

# Influence de la matière organique d'origine urbaine sur la spéciation et la biodisponibilité des métaux traces dans les eaux fortement anthropisées

Gilles Varrault, Benoit Pernet-Coudrier, Bogdan Muresan, Yoann Louis, Mohammed Saad <sup>a</sup>

<sup>a</sup> LEESU (ex Cereve), Université Paris Est, AgroParisTech, 61 avenue du Général de Gaulle, 94010 Créteil Cedex

\*personne à contacter : varrault@univ-paris12.fr

## 1 Introduction

Les métaux traces sont présents dans les milieux aquatiques sous différentes formes chimiques. Ces différentes formes, qui évoluent en fonction des conditions physico-chimiques du milieu, conditionnent non seulement le temps de séjour dans les différents compartiments du milieu, mais aussi la biodisponibilité, voire la toxicité du métal vis à vis des organismes vivants. Dans les systèmes aquatiques, la matière organique dissoute joue un rôle clé dans la spéciation, la biodisponibilité et la toxicité des métaux traces (Buffle, 1988; Tessier et Turner, 1995). De nombreuses études ont déjà été publiées sur la capacité de la matière organique dissoute (MOD) à complexer les métaux. Cependant, la plupart de ces études se sont bornées à étudier les substances humiques. Les substances humiques sont des polyélectrolytes hétérogènes qui représentent en moyenne de 40 à 60% du carbone organique dissous dans les eaux naturelles de surface (Martin-Mousset et al., 1997). Elles sont définies de manière purement opérationnelle comme étant la fraction hydrophobe acide de la matière organique. A titre indicatif, le type de molécules organiques trouvées dans les différentes fractions de MOD (séparées sur des critères de polarité) sont présentées dans la figure ci-dessous.

Fractions		Types de composés observés
Substances humifiées	Acides hydrophobes	acide fulviques (solubles à tout pH) acides humiques (précipitent à pH < 2)
	Neutres hydrophobes	hydrocarbures, détergents, pigments (dont chlorophylle)
	Bases hydrophobes	Surfactant, protéines
Substances non humifiées	Acides hydrophiles	sucres, acides aminés
	Neutres hydrophiles	oligosaccharides, polysaccharides,
	Bases hydrophiles	Protéines, acides aminés

**Figure 1 : type de molécules trouvées dans les différentes fractions de MOD (Barber et al., 2001 et Imai et al., 2001)**

Dans les cours d'eau sous forte influence urbaine, en raison des rejets urbains et de la productivité primaire induite, le caractère hydrophobe de la matière organique dissoute diminue au profit de son caractère hydrophile (Imai et al., 2002). Des études récentes menées sur des eaux usées urbaines (Sarathy et Allen, 2005; Buzier et al., 2006) ont mis en évidence leur capacité à complexer les métaux malgré leur forte teneur en substances hydrophiles. Cependant en raison de la très grande difficulté de l'isolation de la matière organique hydrophile, très peu d'informations sont disponibles dans la littérature sur l'affinité complexante de la matière organique hydrophile vis-à-vis des métaux traces.

C'est dans le but d'étudier la MOD d'origine urbaine et principalement sa composante hydrophile que nous avons déposé et obtenu une demande de financement (Projet Biomet 2006-2009) à l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) dans le cadre de l'appel d'offres Jeune chercheur 2005. Ce support de l'ANR ainsi que l'insertion de ce projet dans les programmes Piren Seine et OPUR nous ont permis de mener à bien cette étude et de réaliser les objectifs initiaux.

Les objectifs de ce projet sont multiples, il s'agit de caractériser la matière organique provenant des rejets de temps sec des stations d'épuration, en particulier la fraction hydrophile et notamment d'étudier:

- La polarité de la matière organique dissoute et la répartition du carbone organique dissous entre la fraction hydrophobe et la fraction hydrophile à la fois dans les rejets de temps sec des stations d'épuration mais aussi dans le milieu récepteur
- Ses caractéristiques physico-chimiques : composition élémentaire, aromaticité, poids moléculaire, teneurs et natures des groupements fonctionnels
- Sa capacité à moduler la spéciation et biodisponibilité des métaux dans les milieux récepteurs sous forte pression urbaine.

## 2 La méthodologie employée

### 2.1 Les sites d'étude

Afin de mettre en évidence le rôle de la matière organique dissoute d'origine urbaine (en particulier de la fraction la plus hydrophile) sur la spéciation et la biodisponibilité des métaux et de la comparer à des substances hydrophobes issues du milieu naturel, six échantillons provenant de quatre sites du bassin de la Seine ont été étudiés dans le cadre de ce travail (cf. Figure 2). Ces sites sont représentatifs de (i) sites peu impactés par les rejets urbains (Méry sur Marne à l'amont de l'agglomération parisienne, deux échantillons en janvier et juillet 2007), de (ii) rejets urbains de temps sec (les effluents traités de la station d'épuration Seine-Aval, deux échantillons en avril et décembre 2006) et de (iii) sites fortement impactés par les rejets urbains (Andrésy et Méricourt: situés respectivement à 9 et 60km à l'aval des principaux rejets de l'agglomération parisienne, un échantillon en juillet 2007).

Afin de comparer les propriétés des fractions de MOD isolées dans le cadre de cette étude à une référence organique connue, toutes les analyses physico-chimiques, la détermination des constantes et capacités de complexation ainsi que les tests de biodisponibilité et de toxicité ont également été menés avec des substances fulviques de référence (Suwannee River Fulvic Acid (SRFA)) obtenues auprès l'International Humic Substances Society (IHSS)

Dans la suite de ce rapport, les résultats concernant les échantillons suivants sont présentés :

- Les fractions hydrophobes et transphiliques de Mery/Marne de janvier et juillet 2007 notés respectivement HPOM1, TPIM1, HPOM2 et TPIM2
- Les fractions hydrophobes, transphiliques et hydrophiles des effluents traités de la STEP Seine-Aval d'avril et décembre 2006 notés respectivement HPOA1, TPIA1, HPIA1, HPOA2, TPIA2 et HPIA2
- Les acides fulviques de référence notés SRFA

Uniquement pour les biotests de toxicité, les résultats concernant les fractions issues des échantillons d'Andrésy et de Méricourt notés respectivement HPOAN, TPIAN, HPIAN, HPOMT, TPIMT et HPIMT sont également présentés

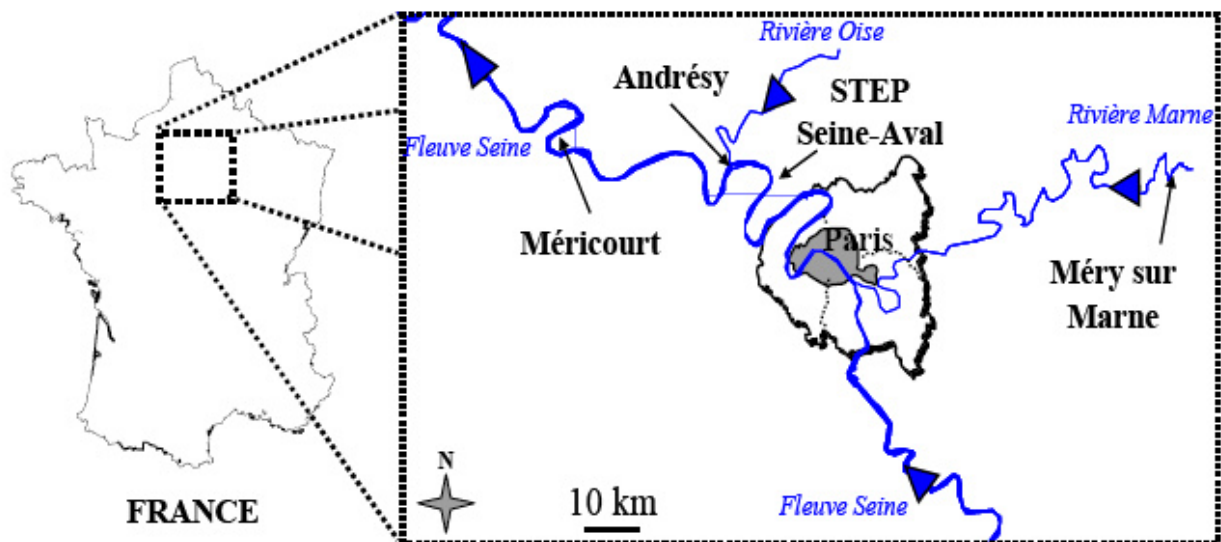


Figure 2 : Carte des sites d'échantillonnage

## 2.2 Le fractionnement de la MOD, la purification de la matière organique hydrophile et la caractérisation physico-chimique des fractions obtenues

De 200 à 1000 litres d'eau brute sont filtrés (0,45  $\mu\text{m}$ ), adoucies et préconcentrés par osmose inverse. L'échantillon acidifié à pH 2 est passé sur deux résines (DAX-8 et XAD-4) placées en série. L'éluition de ces deux résines par un mélange eau/acétonitrile permet de récupérer les fractions hydrophobes et transphiliques. La fraction hydrophile, non retenue, est récupérée dans l'effluent avec tous les sels initialement présents dans l'échantillon (cf. Figure 3).

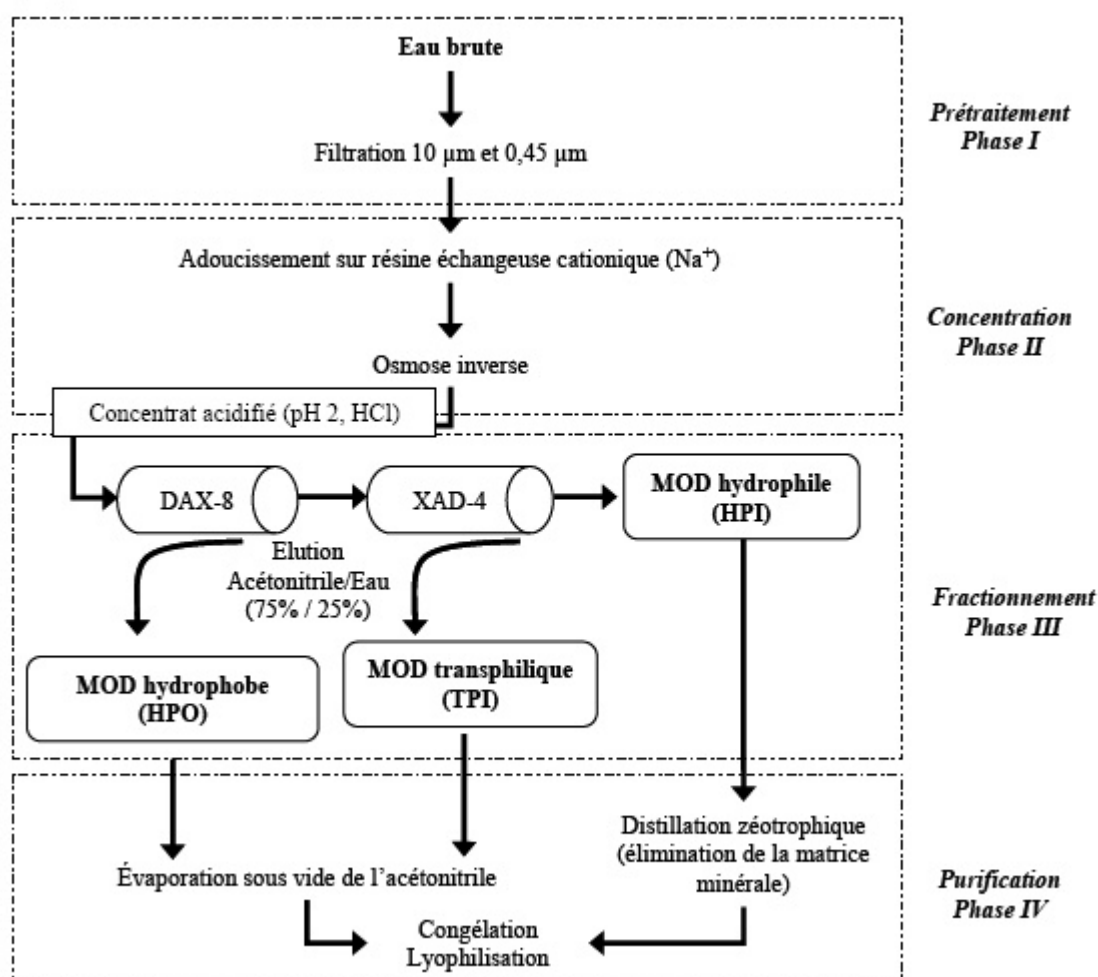


Figure 3 : Schéma général du protocole de fractionnement et de récupération des fractions de MOD

La purification (élimination des sels) de la fraction hydrophile est réalisée par des successions de distillation (Leenheer, 1981) (cf. Figure 4). La matière organique hydrophile purifiée est de très bonne qualité puisqu'elle ne comporte que très peu de résidus minéraux (moins de 5% en masse). Les fractions de MOD sont ensuite lyophilisées puis conservées sous forme solide avant utilisation. Afin de les caractériser le plus finement possible, les analyses suivantes ont été effectuées sur ces fractions : analyse élémentaire, spectroscopie infrarouge et UV-visible, spectrofluorescence, pyrolyse à point de curie couplée à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse (Py-GC-MS), chromatographie d'exclusion de taille, étude potentiométrique de leurs interactions avec le proton.

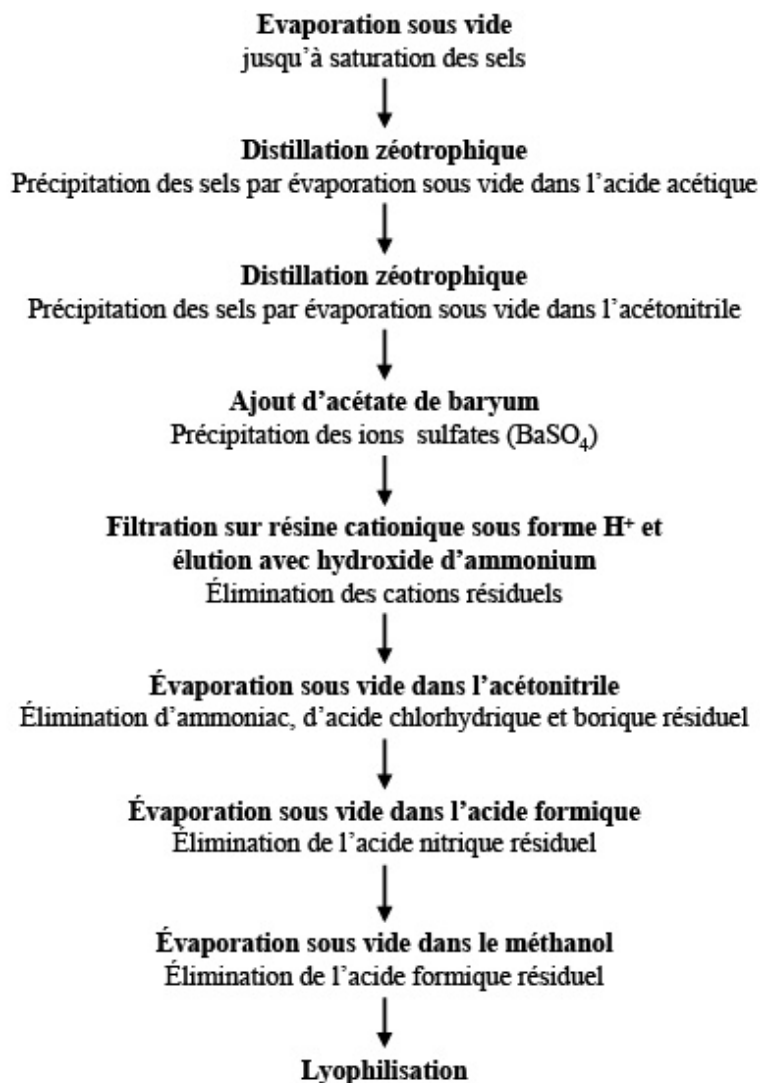


Figure 4 : Protocole de purification de la MOD hydrophile

### 2.3 Influence de la MOD d'origine urbaine sur la spéciation du cuivre, du plomb et du mercure.

Pour ces trois métaux, les constantes et capacités de complexation ont été obtenues grâce à la titration de la MOD par des ajouts croissants de métaux. Dans le cas du cuivre, la détermination du cuivre libre en solution durant la titration a été effectuée à l'aide d'une électrode spécifique. Pour le plomb, la détermination du plomb libre en solution durant la titration a été effectuée à l'aide de la méthode voltampérométrique AGNES (Galceran et al., 2004) qui permet de mesurer l'ion libre en solution (contrairement à la plupart des autres méthodes voltampérométriques). Les résultats expérimentaux obtenus ont été modélisés avec le modèle NICA-Donnan. Pour le mercure, la méthode de compétition de ligand (CLE-SSE) a été utilisée. Les résultats expérimentaux ont été modélisés grâce à l'isotherme de Langmuir.

### 2.4 Influence de la MOD d'origine urbaine sur la toxicité du cuivre.

Les biotests de toxicité aiguë ont été effectués au sein de l'équipe BELCA (Écotoxicologie des écosystèmes aquatiques d'eau douce) de l'unité de recherche « hydrosystèmes et bioprocédés » du Cemagref d'Antony. Le principe de ce biotest consiste à exposer des organismes vivants pendant 24 h à différentes concentrations de cuivre et en présence des différentes fractions de matière organique précédemment isolées (Tusseau-Vuillemin et al., 2004). L'espèce utilisée est *Daphnia magna* (crustacé). Le résultat est exprimé par une EC50, c'est-à-dire la concentration en cuivre qui provoque l'immobilisation de 50 % de la population. Parallèlement à ce biotest, le cuivre labile initialement présent dans la solution d'exposition est mesuré par la technique du gradient de diffusion en couche mince (DGT). Des témoins en matrice minérale (sans matière organique dissoute) ont également été réalisés et servent de référence inorganique.

### 3 Les principaux résultats obtenus

#### 3.1 Le fractionnement de la matière organique dissoute dans les cours d'eau sous forte influence urbaine

Pour les échantillons prélevés durant la campagne de juin/juillet 2007, la répartition du Carbone Organique Dissous (COD) selon les fractions varie fortement d'un site à l'autre puisque la fraction hydrophobe représente plus de 60% du COD dans l'échantillon de Méry/Marne qui est relativement peu impacté par des rejets urbains alors que cette fraction hydrophobe est de l'ordre de 35% dans les effluents de la STEP Seine-Aval (cf. Figure 5). Pour les échantillons d'origine urbaine, la fraction hydrophile est la fraction prédominante puisqu'elle représente près de la moitié du COD. La forte proportion de COD hydrophile dans les rejets urbains influence sensiblement le site d'Andrésey (situé à l'aval immédiat des rejets de la STEP Seine-Aval) avec une fraction hydrophile qui est presque équivalente à la fraction hydrophobe alors qu'elle trois fois plus faible à l'amont de l'agglomération. L'hydrophobicité augmente ensuite à Méricourt avec une fraction hydrophobe qui redevient majoritaire. Nous pouvons donc observer qu'en période d'étiage (juin 2007), période où l'impact des rejets urbains est maximal en raison d'une plus faible dilution, le COD est principalement sous forme non hydrophobe dans les cours d'eau en zone fortement urbanisée.

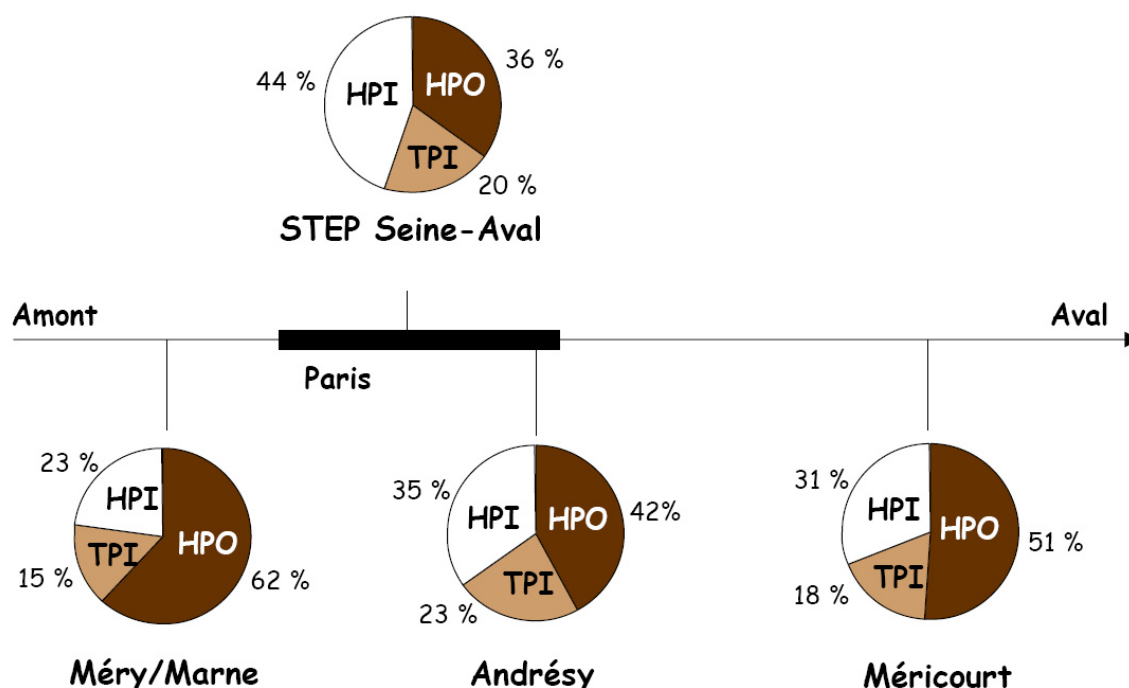


Figure 5 : répartition du COD entre les fractions HPO, TPI et HPI dans le milieu récepteur de l'amont à l'aval de l'agglomération parisienne (campagne de juin/juillet 2007) et dans les rejets de la STEP Seine Aval (moyenne des deux prélèvements d'avril et décembre 2006)

#### 3.2 La caractérisation physico-chimique de la matière organique dissoute dans les cours d'eau fortement urbanisés

Comme mentionné en 2.2, les analyses suivantes ont été effectuées sur ces fractions : analyse élémentaire, spectroscopie infrarouge et UV-visible, spectrofluorescence, pyrolyse à point de curie couplée à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse (Py-GC-MS), chromatographie d'exclusion de taille, étude potentiométrique des interactions avec le proton. Cependant dans un souci de synthèse, seuls les résultats de la spectroscopie UV (SUVA), analyse élémentaire et spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier sont présentés dans ce rapport. Néanmoins, à la fin de ce paragraphe, la synthèse de la caractérisation physico-chimique des fractions de MOD reprend l'essentiel des résultats obtenus avec les différents outils de caractérisation. Pour plus de détails il est possible de consulter l'article de Pernet-Coudrier (2011).

## Analyse élémentaire et SUVA

Les résultats de l'analyse élémentaire ainsi que les valeurs de SUVA des fractions isolées sont présentés dans le Tableau 1. Mis à part pour HPOM2 et HPIA2, la somme des masses élémentaires dépasse 94% ce qui indique la bonne efficacité du protocole de fractionnement et de purification pour éliminer les sels. Les cations et anions minéraux ont été analysés respectivement en ICP-AES et en chromatographie ionique et représentent en tout moins de 1% en masse. Les teneurs en carbone des différentes fractions de MOD sont proches de celles observées dans la littérature pour des eaux de surface (Croué 2004; Ma et al. 2001; Peuravuori et al. 2001; Violleau 1999). Les teneurs en hydrogène, azote et soufre sont élevées tandis que celles en oxygène sont plus basses pour les fractions issues des effluents de STEP (Croué et al. 2003; Pernet-Coudrier et al. 2008).

Comme précédemment observé (Croué 2004; Pernet-Coudrier et al. 2008; Violleau 1999), les ratios C/H, C/O et C/N diminuent avec la nature hydrophile des échantillons (HPO/TPI/HPI), ce qui indique un plus faible degré d'insaturation combiné avec un enrichissement en structures azotés et en groupements fonctionnels oxygénés. Les ratios C/N des fractions HPIA1 et HPIA2 sont très faibles comparés à celui des autres fractions ce qui suggère une abondance élevée de structures azotées pour ces fractions.

La présence plus élevée de structures aromatiques dans les fractions HPO et dans une moindre mesure dans les fractions TPI comparées aux fractions HPI est confirmée par la mesure du SUVA (absorbance UV à 254 nm normalisée par la concentration en carbone) qui est un indicateur d'aromaticité (Leenheer and Croué 2003). Les SUVA obtenus pour ces fractions varient entre 2.3 et 0.7  $\text{m}^{-1} \text{l mgC}^{-1}$  (Tableau 1) et sont proches de ceux obtenus pour des fractions d'effluents traités par Imai et al. (2002). Le SUVA des fractions de MOD issues d'effluents traités est nettement plus faible que le SUVA observé pour les acides fulviques de référence SRFA (4.3  $\text{m}^{-1} \text{l mgC}^{-1}$ ). Cette faible aromaticité de la MOD issue des effluents de STEP est probablement due à la présence moindre de processus de dégradation et de condensation de cette matière organique. Concernant les fractions de Méry/Seine qui ont été échantillonnées durant un bloom phytoplanctonique [(Chlorophylle a) = 171  $\mu\text{g l}^{-1}$ ], elles présentent également une faible aromaticité comparée à la MOD des eaux naturelles probablement en raison de la production algale (Her et al. 2004).

**Tableau 1 : Composition élémentaire (% masse) et SUVA des différentes fractions de MOD**

Fraction	C (%)	H (%)	O (%)	N (%)	S (%)	Residue (%)	Total (%)	C/H	C/O	C/N	C/S	SUVA ( $\text{m}^{-1} \text{l mgC}^{-1}$ )
SRFA	52.3	4.4	43.0	0.7	0.5	0.6	101.4	1.0	1.6	91.1	303.8	4.3
HPOM2	40.4	4.5	29.7	2.8	1.6	12.5	91.5	0.8	1.8	17.0	67.0	2.3
TPIM 2	47.3	5.6	37.0	4.9	1.5	4.0	100.3	0.7	1.7	11.3	84.8	1.8
HPOA1	53.6	6.5	27.9	5.7	2.6	2.9	99.1	0.7	2.6	11.1	55.9	2.1
TPIA1	48.4	6.4	28.8	8.4	2.1	4.7	98.7	0.6	2.2	6.7	62.7	1.4
HPIA1	43.8	7.1	29.4	12.3	2.1	5.0	99.8	0.5	2.0	4.2	54.7	0.8
HPOA2	54.1	6.4	29.2	4.4	2.7	4.5	101.2	0.7	2.5	14.3	53.7	1.8
TPIA2	47.3	6.1	34.1	6.9	2.2	2.5	99.0	0.7	1.8	8.0	57.6	1.3
HPIA2	40.1	5.9	34.0	10.6	2.7	10.4	103.7	0.6	1.6	4.4	39.1	0.7

## Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)

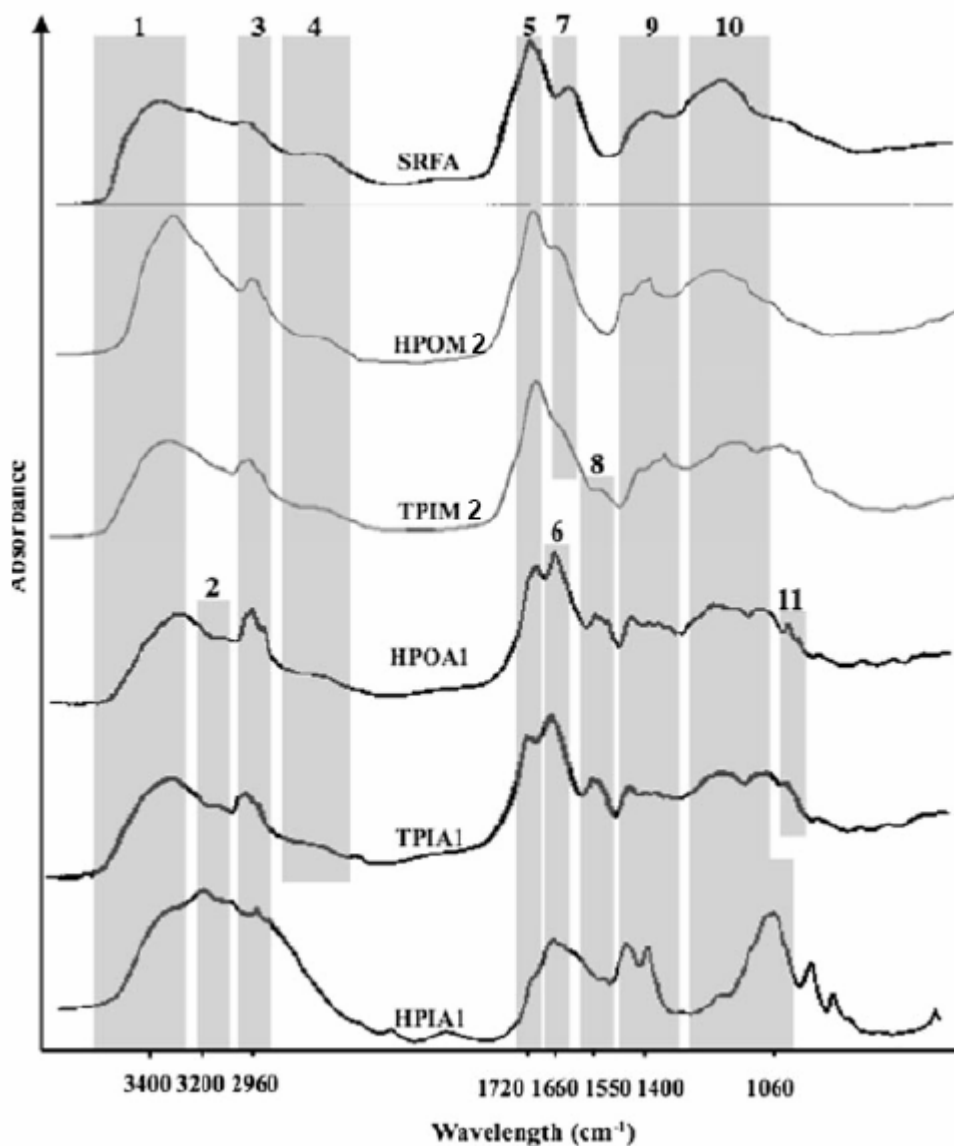
Les spectres obtenus en spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) pour les trois fractions issues des effluents de la STEP Seine Aval d'avril 2006 (HPOA1, TPJA1, HPIA1), les fractions HPOM2 et TPIM2 de Méry/Seine (juin 2007) et pour SRFA sont présentés Figure 6.

On peut observer une absence de bande de vibration attribuables aux sels (par exemple les carbonates à 2506  $\text{cm}^{-1}$ , ou les silicates à 1100  $\text{cm}^{-1}$ ) (Dignac et al. 2000; Tatzber et al. 2007; Violleau 1999) ce qui confirme une fois encore la pureté des fractions isolées.

Onze bandes de vibration différentes ont pu être mises en évidence :

La première est très large et peut être attribuée aux liaisons O-H des alcools et des acides carboxyliques. Les bandes 2, 6 et 8 sont reliées aux amides et aux amines qui sont caractéristiques des protéines et des amino-sucres (Leenheer and Rostad 2004). Ceci est tout à fait cohérent avec les teneurs importantes en azote des

fractions de MOD issues des effluents traités. En raison de la faible teneur en azote dans SRFA et dans les fractions de MOD issues de Méry/Marne, mais surtout en raison de son léger décalage en longueur d'onde, la bande 7 pour SRFA, HPOM2 et TPIM2 est principalement attribuée aux acides carboxyliques aromatiques. Les bandes 3 et 9 révèlent la présence de chaînes aliphatiques.



**Figure 6 : Spectres d'absorbance infrarouge (IRTF) de quelques fractions de MOD**

Les bandes 4 et 5 sont associées aux acides carboxyliques. La bande 5, à approximativement  $1700\text{ cm}^{-1}$ , est très intense; cette caractéristique met en évidence le caractère acide de la matière organique (Croué 2004). La bande 10 est attribuée à la liaison C–O des alcools et des sucres (Croué 2004) et la forte intensité de ce pic pour la fraction HPI suggère une forte abondance de sucres dans cette fraction (Leenheer and Rostad 2004; Jarusutthirak et al. 2000). La bande 11 peut être corrélée avec la présence groupements sulfoniques associés avec des groupements aromatiques carboxyliques. Ces composés pourraient être des produits de dégradation des surfactants (LAS: linear alkyl sulfonates), comme cela a déjà été précédemment observé dans des eaux usées (Barber et al. 1997, 2001; Drewes and Croué 2002).

Les différentes techniques employées (pas forcément présentés dans le cadre de ce rapport) nous ont permis de montrer que la MOD est majoritairement *non hydrophobe* en milieu urbain (en basses eaux). La MOD



issue de STEP présente une *faible aromaticité et une petite taille* (analyse élémentaire, SUVA, SEC), des teneurs élevées en *azote et en soufre, une forte teneur en groupements fonctionnels* (analyse élémentaire, IRTF, titrations acido-basiques) et une forte présence de *structures protéiniques* (IRTF, Fluorescence, Pyrolyse-CG-MS) indiquant une *origine biologique récente*. En effet une forte proportion de matière organique d'origine protéinique pour les effluents de STEP notamment pour les fractions hydrophiles a également pu être observée (spectrofluorescence), cela entraînant une présence importante de groupements fonctionnels azotés (spectroscopie infrarouge, confirmée par l'étude des interactions avec le proton et les métaux).

### 3.3 L'influence de la matière organique dissoute sur la spéciation du cuivre, du plomb et du mercure

Dans le cas du cuivre, les données expérimentales nous ont permis de calculer les teneurs en sites d'affinités fortes et faibles présents dans les différentes fractions de MOD ainsi que les constantes de complexation pour chacun de ces deux types de site (cf. Figure 7). Concernant les sites d'affinités faibles, les constantes de complexation et les teneurs sont peu différentes suivant la nature de la fraction et assez peu différentes de celles des substances humiques de référence. Pour les sites d'affinités fortes, les constantes de complexation sont du même ordre de grandeur pour nos fractions et les substances humiques de référence mis à part pour les fractions hydrophiles pour lesquelles les constantes sont plus fortes et pour lesquelles les teneurs en sites sont également beaucoup plus importantes probablement en raison des fortes teneurs en groupements azotés

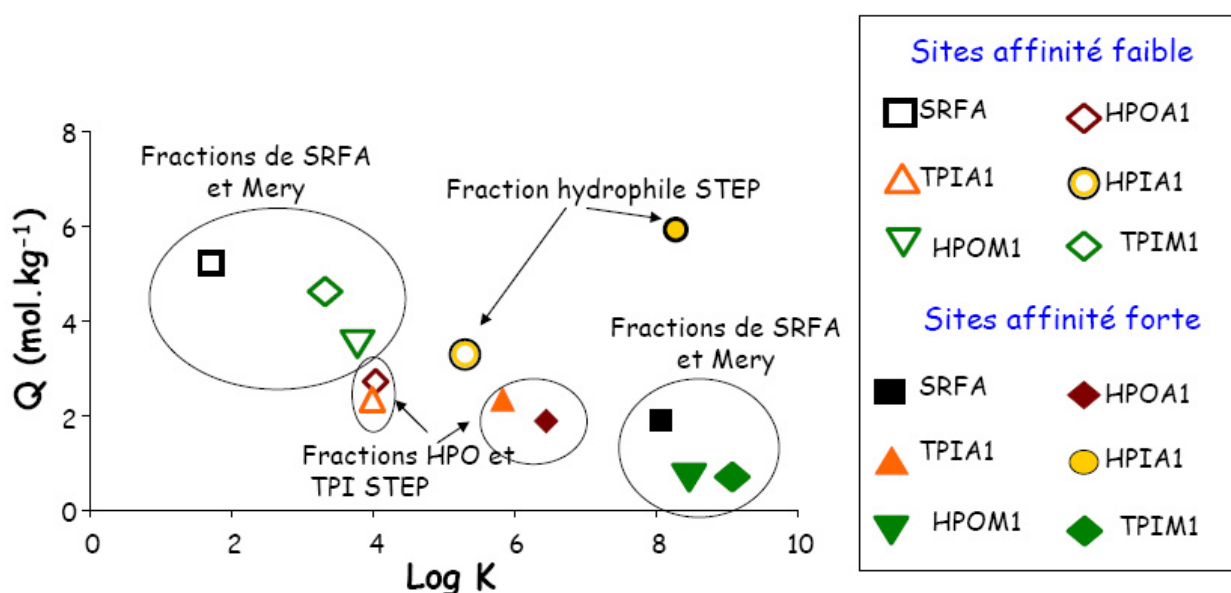


Figure 7 : paramètres de complexation (constante de stabilité K et nombre de site Q) du cuivre pour les différentes fractions de MOD

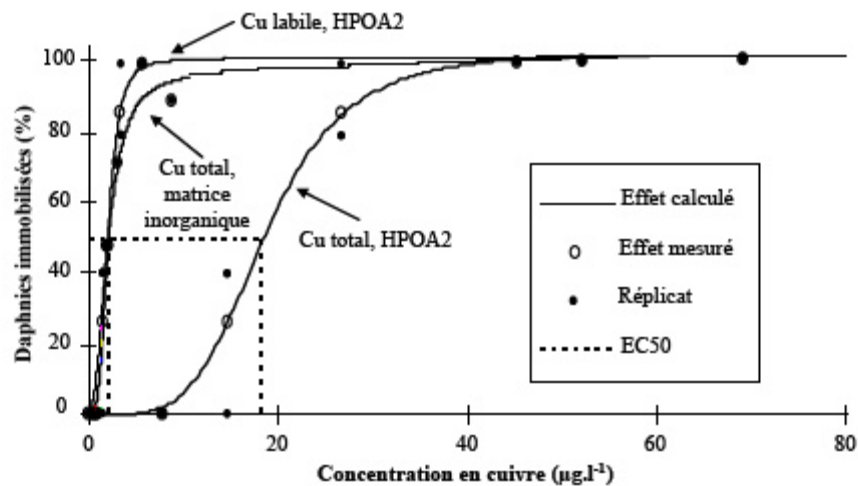
Dans le cas du plomb les résultats obtenus sont tout à fait similaires à ceux obtenus pour le cuivre. Dans le cas du mercure, il s'avère que les fractions d'origine urbaine et notamment les fractions hydrophiles possèdent plus de sites fixateurs avec des constantes de complexation légèrement plus importantes que les fractions provenant de sites peu impactés de l'amont de l'agglomération parisienne ou même que les substances humiques de référence. Il est probable que les ligands azotés et soufrés en quantités plus importantes sur les fractions d'origine urbaine soient à l'origine de cette affinité particulièrement importante avec le mercure qui est un métal dit « mou » présentant donc une forte affinité avec ce type de ligands dit « mous ».

### 3.4 L'influence de la matière organique dissoute sur la biodisponibilité et la toxicité du cuivre

La concentration de cuivre toxique pour 50% des daphnies ( $\text{EC}_{50}$ ) passe de  $3\mu\text{g.l}^{-1}$  en milieu minéral à des valeurs comprises entre 20 et  $30\mu\text{g.l}^{-1}$  en milieu organique. Les différentes fractions de MOD testées montrent toutes un pouvoir protecteur important. Toutefois, comme dans le cas des biotests de biodisponibilité du cuivre (réalisés sur *Fontinalis antipyretica*) non présentés dans le cadre de ce rapport,

aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre les différentes fractions de MOD.

La Figure 8 illustre à titre d'exemple les courbes doses-réponses du cuivre labile (mesuré par DGT) et total en matrices organique (HPOA2) et inorganique. Ces résultats montrent l'effet protecteur de la MOD HPOA2 vis-à-vis de la toxicité du cuivre pour *Daphnia magna*. En effet, en présence de HPOA2 (2mgC.l<sup>-1</sup>), l'EC50 exprimée en cuivre total est plus élevée (environ 18 µg.l<sup>-1</sup>) qu'en milieu inorganique (environ 3 µg.l<sup>-1</sup>). Cette figure montre aussi l'efficacité de l'outil DGT pour prédire la toxicité du cuivre en présence de MOD puisque l'EC50 exprimé en cuivre labile en présence de MOD est similaire à celle en milieu inorganique (le cuivre étant, en matrice inorganique, totalement labile par DGT).



**Figure 8 : Courbes doses-réponses du cuivre exprimées en cuivre labile (DGT) et en cuivre total en matrices inorganique et organique (HPOA2)**

La Figure 9 présente l'ensemble des EC50 (concentration en cuivre immobilisant 50 % de la population) obtenues pour chaque fraction et exprimées en cuivre total et labile par DGT. Les résultats mettent en évidence :

- une EC50<sub>tot</sub> (exprimée en cuivre total) systématiquement supérieure en présence de MOD comparativement aux tests réalisés en matrice inorganique (eau minérale). Ceci montre l'effet protecteur de la MOD vis-à-vis de la toxicité du cuivre pour *Daphnia magna*,
- de fortes différences (du simple au double) des EC50<sub>tot</sub> selon les fractions avec une incertitude parfois importante (jusqu'à 60 % de la valeur de l'EC50<sub>tot</sub>), imputée en partie à la variabilité du vivant,
- en présence de MOD, des EC50<sub>lab</sub> (exprimée en cuivre labile par DGT) toujours très inférieures aux EC50<sub>tot</sub>. En présence de substances humiques, les EC50<sub>lab</sub> sont systématiquement inférieures aux autres fractions de MOD excepté pour la fraction HPOM1,
- la faible variabilité des 7 tests effectués en matrice minérale montre la répétabilité du biotest et la non-évolution de l'élevage de clone de daphnies,
- les fractions issues des échantillons M2, A1, et A2 ne présentent pas de différences significatives,

Concernant les échantillons M1, AN et MT certaines différences peuvent être observées :

- la fraction HPOM1 présente un effet protecteur significativement plus faible que la fraction TPIM1,
- les fractions HPOAN et HPOMT présentent un effet protecteur plus élevé que les fractions TPIAN et TPIMT. La fraction HPIAN révèle un effet protecteur significativement plus faible alors que la fraction HPIMT possède un effet protecteur plus élevé que les fractions HPOMT et TPIMT.

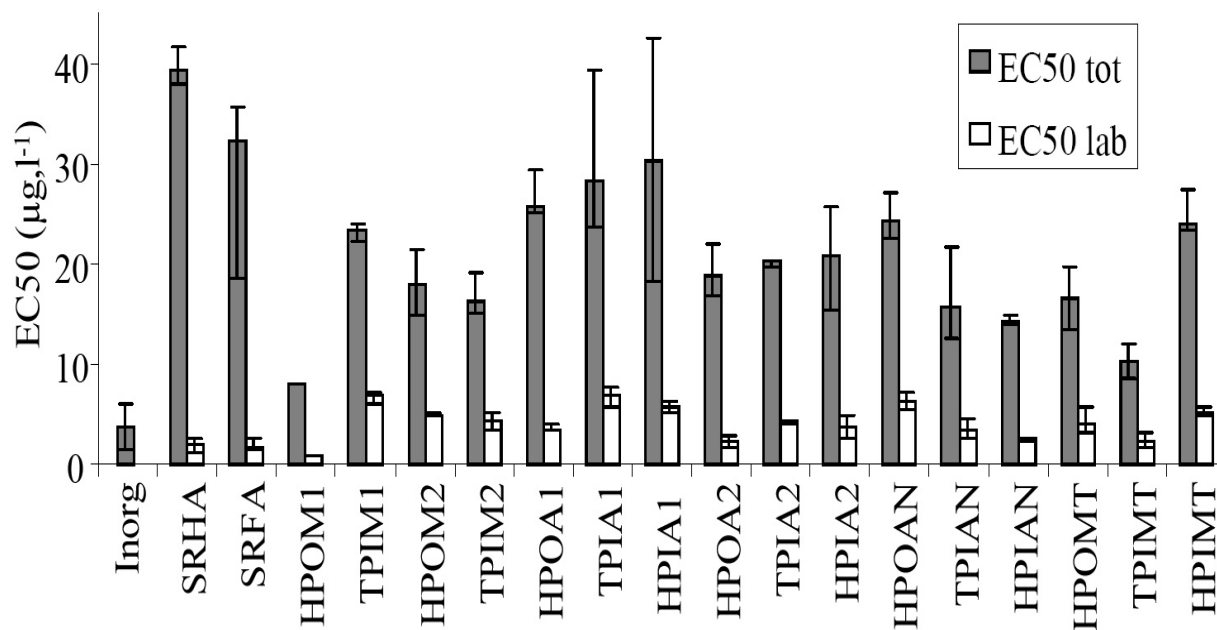


Figure 9 : EC50 exprimées en cuivre total et en cuivre labile (DGT) pour chacune des fractions de MOD

## 4 Conclusions et perspectives

Les objectifs initiaux du projet Biomet rappelés au début de ce document ont été dans l'ensemble atteints. Au cours de la première année, le protocole de fractionnement et de purification de la MOD a été appliqué et optimisé. Il a permis par la suite de fractionner et purifier la fraction hydrophile de la MOD dans six échantillons d'origines diverses. Les propriétés physico-chimiques des différentes fractions isolées ont pu être comparées selon leur origine et leur polarité. Il a également été possible de caractériser la MOD, en particulier la fraction hydrophile, du point de vue de ses interactions avec les métaux. Sa capacité à moduler la spéciation et la biodisponibilité a pu être investiguée de manière approfondie.

Il a été démontré dans un premier temps que la matière organique d'origine urbaine, notamment les effluents de temps sec de station d'épuration contiennent principalement de la matière organique dissoute hydrophile (fraction majoritaire avec près de 45% du COD). En période d'étiage, ces rejets urbains augmentent sensiblement le caractère hydrophile du COD dans la Seine à l'aval de l'agglomération parisienne. Ceci montre donc que la fraction hydrophobe du carbone organique dissous peut être minoritaire dans les systèmes aquatiques fortement urbanisés. Cette matière organique hydrophile présente des teneurs particulièrement importantes en azote mais aussi en soufre. L'influence de cette MOD hydrophile sur la spéciation des métaux est forte puisque elle présente un nombre élevé de sites fixateurs comparé à la matière organique provenant de sites non impactés à l'amont de l'agglomération parisienne ou aux substances humiques de référence, et des constantes de complexation du même ordre de grandeur ou même légèrement supérieures. Nous avons également pu mettre en évidence, indépendamment de leur aromaticité, l'impact des substances organiques non humifiées sur la biodisponibilité des métaux dans les eaux.

La grande originalité de cette étude aura été de mettre spécifiquement en évidence la forte affinité de la fraction hydrophile de la MOD pour les métaux et son impact sur leur spéciation et leur biodisponibilité dans les systèmes aquatiques. Cela a été rendu possible grâce à l'utilisation d'un protocole de fractionnement et de purification de la MOD. Les données obtenues, notamment celles concernant les constantes et capacités de complexation, pourront être utilisées dans des modèles de spéciation des métaux en zone urbanisée pour lesquelles nous ne disposons que des paramètres de complexation des métaux avec des substances humiques dont nous avons vu qu'elles étaient minoritaires dans les systèmes aquatiques urbanisées en période de basses eaux.

Les résultats obtenus dans le cadre de notre étude sur les caractéristiques des effluents de station d'épuration pourraient également être utiles dans un cadre de réutilisation des eaux usées. En effet, les traitements tertiaires appliqués aux eaux usées dans le but de les réutiliser consistent souvent en une étape de filtration sur membranes suivie d'une désinfection par rayonnement UV. Or pour ces deux étapes, la MOD joue un rôle clé. En effet, selon sa polarité, elle peut par exemple colmater les membranes de filtration ou conduire à la formation de sous produits de désinfection toxiques.

Les perspectives qui s'ouvrent à l'issue de ce projet sont nombreuses. D'un point de vue méthodologique, si l'on souhaite étudier la fraction hydrophile de la MOD sur un nombre d'échantillons plus important il est indispensable d'améliorer la cadence analytique du protocole de fractionnement et de purification de la MOD. Cela vient d'être réalisé en 2010 dans le cadre de la thèse de Zeinab Matar. La cadence analytique a été fortement améliorée puisque nous pouvons désormais traiter près de 10 échantillons par mois contre 2 auparavant. Dans le cadre de cette thèse, c'est la MOD des rejets urbains de temps de pluie qui est étudié toujours en lien avec la spéciation des micropolluants et leur biodisponibilité.

A court-terme, il est également prévu d'étudier les interactions entre la MOD d'origine urbaine (temps sec et temps de pluie) et les micropolluants organiques (effet sur leur biodisponibilité). En outre les interactions entre la MOD urbaine et les particules seront également investiguées. En effet il a été démontré que cette MOD possédait une affinité forte avec les métaux ce qui pourrait tendre à les maintenir dans la colonne d'eau. Cependant, cette MOD peut également interagir avec les particules, se fixer à leur surface et modifier leur capacité à adsorber les polluants. Cela pourrait influencer la sédimentation des micropolluants et donc leur transport et devenir dans les cours d'eau urbanisés.

## 5 Références bibliographiques

- Barber LB, Brown GK, Kennedy KR, Leenheer JA, Noyes TI, Rostad CE, Thorn KA (1997) Organic constituents that persist during aquifer storage and recovery of reclaimed water in Los Angeles County, California. In *Conjunctive use of water resources: aquifer storage and recovery. Proceedings of the American water resources association symposium, October 19–23, Long Beach, California*, pp 261–271
- Barber LB, Leenheer JA, Noyes TI, Stiles EA (2001) Nature and transformation of dissolved organic matter in treatment wetlands. *Environ Sci Technol* 35:4805–4816
- Bracewell JM, Pacey N, Robertson GW (1987) Organic matter
- Buffle J. (1988). *Complexation reactions in aquatic systems: an analytical approach*. Ellis Horwood, New York.
- Buzier R., Tusseau-Vuillemin M.-H. et Mouchel J.-M. (2006). Evaluation of DGT as a metal speciation tool in wastewater. *Sci. Total. Environ.* 358 (1-3), 277-285.
- Croué JF (2004) Isolation of humic and non-humic nom fractions: structural characterization. *Environ Monit Assess* 92:193–207
- Croué JP, Benedetti MF, Violleau D, Leenheer JA (2003) Characterization and copper binding of humic and nonhumic organic matter isolated from the South Platte River: evidence for the presence of nitrogenous binding site. *Environ Sci Technol* 37(2):328–336
- Dignac M-F, Derenne S, Ginetet P, Bruchet A, Knicker H, Largeau C (2000) Determination of structure and origin of refractory organic matter in bio-epurated wastewater via spectroscopic methods. Comparison of conventional and ozonation treatments. *Environ Sci Technol* 34(16): 3389–3394
- Drewes JE, Croue JP (2002) New approaches for structural characterization of organic matter in drinking water and wastewater effluents. In: *2nd World Water Congress: drinking water treatment, water science and technology: water supply*, pp 1–10
- Galceran J., Companys E., Puy J., Cecilia J. et Garces J. L. (2004). AGNES: a new electroanalytical technique for measuring free metal ion concentration. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 566 (1), 95-109.
- Her N, Amy G, Park H-R, Song M (2004) Characterizing algogenic organic matter (AOM) and evaluating associated NF membrane fouling. *Water Res* 38(6):1427–1438
- Imai A., Fukushima T., Matsushige K. and Hwan Kim Y. (2001). "Fractionation and characterization of dissolved organic matter in a shallow eutrophic lake, its inflowing rivers, and other organic matter sources". *Water Research* 35 (17), 4019-4028.
- Imai A., Fukushima T., Matsushige K., Kim Y.-H. et Choi K. (2002). Characterization of dissolved organic matter in effluents from wastewater treatment plants. *Water Res.* 36 (4), 859-870.
- Leenheer J. A. (1981). Comprehensive approach to preparative isolation and fractionation of dissolved organic carbon from natural waters and wastewaters. *Environ. Sci. Technol.* 15 (5), 578-587.
- Leenheer JA, Croué J-P (2003) Characterized aquatic dissolved organic matter. *Environ Sci Technol* 37(1):19–26
- Leenheer JA, Rostad CE (2004) Fractionation and characterization of organic matter in wastewater from a Swine waste-retention basin. Scientific investigations report 2004-5217. U.S. Department of the Interior and U.S. Geological Survey, 21
- Ma H, Allen HE, Yin Y (2001) Characterization of isolated fractions of dissolved organic matter from natural waters and a wastewater effluent. *Water Res* 35(4):985–996
- Martin-Mousset B., Croué J. P., Lefebvre E. et Legube B. (1997). Distribution et caractérisation de la matière organique dissoute d'eaux naturelles de surface. *Water Res.* 31 (3), 541-553.
- Pernet-coudrier B, Clouzot L, Varrault G, Tusseau-vuillemin M-H, Verger A, Mouchel J-M (2008)

Dissolved organic matter from treated effluent of a major wastewater treatment plant: characterization and influence on copper toxicity. *Chemosphere* 73(4):593–599

Pernet-Coudrier B., Varrault G., Saad M, Croué J-P., Dignac M-F., Mouchel J-M. (2011) : Characterization of dissolved organic matter in Parisian urban aquatic systems: predominance of hydrophilic and proteinaceous structures. *Accepté pour publication dans Biogeochemistry* (DOI: 10.1007/s10533-010-9480-z)

Peuravuori J, Ingman P, Pihlaja K, Koivikko R (2001) Comparisons of sorption of aquatic humic matter by DAX-8 and XAD-8 resins from solid-state <sup>13</sup>C NMR spectroscopy's point of view. *Talanta* 55(4):733–742

Sarathy V. et Allen H. E. (2005). Copper complexation by dissolved organic matter from surface water and wastewater effluent. *Ecotox. Environ. Safe.* 61, 337-344.

Tatzber M, Stemmer M, Spiegel H, Katzberger C, Haberhauer G, Gerzabek MH (2007) An alternative method to measure carbonate in soils by FT-IR spectroscopy. *Environ Chem Lett* 5(1):9–12

Tessier A. et Turner D. R. (1995). Metal speciation and bioavailability in aquatic systems. John Wiley & Sons, Chichester.

Violleau D (1999). Intérêt du fractionnement et de l'extraction des matières organiques naturelles d'eaux de surface pour l'étude de leur propriétés structurales et de leur pouvoir complexant vis-à-vis du cuivre. *Laboratoire de chimie de l'eau et de l'environnement, Université de Poitiers*, 159 pp