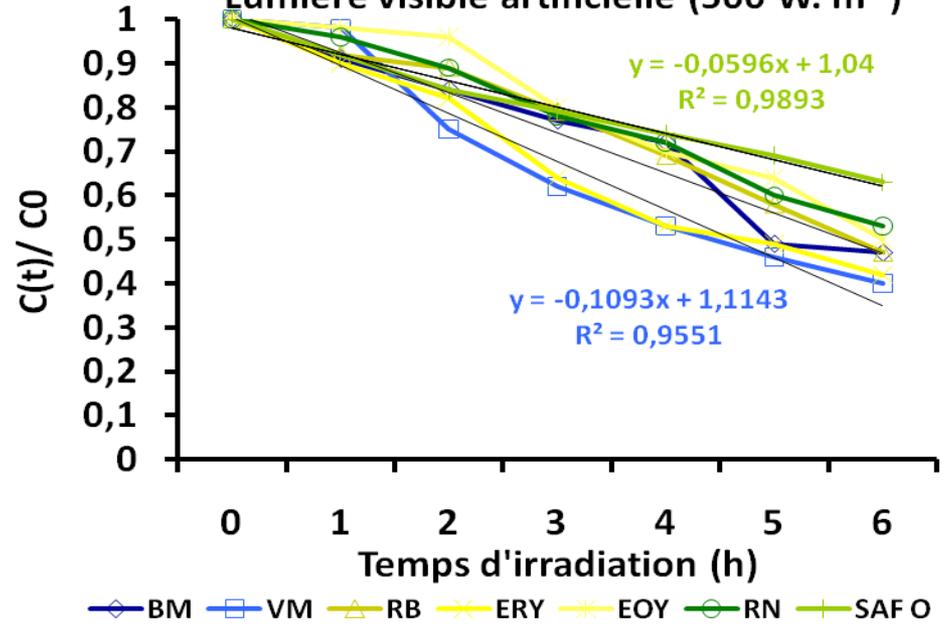
Lumière solaire (500-894 W. m⁻²)



SAF O > RB > EOY > ERY > RN~BM~VM

Famille Xanthène: ERY > RB > EOY
Famille Phénothiazine: VM > BM
Famille Phénothiazine: RN > Saf O

Lumière visible artificielle (500 W. m⁻²)



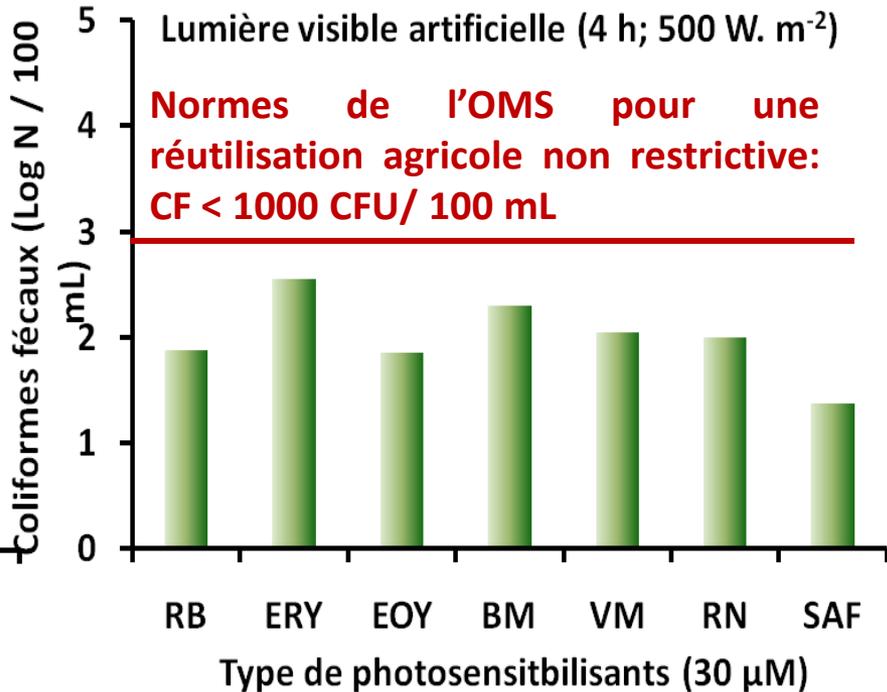
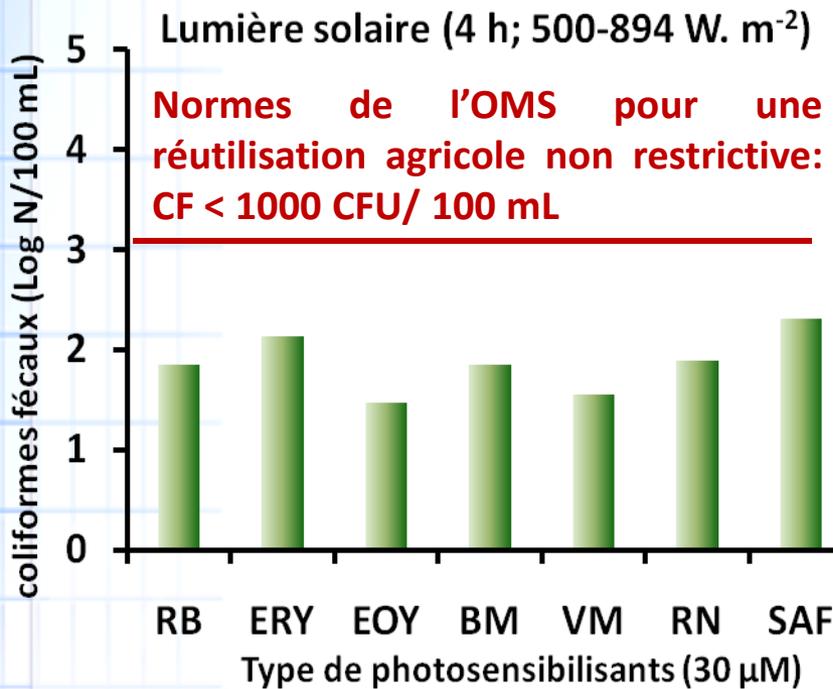
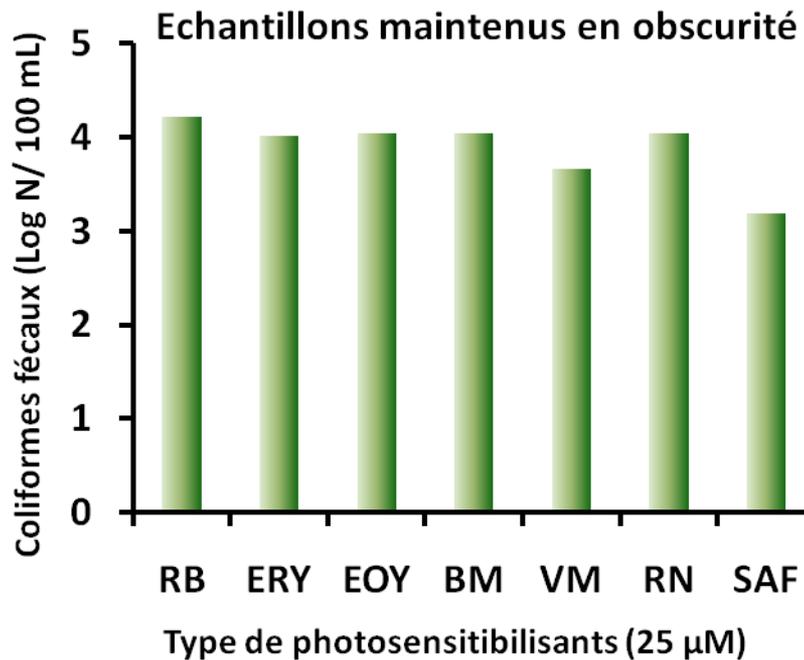
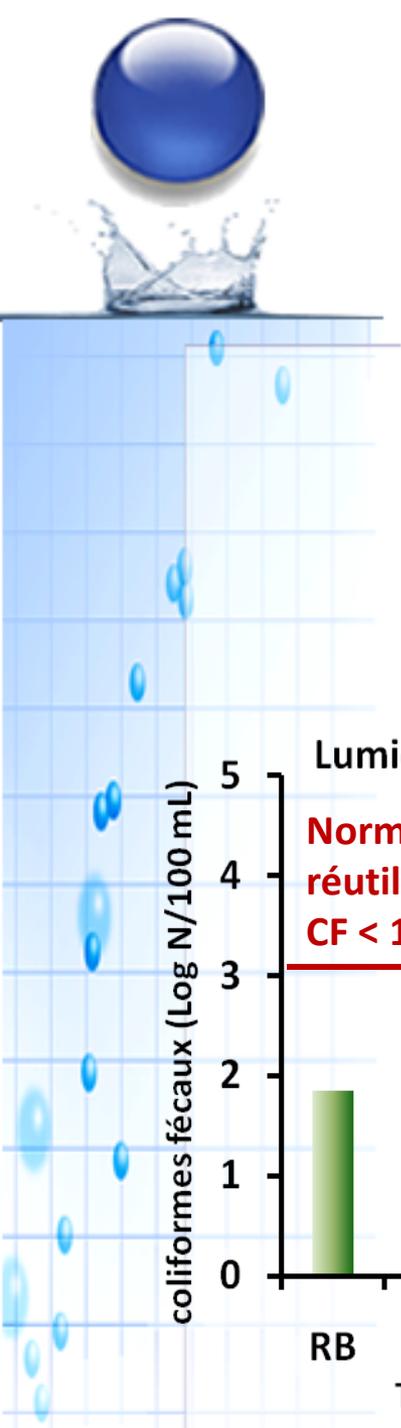
S
A
B
B
A
H
I

S
O
N
I
A



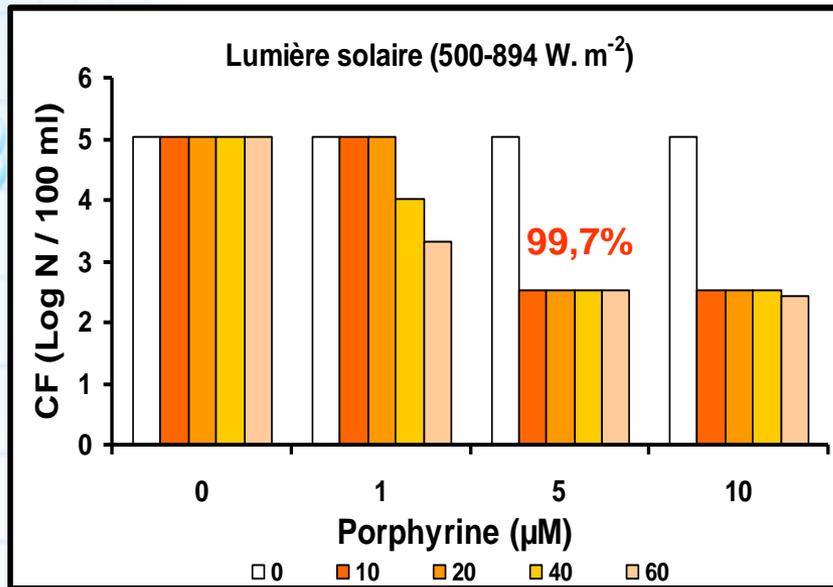
Objectifs (1/1)

- Etude des réactions globales de **photosensibilisation des eaux usées** en présence de divers photosensibilisants: Maîtriser les paramètres de gestion et préciser leur efficacité dans le traitement des EUT.
- Etude comparative de l'action de divers Ps sur deux modèles d'organismes: Organismes **bactériens** en culture pure (BN): *P. aeruginosa* (Gram-) et *S. aureus* (Gram+) et les **formes de résistance de parasites**: Oeufs d'helminthes (*Toxocara* sp. Taeniidés) avec Ps libres et fixés sur support.
- Exclusion du contact direct du matériel biologique contenu dans de l'EUT avec le Ps afin de pallier au problème du Ps résiduel et par conséquent, montrer l'influence de sa **fixation sur support** .

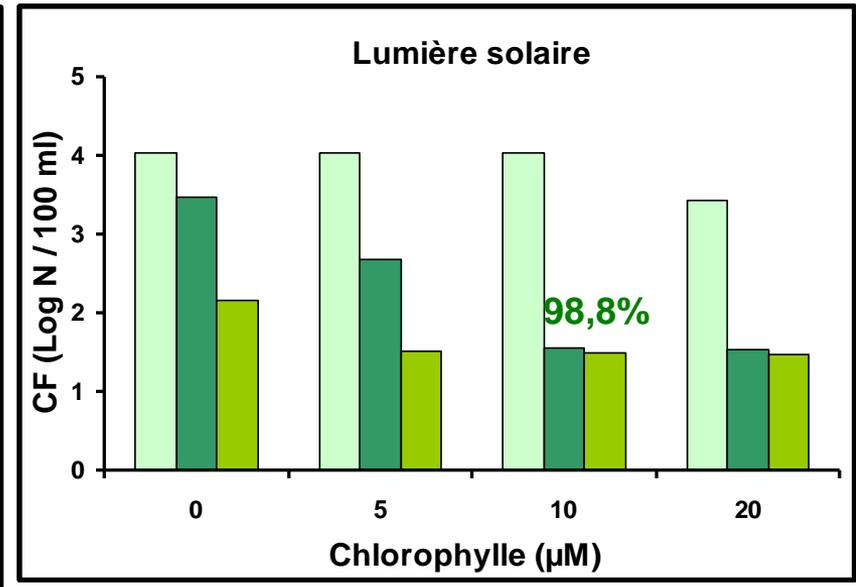


Réactions photodynamiques globales de la photosensibilisation des eaux usées

Porphyrine



Chlorophylle



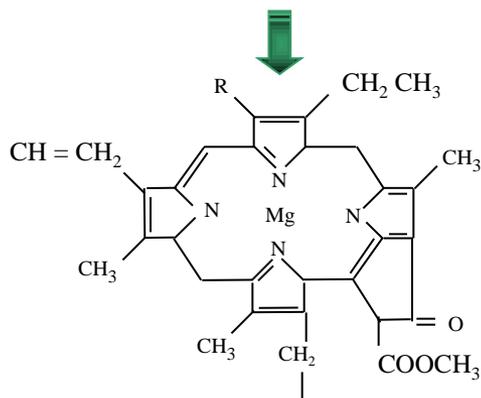
0 min 10 min 20 min 40 min 60 min

0 h 2 h 4 h

Résiduel des CF contenus dans un effluent d'EUII^{aire} après photoinactivation par des Ps du groupe **Porphyres**

Structures des photosensibilisants: Famille des porphyrines

Feuilles d'épinard



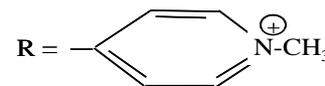
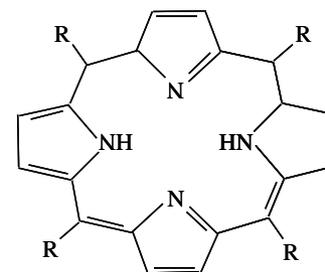
Pour la chlorophylle a R = CH₃

Pour la chlorophylle b R = CHO

Chl

$\epsilon = 34,4 \text{ M. s}^{-1} \text{ à } 652 \text{ nm}$

Noyau porphyrinique naturelle
Caroténoïdes



T₄MPyP

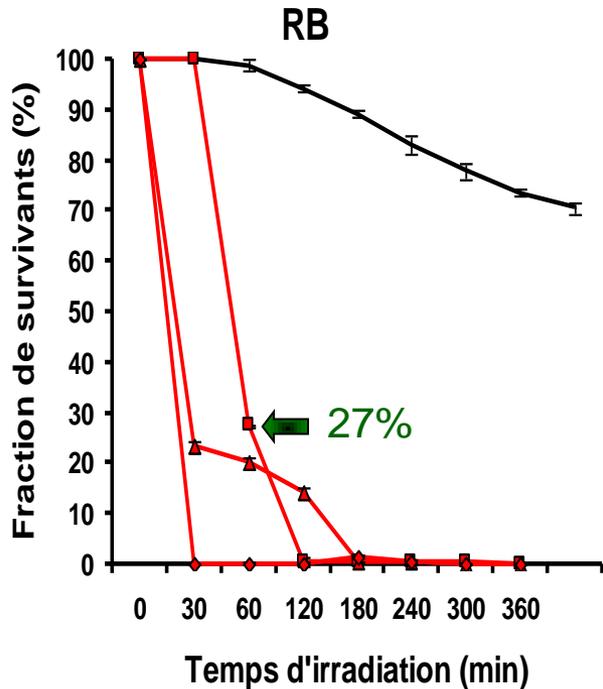
$\epsilon = 197000 \text{ M. s}^{-1} \text{ à } 422 \text{ nm}$

**Excellente propriété d'absorption de la
lumière (Cis = 0,7-0,9)**

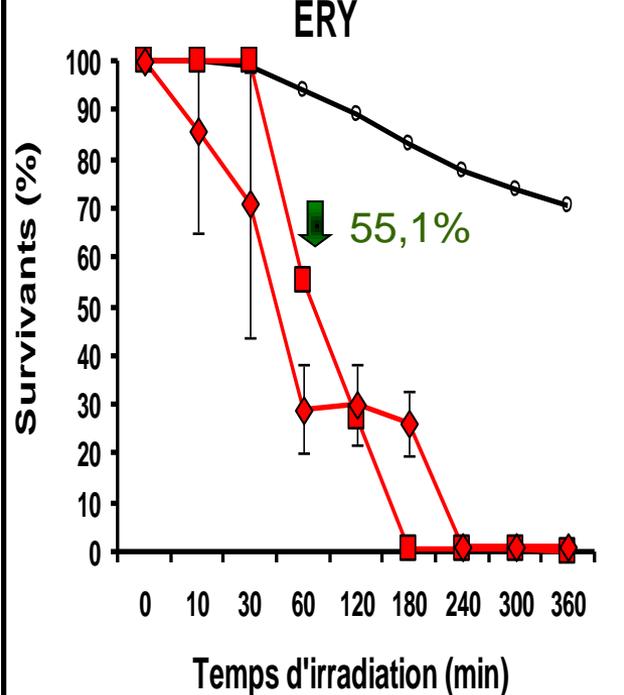
Noyau porphyrinique
synthétique pure

Photoinactivation de *P. aeruginosa*

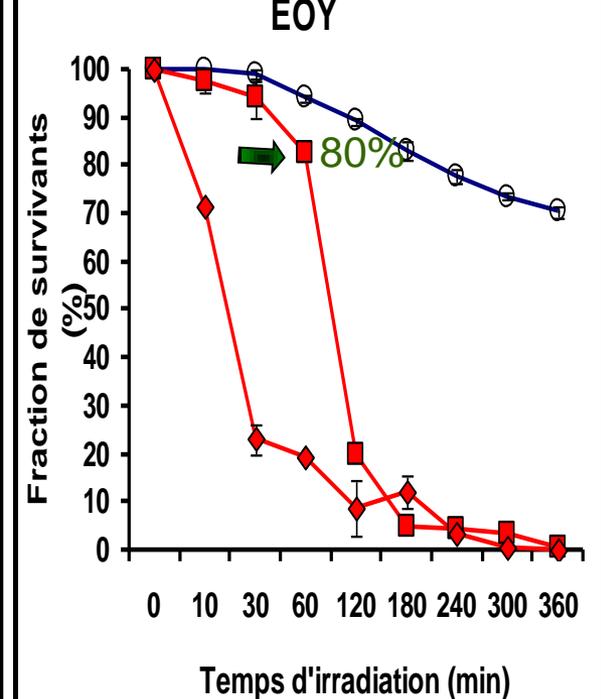
Rose Bengale



Erythrosine



Eosine Y

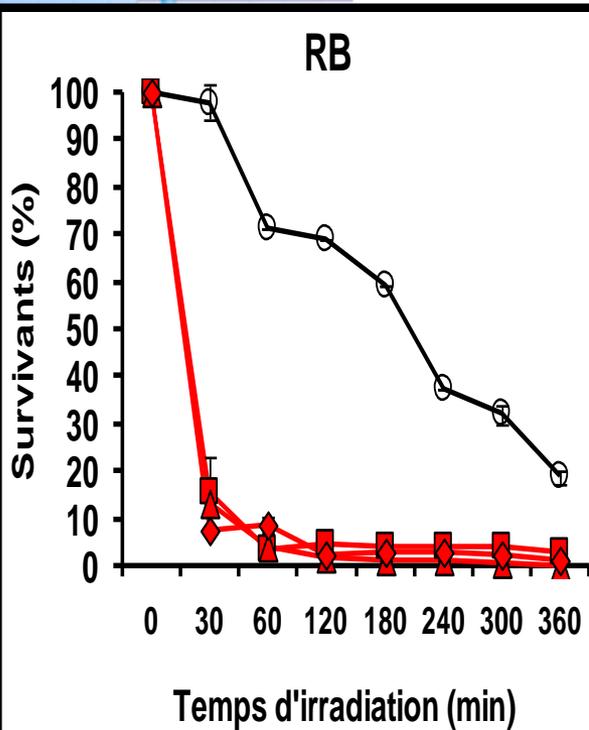


—○— CL: 0 μM —■— 20 μM —▲— 50 μM —◆— 70 μM

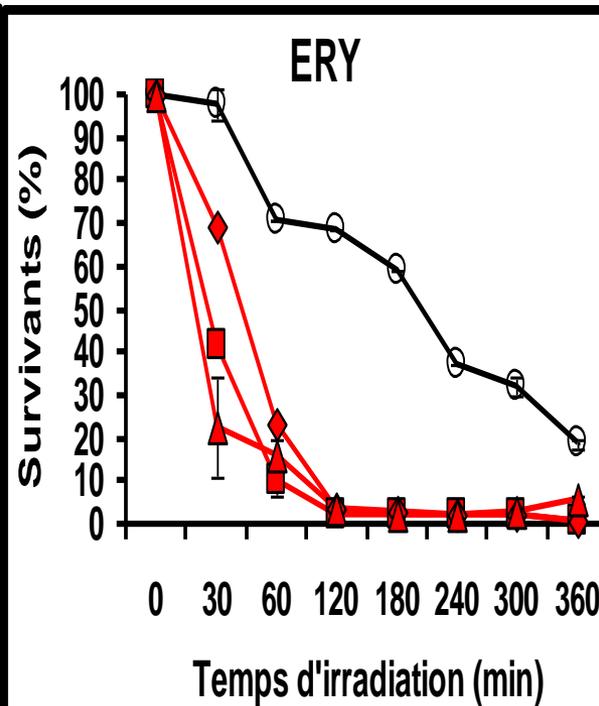
A 20 μM: RB > ERY > EOY

Photoinactivation de *S. aureus*

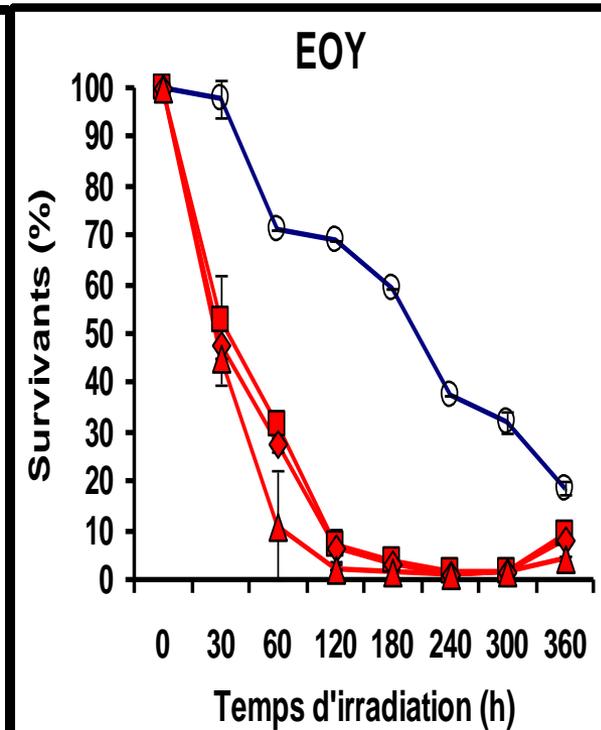
Rose Bengale



Erythrosine

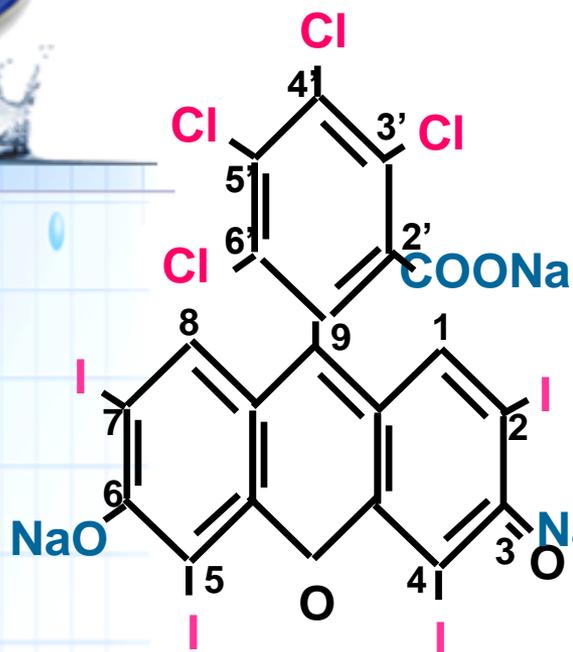


Eosine Y



—○— CL: 0 μM —■— 20 μM —▲— 50 μM —◆— 70 μM

A 20 μM: RB > ERY > EOY

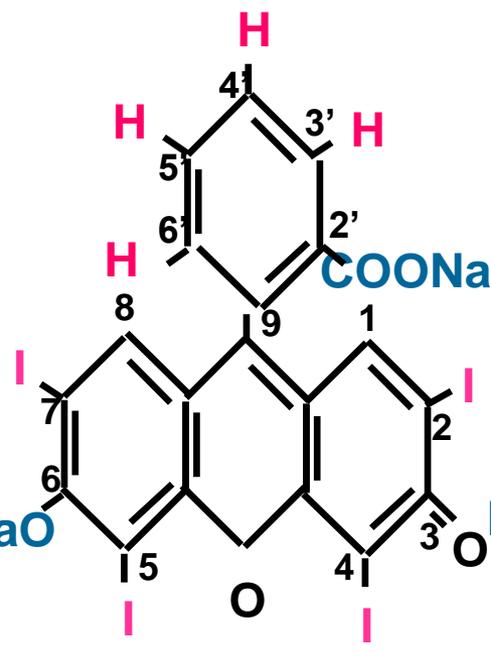


RB

Cis = 0,76-0,86

$^1O_2 = 0,75$

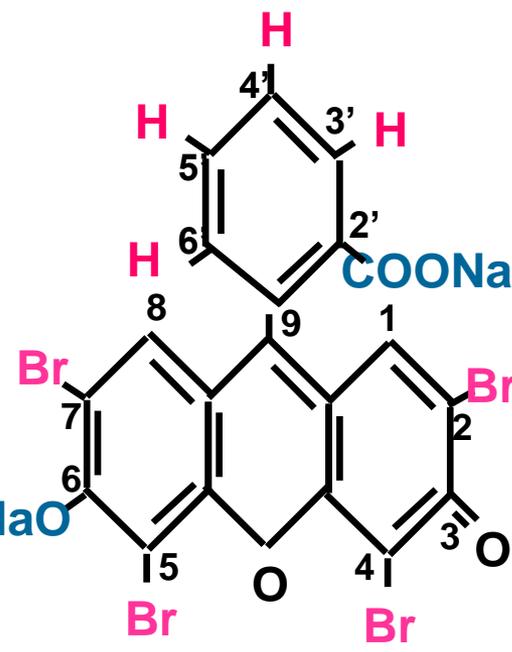
(Gandin et Van De Vorst, 1983)



ERY

Cis = 0,6

$^1O_2 = 0,63$



EOY

Cis = 0,3

$^1O_2 = 0,39$

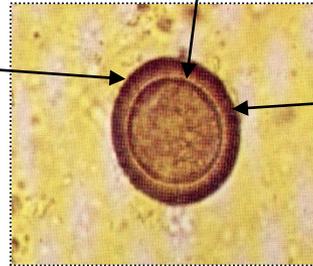
(Gollnick et Scheneck, 1964; Neckers, 1989)

Leur efficacité est en grande partie imputable à leur degré d'**halogénéation**

Réactions de photosensibilisation des formes infectantes des oeufs d'helminthes

Membrane encosphérique

Embryophore: couche rigide de protéine renfermant la kératine et une concentration élevée de cystine



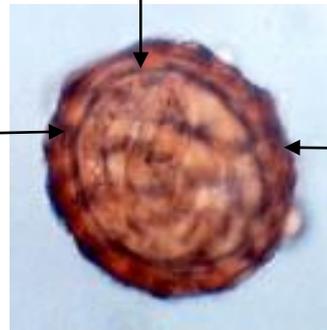
Membrane basale constituée essentiellement de glycogène

Oeuf de Taenidées intact

$30 < T < 40 \mu\text{m}$

Couche lipidique: rôle nutritive

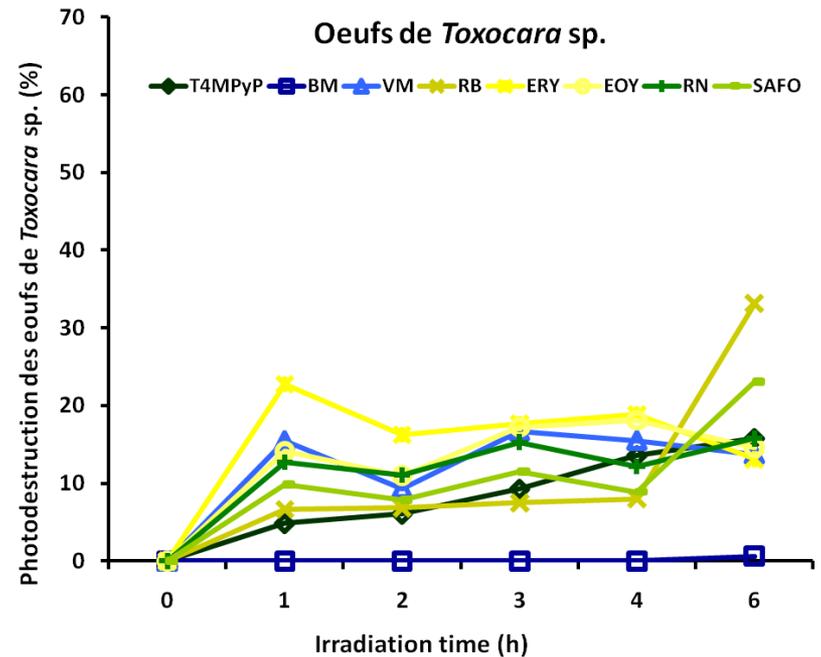
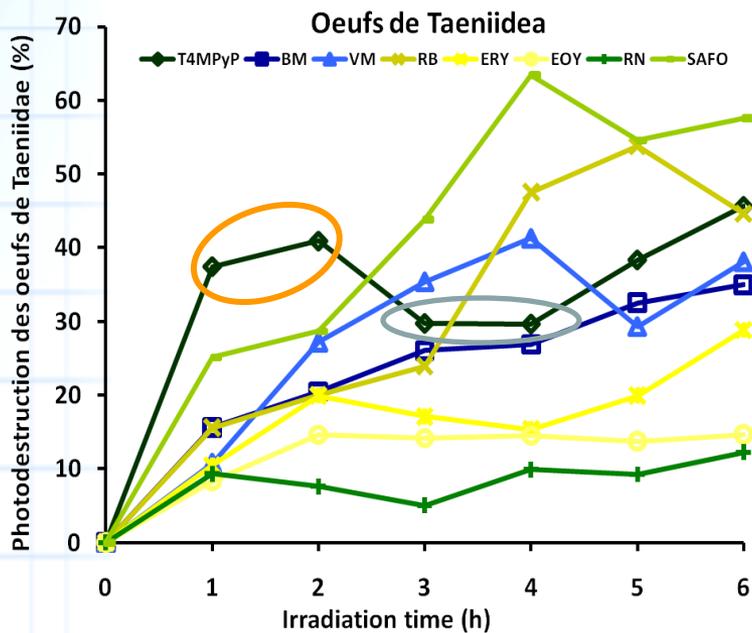
Couche chitineuse, extrêmement dure constituée d'un polymère à base d'ascaroside A, d'ascaroside B et de diascaroside



Couche externe mamelonnée de nature protéique : organisation régulière des fibres protéiques

Oeuf de *Toxocara sp.* intact

$40 < T < 75 \mu\text{m}$

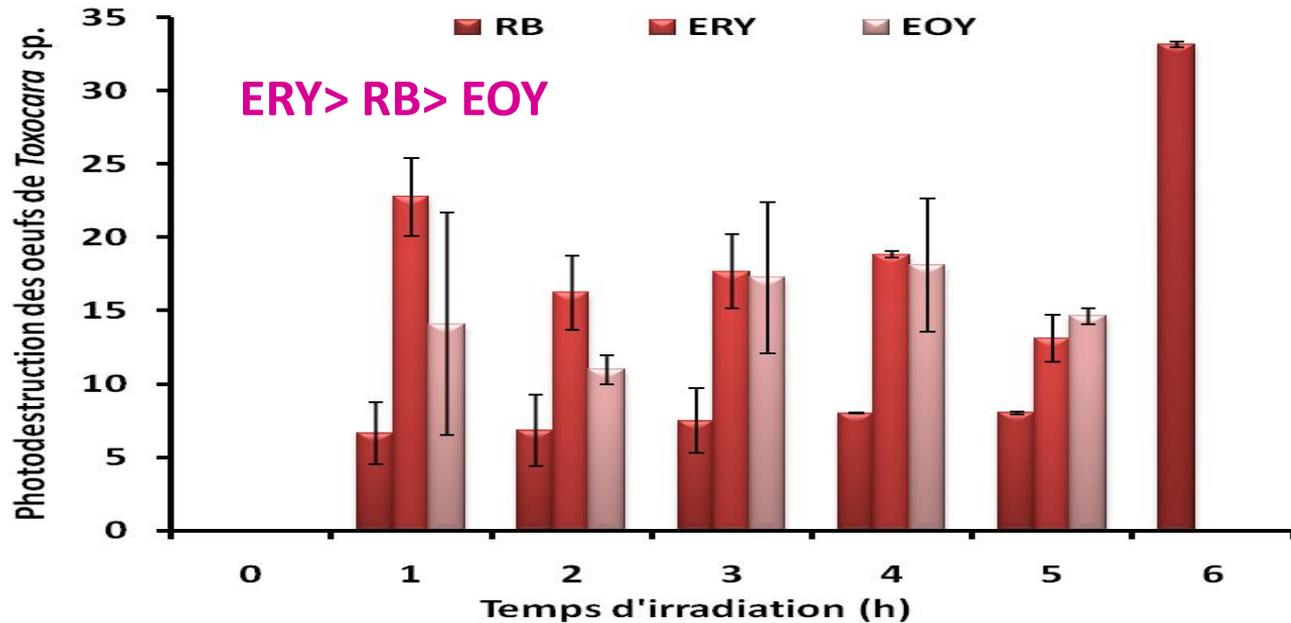
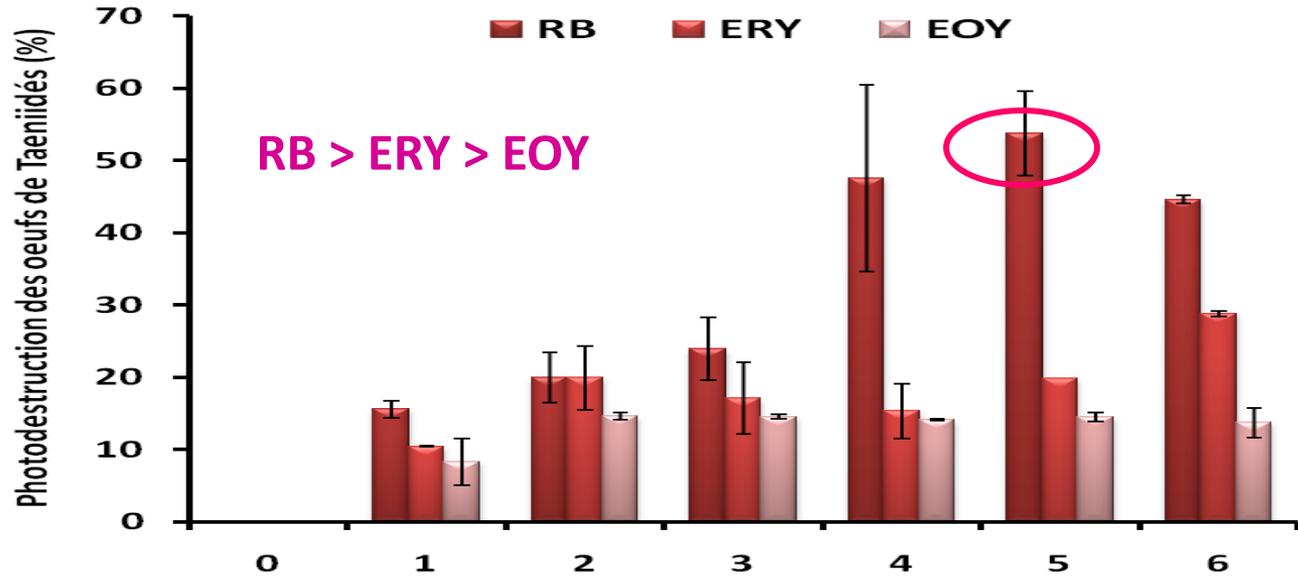


Photodestruction des **oeufs de Taeniidés** et de ***Toxocara* sp.** par différents PSs (**70 μ M**) sous la lumière visible artificielle (**500 W. m⁻²**)



Photosensibilisation des Œufs de Taeniidés et de *Toxocara* sp.

PSs Xanthènes (70 μM) sous la lumière visible artificielle (500 W. m⁻²)



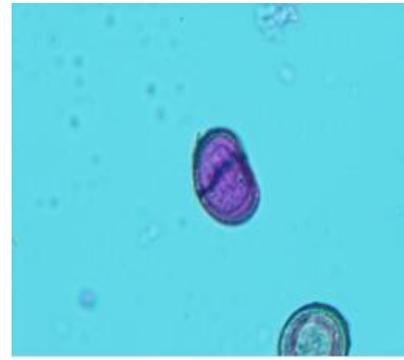


Degrés d'altérations des oeufs de Taenidées

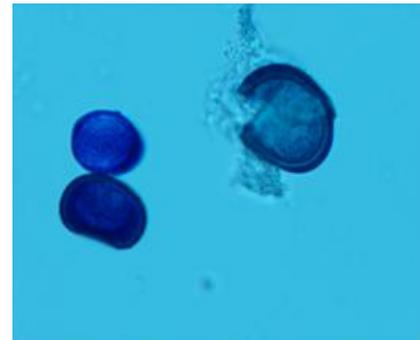
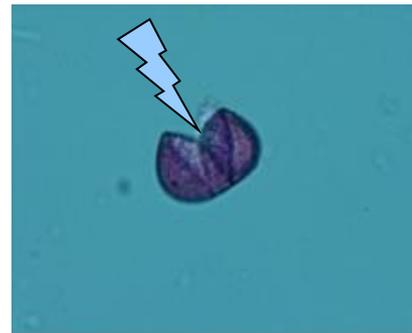
**Changement
morphologique:
rétrécissement
du contenu
cytoplasmique**



Œuf intact

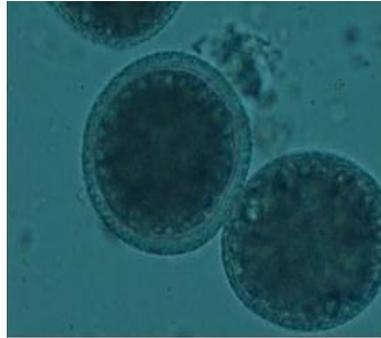


**Fracturation
partielle**

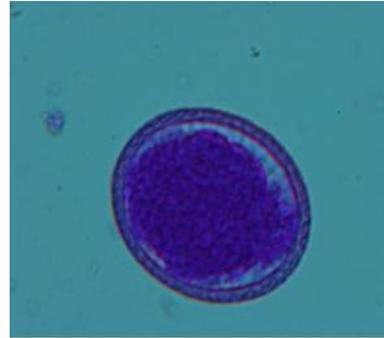


**Fracturation
totale**

Degrés d'altérations des oeufs de *Toxocara sp.*



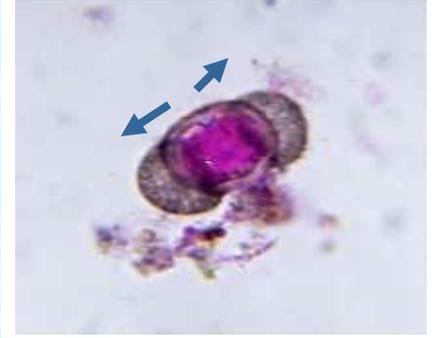
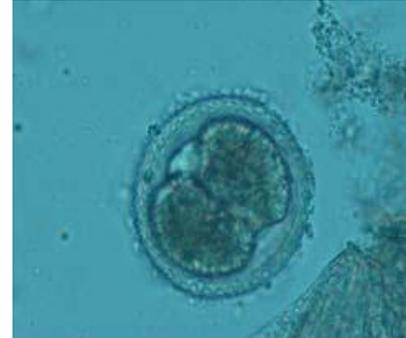
Œuf intact



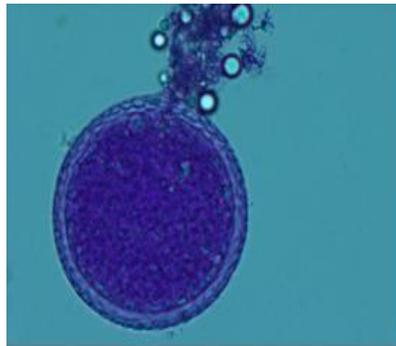
Coloration des oeufs



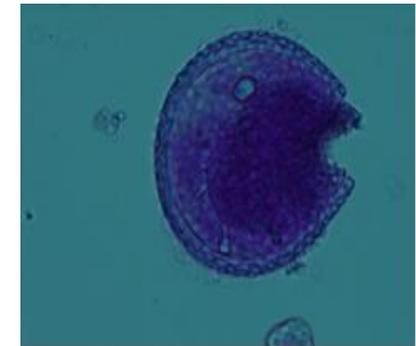
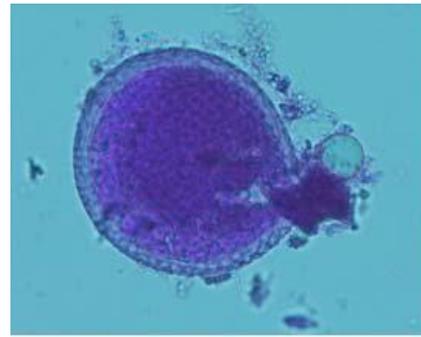
Changement morphologique: rétrécissement du contenu cytoplasmique et bourgeonnement d'une portion de l'oeuf



Décortication des oeufs



Fracturation **partielle avec libération du contenu cytoplasmique**

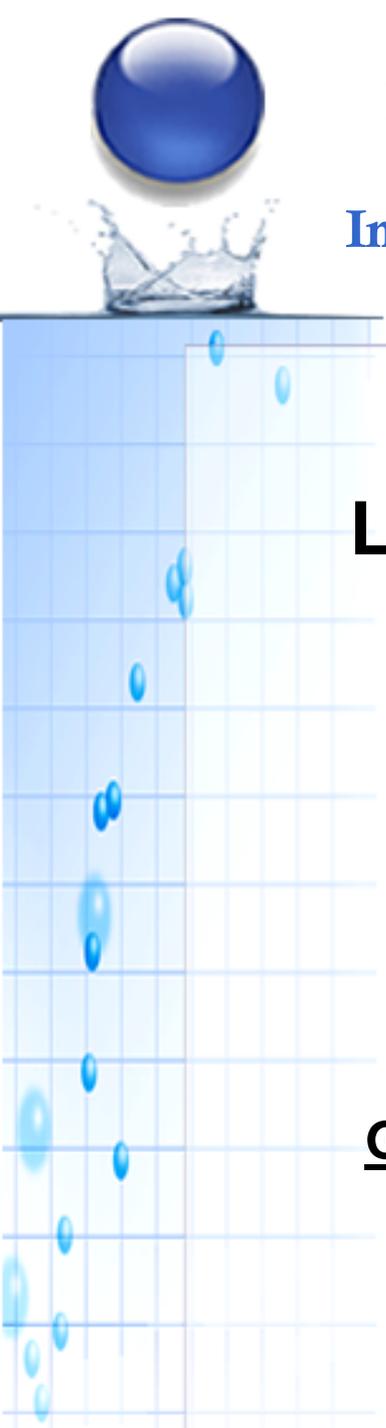


Fracturation **totale**



Conclusion (1/1)

- Des taux d'abattement des CF variant de **0,6 à 4,3 Ulog**, ont été obtenus et que la T₄MPyP est la plus efficace relativement aux autres Ps testés. En présence de la chlorophylle totale, des photoréductions significatives des CF après 2 h d'exposition au soleil ont été enregistrées.
- Les colorants xanthéniques ont montré une activité plus élevée contre les bactéries à Gram-positif (*S. aureus*) et les œufs de Taeniidés par rapport aux bactéries à Gram-négatif et les œufs de *Toxocara* sp.
- L'efficacité photodynamique de chacun des colorants xanthéniques est comme suit: **RB > ERY > EOY**; sauf en coliformes fécaux des eaux usées, l'ordre est: **RB > EOY > ERY**. En conclusion, RB a été plus efficace que ERY et EOY dans tous les cas. L'activité photodynamique augmente avec l'augmentation du nombre de substituants halogènes.
- Le mécanisme de photosensibilisation de Type II (production d'¹O₂) joue un rôle important dans l'action photodynamique antimicrobienne des xanthènes contre *P. aeruginosa*, *S. aureus*, œufs de Taeniidae et de *Toxocara* sp. Dans les eaux usées, les PSs xanthènes maintiennent la contribution des deux mécanismes réactionnels Types I et II contre les bactéries témoins de contamination fécale.



Ministère de l'Agriculture et des Ressources Hydrauliques
I.R.E.S.A
Institut National de Recherche en Génie Rural Eaux et Forêts
(INRGREF)

**Laboratoire de Recherche «Gestion des
risques environnementaux en
agriculture irriguée»**

Dr. Sonia SABBAHI: sabbahisonia@yahoo.fr

Grade: Attaché de Recherche Agricole (INRGREF)

Spécialité: Microbiologie (Eaux Usées)

**Groupes de disciplines: Sciences de l'environnement,
Génie rural et Ressources naturelles**



Axes de Recherche INRGREF

- Evaluation des effets de la réutilisation des EUT sur les différentes composantes de l'environnement agricole par des **formes de résistance de parasites** ainsi qu'une optimisation de cette réutilisation, étude d'impact de la réutilisation se rapportant aux produits agricoles, risques de contamination microbologique des sols, cultures et plantes.
- Etude d'effet de la réutilisation des EUT pour la **recharge artificielle** sur la qualité microbologique (parasitaire) des E. de nappe phréatique (Station expérimentale Oued Souhil)
- Evaluation de la **contamination** parasitaire des EUT collectées des **STEP tunisiennes** (filiales de traitements intensifs et extensifs) et des **boues résiduelles** des EU constituant une alternative très intéressante à l'usage intensif des fertilisants. Toute valorisation éventuelle doit donc faire l'objet d'une étude préalable de son impact sur l'environnement, la santé et le milieu naturel.



Perspectives

INRGREF

- Poussée dans l'élaboration de l'**évaluation des risques parasitaires potentiels** par l'**identification des génomes** (Etude moléculaire).
- **Persistance environnementale d'agents pathogènes** dans les bassins de stockage et de maturation, sur le sol et les cultures après épandage d'EUT.
- Accentuation des suivis **des stations d'épuration** à l'échelle de tout le territoire tunisien.

Fin

Merci
Pour votre attention

A decorative background featuring several green maple leaves and a small blue water drop. The text 'Merci' is written in a large, elegant blue cursive font, and 'Pour votre attention' is written below it in a smaller, bold blue sans-serif font. The entire scene is set against a light blue background with a subtle floral pattern.