

Mobilité des métaux dans les sédiments du bassin de la Seine sous l'action des microorganismes

C. Gounou^{1,2}, N. Bousserhine², G. Varrault¹, R. Moilleron¹ & J.-M. Mouchel³

¹ CEREVE, Université Paris 12-Val de Marne, 61 avenue du Général de Gaulle, 94010 Créteil
Cedex : gounou@univ-paris12.fr, varrault@univ-paris12.fr, moilleron@univ-paris12.fr

² LBSE, Université Paris 12-Val de Marne, 61 avenue du Général de Gaulle, 94010 Créteil
Cedex : bousserhine@univ-paris12.fr

³ CEREVE, ENPC, 6-8 avenue Blaise Pascal, Cité Descartes, 77455 Marne-la-Vallée Cedex
2 : mouchel@cereve.enpc.fr

PIREN rapport action 433.doc

1.	Introduction	2
2.	Matériels et méthodes	2
2.1.	Echantillonnage	2
2.2.	Métabolisme microbien et solubilisation des éléments métalliques :	3
2.2.1	Dispositif expérimental	3
2.2.2	Suivi de l'activité microbienne	3
2.2.3	Solubilisation des éléments métalliques	4
2.2.4	Analyse des métaux totaux	4
2.2.5	Spéciation des métaux	4
3.	Résultats et discussion	6
3.1.	Métabolisme microbien et solubilisation des éléments métalliques présents dans les sédiments :	6
3.1.1	Minéralisation du carbone	6
3.1.2	Evolution de la densité microbienne	6
3.1.3	Analyse de la diversité fonctionnelle des communautés bactériennes	7
3.1.4	Evolution du pH	10
3.1.5	Solubilisation du fer et du manganèse	11
3.1.6	Solubilisation de l'aluminium et du zinc	13
4.	Conclusions et perspectives	14
5.	Bibliographie	15

1. Introduction

Différentes études bibliographiques ont rapporté le rôle prépondérant des microorganismes dans le cycle de différents éléments métalliques. En effet, dans le cas des sols, les micro-organismes par des mécanismes directs ou indirects, provoquent la mobilisation de métaux (Lovley, 1991; Lovley *et al.*, 1996; Lovley, 1997; Tebo *et al.*, 1998; Bousserhine *et al.*, 1999; Bousserhine *et al.*, 1999; Suzuki, 2001; Nevin *et al.*, 2002). Bien qu'il ne fasse aucun doute qu'une telle activité solubilisatrice puisse être rencontrée au niveau des sédiments, la bibliographie reste rare dans ce domaine.

La majeure partie des études portant sur l'interaction microorganismes métaux dans les sédiments ont porté soit sur l'impact des métaux sur la communauté microbienne (diversité des microorganismes et sélection de microorganismes résistants) (Hassen *et al.*, 1998; Bruins *et al.*, 2000; Dopson *et al.*, 2003; Konstantinidis *et al.*, 2003), soit sur le rôle des microorganismes dans la solubilisation des métaux. De plus, la plupart des études portant sur la pollution métallique dans les sédiments se sont intéressées uniquement à leur spéciation ((Facetti *et al.*, 1998; Huerta-Diaz *et al.*, 1998; Tokalioglu *et al.*, 2000; Stephens *et al.*, 2001; Yu *et al.*, 2001; Seidel *et al.*, 2002; Nayar *et al.*, 2004).

Aucune étude à notre connaissance n'a mené de front les deux aspects et n'a tenté d'évaluer l'impact de la pollution sur la diversité fonctionnelle et génétique du peuplement microbien autochtone des sédiments et les conséquences de telles modifications de la diversité sur la spéciation et la mobilité des métaux dans les sédiments.

C'est cette problématique que l'on se propose d'aborder, en étudiant l'influence de la pollution engendrée par les rejets de l'agglomération parisienne sur la composition de la communauté microbienne des sédiments de la Seine et l'influence d'une telle modification sur le relargage potentiel des métaux présents dans les sédiments.

L'objectif de cette étude est de répondre aux trois questions suivantes :

Quel est l'impact des rejets de l'agglomération parisienne sur la diversité microbienne dans les sédiments ?

Quel est le rôle de la biomasse hétérotrophe sur la mobilisation des métaux dans les sédiments ? Le relargage des métaux dépend-il de la densité de la biomasse et/ou de sa diversité?

Quelle est l'influence des différents paramètres environnementaux sur la biomasse microbienne et sa capacité de solubilisation des métaux ?

Au cours de la première phase d'échantillonnage menée fin novembre 2005, nous nous sommes focalisés sur la caractérisation des sédiments en terme chimique et microbiologique prélevés en amont et en aval de l'agglomération parisienne et plus particulièrement dans la Marne et dans la Seine au cours de l'incubation des sédiments sur une période d'un mois. A la date de publication du présent rapport, seuls les premiers résultats sont présentés ici.

2. Matériels et méthodes

2.1. Echantillonnage

Lors d'une campagne d'échantillonnage organisée le 24 novembre 2005, les vingt premiers centimètres de sédiments ont été prélevés à l'aide d'une benne Eckman sur deux sites. Le premier site, situé à Méry-sur-Marne, en amont de l'agglomération parisienne, présente des teneurs en métaux moins élevées que les autres sites amont selon des études antérieures (Carpentier, 2002). Le second site est situé à Andrésy juste en aval de la station d'épuration de Seine Aval et constitue donc le point en aval de l'agglomération parisienne.

Les sédiments collectés ont été conservés sous une couche d'eau du site échantillonné dans des flacons en plastique (préalablement rincés à l'acide nitrique ultrapur (65%, Normapur)). Ce mode de stockage permet de préserver les conditions anaérobies.

Remarque. Pour toutes les expériences d'incubation menées, les sédiments ne sont ni séchés ni broyés en effet séchage et broyage peuvent d'une part influencer sur la population microbienne autochtone et d'autre part modifier l'état d'oxydation et la spéciation des métaux présents ou de leurs phases porteuses (Herr *et al.*, 1997; Stephens *et al.*, 2001).

2.2. Métabolisme microbien et solubilisation des éléments métalliques :

2.2.1 Dispositif expérimental

Les incubations de sédiments ont été conduites dans un dispositif dénommé batch. Il s'agit d'un système en milieu clos dans lequel l'incubation débute avec une quantité connue de substrat que les microorganismes vont utiliser en continu pour leur croissance. Des flacons sérum de 250 mL contenant 150 mL de milieu de culture ont été stérilisés par autoclave. Les incubations commencent lors de l'introduction de 20g de sédiments humides¹. Toutes les manipulations ont été réalisées sous hotte à flux laminaire afin de ne pas contaminer les sédiments et les flacons.

Les conditions anaérobies, caractéristiques de l'interface eau-sédiment, ont été recrées dans les cultures par un dégazage sous flux d'azote. Les flacons ont ensuite été placés à l'obscurité dans une étuve à $28 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant un mois.

Afin, d'une part, de stimuler la croissance bactérienne pour accélérer les réactions et d'autre part, d'apprécier l'impact de l'intensité de l'activité microbienne sur les vitesses de réaction de relargage des métaux, trois solutions contenant une concentration de glucose différente ont été testées :

- milieu 1 : eau distillée + $0,15 \text{ g.L}^{-1}$ de levure + 0,05 % de glucose
- milieu 2 : eau distillée + $0,15 \text{ g.L}^{-1}$ de levure + 0,1 % de glucose
- milieu 3 : eau distillée + $0,15 \text{ g.L}^{-1}$ de levure + 0,5 % de glucose

Par ailleurs, les sédiments de Marne et de Seine ont été incubés et étudiés en triplicat pour chaque milieu de culture.

2.2.2 Suivi de l'activité microbienne

Activité globale et minéralisation du carbone. Le CO_2 produit par les microorganismes a été suivi régulièrement au cours de l'incubation par prélèvement d'1 mL de l'atmosphère des microcosmes à l'aide de seringues stériles (TERUMO) équipée d'aiguilles stériles à travers les septums hermétiques des flacons sérum, préalablement nettoyés à l'éthanol pour éviter toute contamination. La teneur en CO_2 a été déterminée par spectrométrie infra-rouge (BERYL 100 COSMA). Les concentrations de CO_2 sont exprimées en ppm (μg de CO_2 par g de sédiment sec).

Suivi du pH. Le pH a été mesuré régulièrement au cours de l'incubation dans 5 mL de solution prélevée à l'aide d'aiguilles et de seringues stériles et après centrifugation (4200 tr.min^{-1} pendant 10 min, G412 Jouan).

Dosage des acides organiques. La recherche d'acides organiques éventuellement produits par les microorganismes dans nos conditions opératoires a été entreprise par HPLC sur 1 mL de solution prélevée et acidifiée. Cette analyse a pour objectif la mise en évidence d'un métabolisme fermentaire souvent mis en place par les microorganismes en conditions anaérobies.

¹ Les poids secs des sédiments de Marne et de Seine ont été pesés déterminés. Il en résulte que les sédiments de la Marne et de la Seine contiennent respectivement en moyenne 50 % et 30 % d'humidité. Toutes les masses pesées ont été ramenées en masse sèche pour les calculs.

Dosage des ions. Afin de mettre en évidence d'éventuelles réactions de sulfato-réduction et de réduction des nitrates, les ions sulfates, nitrates et ammoniums ont été dosés par chromatographie ionique. 10 mL de solution de culture ont été prélevés régulièrement, centrifugés et filtrés à 0,47 mm avant analyse.

Evolution de la densité des microorganismes anaérobies dans les microcosmes en cours d'incubation. Chaque semaine, des suspensions-mères de sédiments ont été préparées à partir de chaque microcosme (2g de sédiment humide dans un 10 mL d'eau physiologique (NaCl, 10 g.L⁻¹) puis une série de dilution a été réalisée à partir de ces suspensions-mères. 1 mL de chaque suspension fille est ensemencé en profondeur dans un milieu de culture coulé en boîte de Pétri. Le milieu de culture est un milieu PCA (hydrolysate pancréatique de caséine 5g.L⁻¹, extrait de levure 2,5 g.L⁻¹, glucose 1 g.L⁻¹, agar 15 g.L⁻¹, pH 7). L'incubation des boîtes de Pétri est réalisée à 30°C, en condition anaérobie. Pour réaliser l'anaérobiose, les boîtes de Pétri sont placées dans une jarre avec un sachet GENbox anaer permettant d'obtenir une concentration en O₂ < 0,1% après 2,5h et une concentration en CO₂ > 16% après 24h. Les colonies sont comptées après 48h puis 72h.

Suivi de la diversité fonctionnelle ou capacité métabolique des microorganismes. L'évolution de la diversité fonctionnelle des microorganismes au cours de l'incubation a été suivie en utilisant la technique du Biolog. Il s'agit d'une plaque de 96 puits contenant chacun une source de carbone différente et un réactif coloré, le tétrazolium. L'oxydation des sources de carbone par les microorganismes entraîne la réduction du tétrazolium qui prend alors une coloration violette, dont l'intensité est mesurée au spectrophotomètre ($\lambda=590$ nm). 100 μ L de la suspension du sédiment à analyser sont inoculés dans chacun des puits puis la plaque est mise à incuber dans une jarre contenant un sachet GENbox anaer afin de créer des conditions anaérobies. L'incubation a lieu à 30°C pendant 36h puis la plaque est lue dans un lecteur de plaque à la longueur d'onde souhaitée.

Suivi de la diversité génétique des microorganismes au cours des incubations. Le suivi est effectué chaque semaine après extraction de l'ADN, amplification par PCR puis analyse par DGGE. La comparaison des profils obtenus pour chaque semaine avec cette technique permettra de détecter les éventuelles modifications génétiques dans les communautés microbiennes autochtones des sédiments.

2.2.3 Solubilisation des éléments métalliques

Analyse des métaux dissous. Des aliquotes de milieu de culture sont prélevés régulièrement au cours de l'incubation puis après centrifugation sont analysés par spectrométrie d'émission atomique à plasma induit (ICP-AES, Varian). Les éléments métalliques suivants ont été étudiés : Ag, Al, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb et Zn.

Spéciation Fe²⁺/Fe³⁺. Le Fer(II) a été analysé régulièrement par dosage à l'orthophénantroline afin de vérifier la caractéristique réduite de cet élément et l'importance de l'activité bactérienne ferri-réductrice lors des incubations.

2.2.4 Analyse des métaux totaux

Celle-ci a été réalisée par attaque des sédiments avec un mélange d'acide fluorhydrique et d'eau régale (HF/HCl/HNO₃). Après un repos d'une nuit, les échantillons sont minéralisés par four micro-ondes.

2.2.5 Spéciation des métaux

Le protocole adopté pour cette spéciation est celui préconisé par (Campanella *et al.*, 1995) et que nous avons légèrement modifié afin de distinguer les métaux liés à la matière organique de ceux liés aux sulfures.

Afin de préserver les conditions anaérobies et donc éviter tout risque d'oxydation des sulfures, les spéciations ont été réalisées sous flux d'azote dans une boîte à gants. La spéciation a été réalisée sur les sédiments avant, pendant et après incubation.

Les différentes étapes de ce protocole sont les suivantes :

Etape 1 : Métaux échangeables et liés aux carbonates. 90 mL d'acétate d'ammonium (1M) ajusté à pH 5 avec de l'acide acétique pur sont ajoutés à 9 g de sédiment humide. Après 24 h d'agitation à 130 trs/min, le mélange est centrifugé à 4200 trs/min pendant 15 min. Le surnageant est récupéré et acidifié à pH 1 avec de l'acide nitrique ultrapur avant dosage des métaux par ICP-AES.

Etape 2 : métaux liés aux oxydes de Fe et de Mn. 90 mL de 1:1 (v:v) chlorure d'hydroxylammonium (1M) : acide acétique (25%) sont ajoutés au culot de l'étape précédente. La suite du protocole est la même que précédemment.

Etape 3 : métaux liés aux matières organiques. 50 mL de NaOH (0,5M) sont ajoutés au culot. La suite du protocole est la même que précédemment.

Etape 4 : métaux liés aux sulfures. 50 mL de HNO₃ (8M) sont ajoutés au culot. Le mélange est chauffé à 85°C pendant 3h avec agitation manuelle de temps en temps. Puis la suite du protocole est la même que précédemment.

Les différents paramètres chimiques et microbiologiques étudiés ainsi que les techniques utilisées durant cette étude sont résumés dans la Figure 1.

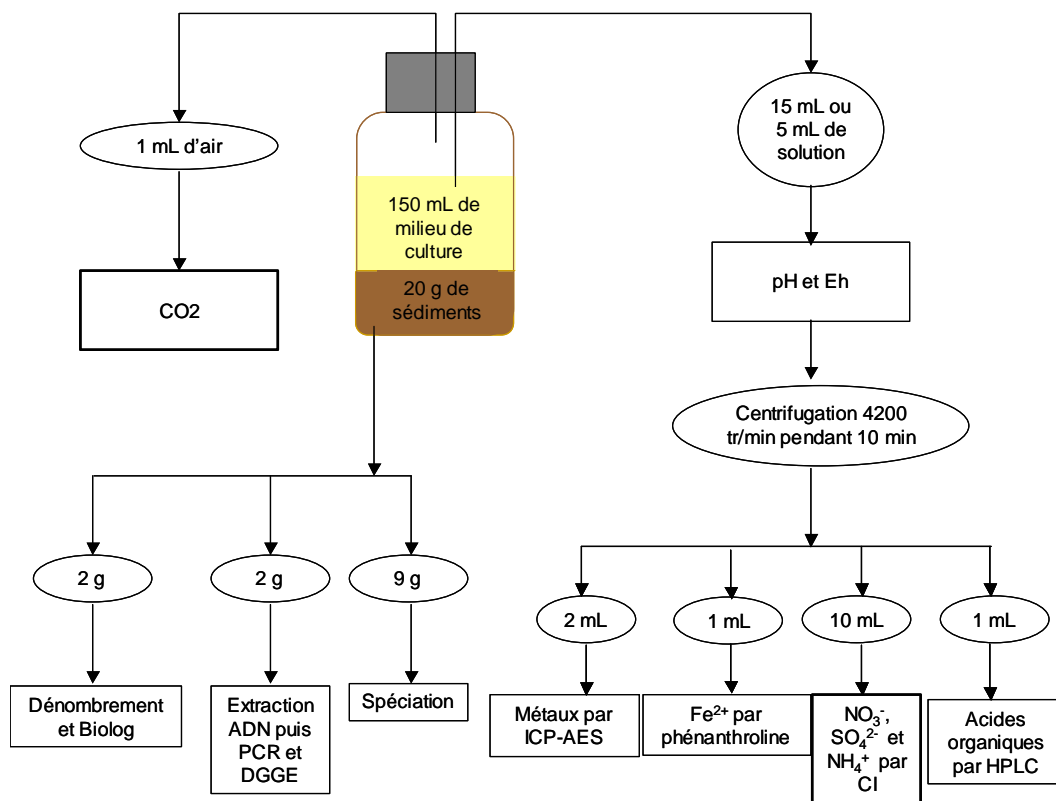


Figure 1 : Paramètres chimiques et microbiologiques suivis au cours des incubations en anaérobiose des sédiments de Seine et de Marne en présence de milieu de culture contenant du glucose

3. Résultats et discussion

3.1. Métabolisme microbien et solubilisation des éléments métalliques présents dans les sédiments :

3.1.1 Minéralisation du carbone

Les profils d'évolution du CO₂ sont similaires dans les deux sédiments et pour chaque concentration de glucose. Aucune phase de latence n'est observée quels que soient le sédiment et la concentration de glucose utilisée ce qui prouve un bon état physiologique des microorganismes autochtones et une bonne adaptation aux conditions opératoires. L'activité minéralisatrice augmente avec la concentration en glucose (Figure 2). L'essentiel de la minéralisation est obtenu au bout de quatre jours d'incubation et correspondrait à la consommation du glucose qui est une source de carbone facilement biodégradable (Fakih, 2004). Par ailleurs les teneurs en CO₂ ont des valeurs similaires pour les sédiments de Seine et de Marne pour les milieux à 0,05 et 0,1 % de glucose ; la concentration en CO₂, est plus élevée pour les sédiments de Marne pour le milieu à 0,5 % de glucose.

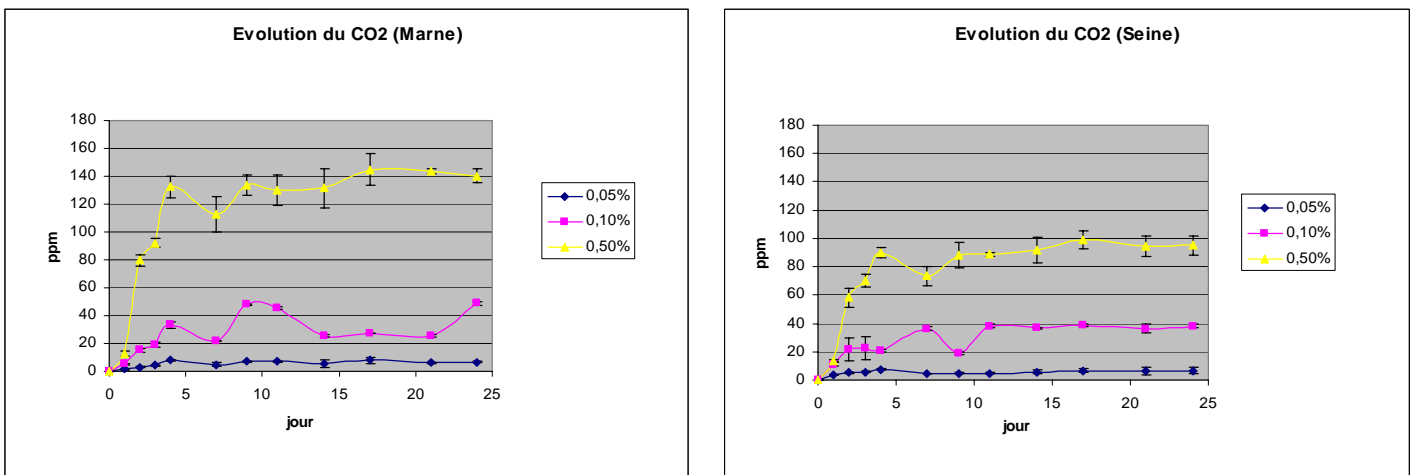


Figure 2 : Evolution du CO₂ au cours de l'incubation des sédiments de Marne et de Seine

Les faibles vitesses de minéralisation observées à partir du cinquième ou du septième jour à la fois dans les sédiments de Seine et de Marne peuvent s'expliquer par le fait que le glucose présent dans le milieu a été totalement consommé par les bactéries anaérobies et que la matière organique autochtone des sédiments serait difficile à biodégrader. Ceci peut également s'expliquer par la production de métabolites bactériens (acides organiques) ou la présence d'éléments métalliques toxiques pour les bactéries. La recherche des acides organiques associée à la caractérisation de l'activité fonctionnelle des bactéries confirmeront ou non ces hypothèses.

3.1.2 Evolution de la densité microbienne

Le dénombrement des microorganismes au cours de l'incubation montre une augmentation puis une diminution du nombre total de microorganismes quelle que soit la quantité de glucose contenue dans le milieu et quelle que soit la nature des sédiments.

Les sédiments de Marne (Figure 3), montrent une augmentation du nombre de bactéries durant la première semaine d'incubation pour les milieux contenant 0,1 et 0,5 % de glucose ; la quantité maximale de microorganismes n'apparaissant qu'au bout de la deuxième semaine pour le milieu contenant 0,05 % de glucose. Un tel résultat peut s'expliquer par les teneurs différentes en glucose : une forte concentration en glucose induit une multiplication rapide des microorganismes. Les fortes diminutions des bactéries après deux semaines d'incubation observées pour les milieux contenant 0,1 et 0,5 % de glucose s'expliquent par l'effet inhibiteur de métabolites bactériens et/ou par l'action de certains métaux mis en solution.

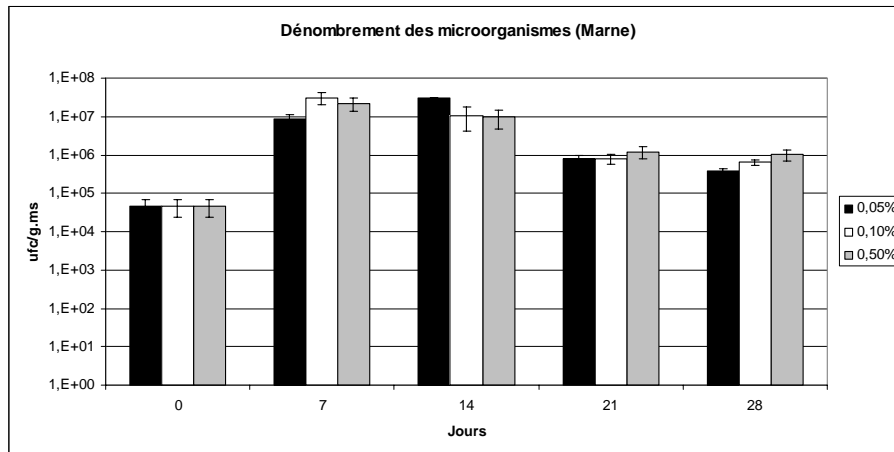


Figure 3 : Evolution du nombre de micro-organismes dans les sédiments de Marne

Concernant les sédiments de Seine (Figure 4), une forte croissance bactérienne est obtenue au bout du 7^{ème} jour pour les milieux contenant 0,5 et 0,1 % de glucose puis une très forte diminution est observée.

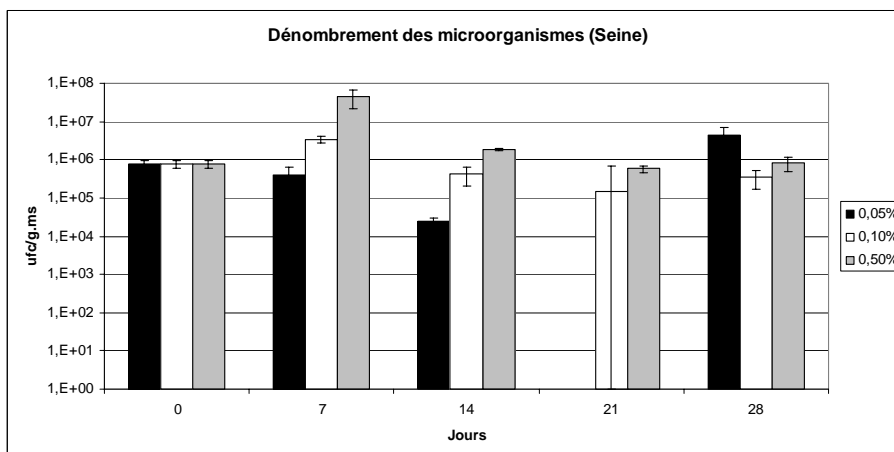


Figure 4 : Evolution du nombre de micro-organismes dans les sédiments de Seine

Le pic obtenu est plus important pour le milieu contenant la concentration la plus élevée de glucose ($4,5 \cdot 10^7$ ufc/g.ms). Pour le milieu contenant 0,05 % de glucose, la croissance bactérienne est tardive ce qui pourrait s'expliquer par un métabolisme ralenti des microorganismes autochtones en absence de concentration suffisante de sources de carbone facilement dégradables. La diminution du nombre de microorganismes observée à partir de la deuxième semaine pour les milieux contenant 0,1 et 0,5% de glucose paraît confirmer l'hypothèse de production de métabolites bactériens ou la présence d'éléments métalliques toxiques pour les bactéries entraînant leur mort. Par ailleurs, une compétition entre les bactéries avec l'apparition de nouvelles bactéries au profit d'anciennes n'est pas à exclure.

La comparaison des deux sédiments nous indique un nombre de microorganismes beaucoup plus important, après incubation, dans les sédiments de Marne que dans ceux de Seine.

3.1.3 Analyse de la diversité fonctionnelle des communautés bactériennes

Les données obtenues à partir du lecteur de plaques Biolog sont analysées de la façon suivante. Les sources de carbone contenues dans les 95 puits sont regroupées par familles : polysaccharides, amines, carbohydrates, acides organiques, acides aminés et autres (bases azotées...). Pour chaque point cinétique, la somme des activités (somme des unités d'absorbance des puits positifs

sur l'ensemble de la plaque) est calculée ainsi que la somme des activités de chaque famille de sources de carbone. La moyenne des absorbances de chaque famille est ensuite calculée. Les moyennes d'absorbance de chaque famille sont ensuite représentées sur un graphe en fonction du temps. La diversité fonctionnelle est obtenue en analysant en chaque point cinétique l'intensité de dégradation obtenue pour chaque famille : plus le nombre de familles dégradées est important et plus la diversité fonctionnelle est grande. Concernant l'activité fonctionnelle, plus l'unité d'absorbance est élevée et plus la dégradation est importante ce qui traduit une grande activité fonctionnelle.

L'analyse de la diversité fonctionnelle au cours de l'incubation dans les sédiments de Marne (milieu à 0,05 % de glucose) nous indique une modification significative dans le temps de la capacité de la communauté microbienne à dégrader certaines familles de substrat (Figure 5). On remarque cependant une dégradation des amines prépondérante tout au long de l'incubation.

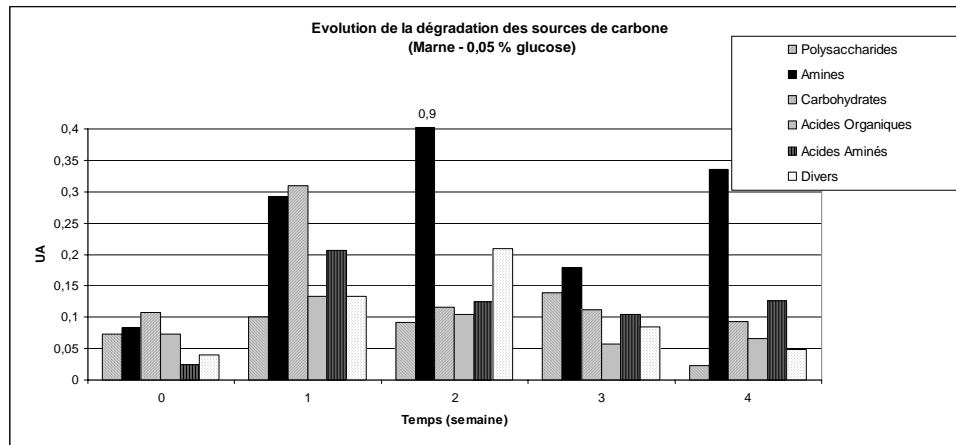


Figure 5 : Evolution de la dégradation des sources de C (Marne-0,05 % de glucose)

Les incubations des sédiments de Marne dans la solution à 0,1% de glucose (Figure 6) présentent une diversité fonctionnelle importante. On observe que durant les deux premières semaines, les polysaccharides et les carbohydrates sont dégradés alors qu'ils le sont beaucoup moins en 3^{ème} et 4^{ème} semaine. Les acides aminés sont fortement dégradés en 2^{ème} semaine alors qu'ils le sont beaucoup moins durant les autres semaines. En général, on remarque une population avec une diversité fonctionnelle beaucoup plus importante dans les sédiments où la concentration de glucose est à 0,1 % par rapport à celle à 0,05 %.

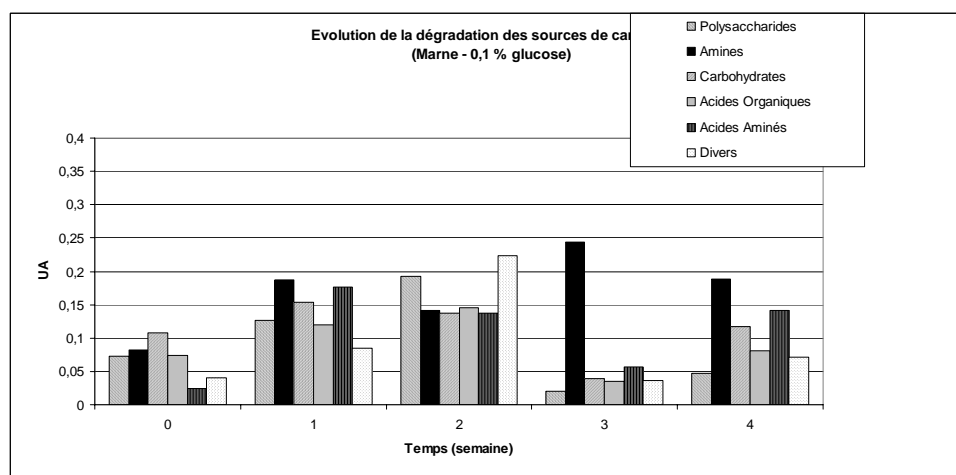


Figure 6 : Evolution de la dégradation des sources de C (Marne-0,1 % de glucose)

Une évolution de la diversité fonctionnelle est également observée au cours de l'incubation pour les sédiments de Marne en présence du milieu contenant 0,5% de glucose (Figure 7). En effet, la dégradation des amines est importante lors des deux premières semaines alors que celle des polysaccharides l'est beaucoup moins pour les mêmes périodes

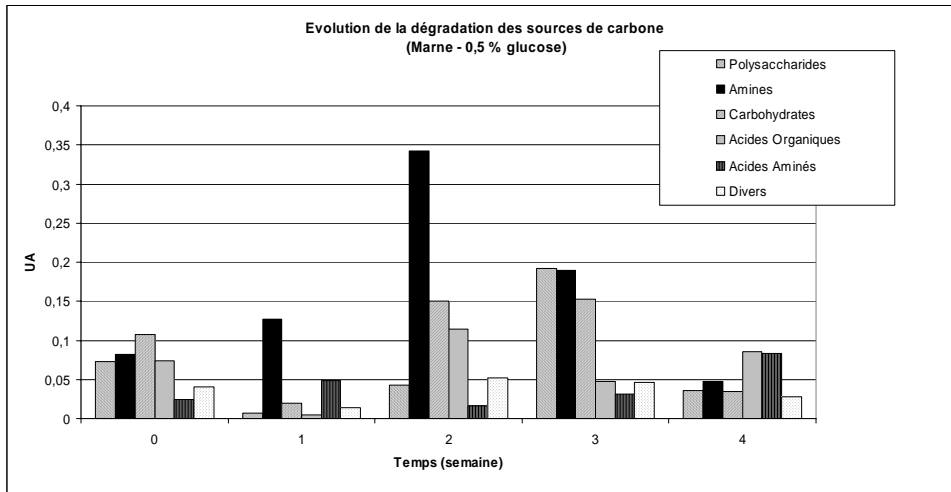


Figure 7 : Evolution de la dégradation des sources de C (Marne-0,5 % de glucose)

L'analyse nous montre une diversité fonctionnelle beaucoup plus importante dans les sédiments ayant incubés avec 0,1 % de glucose qu'avec les 0,05 et 0,5 % de glucose. On observe également, dans tous les cas, une modification des capacités métaboliques de la communauté microbienne au cours de l'incubation dans les sédiments de Marne, notamment avec l'apparition de microorganismes dégradant fortement les amines.

En ce qui concerne l'évolution de la diversité fonctionnelle dans les sédiments de Seine (glucose 0,05 % et 0,1 %), on observe que les microorganismes dégradent les amines tout au long de l'incubation (Figure 8 et Figure 9). La dégradation des autres sources de carbone évolue peu au cours de l'incubation et on observe également une faible dégradation des acides organiques.

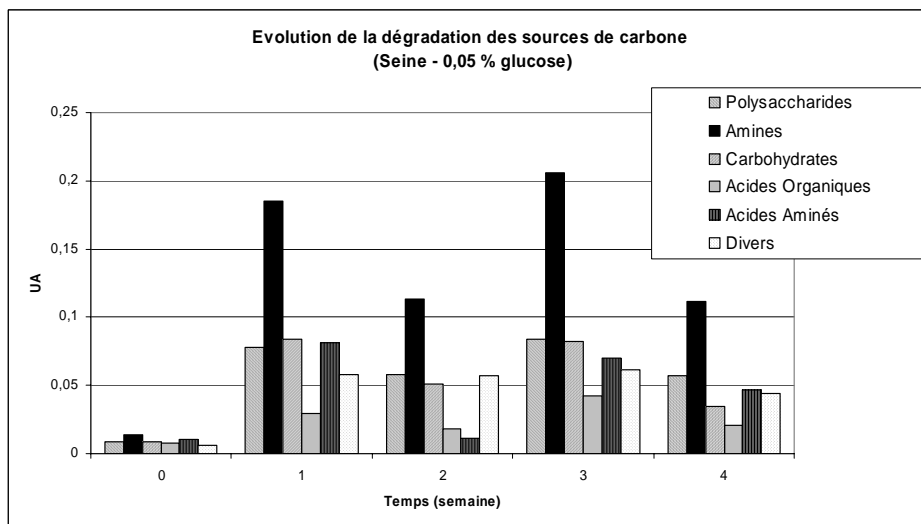


Figure 8 : Evolution de la dégradation des sources de C (Seine-0,05 % de glucose)

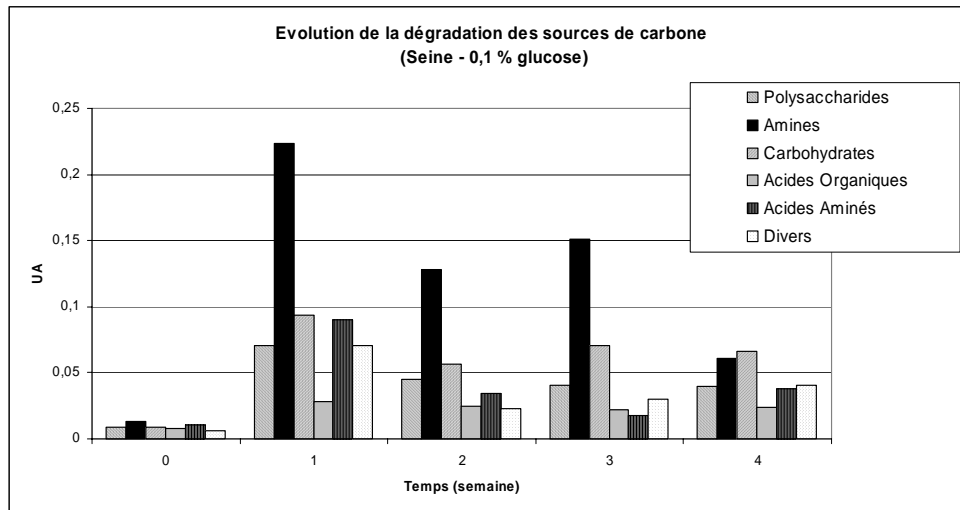


Figure 9 : Evolution de la dégradation des sources de C (Seine-0,1% de glucose)

Concernant les sédiments de Seine (0,5 % de glucose), on observe également une dégradation des amines (Figure 10). On observe une évolution croissante de la dégradation des carbohydres, des polysaccharides et des sources diverses jusqu'à la 3^{ème} semaine. Cependant, en fin d'incubation, quasiment plus aucune source de carbone n'est dégradée.

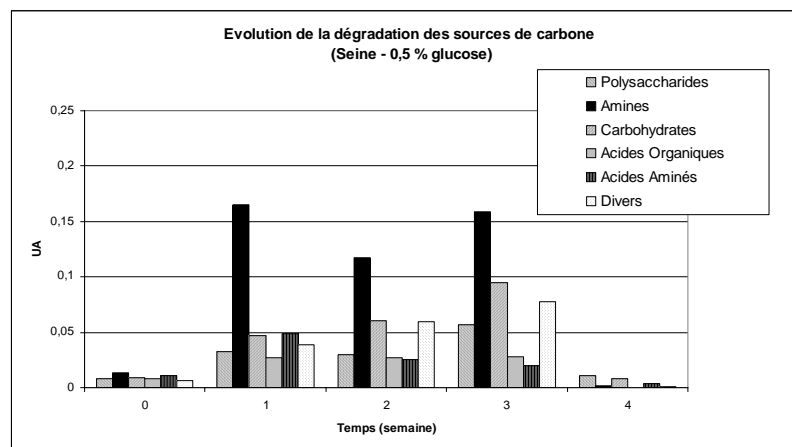


Figure 10 : Evolution de la dégradation des sources de C (Seine-0,5% de glucose)

Comme pour les microorganismes des sédiments de Marne, on observe chez les microorganismes autochtones des sédiments de Seine une capacité importante dans la dégradation des amines. La capacité à dégrader les acides organiques paraît, quant à elle, plus faible.

3.1.4 Evolution du pH

Concernant l'évolution du pH, on observe des profils similaires dans les sédiments de Seine et de Marne (Figure 11). Par ailleurs, plus la concentration de glucose est importante dans le milieu de culture et plus le pH diminue. Ainsi, pour les sédiments de Seine, le pH varie de 7,8 à 7, de 7,6 à 6 et de 7,6 à 5 pour les milieux de culture contenant respectivement 0,05, 0,1 et 0,5 % de glucose. Pour les sédiments de Marne, le pH varie de 8,4 à 7,4 (0,05 % de glucose), de 8,4 à 6,3 (0,1 % de glucose) et de 8,4 à 5,5 (0,5 % de glucose). On remarquera que le pH initial est en général plus élevé pour les sédiments de Marne ainsi que les variations du pH plus importantes que pour les sédiments de Seine en présence d'activité microbienne. De plus, dans tous les cas, on observe une nette diminution du pH durant les 3 premiers jours suivi d'une petite augmentation le 4^{ème} jour puis une nouvelle diminution pour atteindre la valeur la plus basse le 7^{ème} jour. Le pH augmente ensuite pour atteindre un palier à partir du 14^{ème} jour.

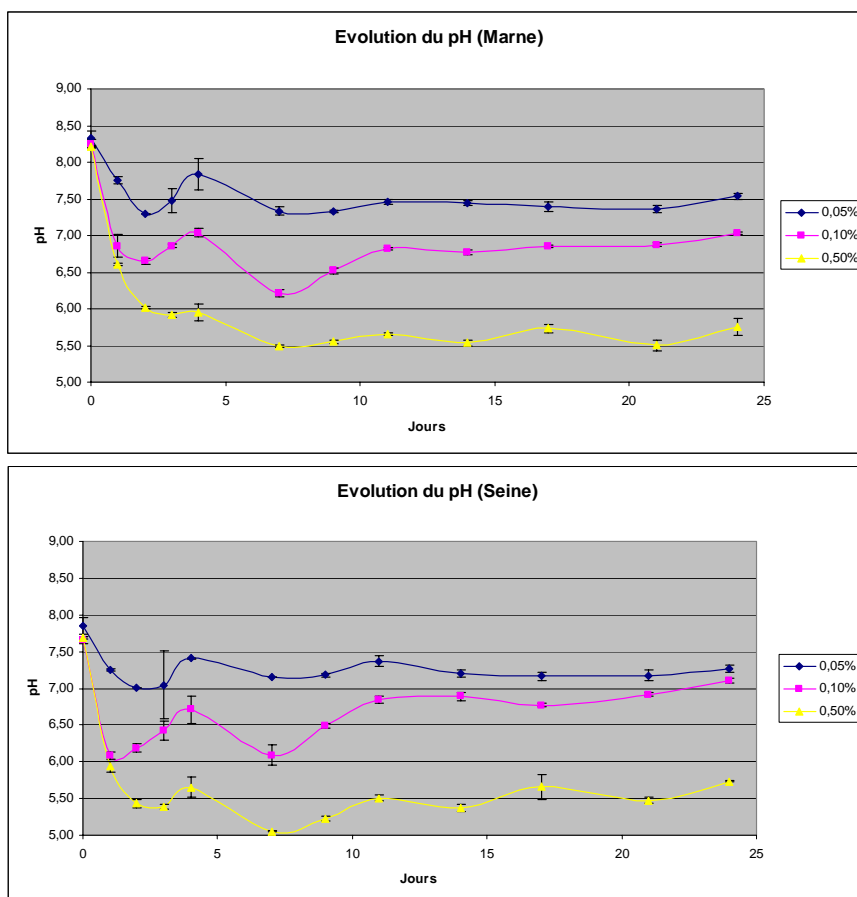


Figure 11 : Evolution du pH au cours de l'incubation des sédiments de Marne et de Seine

En comparant les variations du pH à celles du CO₂, on observe un comportement similaire entre les deux paramètres ; le pH diminuant lorsque l'activité bactérienne est importante. La production d'acides organique accompagnant le croissance bactérienne expliquant l'acidification du milieu. Ces résultats sont en accord avec ceux décrits par Fakih lors de l'étude des sédiments du site du Rouillard (Fakih, 2004). Le palier observé en fin d'incubation peut être expliqué soit par la consommation des acides organiques soit par la fixation des protons sur certaines phases du sédiment. Quoiqu'il en soit la diminution générale du pH montre que des processus fermentaires ont bien eu lieu.

3.1.5 Solubilisation du fer et du manganèse

Les concentrations de fer et de manganèse en solution augmentent durant les 7 premiers jours pour atteindre un palier et ceci jusqu'à la fin de l'incubation (Figure 12 et Figure 13). Contrairement aux résultats obtenus sur les sédiments du site du Rouillard (Fakih, 2004), aucune précipitation n'a été observée au cours de notre expérimentation. Le fait, que dans notre cas, il n'y ait pas de diminution des concentrations en fer et en manganèse sous-entendrait que les conditions sont suffisamment réductrices pour que ces deux métaux restent en solution. Par ailleurs l'analyse du fer à l'orthophénanthroline nous montre que le fer mis en solution est sous forme de Fe(II) ce qui démontre le rôle prépondérant des bactéries ferri-réductrices dans les phénomènes de solubilisation observés (résultats non présentés).

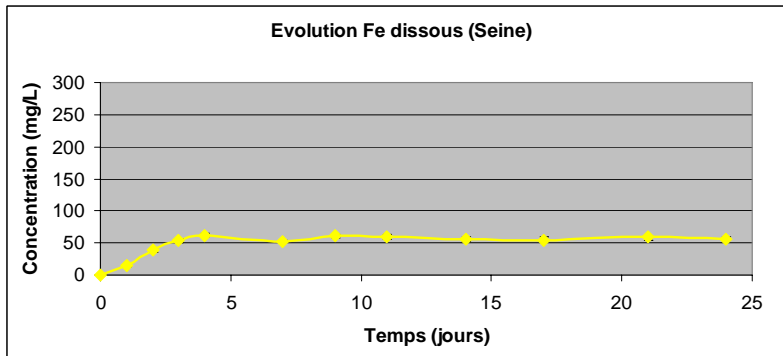
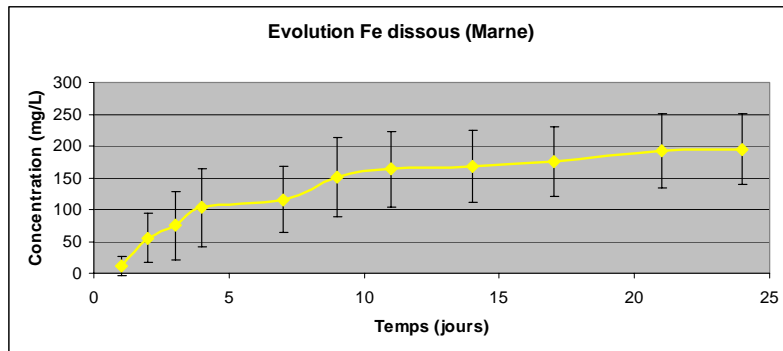


Figure 12 : Evolution de la concentration en fer dissous (Marne et Seine)

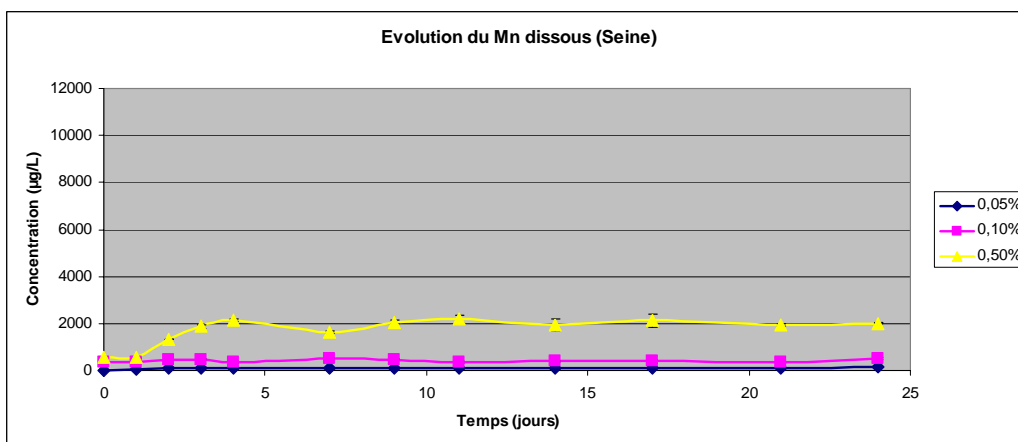
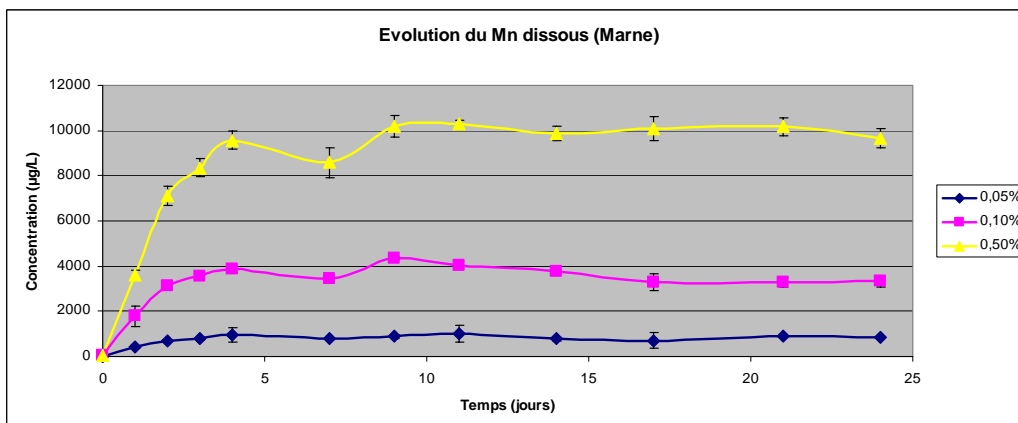


Figure 13 : Evolution de la concentration en manganèse dissous (Marne et Seine)

3.1.6 Solubilisation de l'aluminium et du zinc

Toutes les incubations contenant les sédiments de Marne (Figure 14) montrent une diminution très importante de la concentration en aluminium durant les 3 premiers jours, correspondant à une précipitation probable de l'aluminium. D'autres phases de solubilisation sont ensuite observées (troisième, neuvième, dix-septième et vingt troisièmes jours) suivies de phases de précipitations. L'évolution de la concentration d'aluminium dissous dans les sédiments de Seine (Figure 14) suit le même profil que les sédiments de Marne : 3 phases de dissolution suivies de précipitation sont observées : les dissolutions se produisant plus rapidement dans le milieu où la concentration en glucose est la plus élevée.

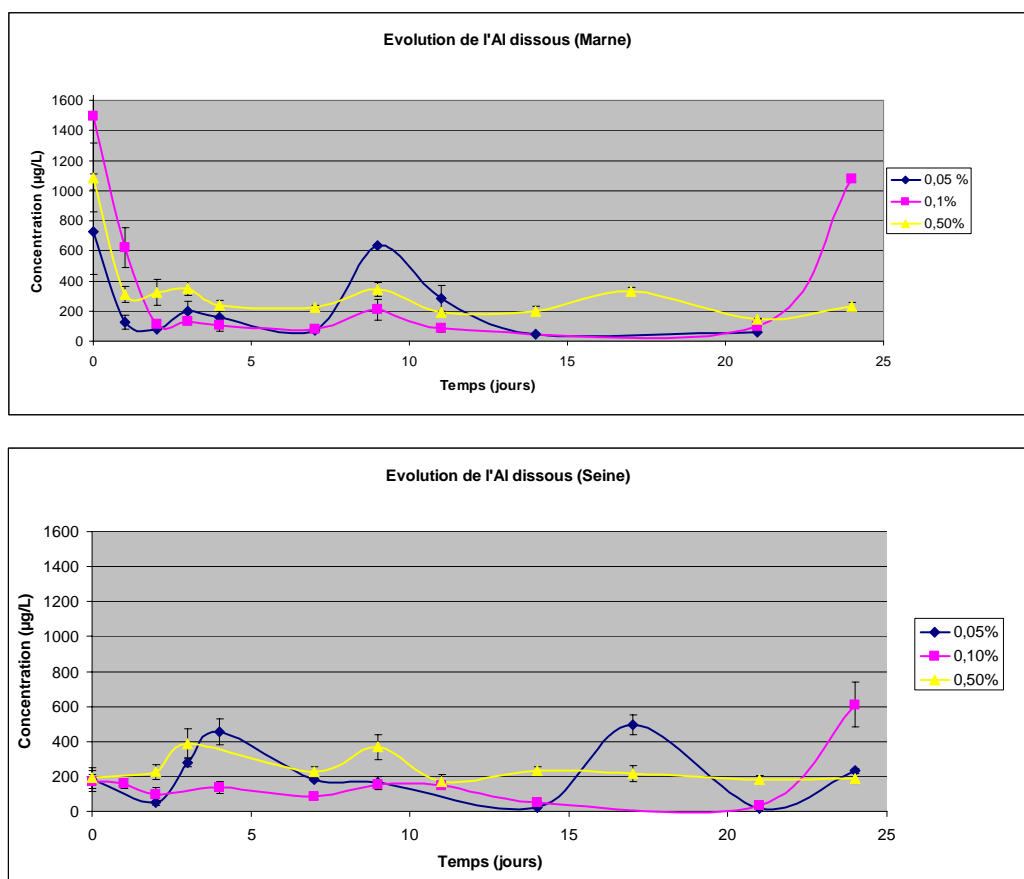


Figure 14 : Evolution de la concentration en aluminium dissous (Marne et Seine)

Les cinétiques de solubilisation du zinc montrent les mêmes tendances que celles d'aluminium et ceci quels que soient les sédiments et la concentration de glucose dans les milieux de culture (Figure 15). Une première phase de solubilisation a lieu en début d'incubation suivie d'une précipitation puis d'une re-dissolution. Une précipitation du zinc est observée jusqu'au dix-septième jour. Aluminium et zinc montrant des profils de solubilisation identiques, on peut supposer qu'ils appartiennent aux mêmes phases. Les résultats de spéciation permettront de confirmer cette hypothèse.

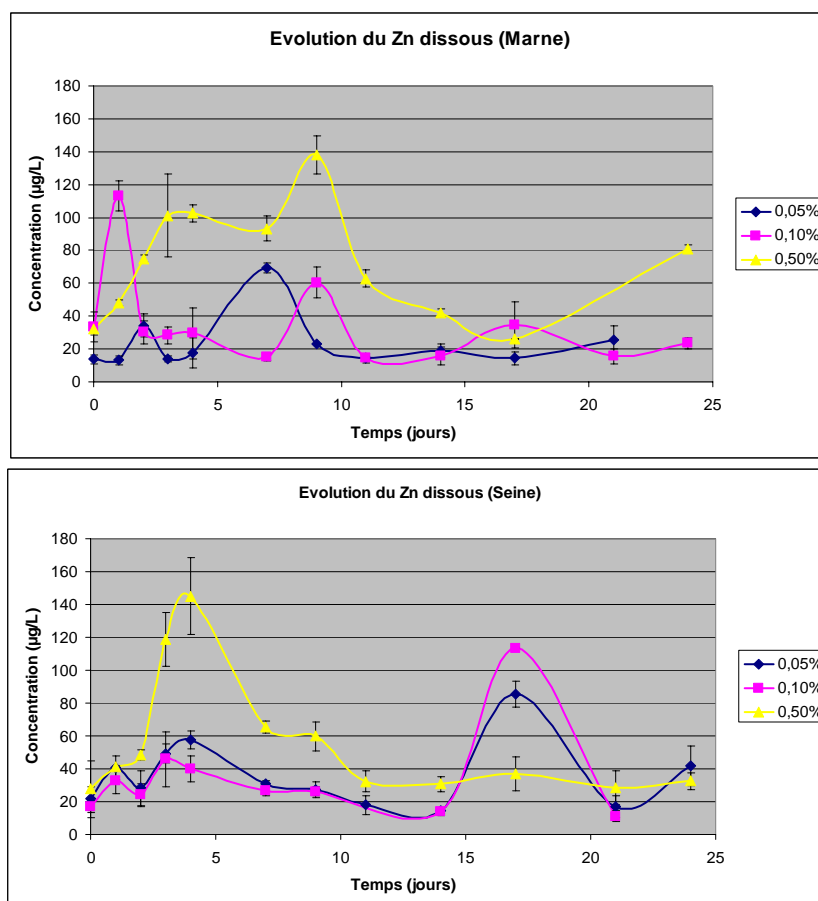


Figure 15 : Evolution de la concentration en zinc dissous (Marne et Seine)

4. Conclusions et perspectives

Notre étude a comme objectif de caractériser d'un point de vue chimique et microbiologique les sédiments prélevés en amont et en aval de l'agglomération parisienne pour détecter d'éventuelles modifications dans la communauté microbienne suite aux rejets de l'agglomération parisienne et la conséquence d'une telle modification sur l'activité bactérienne solubilisatrice des éléments traces métalliques.

Les résultats préliminaires indiquent en premier lieu une augmentation de l'activité globale bactérienne en présence d'une source de carbone facilement biodégradable (augmentation matérialisée par de fortes minéralisations du carbone) accompagnée de la solubilisation d'éléments métalliques contenus dans les sédiments. La solubilisation des métaux se poursuivant après la disparition totale du glucose suppose que la matière organique autochtone des sédiments est à son tour soumise à la biodégradation des microorganismes présents.

L'analyse de la diversité fonctionnelle par le système Biolog, nous montre une modification des capacités métaboliques des communautés microbiennes au cours des incubations. Ce phénomène observé à la fois dans les sédiments de Marne et de Seine devra être confronté aux résultats de l'étude de la diversité génétique prévue dans le cadre de cette étude. Par ailleurs, les résultats de spéciation (en cours) nous permettront d'apprécier la mobilité éventuelle des métaux dans les différents compartiments au cours de l'incubation, notamment les métaux liés aux sulfures et aux matières organiques.

Les incubations faisant l'objet de ce rapport ont été réalisées en milieu anaérobie afin de simuler les conditions observées à l'interface eau-sédiment. Il serait maintenant intéressant de réaliser le même type d'incubation en milieu aérobie afin de simuler les remises en suspension lors de phénomène de crue par exemple et la mise en place d'une activité microbienne aérobie. Cette dernière

peut être en effet à l'origine de relargage de métaux, potentiellement toxique pour l'environnement et ceci via des mécanismes d'acidification ou de complexation décrit dans la littérature. Il serait intéressant de compléter ce travail par la réalisation de tests d'écotoxicité.

5. Bibliographie

- Bousserrhine, N., Gasser, U. G., Jeanroy, E. and Berthelin, J. (1999). "Bacterial and chemical reductive dissolution of Mn-, Co-, Cr-, and Al- substituted goethites." Geomicrobiology Journal **16**(3): 245-258.
- Bousserrhine, N., Gasser, U. G., Jeanroy, E. and Berthelin, J. (1999). Comparison between bacterial and chemical dissolution of Al-substituted goethite. Incidence on mobilization of iron. Effect of mineral-organic-microorganism interactions on soil and freshwater environments. J. Berthelin, P. M. Huang, J.-M. BollagetF. Andreux, Kluwer Academic / Plenum Publishers: 378.
- Bruins, M. R., Kapil, S. and Oehme, F. W. (2000). "Microbial resistance to metals in the environment." Ecotoxicology and Environmental Safety **45**: 198-207.
- Campanella, L., D'Orazio, D., Petronio, B. M. and Pietrantonio, E. (1995). "Proposal for a metal speciation study in sediments." Analytica Chimica Acta **309**: 387-393.
- Carpentier, S. (2002). Bilans et impacts de la mise en dépôts de sédiments fluviaux urbains dans le bassin de la Seine. Créteil, Doctorat Université Paris XII-Val de Marne, spécialité STE: 210.
- Dopson, M., Baker-Austin, C., Ram Koppineedi, P. and Bond, P. L. (2003). "Growth in sulfidic mineral environments : metal resistance mechanisms in acidophilic micro-organisms." Microbiology **149**: 1959-1970.
- Facetti, J., Dekov, V. M. and Van Grieken, R. (1998). "Heavy metals in sediments from the Paraguay River : a preliminary study." The Science of the Total Environment **209**: 79-86.
- Fakih, M. (2004). Impact des facteurs biotiques et abiotiques sur la mobilisation des métaux présents dans les sédiments de dragage (site du Rouillard), Mémoire de DEA STE, Université Paris XII- Val de Marne: 46.
- Hassen, A., Saidi, N., Cherif, M. and Boudabous, A. (1998). "Resistance of environmental bacteria to heavy metals." Bioresource Technology **64**: 7-15.
- Herr, C. and Gray, N. F. (1997). "Sampling riverine sediments impacted by acid mine drainage : problems and solutions." Environmental Geology **29**(1/2): 37-45.
- Huerta-Diaz, M. A., Tessier, A. and Carignan, R. (1998). "Geochemistry of trace metals associated with reduced sulfur in freshwater sediments." Applied Geochemistry **13**: 2113-233.
- Konstantinidis, K. T., Isaacs, N., Fett, J., Simpson, S., Long, D. T. and Marsh, T. L. (2003). "Microbial diversity and resistance to copper in metal-contaminated lake sediment." Microbiol Ecology **45**: 191-202.
- Lovley, D. R. (1991). "Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction." Microbiological reviews **55**(2): 259-287.
- Lovley, D. R. (1997). "Microbial Fe(III) reduction in subsurface environments." FEMS Microbiology Reviews **20**: 305-313.
- Lovley, D. R. and Woodward, J. C. (1996). "Mechanisms for chelator stimulation of microbial Fe(III)-oxide reduction." Chemical Geology **132**: 19-24.
- Nayar, S., Goh, B. P. L. and Chou, L. M. (2004). "Environmental impact of heavy metals from dredged and resuspended sediments on phytoplankton and bacteria assessed in in situ mesocosms." Ecotoxicology and Environmental Safety **59**: 349-369.
- Nevin, K. P. and Lovley, D. R. (2002). "Mechanisms for accessing insoluble Fe(III) oxide during dissimilatory Fe(III) reduction by *Geothrix fermentans*." Applied and Environmental Microbiology **68**(5): 2294-2299.
- Seidel, H., Mattusch, J., Wennrich, R., Morgenstern, P. and Ondruschka, J. (2002). "Mobilization of Arsenic and Heavy Metals from Contaminated Sediments by Changing the Environmental Conditions." Acta Biotechnologica **22**(1-2): 153-160.
- Stephens, S. R., Alloway, B. J., Carter, J. E. and Parker, A. (2001). "Towards the characterisation of heavy metals in dredged canal sediments and an appreciation of "availability" : two examples from the UK." Environmental Pollution **113**: 395-401.

- Stephens, S. R., Alloway, B. J., Parker, A., Carter, J. E. and Hodson, M. E. (2001). "Changes in the leachability of metals from dredged canal sediments during drying and oxidation." Environmental Pollution **114**: 407-413.
- Suzuki, I. (2001). "Microbial leaching of metals from sulfide minerals." Biotechnology Advances **19**: 119-132.
- Tebo, B. M. and Obraztsova, A. Y. (1998). "Sulfate-reducing bacterium grows with Cr(VI), U(VI), Mn(IV) and Fe(III) as electron acceptors." FEMS Microbiology Ecology **162**: 193-198.
- Tokalioglu, S., Kartal, S. and Elçi, L. (2000). "Determination of heavy metals and their speciation in lake sediments by flame atomic absorption spectrometry after a four-stage sequential extraction procedure." Analytica Chimica Acta **413**: 33-40.
- Yu, K.-C., Tsai, L.-J., Chen, S.-H. and Ho, S.-T. (2001). "Chemical binding of heavy metals in anoxic river sediments." Water Research **35**(17): 4086-4094.

PIREN rapport action 433.doc