



HAL
open science

Influence de la matière organique dissoute d'origine urbaine sur la spéciation et la biodisponibilité des métaux dans les milieux récepteurs anthropisés

Zeinab Matar

► **To cite this version:**

Zeinab Matar. Influence de la matière organique dissoute d'origine urbaine sur la spéciation et la biodisponibilité des métaux dans les milieux récepteurs anthropisés. Sciences de la Terre. Université Paris-Est, 2012. Français. NNT : 2012PEST1151 . pastel-00806323

HAL Id: pastel-00806323

<https://pastel.hal.science/pastel-00806323>

Submitted on 29 Mar 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ ———
— PARIS-EST



Mémoire de thèse présenté pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ PARIS-EST

*Spécialité Sciences et Techniques de l'Environnement
Ecole Doctorale : Sciences, Ingénierie et Environnement*

**Influence de la matière organique dissoute d'origine
urbaine sur la spéciation et la biodisponibilité des
métaux dans les milieux récepteurs anthropisés**

Par

MATAR Zeinab

Thèse soutenue le 10 décembre 2012 devant le jury composé de :

Michel LEGRET
Ricardo RISO
Sophie AYRAULT
Alain BERMOND
Vincent ROCHER
Ghassan CHEBBO
Gilles VARRAULT

Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Examineur
Directeur de thèse
Co-directeur de thèse



A mes parents,

A mes sœurs,

A mon frère

REMERCIEMENTS

Approchant à grands pas après trois ans de recherche scientifique de la fin de l'aventure de mon doctorat, c'est avec un grand plaisir que je désire adresser mes plus sincères remerciements à toutes les personnes que j'ai pu côtoyer et plus particulièrement à celles qui m'ont permis de travailler dans d'aussi bonnes conditions.

Tout d'abord, je tiens à remercier mes directeurs de thèse qui m'ont fait confiance. Merci pour la grande liberté qu'ils m'ont laissée afin de réaliser ce travail, tout en restant à l'écoute et en veillant à ce que cette thèse se déroule dans de bonnes conditions.

Monsieur Ghassan Chebbo, mon directeur de thèse, qui m'a encouragée, pour ses conseils avisés et son suivi de près de cette thèse. Je tiens à lui exprimer ma plus profonde gratitude pour sa disponibilité pour répondre à mes interrogations et mes incertitudes, son enthousiasme, sa gentillesse et sa bonne humeur.

Monsieur Gilles Varrault, mon co-directeur de thèse, qui a encadré de très près ce travail. Je tiens à lui témoigner toute ma reconnaissance pour la confiance qu'il m'a accordée durant ces trois ans, pour l'expérience et l'ensemble des connaissances pluridisciplinaires que j'ai pu acquérir au cours de cette thèse, et pour m'avoir entraîné dans le sillage de son enthousiasme et de sa détermination. Qu'il trouve ici l'expression de toute ma franche et profonde gratitude et de mon amitié.

J'adresse mes remerciements à l'ensemble des membres de mon jury : Monsieur Michel Legret et Monsieur Ricardo Riso, qui m'ont fait l'honneur de bien vouloir y participer en tant que rapporteurs, ainsi que Sophie Ayrault, Alain Bermond qui ont bien voulu être les examinateurs. Je remercie Vincent Rocher d'une part pour avoir accepté d'être examinateur de ce travail mais aussi de nous avoir aidés pour l'échantillonnage des rejets urbains.

Je remercie l'ensemble des partenaires opérationnels et financiers des programmes OPUR et Piren-Seine et le Service public de l'assainissement francilien.

Je tiens à remercier les collaborateurs qui sans eux l'ensemble de ce travail n'a pu être atteint : le laboratoire de Physico Toxico Chimie de l'environnement (LPTC) de l'Unité de recherche « Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux » (EPOC) à l'Université Bordeaux 1 et l'Unité de recherche « Hydrosystèmes et bioprocédés » de l'IRSTEA anciennement Cemagref d'Antony.

Une thèse de Doctorat... Tout un rêve qui s'est concrétisé au LEESU. J'adresse mes remerciements à Monsieur Bruno Tassin, directeur du LEESU, pour m'avoir accueillie au sein de ce laboratoire et pour m'avoir permis d'y travailler dans les meilleures conditions possibles.

Je tiens à remercier la cellule technique pour sa participation active au travail expérimental de cette thèse. Un grand merci à Monsieur Mohamed Saad, pour son aide dans les analyses et pour ses conseils techniques, à Madame Lila Boudahmane pour son aide dans l'encadrement des stagiaires, dans les analyses... mais surtout pour son soutien et ses qualités humaines.

Merci beaucoup à Monsieur Alex Segor, pour ses idées promptes à résoudre les problèmes sur le terrain, son enthousiasme, sa bonne humeur et son amitié.

Je remercie Monsieur Michel Troupel qui a aidé à l'encadrement des stagiaires, car sans eux ce travail n'aurait pu s'accomplir. Je voudrais les saluer par l'ordre chronologique: Grazielle Bracmort, Kahina Kessaci, Lucie Paulic, Safa Bouhachem, Anne Bourez, Angélique Goffin et Wing-Kit Phung.

Je souhaite également remercier mes collègues du bureau de ces trois dernières années, ceux qui rendent ce parcours inoubliable : Mathieu Cladière (merci pour ton amitié !), Antoine Van de Voorde (à qui je pense également pour nos discussions, merci pour ta gentillesse !), Ali Hannouche (une pensée toute particulière à mon fidèle collègue de bureau «Monsieur le Pain» merci pour tes

encouragements quotidiens, nos discussions et nos éclats de rire !) et Katerine Lamprea (merci pour ta gentillesse et aussi bonne chance !)

Je remercie également tous les autres membres du Leesu, que se soit à Champs sur Marne ou à Créteil (dans le désordre : Catherine, Damien, Cécile, Emilie, Françoise, Johnny, Régis, Bruno et Adèle... j'espère n'oublier personne).

Je souhaite bonne chance et bonne continuation pour l'avenir à tous les doctorants du laboratoire.

Je voudrais dire merci aux secrétaires sympathiques du Leesu qui m'ont facilité toutes les démarches administratives. Merci à Catherine Charleux, pour sa bonne humeur et sa gentillesse. Merci à Madame Annick Piazza, pour être une véritable amie et même une « mère », elle a si souvent trouvé les mots justes pour m'encourager et me remonter le moral. C'était un vrai plaisir de vous côtoyer au quotidien ! Vous avez rendu mon séjour si agréable en France !

Un grand merci à tous mes compatriotes qui m'ont accompagné durant ces années pour leur encouragement et leur soutien moral... simplement pour leur amitié.

Les mots ne suffisent pas pour remercier ma sœur Fatima. Son amitié, ses encouragements et sa bonne humeur, contagieuse au quotidien, m'ont permis de mener à bien ce travail. Je lui souhaite bonne chance pour son avenir personnel et professionnel. Je suis très fière de toi Foufati !

Pour finir, c'est à mes parents, mes sœurs et mon frère que je pense. Leur amitié, leurs encouragements, leur soutien, leurs conseils judicieux et surtout leur grand amour m'ont permis de surmonter toutes sortes de difficultés. Ils ont cru en moi. Ils ont su être toujours présents malgré les distances. Et si j'ai réussi aujourd'hui c'est grâce à eux. Ce travail leur est dédié...

A vous tous...

Zeinab

RESUME

Ce travail de doctorat s'intègre dans les programmes OPUR et Piren-Seine et a eu pour vocation d'améliorer les connaissances actuelles sur l'influence des rejets urbains de temps de pluie et de temps sec sur la spéciation et la biodisponibilité des métaux dans les systèmes sous forte pression urbaine tel que la Seine. En effet l'impact des métaux traces dans le milieu récepteur sur les organismes vivants dépend surtout de leur biodisponibilité et donc de leur spéciation. Etant donnée son affinité complexante, la matière organique dissoute (MOD) joue un rôle clé sur la spéciation des métaux. Les interactions entre la MOD d'origine naturelle et les métaux traces ont été abondamment étudiées mais la MOD d'origine urbaine est elle très peu étudiée. Or, à l'aval des grandes agglomérations, les rejets urbains, en raison de leur concentration importante en matière organique dissoute (MOD) contribuent fortement au flux de matière organique dissoute dans le milieu récepteur.

La compréhension de l'influence de cette MOD d'origine urbaine sur la spéciation et la biodisponibilité des métaux suppose que l'on connaisse précisément sa composition chimique ou plus exactement la nature de ses groupements fonctionnels. C'est pourquoi une partie de ces travaux est consacrée à la caractérisation de la matière organique dissoute d'origine naturelle et urbaine. Ce travail s'est attaché également à étudier la complexation du cuivre par la MOD (notamment d'origine urbaine) afin de mieux comprendre la biogéochimie des métaux dans les cours d'eau sous forte pression urbaine et d'évaluer le rôle de la MOD sur leur biodisponibilité. La MOD contenue dans les rejets urbains de temps sec et de temps de pluie ainsi que dans le milieu récepteur (amont et aval de l'agglomération) a été étudiée en prenant en compte la variabilité temporelle.

Les résultats ont montré que la MOD issue des rejets urbains et rejetée dans le milieu récepteur présente des caractéristiques originales à savoir un fort pourcentage de MOD hydrophile, c'est à dire une faible hydrophobicité et un degré d'aromaticité peu marqué. En revanche une plus grande diversité fonctionnelle de la MOD d'origine urbaine par rapport à la MOD naturelle a été mise en évidence avec notamment une forte présence de structures protéiques. En période de basses eaux, la forte proportion de MOD hydrophile dans les rejets urbains influence sensiblement le milieu récepteur. Dans cette période où l'impact des rejets urbains est maximal en raison d'une plus faible dilution, la MOD est principalement sous forme non hydrophobe dans les cours d'eau en zone fortement urbanisée. D'ailleurs, il a été démontré une augmentation d'un facteur deux du flux de MOD, plus particulièrement pour la MOD hydrophile, en aval par rapport à l'amont de l'agglomération parisienne en période de basses eaux.

Concernant la complexation du cuivre, les résultats montrent une réactivité particulière de la MOD d'origine urbaine. Elle possède des teneurs en sites complexants plus élevées que la MOD provenant de l'amont de l'agglomération peu impacté par l'urbanisation. Cette forte affinité complexante de la

MOD des rejets urbains influence fortement la MOD du milieu récepteur en aval de l'agglomération parisienne. En termes de flux de sites complexants, la contribution des rejets de la STEP Seine-Aval est plus marquée en période de basses eaux qu'en période de hautes eaux (dilution), et plus particulièrement pour les sites d'affinité forte. Le rôle particulier des groupements azotés dans la complexation du cuivre a été mis en évidence. L'approche utilisée pour évaluer la biodisponibilité du cuivre a révélé pour l'ensemble des MOD étudiées un effet protecteur vis-à-vis du cuivre sur les organismes vivants. Une corrélation positive de cet effet avec la teneur en eaux usées a été mise en évidence, notamment pour les MOD des RUTP et plus particulièrement pour la fraction hydrophile (HPI), signalant ainsi la forte influence de la MOD d'origine urbaine sur la biodisponibilité et la toxicité du cuivre.

MOTS CLES :

Biodisponibilité, spéciation, métaux traces, cuivre, *Daphnia magna*, hydrophobe/hydrophile, matière organique dissoute, toxicité, urbain/naturel.

ABSTRACT

This work integrates into the programs OPUR and Piren-Seine and was intended to improve the current knowledge on the impact of urban discharges during wet weather and dry weather on the speciation and bioavailability of metals in systems under strong urban pressure as the Seine. Indeed, the impact of trace metals in the receiving environment on the life of microorganisms depends primarily on their bioavailability and thus their speciation. Given his binding affinity, dissolved organic matter (DOM) plays a key role in the speciation of metals. Interactions between the DOM from natural origin and trace metals have been studied extensively but the DOM from urban origin was studied very little. However, downstream of large cities, the urban discharges, due to their high concentration of dissolved organic matter (DOM), contribute significantly to the flux of dissolved organic matter in the receiving environment.

The understanding of the influence of this DOM from urban origin on the speciation and the bioavailability of metals assumes that we know precisely its chemical composition or more exactly the nature of the functional groups. This is why a part of this work focuses on the characterization of dissolved organic matter from natural and urban origin. This work was also attached to study the complexation of copper by the DOM (including urban origin) to better understand the biogeochemistry of metals in rivers under strong urban pressure and to assess the role of the DOM on their bioavailability. The DOM contained in urban discharges of dry weather and wet weather and in receiving environment (upstream and downstream of the city) has been studied considering the temporal variability.

The results showed that the DOM issue from urban discharges and rejected in the receiving environment provides original characteristics to know a high percentage of hydrophilic DOM, ie a low degree of hydrophobicity. In contrast, a larger functional diversity of DOM from urban origin versus natural origin has been highlighted with a particularly strong presence of protein structures. During periods of low flows, the high proportion of hydrophilic DOM in urban discharges significantly influences on the receiving environment. In this period the impact of urban discharges is highest due to a lower dilution, the DOM is mostly non-hydrophobic in the rivers under strong urban pressure. Moreover, it has been demonstrated an increase in the flux of DOM by a factor of two, more particularly for the hydrophilic DOM downstream compared to upstream of the Paris area during periods of low flows.

About the complexation of copper, the results show a specific reactivity of DOM from urban origin. It has contents of binding sites higher than the DOM from upstream of the city slightly affected by urbanization. This strong binding affinity of the DOM from urban discharges strongly influences the DOM in the receiving environment downstream of Paris. In terms of flux of the binding sites, the contribution of the discharges from the Seine-Aval WWTP is more pronounced during period of low

flows that in period of high flows (dilution), especially for the high affinity sites. The particular role of nitrogen groups in the complexation of copper was highlighted. The approach used to assess the bioavailability of copper revealed for all studied DOM a protective effect towards copper on the life of microorganisms. A positive correlation of this effect with the proportion of wastewater was highlighted, especially to the CSO's DOM and more particularly to the hydrophilic fraction (HPI), indicating the strong influence of the DOM from urban origin on the bioavailability and the toxicity of copper.

KEYWORDS:

Bioavailability, speciation, trace metals, copper, *Daphnia magna*, hydrophobic/hydrophilic, dissolved organic matter, toxicity, urban/natural.

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS.....	5
RESUME	7
ABSTRACT.....	9
SOMMAIRE	11
LISTE DES FIGURES.....	15
LISTE DES TABLEAUX	19
LISTE DES ANNEXES	21
LISTE DES ABREVIATIONS	23
INTRODUCTION GENERALE	25
PARTIE A : CARACTERISATION DE LA MATIERE ORGANIQUE DISSOUTE DANS LES MILIEUX RECEPTEURS AQUATIQUES SOUS FORTE PRESSION URBAINE ET DANS LES REJETS URBAINS.....	31
I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	31
I.1. REJETS URBAINS DE TEMPS SEC	31
I.2. REJETS URBAINS DE TEMPS DE PLUIE	31
I.2.1. <i>La composition des rejets urbains de temps de pluie.....</i>	<i>32</i>
I.2.2. <i>L'impact des rejets urbains de temps de pluie :</i>	<i>33</i>
I.2.2.1. La pollution organique.....	33
I.2.2.2. La désoxygénation	34
I.3. LA MATIÈRE ORGANIQUE DISSOUTE DANS LES MILIEUX AQUATIQUES.....	34
I.3.1. <i>Origines de la Matière Organique Dissoute dans les milieux aquatiques</i>	<i>35</i>
I.3.2. <i>La concentration en Carbone Organique Dissous.....</i>	<i>36</i>
I.3.3. <i>Composition de la matière organique dissoute.....</i>	<i>37</i>
I.3.3.1. Les substances humiques.....	37
I.3.3.2. Les substances non humiques.....	38
I.4. ETUDE DES PROPRIÉTÉS DE LA MATIÈRE ORGANIQUE DISSOUTE	40
I.4.1. <i>Analyse globale de la matière organique dissoute.....</i>	<i>41</i>
I.4.2. <i>Fractionnement de la matière organique dissoute.....</i>	<i>41</i>
I.4.2.1. Selon la solubilité	42
I.4.2.2. Selon la taille	42
I.4.2.3. Selon l'hydrophobicité et l'acidité	44
I.4.3. <i>Preconcentration de la MOD.....</i>	<i>44</i>
I.5. LES PROTOCOLES DE FRACTIONNEMENT DE LA MATIÈRE ORGANIQUE DISSOUTE SELON LE CRITÈRE D'HYDROPHOBICITÉ ET D'ACIDITÉ	45
I.5.1. <i>Le protocole de Thurman & Malcolm (1981)</i>	<i>45</i>
I.5.2. <i>Le protocole de Malcolm & Mac Carty (1992).....</i>	<i>46</i>
I.5.3. <i>Inconvénient de ces protocoles</i>	<i>47</i>
I.5.4. <i>Les résines échangeuses d'ions pour fractionner la MO hydrophile</i>	<i>48</i>
I.5.4.1. Structure des résines échangeuses d'ions.....	48
I.5.4.2. Principe des résines échangeuse d'ions.....	48
I.6. CARACTÉRISATION DE LA MATIÈRE ORGANIQUE DISSOUTE	49
I.6.1. <i>Analyses élémentaires</i>	<i>49</i>
I.6.1.1. Analyses élémentaires C, H, O, N, S.....	49
I.6.1.2. Analyses isotopiques du ¹³ C et du ¹⁵ N	49
I.6.2. <i>Analyses moléculaires.....</i>	<i>50</i>
I.6.3. <i>Analyses fonctionnelles.....</i>	<i>51</i>
I.6.3.1. Spectroscopie InfraRouge à Transformée de Fourier (IRTF)	51
I.6.3.2. Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire	51
I.6.3.3. Spectroscopie de fluorescence moléculaire.....	52
I.6.3.3.1. Les propriétés de fluorescence de la MOD : intensités et rapports d'intensité des bandes de fluorescence caractéristiques	54

1.6.3.2.	Les propriétés de fluorescence de la MOD : indices de fluorescence caractéristiques.....	57
1.6.3.4.	Spectroscopie d'absorption UV-visible	60
I.7.	CONCLUSIONS BIBLIOGRAPHIQUES.....	61
II.	MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	63
II.1.	PROTOCOLE DE FRACTIONNEMENT DE LA MATIÈRE ORGANIQUE DISSOUE.....	63
II.1.1.	<i>Choix des résines pour le fractionnement de la MOD</i>	64
II.1.2.	<i>Application du protocole de fractionnement</i>	65
II.1.2.1.	Étape 1 - Filtration, concentration et acidification de l'échantillon brut.....	66
II.1.2.2.	Étape 2 – Protocole de fractionnement de la MOD sur les résines ioniques et non-ioniques.....	67
II.1.2.3.	Étape 3 – Récupération des aliquotes lors du fractionnement de la MOD à travers les résines	70
II.2.	LES SITES D'ÉTUDE	71
II.2.1.	<i>Le milieu récepteur</i>	73
II.2.2.	<i>Les rejets urbains de temps de pluie</i>	76
II.2.3.	<i>Les rejets urbains de temps sec</i>	76
II.2.3.1.	Description des procédés de traitements dans les cinq stations d'épuration du SIAAP	77
II.3.	OUTILS DE CARACTÉRISATION DE LA MATIÈRE ORGANIQUE DISSOUE	79
II.3.1.	<i>Mesure du Carbone Organique Dissous (COD)</i>	79
II.3.2.	<i>Spectroscopie de fluorescence moléculaire</i>	80
II.3.3.	<i>Spectroscopie d'absorption UV-visible</i>	81
III.	RÉSULTATS ET DISCUSSIONS	83
III.1.	TESTS APPLIQUÉS AU PROTOCOLE DE FRACTIONNEMENT DE LA MOD	83
III.1.1.	<i>Les blancs de manipulations</i>	83
III.1.2.	<i>La répétabilité du protocole de fractionnement</i>	83
III.1.3.	<i>Courbes de percée des résines</i>	85
III.2.	CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES SOURCES URBAINES DE MATIÈRE ORGANIQUE DISSOUE : LES REJETS DES STATIONS D'ÉPURATION (STEP).....	86
III.2.1.	<i>Les paramètres globaux</i>	87
III.2.2.	<i>Fractionnement du COD</i>	89
III.2.3.	<i>Spectroscopie de fluorescence moléculaire</i>	92
III.2.4.	<i>Spectroscopie d'absorption UV-visible</i>	98
III.3.	CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES SOURCES URBAINES DE MATIÈRE ORGANIQUE DISSOUE : LES REJETS URBAINS DE TEMPS DE PLUIE (RUTP)	101
III.3.1.	<i>Les paramètres globaux</i>	101
III.3.2.	<i>Fractionnement du COD</i>	102
III.3.3.	<i>Spectroscopie de fluorescence moléculaire</i>	105
III.3.4.	<i>Spectroscopie d'absorption UV-visible</i>	111
III.4.	CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE DE LA MATIÈRE ORGANIQUE DISSOUE DU MILIEU RÉCEPTEUR DANS L'AGGLOMÉRATION PARISIENNE	113
III.4.1.	<i>Les paramètres globaux</i>	113
III.4.2.	<i>Fractionnement du COD</i>	117
III.4.3.	<i>Spectroscopie de fluorescence moléculaire</i>	121
III.4.4.	<i>Spectroscopie d'absorption UV-visible</i> :	131
III.5.	COMPARAISON DES PROPRIÉTÉS DE FLUORESCENCE DES DIFFÉRENTES SOURCES DE MOD	133
III.6.	COMPARAISON DES PROPRIÉTÉS D'ABSORBANCE DES DIFFÉRENTES SOURCES DE MOD.....	136
III.7.	COMPARAISON GLOBALE DES SOURCES DE MOD	137
III.8.	ESTIMATION DES FLUX DE MATIÈRE ORGANIQUE DE L'AMONT À L'AVAL DE L'AGGLOMÉRATION PARISIENNE : IMPACT DES REJETS URBAINS	139
IV.	CONCLUSION.....	145
PARTIE B : INFLUENCE DE LA MATIÈRE ORGANIQUE DISSOUE SUR LA SPÉCIATION ET LA BIODISPONIBILITÉ DES MÉTAUX.		147
I.	SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	147
I.1.	GÉNÉRALITÉS.....	147
I.2.	LES SOURCES DES ÉLÉMENTS TRACES MÉTALLIQUES DANS LES SYSTÈMES AQUATIQUES	147
I.2.1.	<i>Les sources naturelles d'éléments traces métalliques</i>	148
I.2.2.	<i>Les sources anthropiques d'éléments traces métalliques et leurs voies de transfert dans le milieu récepteur</i>	148
I.2.2.1.	Les retombées atmosphériques.....	150

I.2.2.2.	Les ruissellements en zones urbaines.....	151
I.2.2.3.	Les rejets directs dans le réseau d'assainissement.....	152
I.3.	DEVENIR DES CONTAMINANTS MÉTALLIQUES DANS L'ENVIRONNEMENT AQUATIQUE : LE ROLE DE LA SPECIATION.....	152
I.4.	CARACTÉRISATION DU RÔLE DE LA MOD SUR LA SPECIATION DES MÉTAUX TRACES.....	154
I.4.1.	<i>Interactions entre la MOD et les métaux traces : influence sur la spéciation des métaux</i>	154
I.4.1.1.	Le cas de la MOD des rejets de temps sec des stations d'épuration.....	155
I.4.1.2.	Le cas de la MOD des rejets urbains de temps de pluie.....	156
I.4.2.	<i>Analyse et modélisation des interactions entre la MOD et les métaux traces</i>	157
I.4.2.1.	Analyse des interactions entre la MOD et les métaux traces.....	157
I.4.2.2.	Modélisation des interactions entre la MOD et les métaux traces.....	160
I.5.	CARACTÉRISATION DU RÔLE DE LA MOD SUR LA BIODISPONIBILITÉ DES MÉTAUX TRACES.....	163
I.5.1.	<i>Interactions entre la mod et les métaux traces : influence sur la biodisponibilité des métaux</i>	163
I.5.2.	<i>Modélisation de la biodisponibilité des métaux traces dans les systèmes aquatiques</i>	164
I.5.2.1.	Modèle de l'ion libre.....	164
I.5.2.2.	Le biotic ligand Model (BLM).....	165
I.5.3.	<i>Détermination de la biodisponibilité à l'aide de biotests</i>	166
I.5.3.1.	Indicateurs d'effet ; toxicité aiguë et toxicité chronique.....	166
I.5.3.2.	Organismes cibles.....	167
I.5.4.	<i>Etude des interactions entre la matière organique et les métaux traces : quelle forme de la MOD doit-on étudier ?</i>	168
I.5.4.1.	La MOD brute.....	168
I.5.4.2.	La MOD fractionnée.....	168
I.6.	CONCLUSIONS BIBLIOGRAPHIQUES.....	169
II.	MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	171
II.1.	CARACTÉRISATION DU RÔLE DE LA MOD SUR LA SPÉCIATION DU CUIVRE.....	171
II.1.1.	<i>Prétraitement de la MOD par une résine chélatante</i>	171
II.1.2.	<i>Dispositif général de dosage</i>	172
II.1.3.	<i>Calibration de l'électrode spécifique</i>	174
II.1.4.	<i>Titration de la MOD et détermination des paramètres de complexation</i>	175
II.1.5.	<i>Les sites d'étude</i>	177
II.2.	BIOTEST DE TOXICITÉ.....	177
II.2.1.	<i>Conditions de culture</i>	178
II.2.2.	<i>Conditions du biotest</i>	179
II.2.3.	<i>Les sites d'étude</i>	180
III.	RÉSULTATS ET DISCUSSIONS.....	183
III.1.	INTERACTION MATIÈRE ORGANIQUE _ CUIVRE.....	183
III.1.1.	<i>Complexation du cuivre par la MOD provenant des rejets urbains de temps sec</i>	186
III.1.1.1.	Paramètres de complexation pour les échantillons non fractionnés.....	186
III.1.1.2.	Paramètres de complexation pour les échantillons fractionnés.....	190
III.1.2.	<i>Complexation du cuivre par la MOD provenant des rejets urbains de temps de pluie</i>	194
III.1.2.1.	Paramètres de complexation pour les échantillons non fractionnés.....	194
III.1.2.2.	Paramètres de complexation pour les échantillons fractionnés.....	195
III.1.3.	<i>Complexation du cuivre par la MOD provenant du Milieu Récepteur</i>	200
III.1.3.1.	Variations temporelles de l'affinité complexante de la MOD.....	200
III.1.3.2.	Variations spatiales de l'affinité complexante de la MOD.....	204
III.1.4.	<i>Ratio des sites complexants S₁ et S₂ des différents types de MOD étudiés</i>	211
III.1.5.	<i>Affinité et capacité des MOD étudiées</i>	213
III.1.6.	<i>Comparaison des paramètres de complexation des différents types de MOD</i>	213
III.1.6.1.	Pourcentage du flux de sites complexants à l'aval de l'agglomération provenant de la STEP Seine-Aval.....	218
III.2.	EVALUATION DU RÔLE DE LA MOD SUR LA BIODISPONIBILITÉ DU CUIVRE.....	219
III.2.1.	<i>Evaluation du rôle de la MOD sur la biodisponibilité du cuivre : le cas des échantillons non fractionnés</i>	220
III.2.2.	<i>Evaluation du rôle de la MOD sur la biodisponibilité du cuivre : le cas des échantillons fractionnés</i>	222
IV.	CONCLUSION.....	225
	CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET PERSPECTIVES.....	227

ANNEXES	233
REFERENCES	235

LISTE DES FIGURES

Figure 1: La procédure de fractionnement de la MOD selon le protocole de Thurman et Malcolm (1981).....	46
Figure 2: Procédure de fractionnement de la MOD selon le protocole de Malcolm et MacCarthy.....	47
Figure 3. Spectre de fluorescence 3D d'un échantillon et sa projection dans le plan.....	56
Figure 4. Spectre d'émission schématique pour une excitation à 254 nm permettant le calcul de l'indice HIX (adapté de (Zsolnay <i>et al.</i> , 1999)).	57
Figure 5. Spectre d'émission schématique pour une excitation à 310nm montrant les deux pics des fluorophores α et β	59
Figure 6. Transitions électroniques entre orbitales moléculaires.....	60
Figure 7: Schéma du protocole de fractionnement de la Matière Organique Dissoute MOD .	66
Figure 8: Photo du montage (à gauche), un zoom sur le robinet (à droite).....	71
Figure 9: Schéma général des types de sites étudiés de l'amont à l'aval de l'agglomération parisienne.	72
Figure 10: Photos des ponts desservis pour l'échantillonnage sur les quatre sites du Milieu Récepteur.....	75
Figure 11: Schéma de montage simplifié de l'analyseur de carbone Shimadzu, modèle TOC-V CSN (Petit-Jean <i>et al.</i> , 2004).....	79
Figure 12: Test de la répétabilité du fractionnement de la MOD pour différents échantillons.	84
Figure 13: Pourcentages de COD retenus sur l'ensemble des résines en fonction de V_p/V_r lors d'un fractionnement de la MOD (STEP Seine-Aval).	86
Figure 14: Concentration en COD dans les rejets traités des cinq stations d'épuration du SIAAP.	88
Figure 15: Répartition du COD selon les différentes fractions (haut) et les sous-fractions hydrophiles (bas) pour les effluents de stations d'épuration prélevés pendant l'année 2011. .	90
Figure 16: Répartition du COD selon les différentes fractions organiques des effluents de la STEP Seine-Aval.....	91
Figure 17: Intensités de fluorescence normalisées par rapport à la teneur en COD des échantillons non fractionnés des stations d'épuration du SIAAP.....	93
Figure 18. Rapports d'intensité déterminés pour les échantillons non fractionnés des cinq stations d'épuration du SIAAP.....	93
Figure 19: Indices de fluorescence HIX et BIX déterminés pour les échantillons non fractionnés de chaque station d'épuration.	94
Figure 20 : Projections dans le plan des spectres de fluorescence 3D de l'échantillon non fractionné (MOD) et des échantillons prélevés en sortie des résines DAX-8 (MOD-HPO) et XAD-4 (HPI) lors du fractionnement de la MOD des rejets de deux stations d'épuration.	96
Figure 21 : Variation des intensités de fluorescence normalisées par rapport à la teneur en COD au cours de fractionnement de la MOD provenant des échantillons de deux stations d'épuration.	96
Figure 22 : Les rapports d'intensité déterminés au cours de fractionnement de la MOD des échantillons provenant des deux stations d'épuration Seine-Aval et Seine-Centre.	97
Figure 23: Les indices de fluorescence obtenus au cours de fractionnement de la MOD des échantillons de deux stations d'épuration.	98
Figure 24. Absorbance Spécifique UV-visible des échantillons provenant des rejets de STEP Seine Amont et Seine Centre.	99

Figure 25: Pourcentages d'aromaticité et indice SUVA observés dans les échantillons non fractionnés de cinq STEP (en haut) et au cours du fractionnement de la MOD pour deux STEP (en bas).	100
Figure 26: Répartition du COD selon les différentes fractions organiques (haut) et les sous-fractions hydrophiles (bas) pour les neuf rejets urbains de temps de pluie échantillonnés en 2010-2011.....	103
Figure 27: Répartition du COD selon les fractions hydrophobe et hydrophile dans les neuf RUTP en fonction de la concentration en COD.....	104
Figure 28: Relation entre le pourcentage d'eaux usées avec la concentration en carbone organique dissous et la fraction hydrophile.....	105
Figure 29: Les intensités de fluorescence normalisées par rapport à la teneur en COD pour les échantillons non fractionnés provenant de cinq déversements d'orage de temps de pluie.....	106
Figure 30: Corrélation des intensités normalisées des bandes avec le % d'eaux usées (gauche) et la concentration en COD (droite).....	107
Figure 31: Rapports d'intensité obtenus pour les échantillons non fractionnés provenant de cinq déversements d'orage.....	107
Figure 32: Indices de fluorescence pour les échantillons non fractionnés provenant de cinq déversements d'orage en 2010-2011.	108
Figure 33 : Projections dans le plan des spectres de fluorescence 3D de l'échantillon non fractionné (MOD) et des échantillons prélevés en sortie des résines DAX-8 (MOD-HPO) et XAD-4 (HPI) lors du fractionnement de la MOD des cinq RUTP.	109
Figure 34 : La variation de l'intensité de fluorescence déterminée au cours de fractionnement de la MOD provenant des cinq échantillons des rejets urbains de temps de pluie.	110
Figure 35 : Les rapports des intensités de fluorescence obtenus au cours de fractionnement de la MOD des cinq déversements des rejets urbains de temps de pluie.....	110
Figure 36 : Variation des indices de fluorescence HIX et BIX obtenus au cours de fractionnement de la MOD des cinq déversements des rejets urbains de temps de pluie.....	111
Figure 37: Pourcentages d'aromaticité et indices SUVA observés dans les échantillons non fractionnés (en haut) et au cours de fractionnement (en bas) des cinq RUTP.	112
Figure 38: Débits pour les cinq sites lors des campagnes de prélèvement.	114
Figure 39: Variations des teneurs en COD au cours de l'année 2010-2011 de quatre sites. .	115
Figure 40: Différence de concentrations de COD entre l'aval et l'amont de l'agglomération parisienne en fonction du % du débit de la STEP par rapport à celui d'Austerlitz.	117
Figure 41: Répartition du COD selon les différentes fractions organiques pour les eaux de surface en amont et en aval de l'agglomération parisienne lors des neuf campagnes effectuées en 2010-2011.....	118
Figure 42: Corrélation entre les flux de MO déterminés dans les quatre sites et le débit des trois campagnes (oct-10, nov-10, et janvier-11).	120
Figure 43: Répartition du COD selon les différentes fractions hydrophiles pour les eaux de surface lors des neuf campagnes effectuées pendant l'année 2010-2011.	121
Figure 44 : Projections dans le plan des spectres de fluorescence 3D de cinq campagnes effectués sur trois sites du MR.	123
Figure 45 : Variabilité spatio-temporelle des intensités de fluorescence normalisées par rapport à la teneur en COD dans le milieu récepteur.	124
Figure 46: Rapports d'intensité obtenus pour les échantillons du milieu récepteur lors des cinq campagnes d'échantillonnage.	125
Figure 47: Les indices de fluorescence pour les échantillons du milieu récepteur lors des cinq campagnes d'échantillonnage.	127

Figure 48 : Projections dans le plan des spectres de fluorescence 3D de l'échantillon non fractionné (MOD) et des échantillons prélevés en sortie des résines DAX-8 (MOD-HPO) et XAD-4 (HPI) lors du fractionnement de la MOD de deux sites du milieu récepteur.....	128
Figure 49 : Variation des intensités de fluorescence normalisées par rapport à la teneur en COD au cours du fractionnement de la MOD de deux sites du milieu récepteur.....	129
Figure 50: Rapports d'intensité obtenus au cours du fractionnement de la MOD de deux sites étudiés de MR pour la campagne d'avril 2011.	130
Figure 51: Les indices de fluorescence obtenus au cours de fractionnement de la MOD de deux sites étudiés du MR.	131
Figure 52: Les pourcentages d'aromaticité et d'indice SUVA observés au cours d'une variation spatio-temporelle de MOD non fractionnées provenant du MR (en haut) et au cours de fractionnement de MO échantillonnées de deux sites amont et aval pendant la campagne d'avril 2011 (en bas).	132
Figure 53: Variation des intensités de fluorescence des différentes sources de MOD.	135
Figure 54: Variation du rapport d'intensité $I\gamma/I\alpha$ et de l'indice de fluorescence HIX de l'amont à l'aval de l'agglomération parisienne.....	135
Figure 55: Variation du COD et de l'intensité de la bande de fluorescence γ en fonction de %de débit de la Seine à Andrésy provenant de la STEP Seine-Aval.	136
Figure 56: Les pourcentages d'aromaticité et d'indice SUVA obtenus de l'amont à l'aval de l'agglomération parisienne.	137
Figure 57: ACP basée sur la distribution de différents paramètres selon les sources de la MOD.....	138
Figure 58: Comparaison du flux de carbone organique provenant de l'amont avec celui déterminé en aval de l'agglomération parisienne en fonction de la période de l'année (hautes eaux en haut, basses eaux en bas).	141
Figure 59: Pourcentage du flux de MO à l'aval de l'agglomération parisienne (Andrésy) provenant de la STEP Seine-Aval et débit de la Seine à Austerlitz.	143
Figure 60: Voies de transfert des métaux résultant des activités humaines.....	149
Figure 61: Formes chimiques d'un métal dans un milieu aquatique et leurs réactions dans le système (repris de (Buffle, 1988), « Complexation Reaction in Aquatic Systems »).....	154
Figure 62: Principe des mesures chronopotentiométriques (Jagner, 1983).	159
Figure 63: Distributions discrète (6 sites) et continue (bimodales).	163
Figure 64: Mécanismes pris en compte dans le modèle du ligand biotique, Janssen et al. (2003).	166
Figure 65: Photographie du système de titration utilisé pour l'étude de la complexation du cuivre.	172
Figure 66: <i>Daphnia Magna</i> (Strauss).	178
Figure 67: Cultures de daphnies.....	179
Figure 68: Représentation d'une courbe de titration d'un échantillon de MOD de la STEP Seine-Aval.....	183
Figure 69: Représentation du cuivre lié à la MOD de la STEP Seine-Aval en fonction du cuivre libre : Comparaison entre les données expérimentales et modélisées par l'ajustement non linéaire.....	184
Figure 70: Corrélation entre les teneurs en sites complexants et le pourcentage des fractions organiques HPO et HPI.	188
Figure 71: Concentrations en sites complexants exprimées en mol/l d'échantillon pour les cinq rejets de STEP.	190
Figure 72: Variation temporelle des teneurs en sites d'affinité faible dans les MOD provenant du milieu récepteur (exprimé en mol/l en haut, et en mol/kg de carbone en bas).....	206

Figure 73: Variation temporelle des teneurs en sites d'affinité forte dans les MOD provenant du milieu récepteur (exprimé en mol/l en haut, et en mol/kg de carbone en bas).....	207
Figure 74: La variation du ratio S_1/S_2 en fonction de l'aromaticité (a) et en fonction de l'intensité de la bande γ normalisé par rapport à la teneur en carbone (b).....	208
Figure 75: Variation temporelle des constantes de complexation des MOD provenant du milieu récepteur (constante d'affinité faible en haut et d'affinité forte en bas).	209
Figure 76: Ratio S_1/S_2 des MOD provenant des différentes origines.	211
Figure 77: Ratio S_1/S_2 des fractions organiques provenant des rejets urbains.....	212
Figure 78: Distribution des teneurs en sites complexants pour le cuivre en fonction de Log K (à gauche pour le milieu récepteur ; à droite pour les rejets urbains).	213
Figure 79 : Distribution des capacités complexantes des MOD des différentes sources en fonction de la période de l'année (en haut: sites d'affinité faible S_1 , en bas: sites d'affinité forte S_2).	217
Figure 80: Variation temporelle du pourcentage du flux de sites complexants à l'aval de l'agglomération provenant de la STEP Seine-Aval	219
Figure 81: Courbes doses-réponses du cuivre exprimées en cuivre total pour la matrice inorganique et organique et en cuivre libre pour la matrice organique.....	220
Figure 82: EC50 exprimées en cuivre total et en cuivre libre (ISE) pour chaque MOD étudiée et pour la matrice inorganique.....	221
Figure 83: EC50 exprimées en cuivre total des différentes fractions obtenues en sortie de résine au cours du fractionnement de la MOD contenue dans les RUTP et dans les rejets de temps sec STEP.	223
Figure 84: Corrélation entre le SUVA et les EC50 _{tot} ($\mu\text{g/L}$) déterminées pour les différentes sources de MOD étudiées.....	224
Figure 85: Exemple de courbe obtenue pour la calibration de l'électrode ionique sélective cuivre.....	234

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Liste des principaux constituants de la MOD répertoriés dans la littérature (adapté de (Tipping <i>et al.</i> , 2002)).	40
Tableau 2: Fluorophores majeurs de la MOD d'après (Coble, 1996; Hudson <i>et al.</i> , 2007; Parlanti <i>et al.</i> , 2002).	54
Tableau 3: Origines et caractéristiques de la MOD associées aux gammes de valeurs obtenues pour le rapport I_y / I_α	56
Tableau 4: Origines et caractéristiques de la MOD associées aux gammes de valeurs obtenues pour l'indice HIX (Vacher, 2004a).	58
Tableau 5: Origines et caractéristiques de la MOD associées aux gammes de valeurs obtenues pour l'indice BIX.	60
Tableau 6: Comparaison des densités de population entre les villes de l'agglomération parisienne.	75
Tableau 7: Coefficients de variation observés pour chaque fraction organique lors de l'étude de la répétabilité du protocole de fractionnement de la MOD.	85
Tableau 8: Paramètres globaux pour les échantillons de rejets de stations d'épuration pour les sept campagnes effectuées durant l'année 2011.	87
Tableau 9: Bilan d'exploitation de cinq stations de traitements dans l'agglomération parisienne.	88
Tableau 10: Les paramètres globaux de neuf événements de temps de pluie issus de déversoir d'orage de Clichy durant l'année 2010-2011.	102
Tableau 11: Paramètres globaux des échantillons étudiés dans le milieu récepteur.	114
Tableau 12: Coefficients de corrélation entre les différents paramètres de la MOD: polarité, Spectrofluorescence et Absorbance.	139
Tableau 13: Sources industrielles et agricoles des métaux présents dans l'environnement.	149
Tableau 14: Composition chimique de l'eau Volvic.	179
Tableau 15: Matrices des tests écotoxicologiques et concentrations en cuivre total testées.	180
Tableau 16: Paramètres de complexation déterminés en triplicat pour l'échantillon de référence SRFA.	185
Tableau 17: Paramètres de complexation de MOD décontaminée ou non par la résine chélatante (échantillons provenant de la STEP Seine-Aval SAV).	186
Tableau 18: Variation temporelle des teneurs en sites complexants pour les effluents de la STEP Seine-Aval.	188
Tableau 19: Comparaison des paramètres de complexation entre les différentes STEP.	190
Tableau 20: Paramètres de complexation déterminés au cours de fractionnement de la MOD provenant de la STEP Seine-Aval (haut: avril-11, bas: juin-11).	193
Tableau 21: Teneur en sites complexants exprimée en mol par kg de carbone de chaque fraction organique de la MOD provenant des effluents de la STEP Seine-Aval.	193
Tableau 22: Pourcentage en sites complexants de chaque fraction organique (en haut) et des sous-fractions hydrophiles (en bas) de la MOD provenant des effluents de la STEP Seine-Aval.	194
Tableau 23: Paramètres de complexation de MOD provenant des RUTP (haut) et leurs caractéristiques (bas).	195
Tableau 24: Paramètres de complexation déterminés au cours de fractionnement de la MOD provenant des RUTP (6-juin-11, 20-juin-11 et 4-nov-11, respectivement de haut en bas).	198
Tableau 25: Teneur en sites complexants exprimée en mol par kg de carbone de chaque fraction organique de la MOD provenant des rejets urbains de temps de pluie (RUTP).	199

Tableau 26: Pourcentage en sites complexants de chaque fraction organique (en haut) et des sous-fractions hydrophiles (en bas) de la MOD provenant des RUTP.	200
Tableau 27: Suivi de la variation temporelle des paramètres de complexation de la MOD prélevée à Ussy-sur-Marne (concentrations et teneurs en sites exprimé en mol/l et en mol/kg).	209
Tableau 28: Suivi de la variation temporelle des paramètres de complexation de la MOD prélevée à Fontaine-le-port (concentrations et teneurs en sites exprimé en mol/l et en mol/kg).	210
Tableau 29: Suivi de la variation temporelle des paramètres de complexation de la MOD prélevée à Andrésy (concentrations et teneurs en sites exprimé en mol/l et en mol/kg).	210
Tableau 30: Suivi de la variation temporelle des paramètres de complexation de la MOD prélevée à Conflans-fin d'Oise (concentrations et teneurs en sites exprimé en mol/l et en mol/kg).	210
Tableau 31: Comparaison d'affinité et de capacité des MOD de différentes sources (en haut: période de basses eaux, en bas: période de hautes eaux).	215

LISTE DES ANNEXES

<i>Annexe 1: La filière de traitement biologique : Les Biostyrs</i>	233
<i>Annexe 2: La filière de traitement biologique : Les Biolests</i>	233
<i>Annexe 3: Calibration de l'électrode ionique sélective</i>	234

LISTE DES ABREVIATIONS

AF : Acide Fulvique
AH: Acide Humique
BIX: Indice relative au fluorophore β
BLM: Biotic Ligand Model
COD : Carbone Organique Dissous
COP : Carbone Organique Particulaire
DCE : Directive Cadre Européenne
DGT : Diffusive Gradient in Thin film
EC50 : concentration toxique immobilisant 50 % de la population
EC50tot : EC50 exprimée en cuivre total
EC50lib : EC50 exprimée en cuivre libre
ESI: Electrode spécifique ionique (ISE)
FIAM: Free Ion Activity Model
GSIM: Gill Surface Interaction Model
HAP : Hydrocarbures Aromatique Polycyclique
HIX : Indice d'Humification
HPI: Hydrophile
HPI-A: Hydrophile Acide
HPI-B : Hydrophile Basique
HPI-N : Hydrophile Neutre
HPI_T: Fraction hydrophile totale
HPI_{A+N} : Fractions hydrophiles acides et neutres
HPO: Hydrophobe
HPSEC: High Performance Size Exclusion Chromatography
ICP-MS: Inductive Coupled Plasma – Mass Spectrometry
IHSS : International Substances Society
IRTF : InfraRouge à Transformées de Fourier (IRTF)
LC50 : concentration toxique à laquelle 50% de la population meurent
MAV : station d'épuration Marne- AVal
MES : Matières En Suspension
MO : Matière Organique
MOD : Matière Organique Dissoute
MOP : Matière Organique Particulaire
PFA : PerFluorAlkoxyéthylène

PE : polyéthylène
PP : PolyPropylène
PTFE : PolyTetraFluoroEthylène
Pyrolyse-CG-SM: Pyrolyse associée à la Chromatographie en phase Gazeuse et à la Spectrométrie de masse
RMN : Résonance Magnétique Nucléaire
RUTP : Rejets Urbains de Temps de Pluie
SAM : station d'épuration Seine- AMont
SAV : station d'épuration Seine- AVal
SEC : station d'épuration SEine-Centre
SEG : station d'épuration SEine- Grésillons
SH : Substances Humiques
SIAAP : Service public de l'assainissement francilien
SNH : Substances Non Humiques
SRFA : Suwannee River Fulvic Acid
STEP: STation d'EPuration
SUVA : Specific Ultra-Violet Absorbance
TPI : Transphilique
UV : Ultra-Violet

INTRODUCTION GENERALE

La Directive Cadre Européenne sur l'Eau du 23 octobre 2000 impose aux pays membres d'améliorer l'état écologique des cours d'eau. La première étape de ce travail a consisté à faire le bilan de l'état des cours d'eaux et à définir l'objectif de bon état écologique en termes de variables physiques, chimiques et biologiques. L'amélioration de l'état des cours d'eau fixée dans la Directive passe par l'élaboration de programmes de réduction des rejets, qui nécessitent de définir de normes de concentrations et/ou de flux de polluants rejetés adaptées à la sensibilité du milieu aquatique récepteur. Dans ce but, il est fondamental de connaître l'impact des rejets à court et long termes sur le milieu.

Des efforts importants ont été faits pour l'étude de la contamination de l'écosystème aquatique par la charge organique et les éléments majeurs (phosphates, nitrates) (par exemple (Meybeck, 1998; Tusseau-Vuillemin, 1998). Le devenir et l'impact de ces substances dans le milieu aquatique sont aujourd'hui relativement bien compris, et les efforts de limitation des apports au milieu par la réduction des sources et le traitement des effluents bien avancés. En revanche, la contamination des milieux par les micropolluants reste moins bien appréhendée. Les micropolluants sont des espèces présentes à l'état de trace (du ng/L au µg/L dans le milieu) mais qui sont susceptibles d'avoir une action toxique forte pour les organismes. On distingue deux types de micropolluants :

- les éléments métalliques, dont certains sont essentiels à l'organisme en faibles doses et toxiques en plus grande quantité (Zn, Fe, Cu), et d'autres sont complètement étrangers aux organismes et toxiques à de très faibles concentrations (Pb, Hg...).
- Les micropolluants organiques : Cet ensemble est constitué de molécules très diverses et est en constante évolution (une nouvelle molécule organique toutes les 30 secondes). Une grande partie des polluants organiques est persistante dans l'environnement et fortement bioaccumulable dans les cellules lipidiques des organismes (Jones and de Voogt, 1999).

Dans le cadre de la Directive Cadre Européenne sur l'eau, une liste de trente-deux substances prioritaires « présentant un risque significatif pour ou via l'environnement aquatique » a été établie. Pour l'ensemble de ces molécules, des objectifs de réduction et d'élimination des rejets et des concentrations environnementales doivent être prises. Ce travail passe par l'acquisition de connaissances concernant leur devenir et leur potentiel toxique dans l'environnement.

La toxicité aiguë des micropolluants est souvent connue depuis longtemps grâce à des essais de laboratoire normalisés et aujourd'hui rendus obligatoires pour la mise sur le marché de nouvelles substances. L'impact sur le milieu de ces produits dispersés dans l'écosystème est en revanche

beaucoup plus difficile à appréhender. D'une part, les très faibles teneurs les rendent difficiles à détecter et ne conduisent pas à des effets toxiques aigus « spectaculaires » (au contraire d'une désoxygénation, d'une eutrophisation ou d'une pollution accidentelle par exemple). D'autre part, les organismes du milieu subissent une exposition prolongée à de faibles doses qui est susceptible d'engendrer des effets chroniques irrémédiables, difficilement observables rapidement, et surtout plus difficiles à relier aux concentrations en polluants dans le milieu.

La biodisponibilité désigne « la fraction de produit chimique présent dans le milieu environnemental qui est disponible pour être accumulée par les organismes ». Dans le milieu récepteur, des mécanismes physiques, chimiques et biologiques interagissent et transforment les contaminants en des formes plus ou moins biodisponibles pour les organismes de l'écosystème. Les concentrations totales ne reflètent donc que partiellement le risque lié à un contaminant, la biodisponibilité étant très étroitement liée aux caractéristiques de l'environnement (Hamelink *et al.*, 1994; Tessier and Turner, 1995). L'évaluation de l'impact d'un contaminant sur le milieu nécessite l'estimation des concentrations biodisponibles et des facteurs environnementaux qui les affectent. Parmi les différents paramètres physicochimiques susceptibles d'influencer la biodisponibilité des métaux, la concentration et la nature de la matière organique dissoute sont sans aucun doute parmi les paramètres les plus importants.

Les milieux aquatiques contiennent par ailleurs des matières organiques (MO) d'origines très variées. Le terme « matière organique » regroupe l'ensemble des composés carbonés issus de la biogénèse. Elle est constituée de molécules très diverses, souvent polymérisées et agrégées. La MO Dissoute (MOD) est opérationnellement distinguée de la MO Particulaire (MOP) par une filtration à 0,45 µm. La MOD dans les systèmes aquatiques est constituée d'un mélange extrêmement complexe de molécules dont la majorité n'est pas structurellement identifiée à l'heure actuelle (Filella, 2008). Il en résulte une très grande variété de propriétés de la MOD. Les matières organiques dissoutes naturelles possèdent deux sources principales : l'une aquatique et l'autre terrestre. La MOD d'origine aquatique, aquagénique (ou autochtone), résulte principalement de la dégradation et des excréctions microbiennes et phyto-planctoniques, la proportion apportée par les plantes aquatiques supérieures et les animaux aquatiques étant faible (Buffle, 1988; Kracht, 2001). La MOD d'origine terrestre, pédogénique (ou allochtone), a pour principales origines les plantes supérieures et les microorganismes contribuant à leur dégradation (Kracht, 2001; Labanowski, 2004). En outre, dans les milieux aquatiques subissant une pression anthropique forte, en raison des rejets urbains, la MOD d'origine anthropique provenant principalement des eaux de ruissellements (lixiviats de décharges, ruissellement de chaussée, etc.) et des rejets urbains (domestiques et industriels) et agricoles, traités ou non traités (Meybeck, 1998; Labanowski, 2004) est une source de MOD parfois importante pour le milieu récepteur.

L'impact direct de la MOD sur la qualité du milieu et sur le développement des chaînes trophiques est aujourd'hui bien connu (désoxygénation, eutrophisation, etc.) (Wetzel, 1983b; Thurman, 1984). Son impact indirect, comme facteur d'influence de la biodisponibilité des polluants est aussi fondamental mais reste beaucoup moins connu. En effet, la MOD a généralement une grande capacité d'interaction avec les micropolluants métalliques et organiques (Buffle, 1988; Suffet *et al.*, 1994), ce qui peut modifier leur biodisponibilité (Campbell, 1995; Haitzer *et al.*, 1999). La matière organique dissoute est donc un des facteurs clé pour la définition de la fraction biodisponible des contaminants.

Durant les trente dernières années, de nombreuses études ont montré le pouvoir complexant de la MOD vis-à-vis des métaux et en particulier du cuivre. La spéciation et donc la complexation des métaux traces dans les eaux de surfaces ont fait l'objet de nombreuses synthèses bibliographiques (Florence and Batley, 1980; Wong *et al.*, 1983; Bernhard *et al.*, 1986; Florence, 1986; Landner, 1987; Buffle, 1988; Batley, 1989; Brockaert *et al.*, 1990; Millward, 1995; Salbu and Steinnes, 1995; Tessier and Turner, 1995; Ure and Davidson, 1995; Town and Filella, 2000; Batley *et al.*, 2004) démontrant ainsi le nombre important d'études publiées dans ce domaine. Beaucoup d'entre elles ont trouvé des capacités et des constantes de complexation variant significativement pour le cuivre, le plomb, le zinc et le cadmium de 3 à 12 ordres de grandeurs pour les constantes de complexation et jusqu'à 6 ordres pour la concentration en sites complexants. Cette grande dispersion peut être due à la variabilité expérimentale. Mais cette dispersion des données peut également être imputée à la nature et à l'origine de la matière organique étudiée.

Il est intéressant de noter que les données publiées concernent généralement soit la MOD prélevée dans des milieux peu impactés par les rejets urbains soit les substances humiques (SH) composées de macromolécules polyélectroniques hétérogènes isolées des eaux naturelles par un procédé basé sur l'adsorption à pH acide sur des résines XAD-8. Les SH, fraction hydrophobe acide de la MOD, dérivent principalement de la dégradation des plantes supérieures et représentent très souvent une part majoritaire du carbone organique dissous en milieu naturel. Cependant en milieu fortement anthropisé, la proportion de la fraction hydrophobe de la MOD décroît et n'est plus systématiquement majoritaire suite aux différents rejets urbains de MOD hydrophile ainsi qu'à la forte productivité primaire induite par ces rejets (Imai *et al.*, 2002; Pernet-Coudrier, 2008). Des études menées sur ce type d'effluents, ont souligné une complexation importante des métaux par les eaux urbaines comparées aux eaux naturelles (Buzier, 2005; Sarathy and Allen, 2005; Pernet-Coudrier, 2008). Or, très peu d'informations dans la littérature ont été trouvées concernant les rejets urbains et particulièrement les rejets urbains de temps de pluie (RUTP) aussi bien pour la caractérisation de leur MOD que pour leurs interactions avec les métaux. Ces rejets urbains, riches en MOD, influencent potentiellement considérablement la MOD dans le milieu récepteur en quantité mais aussi en qualité, particulièrement en termes d'interaction avec les métaux.

Toutefois, du fait de la difficulté de l'extraction et de purification de la fraction la plus hydrophile de la MOD, il n'existe, à notre connaissance, que très peu d'informations dans la littérature sur la fraction hydrophile de la MOD que ce soit en milieu naturel ou urbanisé et sur l'influence de cette MOD d'origine urbaine sur la spéciation et la biodisponibilité des métaux.

Cette thèse est dans la continuité de celle de Benoît Pernet-Coudrier qui a étudié au LEESU l'impact de la matière organique dissoute sur la biogéochimie (spéciation et biodisponibilité) des métaux dans les systèmes aquatiques urbanisés entre 2005 et 2008. Cette étude a été une des premières à démontrer le caractère hydrophile prédominant de la MOD contenue dans les rejets urbains de temps sec ainsi qu'à l'aval de l'agglomération parisienne et surtout le fort pouvoir complexant de cette MOD hydrophile vis-à-vis des métaux traces métalliques. Cependant en raison de la lourdeur du protocole de purification de la MOD hydrophile, assez peu d'échantillons ont été pu être étudiés dans le cadre de ce travail. Le suivi de la variabilité spatio-temporelle de la MOD dans le milieu récepteur ainsi que dans les rejets urbains, pourtant essentielle dans une étude environnementale, n'a pu être entrepris. En outre dans cette étude, les rejets urbains de temps de pluie n'ont pas été étudiés.

Les objectifs de mon travail sont de plusieurs ordres. Il s'agit de contribuer à la compréhension de la composition de la MOD issue des rejets urbains de temps sec et de temps de pluie et de caractériser ses interactions avec les métaux. Il s'agit également de caractériser la MOD dans le milieu récepteur et d'évaluer l'impact des rejets urbains sur ses caractéristiques à l'aval de l'agglomération parisienne toujours dans un objectif de mieux comprendre son rôle sur la spéciation et la biodisponibilité des métaux. Un effort particulier sera porté d'une part sur l'étude de la fraction hydrophile très peu documenté dans la littérature et d'autre part sur la variabilité spatio-temporelle de la MOD dans le milieu récepteur et dans les rejets urbains.

Pour ce faire, la MOD a été prélevée dans les rejets urbains de temps de pluie au déversoir d'orage de Clichy, dans les rejets urbains de temps sec provenant des cinq stations d'épuration gérées par le SIAAP (Service public de l'assainissement francilien) et dans le bassin de la Seine en amont et en aval de l'agglomération. A chaque fois, la variabilité temporelle a été prise en compte avec notamment un suivi mensuel sur un an du milieu récepteur. Pour chaque échantillon, la MOD est ensuite fractionnée selon des critères de polarité et d'acidité, permettant d'obtenir les cinq fractions : hydrophobe, transphile et hydrophile, acide, basique et neutre. L'influence de chaque type de MOD sur la spéciation et la biodisponibilité des métaux a été étudiée en combinant des approches chimiques et l'utilisation de biotests. Chaque MOD a également été caractérisée par diverses techniques analytiques afin de tenter d'expliquer les résultats obtenus concernant l'affinité de la MOD avec les métaux.

Le métal étudié dans le cadre de ce travail est le cuivre, métal essentiel mais également toxique à fortes concentrations. Si nous avons choisi le cuivre c'est parce qu'il interagit fortement avec

la MOD et que ces interactions sont très étudiées (avec de la MOD humique ou naturelle), ce qui permettra de comparer aisément nos résultats à ceux de la littérature obtenus en présence de MOD de natures radicalement différentes. Bien entendu c'est aussi parce que le cuivre revêt un intérêt environnemental dans la mesure où ses concentrations dans le bassin de la Seine posent problème et atteignent ou dépassent les normes de qualité environnementale. Enfin, il existe pour le cuivre une électrode spécifique ionique qui permet de mesurer simplement le cuivre libre et par conséquent de déterminer les paramètres de complexation.

Ce mémoire comporte deux parties distinctes composée chacune d'une synthèse bibliographique, d'une partie matériels et méthodes, et d'une partie résultats et discussions.

La première partie est consacrée à la caractérisation physico-chimique de la MOD prélevée dans le milieu récepteur, dans les effluents traités des stations d'épuration ainsi que dans les rejets urbains de temps de pluie.

La deuxième partie s'attache à l'étude de l'influence des différents types de MOD précédemment obtenues sur la spéciation et sur la biodisponibilité du cuivre.

L'ensemble de ces objectifs n'a pu être atteint que par la mise en œuvre de techniques analytiques diverses, étant donné la complexité du milieu étudié. Les équipements nécessaires pour mener une telle démarche sont parfois très spécifiques. Des collaborations avec d'autres équipes scientifiques (listées ci-dessous par ordre alphabétique) ont été nouées afin de conduire au mieux cette approche :

- Unité de recherche « EPOC Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux » au Laboratoire de Physico Toxico Chimie de l'environnement (LPTC) à l'Université Bordeaux I.
- Unité de recherche « Hydrosystèmes et bioprocédés » de l'IRSTEA (anciennement Cemagref) d'Antony.

Nous avons également une collaboration importante avec notre partenaire opérationnel qu'est le SIAAP et dont l'aide nous a été indispensable pour la collecte des échantillons provenant des rejets urbains de temps de pluie et de temps sec.

PARTIE A : CARACTERISATION DE LA MATIERE ORGANIQUE DISSOUE DANS LES MILIEUX RECEPTEURS AQUATIQUES SOUS FORTE PRESSION URBAINE ET DANS LES REJETS URBAINS

I. Synthèse Bibliographique

I.1. REJETS URBAINS DE TEMPS SEC

L'urbanisation est source de nombreuses perturbations pour les milieux naturels (McKinney, 2002), notamment pour les milieux aquatiques en période de pluie. En effet, les diverses activités humaines (transport, industrie, etc.) génèrent des éléments polluants qui se concentrent dans l'air et/ou s'accumulent sous forme de dépôts lors des périodes de temps sec (Chocat, 1995).

Dans la Seine en région parisienne, en période de basses eaux, les effluents urbains représentent une source très importante de matière organique (Meybeck, 1998). L'amélioration du traitement des eaux usées domestiques dans les dernières décennies a permis d'améliorer sensiblement la qualité des eaux de rivières à l'aval des rejets urbains de l'agglomération parisienne. Cependant, dans le contexte particulier de l'agglomération parisienne, étant données l'importance du volume d'eaux usées traitées par les plus grosses stations d'épuration (plus de 15 m³/sec dans le cas de la station d'épuration STEP Seine-Aval), la faiblesse du débit de la Seine (≈ 80 m³/sec en étiage et un module de 304 m³/sec à Paris-Austerlitz) et les concentrations en matière organique dans les effluents traités de la STEP Seine-Aval (encore nettement supérieures à celles du milieu récepteur), les rejets de STEP continuent à avoir un impact tout à fait observable sur les niveaux de carbone organique dissous (COD) dans le milieu récepteur. En effet, il a été démontré par (Pernet-Coudrier, 2008) des concentrations en COD qui varient de 2 mgC.l⁻¹ en amont à 4 mgC.l⁻¹ en aval de l'agglomération parisienne en période d'étiage.

I.2. REJETS URBAINS DE TEMPS DE PLUIE

Durant les pluies, dans le cas du réseau unitaire de l'agglomération parisienne, une partie de ces éléments polluants générés par les activités humaines non traités peut être entraînée vers les hydrosystèmes. Ces flux polluants, qualifiés de « rejets urbains par temps de pluie » (RUTP), sont déversés au niveau d'exutoires pluviaux et de déversoirs d'orage (Chocat, 1997).

Les infrastructures qui sont mises en place par le service public de l'assainissement francilien (SIAAP) ont fortement limité ces RUTP en Seine. L'impact des RUTP est en général beaucoup plus complexe à évaluer que ne l'est celui des rejets permanents de temps sec car on assiste à des phénomènes

fortement transitoires, à la fois d'un point de vue hydraulique que d'un point de vue de la qualité de l'eau (Seidl *et al.*, 1998a; Gasperi *et al.*, 2008; Gromaire *et al.*, 2008; Kafī *et al.*, 2008; Gasperi *et al.*, 2010a). Le débit déversé lors d'un gros orage peut pendant quelques heures, dans les cas extrêmes, être du même ordre de grandeur que le débit propre du fleuve avec une dilution qui est donc très faible. Depuis les années 1970, ces rejets sont étudiés avec soin car ils occasionnent dans le milieu récepteur des troubles importants, que ce soit en termes de désoxygénation provoquant des mortalités massives de poissons, ou en termes de polluants apportés au milieu (Meybeck, 1998; Meybeck a, 2007; Kafī *et al.*, 2008; Gasperi *et al.*, 2009; Gasperi *et al.*, 2011; Gounou *et al.*, 2011). Ces polluants peuvent affecter la qualité physicochimique et biologique des milieux aquatiques récepteurs (Mulliss *et al.*, 1997; Admiraal *et al.*, 2000), mais aussi altérer les usages de l'eau (captage d'eau, pêche, baignade, etc.) (Pitt and Lalor, 2001). Une évaluation précise de la pollution est nécessaire afin de répondre aux exigences de la directive-cadre européenne sur l'eau (DCE) qui vise l'atteinte du bon état écologique des eaux à l'horizon 2015 (2000/60/DCE, 23 octobre 2000).

I.2.1. LA COMPOSITION DES REJETS URBAINS DE TEMPS DE PLUIE

Les études sur les rejets urbains de temps de pluie ont débuté dans les années 1960 (Burm *et al.*, 1968; Weidner *et al.*, 1969) et ont permis d'identifier le problème en évaluant l'origine des polluants, les ordres de grandeur de concentrations et les flux émis (Pitt *et al.*, 1995; VanBuren *et al.*, 1997; Lee *et al.*, 2000; Lee *et al.*, 2002; Chebbo and Gromaire, 2004; Brombach *et al.*, 2005; Gasperi, 2006; Kafī-Benyahia, 2006; Gasperi *et al.*, 2008; Kafī *et al.*, 2008; P., 2009; Gasperi *et al.*, 2011). Parmi les diverses origines des polluants présents dans les RUTP, il s'agit essentiellement des apports domestiques et professionnels, des ruissellements urbains et du lavage des voiries.

- Apports domestiques et professionnels :

Les eaux domestiques : sont composés d'apports physiologiques, d'apports divers (eaux vannes de toilettes, déchets solides rejetés dans les toilettes...) et d'eaux à usage domestiques (de lavabo, de bains et de douche, de lave vaisselle...) et sont considérés comme une source majeure de matières organiques.

Les eaux industrielles et commerciales : Les eaux usées commerciales et industrielles et en particulier celles des restaurants, contiennent des quantités importantes de matières organiques. Les produits utilisés par les coiffeurs, les esthéticiens, en parfumerie, les produits pharmaceutiques, les plastifiants, les conservateurs, les antioxydants ou encore les solvants utilisés dans les industries ou dans les commerces constituent également une source de matières organiques.

- Ruissellement urbain :

Le ruissellement des eaux de pluie sur les sols urbains ou les surfaces imperméabilisées, emportent les particules accumulées par temps sec (Gromaire and Chebbo, 2001). Ces particules ont

des origines multiples (Chocat, 1997; Gromaire *et al.*, 2001; Pitt and Lalor, 2001) : les automobiles (hydrocarbures); les chaussées (ciments et goudrons, peintures au sol, sables et sels de déverglaçage, détergents, surfactants, etc.)(Pagotto *et al.*, 2001); l'industrie (micropolluants organiques, en particulier solvants); les animaux (déjections sources de matières organiques et de contamination bactérienne ou virale); les déchets solides (matières organiques, plastiques, papiers, etc.); la végétation (matières carbonées plus ou moins facilement biodégradables, produits phytosanitaires).

- Lavage de voiries :

Cette partie concerne essentiellement le nettoyage des voiries à Paris qui est assuré par les services de la Mairie de Paris et il se fait selon plusieurs façons : lavage manuel qui est quotidien et qui consiste en un lavage des caniveaux par ouverture des bornes fontaines et un balayage des trottoirs ; le lavage au jet d'eau sous-pression réalisé par une arroseuse-laveuse munie d'un jet d'eau. L'eau utilisée est celle des bornes fontaines. La fréquence du nettoyage varie entre 2 et 5 fois par semaine selon les voiries ; et finalement le nettoyage par aspiration mécanique qui se fait quotidiennement sauf le weekend par des aspiratrices de chaussées motorisées (Kafi-Benyahia, 2006). Plusieurs campagnes de prélèvement d'eaux de lavage de voiries par temps sec ont été réalisées : (Gromaire-Metz, 1998; Garnaud, 1999; Rocher, 2003; Gounou, 2004) et ont montré que le lavage de voirie est susceptible d'apporter des quantités importantes de métaux, de MES et de matières organiques vers le réseau.

I.2.2. L'IMPACT DES REJETS URBAINS DE TEMPS DE PLUIE :

I.2.2.1. La pollution organique

Les eaux pluviales, malgré une pollution due au ruissellement sur les surfaces urbaines, sont moins chargées en matière organique que les eaux usées domestiques, mais, par augmentation du débit, elles favorisent la remise en suspension des dépôts accumulés dans le réseau, ce qui peut constituer une source considérable de pollution organique (Kafi-Benyahia, 2006). En fait, selon (Krejci *et al.*, 1987) environ 60% des MES et de carbone organique total (COT) proviennent du réseau, par ailleurs les eaux de ruissellement produiraient respectivement 35% et 20% de la masse des MES et de matières organiques alors que les eaux usées contribueraient seulement à hauteur de 6% des masses de MES et de 20% des masses des matières organiques.

Les concentrations en matières organiques dans les RUTP sont du même ordre de grandeur que celles des rejets de temps sec et varient selon le type d'événement pluvieux, le moment de la journée qui conditionne le débit des eaux usées domestiques, le type de réseau et le moment de l'échantillonnage par rapport au début de l'évènement pluvieux (Meybeck, 1998; Kafi-Benyahia, 2006; Gasperi *et al.*, 2008; Gasperi *et al.*, 2010a). Ainsi lors d'études menées en diverses stations sur

le réseau d'assainissement parisien (Seidl *et al.*, 1998b; Servais *et al.*, 1999; Chebbo and Gromaire, 2004; Gromaire *et al.*, 2008; Kafi *et al.*, 2008; Gasperi *et al.*, 2010a), un accroissement significatif de la turbidité de très courte durée, lié à la remise en suspension partielle des dépôts, a été observé à chaque début de pluie. Une fois passé ce pic, les eaux échantillonnées ont présenté des turbidités parfois supérieures parfois inférieures à celles mesurées avant la pluie. La dilution de la charge érodée est déterminée par le rapport entre le volume transitant dans le réseau par temps sec et celui qui correspond au volume d'eau pluviale introduit dans le réseau.

I.2.2.2. La désoxygénation

Une des conséquences importantes des RUTP est la désoxygénation du milieu récepteur. En effet la dégradation de la matière organique contenue dans les RUTP par des processus d'oxydation entraîne une consommation d'oxygène dissous par les micro-organismes. Lors de gros orages estivaux, pour des débits de la Seine faibles et des températures de l'eau élevées, des baisses importantes des niveaux d'oxygène dissous sont régulièrement observées en Seine à l'aval de l'agglomération parisienne (Martin, 2009) nécessitant l'utilisation de stations de réoxygénation afin d'éviter de trop fortes mortalités piscicoles. Dans le passé, (Simon *et al.*, 1994) ont montré, à l'aide d'une série de mesures de bonne qualité sur d'assez grandes périodes à Chatou (aval de l'agglomération parisienne), que l'effet des déversements d'orage de Clichy et de la Briche, situés 20 kilomètres en amont, est multiple : en plus du choc occasionné sur l'oxygène par le passage des masses d'eau polluées 8 à 10 heures après leur déversement, l'oxygène ne retrouve son niveau initial que 4 à 5 jours après l'événement. Les auteurs démontrent, d'une part, que le déficit d'oxygène n'est pas en rapport direct avec la quantité de matériel biodégradable rejeté et que, d'autre part, il existe un effet conjugué entre le type de déversement et la qualité globale de la rivière au moment du rejet. Ainsi, les conditions de moindre ensoleillement qui sont simultanées aux rejets urbains de temps de pluie provoquent sur l'ensemble de la rivière une diminution globale des teneurs en oxygène dissous par affaiblissement de la photosynthèse. Cette dernière peut être aussi directement diminuée par l'éventuelle toxicité des rejets (Seidl *et al.*, 1998a). Notons que grâce à l'amélioration des infrastructures, notamment de stockage, l'intensité et la fréquence des épisodes de rejets de temps de pluie tendent à diminuer depuis une vingtaine d'années.

I.3. LA MATIÈRE ORGANIQUE DISSOUE DANS LES MILIEUX AQUATIQUES

La Matière Organique (MO) est une composante ubiquiste des milieux terrestres (sols, sédiments (McCarthy *et al.*, 2001)), aquatiques (eaux de surface (Croue *et al.*, 1999b; Labanowski, 2004)) et eaux souterraines (Artinger *et al.*, 2000) et anthropiques (rejets urbains de temps de pluie (Seidl *et al.*, 1998b; Kafi-Benyahia, 2006) rejets de temps sec des stations d'épuration (Imai *et al.*,

2002; Pernet-Coudrier, 2008; Martin, 2009), décharges (Choi *et al.*, 2002; Labanowski, 2004)), mais dont l'origine et la composition restent propres à chaque environnement (Labanowski, 2004). Pour des raisons pratiques, elle est généralement divisée en deux fractions : la matière organique dissoute (MOD), qui représente la fraction inférieure à 0,7 μ m, et la matière organique particulaire (MOP), la fraction supérieure à 0,7 μ m.

On désigne sous le nom de matière organique dissoute (MOD) un ensemble complexe et hétérogène de macromolécules organiques formées par la dégradation de matériel biologique animal ou végétal, d'origine terrestre ou aquatique. Cette fraction du matériel organique est une composante essentielle dans les processus photochimiques et photophysiques affectant l'ensemble des substances inorganiques ou organiques introduites dans l'environnement et elle représente un réservoir majeur de carbone organique présent dans les milieux aquatiques (Cronan and Aiken, 1985). Dans les eaux naturelles, la MOD joue un rôle important dans les cycles biologiques et dans le transfert du matériel continental vers le milieu océanique. Il est en effet reconnu que dans les différents compartiments aquatiques, le transport, la stabilité et la biodisponibilité des polluants d'origine anthropique (éléments traces métalliques et micropolluants organiques) peuvent être pour une large part influencés par ces composés macromoléculaires (Bollag *et al.*, 1992; Huber *et al.*, 1992; Christensen *et al.*, 1996). En effet, grâce à leurs caractéristiques chimiques et structurales, les molécules organiques qui composent la MOD ont la possibilité de piéger ou de fixer des espèces chimiques variées minérales ou organiques. Ces diverses propriétés dépendent de plusieurs paramètres comme les conditions environnementales mais aussi l'origine et la nature de la MOD qui vont conditionner les caractéristiques chimiques de ces molécules. Selon les caractéristiques physico-chimiques du compartiment aquatique (pH, force ionique,...) sa structure et ses caractéristiques chimiques peuvent varier et être profondément modifiées, entraînant des variations dans les processus d'interactions avec les polluants et par conséquent dans la spéciation, le transport ou la dégradation de ces derniers (Vacher, 2004b; Huguet *et al.*, 2009).

I.3.1. ORIGINES DE LA MATIERE ORGANIQUE DISSOUE DANS LES MILIEUX AQUATIQUES

Les propriétés de la MOD sont étroitement liées à l'origine des molécules organiques la constituant et aux processus qui affectent ces molécules (dégradations, agglomérations, etc.). Ainsi, la MOD d'origine anthropique présentera des propriétés relativement différentes de celles de la MOD d'origine naturelle. De même la MOD naturelle d'origine terrestre sera différente de la MOD naturelle d'origine aquatique.

La MOD naturelle présente dans les systèmes aquatiques possède deux sources principales : l'une terrestre et l'autre aquatique. La MOD d'origine terrestre : pédogénique (ou allochtone) a pour

principales origines les plantes supérieures et les microorganismes contribuant à leur dégradation (Kracht, 2001; Labanowski, 2004). Au contraire, la MOD naturelle d'origine aquatique : aquagénique (ou autochtone) résulte principalement de la dégradation et des excréctions microbiennes et phytoplanctoniques, la proportion apportée par les plantes aquatiques supérieures et les animaux aquatiques étant faible (Buffle, 1988; Labanowski, 2004).

La MOD d'origine anthropique observée dans les systèmes aquatiques provient principalement des eaux de ruissellement (lixiviats de décharges, ruissellement de chaussée, etc.) et des rejets urbains (domestiques et industriels) et agricoles, traités ou non traités (Meybeck, 1998; Labanowski, 2004; Pernet-Coudrier, 2008). Les origines de la MOD sont donc très variables d'un système aquatique à l'autre, par exemple, elle est majoritairement d'origine pédogénique dans les fleuves Yangtse et Mississipi, la rivière Atchafalaya (USA) et dans l'estuaire Winyah Bay (USA) (Goni *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2004; Wu *et al.*, 2007). Dans les océans Atlantique et Pacifique Nord, le détroit de Georgie (USA) ainsi que dans de nombreux lacs alpins, une forte contribution aquagénique a été observée comme source de MOD (Johannessen *et al.*, 2003; Hood *et al.*, 2005; Kaiser and Benner, 2008). Cependant il a aussi été montré que, localement, les activités anthropiques (station d'épuration, industrie du papier) pouvaient fortement participer à l'apport de MOD (Johannessen *et al.*, 2003; Hood *et al.*, 2005), ainsi, à l'étiage, près de la moitié de la MOD en Seine à l'aval de Paris provient des rejets de stations d'épuration (Meybeck, 1998).

I.3.2. LA CONCENTRATION EN CARBONE ORGANIQUE DISSOUS

La quantification de la MO dans le milieu aquatique se fait par la mesure des concentrations en carbone organique total (COT). Ce dernier est reparti pour chaque échantillon en carbone organique particulaire (COP, analyse du filtre) et en carbone organique dissous (COD, échantillon après filtration).

Les concentrations en COD varient entre 0,1 mgC/L dans les eaux souterraines les moins concentrées, et jusqu'à plusieurs centaines de mgC/L dans les eaux usées brutes, en encore 50-100 mgC/L dans les tourbières. Dans les eaux de surface, le COD se situe généralement entre 2 et 10 mgC/L, pouvant aller jusque 20 mgC/L dans les lacs forestiers (Peuravuori *et al.*, 1997). Pour un milieu donné, les concentrations sont très variables selon la saison et les conditions hydrologiques du milieu.

Les teneurs en COP sont plus variables encore selon la nature du milieu et la dynamique d'apport des particules et de remise en suspension des sédiments. D'après (McKnight *et al.*, 1985), le COP représente en général moins de 10 % du COT en rivière. Des rapports entre COP et COT variant de 10% à 90% ont été mesurés dans différentes rivières du monde (Meybeck, 1982). Dans les lacs, le COP représente aussi environ 10% du COT, mais cette fraction peut aller jusque 50% en période de forte poussée algale ou bactérienne (Wetzel, 1983a).

I.3.3. COMPOSITION DE LA MATIERE ORGANIQUE DISSOUTE

I.3.3.1. Les substances humiques

Les substances humiques se retrouvent fréquemment dans les sols, les eaux de surface, le compost, les sédiments marins et lacustres et les tourbières. Ce sont des mélanges très complexes de MO hétérogènes de couleur jaune à noire. Ces substances qui constituent un groupe complexe de macromolécules biochimiquement stables sont issues de multiples étapes de dégradation de la MOD fraîche et sont caractéristiques de la MOD plus mature, dite humifiée (Duursma and Dawson, 1981). Ces substances sont également appelées matière organique réfractaire, en raison de leur faible (mais non nulle) biodégradabilité (Duursma and Dawson, 1981). Selon l'IHSS (International Humic Substances Society), les substances humiques aquatiques sont définies de manière opérationnelle comme étant des substances hydrophobes isolés d'une eau acidifiée par adsorption sur résines non-ioniques de type XAD-8 (Thurman and Malcolm, 1981b). La concentration et la distribution des composés humiques dans les différents milieux aquatiques dépendent fortement des divers facteurs écologiques et environnementaux qui vont contrôler leur formation et leur minéralisation. Ils sont considérés comme très résistants à la dégradation microbienne et peuvent rester très longtemps dans la colonne d'eau avant d'être minéralisés. Les substances humiques constituent un mélange de macromolécules caractérisé par une grande variété de groupements fonctionnels (groupements azotés (amine primaire, imine, etc.), groupements oxygénés aliphatiques (acides, aldéhydes, cétones, etc.) et groupements oxygénés aromatiques (phénol, quinone, etc.)) et présentant une large gamme de propriétés physico-chimiques qui conditionnent leur comportement géochimique (Maccarthy and Malcolm, 1989). Elles présentent le caractère le plus aromatique de la MOD et des rapports C/H, C/O et C/N plus importants que les autres composés de la matière organique dissoute. Les substances humiques aquatiques sont des polyanions dont le degré d'ionisation dépend du pH du milieu. Elles sont classées selon leur solubilité en deux grandes catégories :

- les acides fulviques, solubles quelque soit le pH
- les acides humiques qui précipitent dans les solutions très acides (pH<2)

Généralement, les acides humiques regroupent des composés de plus grande masse moléculaire, d'acidité moindre et présentent une plus grande aromaticité (rapport C/H plus important). Les acides fulviques, plus solubles et plus petits présentent une plus grande proportion de groupements fonctionnels (Hayase and Tsubota, 1984). La formule chimique moyenne serait pour les acides humiques $C_{10}H_{12}O_5N$ et pour les acides fulviques $C_{12}H_{12}O_9N$ (Piccolo and Stevenson, 1982). Le rapport O/C est environ 0,5 pour les acides humiques et 0,7 pour les acides fulviques. Cette relative richesse en oxygène des acides fulviques par rapport aux acides humiques est due à un plus grand nombre de fonctions carboxyliques et à une plus grande abondance d'hydrates de carbone.

I.3.3.2. Les substances non humiques

Les substances non humiques (SNH) sont définies opérationnellement par l'ensemble des molécules non retenues sur les résines XAD-8 (McKnight *et al.*, 1985). Elles représentent une fraction toute aussi hétérogène que les substances humiques. Selon (Leenheer, 1981) cette fraction semble caractérisée par un ensemble d'acides organiques simples (acides gras volatils), de polyélectrolytes complexes riches en groupements hydroxyles et carboxyles, de sucres sous forme acide (acides uronique, aldonique, polyuronique) ainsi que des structures de type carbohydrate. De récents travaux mettent en évidence une plus grande proportion en structures protéiniques caractérisant ainsi une origine biologique algale ou bactérienne fortement marquée au sein de cette fraction (Croue *et al.*, 2003; Pernet-Coudrier, 2008; Pernet-Coudrier *et al.*, 2011b).

Ces substances organiques, de faible poids moléculaire, sont généralement labiles et relativement faciles à métaboliser et/ou dégrader par les enzymes hydrolytiques produites par les microorganismes (Ishiwatari *et al.*, 1995). De par la difficulté pour les analyser et les extraire du milieu afin de mieux les caractériser, ces SNH sont peu étudiées (Violleau, 1999; Labanowski, 2004; Pernet-Coudrier, 2008). Comme déjà indiqué, ces substances non humiques sont des molécules appartenant à des familles chimiques identifiées : hydrate de carbone, protéines et acides aminés, lipides, etc.

Les composés azotés et les protéines :

Ce sont les acides aminés, les sucres aminés, les acides nucléiques. Les deux premiers groupes étant quantitativement les plus importants. Plusieurs facteurs ont une influence sur la quantité et la distribution des acides aminés: les réactions de synthèse et de dégradation, les organismes vivants, l'adsorption et les réactions chimiques avec les quinones et les sucres. Ces acides aminés sont donc : libres dans la phase liquide, à l'état adsorbé sur les colloïdes humiques et minéraux, et enfin combiné avec les peptides et les protéines (Kowalenko and Lowe, 1978). Ces protéines et ces peptides ont fait l'objet de quelques travaux. Ils présentent des pics caractéristiques en infrarouge et en RMN-13C permettant de les identifier facilement.

Les hydrates de carbone :

Ce sont des composés très répandus dans le monde vivant. Ils représentent 5 à 25 % de la matière organique et proviennent des résidus des végétaux et des synthèses microbiennes (Stevenson, 1994; Lavaud, 2010). Ils se situent majoritairement dans les fractions transphiliques et hydrophiles de la matière organique dissoute (Rostad and Leenheer, 2004). Ces polysaccharides se trouvent sous différents états : sous forme de polysaccharides complexés fortement adsorbés par les minéraux et les oxydes métalliques et sous forme de polymères complexes de formes et de tailles variables. La détermination des ratios, C_6/C_5 (mannose + galactose)/(xylose + arabinose) et déoxy/ C_5 (rhamnose +

fucose)/(xylose + arabinose) permet selon (Murayama, 1984) et (Oades, 1984) de déterminer l'origine des sucres. Des ratios inférieurs à 0,5 indiquent des sucres dérivés de plantes alors que des ratios supérieurs à 2,0 indiquent une origine microbienne (Guggenberger and Zech, 1994). Parmi le groupe des hydrates de carbones, les aminosucres constituent un groupe important même s'ils représentent des pourcentages très variables de la matière organique dissoute selon l'origine de la matière organique et l'état trophique de l'eau (oligotrophe, eutrophe,...). Les aminosucres sont des substances incolores présentant une absorbance et une fluorescence faibles ou inexistantes dans l'UV. Leurs masses molaires ont été estimées dans une gamme allant de 500-20000 Daltons par chromatographie d'exclusion stérique (Her *et al.*, 2002). Ces composés peuvent être facilement identifiables par leurs spectres infrarouges et RMN-¹³C.

Les lipides :

Ils sont constitués par un ensemble de composés organiques dont le caractère commun est d'être soluble dans des solvants organiques (benzène, méthanol, éthanol, acétone...). Leur nature chimique est variée, simples composés comme les acides gras, ou molécules plus complexes comme les stérols, les terpènes, les cires et les résines. Ils représentent environ 2 à 6 % de la matière organique en provenance des résidus végétaux et des micro-organismes.

Le *Tableau 1* regroupe les différents constituants des fractions extraites de MOD répertoriés dans la littérature.

	Fraction hydrophobe	Fraction hydrophile
Acides	Substances humiques • acides humiques • acides fulviques Acides aromatiques simples Complexes carbohydrates-SH Polyphénols oxydés Acides gras Tannins Polyphénols Flavonoïdes Vanillines Phospholipides	Acides hydrophiles Acides carboxyliques simples Carbohydrates oxydés avec des groupements COOH Protéines Acides aminés Adénosine di- et tri-phosphates Inositol et autres sucres phosphatés
	Substances Humiques (SH)	Substances Non Humiques (SNH)
Neutres	Hydrocarbures Caroténoïdes Chlorophylle Cétones Alcools Protéines Phospholipides	Sucres simples Polysaccharides Alcools Cétones Ethers Protéines Acides aminés Urée
Bases	Peptides Protéines	Sucres aminés Pyrimidines Purines Acides aminés Peptides Protéines Amines de faible masse moléculaire

Tableau 1: Liste des principaux constituants de la MOD répertoriés dans la littérature (adapté de (Tipping *et al.*, 2002)).

I.4. ÉTUDE DES PROPRIETES DE LA MATIERE ORGANIQUE DISSOUE

Comme cela vient d'être montré, la MOD présente dans les systèmes aquatiques possède une structure chimique hautement hétérogène, donc un nombre très important de groupements fonctionnels de propriétés différentes. Deux voies différentes peuvent être suivies pour étudier les propriétés de la MOD : l'analyse globale et l'analyse après fractionnements préalables selon des critères physico-chimiques. Pour obtenir des informations qui ne soient pas limitées au seul cas d'étude, les paramètres utilisés pour décrire et caractériser la MOD doivent être, autant que faire se peut, indépendants des conditions chimiques du milieu d'origine de la MOD étudiée (Buffle, 1988).

I.4.1. ANALYSE GLOBALE DE LA MATIERE ORGANIQUE DISSOUTE

La première approche consiste en une étude globale de la MOD, non fractionnée, éventuellement isolée globalement du milieu d'origine, par exemple par ultrafiltration. La MOD ainsi analysée est ensuite subdivisée théoriquement en groupes fonctionnels de propriétés voisines (par exemple la complexation vis-à-vis du plomb) qui sont utilisées pour représenter la MOD (Tipping, 1993; Kinniburgh *et al.*, 1999). Ces groupes n'ont pas forcément une réalité chimique, i.e. ils ne correspondent pas forcément à une structure chimique ou à des groupements fonctionnels caractérisés (Sposito, 1981). Ils sont seulement caractérisés par un certain nombre de propriétés, par exemple une constante d'acidité ou un rendement quantique de fluorescence. Ce type d'étude a l'avantage de ne pas modifier la MOD. Cependant elle nécessite des techniques analytiques d'une part précises pour s'affranchir des perturbations provoquées par le milieu (par exemple la compétition des ions chlorures vis-à-vis de la complexation du Cu par les groupements fonctionnels de la MOD) et d'autres part sensibles pour travailler aux concentrations naturelles, surtout quand la MOD n'a pas été extraite et donc que la concentration en carbone organique dissous est faible.

I.4.2. FRACTIONNEMENT DE LA MATIERE ORGANIQUE DISSOUTE

La deuxième voie repose sur l'extraction et un ou plusieurs fractionnements préalables de la MOD en groupes de composés chimiques de propriétés voisines, suivant des protocoles chimiques et/ou physiques. Les groupes ainsi séparés sont donc constitués de composés chimiques "réels", possédant au moins une propriété commune, par exemple la taille ou la charge. Le fractionnement de la MOD, constitue une première étape de sa caractérisation, étape qui peut être considérée comme une fin en soi. Pour appréhender son comportement dans un milieu donné, notamment ses interactions avec les métaux, chaque groupe peut ensuite être analysé pour caractériser les propriétés qui lui sont associées. Les analyses sont de plus facilitées par le fractionnement de la MOD isolée. En effet ces séparations d'une part limitent a priori les interactions générées par les autres espèces chimiques présentes (par exemple les ions majeurs) et d'autre part permettent de travailler à des concentrations plus élevées en matières organiques lorsque cela est nécessaire. Le regroupement de l'ensemble des propriétés analysées pour chaque groupe conduit à une estimation des caractéristiques globales de la MOD étudiée (Buffle, 1988). S'il est aisé de définir théoriquement différentes fractions de MOD il n'en est pas de même dans la pratique. Du fait de la haute complexité de la MOD, tout type de fractionnement (et d'analyses par la suite) ne pourra fournir qu'une description approximative de l'intégralité de la MOD. En effet le fractionnement, qui ne sépare la MOD que par des critères relatifs à la méthode employée, peut engendrer une disparition et/ou des transformations partielles de la MOD et ainsi produire divers artefacts (Zsolnay, 2003).

La complexité de cette fraction du carbone organique a entraîné lors de ces dernières décennies le développement de nombreuses techniques de fractionnement de la MOD reposant sur différents critères physico-chimiques afin de mieux la caractériser :

- la solubilité : citons par exemple l'extraction par solvant et la lyophilisation (Celerier, 2008)
- la taille : le fractionnement par ultrafiltration, la chromatographie d'exclusion stérique (Gjessing and Lee, 1967; Buffle *et al.*, 1978; Newcombe *et al.*, 1997)
- l'hydrophobicité : les techniques chromatographique de sorption sur des résines non ioniques comme les résines XAD (Thurman and Malcolm, 1981a; Imai *et al.*, 2002) et/ou ioniques (anioniques ou cationiques) (Leenheer, 1981; Zhou and Banks, 1990; Imai *et al.*, 2002; Marhaba *et al.*, 2003).

I.4.2.1. Selon la solubilité

Extraction par solvant et lyophilisation :

Cette technique est basée sur de critères de solubilité. La nature du solvant utilisé, qui varie selon les études et les auteurs, influence la quantité et la composition de la fraction séparée (Celerier, 2008). Les étapes de mise en contact avec des solvants sont suivies par une étape de centrifugation afin de séparer la phase soluble du résidu insoluble. Par exemple, dans le cas du protocole de (Calderoni and Schnitzer, 1984), le fractionnement permet la séparation de la matière organique en humine, acides humiques, acides fulviques et lipides adsorbés. Ce protocole est basé sur le fait que d'après la définition opérationnelle donnée par l'IHSS (Société Internationale des Substances Humiques):

- les lipides sont organo-solubles (utilisation de solvant organique comme le chloroforme pour les extraire),
- les "acides fulviques" et "humiques" sont alcalino-solubles,
- les "acides humiques" précipitent en milieu acide,
- "l'humine" reste insoluble.

D'autres protocoles utilisant des traitements acides ou aqueux permettent d'avoir accès à des molécules non humiques (Celerier, 2008).

I.4.2.2. Selon la taille

Fractionnement par ultrafiltration :

De nombreuses techniques permettent de déterminer la distribution en taille d'une matrice organique comme le Fractionnement par couplage Flux-Force (FFF), la dispersion des rayons X aux petits angles (SAXS) et l'ultrafiltration (UF). Cette dernière reste une méthode particulièrement

intéressante par rapport aux autres techniques de fractionnement car elle n'est pas destructive et n'utilise aucun réactif (Kilduff and Weber, 1992) évitant ainsi de modifier les molécules organiques. L'ultrafiltration permet de séparer par filtrations successives les fractions de MO selon leur taille par une répartition « discrète ». C'est la technique de fractionnement la plus largement utilisée parmi les techniques membranaires. Elle est employée pour fractionner la matière organique des eaux de surface (Croue *et al.*, 1999a), des eaux de marécages (Burba *et al.*, 1998), des eaux destinées à la potabilisation, des eaux usées et des eaux lacustres. Elle a également été largement utilisée pour étudier la matière organique contenue dans des lixiviats de décharge d'ordures ménagères (Chian and Dewalle, 1976; Harmsen, 1983; Schimpf and Petteys, 1997; Trebouet, 1998; Calace *et al.*, 2001; Labanowski, 2004). Un des principaux avantages de ce procédé est qu'il est fondé sur des critères physiques et qu'il ne fait pas intervenir de réactifs chimiques permettant d'éviter toute modification de la structure des molécules organiques. Cependant, même si l'ultrafiltration est caractérisée par une simplicité apparente par rapport aux autres techniques de séparation selon la taille, il faut noter que de nombreux paramètres peuvent avoir une influence sur le passage des molécules à travers la membrane (pH, force ionique, pression...) (Lagier, 2000; Assemi *et al.*, 2004; Berthe, 2006) et vont donc rendre plus difficile l'interprétation des résultats obtenus.

Chromatographie d'exclusion stérique :

Cette technique est aussi basée sur le critère de taille. En fait, la matière organique dissoute englobe des structures qui entrent dans une gamme de masses moléculaires très étendue. La chromatographie d'exclusion de taille (HPSEC pour High Performance Size Exclusion Chromatography) est une méthode de fractionnement basée sur la taille des molécules (exprimée en poids moléculaire). Le principe est simple, plus les molécules sont grosses plus elles sont exclues de la porosité du gel, plus leur temps de rétention est faible. Pour les eaux naturelles, le poids moléculaire moyen est très variable. Des poids moléculaires moyens de diverses MO d'origine naturelle et substances humiques ont été mesurés entre 585 et 2200 Daltons (Chin *et al.*, 1994). (Miege *et al.*, 2005) analysent diverses matières organiques naturelles de poids moléculaires moyens variant de 780 Daltons (MOD extraite de la Loire) à 1500 Daltons (MOD extraite de la rivière Gartempe). (Imai *et al.*, 2001) obtiennent des poids moléculaires de MOD de rejets urbains variant entre 380 à 830 Daltons avec une polydispersité de ces MOD comprise entre 1.4 et 2.3. (Pernet-Coudrier *et al.*, 2011b) montrent que les poids moléculaires des fractions hydrophobes de la matière organique sont compris dans une gamme plus élevée (678 et 1125 Daltons) que celle obtenue pour les poids moléculaires des fractions hydrophiles (218 et 1081 Daltons).

Jusqu'à 6 fractions dans un chromatogramme d'eau échantillonnée ont été distinguées (Frimmel, 1998). Ces fractions correspondent (i) aux substances humiques (molécules hydrophobes à caractère aromatique) (fraction 1), (ii) aux acides organiques aliphatiques associés aux matières

humiques (fraction 2), (iii) aux acides organiques aliphatiques de faibles masses moléculaires (fraction 3), (iv) aux composés neutres présentant une forte affinité avec la phase stationnaire de la colonne, soit des acides aminés, des sucres aminés et des protéines de faibles masses moléculaires (fraction 4), (v) aux composés de hautes masses moléculaires (faible temps de rétention) à fort caractère aliphatique, essentiellement des polysaccharides et des résidus de parois bactériennes (polymères de sucres aminés et protéines) (fraction 5), (vi) aux espèces inorganiques ne présentant aucune affinité avec le gel de la colonne, telles que des silicates ou des hydroxydes (fraction 6).

I.4.2.3. Selon l'hydrophobicité et l'acidité

Le fractionnement de la MOD selon ses caractéristiques d'hydrophobicité est basé sur le passage de la solution sur des résines retenant de façon sélective certains composants de la MO (Leenheer, 1981). Le protocole le plus couramment utilisé est celui de l'IHSS (International Humic Substances Society) (Leenheer *et al.*, 2000) qui est basé sur les travaux de (Thurman and Malcolm, 1981a) et qui consiste en un fractionnement de la MO sur des colonnes contenant des résines de type XAD qui sont des adsorbants macroporeux non ioniques (styrène – divinylbenzène ou polymères de méthacrylate de méthyle). Ce protocole est considéré comme un protocole standard de fractionnement de la matière organique dissoute dans les systèmes aquatiques. La fraction hydrophobe de la MO est retenue sur la résine XAD 8, la fraction dite « transphilique » est retenue sur la résine XAD 4 et la fraction hydrophile, non retenue, se trouve dans l'effluent. Chaque fraction peut ensuite être séparée selon son acidité par élution sélective.

Plus récemment les travaux de (Malcolm and Maccarthy, 1992; Martin-Mousset *et al.*, 1997b; Pernet-Coudrier, 2008; Pernet-Coudrier *et al.*, 2011b) ont montré l'intérêt de la procédure de fractionnement associant en série les résines DAX-8 et XAD-4. Parmi tous les fractionnements présentés, le fractionnement selon l'hydrophobicité et l'acidité de la MOD a été fréquemment utilisé, surtout pour les études, comme c'est aussi notre cas, dont le but est de caractériser la répartition de la MOD en substances humiques et en substances non humiques. Ce type de fractionnement est détaillé ultérieurement.

I.4.3. PRECONCENTRATION DE LA MOD

Les concentrations en MOD observées en général dans les eaux de surface et en particulier en Seine sont faibles : de l'ordre de quelques $\text{mgC}\cdot\text{L}^{-1}$ (Afcharian *et al.*, 1997; Meybeck, 1998). La nécessité d'obtenir une quantité relativement importante de MOD pour les diverses caractérisations complique le prélèvement (volume important) ainsi que le fractionnement (allongement considérable du temps de fractionnement). Il est donc nécessaire de préconcentrer la MOD afin de faciliter les opérations précédentes. L'osmose inverse est la méthode de concentration la plus utilisée (Hu *et al.*,

2003a; De Schamphelaere *et al.*, 2005). Cependant plusieurs inconvénients inhérents à cette technologie membranaire se posent lors des procédures de récupération des MOD. En effet il a été montré qu'une partie de la MOD était perdue dans le perméat d'osmose inverse et d'ultrafiltration, ces pertes étant comprises respectivement entre 2 et 9 % et 4 et 23 % (Croué *et al.*, 1999). Un colmatage à la surface des membranes a également été mis en évidence (Odegaard and Koottatep, 1982). Enfin ces techniques présentent l'inconvénient majeur de concentrer également les espèces inorganiques interférant lors des analyses de caractérisation et coprécipitant avec la MOD lors de la préconcentration.

Une autre technique, l'évaporation sous vide, permet de réduire ces inconvénients en concentrant la MOD dans des conditions (basse température) limitant la dénaturation de la MOD. Elle évite les pertes sur la membrane (non utilisée dans le cadre de cette technique) mais des pertes de composés volatils peuvent avoir lieu (Fernandez and Cabrol-Bass, 2007).

I.5. LES PROTOCOLES DE FRACTIONNEMENT DE LA MATIERE ORGANIQUE DISSOUE SELON LE CRITERE D'HYDROPHOBICITE ET D'ACIDITE

Plusieurs protocoles de ce type ont été publiés dans la littérature. Nous présentons dans ce qui suit deux des protocoles les plus utilisés:

- Le protocole de (Thurman and Malcolm, 1981a) qui permet d'obtenir la répartition au sens strict des substances humiques en utilisant une seule résine (DAX-8). Ce protocole permet d'obtenir les fractions acides humiques, acides fulviques et composés hydrophiles.
- Le protocole de (Malcolm and Maccarthy, 1992) qui permet de scinder la matière organique dissoute en un plus grand nombre de fractions pour la relier à ses origines, en utilisant deux résines (DAX-8 et XAD-4) en série. Les fractions obtenues sont les fractions hydrophobes, transphiliques et hydrophiles.

I.5.1. LE PROTOCOLE DE THURMAN & MALCOLM (1981)

Le protocole de (Thurman and Malcolm, 1981a) est fréquemment rencontré dans l'étude des milieux naturels aquatiques lors de la détermination des concentrations en substances humiques. Ce protocole permet d'extraire les acides humiques (AH) par précipitation à pH 2 et les acides fulviques (AF) par rétention sur résine DAX-8 (cf. *Figure 1*). La matière organique non précipitée et non adsorbée correspond aux composés hydrophiles (HyI). Enfin, la matière organique non désorbée de la résine DAX-8 par l'éluion à la soude 0,1 N se définit comme une perte. Le pourcentage d'AH est calculé par différence entre la concentration en MO de l'échantillon filtré à pH=12 et de l'échantillon

filtré à pH=2 alors que le pourcentage d'AF est obtenu par mesure de la quantité de matière organique désorbée par la soude 0,1 N. Enfin, le pourcentage d'HyI s'obtient par mesure de la concentration en matière organique de l'échantillon après sa percolation sur la résine DAX-8.

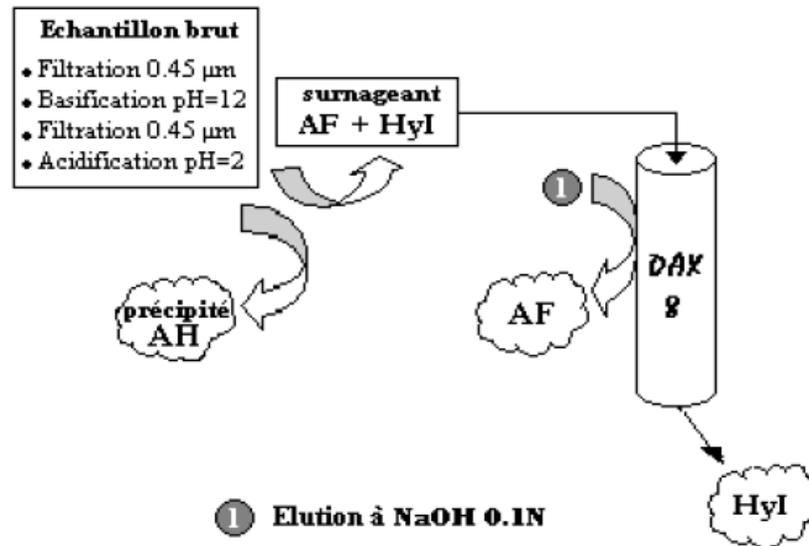


Figure 1: La procédure de fractionnement de la MOD selon le protocole de Thurman et Malcolm (1981).

Les acides humiques et fulviques ainsi obtenus permettent de synthétiser des données relatives à l'humification en considérant que leur rapport (AH/AF) traduise le niveau d'humification d'un milieu. Généralement les milieux aquatiques naturels contiennent plus d'acides humiques (AH) et fulviques (AF) et moins de composés de type hydrophile que les milieux aquatiques urbanisés (Berthe, 2006; Pernet-Coudrier, 2008).

I.5.2. LE PROTOCOLE DE MALCOLM & MAC CARTY (1992)

Le protocole de (Malcolm and Maccarthy, 1992) est fréquemment employé dans l'étude des milieux naturels aquatiques (Martin-Mousset *et al.*, 1997a) pour essayer d'estimer l'origine allochtone (terrestre) ou autochtone (aquatique) de la matière organique dissoute. En outre ce protocole permet de considérer l'ensemble de la MO retenue sur les résines puisque les fractions traditionnellement non désorbées à la soude sont prises en compte. Ce protocole permet de retenir les composés hydrophobes (HPO) sur résine DAX-8 et les composés transphiliques (TPH) sur résine XAD-4 (cf. Figure 2). La matière organique non précipitée et adsorbée sur aucune résine correspond aux composés hydrophiles (HPI). Les pourcentages des fractions HPO et TPH sont déterminés par mesure de la différence des concentrations en matière organique entre l'entrée et la sortie des colonnes, respectivement DAX-8 et XAD-4. Le pourcentage en composés HPI est obtenu par mesure de la concentration en matière organique de l'échantillon en sortie de résine XAD-4.

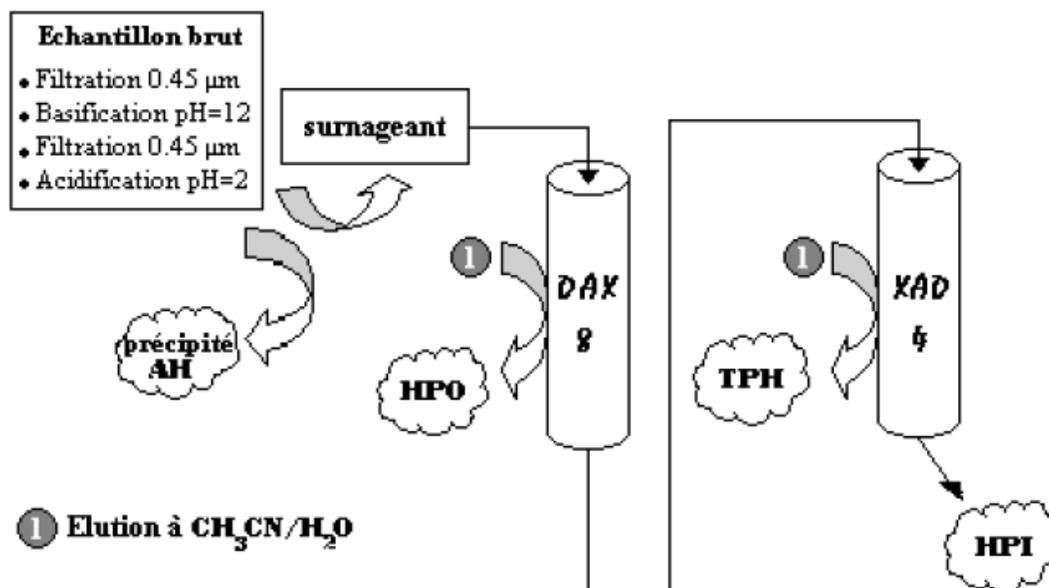


Figure 2: Procédure de fractionnement de la MOD selon le protocole de Malcolm et MacCarthy.

Ce type de fractionnement est essentiellement appliqué aux eaux de surface ainsi qu'aux rejets urbains pour extraire les différentes fractions puis les caractériser par diverses techniques analytiques (Mejbri, 1997; Leenheer *et al.*, 2001; Pernet-coudrier *et al.*, 2008).

I.5.3. INCONVENIENT DE CES PROTOCOLES

Les fractions hydrophobes (HPO) et transphiliques (TPI) sont obtenues par une simple élution à l'aide d'un mélange d'eau et d'acétonitrile. Les sels n'étant pas retenus pas ces résines DAX-8 et XAD-4, les fractions éluées sont quasiment totalement séparées des sels contenus dans l'échantillon filtré. Ce qui est très avantageux pour l'application ultérieure de la plupart des outils de caractérisation de la MO dont nous disposons. Obtenir la fraction hydrophile (HPI) non retenue sur ces résines (Figure 2) est beaucoup plus délicat dans la mesure où il faut la purifier afin de la séparer de la totalité des sels initialement contenus dans l'échantillon qui se trouvent aussi dans l'effluent de la résine XAD-4. Cette purification se compose d'une série d'étapes successives (Aiken and Leenheer, 1993). Une partie des sels est éliminée par concentration réalisée par évaporation sous vide qui engendre par sursaturation leur précipitation. Les sels résiduels sont ensuite séparés de la fraction organique par plusieurs opérations de distillation zéotrophique (Aiken and Leenheer, 1993).

Ce protocole ainsi présente **plusieurs inconvénients majeurs** :

- le temps de traitement d'un échantillon : les opérations de purification notamment sont très longues, de l'ordre d'une à deux semaines par échantillon. Ce temps ne prend bien sûr pas en compte la caractérisation physico-chimique ultérieure de chaque fraction (Pernet-Coudrier, 2008).
- la perte de la MO hydrophile durant l'opération de purification : lors de la purification de la fraction hydrophile, près de la moitié de la matière organique est perdue par coprécipitation avec les sels (Pernet-Coudrier, 2008).

I.5.4. LES RESINES ECHANGEUSES D'IONS POUR FRACTIONNER LA MO HYDROPHILE

I.5.4.1. Structure des résines échangeuses d'ions

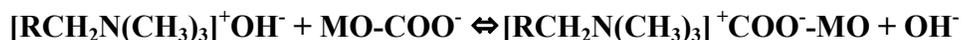
Les résines échangeuses d'ions sont constituées de billes de diamètre variant de 0,5 à 2 mm présentant une densité légèrement supérieure à l'eau ($d=1,05$ à $1,40$). Les résines sont obtenues par polymérisation d'un monomère (styrène, acrylate,...) dont les longues chaînes sont "liées" entre elles par un réticuleur (divinylbenzène : DVB pour les résines de squelette polystyrenique). Les résines sont activées en greffant sur le "squelette" obtenu précédemment des groupements fonctionnels qui jouent un rôle d'échangeur avec les ions de la solution.

I.5.4.2. Principe des résines échangeuse d'ions

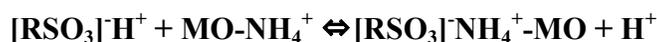
Les groupements fonctionnels greffés sur les résines ne peuvent pas être enlevés ou remplacés : ils font partie de la structure. Pour préserver la neutralité électrique de la résine, chacun de ces ions fixes doit être neutralisé par un contre-ion de charge opposée. Ce contre-ion est mobile et peut sortir de la résine ou y entrer. Tout ion pénétrant dans la résine entraîne la sortie d'un ion de même charge pour préserver l'électroneutralité. C'est ce que l'on appelle l'échange d'ions.

L'échange avec la matière organique (MO) met en jeu les ions des groupements fonctionnels à caractère acide ou basique. La résine échangeuse de cations, peut retenir la fraction hydrophile basique dans le cas de la séparation de la MO hydrophile tandis que la fraction hydrophile acide sera retenue par la résine échangeuse d'anions. Les réactions des échangeurs ioniques avec la MO sont les suivantes:

**Echangeurs d'anions : ils fixent les anions d'acides forts et faibles. Ces échangeurs présentent une fonction de type ammonium quaternaire ($N(CH_3)_3^+$, OH^-).



**Echangeurs de cations : ils fixent les cations de bases forts et faibles. Ces échangeurs présentent une fonction de type acide sulfonique (SO_3^- , H^+).



I.6. CARACTERISATION DE LA MATIERE ORGANIQUE DISSOUE

La caractérisation chimique de la MOD peut être abordée selon différents aspects : selon sa composition élémentaire, moléculaire, ou par les structures et fonctions chimiques des molécules constituant la MOD. On présente ci-après plusieurs techniques employées dans l'étude de la MOD, en nous focalisant sur l'analyse fonctionnelle qui regroupe plusieurs techniques dont la spectroscopie de fluorescence et la spectroscopie d'absorbance.

I.6.1. ANALYSES ELEMENTAIRES

I.6.1.1. Analyses élémentaires C, H, O, N, S

L'analyse élémentaire de la matière organique permet d'obtenir sa composition relative en C, H, O, N, S et résidus (Huffman and Stuber, 1985). Cette mesure fournit des informations sur la nature saturée et polaire des composés de la MOD. La polarité des composés peut être évaluée par le rapport (N+O)/C ou encore H/O et la saturation des chaînes de carbone (qui traduit un caractère aromatique) s'estime via les rapports O/C et H/C. Ainsi, (Ma *et al.*, 2001) observent que le ratio H/C est de l'ordre de 1 pour les acides humiques hydrophobes et de 1,5 pour les acides hydrophiles. De même, le rapport O/C est deux fois plus élevé pour les molécules hydrophiles que pour les substances humiques, traduisant le caractère aromatique insaturé de celles-ci. Enfin le pourcentage de résidu obtenu dépend de la nature de l'échantillon et de la procédure d'extraction utilisée. Il ne doit pas excéder 5 % afin de ne pas fausser l'analyse élémentaire totale par une sous-estimation des différents éléments. Selon (Thurman, 1985), il a été montré que malgré les précautions d'extraction, les SH peuvent contenir entre 2 et 5 % de résidu sec, probablement composés d'éléments liés de façon covalente aux SH.

I.6.1.2. Analyses isotopiques du ^{13}C et du ^{15}N

Pendant les réactions biochimiques et chimiques, les isotopes stables d'un élément peuvent être fractionnés selon leur masse mais aussi selon la nature de la réaction. L'analyse isotopique du carbone (rapport $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ exprimé en $\delta^{13}\text{C}$) et de l'azote (rapport $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ exprimé en $\delta^{15}\text{N}$) fournit donc des informations sur l'origine des MOD et sur les réactions biogéochimiques dont elles résultent (Buffle, 1988).

Isotope 13 du carbone : L'abondance de l'isotope 13 du carbone par rapport à l'isotope majoritaire ^{12}C est de 1,1 %. Les valeurs du $\delta^{13}\text{C}$ sont très variables d'un milieu à l'autre (environ -10 à -35 ‰) (Buffle, 1988; Kracht, 2001). D'après les revues bibliographiques de (Deines, 1980; Kracht, 2001), plusieurs paramètres affectent la composition chimique du carbone organique d'un milieu considéré. Il s'agit principalement : du mécanisme de photosynthèse (donc du type de végétation) mis en jeu et de la composition structurale des végétaux présents dans le milieu et de l'effet de la chaîne trophique.

Isotope 15 de l'azote : L'abondance de l'isotope 15 de l'azote par rapport à l'isotope majoritaire ^{14}N est de 0,366 %. Comme pour le carbone, les valeurs du $\delta^{15}\text{N}$ sont variables d'un milieu à l'autre (-10 à 15 ‰) (Buffle, 1988; Kracht, 2001). Il est généralement admis que le cycle biogéochimique de l'azote est plus dynamique que celui du carbone dans les milieux aquatiques. Autrement dit, les transferts trophiques et les processus microbiens sont les facteurs les plus importants conduisant à des fractionnements isotopiques de l'azote (Macko and Estep, 1984; Schell *et al.*, 1998).

I.6.2. ANALYSES MOLECULAIRES

Plusieurs composés ou groupes de composés sont identifiables parmi l'ensemble de la MOD. Par exemple, les protéines, les polysaccharides, les lipides, sont quantifiables par des dosages colorimétriques, des hydrolyses, ou des dosages par chromatographie liquide à haute performance (HPLC). Les techniques de caractérisation moléculaire sont encore aujourd'hui en phase de développement telles que les méthodes de pyrolyse couplée à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse (pyrolyse-CG-SM) (Dignac *et al.*, 2001; Hatcher *et al.*, 2001; Labanowski, 2004) et les méthodes de chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (CPL/SM, CPL/SM/SM) (Reemtsma, 2001). Ces techniques précises et sensibles, mais aussi très lourdes à mettre en œuvre, permettent d'étudier la composition moléculaire de la MOD pour des composés à haut poids moléculaire (Dignac, 1998). Cependant pour les CPL/SM et CPL/SM/SM, une étape de développement de méthode tant dans la séparation que l'analyse spectrométrique massive est exigée avant de pouvoir évaluer le potentiel de ces techniques pour analyser la matière organique (Reemtsma, 2001). La pyrolyse couplée à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse reste pour l'instant la plus utilisée (McDonald *et al.*, 2004). Malgré cela, de par la grande complexité de la MOD et selon les protocoles employés, l'ensemble des analyses moléculaires ne permet pas de caractériser la MOD dans sa totalité. Ainsi une grande proportion de la MOD reste donc « irrésolue » par ce type d'analyse chimique et cette proportion varie selon l'origine de la MOD, son âge et donc son degré de biodégradation et de transformation (Hedges *et al.*, 2000).

I.6.3. ANALYSES FONCTIONNELLES

I.6.3.1. Spectroscopie InfraRouge à Transformée de Fourier (IRTF)

La spectroscopie infrarouge (IR) est largement répandue pour la caractérisation des SH (Davis *et al.*, 1999; Tanaka *et al.*, 2001) et plus particulièrement la spectroscopie IR à transformée de Fourier (IRTF). L'IRTF possède notamment une plus grande sensibilité grâce à un rapport signal sur bruit plus élevé. L'IRTF met en évidence la nature des liaisons (C-C, C-O, C-H, C-N, O-H, etc.) et donc les groupes fonctionnels par la vibration et la rotation de ces liaisons suite à l'absorption d'énergie. Cette technique demeure néanmoins uniquement qualitative suite à l'impossibilité de réaliser des pastilles solides parfaitement homogène. La détection d'un grand nombre d'espèces inorganiques permet également de contrôler la pureté de l'échantillon (Croué *et al.*, 2000). La plupart des études entreprises utilisent du bromure de potassium (KBr) en poudre (pour préparer des pastilles contenant l'échantillon étudié) qui, en raison de ses propriétés hygroscopiques, rend difficile l'élimination des interférences liées à l'eau dans les spectres (Tanaka *et al.*, 2001). En outre, dans certaines conditions, il a été rapporté que le KBr catalyse la décarboxylation des groupes fonctionnels acides, pouvant altérer de ce fait les substances humiques (Davis *et al.*, 1999). Ces problèmes peuvent potentiellement être surmontés par la préparation de l'échantillon sous forme de film, la mesure restant identique (Davis *et al.*, 1999). Ce protocole d'analyse reste néanmoins marginal.

I.6.3.2. Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire

La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) est également beaucoup utilisée pour l'étude des SH (Hatcher *et al.*, 2001; Cook, 2004). La RMN consiste à modifier le moment magnétique nucléaire lorsque celui-ci n'est pas nul. Autrement dit, il s'agit de faire passer le noyau d'un atome d'un niveau d'énergie à un autre par absorption d'un photon : lorsque l'énergie du photon et donc la fréquence de l'onde électromagnétique permet cette transition, il y a résonance. L'identification de composés spécifiques n'est pas possible avec cette technique pour l'analyse des MOD suite à la multitude de molécules présentes. L'information est alors fournie par la distribution de divers groupes fonctionnels présents. Cependant, pour des composés complexes, qui de plus sont mélangés, des recouvrements entre différentes zones de résonance peuvent se produire. Un signal bien défini est donc observé seulement quand un type de structure semblable prédomine. Bien que les RMN ^1H , ^{15}N et ^{13}C ont été employées pour étudier les substances humiques, seules les RMN ^{13}C et ^{15}N ont été utilisées de manière intensive (Hatcher *et al.*, 2001). La RMN ^{13}C a plusieurs avantages par rapport à la RMN du proton en termes de puissance : elle permet de fournir des informations sur le squelette carboné des structures organiques plutôt que sur la périphérie comme la RMN ^1H . En RMN du carbone, l'état

solide est privilégié car les fractions humiques (molécules complexes) se dissolvent mal dans les solvants pour la RMN liquide (Hatcher *et al.*, 2001). Cette mauvaise dissolution engendre de ce fait une importante surestimation des carbones aliphatiques et une sous-estimation des carbones aromatiques (Peuravuori *et al.*, 2003). Il est possible d'obtenir une réelle quantification en RMN du carbone à l'état solide grâce à un ajustement minutieux des paramètres analytique. Cependant les analyses sont très rarement utilisées dans ces conditions, les temps d'acquisition devenant excessivement longs (de plusieurs jours à une semaine) (Dudley and Fyfe, 1982; Poirier *et al.*, 2000; Gonzalez-Vila *et al.*, 2001). Néanmoins l'utilisation de cette méthode peut être utile en tant qu'outil de comparaison entre différents échantillons, si elle est alliée à une étude qualitative. La RMN 15N est principalement utilisée pour caractériser les formes d'azote des SH dans les sols (McDonald *et al.*, 2004). Bien que la RMN de ¹⁵N permette d'obtenir des informations sur les fonctions azotées, les spectres sont moins bien résolus qu'en RMN du ¹³C à cause du fort moment quadripolaire de l'azote mais aussi du faible pourcentage d'azote et de la plus faible proportion d'azote 15 en abondance naturelle (0.366% contre 1.1% de ¹³C) (McDonald *et al.*, 2004).

I.6.3.3. Spectroscopie de fluorescence moléculaire

Toute espèce moléculaire possède des états d'énergie propres, correspondant aux énergies électroniques, vibrationnelles et rotationnelles. Lorsqu'un rayonnement, matérialisé par un photon, transporte une énergie équivalente à celle qui existe entre deux niveaux d'énergie de la molécule, il existe une certaine probabilité pour qu'il y ait absorption de cette quantité d'énergie. La molécule qui était à l'état fondamental passe alors dans un état excité. La durée de vie de cet état excité est très courte. Les molécules se relaxent rapidement et peuvent perdre l'excédent d'énergie de manière radiative par l'émission d'un photon. Le processus radiatif par lequel s'effectue le retour à l'état fondamental à partir du niveau vibrationnel le plus bas du premier état excité singulet par émission d'un photon est appelé fluorescence (Yoo and Parker, 1968).

La fluorescence d'un composé dépend en premier lieu de sa structure moléculaire et elle est presque toujours associée au système électronique π d'une molécule insaturée. En effet, les transitions électroniques π - π^* sont moins énergétiques que les transitions σ - σ^* car les électrons π ne sont pas situés entre les deux atomes contribuant à la liaison chimique et sont donc plus libres que les électrons σ . La mesure de la fluorescence est soumise à certaines relations fondamentales rappelées ci-dessous.

- La loi de Beer-Lambert :

$$\text{Abs} = \log (I_0/I) = \epsilon.c.l$$

Où **Abs** est l'absorbance,
I₀ l'intensité incidente,
I l'intensité transmise,

ϵ le coefficient d'absorption molaire ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)
 c la concentration du soluté ($mol \cdot L^{-1}$),
 L le chemin optique (cm).

- Intensité de fluorescence :

$$I_f = K \cdot I_a \cdot \Phi_F$$

Où I_f est l'intensité de fluorescence,

K le facteur d'appareillage,

Φ_F le rendement quantique de la fluorescence.

$I_a = I_o \cdot 2,3 \cdot \epsilon \cdot c \cdot l$ quand $Abs \ll 0,1$.

Φ_F = nombre de photons émis par seconde / nombre de photons absorbés par seconde

Cette expression n'est valable que pour des valeurs d'absorbance faibles ($<0,1$). Il est donc nécessaire d'opérer dans un domaine de concentration faible afin d'avoir une relation linéaire entre I_f et c .

La spectroscopie de fluorescence permet d'obtenir deux principaux types de spectres :

- les spectres d'émission qui consistent à fixer une longueur d'onde d'excitation du rayonnement incident et à effectuer un balayage de la longueur d'onde d'émission en mesurant l'intensité de fluorescence pour chaque longueur d'onde d'émission
- les spectres d'excitation qui sont obtenus en fixant une longueur d'onde d'émission et en faisant varier la longueur d'onde d'excitation.

Les spectres d'excitation et d'émission d'un mélange complexe sont continus et sont la résultante de la superposition des spectres discrets des fluorophores qui le composent.

Les spectres de fluorescence synchrones ont été introduits plus récemment afin d'étudier des mélanges de fluorophores (Cooney *et al.*, 1977). Ils consistent à effectuer un balayage simultané d'une plage spectrale de longueurs d'onde d'excitation et d'émission présentant un écart ($\Delta\lambda$) constant. Ils permettent d'obtenir des spectres structurés à partir de mélanges dont les spectres classiques de fluorescence présentent des chevauchements de bandes de fluorescence non résolus.

Plus récemment encore, la spectrofluorimétrie 3D qui consiste à générer des matrices tridimensionnelles Excitation-Emission-Intensité est, aujourd'hui, la plus utilisée (Hudson *et al.*, 2007). Ces spectres 3D contiennent simultanément les spectres d'excitation, d'émission et synchrones. Ils permettent donc de visualiser le domaine spectral dans son ensemble et d'observer les maximas de fluorescence caractéristiques des fluorophores qui composent l'échantillon.

Il est important de noter que des phénomènes de diffusion de la lumière, les diffusions Rayleigh, Tyndall et Raman, vont contribuer à perturber les spectres de fluorescence. Les diffusions Rayleigh et Tyndall sont des diffusions élastiques de la lumière ce qui signifie sans changement de l'énergie des photons donc sans changement de la longueur d'onde par rapport à la lumière incidente.

La diffusion Rayleigh est causée par des molécules de taille plus petite que la longueur d'onde du faisceau incident avec lequel elles interagissent, comme les molécules d'eau par exemple. La diffusion Tyndall est due à des édifices moléculaires de tailles colloïdales (0,05 à 0,2 μ m). La diffusion Raman est de type inélastique et provient de la diffusion par les molécules de solvant d'une partie de la lumière incidente. La longueur d'onde d'émission de la bande Raman dépend de la nature des molécules du solvant utilisé.

I.6.3.3.1. Les propriétés de fluorescence de la MOD : intensités et rapports d'intensité des bandes de fluorescence caractéristiques

La spectroscopie de fluorescence permet une discrimination aisée des échantillons de MOD (Kalbitz *et al.*, 1999; Peuravuori *et al.*, 2002a). Elle offre également une bonne sensibilité pouvant expliquer qu'elle ait été appliquée à l'origine à la MOD marine (Coble, 1996), dont les concentrations sont faibles. Cependant l'interprétation des spectres obtenus reste difficile pour identifier des fonctions puisque seuls 5 fluorophores caractéristiques sont actuellement « identifiés » dont 3 sont liés aux substances humiques (molécules difficilement identifiables) (Hudson *et al.*, 2007). Ces bandes de fluorescence sont cités dans le *Tableau 2* et désignées sur la *Figure 3*.

Nomenclature		λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	Type de fluorophores
(Coble, 1996)	(Parlanti <i>et al.</i> , 2000)	excitation	émission	
A	α'	230-260	380-480	Substances humiques
C	α	330-370	420-480	Substances humiques
M	β	310-320	380-420	Substances humiques marines
B	γ	225-250	300-320	Protéine type tyrosine
T	δ	225-275	320-380	Protéine type tryptophane

Tableau 2. Fluorophores majeurs de la MOD d'après (Coble, 1996); (Hudson *et al.*, 2007); (Parlanti *et al.*, 2002).

La bande de fluorescence notée α est observée à des couples de longueurs d'ondes comprises entre 330 et 370 nm en excitation et entre 420 et 480 nm en émission. Cette bande est attribuée aux substances humiques, acides humiques et acides fulviques confondus.

La bande α' (Exc. 230-260/ Em. 380-480) est elle aussi attribuée aux substances humiques. Plusieurs études ont tenté d'attribuer cette bande à des composés plutôt de type fulviques (Mounier *et al.*, 1999) en se basant sur son intensité relative plus importante dans des fractions de plus faibles poids moléculaires où les acides fulviques sont en proportion plus importante. Cependant il n'est pas possible d'être aussi catégorique puisqu'en fait, les bandes α et α' sont systématiquement présentes

ensembles sur tous les spectres d'échantillons d'eaux naturelles et également sur les spectres d'acides humiques ou d'acides fulviques (Vacher, 2004b). Ces deux fluorophores sont communs aux deux groupes, humiques et fulviques et leurs concentrations relatives (intensités des bandes α et α') varient de façon indépendante en fonction de la nature et de l'origine de l'échantillon considéré (Vacher, 2004b).

La bande notée β a été attribuée à du matériel de type humique d'origine purement marine par (Coble, 1996) et a pu être observée dans le cas d'échantillons marins ou estuariens (Sierra *et al.*, 1994) dans la zone du spectre allant de 310-320 nm en excitation et 380-420 nm en émission. Elle a également été isolée et observée dans une fraction chromatographique d'un échantillon d'eau côtière (Parlanti *et al.*, 2002). Cette bande est rarement observée de façon très nette et il s'agit plus généralement d'un épaulement qui se détache du massif des substances humiques α . L'origine de ce type de fluorophore a plus précisément été reliée à une activité biologique et notamment à des exsudats algaux puisqu'elle a été observée au cours d'expériences de dégradation de phytoplancton et de macro algues (Parlanti *et al.*, 2000). Cependant, le fait que ce fluorophore n'ait pas été mis en évidence dans les eaux douces continentales ne nous permet pas d'affirmer de façon catégorique son origine purement marine. En effet, l'importante intensité de fluorescence des substances humiques dans les échantillons peut totalement masquer le signal de la bande β ou d'autres fluorophores présents à de plus faibles concentrations.

La bande γ , associée aux protéines de type tyrosine, peut être observée pour des longueurs d'ondes comprises entre 225 et 250 nm en excitation et entre 300 et 320 nm en émission. La bande δ , associée aux protéines de type tryptophane, peut être observée pour des longueurs d'onde comprises entre 225 et 275 nm en excitation et entre 320 et 380 nm en émission. Ces bandes sont très proches l'une de l'autre et sont de fait parfois difficiles à discerner en raison de leur superposition. Compte tenu de la difficulté à différencier les signaux de fluorescence des types δ et γ , nous avons choisi de regrouper sous le terme de bande γ le signal de tous les composés de type protéiques qui fluorescent dans le domaine spectral compris entre les longueurs d'onde d'excitation 220 à 280 nm et d'émission 300 à 380 nm. Ces fluorophores ont une origine biologique algale ou bactérienne récente et correspondent à une fraction très labile de la MOD (Determann *et al.*, 1998). Il a également été montré que la forte intensité de fluorescence des composés de types protéiques peut être utilisée comme marqueur de la MOD d'origine anthropique (rejets de stations d'épuration et effluents urbains) (Reynolds and Ahmad, 1997; Galapate *et al.*, 1998; Baker *et al.*, 2003; Reynolds, 2003; Baker and Spencer, 2004). De même, (Pernet-Coudrier, 2008) a démontré que les fractions issues des effluents de STEP présentent une forte intensité des pics attribués aux composés protéiques aromatiques de type tryptophane aux longueurs d'onde suivantes : Ex/Em : 220 nm/350 nm et Ex/Em : 280 nm/350 nm; et de type tyrosine Ex/Em : 220 nm/300 nm.

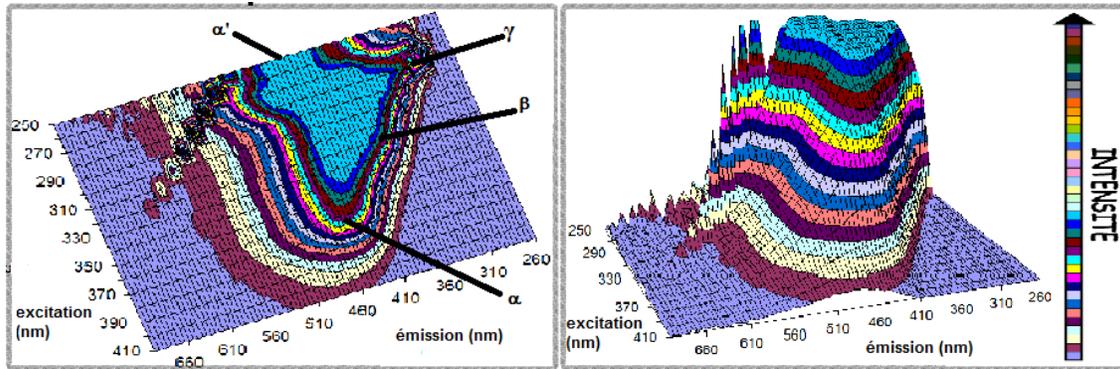


Figure 3. Spectre de fluorescence 3D d'un échantillon et sa projection dans le plan

Au-delà de la simple mesure de l'intensité des différentes bandes de fluorescence, certains s'intéressent aussi à étudier les rapports d'intensité $I_{\alpha'}/I_{\alpha}$, I_{β}/I_{α} et I_{γ}/I_{α} (la bande α est donc prise comme référence) (Vacher, 2004b). Cela permet de mettre en évidence la présence et l'évolution de toutes les bandes et ainsi d'observer les modifications du matériel organique dissous fluorescent. Par exemple, parmi ces rapports d'intensité, il y a le rapport I_{γ}/I_{α} qui renseigne sur le caractère autochtone récent de la MOD puisque le fluorophore γ est attribué à des composés labiles, composés protéiques, mais distincts des composés de type β , tandis que α est associé à des composés humiques donc plus matures.

Les gammes de valeurs obtenues pour le rapport I_{γ}/I_{α} et les caractéristiques de la MOD associées à ces valeurs ont été regrouperées dans le *Tableau 3* (Vacher, 2004a).

Indice de fluorescence	Ordre de grandeur	Caractéristiques de la MOD
Rapport I_{γ}/I_{α}	<0,75	Caractère humique dominant
	0,75-1,4	Composante autochtone : composés organiques labiles
	>1,4	Origine biologique ou bactérienne aquatique

Tableau 3. Origines et caractéristiques de la MOD associées aux gammes de valeurs obtenues pour le rapport I_{γ}/I_{α}

Suivi par fluorescence des processus en milieu aquatique :

Outre l'observation et l'attribution des différentes bandes de fluorescence décrites ci-dessus, la spectrofluorimétrie permet d'étudier divers processus au travers des intensités relatives et des variations de position des maxima de ces bandes. Ainsi les travaux de (Parlanti *et al.*, 2000) sur le suivi par fluorescence de la dégradation d'algues a permis de mettre en évidence la chronologie de formation des composés fluorescents et de montrer la possibilité d'utiliser la fluorescence pour estimer l'activité biologique au sein d'un milieu. Les résultats obtenus dans cette étude montrent que lors des premiers stades de dégradation ou d'exsudation, la bande γ apparaît en premier confirmant bien les

résultats de (Mayer *et al.*, 1999) sur l'origine récente de ce type de matériel. La bande β apparaît ensuite et provient probablement des transformations des premiers composés formés, avant d'aboutir finalement à l'apparition de la bande de type α décalée vers les plus grandes longueurs d'onde d'émission, c'est à dire de composés humiques qui représentent le stade ultime de dégradation de la MOD ayant subi de nombreuses transformations. L'évolution vers les plus grandes longueurs d'ondes d'émission (décalage vers le rouge) des maxima de fluorescence des substances humiques pour des longueurs d'onde d'excitation de 250 nm (α') et 370 nm (α) semblent de plus indiquer une plus forte dégradation car cela a conduit à l'introduction d'un indice d'humification qui permet de rendre compte de la maturation de la MOD (Zsolnay *et al.*, 1999).

I.6.3.3.2. Les propriétés de fluorescence de la MOD : indices de fluorescence caractéristiques

- L'indice d'humification HIX

Un indice d'humification de la MOD dans les sols noté HIX qui permet de comparer des échantillons en termes de maturation de la MOD a été introduit récemment (Zsolnay *et al.*, 1999). Cet indice est calculé en effectuant le rapport des aires entre les domaines H et L du spectre d'émission pour une excitation à 254 nm (Figure 4). Ces deux domaines sont délimités entre les longueurs d'ondes d'émission 300 et 345 nm pour L et entre 435 et 480 nm pour H. La valeur de HIX est alors donnée par le rapport H/L. (Zsolnay, 2003) relie l'indice d'humification (HIX) à l'augmentation du ratio C/H s'effectuant au cours de l'humification qui crée un décalage vers de plus grandes longueurs d'ondes. Des valeurs plus élevées de l'HIX sont donc indicatrices des états avancés d'humification de la matière organique en question.

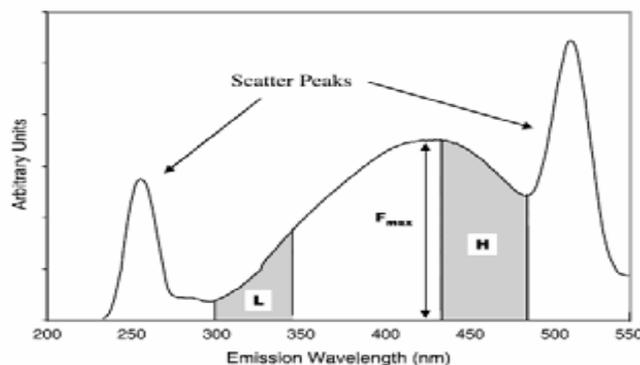


Figure 4. Spectre d'émission schématique pour une excitation à 254 nm permettant le calcul de l'indice HIX (adapté de (Zsolnay *et al.*, 1999)).

De plus, (Fiedler and Kalbitz, 2003) ont montré que l'indice HIX permet de juger de la complexité et du degré de condensation de la MOD et que ce paramètre donne une indication sur la relative stabilité des composés organiques vis-à-vis de l'activité microbienne.

L'indice HIX a souvent été utilisé dans le cadre de l'étude de la MOD issue des sols (Zsolnay *et al.*, 1999; Cox *et al.*, 2000; Fiedler and Kalbitz, 2003; Marschner and Kalbitz, 2003). Vacher, dans son étude en 2004 (Vacher, 2004a), a été la première à appliquer le paramètre HIX à des échantillons issus des systèmes aquatiques et a démontré que cet indice est plus élevé pour des échantillons provenant des rivières et des estuaires que pour des échantillons d'origine marine. Pour des échantillons issus d'estuaires, des valeurs élevées de HIX ont été observées durant la période hivernale qui correspond à la présence des composés plus humifiés sans doute en raison d'un apport de MO provenant du lessivage des sols comparées à la période estivale où les valeurs plus faibles de HIX attestent la présence de composés moins humifiés probablement en raison d'une activité biologique plus intense (Vacher, 2004a).

(Vacher, 2004b) propose à partir des valeurs de l'indice HIX d'établir la typologie de la MOD (Tableau 4) dans des échantillons d'eaux estuariennes ou côtières. Les valeurs élevées de l'indice HIX traduisent les caractéristiques d'un matériel organique fortement humifié témoignant d'une origine terrigène prépondérante. Les valeurs les plus faibles de cet indice indiquent un matériel organique peu mature donc une origine récente et autochtone de la MOD quasi exclusive. Les valeurs intermédiaires traduisent donc le mélange de ces deux composantes.

Indice de fluorescence	Ordre de grandeur	Caractéristiques de la MOD
HIX	16-10	Caractère humique fort-apports terrigènes importants
	10-6	Composante humique importante + composante autochtone récente
	6-4	Caractère humique terrigène faible + composante autochtone récente importante
	< 4	Origine biologique ou bactérienne aquatique

Tableau 4: Origines et caractéristiques de la MOD associées aux gammes de valeurs obtenues pour l'indice HIX (Vacher, 2004a).

- L'indice de fluorescence relatif au fluorophore β

Si l'on considère le spectre d'émission pour une excitation à 310 nm (Figure 5), on peut suivre l'influence relative du fluorophore β en divisant l'intensité de fluorescence émise à 380 nm par celle

émise à 430 nm qui correspond à l'influence de la bande α en se basant sur le fait de l'élargissement vers les plus courtes longueurs d'ondes du spectre d'émission lors de la présence de l'épaulement β (Sierra *et al.*, 1994; Coble, 1996; Parlanti *et al.*, 2002). Cet indice BIX est noté encore f380/f430 du fait de son mode de calcul : rapport des intensités $I_{em\ 380} / I_{em\ 430}$ déterminé pour une excitation à 310 nm.

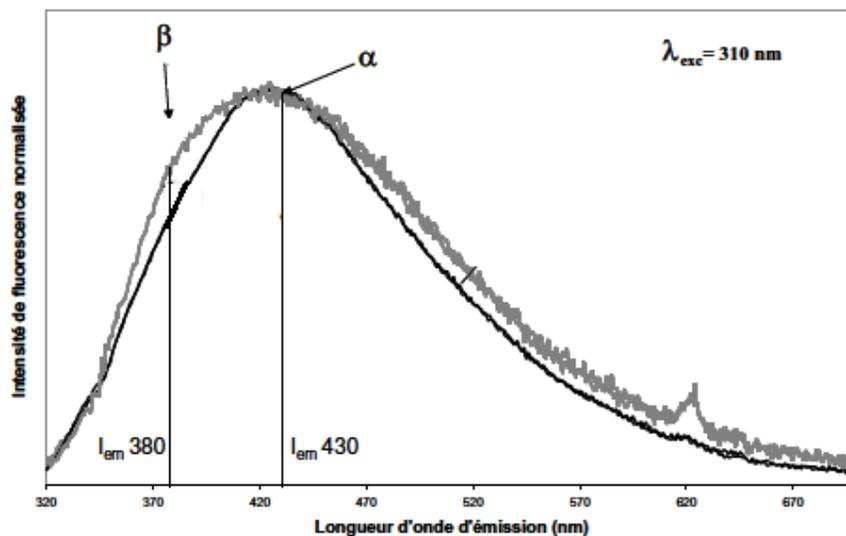


Figure 5. Spectre d'émission schématique pour une excitation à 310nm montrant les deux pics des fluorophores α et β .

Ce type de paramètre peut éventuellement être plus représentatif que le rapport I_{β}/I_{α} utilisé précédemment, puisqu'il ne s'agit plus ici de rapport de contribution relative entre deux fluorophores mais de l'influence de l'épaulement β au sein du massif fluorescent à 310 nm. Comme cette composante β est liée à une activité biologique, cet indice de fluorescence est bien adapté pour estimer globalement la composante biologique autochtone au sein des échantillons provenant des systèmes aquatiques.

Une gamme des valeurs obtenues pour des échantillons d'eaux estuariennes de cet indice de fluorescence et les caractéristiques de la MOD associées à ces valeurs, a été déterminée par (Vacher, 2004b) et est présentée, à titre d'exemple, dans le *Tableau 5*.

Indice de fluorescence	Ordre de grandeur	Caractéristiques de la MOD
f380/f430	0,6-0,7	Faible activité biologique
	0,7-0,8	Activité biologique moyenne
	0,8-1	Forte activité biologique
	>1	Origine biologique ou bactérienne aquatique

Tableau 5. Origines et caractéristiques de la MOD associées aux gammes de valeurs obtenues pour l'indice BIX.

I.6.3.4. Spectroscopie d'absorption UV-visible

La MOD possède de nombreux groupements fonctionnels appelés chromophores. Ces molécules absorbent des photons de radiations UV et visible (≈ 250 à 500 nm) qui vont les exciter et les conduire à des niveaux d'énergie électronique plus élevés. Les excitations électroniques observées pour la MOD correspondent à des énergies d'environ 250 à 500 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, caractéristiques des transitions électroniques $\pi \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$, les autres étant généralement trop énergétiques pour être observées à ces longueurs d'onde (Figure 6). Ces transitions électroniques peuvent donc avoir lieu uniquement dans des molécules pourvues d'électrons π (doubles et triples liaisons, noyaux aromatiques) et/ou d'hétéroatomes possédant des électrons non liants.

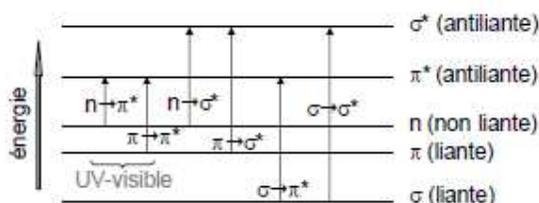


Figure 6. Transitions électroniques entre orbitales moléculaires

Il est théoriquement possible de déterminer les chromophores présents dans l'échantillon selon la longueur d'onde de l'absorbance. Cependant, l'environnement des atomes subissant l'excitation électronique peut modifier les longueurs d'onde ainsi que la valeur de l'absorbance. La présence de certains substituants et surtout la conjugaison peuvent augmenter les longueurs d'onde d'absorbance et l'absorbance des molécules. Les molécules aromatiques ont donc des absorbances plus importantes et qui sont déplacées vers les grandes longueurs d'onde lorsque le nombre de noyaux aromatiques conjugués augmente. L'une des principales caractéristiques que le spectre d'absorption peut permettre de déterminer est donc l'aromaticité d'un échantillon. Certaines longueurs d'onde ont ainsi été utilisées pour caractériser la MOD. Par exemple, l'aromaticité d'un échantillon est souvent corrélée à

l'absorbance à 254 nm (Pankasem *et al.*, 1994; Weishaar *et al.*, 2003; Akkanen *et al.*, 2005; Saadi *et al.*, 2006).

Des rapports d'absorbance sont aussi utilisés comme par exemple, le rapport E4/E6 qui correspond à l'absorbance mesurée à 465 nm divisée par l'absorbance mesurée à 665 nm. Ce rapport est souvent utilisé pour caractériser la taille moyenne des macromolécules, puisque certains auteurs ont noté une diminution du rapport E4/E6 lorsque la taille moyenne des macromolécules augmente (Thomsen *et al.*, 2002). Cependant, cet indicateur est surtout valide pour les matières organiques des sols et plusieurs études récentes montrent le manque de relation claire entre ce rapport d'absorbance et le degré « d'humification », de maturation de la MOD aquatique (Peuravuori *et al.*, 1997; Chen *et al.*, 2003). Aujourd'hui la mesure de SUVA, Specific UV Absorbance : c'est-à-dire la mesure de l'absorbance spécifique à une longueur d'onde (souvent à 254 nm) normalisée par la concentration en COD, est utilisée en routine comme indicateur simple et rapide de l'aromaticité de la MOD (Croue *et al.*, 2003).

I.7. CONCLUSIONS BIBLIOGRAPHIQUES

De par sa composition complexe l'étude de la MOD n'est pas aisée. Les études globales ont l'avantage de ne pas altérer la MOD lors de l'analyse. Cependant la faible quantité d'information obtenue et la difficulté de caractériser et d'expliquer les interactions métaux – MOD (Buffle, 1988) nous ont conduit à choisir une analyse fractionnée de la MOD. Plusieurs méthodes de fractionnement existent selon différents critères physico-chimiques. Toutes peuvent modifier de façon plus ou moins importante la MOD. Le fractionnement à l'aide des résines non ioniques DAX-8 et XAD-4 et des résines échangeuses d'ions AGMP-50 et AGMP-1 est envisagé. Il a l'avantage de répondre à une importante cadence analytique en évitant la longue étape de purification de la MOD hydrophile, comme il a été déjà mentionné. Les analyses du Carbone Organique Dissous (COD) ainsi que les analyses fonctionnelles (UV-vis, spectrofluorescence) permettront par une approche multidimensionnelle de caractériser chimiquement les différentes MOD prélevées et fractionnées. De plus il est important de souligner que la plupart des études précédemment citées à l'exception de quelques récents travaux (Imai *et al.*, 2001; Ma *et al.*, 2001; Drewes *et al.*, 2002; Imai *et al.*, 2002; Jarusutthirak *et al.*, 2002; Leenheer and Rostad, 2004; Sarathy and Allen, 2005; Sirivedhin and Gray, 2005; Jarusutthirak and Amy, 2006; Jarusutthirak and Amy, 2007; Wang *et al.*, 2007; Nam and Amy, 2008a; Pernet-Coudrier, 2008; Muresan *et al.*, 2011; Pernet-Coudrier *et al.*, 2011b), tous sont focalisées sur la MOD d'origine naturelle et plus particulièrement sur la fraction la plus hydrophobe : les substances humiques. Cependant, même si ces récents travaux étaient consacrés à l'étude de la MOD d'origine urbaine, rares sont ceux qui portent sur l'étude de la MOD dans les milieux récepteurs sous forte pression urbaine en prenant en compte d'une part ses évolutions spatiales à la traversée

d'une grande agglomération et d'autre part sa variabilité temporelle dans le milieu récepteur mais également dans les rejets urbains de temps sec et de temps de pluie.

II. Matériels et Méthodes

De par sa nature très variable, il est difficile de fournir une « carte d'identité » de la matière organique dissoute (MOD) dans un milieu aquatique. Les méthodes de caractérisation de la MOD sont diverses, et dépendent de l'objectif de l'étude. Ainsi, la matière organique sera plutôt étudiée du point de vue de sa polarité et/ou de sa composition moléculaire quand il s'agit de comprendre le fonctionnement écologique et dynamique de l'écosystème. Notre étude s'attache à caractériser la MOD dans son ensemble (hydrophobe-transphilique-hydrophile) dans les milieux aquatiques sous forte pression urbaine. Le site d'étude est l'agglomération parisienne. Il s'agit donc de caractériser la MOD provenant de l'amont (encore relativement peu impacté par l'urbanisation) et de l'aval de l'agglomération parisienne et également, provenant des rejets urbains de temps sec et de temps de pluie. Un effort tout particulier est apporté dans la prise en compte de la variabilité spatio-temporelle de la MOD que ce soit dans le milieu récepteur ou dans les rejets urbains. Dans un second temps, les interactions entre la MOD échantillonnée dans le cadre de cette première partie et les éléments traces métalliques seront étudiées. Cela nous permettra de mieux estimer l'impact de la matière organique dissoute sur la spéciation et la biodisponibilité des métaux dans les milieux aquatiques sous forte pression urbaine en prenant en compte d'une part les caractéristiques très spécifiques de la MOD d'origine urbaine avec notamment une composante hydrophile souvent prépondérante et dont les interactions avec les métaux sont très peu étudiées spécifiquement et d'autre part les variations spatio-temporelles des caractéristiques de la MOD dans le milieu récepteur.

Dans ce chapitre est présentée la méthodologie que nous avons employée pour échantillonner, fractionner et caractériser la matière organique dissoute.

II.1. PROTOCOLE DE FRACTIONNEMENT DE LA MATIERE ORGANIQUE DISSOUTE

Afin de pouvoir étudier séparément les différentes fractions de la MOD, en particulier la fraction hydrophile, la MOD des différents échantillons prélevés a été fractionnée selon des critères de polarité. Les protocoles de fractionnement utilisant des résines non ioniques et permettant d'obtenir les fractions hydrophobe et transphilique par simple élution ont déjà été utilisés au laboratoire (Pernet-Coudrier, 2008). A l'époque l'objectif était déjà d'étudier spécifiquement la MO hydrophile. Pour cela, la fraction hydrophile était récupérée grâce à une délicate opération d'extraction et de purification. En effet la séparation de la MO des sels initialement contenus dans l'échantillon non retenus par la résine nécessite d'une part une très longue étape de purification (une à deux semaines par échantillon) et d'autre part entraîne une perte importante de MO en raison de la coprécipitation

avec les sels qui sont éliminés. Cette très longue étape de purification a donc été abandonnée afin d'augmenter notre cadence analytique. En effet, l'un des objectifs de ce travail est de prendre en compte la variabilité spatio-temporelle de la MOD dans les milieux aquatiques mais aussi dans les différents rejets urbains ce qui nécessite une cadence analytique tout à fait incompatible avec une purification de la fraction hydrophile.

Le protocole a donc dû être modifié de façon à réduire sensiblement la durée de ces opérations tout en fractionnant la MOD afin d'étudier spécifiquement la MO hydrophile ce qui est le cœur de ce travail.

II.1.1. CHOIX DES RESINES POUR LE FRACTIONNEMENT DE LA MOD

Fractionnement de la MOD hydrophobe et transphilique

- Résines macroporeuses non ioniques : La bibliographie concernant les deux protocoles de fractionnement envisagés (Thurman and Malcolm, 1981b; Malcolm and Maccarthy, 1992) rapporte essentiellement l'emploi des résines XAD 2 ou XAD 7 ou XAD 8 ou DAX 8 pour les protocoles de (Thurman and Malcolm, 1981b) et les résines XAD 7 ou XAD 8 ou DAX 8 associées à la résine XAD 4 pour les protocoles de type (Malcolm and Maccarthy, 1992). De ce fait, un grand nombre d'études ont été réalisées afin de comparer l'efficacité des résines XAD 2, XAD 7 et XAD 8 vis à vis de la rétention et de la désorption de la MOD. La résine XAD-8, grâce à des rendements d'extraction satisfaisants et une meilleure séparation des fractions, est la plus utilisée (Aiken *et al.*, 1979; Thurman and Malcolm, 1981b). Récemment de nouvelles résines nommées DAX-8, composées de méthacrylate de polyméthyle, ont été développées. Possédant des propriétés de sorption et désorption hydrophile - hydrophobe plus favorables (Peuravuori *et al.*, 2001; Peuravuori *et al.*, 2002b; Labanowski, 2004), ces résines DAX-8 remplacent désormais les résines XAD-8 permettant ainsi une séparation plus fine des SH et SNH. Aussi, nous avons décidé de choisir les deux résines présentant la meilleure adsorption DAX-8 et XAD-4 afin de retenir d'une part la fraction hydrophobe et d'autre part la fraction transphilique de la MOD. La rétention de la matière organique sur ces résines repose sur un équilibre soluté/résine, contrôlé par les propriétés physico-chimiques de la surface. Le phénomène est essentiellement de type physique (forces de Van der Waals) plutôt que chimique car ces résines sont dépourvues de sites fonctionnels. Les deux fractions hydrophobes et transphiliques qui sont retenues respectivement sur DAX-8 et XAD-4 sont quasiment séparées de sels contenus dans l'échantillon filtré.

Fractionnement de la MOD hydrophile

Dans le cadre du travail de thèse de Benoit Pernet-Coudrier réalisé au LEESU, la proportion importante de MO hydrophile dans les rejets urbains ainsi que le rôle considérable de cette fraction hydrophile sur la spéciation et la biodisponibilité des métaux a été mis en évidence (Pernet-Coudrier,

2008; Pernet-coudrier *et al.*, 2008; Pernet-Coudrier *et al.*, 2011a). Afin de mieux évaluer le type de molécules de la fraction HPI impliquées dans ces interactions fortes avec les métaux, il a été décidé de fractionner la fraction HPI selon des critères d'acidité. Pour ce faire, nous avons choisi d'utiliser des résines échangeuses d'ions.

Résines Echangeuses d'Ions : D'après la littérature, plusieurs résines échangeuses d'ions ont été utilisées afin de fractionner la MOD hydrophile. La résine AGMP-50, échangeuse de cations a été utilisée pour retenir la fraction hydrophile basique, et l'AGMP-1 résine échangeuse d'anions pour retenir la fraction hydrophile acide (sous forme d'anions lorsqu'elle est déprotonnée) (Imai *et al.*, 2002). Le même principe a été appliqué en remplaçant, cependant, les résines AGMP-50 et AGMP-1, respectivement, par la DOWEX Marathon MSC, résine échangeuse de cations, et par la Duolite A-7, résine échangeuse d'anions (Zhang *et al.*, 2008). (Hu *et al.*, 2003b) ont choisi la même procédure développée par (Leenheer, 1981) et (Thurman and Malcolm, 1981b) sauf que la résine échangeuse d'anions Duolite A-7 a été remplacée par la résine Amberlite IRA-96, tout en utilisant AGMP-50. La résine échangeuse d'anions WA-10 a été utilisée par (Panyapinyopol *et al.*, 2005) avec l'AGMP-50. Parmi toutes ces résines, nous avons sélectionné les deux résines échangeuses cationiques et anioniques AGMP-50 et AGMP-1 (Bio-Rad) (composées de même squelette polystyrène divinylbenzène greffée avec des groupements actifs différents respectivement des fonctions de type acide sulfonique ($R-SO_3^-$) pour la résine échangeuse cationique AGMP-50 et des fonctions de type ammonium quaternaire ($R-CH_2N(CH_3)_3^+$) pour la résine échangeuse anionique AGMP-1) afin de retenir respectivement les fractions hydrophiles basiques (HPI-B) et acides (HPI-A). La fraction HPI neutre n'est pas retenue par les résines.

II.1.2. APPLICATION DU PROTOCOLE DE FRACTIONNEMENT

Ce schéma de fractionnement de la MOD a été appliqué pour tous les échantillons étudiés. Comme le montre la *Figure 7*, ce protocole est partagé en trois étapes détaillées dans la suite. Notons qu'à part le prélèvement de l'échantillon, toutes les autres étapes ont été réalisées au laboratoire. Le fractionnement de la MOD est bien entendu un outil de caractérisation de la MOD en soi. Les sorties de résine ont été caractérisées plus finement par des outils divers (spectrofluorescence et absorption UV-visible) et les interactions de la MOD contenue dans ces sorties de résine avec les métaux ont été étudiées (Partie B).

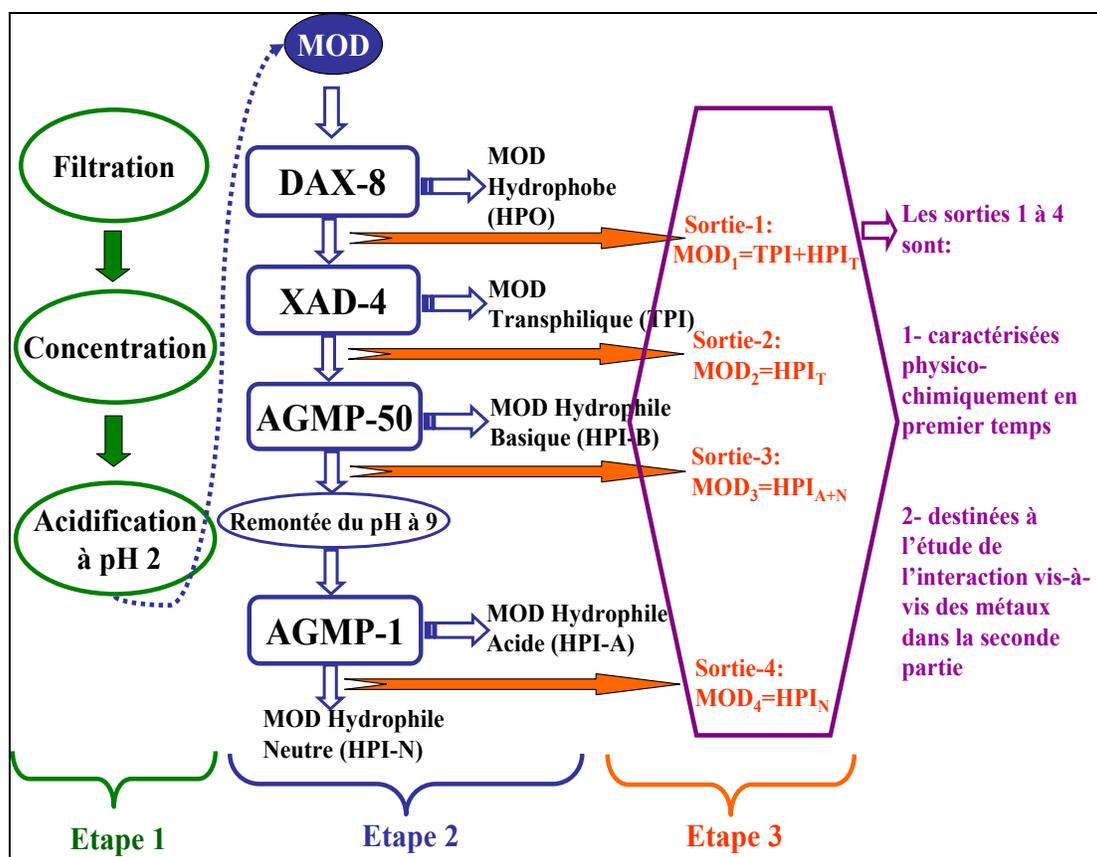


Figure 7: Schéma du protocole de fractionnement de la Matière Organique Dissoute MOD
 (HPI_T : fraction hydrophile totale ; HPI_{A+N} : fractions hydrophiles acides et neutres ; HPI_N : fraction hydrophile neutre)

II.1.2.1. Etape 1 - Filtration, concentration et acidification de l'échantillon brut

1. La filtration : a pour but de séparer la phase particulaire de la matière organique de la phase dissoute. Le volume prélevé qui varie entre 5 et 20 litres selon les sites d'étude (à voir par la suite) est filtré sur un filtre GF/F de porosité $0,7\mu\text{m}$ préalablement grillé à 450°C de façon à éliminer les éventuelles contaminations organiques.
2. La concentration : afin d'obtenir des solutions en sortie de résine suffisamment concentrées en COD pour les analyses ultérieures et également afin de minimiser le temps de fractionnement, il est nécessaire de concentrer la MOD. Les filtrats ont donc subi une évaporation rotative sous-vide (Rotavapor labo R-210/215 de BUCHI). La température du bain chauffant a été fixée à 40°C pour ne pas dégrader la matière organique avec une pression égale à 26 mbar. Théoriquement, l'évapo-concentration, est une opération unitaire de séparation de deux constituants liquides par passage d'un de ces composants de l'état liquide à l'état de vapeur. Dans notre cas, l'eau est le constituant qui est vaporisé et la MOD est le constituant qui se concentre dans la solution (nommé concentrat). Un prélèvement régulier du solvant vaporisé

et condensé, qui est dans notre cas l'eau, a été réalisé pour l'analyse de COD afin d'estimer la perte de MOD lors de la concentration.

3. L'acidification : une fois que la concentration est terminée, le concentrat est acidifié avec de l'acide chlorhydrique (non oxydant) jusqu'à un pH de 2 et conservé à une température de 5°C dans l'obscurité au cas où le fractionnement n'aura pas lieu le jour même. L'acidification à pH 2 est d'une part une étape principale dans le protocole de fractionnement et permet la rétention de la fraction hydrophobe (HPO) sur la résine DAX-8. Il a été montré que cette technique ne semble pas destructive et que les changements de structures engendrés sont faibles (Peuravuori *et al.*, 2005).

II.1.2.2. Etape 2 – Protocole de fractionnement de la MOD sur les résines ioniques et non-ioniques

Le fractionnement sur résines est une technique chromatographique, contrôlée par les propriétés physico-chimiques de la surface des billes poreuses constituant les résines. Dans le cas des résines DAX-8 et XAD-4, le phénomène d'adsorption est principalement de type physique (force de Van der Waals) et se fait par l'intermédiaire de groupes hydrophobes, les forces régissant l'adsorption étant relativement faibles (20 à 40 kJ.mol⁻¹) comparées aux liaisons covalentes. Dans le cas des résines ioniques AGMP-50 et AGMP-1, le phénomène d'adsorption repose sur des interactions électrostatiques entre les composés fixés et le matériau adsorbant.

Avant de réaliser le fractionnement de la MOD, il est indispensable de décontaminer les résines afin de les débarrasser des impuretés qu'elles peuvent contenir (monomères de constitution, agents conservateurs). Une procédure de décontamination des résines a été mise en place basée sur des protocoles publiés dans la littérature.

Décontamination des résines :

- Procédure de lavage de résines non ioniques :

La procédure de lavage des résines DAX-8 et XAD-4 comporte deux lavages successives, le premier lavage avec la soude (0,1 mol.l⁻¹) en agitation pendant une semaine et le second lavage se fait dans un extracteur solide liquide (soxhlet) avec du dichlorométhane pendant 24 h puis de l'acétonitrile pendant 48 h (protocole détaillé par (Aiken *et al.*, 1992)).

- Procédure de lavage de résines échangeuses d'ions :

La procédure de lavage des résines AGMP-50 et AGMP-1 repose également sur deux lavages successifs. Le premier comporte un lavage avec de l'acide chlorhydrique (1 mol.l⁻¹) puis un lavage avec de la soude (0,5 mol.l⁻¹) sous agitation et chacun pendant une semaine. Le deuxième lavage est

réalisé dans un extracteur solide liquide (soxhlet) avec du méthanol pendant 24 heures puis avec du n-pentane pendant 24 heures (protocole détaillé par (Tang, 1981)).

Une série de rinçages des résines par de l'eau déionisée ultrapure (18,2 Mohms / Elga®) est ensuite réalisée jusqu'à l'obtention d'une concentration en COD inférieure à 0,5 mgC.l⁻¹ dans l'effluent de chaque résine.

Fractionnement de la MOD et courbes de percée des résines:

- Fractionnement de la MOD :

La fixation d'un composé (soluté S) à l'intérieur des pores d'un matériau solide (adsorbant A) peut être schématisée de la manière suivante :



Avec K coefficient de partage.

Le facteur de capacité (k') est obtenu en multipliant K par la porosité de la résine utilisée. La transcription des plages de volumes de travail en plage de coefficients de partition sur les résines est donnée par la formule suivante (Malcolm and Maccarthy, 1992).

$$k' = (V_p / (0,6 \times V_r)) - 1$$

La valeur du facteur de capacité k' révèle une grande importance puisque ce paramètre contrôle le rapport du volume d'échantillon percolé (V_p) sur le volume de résine (V_r).

Pour (Leenheer, 1981), les substances humiques sont définies par la rétention à 50% d'un composé présentant un k' de 50 sur résine XAD-8. Cette définition opérationnelle des substances humiques, validée par l'IHSS, est utilisée dans de nombreuses études (Leenheer, 1981; Aiken *et al.*, 1992; Violleau, 1999; Croue, 2004). Il a été montré que l'utilisation d'un facteur de capacité k' compris entre 50 et 100 n'affectait que très faiblement la répartition du COD (Labanowski, 2004).

Nous avons choisi d'appliquer un facteur de capacité k' de 100 pour les résines DAX-8 et XAD-4 qui est utilisé dans de nombreuses études (Thurman and Malcolm, 1981b; Labanowski, 2004) ainsi que pour les résines AGMP-50 et AGMP-1.

La solution préalablement filtrée et concentrée est injectée à l'aide d'une pompe péristaltique (Symantec) à travers les colonnes remplies de résine (DAX-8, XAD-4, AGMP-50 et AGMP-1) à un débit de dix volumes d'échantillon par volume de résine et par heure (10V/V/H). La littérature indique que les facteurs de capacité chutent au delà d'un débit de 20V/V/H (Thurman *et al.*, 1978). Nos colonnes sont d'un volume de 20 ml et sont remplies d'un volume de 10 à 15 ml de résine. Le volume d'échantillon préconcentré injecté sur les résines varie d'un échantillon à l'autre et est compris entre 500 et 800 ml.

L'échantillon, filtré (0,7 μ m), concentré et acidifié à pH 2 avec de l'acide chlorhydrique, est percolé successivement sur chacune des résines comme le montre la *Figure 7*. La première résine DAX-8 retient la fraction hydrophobe (HPO). L'effluent de la résine DAX-8 passe ensuite à travers la deuxième résine XAD-4 qui retient la fraction transphile (TPI). L'effluent ainsi collecté contient alors la fraction hydrophile totale (HPI_{totale}). Cette dernière fraction (HPI_{totale}) est à son tour fractionnée sur les deux résines successives AGMP-50 et AGMP-1. L'AGMP-50 retient la fraction hydrophile basique (HPI-B). Avant le passage sur la dernière résine AGMP-1, le pH de l'effluent de la résine AGMP-50 est ajusté à 9 par l'ajout de la soude NaOH. En effet, pour que la fraction hydrophile acide soit retenue sur la résine échangeuse anionique AGMP-1, il faut que les groupements acides soient sous forme anionique et donc déprotonnés, ce qui explique cette remontée du pH à 9. Après la rétention de la fraction hydrophile acide (HPI-A) sur la résine AGMP-1, seule la fraction hydrophile neutre (HPI-N) qui n'est retenue par aucune de ces résines se trouve donc dans l'effluent final avec tous les sels initialement présents dans l'échantillon filtré.

- Courbes de percée des résines :

Afin d'appliquer un protocole permettant de fractionner la MOD simultanément dans les différents milieux étudiés, nous avons cherché aussi à justifier nos choix pas seulement en terme de résines mais aussi en terme de valeur de facteur de capacité k' qui révèle une grande importance puisque ce paramètre contrôle le rapport du volume d'échantillon percolé sur le volume de résine. Afin d'être certain que les facteurs de capacité appliqués ici (100) ne sont pas trop importants, les courbes de percée des résines ont été déterminées. Pour ce faire, 600 ml d'échantillons filtrés et ajustés à pH 2 pour les résines DAX-8, XAD-4 et AGMP-50 et à pH 9 pour la résine AGMP-1, sont passés à travers les quatre résines. En sortie de chaque colonne, des volumes successives ont été ensuite collectés afin d'y déterminer le COD. Le COD en sortie de résine est donc mesuré pour des facteurs de capacité allant jusqu'à 60 et permet donc de déterminer dans quelle gamme peut varier k sans modifier la nature de la MOD retenue.

- Test de répétabilité du protocole de fractionnement :

La répétabilité consiste à effectuer des tests avec au moins un des éléments suivants qui diffère : l'opérateur, l'appareil ou le jour. Dans notre cas, l'opérateur était le même mais nous avons réalisé le montage de résines de fractionnement en deux exemplaires (appareil), sur deux jours consécutifs de l'analyse (jour). La répétabilité du protocole de fractionnement a pu être vérifiée sur quatre échantillons différents (un événement de temps de pluie, un échantillon de rejets de la station d'épuration Seine-Aval et deux échantillons du milieu récepteur (Ussy-sur-Marne et Andrésy) réalisés chacun en duplicat.

- Réalisation des blancs de manipulation :

Ces blancs de manipulation ont été effectués trois fois à des dates différentes. Pour les réaliser, nous appliquons à ces blancs exactement le même protocole que celui des échantillons. La solution utilisée pour réaliser ces blancs de manipulation est de l'eau ultrapure. Pratiquement ce blanc de manipulation est réalisé de la façon suivante :

- L'eau ultrapure est mise dans le même type de flacon que celui utilisé pour la récupération des échantillons (blanc 1) puis est filtrée sur le même kit de filtration (blanc 2) que celui utilisé pour les échantillons.
- Après concentration et acidification à pH 2 (blanc 3), l'eau ultra pure passe à travers les résines de fractionnement.
- A la sortie de chaque résine, un blanc est réalisé (blanc 4 à 7 respectivement pour les quatre résines).

La mesure du COD a été effectuée à chaque étape (blancs 1 à 7).

II.1.2.3. Etape 3 – Récupération des aliquotes lors du fractionnement de la MOD à travers les résines

Cette étape est directement liée à l'étape de fractionnement de la MOD. Afin de suivre les paramètres de caractérisation des différents fractions organiques de la MOD, on récupère à la sortie de chaque résine, via des robinets qui sont installés entre les colonnes, un volume défini V qui est divisé en plusieurs aliquotes comme le montre la *Figure 8*. Un rinçage par un volume de 5 à 10 ml de l'échantillon pour l'ensemble des résines est effectué toutefois avant de récupérer le volume V désiré de la résine suivante.

En conclusion, la composition des sorties obtenues des effluents de chaque résine est la suivante :

La sortie-1 correspond à : $MOD_1 = MOD_{totale} - HPO = TPI + HPI_{Totale}$

La sortie-2 correspond à : $MOD_2 = MOD_{totale} - (HPO + TPI) = HPI_{totale}$

La sortie-3 correspond à : $MOD_3 = MOD_{totale} - (HPO + TPI + HPI-B) = HPI-A + HPI-N$

La sortie-4 correspond à : $MOD_4 = MOD_{totale} - (HPO + TPI + HPI-B + HPI-A) = HPI-N$

Les proportions relatives de chaque fraction sont déterminées par mesure du COD en entrée et en sortie de colonne en prenant soin, à chaque fois d'évacuer les volumes morts des colonnes et des tuyaux. Les pourcentages des fractions sont calculés comme suit :

- $\% \text{ HPO} = 100 * [(\text{COD}_0 - \text{COD}_{\text{E1}}) / \text{COD}_0]$
- $\% \text{ TPI} = 100 * [(\text{COD}_{\text{E1}} - \text{COD}_{\text{E2}}) / \text{COD}_0]$
- $\% \text{ HPI-B} = 100 * [(\text{COD}_{\text{E2}} - \text{COD}_{\text{E3}}) / \text{COD}_0]$
- $\% \text{ HPI-A} = 100 * [(\text{COD}_{\text{E3}} - \text{COD}_{\text{E4}}) / \text{COD}_0]$
- $\% \text{ HPI-N} = 100 * (\text{COD}_{\text{E4}} / \text{COD}_0)$

Avec :

COD_0 : concentration en carbone organique dissous de l'échantillon initial préconcentré et acidifié avant passage sur les résines,

COD_{E1} : concentration en carbone organique dissous de l'effluent de la résine DAX-8

COD_{E2} : concentration en carbone organique dissous de l'effluent de la résine XAD-4

COD_{E3} : concentration en carbone organique dissous de l'effluent de la résine AGMP-50

COD_{E4} : concentration en carbone organique dissous de l'effluent de la résine AGMP-1



Figure 8: Photo du montage (à gauche), un zoom sur le robinet (à droite).

II.2. LES SITES D'ETUDE

Le bassin de la Seine, situé au Nord-Ouest de la France, couvre 78 000 km² ce qui équivaut à 14% de territoire français. Les 17,5 millions d'habitants du bassin consomment 190 l d'eau par jour en moyenne. 80 % d'entre eux vivent en zone urbaine, principalement le long des cours d'eau. 88 % de la

population déverse ses eaux usées dans un réseau collectif d'assainissement. Le bassin de la Seine concentre 40 % de la production industrielle française et l'agriculture intensive occupe 60 % de la surface du bassin, avec pour résultat un fleuve dont le débit à Paris est parfois à tiers constitué d'eaux usées en période estivale (Even *et al.*, 2007). La pollution diffuse, les rejets de temps de pluie, les inondations, l'eutrophisation et les boues d'épuration constituent les principaux "points noirs" de la gestion de l'eau aujourd'hui dans le bassin qui est classé en conséquence parmi les fleuves les plus anthropisés dans le monde. Au cours de ces travaux, trois types de sites, représentés à la *Figure 9*, ont été étudiés.

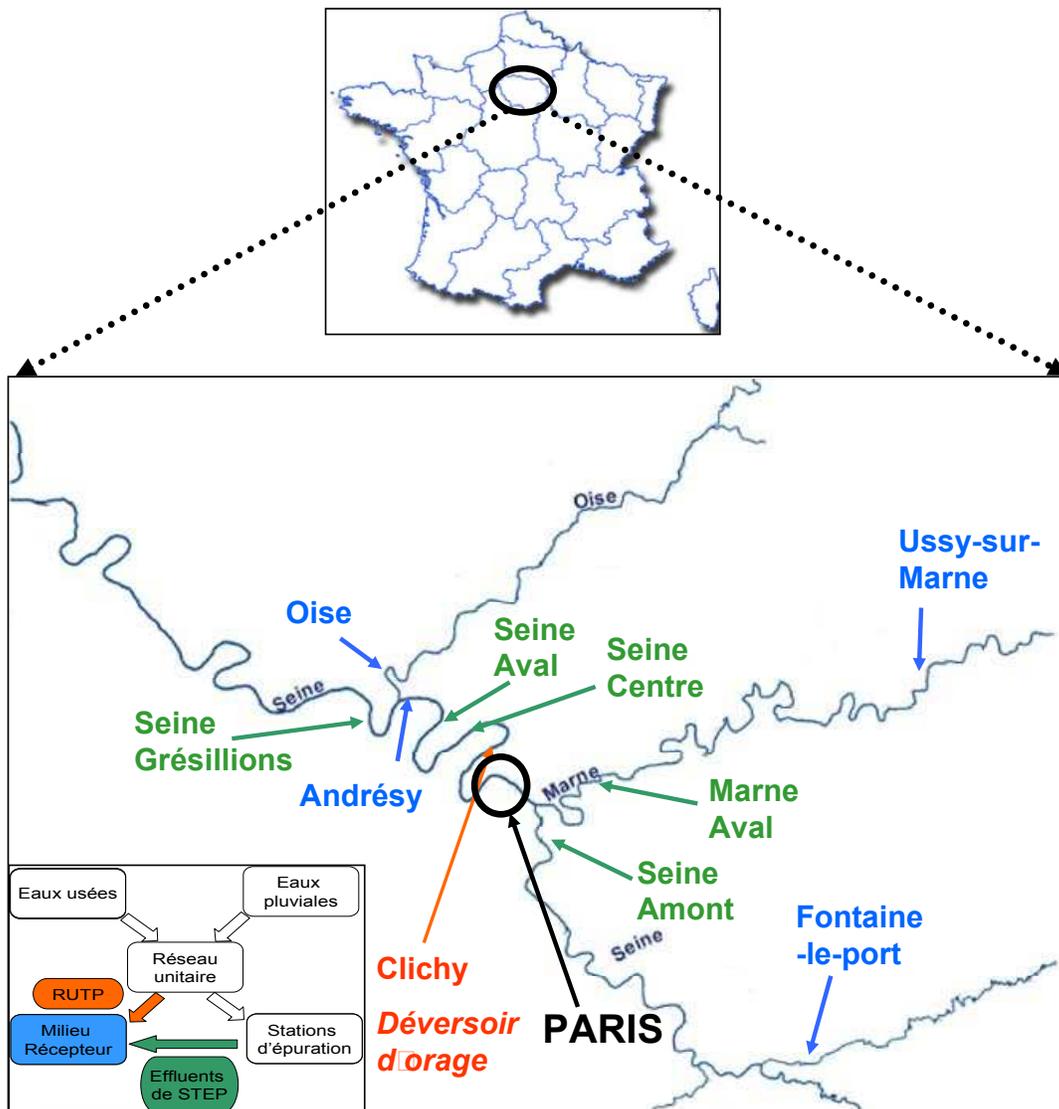


Figure 9: Schéma général des types de sites étudiés de l'amont à l'aval de l'agglomération parisienne.

Afin de répondre aux objectifs de ce travail, il est important de caractériser les principaux rejets urbains de l'agglomération parisienne ainsi que leur impact sur le milieu récepteur. Pour cela nous avons choisi d'étudier les sites suivants:

- *Les Rejets Urbains de Temps de Pluie qui sont schématisés en rouge sur la Figure 9*
- *Les rejets de Stations d'Épuration (STEP) qui sont signalés en vert.*

Ce sont les deux principales sources provenant de l'urbanisation.

- *Le milieu récepteur représenté en bleu, correspond aux quatre sites choisis sur la Marne, la Seine et l'Oise.*

II.2.1. LE MILIEU RECEPTEUR

Afin de mettre en évidence l'impact des rejets urbains sur la quantité et la qualité de la matière organique dans le milieu récepteur à la traversée de l'agglomération parisienne, quatre sites ont été choisis : deux se trouvent sur la Seine (un en amont et un en aval de l'agglomération parisienne), le troisième site se trouve sur la Marne (amont de l'agglomération parisienne) et le quatrième se trouve sur l'Oise. Neuf campagnes d'échantillonnage ont été réalisées sur ces quatre sites en 2010-2011 afin d'évaluer aussi la variation temporelle de la MOD dans le milieu récepteur. Les dates de prélèvements de ces neuf campagnes sont oct.10, nov.10, janv.11, fév.11, mars 11, avr.11, mai 11, juin 11 et sept. 11. En effet très peu d'études prennent en compte la variation temporelle de la MOD et notamment de sa composante hydrophile. Ce suivi a nécessité une cadence analytique élevée ce qui a été la raison principale qui nous a poussés à modifier le protocole de fractionnement précédemment utilisé au LEESU.

Le volume d'échantillon prélevé est de l'ordre de huit litres et est traité par le protocole de fractionnement de la MOD décrit plus haut (*Figure 7*). Les sites étudiés sont présentés ci-dessous et sont représentés dans la *Figure 10*.

- ❖ Ussy-sur-Marne : situé en amont de l'agglomération parisienne sur la Marne. Ce site est peu impacté par l'urbanisation.
- ❖ Fontaine-le-port : situé également en amont sur la Seine. Comme Ussy-sur-Marne, ce site est considéré comme un site peu impacté.

Comme cela est montré dans le *Tableau 6*, les villes situées en amont présentent des densités de population plus faibles que celles des villes de l'agglomération parisienne où ces dernières sont par la suite plus impactées par l'urbanisation. Comme nous désirons mettre en évidence l'impact des rejets urbains sur la quantité et la qualité de la MOD dans le milieu récepteur, il est important de prendre comme « sites témoins », les sites les plus faiblement urbanisés. Cela justifie donc les

choix d'Ussy-sur-Marne et de Fontaine-le-port. A noter que même si ces sites sont peu urbanisés, ils sont par contre potentiellement impactés par l'activité agricole.

- ❖ **Andrésy** : Ce site se trouve en aval de l'agglomération parisienne, à environ 9 kilomètres de la STEP Seine-Aval (et également en aval des STEP les plus importantes de l'agglomération parisienne), ce qui garantit un bon mélange des effluents de la STEP avec l'eau de la Seine. Il se situe en amont de la confluence Seine-Oise et donc l'eau prélevée provient totalement de la Seine. Ce site a donc été choisi afin d'évaluer l'impact des rejets urbains sur la qualité de la MOD présente en Seine.

- ❖ **Conflans-Fin d'Oise** : site situé sur l'Oise, juste à l'amont de la confluence avec la Seine. Le bassin versant de l'Oise s'étend sur près de 17 000 km² (soit un sixième du bassin Seine-Normandie). Les 1,8 million d'habitants du bassin occupent le territoire de manière inégale. Les surfaces agricoles dominent largement le territoire avec près de 73% de la superficie contre 62% sur l'ensemble du bassin Seine-Normandie. Ce site a été choisi notamment en accord avec les partenaires opérationnels du programme Piren-Seine afin d'étudier la MOD qui peut potentiellement jouer un rôle important selon sa polarité sur la formation de sous-produits de désinfection et sur le colmatage des membranes de filtration (présence de l'usine de potabilisation de Mery/Oise qui utilise la technique d'ultrafiltration) dans un cadre de potabilisation des eaux ou de réutilisation des eaux usées. Ce site, choisi à la suite d'une demande de nos partenaires opérationnels, est donc moins naturellement pertinent (pour la réalisation des objectifs de cette thèse) que les autres sites choisis dans le cadre de ce travail de thèse. Néanmoins, nous avons pris le parti d'en présenter les résultats qui sont intéressants.

PARTIE A

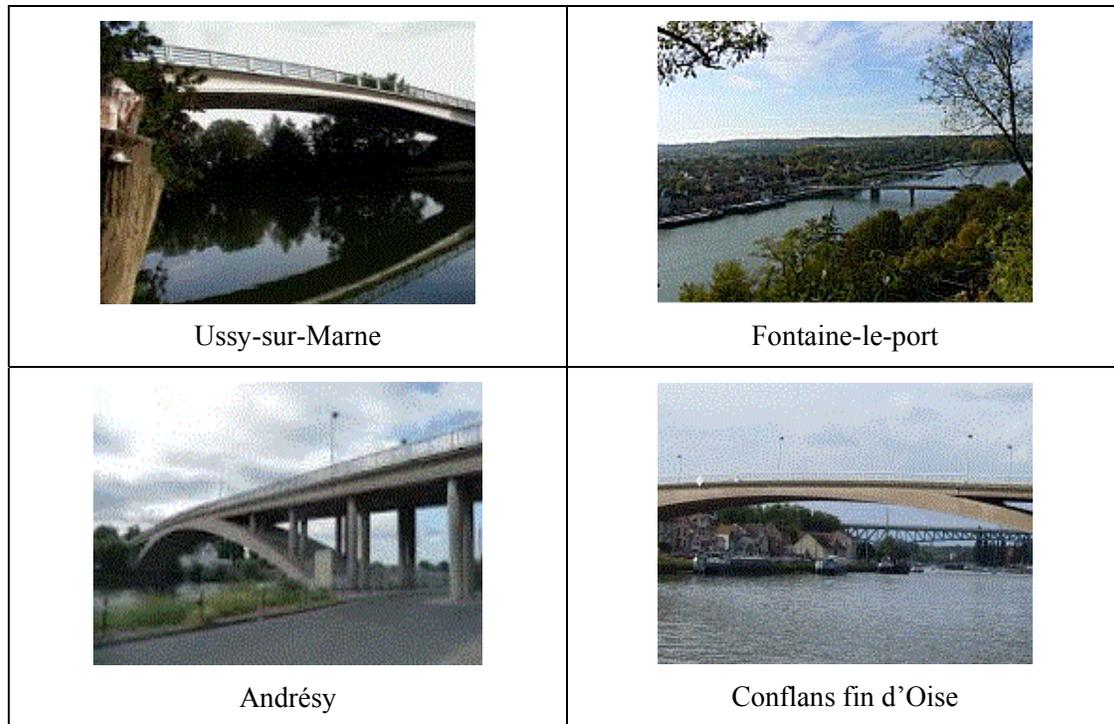


Figure 10: Photos des ponts desservis pour l'échantillonnage sur les quatre sites du Milieu Récepteur.

		Population (hab.)	Superficie (km ²)	Densité (hab/km ²)
Villes situées en amont de l'agglomération parisienne	Champagne-sur-Seine	6461	7.28	888
	Châlons-en-Champagne	46236	26.05	1775
	Ussy-sur-Marne	841	13.93	67
	Fontaine-le-port	844	7.35	124
	Meaux	49800	15.18	3268
	Melun	38000	8.04	4900
Principales villes de l'agglomération parisienne	Evry	52403	8.3	6314
	Champigny-sur-Marne	75142	11.3	6650
	Saint-Maur-des-Fossés	75724	11.25	6731
	Vitry-sur-Seine	84071	11.67	7204
	Créteil	89304	11.46	7793
	Ivry-sur-Seine	56679	6.1	9292
	Maisons Alfort	52852	5.35	9879
	Nogent-sur-Marne	30852	2.8	11019
	Alfortville	44728	3.67	12187

Tableau 6: Comparaison des densités de population entre les villes de l'agglomération parisienne.

Pour chaque site, les prélèvements sont effectués depuis un pont (afin d'éviter l'effet de berges) à l'aide d'un saut fixé au bout d'une corde. L'échantillon est immédiatement transféré dans un flacon en verre de 10 L préalablement grillé à 450°C.

II.2.2. LES REJETS URBAINS DE TEMPS DE PLUIE

Le déversoir d'orage de Clichy-la-Garenne (Hauts-de-Seine) est un centre de prétraitement de 80% des effluents de la ville de Paris qui arrivent par les collecteurs de Clichy, de Marceau, des Chasses et d'Asnières, soit près d'un million de mètres cubes d'eaux usées par jour (Kouyi *et al.*, 2005). Un prétraitement de l'effluent est effectué puis l'effluent est acheminé par trois émissaires vers les stations d'épuration de Seine centre, Seine aval, et Seine Grésillons.

Par ailleurs, cette usine est également utilisée comme une station de pompages anti-crues, qui protège la capitale des inondations en permettant l'évacuation dans la Seine du mélange des eaux pluviales excédentaires avec des eaux usées non traitées lors d'événements pluvieux importants.

Pendant l'année 2010-2011, neuf événements de temps de pluie donnant lieu à surverse d'orage ont pu être échantillonnés au déversoir d'orage de Clichy. Ceci a été rendu possible grâce à la collaboration du SIAAP qui nous a fournis d'une part les autorisations administratives pour accéder au site mais qui a également assuré l'installation du préleveur et son bon fonctionnement. Le volume prélevé pour chaque événement est de l'ordre de 15 à 20 litres. Les bouteilles en verre présentes dans les préleveurs ont été préalablement lavées et grillées à 450°C. Un échantillon moyen est préparé pour chaque déversement et traité par le protocole de fractionnement décrit plus haut (*Figure 7*). En fait, le bassin de Clichy a été instrumenté par des préleveurs automatiques. La connaissance du débit en fonction du temps (données SIAAP) permet ainsi la reconstitution de l'échantillon moyen. Ce dernier a été stocké à 5°C dans un flacon en verre.

Pour chaque événement, les proportions respectives d'eaux usées et d'eaux pluviales ont été calculées grâce à la conductivité de l'échantillon moyen et en avançant l'hypothèse d'une gamme de conductivité variante de 75 à 150 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, pour les eaux de ruissellement pluvial (Kafi-Benyahia, 2006) et de 1150 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ pour les eaux usées de temps sec (donnée moyenne fournie par SIAAP).

II.2.3. LES REJETS URBAINS DE TEMPS SEC

Par temps sec, avant leurs rejets dans le milieu récepteur, les eaux usées sont collectées via le réseau d'assainissement et acheminées vers les stations d'épuration où elles subissent des traitements physico-chimiques et biologiques qui visent à épurer ces eaux. Dans l'agglomération parisienne, cinq stations d'épuration gérées par le SIAAP, Service public de l'assainissement francilien, épurent l'eau utilisée par près de 8,5 millions de Franciliens pour leurs usages domestiques et industriels – ainsi que les eaux pluviales. En moyenne le SIAAP traite chaque jour un volume près de 2,5 millions de m^3 d'eaux usées par temps sec. Une fois traitée, l'eau est rejetée dans le milieu récepteur. Ces STEP sont de l'amont à l'aval: Marne Aval à Noisy-le-Grand, Seine-Amont à Valenton, Seine-Centre à Colombes, Seine-Aval à Achères et Seine Grésillons à Triel-sur-Seine. D'une station à l'autre, les volumes traités sont très différents. La station de Seine-Aval (détaillée plus tard) par exemple traite chaque jour plus de 70 % des eaux usées de l'agglomération parisienne par temps sec. Afin d'évaluer

l'impact des rejets de ces stations d'épuration en terme de quantité et de qualité de la matière organique dans le milieu récepteur, sept campagnes ont été effectuées pour étudier d'une part la variation temporelle des rejets de la station Seine-Aval et d'autre part pour étudier les différences entre STEP selon le type de traitement. Un volume de cinq litres est échantillonné lors de chaque campagne par le SIAAP. L'échantillon est transvasé dans un flacon en verre préalablement grillé à 450°C et est conservé après filtration à 5°C avant son fractionnement par le protocole détaillé plus haut (*Figure 7*).

II.2.3.1. Description des procédés de traitements dans les cinq stations d'épuration du SIAAP

Le site de Seine Centre :

Le traitement à Seine Centre se décompose ainsi :

1. Le prétraitement : il est composé d'un dégrillage (dégrilleurs de mailles de 40 puis 15 mm) qui permet une élimination des gros déchets flottants et d'un dessablage –désuilage qui élimine les sables et une partie des graisses, ce qui protège les installations et fiabilise le traitement des eaux effectué en aval.
2. La décantation physico-chimique : elle sert à éliminer une part importante des matières en suspension et du phosphore. Ce traitement consiste en une décantation lamellaire favorisée par l'ajout de réactifs chimiques coagulant - flocculant (chlorure ferrique – polymère anionique).
3. L'épuration biologique : elle permet d'éliminer les matières organiques carbonées sur le 1er étage, puis l'ammonium par nitrification sur le 2ème étage enfin les nitrates par dénitrification sur le 3ème étage. Toutes ces étapes sont réalisées par biofiltration. En temps de pluie, pour pouvoir traiter un débit plus important, les biofiltres du 3ème étage arrêtent de faire de la dénitrification et servent à l'abattement du carbone. Le traitement est moins complet mais cela permet de traiter le surplus d'eau.

Le site de Seine Aval:

Le traitement se décompose ainsi:

1. Le prétraitement : il est composé d'un dégrillage et d'un dessablage-désuilage.
2. L'élimination des MES se fait sur les décanteurs primaires.
3. Le traitement du carbone est réalisé par boues activées sur 9 bassins d'aération (160 000 m³) suivit de 25 décanteurs secondaires (200 000 m³).
4. L'élimination du phosphore est réalisée de manière physico-chimique, il conjugue l'apport de chlorure ferrique et d'un polymère pour permettre aux pollutions phosphorées, présentes sous forme dissoute dans l'eau, de s'agglomérer. L'injection de microsable dans le bassin alourdit

les molécules pour qu'elles se déposent plus rapidement par décantation au fond du bassin de traitement. Elles sont récupérées sous forme de boues liquides qui rejoignent ensuite la chaîne de traitement des boues.

5. Le traitement de l'azote : il est réalisé sur le même type de biofiltres qu'à Seine Centre. Toutes les eaux sont nitrifiées mais pour l'instant seulement un tiers des eaux sont dénitrifiées, le reste est rejeté directement en Seine. D'autres biofiltres dénitrifiant vont être construits afin de traiter 100% des eaux.

Le site de Marne Aval:

Cette station est équipée des systèmes de traitement des odeurs et d'insonorisation plus performants. Elle est également dotée de toutes nouvelles filières de traitement complet de la pollution.

Les eaux usées sont tout d'abord dégrillées et tamisées afin d'enlever les débris de taille importante.

Le passage dans le dessableur-déshuileur permet de retirer les sables et les graisses. Les eaux sont ensuite envoyées dans des décanteurs primaires où les MES sont coagulées et floculées afin de former des floes qui vont décantés au fond du bassin et former des boues. Le traitement biologique est ensuite assuré par deux batteries de Biostyr (voir

Annexe 1). Une dernière étape de décantation tertiaire permet de réduire la concentration en MES afin d'être conforme à la réglementation. Les boues extraites sont envoyées dans une bache où elles sont homogénéisées avant d'être épaissies et incinérées par oxydation thermique dans un four à lit de sable fluidisé.

Le site de Seine Grésillons:

Les eaux usées dans cette station sont dégrillées, tamisées, dessablées et dégraissées. Les eaux sont ensuite passées à la décantation primaire puis envoyées au traitement biologique qui est réalisé par trois batteries de Biolest (voir *Annexe 2*). Les boues extraites sont digérées pour produire du biogaz. Elles sont ensuite déshydratées et séchées.

Le site de Seine Amont:

Les eaux sont dégrillées, dessablées, dégraissées. Puis, elles sont décantées (décantation primaire comme Seine Aval) puis après traitées sur des bassins biologiques (traitement du carbone et de l'azote) puis envoyés sur des clarificateurs (décantation secondaire) avant rejet dans le milieu naturel.

II.3. OUTILS DE CARACTERISATION DE LA MATIERE ORGANIQUE

DISSOUE

II.3.1. MESURE DU CARBONE ORGANIQUE DISSOUS (COD)

Pour la mesure du COD, un volume de 38 ml d'échantillon filtré à $0.7\mu\text{m}$, est introduit dans un tube en verre préalablement grillé à 450°C . 2ml d'acide orthophosphorique sont ajoutés dans le tube qui est conservé à 5°C jusqu'au le jour d'analyse. L'analyse est effectuée dans un délai généralement inférieur à une semaine. Les concentrations en carbone organique dissous ont été mesurées à l'aide d'un appareil Shimadzu TOC-V CSN présenté schématiquement dans la *Figure 11*. Le principe de la mesure consiste en une oxydation catalytique à haute température (680°C) du carbone organique contenu dans les échantillons filtrés, acidifiés (HCl 2N) à pH 2 et purgés pendant 6 minutes avec de l'air synthétique (qualité 5.0, Linde Gas) pour éliminer le carbone inorganique. La concentration en carbone organique dissous transformé en CO_2 par l'oxydation est alors déterminée par un détecteur infrarouge. Le catalyseur utilisé est un catalyseur standard Shimadzu à base de platine contenu dans une matrice d'alumine.

Pour chaque échantillon le résultat donné est la moyenne d'au moins trois mesures satisfaisantes en termes d'écart type et de coefficient de variation. L'appareil est étalonné à l'aide d'une solution standard de phtalate de potassium $\text{C}_6\text{H}_4(\text{COK})(\text{COOH})$ diluée à différentes concentrations. Différentes gammes d'étalonnage ont été utilisées en fonction de la concentration en COD des échantillons afin d'optimiser la précision des mesures. La limite de quantification est de $0,3 \text{ mgC.l}^{-1}$.

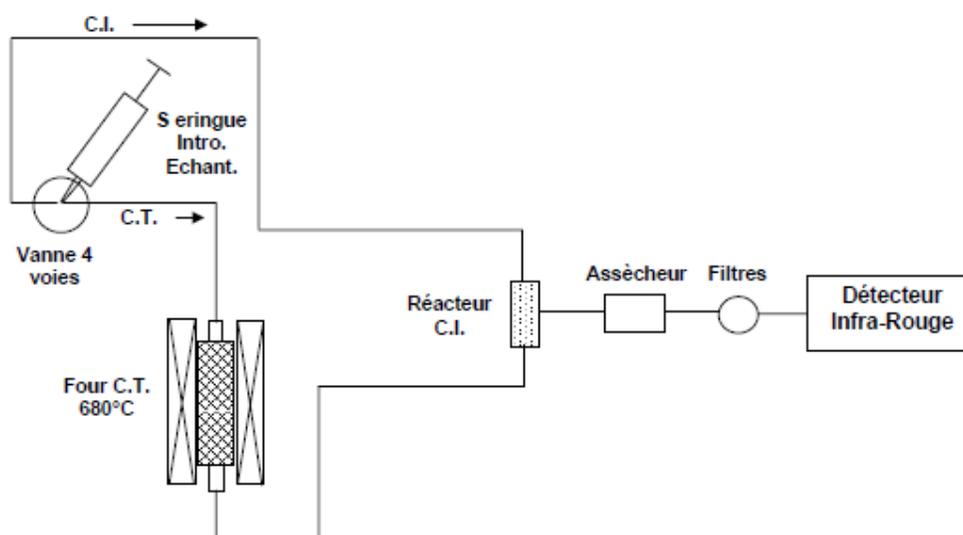


Figure 11: Schéma de montage simplifié de l'analyseur de carbone Shimadzu, modèle TOC-V CSN (Petit-Jean *et al.*, 2004).

II.3.2. SPECTROSCOPIE DE FLUORESCENCE MOLECULAIRE

Ce travail a été réalisé dans le cadre d'une collaboration et d'un séjour d'environ 3 semaines au sein de l'unité de recherche « UMR EPOC 5805 CNRS Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux » au Laboratoire de Physico Toxico Chimie de l'environnement (LPTC) à l'Université Bordeaux 1 avec Madame Edith Parlanti.

L'appareil de mesure utilisé est un spectrofluorimètre Fluorolog FL3-22 SPEX-Jobin-Yvon dont la source est une lampe à arc Xénon de 450 Watts, émettant un rayonnement polychromatique continu dans l'UV et dans le visible, entre 250 et 800 nm. Le compartiment où l'échantillon est placé est thermostaté à 20°C. Les échantillons sont placés dans des cuves en quartz de 1 cm de chemin optique. La verrerie utilisée doit être impérativement propre, ce nettoyage s'effectue par des bains de détergent, le RBS 50, à une concentration de 2-3%. La propreté est ensuite testée par fluorescence avant utilisation de la verrerie.

Avant de passer un échantillon à la mesure de spectrofluorescence, il est obligatoire de mesurer son absorbance. Si elle est supérieure à 0,1 il est alors nécessaire de diluer l'échantillon jusqu'à une absorbance inférieure à 0,1 avant de réaliser la mesure de fluorescence. La valeur d'absorbance de 0,1 constitue la limite supérieure de validité de la relation linéaire entre l'intensité de fluorescence et la concentration des composés fluorescents (cf. paragraphe 1.6.3.3). Une fois que l'absorbance de l'échantillon est mesurée, on peut procéder à l'enregistrement du spectre de fluorescence 3D de l'échantillon qui sera tracé en 75 minutes environ. Après l'obtention du spectre, il est nécessaire de le corriger en éliminant les bandes de diffusion résultant des effets Rayleigh, Raman et Tyndall afin d'obtenir un spectre net et des valeurs de fluorescence justes. Pour éliminer la diffusion Rayleigh et Raman, il suffit de soustraire au spectre de l'échantillon le signal obtenu dans les mêmes conditions, pour le blanc, constitué par le solvant seul alors que l'effet Tyndall qui est due à des édifices moléculaires de tailles colloïdales (0,05 à 0,2 μ m) reste négligeable comparé à l'intensité de fluorescence des substances étudiés.

Ce spectre de fluorescence 3D permet d'obtenir l'ensemble des paramètres de fluorescence (intensités, longueurs d'onde d'excitation et d'émission des maxima) relatifs à un échantillon sur tout le domaine spectral considéré. Cependant, afin de mieux appréhender et apprécier de façon semi-quantitative les modifications du matériel organique dissous, nous avons plus particulièrement suivi l'évolution de l'intensité des quatre principales bandes de fluorescence de la matière organique dissoute α , α' , β et γ . Les intensités de fluorescence seront exprimées en unités Raman (RU) normalisées par rapport aux concentrations en carbone organique dissous afin de mieux comparer entre eux les différents échantillons sans aucun effet de la teneur en COD. Les rapports d'intensités ainsi que les indices de fluorescence HIX et BIX (cf. paragraphe 1.6.3.3.1 et 1.6.3.3.2) ont également été calculés pour tous les échantillons prélevés dans le cadre de notre étude. Les incertitudes ont été déterminées au sein de cette unité de recherche pour différents types d'échantillons de MOD. Elles

sont dans tous les cas nettement inférieures à 5%. Etant données leur faibles valeurs et par souci de clarté, ces incertitudes ne sont pas présentés sur les figures.

II.3.3. SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION UV-VISIBLE

Comme pour la spectroscopie de fluorescence, cette étude a été réalisée au sein de l'unité de recherche « UMR EPOC 5805 CNRS Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux » au Laboratoire de Physico Toxico Chimie de l'environnement (LPTC) à l'Université Bordeaux 1.

Les mesures d'absorbances ont été déterminées à l'aide du spectrophotomètre UV-visible (Jasco V-560) qui est équipé d'un tube à décharge au deutérium (190 à 350 nm) et d'une lampe à incandescence à filament de tungstène (330 à 900 nm), d'un double monochromateur (réseau plan) pour la sélection des longueurs d'onde et d'un photomultiplicateur (qui permet de transformer l'intensité lumineuse reçue en un signal électrique) comme détecteur. Des cuves en quartz qui ont un trajet optique de 1 cm ont été utilisées avec un balayage de longueur d'onde entre 200 et 700 nm. On mesure tout d'abord l'absorbance de l'eau pure utilisée comme solvant de référence. Cette mesure constituera le blanc. Puis, on procède à la mesure d'absorbance des différents échantillons. Le spectre d'absorbance obtenu pour le blanc est ensuite soustrait des spectres d'absorbance de chacun des échantillons afin d'obtenir l'absorbance réelle de chaque échantillon.

Les résultats sont présentés sous la forme de SUVA ainsi que sous la forme de pourcentage d'aromaticité. Le paramètre SUVA (« Specific UV Absorbance ») correspond au rapport de l'absorbance UV à 254 nm sur la concentration COD d'un échantillon (*Équation 1*). Il s'exprime en $\text{mgC}^{-1} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{l}$. Ce paramètre permet d'apprécier le degré d'aromaticité de la matrice organique soluble. Il augmente avec l'aromaticité et le poids moléculaire des molécules (Cheshire *et al.*, 1992; Chin *et al.*, 1994; Stevenson, 1994). En général, les eaux présentant un $\text{SUVA} > 5$ sont considérées comme des eaux à caractère humique, les eaux de $\text{SUVA} < 2-2,5$ sont dites à caractère non humique (Edzwald, 1993).

$$\text{SUVA} = \frac{\text{Abs}_{254}}{[\text{COD}]} \times 100 \quad \text{Équation 1}$$

Où Abs_{254} est l'absorbance à 254 nm exprimée en cm^{-1} et $[\text{COD}]$ est la concentration en COD en $\text{mgC} \cdot \text{l}^{-1}$.

Concernant le pourcentage d'aromaticité, il a été calculé de deux façons :

- à partir de l'absorbance à 280 nm

$$aromaticité(\%) = 0.05 \times \frac{Abs_{280}}{[COD]} + 6.74 \quad \text{Équation 2}$$

Où Abs_{280} est l'absorbance à 280 nm et $[COD]$ est la concentration en COD en mol.l^{-1} .

- à partir du SUVA

$$aromaticité(\%) = 6.5 \times SUVA + 3.6 \quad \text{Équation 3}$$

De la même façon que pour la spectroscopie de fluorescence, les incertitudes sont nettement inférieures à 5% et ne sont donc pas présentés sur les figures.

III. Résultats et discussions

Ce paragraphe présente tout d'abord les résultats des tests appliqués au protocole de fractionnement de la MOD puis les résultats des campagnes de prélèvement et de fractionnement de la MOD qui ont été effectuées dans notre laboratoire. La suite regroupe l'ensemble des résultats obtenus lors de la caractérisation fonctionnelle de toutes ces MOD.

III.1. TESTS APPLIQUES AU PROTOCOLE DE FRACTIONNEMENT DE LA MOD

III.1.1. LES BLANCS DE MANIPULATIONS

Les concentrations en COD dans les blancs 1 à 7 présentés dans la partie « matériels et méthodes » (cf. II.1.2.2) ont été déterminées aux trois dates précédemment mentionnées (oct.-10, janv.-11 et mai-11).

Dans tous les cas, les concentrations en COD se sont révélées inférieures à la limite de détection (0.5 mgC.l^{-1}). Dans le cadre de cette étude, les échantillons fractionnés sont préalablement concentrés par évaporation rotative et présentent des concentrations généralement de l'ordre de 10 à 20 mgC.l^{-1} , nous pouvons donc conclure que dans nos conditions expérimentales le protocole utilisé n'est pas contaminant.

III.1.2. LA REPETABILITE DU PROTOCOLE DE FRACTIONNEMENT

Le test de répétabilité du protocole de fractionnement de la matière organique dissoute a été réalisé sur quatre échantillons de nature différente provenant de rejets urbains de temps de pluie (20-juin-11), d'effluents de la station d'épuration Seine-Aval (mars-11), du milieu récepteur (Ussy-sur-Marne et Andrésy (avril-11)). Chaque échantillon est traité en duplicats. Les résultats obtenus sont présentés à la *Figure 12*. Cette figure montre pour chaque échantillon, la répartition du COD entre les différentes fractions organiques et sous-fractions hydrophiles.

Pour l'échantillon de RUTP, la distribution en fractions organiques HPO, TPI et HPI est semblable entre les deux duplicats. Elle est de l'ordre de 39%, 21% et 40% respectivement pour le premier test et de 38%, 22% et 40% pour le deuxième test. La distribution en sous-fractions hydrophiles ne montre pas une grande différence entre les deux tests, signalant une répartition en HPI-acide, HPI-basique et HPI-neutre de l'ordre 45%, 5% et 50% respectivement pour le premier duplicat et de 48%, 5% et 47% pour le second duplicat. Les résultats obtenus pour les duplicats des trois autres échantillons sont similaires et démontrent une bonne répétabilité du protocole de fractionnement de la MOD.

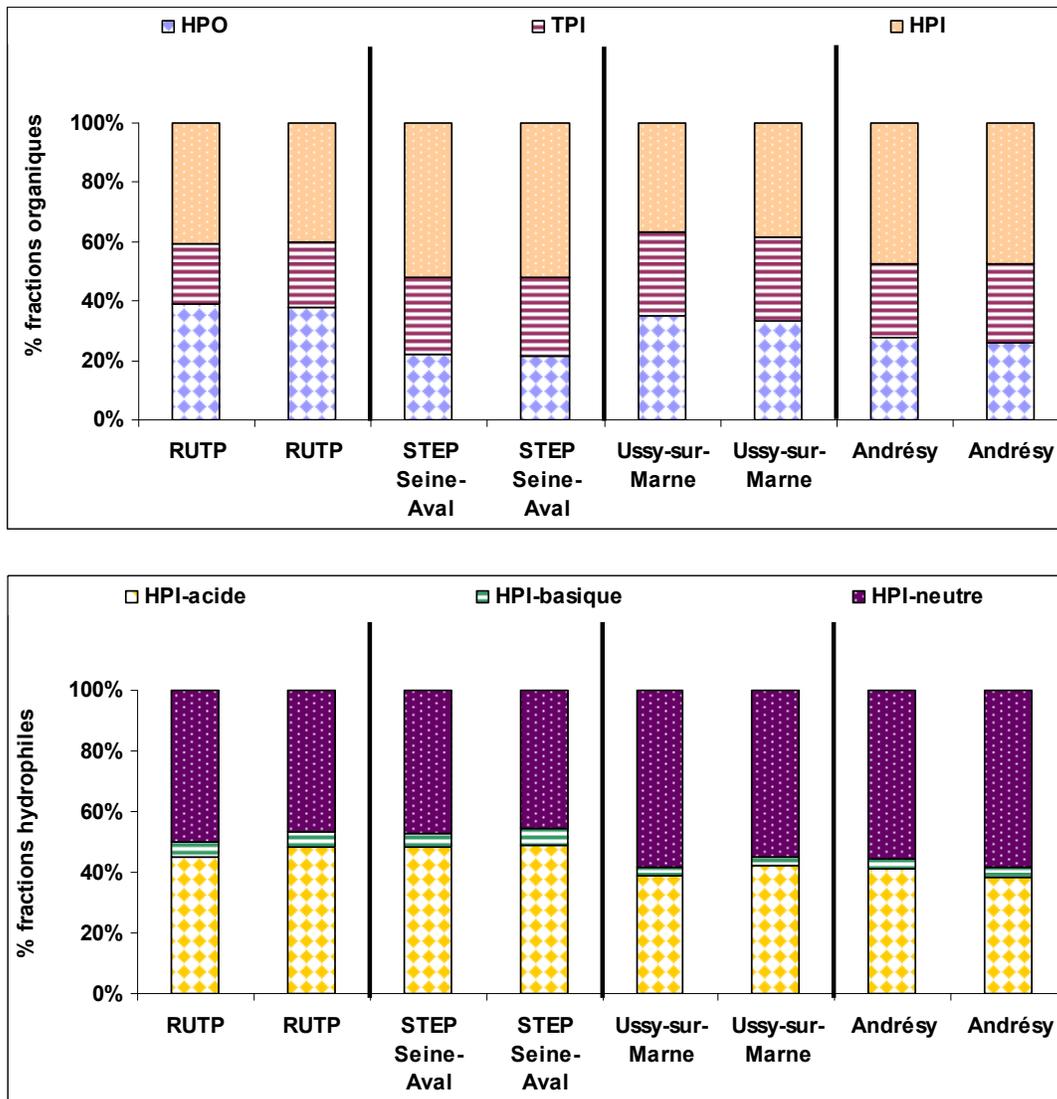


Figure 12: Test de la répétabilité du fractionnement de la MOD pour différents échantillons.

Calcul des incertitudes liées au fractionnement de la MOD :

A partir de ces résultats, nous pouvons calculer les barres d'erreurs, liées au fractionnement de la MOD, de chaque fraction organique. L'utilisation des valeurs normalisées permet d'avoir huit replicats au lieu de deux pour chaque échantillon tout en ayant l'avantage d'avoir évalué la répétabilité de la méthode sur des échantillons de nature différente ce qui rend son évaluation plus robuste. En effet, si X est la fraction organique mesurée, qu'on suppose qu'elle suit une loi normale de moyenne \bar{X} et d'écart-type σ_X , alors la fraction organique normalisée par la moyenne \bar{X} suit la loi normale $N(1, C_v)$ avec $C_v = \frac{\sigma_X}{\bar{X}}$

en supposant l'hypothèse C_v est le même pour les quatre replicats effectués. Une fois que la valeur de C_v est calculée, la valeur de σ_X pour une fraction donnée sera estimée par la valeur $C_v \times \bar{X}$.

On présente dans le *Tableau 7*, les coefficients de variation obtenus pour chaque fraction organique.

	HPO	TPI	HPI	HPI-acide	HPI-basique	HPI-neutre
C_v	0.027	0.024	0.013	0.043	0.068	0.025

Tableau 7: Coefficients de variation observés pour chaque fraction organique lors de l'étude de la répétabilité du protocole de fractionnement de la MOD.

Nous pouvons observer que les écarts types relatifs (expression de C_v en %) varient de 1.5% à 4% selon les fractions sauf pour la fraction HPI-basique pour laquelle l'écart-type relatif atteint près de 7%. Ces valeurs sont faibles et témoignent d'une bonne répétabilité de la méthode.

Dans la suite du manuscrit, les barres d'erreurs relatives au fractionnement de la MOD n'ont pas été indiquées sur les figures pour ne pas en altérer de la clarté.

III.1.3. COURBES DE PERCEE DES RESINES

Afin de justifier nos choix en terme de valeur de facteur de capacité k' qui contrôle le rapport du volume d'échantillon percolé sur le volume de résine, les courbes de percée ont été déterminées expérimentalement.

A titre d'exemple, les courbes de percée obtenues lors du fractionnement d'un échantillon provenant des rejets de la STEP Seine-Aval prélevés en juin 2010 sont présentées en *Figure 13*. Le COD a été suivi en fonction du ratio du volume d'échantillon percolé sur le volume de résine (V_p/V_r). Les courbes de percée présentent des allures similaires quel que soit l'échantillon considéré, à savoir : l'atteinte rapide d'un palier et ensuite une bonne stabilité de ce palier sur le reste de la gamme V_p/V_r expérimenté. Les résultats obtenus montrent que la fraction de carbone retenue (et donc la nature de la MOD retenue) est peu dépendante du ratio V_p/V_r sur la gamme de valeurs qui a été testée ici. Nous pouvons donc constater que pour des facteurs de capacité allant de 30 à 200, le fractionnement de la MOD demeure stable et aucune fuite de COD due à une saturation des résines n'a pu être mise en évidence quelque soit la fraction étudiée. Cela justifie notre choix d'un facteur de capacité de 100.

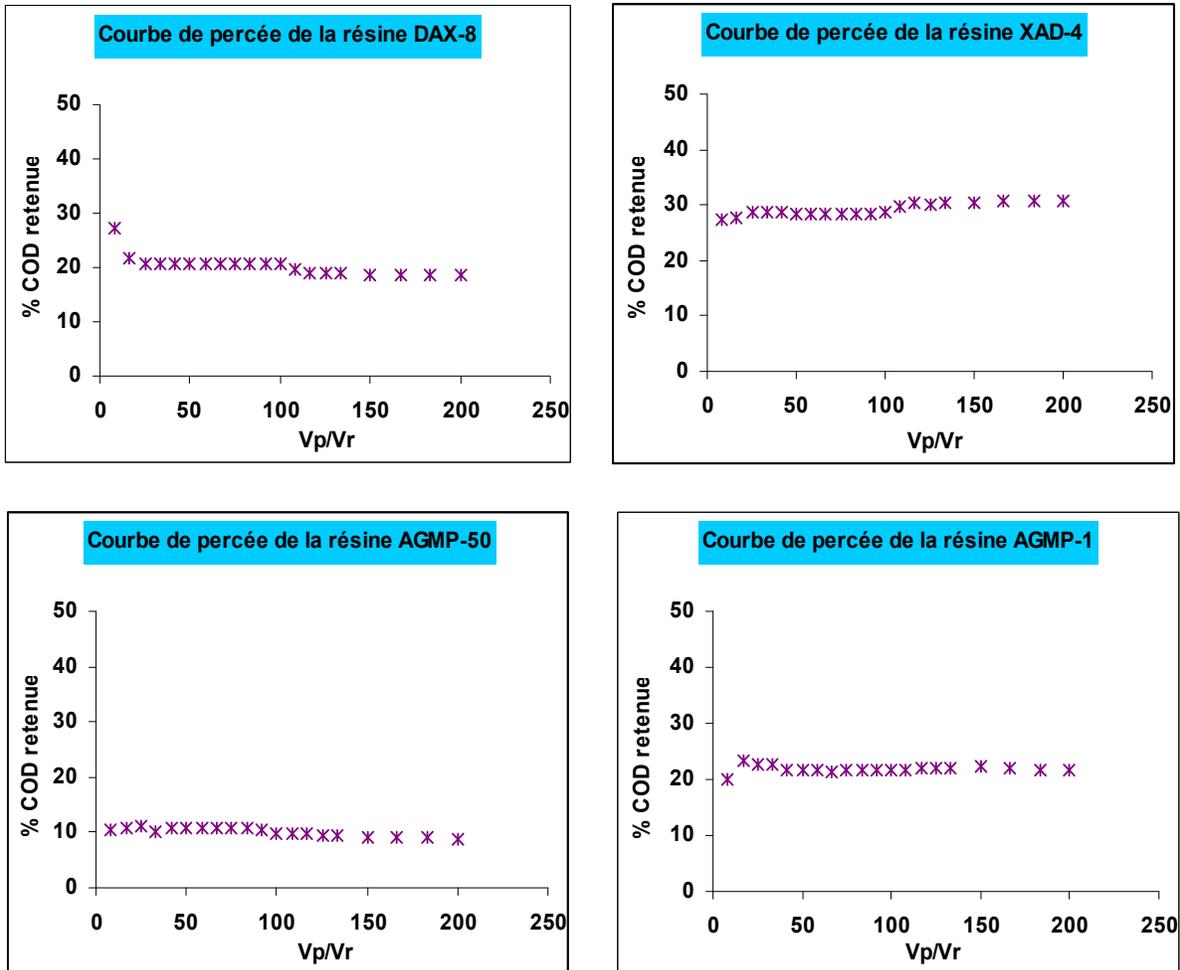


Figure 13: Pourcentages de COD retenus sur l'ensemble des résines en fonction de Vp/Vr lors d'un fractionnement de la MOD (STEP Seine-Aval).

III.2. CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES SOURCES URBAINES DE MATIERE ORGANIQUE DISSOUE: LES REJETS DES STATIONS D'EPURATION (STEP)

Afin de la caractériser finement, la MO contenue dans les effluents de stations d'épuration a été fractionnée selon des critères de polarité. Les sorties de résines ont ensuite été caractérisées en spectrofluorescence et aussi en spectrométrie UV-visible. Les résultats obtenus sont présentés dans ce qui suit avec tout d'abord une présentation des paramètres globaux de chaque échantillon.

III.2.1. LES PARAMETRES GLOBAUX

Le *Tableau 8* présente les paramètres globaux des échantillons prélevés dans les rejets traités des cinq stations d'épuration du SIAAP, pendant les sept campagnes effectuées en 2011. A part les mesures de carbone organique dissous et particulaire qui ont été faites au LEESU, les valeurs des autres paramètres ont été fournies par SIAAP.

Date	janv.-11	févr.-11	mars-11	avr.-11	mai-11	juin-11	nov.-11
Débit (m ³ .j ⁻¹)	2 448 000	1 389 000	1 382 000	1 306 000	1 414 000	2 234 000	2 487 000
Conductivité (µS/cm)	1240	1290	1430	1180	1260	1150	1260
MES (mg/l)	19	74	58	51	49	15	18
COD (mg/l)	13.5	16.3	11.3	17.1	8.6	10	12.8
COP (mgC/L)	7	30	22	18	20	7	7
DBO (mgO ₂ /L)	15	32	32	19	13	12	9
DCO (mgO ₂ /L)	97	109	98	119	50	45	42
N-NH ₄ (mgN/L)	8.2	7.2	5.5	48.2	30.4	3.2	0.7
Σ PO ₄ (mgP/L)	0.1	0.3	0.3	0.4	0.5	0.3	0.5
Seine Aval							

Date	janv.-11	févr.-11	mars-11	mai-11	juin-11	nov.-11
Débit (m ³ .j ⁻¹)	338 000	209 000	16 000	19 000	599 000	30 000
Conductivité (µS/cm)	1120	1170	1250	1220	1180	1210
MES (mg/l)	5	5	5	3	8	12
COD (mg/l)	6.2	6.6	7.6	6.6	6.1	9.1
COP (mgC/L)	3	2	2	1	3	5
DBO (mgO ₂ /L)	9	8	4	9	6	5
DCO (mgO ₂ /L)	31	24	27	36	44	38
N-NH ₄ (mgN/L)	5.1	0.4	0.3	<0,30	1.6	0.2
Σ PO ₄ (mgP/L)	0.2	0.1	0.3	0.8	0.4	0.3
Seine Centre		Seine Grésillons		Seine Amont	Marne Aval	

Tableau 8: Paramètres globaux pour les échantillons de rejets de stations d'épuration pour les sept campagnes effectuées durant l'année 2011.

Il apparaît que la station d'épuration STEP Seine-Aval se distingue par des niveaux assez élevés de concentration et ce pour tous les paramètres mesurés ici par rapport aux autres STEP. Cela est dû probablement à la différence des procédés de traitement utilisés au sein de chaque station d'épuration. Pour les autres stations (Seine Amont, Seine Centre, Seine Grésillons ainsi que Marne Aval où celles-ci sont extrêmement performantes), les valeurs obtenues sont similaires (*Tableau 8*), témoignant d'une efficacité similaire de traitement des matières carbonées, azotées et phosphorées (*Tableau 9*).

Concernant la STEP Seine-Aval, les niveaux importants d'ammonium observés en avril-mai 2011 en sortie de la STEP Seine-Aval par rapport aux autres dates, correspondent à une période

d'optimisation du traitement de nitrification au sein de cette station et ne sont pas significatifs de la qualité du traitement dans cette station. En effet, durant ces deux mois avril et mai, l'étape de nitrification a été en partie désactivée (information SIAAP).

	Capacité de traitement (m ³ /jour)	Eaux usées traitées	Efficacité de traitement en %		
			Matières carbonées	Matières phosphorées	Matières azotées
Seine Amont	600 000	Val de Marne, vallée de la Bièvre	96	83.8	72.1
Seine Centre	240 000	eaux usées Paris	96	93.5	74.7
Seine Aval	1 700 000	70% de l'agglomération parisienne	84	85.8	27.6
Seine Grésillons	100 000	18 communes du val d'Oise et des Yvelines	93	87.7	82.4
Marne Aval	75 000	16 communes de Seine St-Denis et de la Seine et Marne	93	95.6	87.8

Tableau 9: Bilan d'exploitation de cinq stations de traitements dans l'agglomération parisienne. (Données fournies sur le site officiel du SIAAP)

Parmi ces paramètres, nous nous focalisons naturellement sur la concentration en carbone organique dissous (COD). La concentration en COD (de l'ordre de 10 à 15 mgC.l⁻¹) dans les rejets de la station Seine-Aval est la plus importante parmi les cinq stations (Figure 14). Pour les rejets de quatre autres stations, les concentrations en COD présentent des niveaux relativement proches (valeurs comprises entre 6,1 et 7,6 mgC.l⁻¹) sauf dans le cas de la station Marne Aval pour laquelle la concentration en COD est légèrement plus élevée. Ces résultats sont cohérents avec l'efficacité du traitement dans ces stations pour lesquels on relève des abattements de 93% à 96% de la pollution carbonée sauf pour la station Seine-Aval pour laquelle cet abattement n'est que de 84% (Tableau 9).

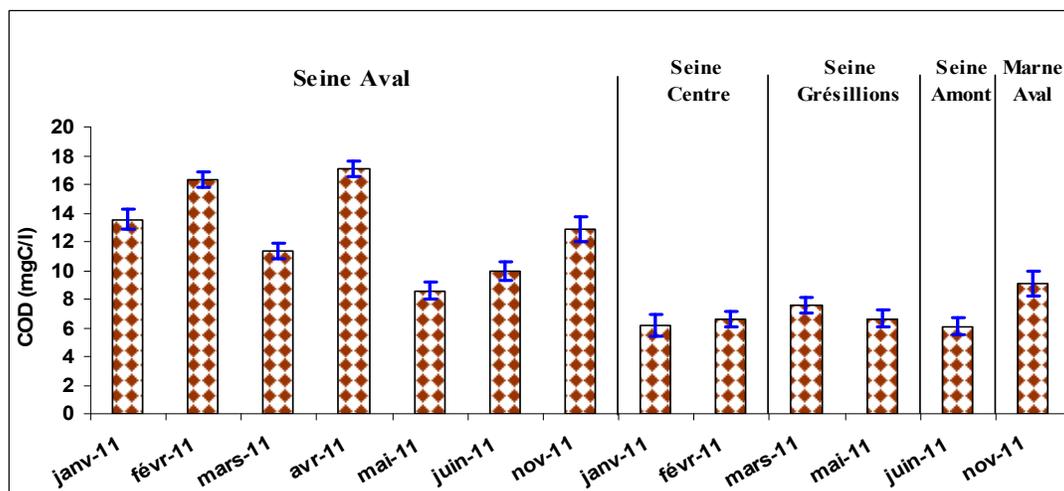


Figure 14: Concentration en COD dans les rejets traités des cinq stations d'épuration du SIAAP.

En outre, le suivi temporel des rejets de la station Seine-Aval pendant les sept campagnes menées durant l'année 2011 montre des concentrations en carbone qui varient assez largement dans une gamme comprise entre 8,6 et 17,1 mgC.l⁻¹ (*Figure 14*). Ceci peut être lié à une différence de qualité de eaux usées qui alimentent la station et/ou selon s'il s'agit d'une période de travaux ou de tests qui empêchent la STEP de fonctionner une configuration optimale. Quoiqu'il en soit, étant donné d'une part les niveaux de COD dans les rejets de la STEP Seine-Aval environ deux fois supérieurs aux autres STEP et d'autre part le volume d'eaux usées qui y est traité, il apparaît que l'impact de cette STEP sur la quantité et la qualité de la MOD dans le milieu récepteur sera largement prédominant par rapport aux autres STEP de l'agglomération.

III.2.2. FRACTIONNEMENT DU COD

La répartition du COD parmi les différentes fractions pour les échantillons de rejets de STEP est présentée dans la *Figure 15*.

La répartition du COD selon les différentes fractions des cinq STEP ne présente pas une grande différence entre elles quelque soit la station (*Figure 15 haut*). Une nette prédominance de la fraction HPI est observée avec un pourcentage qui varie entre 40 et 60%. La fraction HPO, varie entre 15 et 30% du COD total et enfin la fraction transphilique présente des valeurs similaires comprises entre 15 et 35%. Les valeurs moyennes des fractions HPO, TPI et HPI se situent respectivement à 23%, 27% et 50% du COD total. Ces résultats de distribution du COD des effluents de STEP concordent avec la littérature (Ma *et al.*, 2001; Imai *et al.*, 2002; Pernet-coudrier *et al.*, 2008) qui révèle une forte présence (> 60%) de substances non humiques (non hydrophobes). En effet, la forte proportion de MOD hydrophile résulte probablement de l'importante activité bactérienne au cours du traitement des effluents (Imai *et al.*, 2001; Imai *et al.*, 2002; Leenheer and Rostad, 2004) alors que comme il a été montré par ailleurs (Manka and Rebhun, 1982; Ma *et al.*, 2001; Leenheer and Rostad, 2004), la fraction hydrophobe est la fraction la plus réfractaire au traitement biologique expliquant ainsi sa présence.

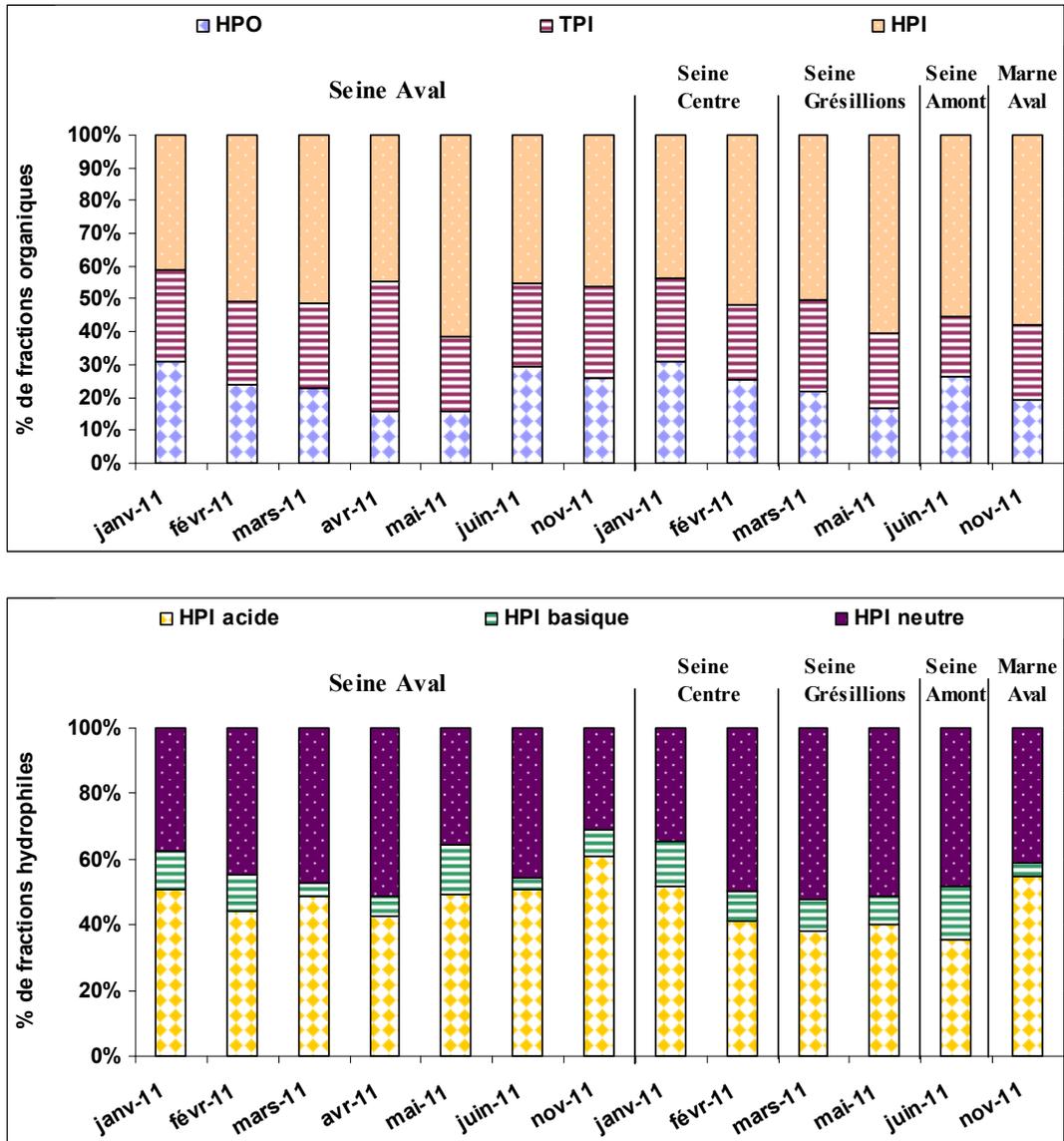


Figure 15: Répartition du COD selon les différentes fractions (haut) et les sous-fractions hydrophiles (bas) pour les effluents de stations d'épuration prélevés pendant l'année 2011.

Concernant l'étude temporelle de la station Seine Aval, afin de mieux visualiser la dispersion des données, la représentation de ces dernières sous forme de « scattergrams » a été utilisée (Figure 16). Sur cette représentation figurent la médiane (représentée par « un trait horizontal ») et la moyenne (représentée par « + ») des différents points mesurés (schématisés par les formes « ●/▲/■/◆»). En effet, malgré les concentrations différentes en COD pour les différentes campagnes de prélèvement des effluents de Seine-Aval (Figure 14), nous pouvons observer que la polarité de la MOD de ces rejets n'est pas fortement affectée. On observe une fraction hydrophile (HPI) prédominante avec un pourcentage variant entre 45 et 50% alors que les deux autres fractions transphiliques et hydrophobe

sont respectivement aux alentours de 28 et 24% du COD total. Globalement, ces résultats montrent la prédominance des substances non humiques dans les rejets urbains.

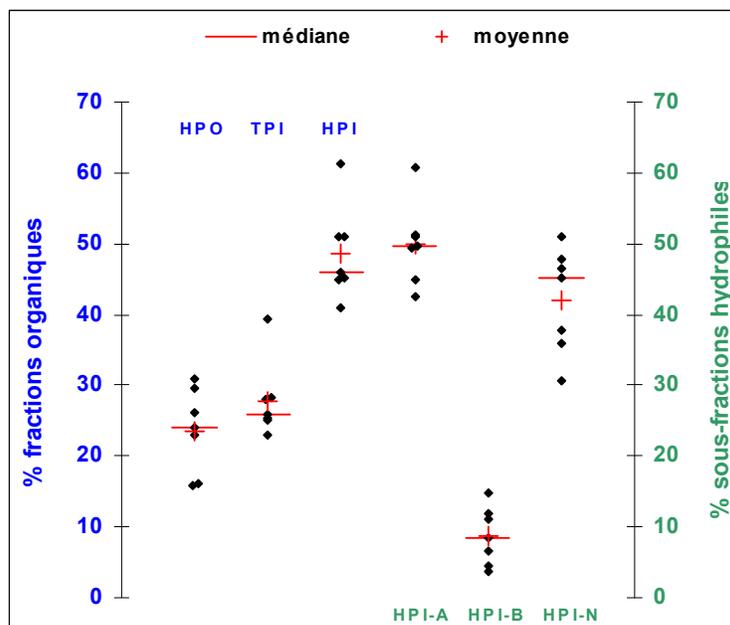


Figure 16: Répartition du COD selon les différentes fractions organiques des effluents de la STEP Seine-Aval.

Quant à la distribution du COD selon les sous-fractions hydrophiles, on remarque que la fraction basique (HPI-B) est en proportion minoritaire, elle représente en moyenne 10% du COD quelque soit la STEP considérée (*Figure 15 bas et Figure 16*). Cela concorde avec la littérature où (Imai *et al.*, 2002) révèlent une faible présence de cette sous-fraction basique par rapport à la fraction hydrophile totale dans les effluents de stations d'épuration. Concernant les deux autres sous-fractions hydrophiles acide (HPI-A) et neutre (HPI-N), elles représentent chacune entre 40 et 50% du COD avec une légère prédominance de la fraction HPI-A dans la plupart des échantillons. Ces sous-fractions hydrophiles sont composées essentiellement de structures protéiques et de polysaccharides, ce qui diffère entre elles ce sont leurs teneurs en groupements fonctionnels acide et basique. La sous-fraction acide est caractérisée par sa teneur élevée en acides carboxyliques alors que la sous-fraction basique se compose des sucres aminés, des purines et des pyrimidines (voir *Tableau 1*).

Des analyses en spectrofluorescence et également en spectrométrie UV-visible ont été réalisées par la suite sur ces échantillons afin de mieux les caractériser.

III.2.3. SPECTROSCOPIE DE FLUORESCENCE MOLECULAIRE

Afin de comparer entre eux les effluents de temps sec, nous présentons les résultats des intensités des bandes (*Figure 17 et Figure 18*) et des indices de fluorescence (*Figure 19*) pour les échantillons non fractionnés des cinq STEP étudiés.

a. Les échantillons non fractionnés :

Les échantillons filtrés des effluents de cinq STEP, Marne Aval (nov.11), Seine Amont (juin 11), Seine Centre (janv.11), Seine Aval (nov.11) et Seine Grésillons (mai 11), ont été suivis en spectrofluorescence.

- Intensités et rapports d'intensité des bandes de fluorescence :

Il est important de signaler que les intensités présentées ci-dessous ont été normalisées par rapport aux concentrations en carbone organique dissous afin de pouvoir comparer les propriétés de fluorescence de la MO sans tenir compte de l'effet du COD.

D'après la *Figure 17*, on peut dire que globalement les intensités de fluorescence des quatre bandes α , α' , β et γ présentent des valeurs similaires pour les STEP échantillonnées mis à part la STEP Seine-Aval qui se distingue par des valeurs plus élevées pour toutes les bandes. Cette fluorescence plus marquée de la MOD issue de la STEP Seine-Aval ne concerne pas une bande en particulier puisque l'on peut voir à la *Figure 18* que les rapports des bandes sont tout à fait similaires à ceux des quatre autres STEP. En ce qui concerne les rapports des bandes de fluorescence, (*Figure 18*), nous n'observons pas de différence très nette. Si l'on met de côté le cas de la STEP Seine-Aval, nous pouvons dire que la nature du traitement des eaux usées (différente d'une STEP à l'autre) n'a pas un impact très fort sur la fluorescence de la MOD. Pour la STEP Seine-Aval, nous n'avons pas pu identifier formellement l'origine de cette fluorescence plus importante. Il est possible que la moindre efficacité du traitement constatée pour cette STEP ait pour effet de moins dégrader des fluorophores importants de la MOD.

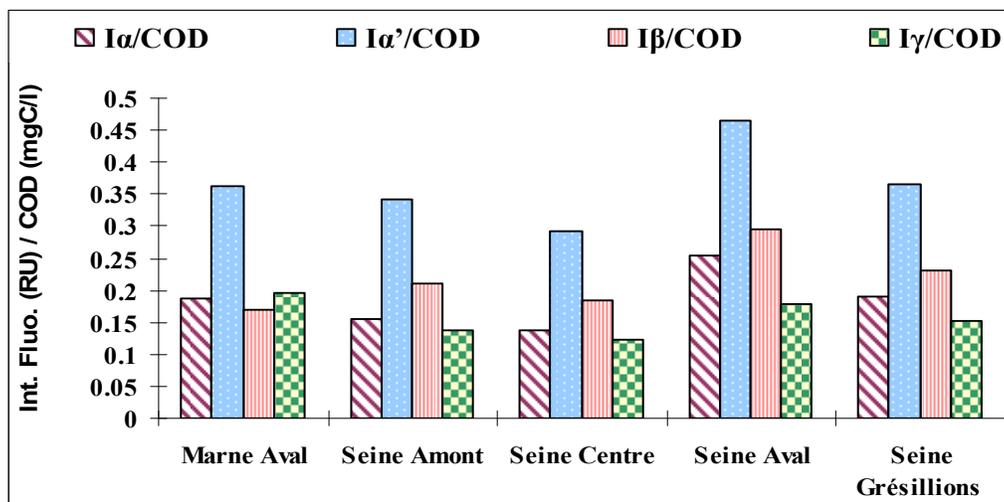


Figure 17: Intensités de fluorescence normalisées par rapport à la teneur en COD des échantillons non fractionnés des stations d'épuration du SIAAP.

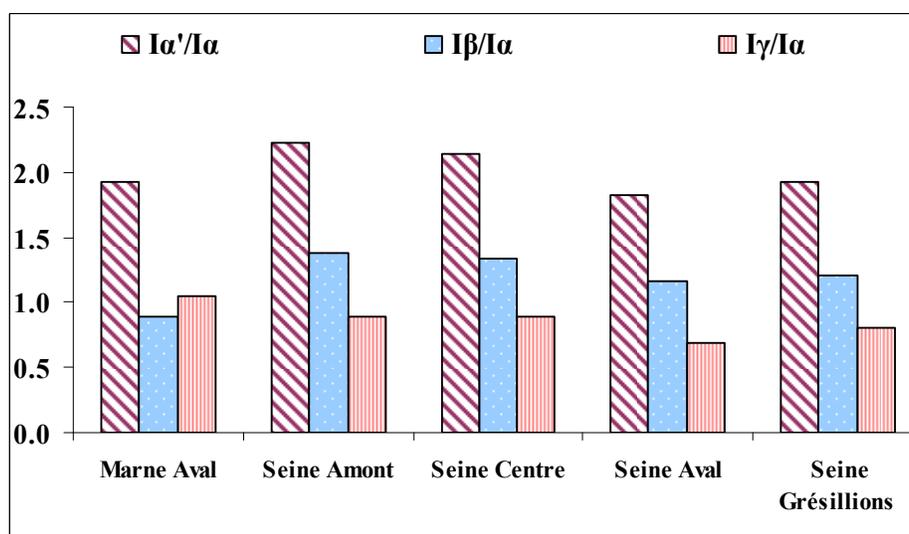


Figure 18. Rapports d'intensité déterminés pour les échantillons non fractionnés des cinq stations d'épuration du SIAAP.

- Indices de fluorescence : HIX et BIX

Les indices de fluorescence présentent des valeurs proches pour les cinq stations d'épuration aussi bien pour HIX, l'indice d'humification qui oscille entre 4.5 et 5.8, que pour BIX, indice estimant l'activité biologique variant entre 0.7 et 0.9 (Figure 19). En comparant avec la littérature (Vacher, 2004a), ces valeurs indiquent un caractère humique faible avec une importante composante autochtone récente résultante d'une forte activité biologique (Tableau 4 et Tableau 5).

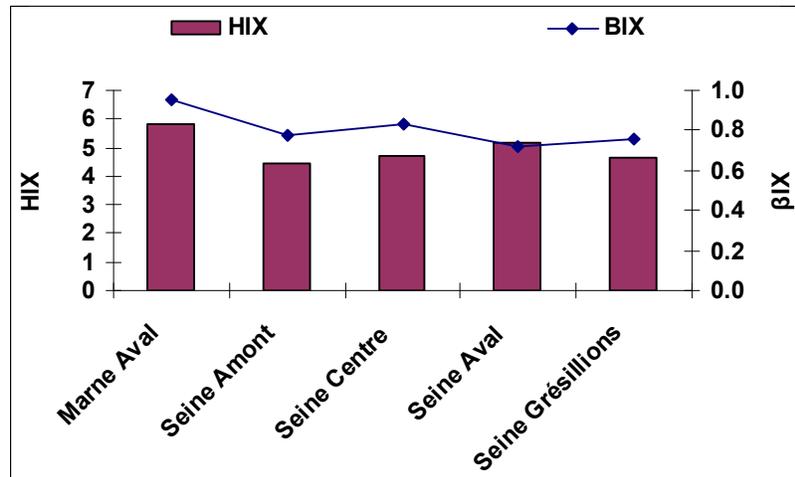


Figure 19: Indices de fluorescence HIX et BIX déterminés pour les échantillons non fractionnés de chaque station d'épuration.

b. Les échantillons fractionnés :

Les propriétés de fluorescence des échantillons collectés en sortie de résine au cours du fractionnement de la MOD ont également été déterminées. Pour cela les échantillons provenant des deux stations Seine-Aval et Seine Centre ont été étudiés.

- Intensités et rapports d'intensité des bandes de fluorescence :

La Figure 20 présente les projections dans le plan des spectres de fluorescence 3D de l'échantillon non fractionné (MOD) et des échantillons prélevés en sortie des résines DAX-8 (MOD-HPO) et XAD-4 (HPI) lors du fractionnement de la MOD des rejets des STEP Seine-Aval (mai-11) et de Seine Centre (janv.-11).

Nous remarquons dans la Figure 21 que, pour les deux échantillons, les intensités de fluorescence des quatre bandes varient très peu après le retrait de la fraction HPO dans l'échantillon (entre l'entrée et la sortie de la résine DAX-8) ce qui signifie, étant données que les bandes sont normalisées par rapport au COD, que la fraction HPO fluoresce d'une manière similaire à la MOD restant dans l'échantillon.

Dans le cas de la STEP Seine-Aval, ces bandes de fluorescence diminuent ensuite après le retrait des fractions (rappelons que nous travaillons sur les sorties des résines) TPI et HPI-B. Les fractions HPI-A et HPI-N semblent fluorescer de manière similaire et relativement faible. Il apparaît donc que ce sont les fractions HPO, TPI et HPI-B qui sont les principales responsables de la fluorescence importante des rejets de la STEP Seine-Aval.

Dans le cas de la STEP Seine-Centre, la fluorescence est beaucoup plus faible que dans le cas de la STEP Seine-Aval comme cela a déjà été observé. Comme pour la STEP Seine-Aval, ce sont les fractions HPO et TPI qui sont responsables de l'essentiel de la fluorescence. Par contre les fractions hydrophiles y compris la fraction HPI-B, fluorescent peu, particulièrement la fraction HPI-N.

Les résultats obtenus, notamment pour la STEP Seine-Aval, peuvent paraître étonnants dans la mesure où les deux bandes I_{α}/COD et $I_{\alpha'}/\text{COD}$ sont liées aux substances humiques, elles devraient donc diminuer fortement et plus que les autres bandes quand la fraction HPO est retirée, ce qui n'est pas observé. Nous pouvons donc nous demander à quels composés présents dans les fractions TPI et HPI-B sont dues ces bandes α et α' , sensées être liées aux composés humiques.

Ces résultats sont originaux dans la mesure où la fluorescence des bandes I_{α}/COD et $I_{\alpha'}/\text{COD}$ liées aux composés humiques devraient provenir de composés contenus dans la fraction HPO qui contient par définition les composés humiques alors qu'il semble que pour l'échantillon de la STEP Seine-Aval ces composés qui fluorescent au niveau des bandes I_{α}/COD et $I_{\alpha'}/\text{COD}$ sont présents bien entendu dans la fraction HPO mais aussi dans les fractions TPI et HPI-B.

Pour la bande I_{γ}/COD , on note que pour la STEP Seine-Aval l'intensité de fluorescence est presque constante après les retraits des fractions HPO et TPI puis décroît lors du retrait de la fraction HPI-B pour se stabiliser à un niveau assez faible. Pour la STEP Seine-Centre l'intensité de la bande I_{γ}/COD , nettement plus faible que pour la STEP Seine-Aval, reste constante après le retrait de la fraction HPO puis décroît lors du retrait des fractions TPI, HPI-B et HPI-A. Il apparaît donc que les fractions HPO, TPI et HPI-B sont responsables de la fluorescence de cette bande qui est liée aux composés protéiques (*Tableau 2*) alors que nous aurions pu attendre un rôle particulier de la fraction HPI-B même si des composés protéiques peuvent également se trouver dans ces fractions HPO et TPI (*Tableau 1*). Toutefois, même si nous n'avons pas calculé précisément la contribution à la fluorescence de chaque fraction, il est probable que la fraction HPI-B soit particulièrement fluorescente dans cette bande étant donné d'une part la décroissance forte observée après le retrait de la fraction HPI-B alors que cette fraction est très minoritaire dans cet échantillon (*Figure 15*). Ceci est cohérent avec le fait que cette sous-fraction hydrophile basique contient potentiellement une teneur importante en groupements amines (*Tableau 1*).

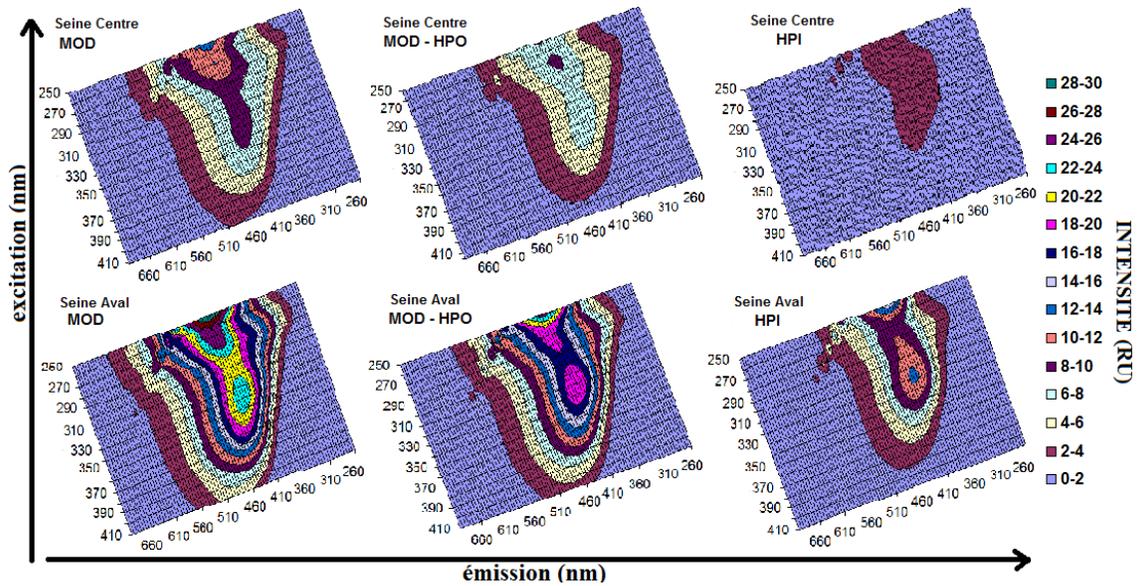


Figure 20 : Projections dans le plan des spectres de fluorescence 3D de l'échantillon non fractionné (MOD) et des échantillons prélevés en sortie des résines DAX-8 (MOD-HPO) et XAD-4 (HPI) lors du fractionnement de la MOD des rejets de deux stations d'épuration.

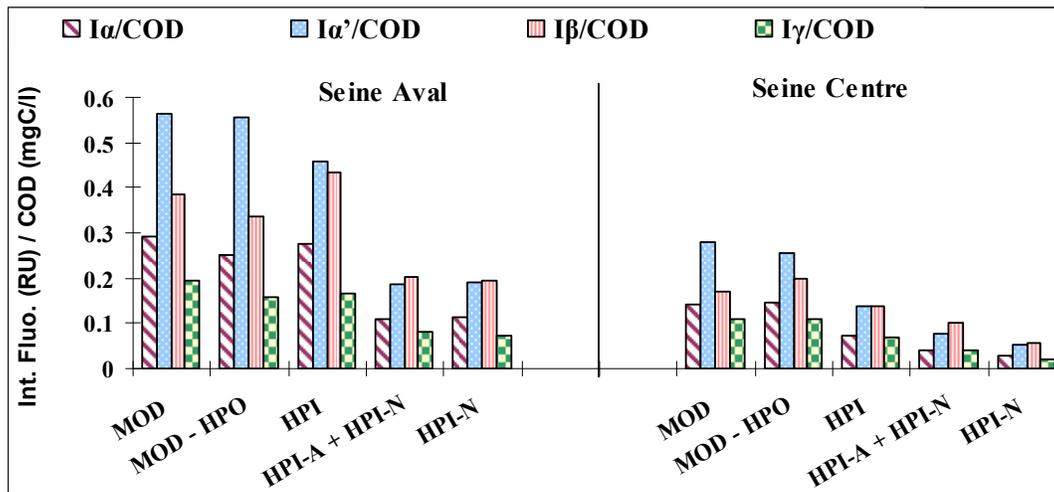


Figure 21 : Variation des intensités de fluorescence normalisées par rapport à la teneur en COD au cours de fractionnement de la MOD provenant des échantillons de deux stations d'épuration.

Concernant les rapports des intensités, on ne remarque pas de variation significative au cours du fractionnement de la MOD aussi bien pour Seine Aval que pour Seine Centre (Figure 22). En effet, on observe que le rapport I_{γ}/I_{α} reste presque constant tout au long du fractionnement, cela veut dire que quelque soit la fraction considérée, aucune ne distingue par son caractère humique (faible ou fort). Ceci est cohérent avec ce qu'on a obtenu précédemment dans la Figure 21 mais cela n'est pas un résultat attendu dans la mesure où l'on s'attend à une forte diminution du caractère humique lors du

fractionnement. En effet, en comparant avec le *Tableau 3*, on aperçoit une prédominance du caractère humique pour cette gamme des valeurs observées pour le rapport $I\gamma/I\alpha$ lors du fractionnement.

Concernant le rapport $I\alpha'/I\alpha$, il fluctue au début de fractionnement (seulement pour la STEP Seine-Aval) lors du retrait de la fraction HPO puis reste constant jusqu'à la fin du fractionnement.

Concernant le rapport $I\beta/I\alpha$, une légère augmentation est observée au cours du fractionnement pour les deux échantillons.

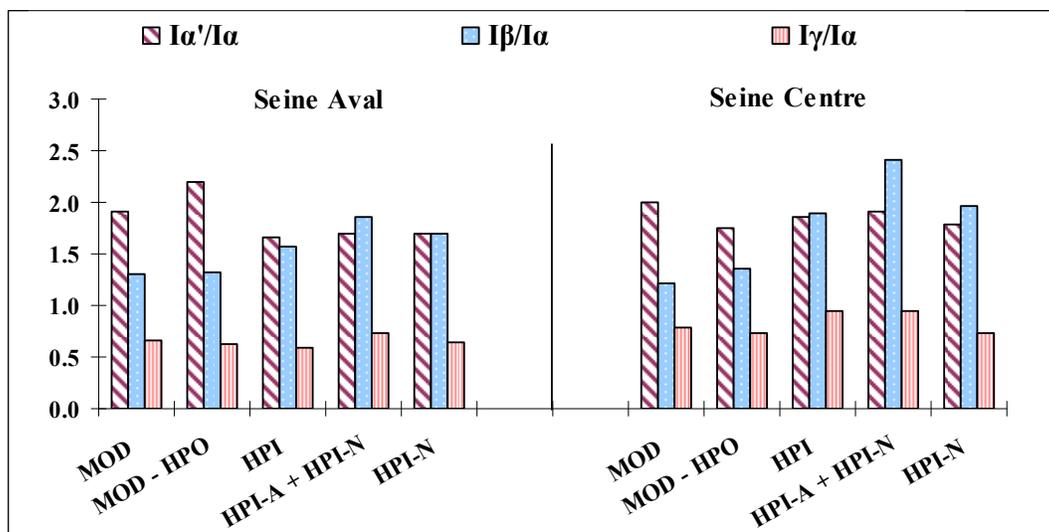


Figure 22 : Les rapports d'intensité déterminés au cours de fractionnement de la MOD des échantillons provenant des deux stations d'épuration Seine-Aval et Seine-Centre.

- *Indices de fluorescence : HIX et BIX*

Au cours du fractionnement de la MOD, les valeurs de l'indice d'humification HIX diminuent (*Figure 23*).

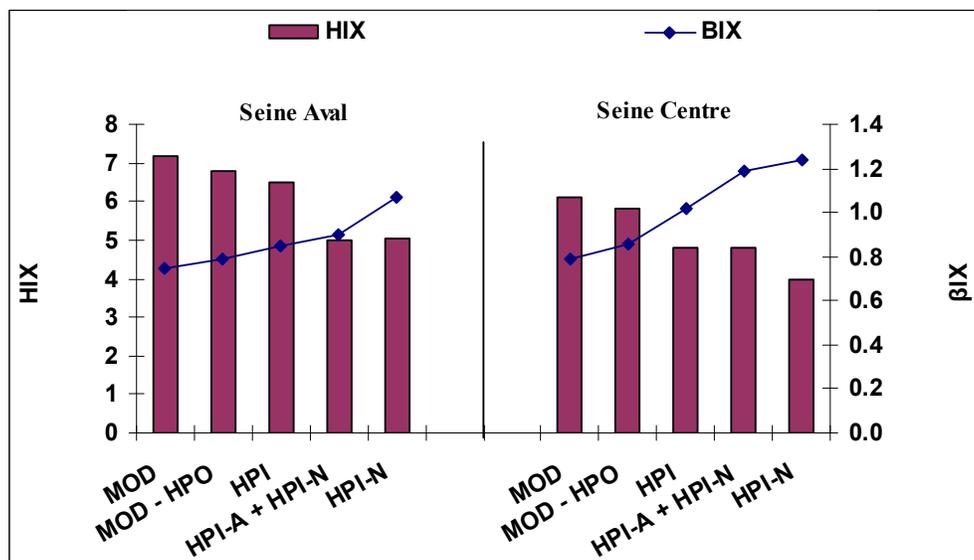


Figure 23: Les indices de fluorescence obtenus au cours de fractionnement de la MOD des échantillons de deux stations d'épuration.

Nous observons que l'indice HIX reste élevé jusqu'au retrait de la fraction HPI-B. Ceci est assez cohérent avec les résultats observés précédemment (*Figure 21 et Figure 22*). D'autre part, une augmentation de BIX est constatée au cours de fractionnement de la MOD (*Figure 23*), ce qui est liée à une origine biologique plus importante de la MOD hydrophile. La gamme des valeurs obtenues pour l'indice HIX des fractions hydrophiles montre une importante composante autochtone récente avec un caractère humique faible (*Tableau 4*) alors que celle déterminée pour l'indice BIX pour ces mêmes fractions révèle une forte activité biologique (*Tableau 5*) ce qui est assez logique.

Les échantillons analysés en spectrofluorimétrie ont été également analysés en spectroscopie UV-visible.

III.2.4. SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION UV-VISIBLE

Etant donnée la complexité de la structure de la MOD et de la diversité des molécules qui la compose, l'analyse spectrophotométrique UV-Visible conduit à l'obtention de profils montrant une décroissance monotone de l'intensité du signal des faibles longueurs d'onde vers les longueurs d'onde élevées sans pics caractéristiques. Cependant les spectres montrent de légères inflexions dont les maxima sont aux alentours de 225nm. Les mesures de l'absorbance UV à 254 nm et du COD ont permis de calculer pour chaque échantillon l'absorbance UV spécifique caractéristique de l'aromaticité et du caractère hydrophobe des molécules. La *Figure 24* présente à titre d'exemple les spectres d'absorbance spécifique UV-visible (absorbance normalisée par rapport à la concentration en

COD) enregistrés dans un domaine de longueurs d'onde compris entre 200 et 700 nm des échantillons provenant des rejets de stations d'épuration. Les spectres présentent une allure classique communément rencontrée dans la littérature (Violleau, 1999).

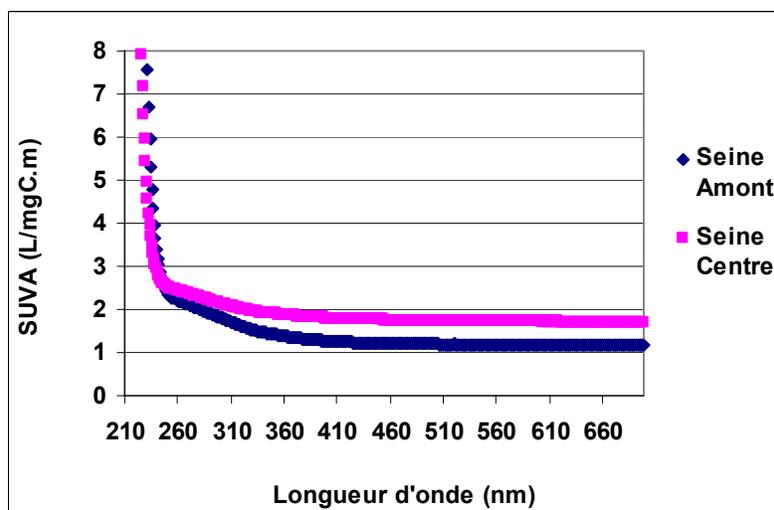


Figure 24. Absorbance Spécifique UV-visible des échantillons provenant des rejets de STEP Seine Amont et Seine Centre.

Les résultats présentés pour l'ensemble des MOD étudiées rassemblent les pourcentages d'aromaticité et les valeurs de SUVA à 254 nm (absorbance à 254 nm normalisée par rapport à la concentration en COD) déduites des spectres. Etant donnée la très forte corrélation existante entre ces trois paramètres, % aromaticité, % aromaticité SUVA et le SUVA, on se limite à décrire dans la suite des résultats la variation d'un seul paramètre, celui du SUVA.

Les valeurs de SUVA des effluents des cinq stations d'épuration de SIAAP varient entre 1.7 et 2.7 $\text{m}^{-1} \text{l mgC}^{-1}$ (Figure 25). Cette légère variation observée entre ces cinq STEP est probablement expliquée par les procédés de traitement propres à chaque STEP. Ces valeurs sont comparables à la littérature (Goldman *et al.*, 2012) où la gamme de SUVA pour les effluents des stations varie entre 1 et 2.6 $\text{m}^{-1} \text{l mgC}^{-1}$. Ce qui est aussi cohérent avec les travaux d'(Edzwald, 1993) qui montrent que les eaux avec un $\text{SUVA} < 2-2,5$ sont considérées à caractère non humique.

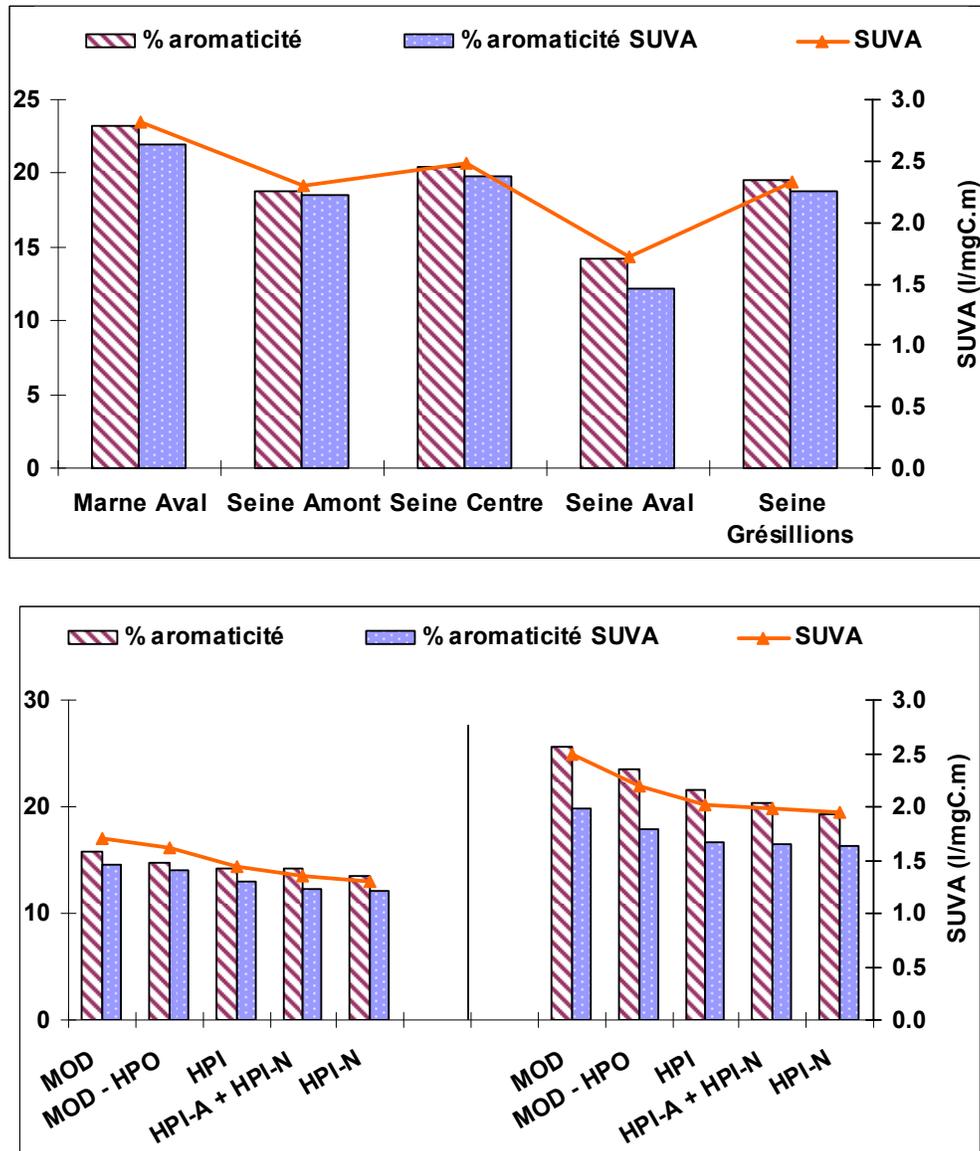


Figure 25: Pourcentages d'aromaticité et indice SUVA observés dans les échantillons non fractionnés de cinq STEP (en haut) et au cours du fractionnement de la MOD pour deux STEP (en bas).

Au cours du fractionnement de la MOD des échantillons des STEP Seine-Aval et Seine-Centre, une tendance à la diminution des valeurs de SUVA est observée, ce qui est cohérent avec la diminution du caractère aromatique au cours du fractionnement. Il est important de noter que la diminution du SUVA au cours du fractionnement survient surtout lors du retrait des fractions HPO et TPI ce qui est tout à fait cohérent.

III.3. CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES SOURCES URBAINES DE MATIERE ORGANIQUE DISSOUE: LES REJETS URBAINS DE TEMPS DE PLUIE (RUTP)

Un des objectifs de ce travail est de caractériser la MOD contenue dans les RUTP. En effet, très peu de travaux ont été publiés sur les caractéristiques de cette MOD notamment en termes d'interactions avec les métaux. Pour ce faire, des évènements de temps de pluie donnant lieu à surverse d'orage ont été échantillonnés au déversoir d'orage de Clichy.

Neuf évènements de temps de pluie donnant lieu à surverses d'orage ont été échantillonnés pendant l'année 2010-2011. Le prélèvement est effectué à l'aide d'un préleveur automatique au déversoir d'orage de Clichy. Un échantillon moyen représentatif de l'évènement pluvieux a pu être reconstitué grâce à la chronique des débits fournie par le SIAAP (cf. paragraphe II.2.2).

Nous présentons dans la suite, les paramètres globaux, les résultats de fractionnement des MOD de ces RUTP ainsi que ceux de leur analyse en spectrofluorescence et en spectrométrie UV-visible.

III.3.1. LES PARAMETRES GLOBAUX

Les paramètres varient fortement d'un événement à l'autre (conductivité, % eaux usées et eaux pluviales, volumes déversés....) (*Tableau 10*). Par exemple, plus d'un facteur 10 est observé entre les volumes déversés durant les événements pluvieux (données fournies par le SIAAP). Quant aux conductivités mesurées, on remarque qu'elles sont aussi très différentes variant de 260 à 693 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, ce qui fait que les pourcentages des eaux usées et pluviales sont aussi variés. La diversité de ces événements se reflète enfin sur la variation des concentrations en carbone organique dissous et particulaire. Notons que les concentrations en COP sont beaucoup plus importantes pour la plupart de ces événements que celles mesurées dans les effluents des stations d'épuration (*Tableau 8*). Les concentrations de COP dans les RUTP sont de l'ordre d'une centaine de $\text{mgC}\cdot\text{l}^{-1}$ contre une dizaine de $\text{mgC}\cdot\text{l}^{-1}$ pour les rejets traités des stations d'épuration. Ces valeurs élevées en carbone organique constituent la cause première des déficits d'oxygène observés dans le milieu récepteur suite aux RUTP.



Déversoir d'orage de Clichy

Date	Conductivité (µS/cm)	% eaux usées		% eaux pluviales		Volumes déversés (m³)	COD (mgC/l)	COP (mgC/l)
		min	max	min	max			
06-juin.-10	449	30	35	65	70	35 268	25	135
08-sept.-10	380	23	33	67	77	37 976	6	55
24-sept.-10	260	11	25	75	89	325 336	8	71
08-nov.-10	451	30	35	65	70	41 963	16	96
09-nov.-10	374	22	28	72	78	285 827	19	116
26-jan.-11	615	46	50	50	54	74 214	22	122
06-juin-11	374	22	28	72	78	442 423	13	129
20-juin-11	430	28	33	67	72	157 383	8	68
04-nov-11	693	54	57	43	46	95 631	16	99

Tableau 10: Les paramètres globaux de neuf événements de temps de pluie issus de déversoir d'orage de Clichy durant l'année 2010-2011.

III.3.2. FRACTIONNEMENT DU COD

La répartition du COD selon les fractions organiques pour l'ensemble des événements étudiés montre que la fraction TPI est la fraction minoritaire avec une proportion variant de 10 à 30% du COD total de l'échantillon (*Figure 26*). Les fractions HPO et HPI varient respectivement entre 28% et 50% et entre 33% et 55% du COD total. Cette variabilité supérieure à celle des rejets de STEP est due à l'hétérogénéité des événements mise en évidence précédemment dans le *Tableau 10*. Globalement, les valeurs moyennes de ces fractions HPO, TPI et HPI se situent respectivement à 41%, 14% et 45% du COD total. La fraction HPO prédomine pour les deux événements de septembre 2010 alors que ce sont les substances non humiques (somme des fractions HPI et TPI) qui prédominent dans le reste des événements. Nous pouvons noter que globalement ces RUTP ont une proportion de COD hydrophile qui est assez similaire aux valeurs obtenues dans les effluents de temps sec des stations d'épuration (*Figure 15*). La différence entre ces deux types de rejets réside surtout dans la répartition des fractions hydrophobe et transphilique. En effet, la fraction HPO est beaucoup plus élevée dans les RUTP (et donc inversement la fraction TPI est plus faible). Cela peut être dû à la MO transportée par ruissellement provenant du lessivage de sols et qui est à caractère plutôt hydrophobe tandis que les

valeurs élevées de la fraction TPI dans les rejets de temps sec peuvent être dues aux exsudats microbiens.

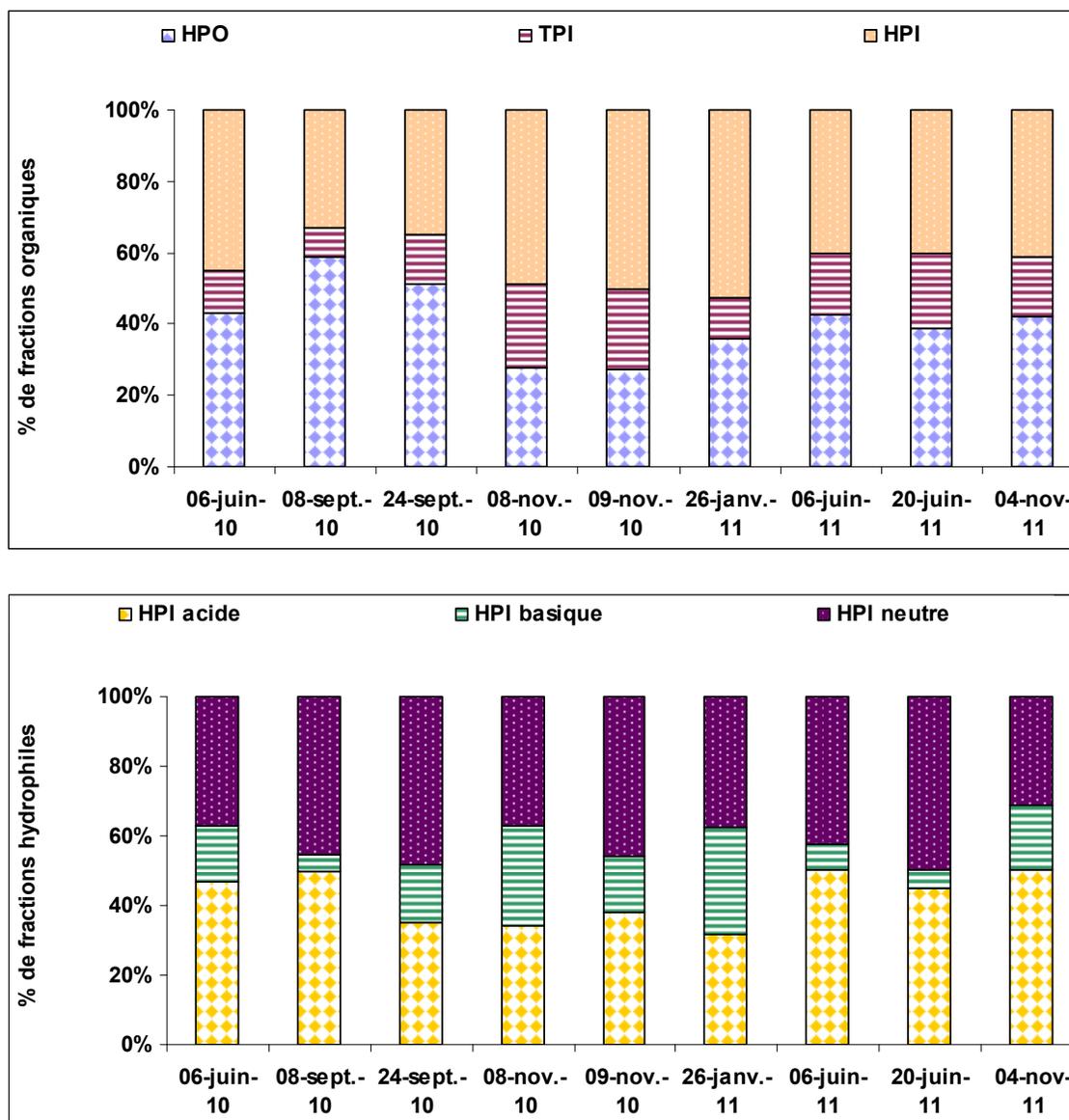


Figure 26: Répartition du COD selon les différentes fractions organiques (haut) et les sous-fractions hydrophiles (bas) pour les neuf rejets urbains de temps de pluie échantillonnés en 2010-2011.

Concernant la répartition en sous-fractions hydrophiles de la fraction HPI (Figure 26 en bas), les résultats indiquent globalement, de manière similaire aux échantillons provenant des rejets des stations d'épuration (Figure 15 en bas), que la fraction hydrophile basique est largement minoritaire (5 à 15%) à l'exception des deux événements (08-nov.-10 et 26-janv.-11) pour lesquels cette sous-fraction représente un pourcentage de l'ordre de 20 à 25%. Les deux autres sous-fractions hydrophiles

acide et neutre varient entre 30 et 50%, avec généralement, une prédominance de la sous-fraction acide.

D'autre part, il semble que, mis à part l'évènement du 6 juin 2010, la proportion de la fraction hydrophile soit positivement corrélée avec la teneur en COD dans l'échantillon ($\rho_{\text{pearson}}=0.92$ corrélation significative au seuil de 5% (valeur $p=0.1\%<5\%$)) (Figure 27) alors que la fraction hydrophobe présente une corrélation négative ($\rho_{\text{pearson}}=-0.76$ corrélation significative au seuil de 5% (valeur $p=2\%<5\%$)). On peut observer que pour les faibles concentrations en COD, la fraction HPO prédomine alors que la fraction HPI prédomine pour les concentrations plus élevées en COD. Aucune relation n'a pu être observée entre la proportion d'eaux usées et celle de la fraction hydrophile pas plus qu'avec la concentration en COD (Figure 28). Cela permet donc d'émettre l'hypothèse que les concentrations importantes en COD dans les RUTP sont dues à une remise en suspension de MO déposée par temps sec plutôt qu'à une proportion plus importante d'eaux usées. Il apparaît donc que la MO remise en suspension est plutôt hydrophile ce qui pourrait être due à des processus bactériens se déroulant dans les dépôts du réseau.

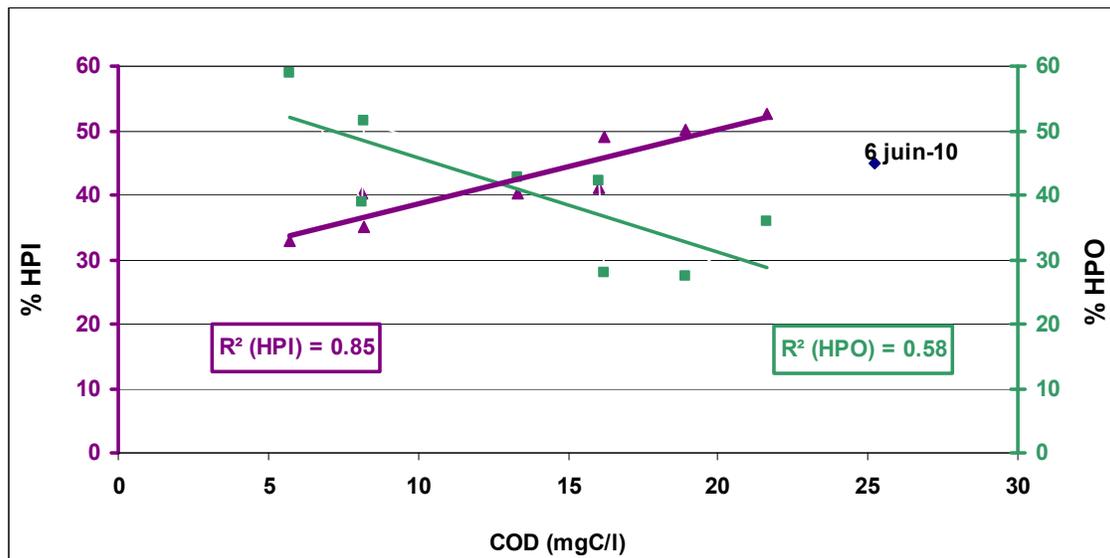


Figure 27: Répartition du COD selon les fractions hydrophobe et hydrophile dans les neuf RUTP en fonction de la concentration en COD

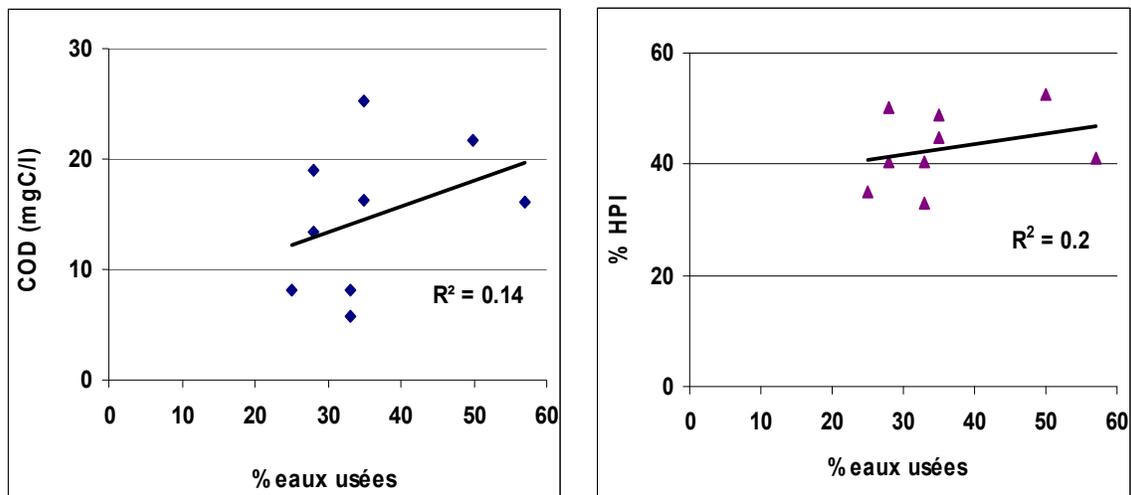


Figure 28: Relation entre le pourcentage d'eaux usées avec la concentration en carbone organique dissous et la fraction hydrophile.

III.3.3. SPECTROSCOPIE DE FLUORESCENCE MOLECULAIRE

Afin de mieux caractériser la MOD contenue dans les RUTP, des analyses en spectrofluorescence et également en spectrométrie UV-visible ont été réalisées et sont présentées dans ce qui suit.

Parmi les neuf déversements d'orage qui ont eu lieu pendant l'année 2010-2011, on étudie les propriétés de fluorescence de cinq d'entre eux. On présente ci-dessous les résultats des intensités des bandes (*Figure 29 et Figure 31*) et des indices de fluorescence (*Figure 32*) des échantillons non fractionnés.

a. Les échantillons non fractionnés :

- Intensités et rapports d'intensité des bandes de fluorescence :

Les intensités normalisées par rapport aux concentrations en COD sont présentées à la *Figure 29*. Les résultats montrent une fluctuation importante des intensités des bandes α , α' , β et γ entre ces cinq événements. Ces fluctuations sont probablement dues à l'hétérogénéité existante entre les déversements qui diffèrent notamment par leurs proportions en eaux usées et pluviales et également par la répartition différente de leurs COD entre les fractions HPO et HPI. Aucune relation n'a pu être observée entre les intensités de ces bandes et le pourcentage des eaux usées de chaque événement, par contre une bonne corrélation a été mise en évidence entre ces intensités et la concentration en COD (*Figure 30*). Plus le COD augmente plus les intensités des bandes, qui sont rappelons le normalisées par rapport au COD, diminuent. D'après les résultats obtenus précédemment (*Figure 27*), il apparaît

que la fraction HPO qui prédomine pour des faibles concentrations de COD fluoresce plus fortement que la fraction HPI.

D'après la littérature (Ahmad and Reynolds, 1994; Guo *et al.*, 2010; Lai *et al.*, 2011), la MO en entrée de STEP présente des intensités plus élevées que celles des rejets de STEP. Dans notre étude, nous observons que les RUTP, qui sont formés à peu près de 50% d'eaux usées non traitées, fluorescent moins (d'un facteur de 2 environ) que les rejets de STEP (*Figure 17*). Contrairement à la littérature, nous ne pouvons pas suspecter de fluorescence très élevée pour les eaux usées (par rapport aux rejets de STEP) à moins que cela ne soit le matériel organique plus hydrophile provenant de la remise en suspension (cf. paragraphe *III.3.2*) qui affaiblisse le signal de fluorescence.

Concernant les rapports d'intensités, on remarque la stabilité du rapport $I\beta/I\alpha$ entre les cinq événements (*Figure 31*). Les deux rapports $I\alpha'/I\alpha$ et $I\gamma/I\alpha$ sont inversement proportionnelles ($\rho_{\text{pearson}}=0.82$ corrélation significative entre $I\alpha'/I\alpha$ et $I\alpha/I\gamma$ au seuil de 5% (valeur $p=3\%<5\%$)), ceci peut être lié à la polarité du COD et/ou à la proportion relative des eaux usées et des eaux pluviales pour chaque événement. Par exemple les deux événements qui ont eu lieu en juin 2011, avec une forte proportion d'eaux pluviales par rapport aux autres événements (67 et 78% eaux pluviales) et des concentrations en COD faibles, affichent des rapports plus élevés de $I\alpha'/I\alpha$ et plus faibles de $I\gamma/I\alpha$ par rapport aux autres événements. Cela met en évidence leurs faibles teneurs en composés de type protéiques et leurs fortes teneurs en composés humiques.

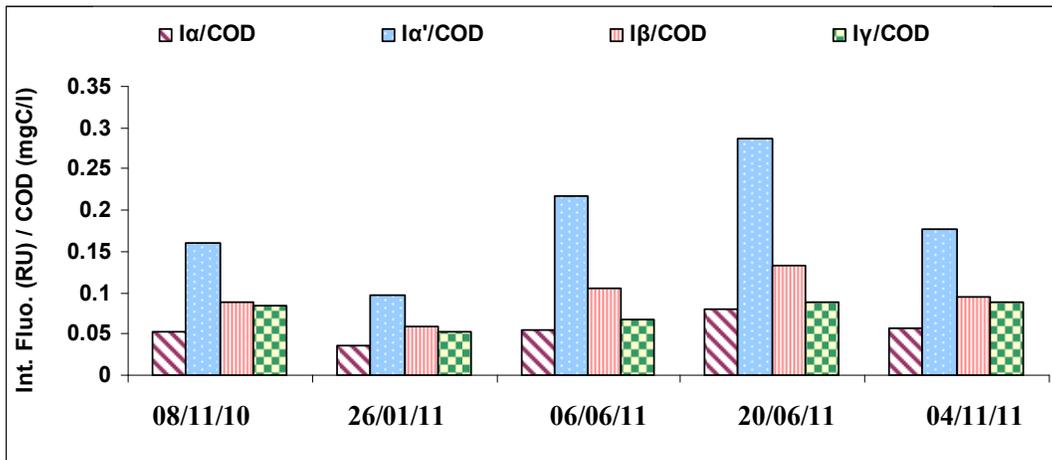


Figure 29: Les intensités de fluorescence normalisées par rapport à la teneur en COD pour les échantillons non fractionnés provenant de cinq déversements d'orage de temps de pluie.

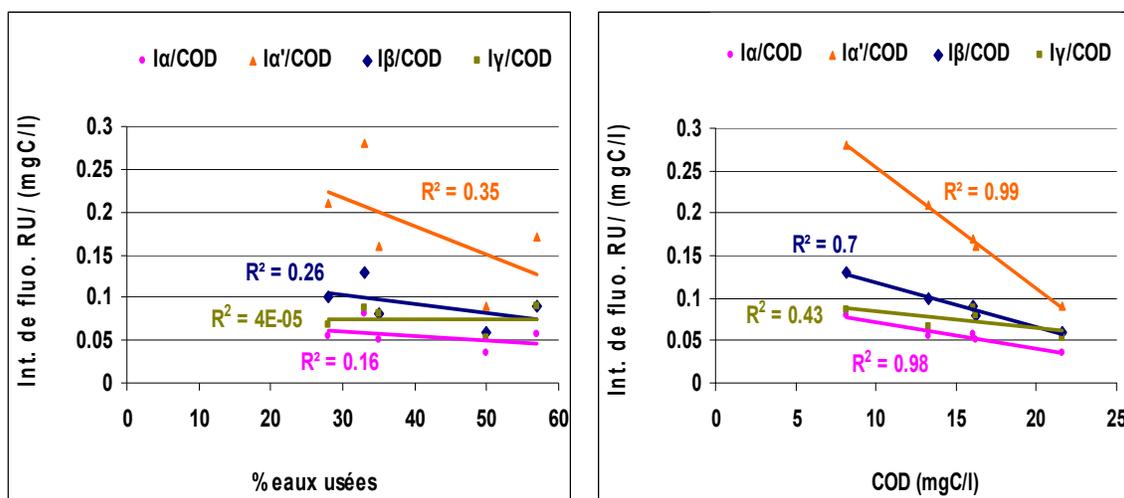


Figure 30: Corrélation des intensités normalisées des bandes avec le % d'eaux usées (gauche) et la concentration en COD (droite)

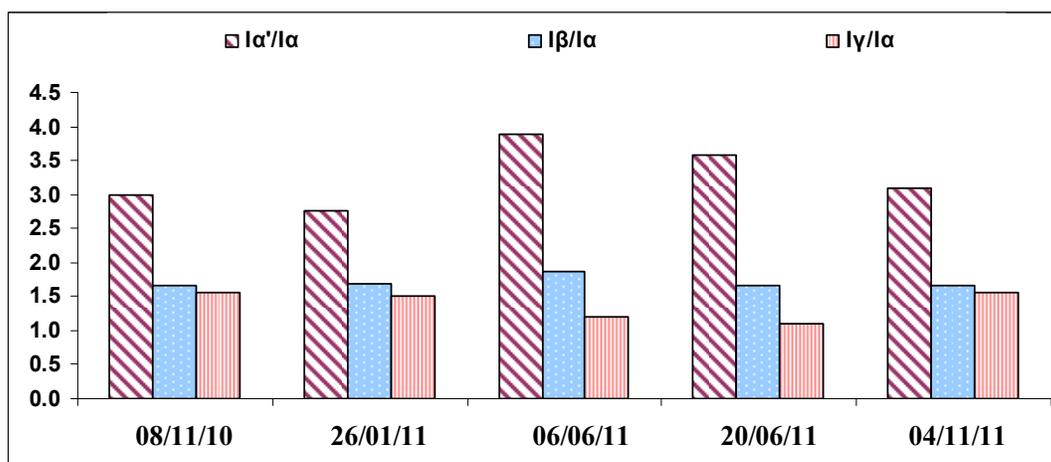


Figure 31: Rapports d'intensité obtenus pour les échantillons non fractionnés provenant de cinq déversements d'orage.

- Indices de fluorescence : HIX et BIX

Les indices HIX et BIX obtenus pour ces RUTP présentent des valeurs comprises entre 3 et 4.5 et entre 0.6 et 0.8 respectivement (Figure 32), ce qui correspond (Tableau 4 et Tableau 5) à un caractère humique faible où la composante autochtone récente est prédominante et à une activité biologique moyenne. Nous pouvons noter que malgré des RUTP relativement hétérogènes ces indices sont relativement stables d'un évènement à l'autre ce qui est d'ailleurs cohérent avec les valeurs des rapports d'intensité (Figure 31). L'intensité de fluorescence varie assez nettement d'un évènement à l'autre (Figure 30) au contraire des rapports d'intensité ou des indices de fluorescence qui sont aussi des rapports d'intensité (cf. paragraphe 1.6.3.3.2).

Il est intéressant de signaler que l'indice d'humification obtenu pour les rejets urbains de temps de pluie (entre 3 et 4.5) est beaucoup plus faible que celui obtenu pour les rejets de temps sec

(Figure 19). Cela indique que la MOD issue de rejets urbains de temps de pluie présente peu de composés à caractère humique et des teneurs élevées en composés labiles. Nous pouvons nous interroger quant à l'origine de cette valeur élevée de HIX dans les rejets de STEP sachant que ces rejets de STEP contiennent aussi une faible proportion de substances humiques.

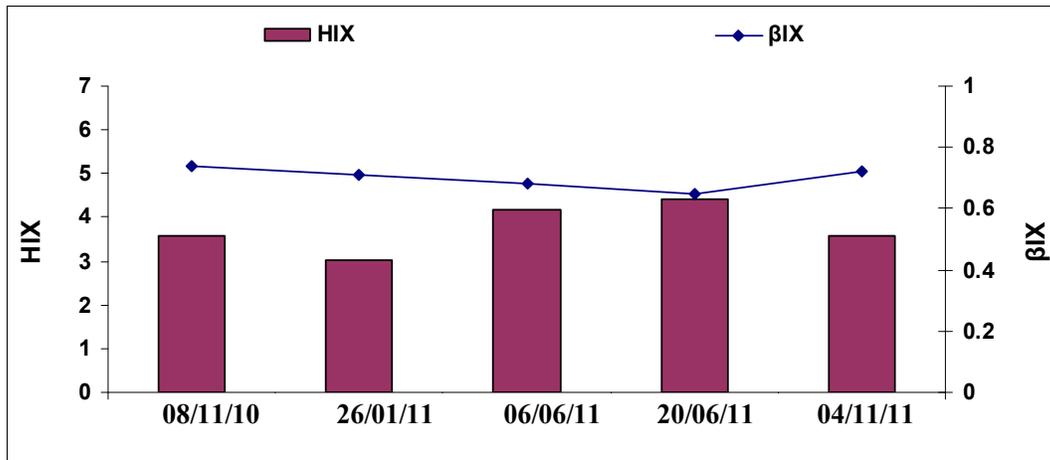


Figure 32: Indices de fluorescence pour les échantillons non fractionnés provenant de cinq déversements d'orage en 2010-2011.

Les échantillons fractionnés de ces événements ont été aussi analysés afin de suivre les propriétés de fluorescence au cours du fractionnement de la MOD des RUTP.

b. Les échantillons fractionnés:

- Intensités et rapports d'intensité des bandes de fluorescence :

La Figure 33 présente les projections dans le plan des spectres de fluorescence 3D de l'échantillon non fractionné (MOD) et des échantillons prélevés en sortie des résines DAX-8 (MOD-HPO) et XAD-4 (HPI) lors du fractionnement de la MOD des cinq RUTP.

Nous remarquons que pour tous les événements les intensités de fluorescence diminuent tout au long du fractionnement (Figure 34). Il faut noter que le retrait de la fraction HPO entraîne une diminution très forte des deux bandes α et α' , diminution beaucoup plus importante que celle observée dans le cas des rejets de temps sec (Figure 21). Il apparaît que contrairement à ce qui est observé pour les rejets de temps sec (cf. paragraphe §III.2.3.b) les fortes intensités des deux bandes α et α' des RUTP sont principalement dues à la fraction HPO et dans une moindre mesure à la fraction TPI. La fraction HPI est dans tous les cas nettement moins fluorescente que l'échantillon non fractionné.

PARTIE A

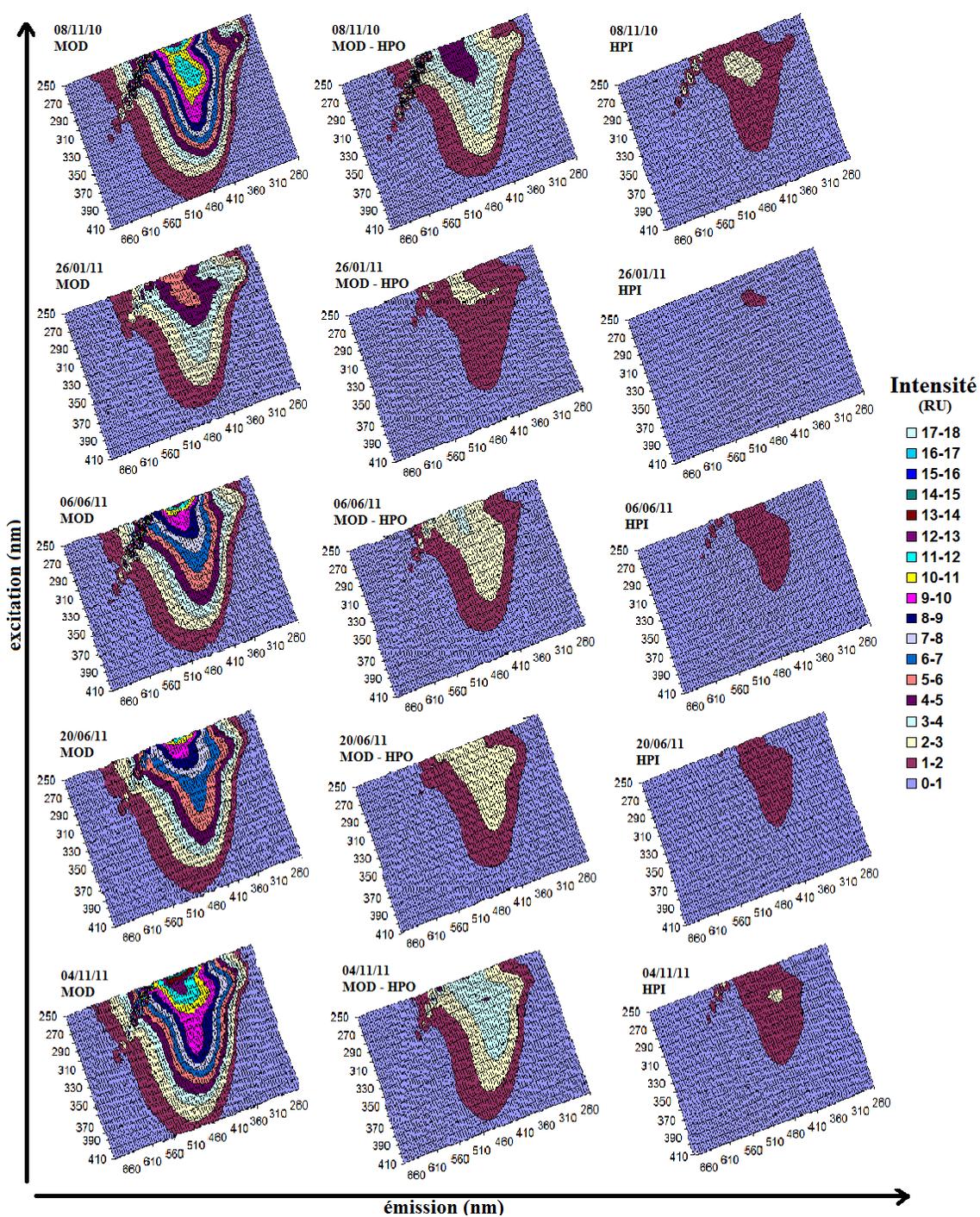


Figure 33 : Projections dans le plan des spectres de fluorescence 3D de l'échantillon non fractionné (MOD) et des échantillons prélevés en sortie des résines DAX-8 (MOD-HPO) et XAD-4 (HPI) lors du fractionnement de la MOD des cinq RUTP.

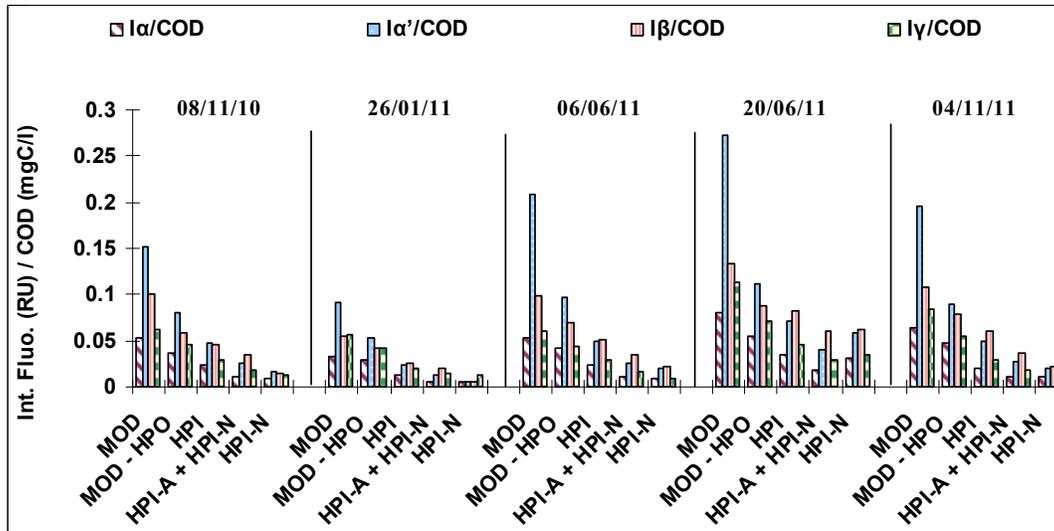


Figure 34 : La variation de l'intensité de fluorescence déterminée au cours de fractionnement de la MOD provenant des cinq échantillons des rejets urbains de temps de pluie.

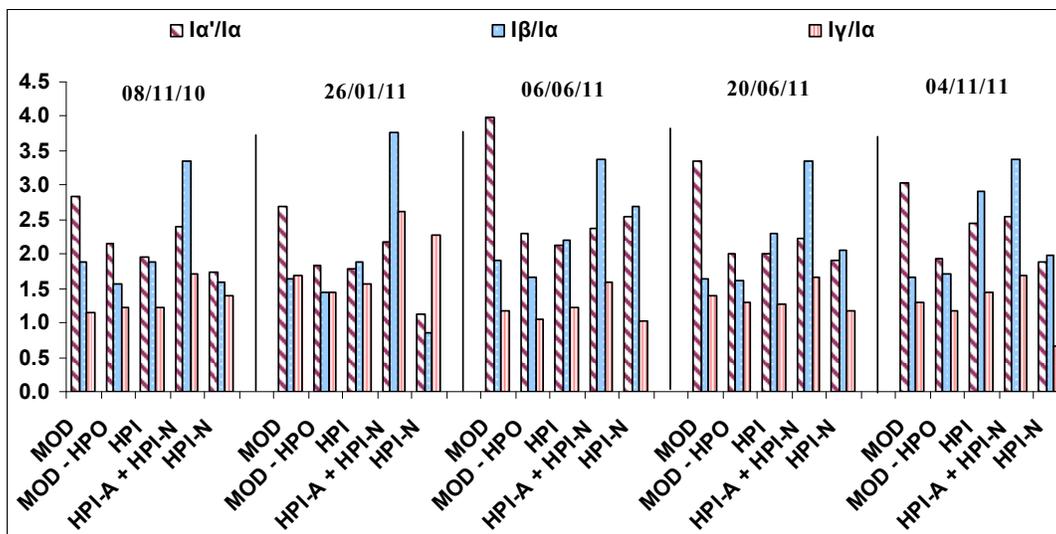


Figure 35 : Les rapports des intensités de fluorescence obtenus au cours de fractionnement de la MOD des cinq déversements des rejets urbains de temps de pluie.

Concernant la variation des rapports d'intensité au cours du fractionnement de la MOD, nous pouvons observer qu'ils diminuent après le retrait de la fraction HPO (de manière plus significative pour le rapport $I\alpha'/I\alpha$) (Figure 35). Puis une fluctuation se poursuit pour ces rapports jusqu'à la fin du fractionnement.

- Indices de fluorescence : HIX et BIX

Les indices de fluorescence ont été aussi suivis au cours du fractionnement de la MOD des RUTP. Nous pouvons noter d'une part une forte diminution de l'indice HIX et d'autre part une forte

augmentation de l'indice BIX (*Figure 36*). Il apparaît que le retrait des fractions HPO, TPI et aussi HPI-A sont responsables de la diminution de l'indice HIX ce qui est comme dans le cas des rejets de STEP un résultat inattendu dans la mesure où les composés fluorescents au niveau des bandes α et α' sont sensés être des composés humiques normalement présents principalement dans la fraction HPO. L'évolution de l'indice BIX (révélateur de l'activité biologique) est plus logique, l'activité biologique étant une source préférentielle de composés hydrophiles. La gamme des valeurs obtenues pour les indices HIX et BIX des sous-fractions hydrophiles correspond (*Tableau 4 et Tableau 5*) à une origine biologique ou bactérienne aquatique.

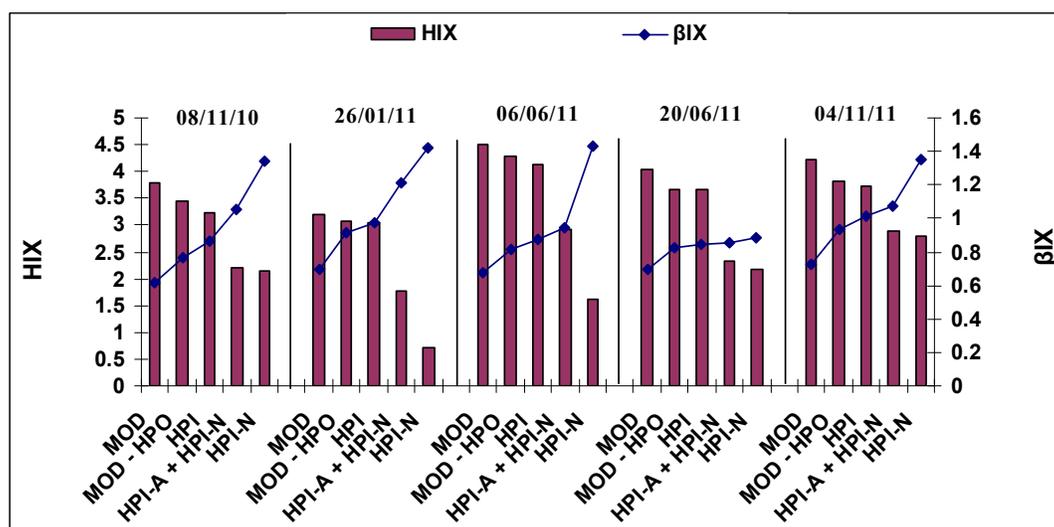


Figure 36 : Variation des indices de fluorescence HIX et BIX obtenus au cours de fractionnement de la MOD des cinq déversements des rejets urbains de temps de pluie.

III.3.4. SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION UV-VISIBLE

Les mêmes échantillons qui ont été analysés en spectrofluorimétrie ont été également analysés en spectroscopie UV-visible.

Les valeurs de SUVA de cinq événements d'orage sont assez proches entre elles et varient entre 1.2 et 2.2 $\text{m}^{-1} \text{l mgC}^{-1}$ (*Figure 37*). Ce qui est cohérent avec la littérature (Edzwald, 1993) qui montre que les eaux à caractère non humique présentent des valeurs de SUVA inférieures à 2-2,5. En outre, nous remarquons que ces valeurs sont légèrement plus faibles que celles observées pour les rejets de stations d'épuration en temps sec (*Figure 25*). Concernant le fractionnement de la MOD de ces RUTP (*Figure 37 en bas*), une diminution des valeurs de SUVA est observée, correspondant à une diminution progressive du degré d'aromaticité au cours de fractionnement, ce qui est logique.

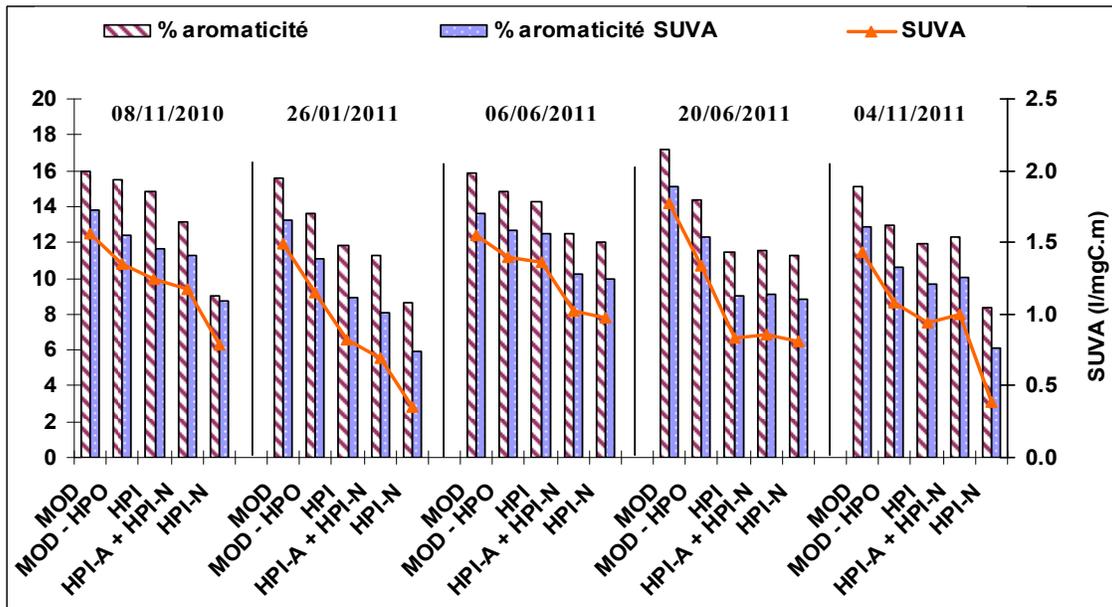
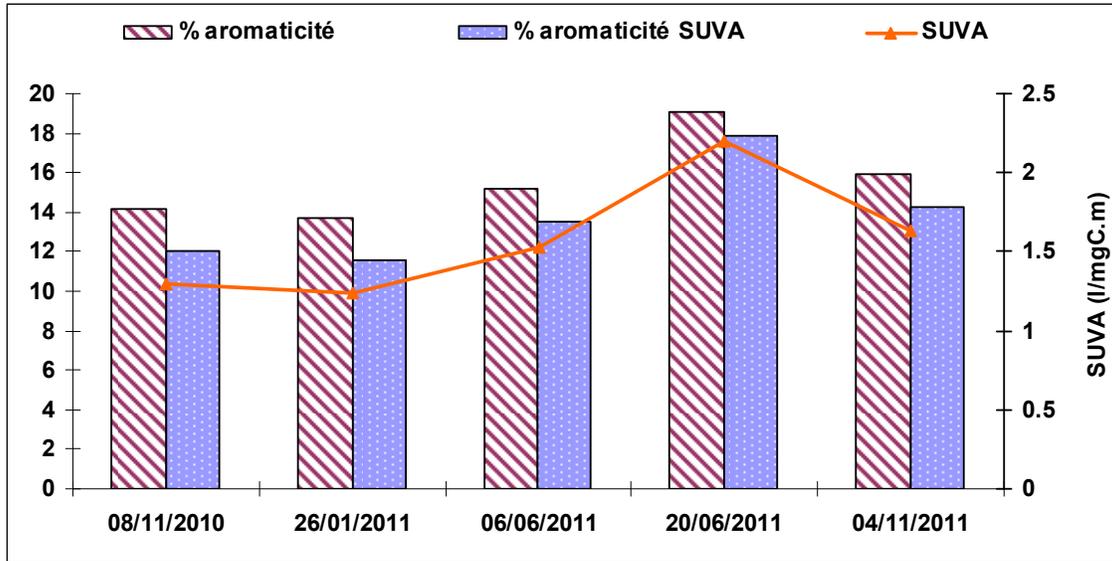


Figure 37: Pourcentages d'aromaticité et indices SUVA observés dans les échantillons non fractionnés (en haut) et au cours de fractionnement (en bas) des cinq RUTP.

III.4. CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DE LA MATIERE ORGANIQUE DISSOUTE DU MILIEU RECEPTEUR DANS L'AGGLOMERATION PARISIENNE

Dans le but d'étudier l'influence des rejets urbains de l'agglomération parisienne sur la matière organique dissoute dans le milieu récepteur tant en termes de qualité qu'en termes de quantité, des échantillons prélevés de l'amont et de l'aval de l'agglomération ont été fractionnés selon les critères de polarité de leur MOD et puis analysés en spectrofluorescence et aussi en spectrométrie UV-visible.

Neuf campagnes ont été effectuées pendant l'année 2010-2011 sur quatre sites du milieu récepteur. Deux sites échantillonnés en amont de l'agglomération parisienne, un localisé sur la Marne à « Ussy-sur-Marne » et l'autre sur la Seine à « Fontaine-le-port », un troisième site échantillonné en aval de l'agglomération sur la Seine à « Andrézy », le quatrième site étudié est localisé à « Conflans-fin d'Oise » sur l'Oise. Avant d'aborder le fractionnement effectué pour la MOD de ces sites, les paramètres globaux sont présentés.

III.4.1. LES PARAMETRES GLOBAUX

Le *Tableau 11* présente les paramètres globaux des échantillons prélevés dans le milieu récepteur pour les neuf campagnes de l'année 2010-2011.

Les résultats montrent généralement des concentrations plus faibles en carbone organique dissous et particulaire que celles déterminées dans les rejets urbains de temps sec (*Tableau 8*) ainsi que dans ceux de temps de pluie (*Tableau 10*).

En outre, parmi ces paramètres on s'intéresse plus particulièrement à étudier l'évolution spatiale du COD en fonction du temps, ou entre autres en fonction du débit dans le milieu récepteur. Pour ce faire, on a dû avant tout vérifier la variation de ce dernier.

Résultats et discussions

Date	Ussy-sur-Marne/ Marne amont							Fontaine-le-port/ Seine amont						
	Débit (m³/sec)	Température (°C)	pH	Conductivité (µS/cm)	Oxygène (mg/l)	COD (mgC/l)	COP (mgC/l)	Débit (m³/sec)	Température (°C)	pH	Conductivité (µS/cm)	Oxygène (mg/l)	COD (mgC/l)	COP (mgC/l)
oct.-10	67	9	8.1	465	11.9	2.0	0.5	100	10	8.0	422	12.5	2.0	0.4
nov.-10	194	11	8.1	520	10.8	3.1	1.6	263	11	8.2	465	10.1	3.4	0.9
janv.-11	384	8	8.1	497	10.8	2.8	2.0	600	8	8.1	488	10.5	3.1	1.1
févr.-11	106	10	8.1	585	11.4	2.1	0.6	151	10	8.1	545	10.1	1.8	1.0
mars-11	77	11	8.1	563	11.2	2.1	0.3	137	11	8.3	530	10.5	2.2	0.9
avr.-11	48	14	8.3	553	10.2	2.1	0.5	108	15	8.2	504	9.4	2.4	0.9
mai-11	29	19	8.1	539	10.3	1.6	1.0	64	19	8.1	481	9.3	1.4	1.7
juin-11	42	19	8.1	508	10.1	1.9	0.7	55	19	8.2	487	9.3	2.0	0.5
sept.-11	41	23	8.1	416	10.2	2.0	0.5	73	22	8.2	412	9.5	2.1	0.4

Date	Andrésy/ Seine aval							Conflans fin d'Oise/ Oise						
	Débit (m³/sec)	Température (°C)	pH	Conductivité (µS/cm)	Oxygène (mg/l)	COD (mgC/l)	COP (mgC/l)	Débit (m³/sec)	Température (°C)	pH	Conductivité (µS/cm)	Oxygène (mg/l)	COD (mgC/l)	COP (mgC/l)
oct.-10	169	10	8.3	586	11	2.9	0.6	44	10	8.3	682	10.6	3.0	0.3
nov.-10	433	10	8.2	635	10	4.2	2.1	190	10	8.2	601	10.0	5.3	2.0
janv.-11	963	11	8.3	507	10	3.4	1.3	318	10	8.2	397	10.3	5.6	5.4
févr.-11	333	11	8.3	636	9.3	2.5	1.0	150	11	8.4	657	9.1	2.5	1.9
mars-11	245	9	8.4	640	9.8	3.6	1.8	116	9	8.2	673	9.5	5.0	2.0
avr.-11	187	13	8.4	632	8.9	2.9	1.4	77	12	8.3	663	9.1	2.6	1.6
mai-11	117	19	8.4	712	9.1	2.8	2.3	50	19	8.4	675	8.9	2.4	1.6
juin-11	128	18	8.4	607	8.9	3.4	1.2	40	18	8.2	668	9.1	2.7	0.9
sept.-11	125	20	8.3	592	8.7	3.5	1.3	30	20.5	8.2	682	9.2	2.8	0.89

Tableau 11: Paramètres globaux des échantillons étudiés dans le milieu récepteur.

Débits dans le milieu récepteur lors des campagnes d'échantillonnage

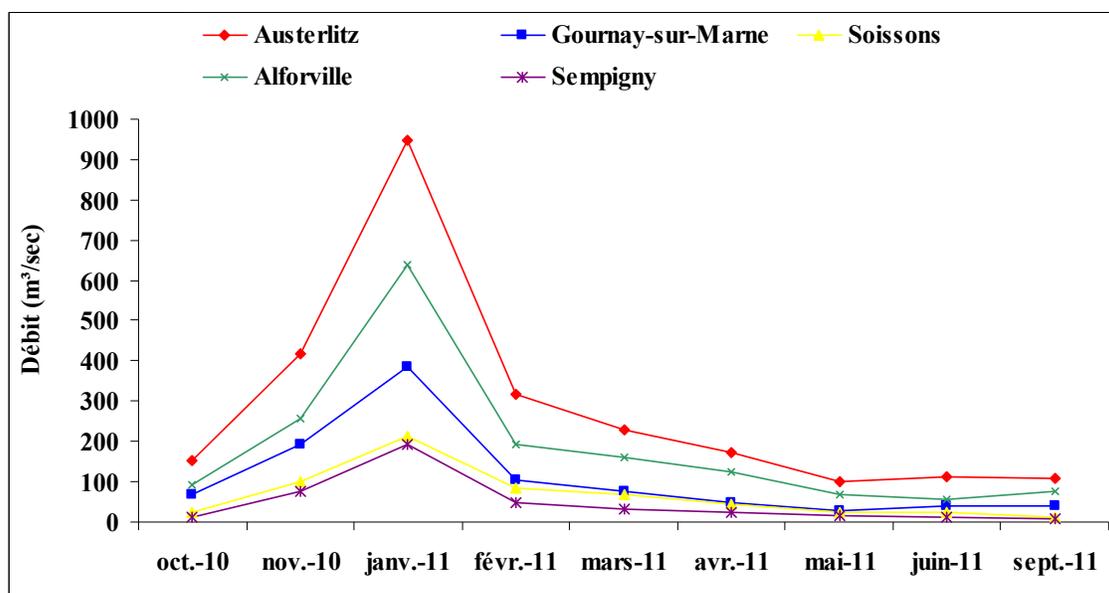


Figure 38: Débits pour les cinq sites lors des campagnes de prélèvement.

Les débits observés pour les cinq sites les plus proches possibles de nos sites d'échantillonnage ont été comparés (*Figure 38*) (données de débits recueillies auprès de la Banque Hydro) : la Marne amont à Gournay-sur-Marne, la Seine amont à Alfortville, la Seine aval de la confluence avec la Marne à Austerlitz, l'Oise amont à Sempigny et l'Aisne à Soissons (car l'Oise à la confluence avec la Seine se compose de l'Oise amont et de l'Aisne). Nous observons évidemment une différence de débits entre les différents sites, cependant une bonne corrélation est mise en évidence entre les débits de ces cinq points. Il n'y a, par exemple, pas eu de phénomène de crue localisée sur un sous-bassin versant particulier. Pour cette raison, dans la suite de ce document, lorsque nous voudrions mettre en évidence l'influence des variations du débit sur les valeurs des paramètres observés nous nous permettrons de ne prendre comme valeur du débit que le débit mesuré en Seine à Paris-Austerlitz.

A partir de février 2011, les débits observés dans le bassin de la Seine ont été très inférieurs à la moyenne en raison d'un printemps 2011 particulièrement sec (58 mm de précipitations entre février et fin mai contre 200 à 250 mm dans des conditions moyennes). En février 2011, les débits sont ceux d'un début du mois de mai moyen, en mars ce sont ceux d'un début de mois de juin moyen. A partir du mois d'avril 2011 jusqu'au mois de septembre 2011, nous sommes dans des conditions d'étiage sévère.

Les concentrations de carbone organique dissous

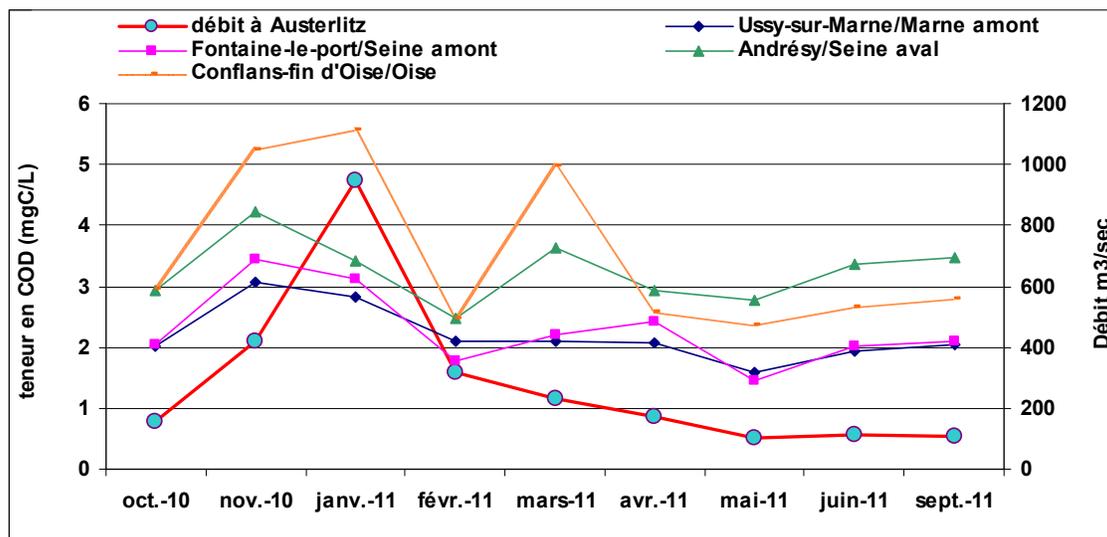


Figure 39: Variations des teneurs en COD au cours de l'année 2010-2011 de quatre sites.

D'après les valeurs des concentrations en COD (*Figure 39*), nous observons que sur l'année entière, les concentrations en COD pour les deux sites amont, Ussy-sur-Marne et Fontaine-le-port sont proches les unes des autres et oscillent entre 1,5 et 3,4 mgC.l⁻¹. A Andrésy, les concentrations en COD sont systématiquement supérieures à celles des deux sites amont et varient entre 2,5 et 4,2 mgC.l⁻¹. Ce site en aval de l'agglomération parisienne, est fortement impacté par l'urbanisation (aval de la STEP Seine-Aval et des autres STEP de l'agglomération). Andrésy, révèle des concentrations plus élevées en COD (3,2 mgC.l⁻¹ en moyenne) que les sites situés en amont de l'agglomération parisienne où la concentration moyenne en COD est de 2 mgC.l⁻¹ soit une augmentation de 60% en période de basses eaux (selon les valeurs moyennes de COD à l'étiage). Nous pouvons noter que la différence de concentration en COD entre Andrésy et les deux points amont sur la Marne et la Seine est liée au débit (que l'on peut exprimer en % du débit de la Seine représenté par le débit de la STEP Seine-Aval étant donnée la relative stabilité du débit de la STEP), comme cela est mis en évidence dans la (*Figure 40*). En période de débits élevés (950 m³s⁻¹), en raison de la forte dilution des rejets de la STEP Seine-Aval (15 à 20 m³s⁻¹ en temps sec) l'augmentation de la concentration en COD à Andrésy est inférieure à 0,5 mgC.l⁻¹ alors qu'elle atteint 1,5 mgC.l⁻¹ en période de basses eaux (100 à 200 m³s⁻¹). Ces valeurs sont tout à fait cohérentes avec des concentrations en COD de l'ordre de 10 à 15 mgC.l⁻¹ dans les rejets traités de la station Seine-Aval.

Quant au quatrième site localisé sur l'Oise, la variation des teneurs en COD est différente et se divise en deux périodes : ses valeurs sont plus élevées que celles d'Andrésy, atteignant 5,6 mgC.l⁻¹, d'octobre 2010 jusqu'à mars 2011. D'avril 2011 à septembre 2011, elles diminuent et deviennent plus faibles, avec une moyenne de 2,5 mgC.l⁻¹. Ce site, Conflans-fin d'Oise, qui subit peu les impacts des rejets urbains de l'agglomération parisienne (puisque les grandes STEP ont leur rejet en Seine ou en Marne) est plus chargé en MO dans la période de hautes eaux et moins chargé dans celle de basses eaux. En hautes eaux, il est probable que cette matière organique provienne en partie du ruissellement sur les sols et/ou de l'érosion de la litière (en voie de dégradation) abondante à cette époque sur les berges plutôt qu'à l'urbanisation en raison de la forte dilution.

D'autre part concernant la variation temporelle, mis à part le site Conflans-fin d'Oise, on remarque que globalement les concentrations en COD augmentent entre octobre et novembre-10. Ceci peut être due aux premières pluies importantes qui ont eu lieu en novembre (moyenne mensuelle de la hauteur d'eau précipitée : oct.-10 (31.4mm), nov.10 (66.3mm)) et qui ont pu provoquer cette augmentation du COD en raison du lessivage des sols et/ou de l'érosion de la litière. Cet épisode se poursuit en janvier, les concentrations en COD diminuent légèrement par rapport à novembre mais le flux lui augmente largement étant donnée la forte augmentation du débit pendant cet épisode de crue. Le COD baisse au mois de février pour ces trois sites et il oscille ensuite jusqu'à septembre-11 aux alentours de 2 mgC.l⁻¹ pour les deux sites amont (Ussy-sur-Marne et Fontaine-le-port) alors qu'il augmente à nouveau pour Andrésy en mars-11 pour ensuite varier légèrement à environ 3.5 mgC.l⁻¹

jusqu'à septembre-11. Pour le site sur l'Oise (Conflans-fin d'Oise), la concentration en COD augmente à partir d'octobre-10 pour arriver à son maximum en janvier-11 à 5,6 mgC.l⁻¹ avant de diminuer fortement à 2.5 mgC.l⁻¹ en février-11 pour ensuite varier aux alentours de 2,5 mgC.l⁻¹ jusqu'en septembre 2011.

Alors que les niveaux de concentrations en COD en automne-hiver peuvent être attribués majoritairement au lessivage de sols et à la contribution de la litière transportée par le ruissellement à cette période, en période estivale, la MO provient en partie de la production autochtone étant donné le faible ruissellement surtout observé au printemps 2011 qui a été extrêmement sec (hauteur d'eau précipitée de 17 mm en mars, 9,2 mm en avril et 2 mm en mai contre une moyenne mensuelle de 40 à 60 mm habituellement).

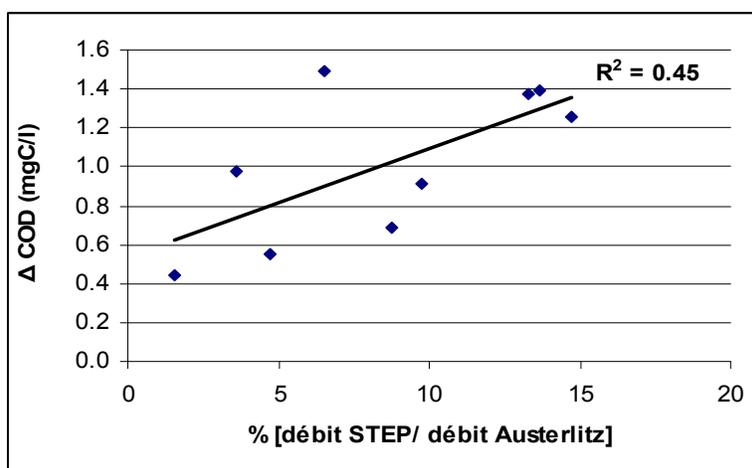


Figure 40: Différence de concentrations de COD entre l'aval et l'amont de l'agglomération parisienne en fonction du % du débit de la STEP par rapport à celui d'Austerlitz.

III.4.2. FRACTIONNEMENT DU COD

La variation spatio-temporelle de la nature de la MOD du milieu récepteur et particulièrement la polarité du COD est étudiée ici.

Concernant la variation temporelle, nous pouvons observer (*Figure 41*) que globalement la fraction HPO augmente entre octobre et novembre pour atteindre son maximum en novembre. Cela est probablement dû au lessivage des sols qui alimente le milieu récepteur avec de la matière organique d'origine terrigène au caractère plutôt hydrophobe. Nous pouvons observer en janvier, lors de la crue, pour tous les sites une diminution de la fraction HPO et une augmentation concomitante de la fraction hydrophile (HPI). Il est possible que cet apport de MO HPI soit dû à des transferts de MO soluble donc plutôt hydrophile via l'écoulement de l'eau en subsurface dans des sols saturés.

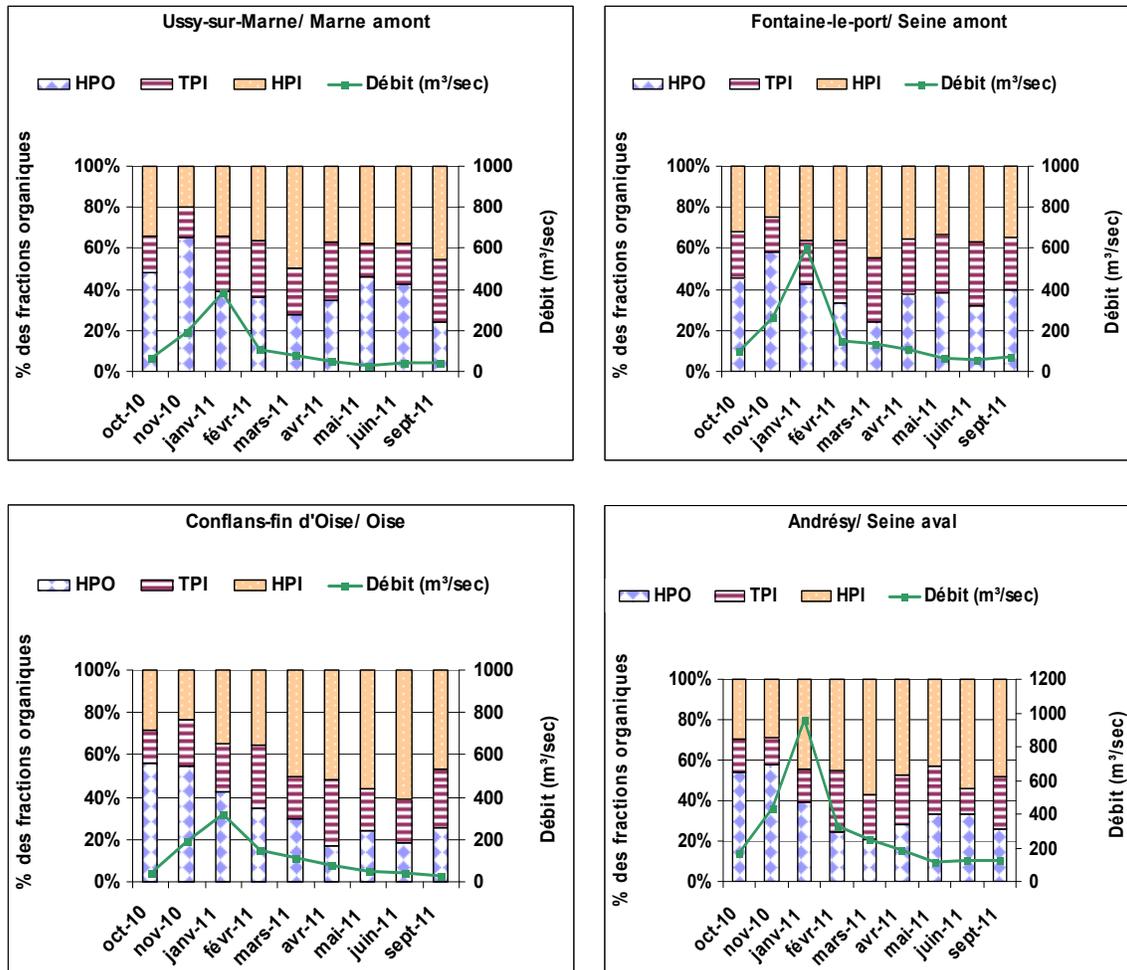


Figure 41: Répartition du COD selon les différentes fractions organiques pour les eaux de surface en amont et en aval de l'agglomération parisienne lors des neuf campagnes effectuées en 2010-2011.

D'ailleurs nous pouvons constater (Figure 42) qu'il existe naturellement une corrélation entre le flux de MO et le débit mais que celle-ci est bien plus forte entre le flux du COD HPI et le débit qu'entre le flux de COD HPO et le débit semblant confirmer le fait que cette MOD HPI pourrait avoir comme source (en automne-hiver) la MO soluble présente dans les sols du bassin versant.

A partir du février, le pourcentage de la fraction hydrophobe continue à osciller pendant toute la période d'étiage aux alentours de 40% et de 35% du COD total respectivement pour Ussy-sur-Marne et Fontaine-le-port. Durant cette même période, elle continue à diminuer à Andrésy et à Conflans-fin d'Oise où elle présente respectivement une moyenne de 28% et de 25%. Cet aspect observé à Conflans-fin d'Oise qui montre l'enrichissement du milieu en période estivale par des substances non humiques, qui correspondent aux deux fractions transphiliques (TPI) et hydrophiles (HPI), est lié à la production autochtone de MO, résultante notamment de l'activité microbienne et phytoplanktoniques estivaux. Cette très forte prédominance des substances non humiques en période

de basses eaux sur ce site, pourrait être problématique pour les gestionnaires des stations de potabilisation des eaux (colmatage, produits de désinfection...). En fait, il a été déjà démontré que l'influence de la MOD sur la formation de sous-produits de désinfection et sur le colmatage des membranes de traitement lors de processus de filtration dépend des concentrations en MOD dans le milieu mais dépend aussi pour une large part de ses propriétés physico-chimiques et de la polarité du carbone (Coleman *et al.*, 1984; Gruau, 2004; Malliarou *et al.*, 2005). La prédominance des substances non humiques en étiage observé également à Andrésy et notamment l'augmentation de la fraction HPI par rapport aux sites localisés en amont de l'agglomération est probablement due à l'impact des rejets urbains provenant de la STEP Seine-Aval située quelques kilomètres en amont. En effet, il a été démontré précédemment que les rejets urbains de temps sec sont fortement chargés en substances non humiques (*Figure 15*). Ces rejets ont très peu d'impact en période de hautes eaux en raison de la dilution plus forte par les eaux du milieu récepteur. Pour les deux sites amont, Ussy-sur-Marne et Fontaine-le-port nous pouvons noter une fraction HPO élevée en période de hautes eaux et des fractions non humiques plus élevées en période de basses eaux.

Concernant la variation spatiale de la polarité du carbone (Conflans-fin d'Oise n'est pas considéré ici car non pertinent) à la traversée de l'agglomération parisienne, nous observons à Andrésy (site aval), une gamme de variation moyenne de 43 à 58% pour la fraction hydrophile plus importante que celle observée dans les sites amont à Ussy-sur-Marne et Fontaine-le-port où la gamme de variation se situe entre 32 et 47% (*Figure 41*). Concernant la fraction HPO, elle varie entre 28 et 45% à Ussy-sur-Marne et à Fontaine-le-port alors qu'à Andrésy, elle est plus faible variant de 20 à 32%. La fraction transphilique (TPI) est très différente entre ces trois sites, elle varie en effet entre 10 et 25%. Cette distribution du COD dans le milieu récepteur concorde également avec la littérature pour des eaux de rivières (Violleau, 1999; Ma *et al.*, 2001; Croue, 2004; Pernet-Coudrier, 2008) avec toutefois une forte proportion de composés non humiques, plus particulièrement de la matière organique hydrophile HPI, pour les échantillons d'Andrésy (site en aval de Paris fortement impacté par les rejets urbains) et une proportion plus élevée en substances humiques (fraction HPO) pour les sites amont qui sont moins urbanisés.

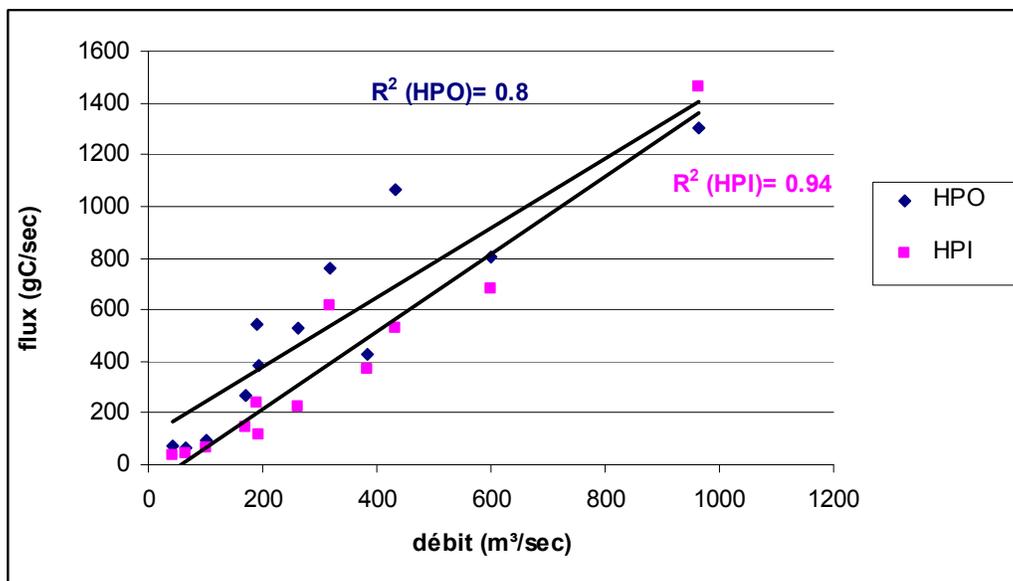


Figure 42: Corrélation entre les flux de MO déterminés dans les quatre sites et le débit des trois campagnes (oct-10, nov-10, et janvier-11).

La distribution en sous-fractions HPI est relativement proche pour les quatre sites étudiés (Figure 43). La fraction hydrophile basique est largement minoritaire, elle représente de 5 à 20% de la fraction hydrophile totale dans tous les sites, en accord avec la littérature où il est observé que les fractions hydrophiles acide et neutre sont prédominantes dans les eaux de surface (Thurman *et al.*, 1978). La fraction hydrophile acide (HPI-A) prédomine avec des valeurs variant entre 30 à 62% de la fraction HPI totale, sauf dans certains cas où elle a des valeurs comparables à celle de la fraction neutre (HPI-N).

Cette distribution en sous-fractions HPI est comparable avec celles obtenues dans les rejets urbains de temps sec (Figure 15) et de temps de pluie (Figure 26). Mis à part Ussy-sur-Marne, on observe des valeurs de la MO HPI-A plus élevées en période de hautes eaux qui atteignent 50 à 60% de la MO HPI par rapport à la période estivale où elles sont plus faibles.

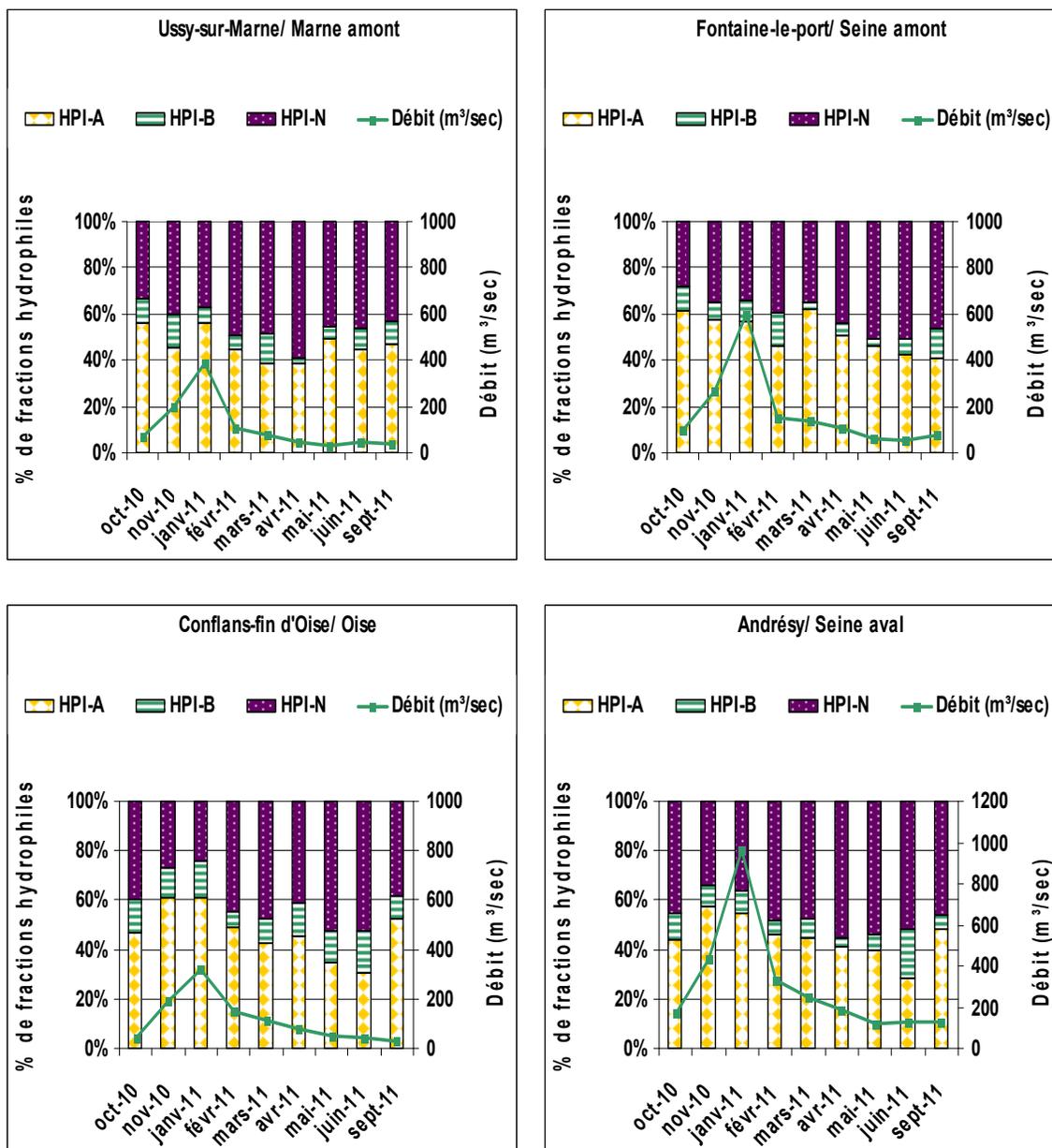


Figure 43: Répartition du COD selon les différentes fractions hydrophiles pour les eaux de surface lors des neuf campagnes effectuées pendant l'année 2010-2011.

III.4.3. SPECTROSCOPIE DE FLUORESCENCE MOLECULAIRE

Parmi les neuf campagnes qui ont été effectués sur les différents sites de milieu récepteur, nous présentons les résultats des projections dans le plan de spectres de fluorescence 3D (Figure 44) et les intensités des bandes (Figure 45 et Figure 46) ainsi que les indices de fluorescence (Figure 47) des échantillons non fractionnés de cinq campagnes sélectionnées. Ces dernières ont été choisies de

manière à avoir des situations hydrologiques différentes afin de mettre en évidence l'influence de la situation hydrologique sur les caractéristiques de la MOD. Ces situations hydrologiques sont : situation de crue, situation intermédiaire et situation d'étiage.

a. Les échantillons non fractionnés :

- Intensités et rapports d'intensité des bandes de fluorescence :

Les intensités présentées (*Figure 44 et Figure 45*) ont été normalisées par rapport aux concentrations en COD afin de pouvoir comparer les propriétés de la MOD d'un site à l'autre sans aucun effet de la concentration en COD.

PARTIE A

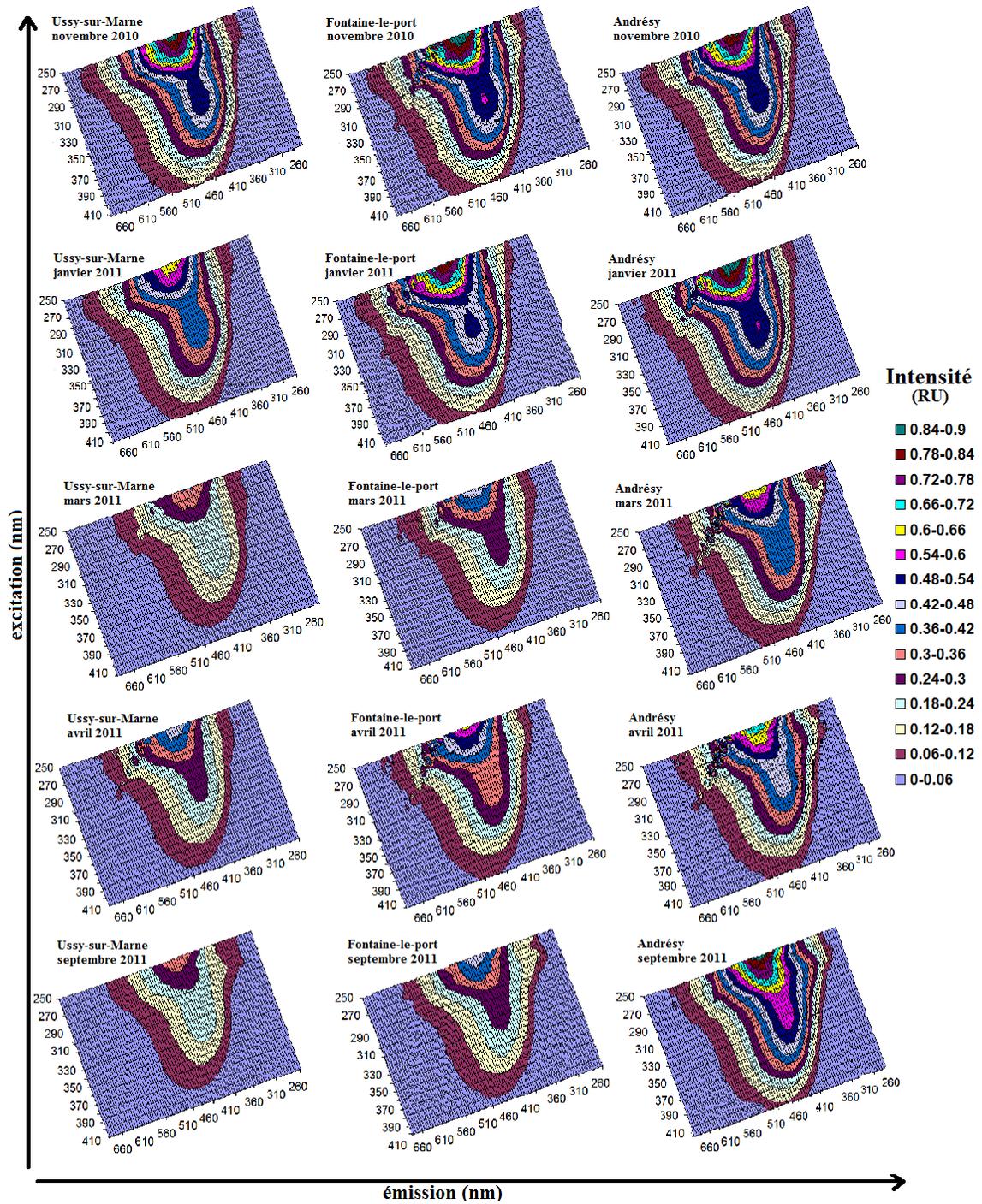


Figure 44 : Projections dans le plan des spectres de fluorescence 3D de cinq campagnes effectués sur trois sites du MR.

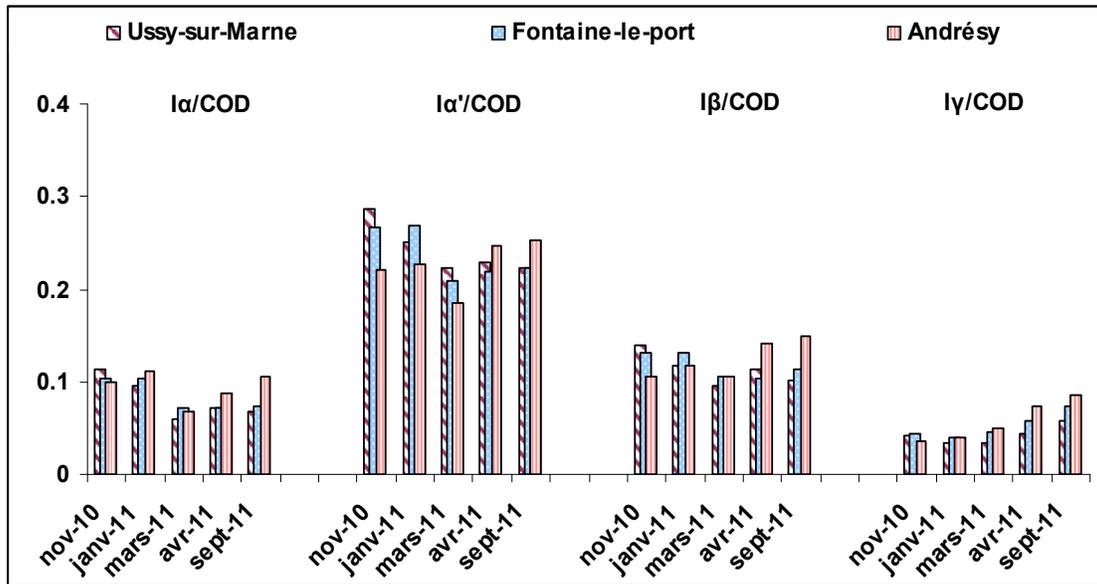


Figure 45 : Variabilité spatio-temporelle des intensités de fluorescence normalisées par rapport à la teneur en COD dans le milieu récepteur.

Nous remarquons d'après la *Figure 45* que généralement les intensités de fluorescence des échantillons du milieu récepteur (entre 0,04 et 0,28 (RU).l/mgC) sont nettement plus faibles (d'un facteur deux à trois) que celles des échantillons provenant de rejets urbains de temps sec (entre 0,1 et 0,46 (RU).l/mgC (*Figure 17*)). Cela concorde avec plusieurs études qui ont montré que les niveaux élevés des intensités des différentes bandes de fluorescence dans les effluents des eaux usées étaient jugées comme les plus importantes marqueurs de la MOD anthropique permettant ainsi la discrimination entre les rejets urbains et les eaux naturelles (Nam and Amy, 2008b; Bridgeman *et al.*, 2011; Goldman *et al.*, 2012).

D'autre part l'effet saisonnier dans le milieu récepteur est mis en évidence par deux caractéristiques remarquées notamment pour la MOD provenant des sites en amont de l'agglomération considérés comme très faiblement impactés par l'urbanisation : d'une part une diminution en période estivale par rapport à la période hivernale des intensités des bandes α , α' et β indiquant une diminution de substances humiques à cause de la prédominance de la MOD autochtone en été (composés non humiques) et d'autre part une augmentation d'une moyenne de 40% de l'intensité de fluorescence γ en été par rapport à l'hiver, montrant par conséquent une abondance des composés protéiques (Parlanti *et al.*, 2000) (composante principale de la MOD hydrophile) et signalant ainsi un matériel récent et d'origine plutôt autochtone.

Cela n'est pas observé pour le site en aval de l'agglomération où l'on observe une augmentation significative des bandes de fluorescence α' , β et γ (non remarqué pour la bande α) en période de basses eaux par rapport aux périodes de hautes eaux (augmentation respective de ces trois

bandes de 13%, 40% et plus de 100%). Cela est dû au fait que ce site aval est soumis fortement à l'influence de la MOD provenant de rejets de la station d'épuration Seine Aval, surtout en basses eaux. Or, ces rejets fluorescent fortement, ce qui explique sans doute, cette augmentation des intensités de fluorescence dans le site en aval. Par rapport à l'amont les intensités de fluorescence en aval sont plus élevées respectivement de 30%, 13%, 40% et 30% pour α , α' , β et γ (Figure 45).

Ces résultats concordent avec les travaux qui étudient les propriétés de fluorescence de la MOD dans les systèmes urbanisés et qui mettent en évidence l'impact des rejets urbains des stations d'épuration sur les sites en aval (Baker, 2001; Hur *et al.*, 2008; Goldman *et al.*, 2012; Hur and Cho, 2012).

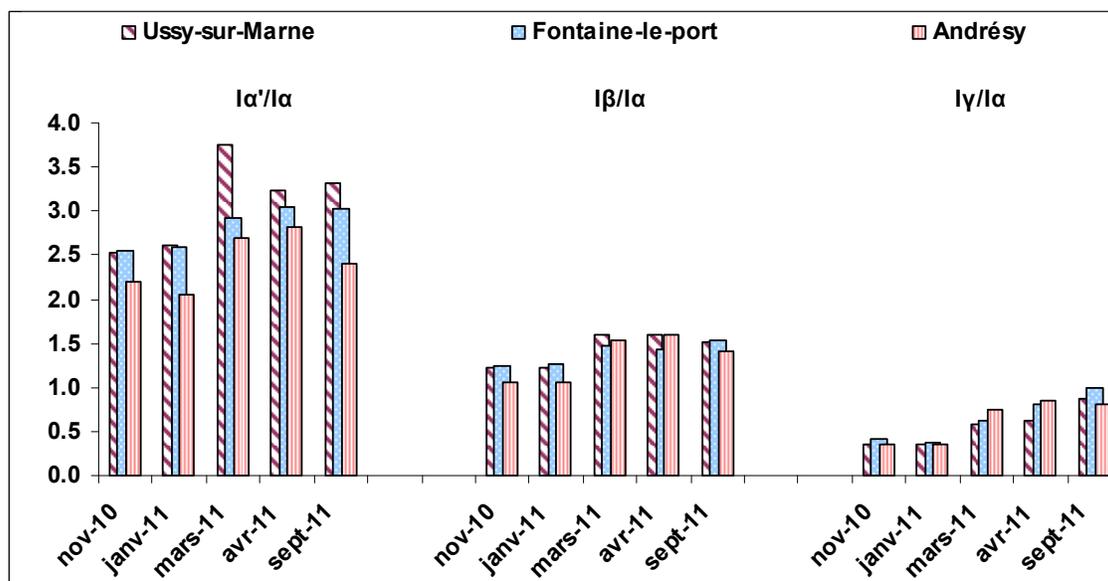


Figure 46: Rapports d'intensité obtenus pour les échantillons du milieu récepteur lors des cinq campagnes d'échantillonnage.

Concernant les rapports d'intensités des différentes bandes de fluorescence ($I\alpha'/I\alpha$, $I\beta/I\alpha$ et $I\gamma/I\alpha$), les résultats permettent de mettre en évidence une évolution saisonnière de la matière organique dissoute (Figure 46). Tout d'abord, on remarque que tous les rapports d'intensités sont plus faibles en automne-hiver qu'en printemps-été. Ceci traduit une prédominance du fluorophore α en période hivernale due à une présence plus marquée des substances humiques provenant du lessivage des sols plus important en cette saison.

Le rapport $I\alpha'/I\alpha$ peut s'apparenter à un indice d'humification qui donnent une idée de la maturation de la matière organique dissoute. En effet le fluorophore α' a parfois été décrit comme relatif à de la MOD plus récente que celle caractérisée par une prédominance du fluorophore α (Mounier *et al.*, 1999). Dans ce cas, l'évolution du rapport $I\alpha'/I\alpha$ peut provenir de la modification du

matériel humique présent dans les eaux de la Seine au cours des saisons. En été, la production de matériel biologique au travers de l'activité phytoplanctonique est plus prononcée, ce qui produit du matériel organique dissous susceptible de conduire au travers des processus d'humification à des composés humiques présentant alors une prédominance du fluorophore α' .

Concernant le rapport $I\gamma/I\alpha$, les résultats de trois sites étudiés montrent une augmentation de ce rapport pendant la période estivale en allant de 0,6 à 0,9 (*Figure 46*). Ceci montre des apports plus importants en été de matériel organique récent provenant de l'augmentation de l'activité biologique autochtone. Cependant ce n'est pas la seule cause de cette augmentation dans le cas d'Andrésy où les rejets de la STEP Seine-Aval interviennent également. En hiver, les valeurs ne dépassent pas 0,5, ce qui montre une prédominance du caractère humique (*Tableau 3*).

Le même constat s'applique au rapport $I\beta/I\alpha$ qui présente des valeurs plus fortes en été qu'en hiver. Nous n'avons pas pu expliquer les faibles rapports observés en hiver dans le site aval par rapport aux deux sites amont qui sont plus ou moins comparables entre eux. Ceci est peut être dû aux transformations du matériel organique qui fluorescent en α' et en β à Andrésy dans cette période de hautes eaux.

- Indices de fluorescence : HIX et BIX

Pour étudier les indices de fluorescence, les mêmes échantillons que ceux qui été choisis pour l'évaluation des intensités de fluorescence et des rapports d'intensités ont été utilisés.

Concernant les indices de fluorescence, on constate qu'en étiage les valeurs de l'indice d'humification HIX sont plus faibles pour les trois sites (variant entre 3 et 5) qu'en période hivernale où ils atteignent 8 (*Figure 47*). Ces valeurs élevées de l'indice d'humification HIX en hiver sont sans doute associées à la prédominance du matière organique humique (*Tableau 4*), provenant du lessivage des sols alors qu'en période de basses eaux on note un caractère humique terrigène faible et une présence plus importante de composante autochtone de la MOD pour tous les sites.

D'autre part, on ne remarque pas de variation significative de cet indice entre l'amont et l'aval. Ceci peut être expliqué par le fait que la STEP Seine-Aval impacte très peu en période de hautes eaux et qu'en basses eaux, au moment auquel la STEP peut avoir un impact plus important, les sites amont présentent alors eux aussi un indice d'humification HIX faible, aux alentours de 5, du même ordre de grandeur que celui des rejets de STEP (*Figure 19*).

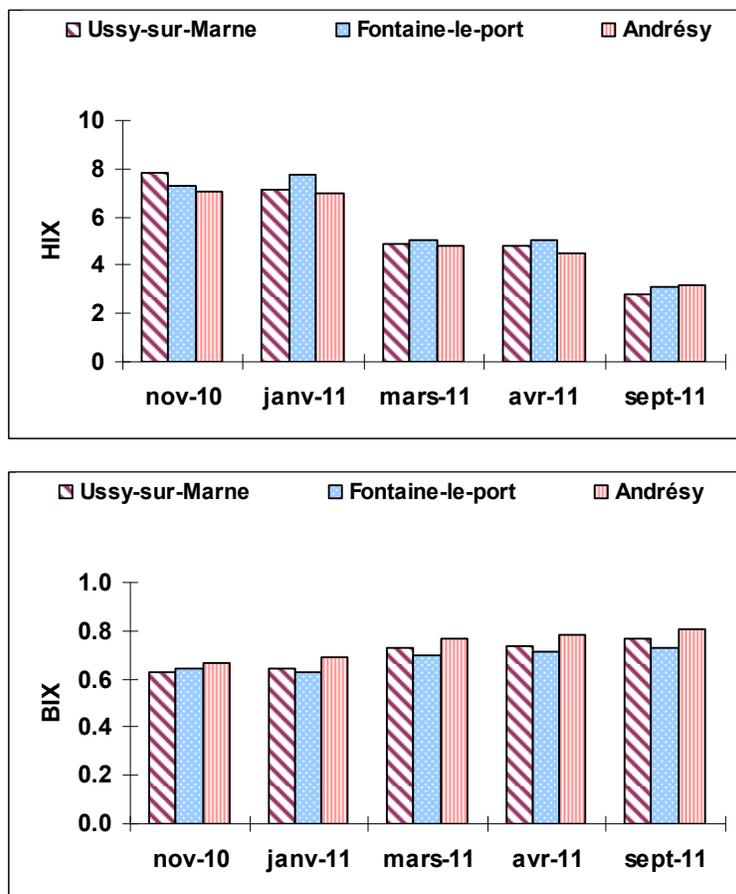


Figure 47: Les indices de fluorescence pour les échantillons du milieu récepteur lors des cinq campagnes d'échantillonnage.

En outre, nous pouvons noter que l'indice de fluorescence BIX varie inversement à l'indice d'humification HIX. Pour les trois sites, les valeurs de BIX sont très légèrement plus élevées en étiage qu'en période de hautes eaux, affichant respectivement des valeurs de 0.75 et de 0.6 (*Figure 47*). Cela indique une activité biologique plus intense en période de basses eaux. Notons que l'indice BIX en période de hautes eaux n'est pas si faible, cela peut-être dû à la litière qui apporterait de la MOD plus labile via les produits de sa dégradation.

Nous n'observons pas de variation significative de l'indice BIX entre amont et aval. Il n'y a pas d'effet significatif des rejets de la STEP dont l'indice BIX présente très peu de différence avec le milieu récepteur surtout en période d'étiage (*Figure 19*).

Notons qu'en mars et avril, les deux indices HIX et BIX ne varient quasiment pas, alors qu'on remarque une forte baisse de l'indice HIX en septembre avec une légère augmentation de l'indice BIX. Cela peut être dû à une forte activité microbienne et algale.

b. Les échantillons fractionnés :

L'évolution des caractéristiques de fluorescence de la MOD au cours du fractionnement est présentée pour les deux sites d'Ussy-sur-Marne (amont) et d'Andrésy (aval), tous deux échantillonnés en avril en période de faible dilution.

- Intensités et rapports d'intensité des bandes de fluorescence :

La Figure 48 présente les projections dans le plan des spectres de fluorescence 3D des échantillons non fractionnés (MOD) et des échantillons prélevés en sortie des résines DAX-8 (MOD-HPO) et XAD-4 (HPI) lors du fractionnement de la MOD de deux échantillons du milieu récepteur.

Les résultats montrent généralement une tendance à la diminution des intensités des bandes au cours du fractionnement de la MOD pour les deux sites. Cependant la diminution des bandes de fluorescence après le retrait de la fraction HPO est nettement plus marqué à Ussy-sur-Marne qu'à Andrésy (aval) en particulier pour les deux bandes α et α' (Figure 49). Il apparaît que, contrairement à Ussy/Marne où la fraction HPO est la principale contributrice à la fluorescence, dans le cas d'Andrésy, les fractions HPO mais aussi TPI et HPI-B contribuent à la fluorescence de la MOD. Nous pouvons rappeler qu'un comportement similaire à celui d'Andrésy avait été observé dans les rejets de la STEP Seine-Aval (Figure 21) avec une contribution importante, de la fraction HPO bien sûr, mais aussi des fractions TPI et HPI-B à la fluorescence (les bandes α et α' en particulier).

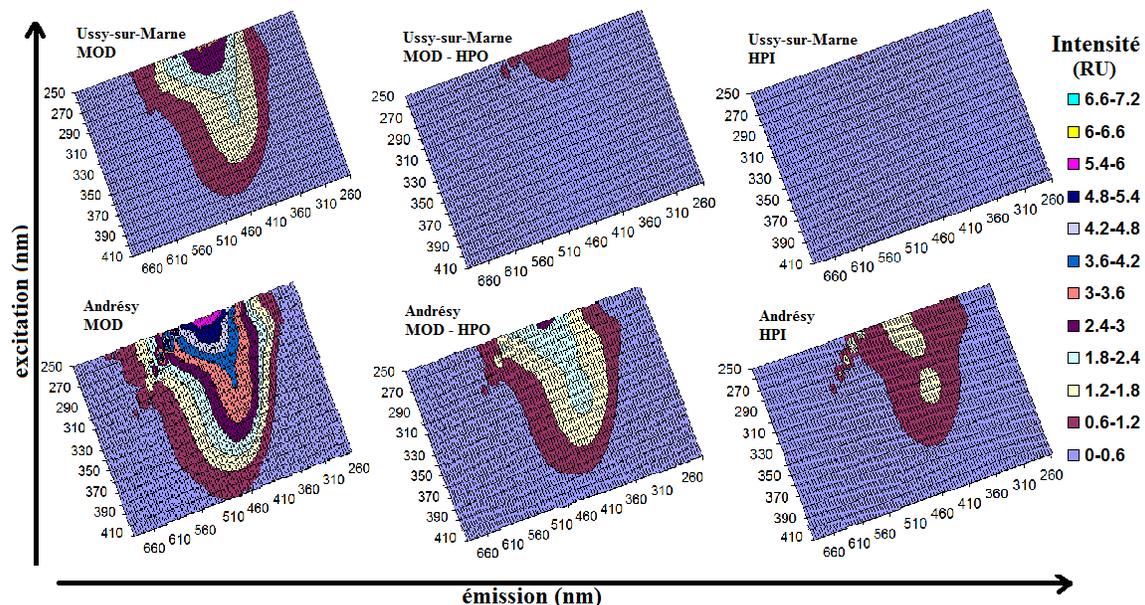


Figure 48 : Projections dans le plan des spectres de fluorescence 3D de l'échantillon non fractionné (MOD) et des échantillons prélevés en sortie des résines DAX-8 (MOD-HPO) et XAD-4 (HPI) lors du fractionnement de la MOD de deux sites du milieu récepteur.

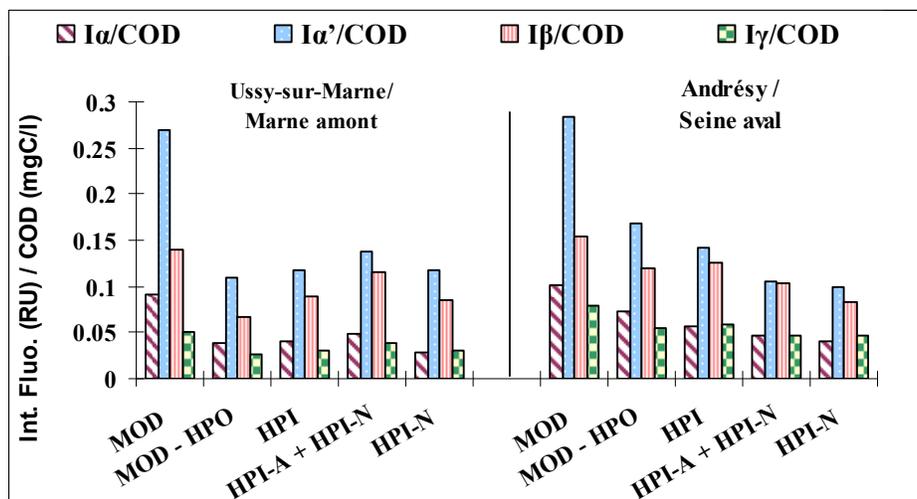


Figure 49 : Variation des intensités de fluorescence normalisées par rapport à la teneur en COD au cours du fractionnement de la MOD de deux sites du milieu récepteur

Si on tient compte de la variation du rapport d'intensité I_{γ}/I_{α} au cours du fractionnement de la MOD de ces deux sites, nous trouvons qu'il augmente avec l'hydrophilicité (Figure 50). Nous constatons que la fraction hydrophile totale et ses sous-fractions présentent un rapport I_{γ}/I_{α} (aux alentours de 0,8 et 1,1 respectivement à Ussy-sur-Marne et Andrésy) plus élevé que celui de la MOD totale qui contient en plus les substances humiques (qui est de 0,6 et 0,78) (Figure 50). Cela est cohérent avec le fait que la fraction hydrophile contient potentiellement des composés de type protéiques.

On peut noter également la même tendance de variation pour le rapport I_{β}/I_{α} au contraire du rapport $I_{\alpha'}/I_{\alpha}$, en effet ce dernier diminue légèrement ou reste presque constant au cours du fractionnement sauf après le retrait de la sous fraction hydrophile neutre d'Ussy-sur-Marne où on remarque son augmentation. Ces résultats montrent que le fractionnement de la MOD a retiré moins des composés qui fluorescent en β et γ qu'en α et α' , ces derniers étant plus présents dans la MO HPO.

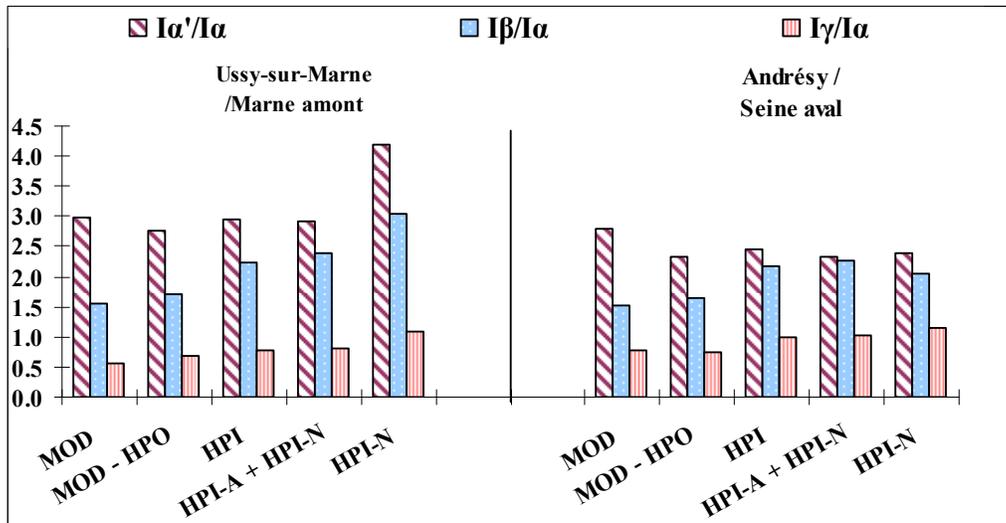


Figure 50: Rapports d'intensité obtenus au cours du fractionnement de la MOD de deux sites étudiés de MR pour la campagne d'avril 2011.

- Indices de fluorescence : HIX et BIX

Pour ces mêmes échantillons, l'évolution des indices de fluorescence a été suivie au cours du fractionnement (Figure 51).

Les résultats montrent une diminution au cours du fractionnement de cet indice HIX, montrant ainsi que ce dernier augmente avec l'hydrophobicité. D'autre part, la diminution de HIX après le retrait de la fraction HPO est plus marquée à Ussy-sur-Marne qu'à Andrésy (aval) (Figure 51). Ce qui concorde avec les résultats des intensités de fluorescence déjà observés précédemment (diminution moins importante à Andrésy des intensités des bandes α et α') (Figure 49). Il apparaît que, contrairement à Ussy/Marne où la fraction HPO est la principale contributrice à cet indice d'humification, dans le cas d'Andrésy, la fraction TPI contribue aussi à des valeurs élevées de l'indice HIX.

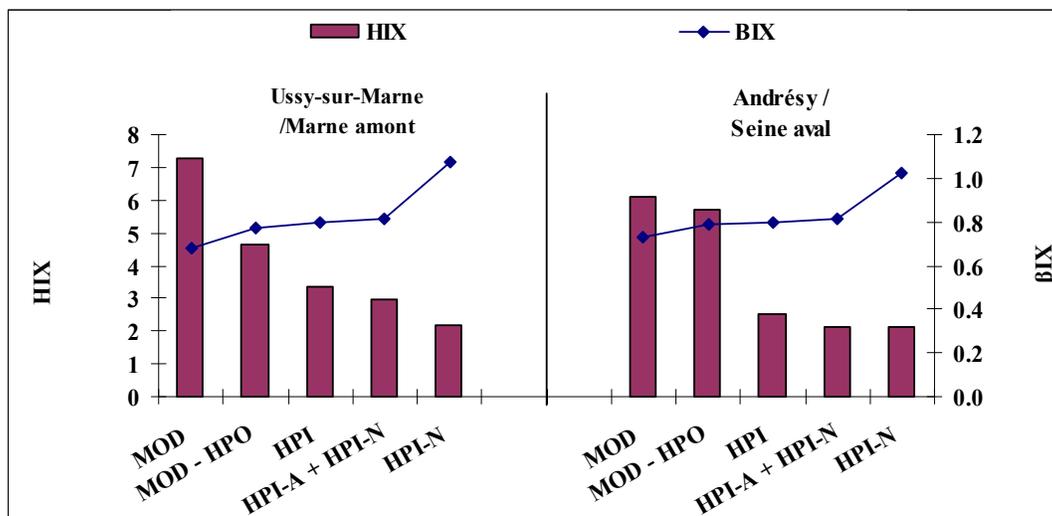


Figure 51: Les indices de fluorescence obtenus au cours de fractionnement de la MOD de deux sites étudiés du MR.

Concernant l'indice BIX, on remarque en général une même allure de variation au cours du fractionnement de la MOD provenant des deux sites étudiés (Figure 51). En fait, les valeurs de cet indice augmente légèrement après le retrait de la fraction HPO et reste presque constant jusqu'à l'obtention de deux sous-fractions hydrophiles (HPI-A + HPI-N). L'augmentation de l'indice BIX dans la fraction HPI neutre témoigne de son contenu en molécules organiques provenant d'une forte activité biologique.

Les mêmes échantillons qui ont été analysés en spectrofluorimétrie ont été également analysés en spectroscopie UV-visible.

III.4.4. SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION UV-VISIBLE :

Les résultats obtenus dans la Figure 52 mettent en évidence la variation temporelle des valeurs de SUVA qui sont plus faibles en étiage, pour les trois sites, qu'en période hivernale. Cela montre l'abondance des substances humifiées en hiver. Cette gamme de SUVA obtenue concorde avec celle des eaux de rivières mesurés par (Weishaar *et al.*, 2003; Croue, 2004).

Concernant la variation spatiale, nous remarquons des valeurs de SUVA plus élevées pour la MOD des deux sites amont (Ussy-sur-Marne et Fontaine-le-port) par rapport à celles d'Andrésy (aval). Cependant cette différence est plus significative en période de hautes eaux qu'en basses eaux.

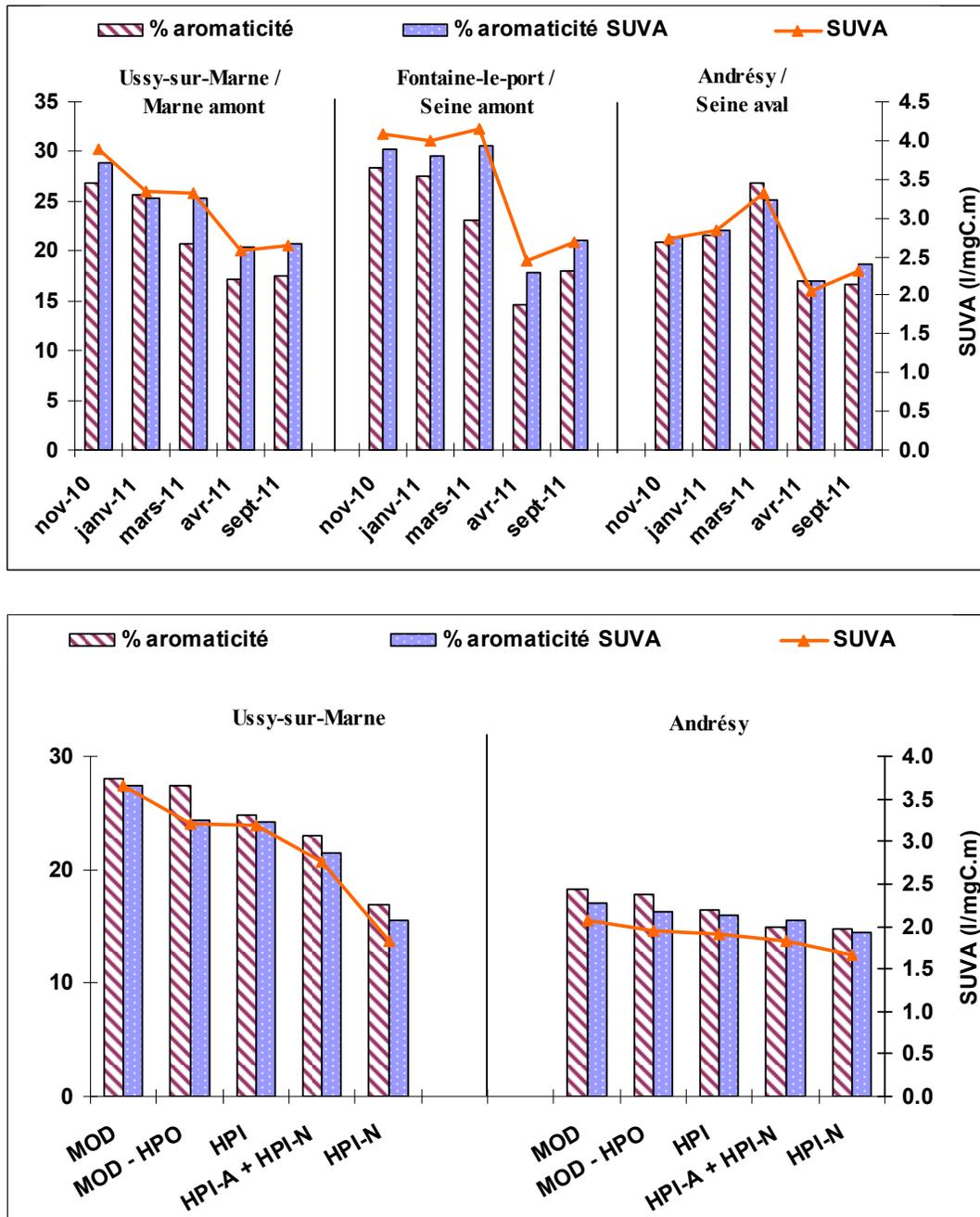


Figure 52: Les pourcentages d'aromaticité et d'indice SUVA observés au cours d'une variation spatio-temporelle de MOD non fractionnées provenant du MR (en haut) et au cours de fractionnement de MO échantillonnées de deux sites amont et aval pendant la campagne d'avril 2011 (en bas).

Au cours du fractionnement de la MOD des échantillons provenant de deux sites du milieu récepteur, Ussy-sur-Marne et Andrésey, une tendance à la diminution des valeurs de SUVA est observée (Figure 52), ce qui est cohérent vu que le caractère aromatique diminue.

D'autre part cette allure de diminution des valeurs de SUVA observée pour la MOD d'Andrésey est assez comparable à celle remarquée au cours du fractionnement de la MOD provenant

de la STEP Seine-Aval (*Figure 25*), montrant ainsi la forte influence des rejets urbains sur la MOD en aval.

III.5. COMPARAISON DES PROPRIETES DE FLUORESCENCE DES DIFFERENTES SOURCES DE MOD

Nous avons comparé les propriétés de fluorescence des différentes sources de MOD, en étudiant d'une manière générale la variation saisonnière des intensités des quatre bandes de fluorescence (*Figure 53*) ainsi que celle des deux paramètres I_{γ}/I_{α} et HIX (*Figure 54*).

En comparant les RUTP et les rejets de STEP, nous remarquons une différence significative des intensités de fluorescence entre ces deux types de rejets avec des intensités plus fortes d'au moins un facteur de 2 pour les rejets de STEP (*Figure 53*). Or d'après la littérature (Ahmad and Reynolds, 1994; Guo *et al.*, 2010; Lai *et al.*, 2011), la MO en entrée de STEP présente des intensités plus élevées que celles des rejets de STEP. Nous devrions donc observer une fluorescence plus importante pour les RUTP, qui sont formés à peu près de 50% d'eaux usées non traitées. Contrairement à la littérature, nous ne pouvons pas suspecter ici de fluorescence très élevée pour les eaux usées (par rapport aux rejets de STEP) à moins que cela ne soit du matériel organique plus hydrophile provenant potentiellement de la remise en suspension des dépôts (cf. paragraphe *III.3.2*) qui affaiblisse le signal de fluorescence.

Nous observons dans la *Figure 54* que le rapport des intensités I_{γ}/I_{α} est plus faible dans les rejets de temps sec que dans les RUTP. Nous ne pensons pas cela signifie réellement que le caractère autochtone soit moins prononcé dans les rejets de STEP ou qu'il y ait moins des composés protéiques (d'ailleurs la bande γ est plus forte dans les rejets de STEP). C'est surtout parce que la bande α y est très forte. En effet, les intensités élevées des bandes humiques α et α' dans les rejets de STEP ne sont sans doute pas dues réellement à des substances humiques puisque d'une part, ces rejets ont une faible composante hydrophobe HPO (*Figure 15*) et d'autre part lorsqu'on étudie l'évolution de la fluorescence au cours du fractionnement de la MOD de ces rejets nous trouvons que ces bandes humiques α et α' sont dues bien entendu à la fraction HPO mais également aux fractions TPI et HPI-B. Nous nous attendions à avoir une contribution moins marquée des fractions non hydrophobes. Il est possible que ces bandes humiques α et α' soient dues à des composés provenant des processus de dégradation bactérienne de la MO en STEP. D'après les résultats d'évolution de la fluorescence au cours du fractionnement du COD, il apparaît que ces composés ne sont pas nécessairement hydrophobes mais se répartissent plutôt entre les fractions HPO, TPI et HPI-B.

En comparant ces rejets avec les échantillons du milieu récepteur (*Figure 53*), nous observons que les intensités des quatre bandes de fluorescence des rejets de temps sec sont plus élevées que celles du milieu naturel, ce qui est cohérent avec les études qui montrent que la MOD d'origine urbaine est caractérisé par de fortes intensités de ces bandes de fluorescence, ce qui peut permettre la discrimination entre les rejets urbains et les eaux naturelles (Nam and Amy, 2008b; Bridgeman *et al.*, 2011; Goldman *et al.*, 2012). Ce comportement différent dans le cas des RUTP, où on trouve des bandes α , α' et β plus faibles et une bande γ plus élevée que celles du milieu récepteur confirme ainsi l'enrichissement des RUTP en composés protéiques. Cela a aussi été établi grâce au rapport $I\gamma/I\alpha$ élevé et au faible indice d'humification dans les RUTP par rapport au milieu récepteur (*Figure 54*). Les résultats trouvés concordent globalement avec la littérature qui étudie la différence entre les diverses sources de MOD grâce à la spectrofluorimétrie (Andy Baker, 2002; Baker and Inverarity, 2004; Baker *et al.*, 2004; Goldman *et al.*, 2012).

Concernant le milieu récepteur, la MOD des sites situés en amont de l'agglomération parisienne (Ussy-sur-Marne et Fontaine-le-port) est d'une nature plus humique surtout en hiver d'où le faible rapport $I\gamma/I\alpha$ (*Figure 54*) et l'indice d'humification HIX qui est plus élevé dans ces sites que dans les rejets urbains ou à Andrésy dans la même période hivernale. En outre, on note qu'en période estivale la MO présente à Andrésy affiche des intensités plus élevées des quatre bandes de fluorescence que celles des sites amont du milieu récepteur. Ceci est sans doute lié à la nature urbaine de la MO d'Andrésy, puisque ce dernier, situé juste en aval de la station d'épuration Seine-Aval, est fortement impacté par l'urbanisation. Cet impact est clairement observé en été plutôt qu'en période hivernale et ceci est en raison de la dilution. En effet, en période de hautes eaux, nous n'observons pas de variation significative des intensités des bandes de fluorescence entre l'amont et l'aval de l'agglomération parisienne.

Concernant la variation temporelle, que ce soit les sites amont ou aval du milieu récepteur, on remarque que le rapport d'intensité $I\gamma/I\alpha$ est plus élevé en période estivale. Ceci est probablement dû à l'abondance de la composante autochtone suite à la forte activité microbienne dans le cas des sites amont alors qu'à l'aval (Andrésy) il y a en plus l'apport de la MOD urbaine (*Figure 54*). Cela est confirmé par la variation de l'indice d'humification HIX qui est plus faible en été qu'en hiver, indiquant la moindre présence des substances humiques en période de basses eaux.

Finalement, parmi les paramètres étudiés, il semble que le fluorophore γ (qui correspond aux composés protéiques), soit le seul traceur du pourcentage du débit de la Seine à Andrésy provenant des rejets de la STEP Seine Aval. En effet une forte corrélation est observée entre ce pourcentage et l'intensité de la bande γ ($\rho=0.99$) alors qu'il n'y a aucune corrélation avec la concentration en carbone organique dissous (*Figure 55*). Aucune corrélation n'est observée pour les trois autres bandes α , α' et

β . Cela est en accord avec la littérature où il a été observé que la fluorescence de la bande γ pouvait être utilisée comme marqueur de la MOD d'origine anthropique (Galapate *et al.*, 1998; Baker *et al.*, 2003; Reynolds, 2003; Baker and Spencer, 2004). Quant aux autres paramètres, comme les deux indices, HIX et BIX, ils sont fortement liés au débit, aussi bien pour les sites amont que pour les sites aval, ne peuvent donc pas être considérés comme des traceurs des rejets urbains.

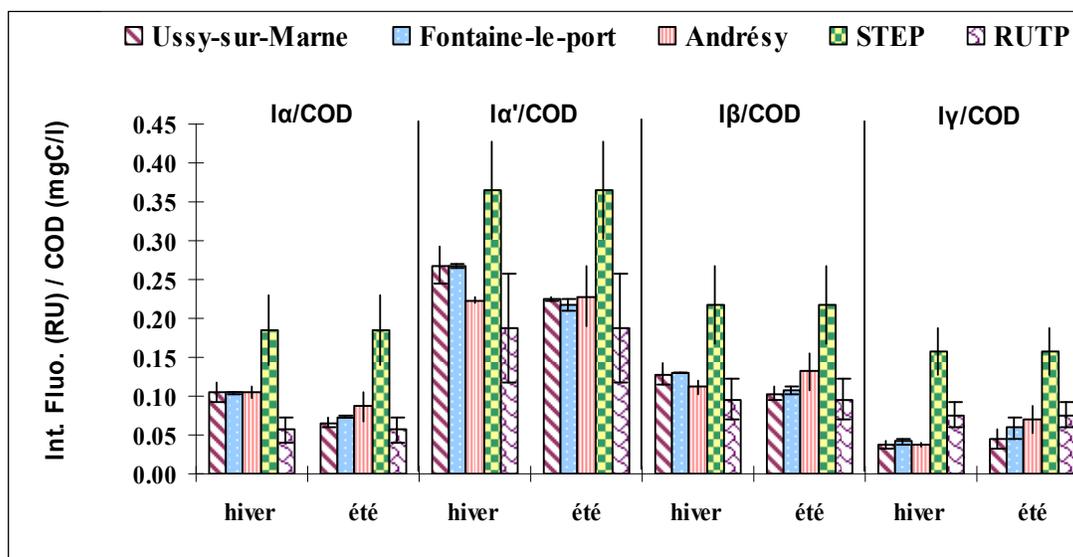


Figure 53: Variation des intensités de fluorescence des différentes sources de MOD.

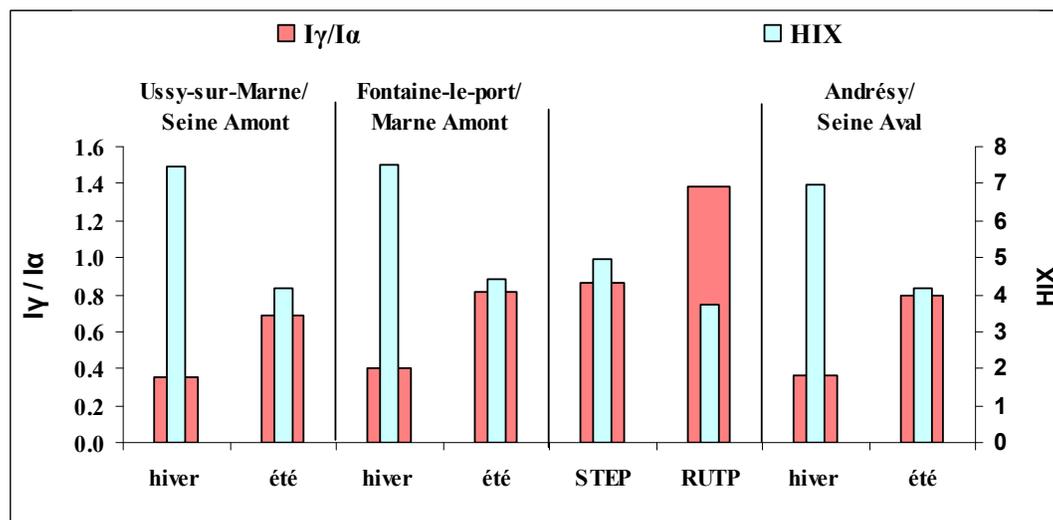


Figure 54: Variation du rapport d'intensité I_{γ}/I_{α} et de l'indice de fluorescence HIX de l'amont à l'aval de l'agglomération parisienne.

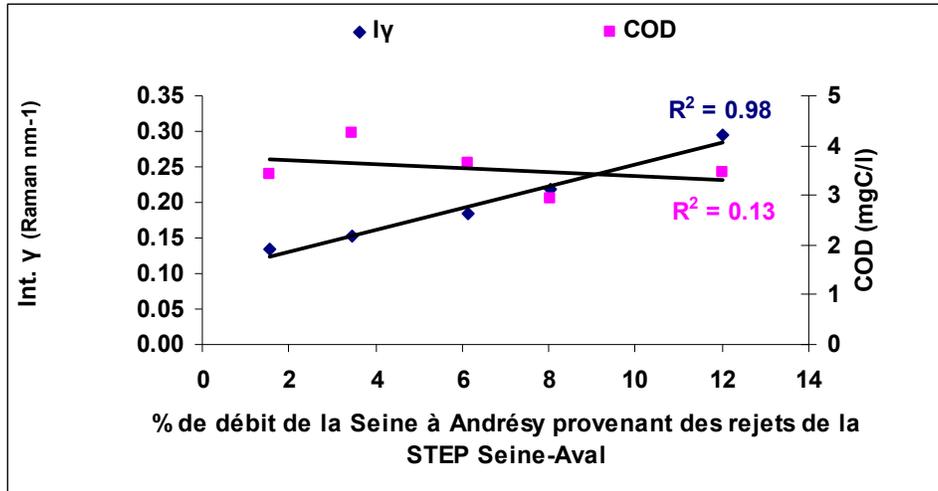


Figure 55: Variation du COD et de l'intensité de la bande de fluorescence γ en fonction de % de débit de la Seine à Andrésy provenant de la STEP Seine-Aval.

III.6. COMPARAISON DES PROPRIETES D'ABSORBANCE DES DIFFERENTES SOURCES DE MOD

D'après la *Figure 56*, on remarque des valeurs de SUVA plus élevées en hiver qu'en été pour les trois sites du milieu récepteur, indiquant un degré d'instauration et de condensation plus important dans la période de hautes eaux. L'apport potentiel de matières organiques d'origine terrestre en hiver par le ruissellement sur les sols du bassin versant et l'abondance de la MOD autochtone (et/ou urbaine dans le cas d'Andrésy) observée en été justifient ces évolutions

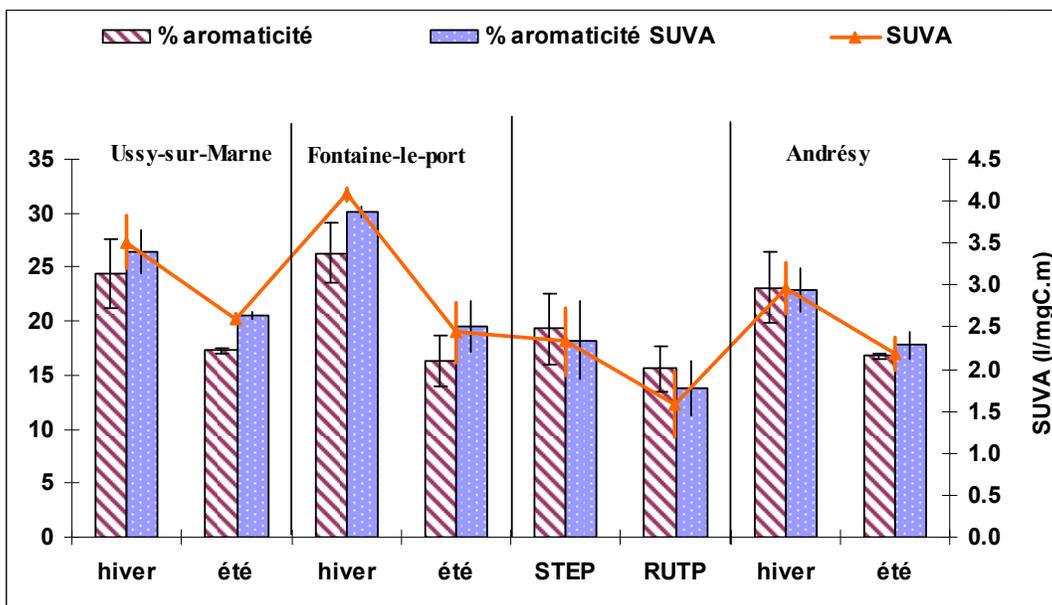


Figure 56: Les pourcentages d'aromaticité et d'indice SUVA obtenus de l'amont à l'aval de l'agglomération parisienne.

Quant à la variation spatiale, on remarque en hiver que la MOD prélevée en amont de l'agglomération parisienne, présente des valeurs plus élevées de SUVA et de pourcentages d'aromaticité que pour la MOD à l'aval de l'agglomération parisienne.

En période de basses eaux, cette différence de SUVA entre l'amont et l'aval de l'agglomération n'est pas significative malgré l'impact des rejets de STEP. En effet, ces derniers présentent une valeur de SUVA qui est à peine plus élevée que celles mesurées dans les sites amont à cette période. En effet, il est important de noter que les rejets urbains de temps sec présentent des valeurs de SUVA et d'aromaticité plus élevées que celles des rejets de temps de pluie et qui sont assez comparables à celles des eaux du milieu récepteur. Ceci peut être dû à un effet de matrice de ces rejets avec par exemple la présence des ions du fer et des nitrates qui absorbent à 250 et 280 nm, et qui peuvent interférer les mesures de l'aromaticité et par conséquent augmenter ces dernières (Weishaar *et al.*, 2003).

III.7. COMPARAISON GLOBALE DES SOURCES DE MOD

Pour comparer les différents types de MOD étudiés ici, nous avons utilisé l'analyse en composantes principales (*Figure 57*).

L'analyse en composantes principales (ACP) :

L'ACP permet de distinguer trois zones qui correspondent chacune à une source de MOD, les RUTP, les rejets de temps sec des STEP ainsi que les eaux de surface de milieu récepteur. Notons qu'en plus, pour ce dernier type de MOD, une répartition temporelle a été mise en évidence, période de basses eaux et de hautes eaux. Les axes F1 et F2 expliquent près de 64% de la variance. En fait, le milieu récepteur en période de hautes eaux, comme nous l'attendons, est caractérisé par une fraction hydrophobe HPO, un pourcentage d'aromaticité, SUVA et HIX plus élevés que pour le reste des sites. Alors que c'est l'inverse en période de basses eaux et ceci est dû à la prédominance de la MOD d'origine autochtone ainsi qu'à l'impact de l'urbanisation dans le cas d'Andrésy qui n'est pas constaté en hiver du fait de la dilution. Les rejets urbains de temps de pluie et de temps sec quant à eux, sont fortement corrélés avec la teneur en fraction hydrophile HPI et l'indice BIX et sont anti-corrélés avec la MO hydrophobe HPO (R_HPO : HPI=-0.9, R_HPO : BIX=-0.7). Notons aussi que les rejets des stations d'épuration STEP sont les plus fluorescents parmi les trois origines de MO.

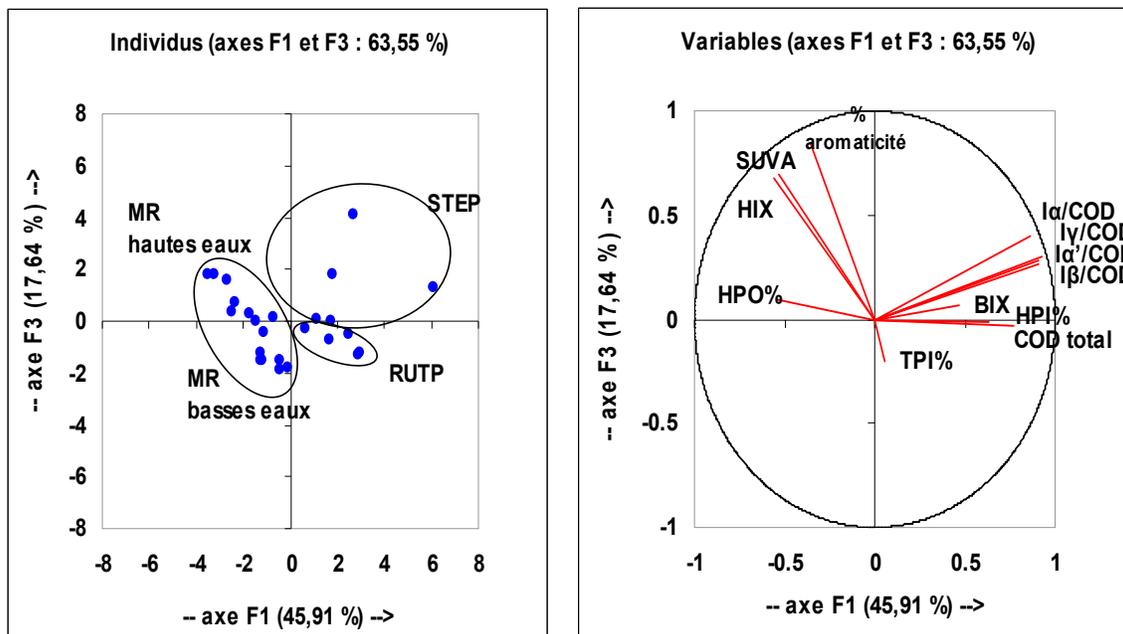


Figure 57: ACP basée sur la distribution de différents paramètres selon les sources de la MOD.

Coefficients de corrélation :

Parmi les coefficients de corrélation existants pour tous les paramètres étudiés, ceux qui sont significatifs sont marqués en gras (*Tableau 12*). La fraction hydrophobe HPO est fortement anti-corrélée avec l'indice BIX qui renseigne sur l'activité microbienne et positivement corrélée avec l'indice d'humification HIX qui indiquant quant à lui le degré de maturation de la MOD. Notons que c'est le cas inverse concernant la fraction hydrophile HPI, c.à.d. elle est anti-corrélée avec l'indice HIX et positivement corrélée avec BIX.

Nous notons également une corrélation positive entre les paramètres de spectrofluorescence et d'absorbance, HIX, SUVA et le pourcentage d'aromaticité ; cela est tout à fait cohérent. Mais cette corrélation peut varier en fonction de l'origine de la MOD (Perre, 2009). Prenons par exemple la corrélation qui existe entre l'indice HIX et le % d'aromaticité pour les trois sources de MOD, elle n'est significative que pour la MOD provenant du milieu récepteur ($\rho=0.62$, significative). Il est possible que la présence de certaines espèces inorganiques, comme par exemple les ions du fer et les nitrates qui absorbent à 250 et 280 nm, interfèrent avec les mesures de l'aromaticité. Par conséquent, certains échantillons pourraient ne pas être les plus aromatiques mais ils présentent une forte concentration en fer et nitrates (Weishaar *et al.*, 2003), ce qui pourrait être le cas des effluents de stations d'épuration qui sont fortement chargés par ces ions.

PARTIE A

	HPO%	TPI%	HPI%	COD total	SUVA	% aromaticité
HPO%	1	-0.587	-0.904	-0.073	0.029	0.025
TPI%	-0.587	1	0.183	-0.417	0.111	-0.063
HPI%	-0.904	0.183	1	0.308	-0.092	0.005
COD total	-0.073	-0.417	0.308	1	-0.577	-0.369
SUVA	0.029	0.111	-0.092	-0.577	1	0.932
I α' /COD	-0.282	-0.067	0.377	0.740	-0.382	-0.177
I α /COD	-0.341	0.044	0.390	0.587	-0.245	-0.064
I β /COD	-0.297	-0.038	0.380	0.714	-0.407	-0.212
I γ /COD	-0.327	-0.093	0.445	0.797	-0.336	-0.126
HIX	0.554	-0.270	-0.527	-0.393	0.592	0.627
BIX	-0.710	0.327	0.687	0.071	0.076	0.119
% aromaticité	0.025	-0.063	0.005	-0.369	0.932	1

	I α' /COD	I α /COD	I β /COD	I γ /COD	HIX	BIX
HPO%	-0.282	-0.341	-0.297	-0.327	0.554	-0.710
TPI%	-0.067	0.044	-0.038	-0.093	-0.270	0.327
HPI%	0.377	0.390	0.380	0.445	-0.527	0.687
COD total	0.740	0.587	0.714	0.797	-0.393	0.071
SUVA	-0.382	-0.245	-0.407	-0.336	0.592	0.076
I α' /COD	1	0.958	0.988	0.970	-0.249	0.252
I α /COD	0.958	1	0.973	0.929	-0.143	0.321
I β /COD	0.988	0.973	1	0.951	-0.246	0.231
I γ /COD	0.970	0.929	0.951	1	-0.288	0.369
HIX	-0.249	-0.143	-0.246	-0.288	1	-0.449
BIX	0.252	0.321	0.231	0.369	-0.449	1
% aromaticité	-0.177	-0.064	-0.212	-0.126	0.627	0.119

Tableau 12: Coefficients de corrélation entre les différents paramètres de la MOD: polarité, Spectrofluorescence et Absorbance.

III.8. ESTIMATION DES FLUX DE MATIERE ORGANIQUE DE L'AMONT A L'AVAL DE L'AGGLOMERATION PARISIENNE : IMPACT DES REJETS URBAINS

Les flux de MO entre l'amont et l'aval de l'agglomération parisienne sont comparés (Figure 58). Le flux instantané mesuré à l'aval de l'agglomération (Andrésy) est obtenu en multipliant le débit à Andrésy par la concentration en COD qui y est mesuré. Le flux instantané de MO à l'amont de l'agglomération parisienne correspond à la somme de celui de:

- la Marne qui est égal au débit de la Marne avant la confluence avec la Seine (Gournay sur Marne) * COD mesuré Ussy-sur-Marne

+

- et de la Seine qui est égal au débit de la Seine avant la confluence avec la Marne (Alfortville) * COD Fontaine-le-Port

$$\text{Flux aval} = \text{Flux}_{\text{Andrésy}} = \text{Débit}_{\text{And}} * [\text{COD}]_{\text{And}}$$

$$\begin{aligned} \text{Flux amont} &= \text{Flux}_{\text{Marne avant la confluence avec la Seine}} + \text{Flux}_{\text{Seine avant avec la Marne}} \\ &= \text{Débit}_{\text{Goumay/Marne}} * [\text{COD}]_{\text{Ussy/Marne}} + \text{Débit}_{\text{Alfortville}} * [\text{COD}]_{\text{Fontaine-le-port}} \end{aligned}$$

Avec : débit exprimé en m³/sec, [COD] exprimé en mgC/l et flux en gC/sec.

Evidemment, cette comparaison des flux de MO entre l'amont et l'aval de l'agglomération parisienne ne signifie pas que la MO doit être considérée comme un paramètre conservatif.

Nous observons (*Figure 58*) qu'en période de hautes eaux, il n'y a pas de différence significative (10 à 18% seulement) entre le flux de la MO mesuré à l'amont par rapport à celui mesuré à l'aval, ce dernier étant toutefois plus élevé. Par contre en période de basses eaux, le flux en aval est beaucoup plus élevé et à peu près égal au double de celui d'amont.

D'autre part, si on compare séparément les flux de chaque fraction organique, on trouve peu de variation significative entre l'amont et l'aval pour le flux de MO hydrophobe (HPO) quelque soit la période de l'année (moyenne de variation de 28%). Ceci est également observé pour la fraction transphilique (TPI) mais uniquement en période de hautes eaux car en période de basses eaux, le flux de MO TPI à l'aval est plus élevé que celui de l'amont. Mais c'est au niveau de la fraction hydrophile (HPI) et en période de basses eaux, sauf pour l'échantillon d'octobre 2010, que l'on remarque des différences importantes : le flux de la MO HPI en aval est égal à 2 ou 3 fois celui de l'amont. Ceci n'est pas observé en période de hautes eaux où les flux amont et aval sont assez proches.

Les résultats obtenus permettent de mettre en évidence l'impact des rejets urbains de l'agglomération parisienne sur la qualité et la quantité de la MO dans le milieu récepteur à l'aval de l'agglomération parisienne. En effet les rejets urbains, particulièrement ceux de la station d'épuration de Seine-Aval, sont sans doute la cause de l'augmentation en aval du flux de la MO et plus particulièrement de celui de la MO hydrophile HPI en période de basses eaux.

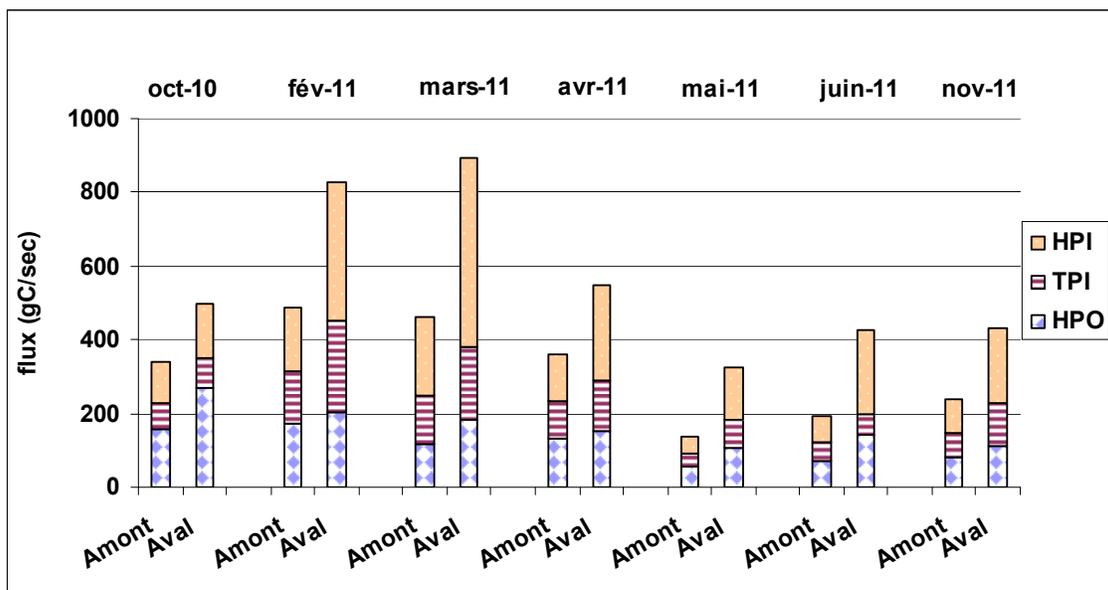
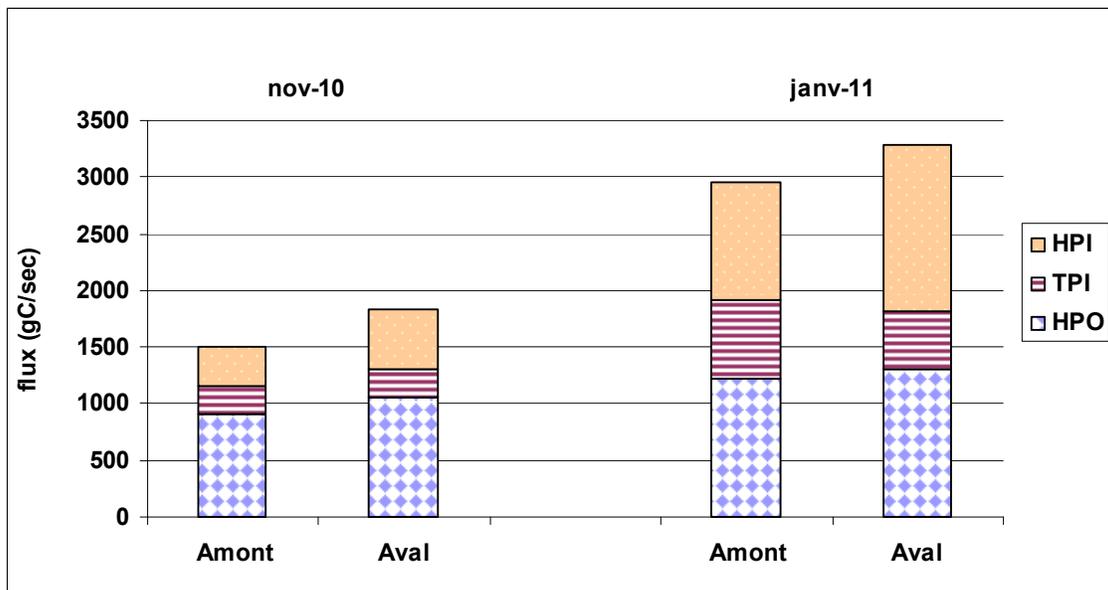


Figure 58: Comparaison du flux de carbone organique provenant de l'amont avec celui déterminé en aval de l'agglomération parisienne en fonction de la période de l'année (hautes eaux en haut, basses eaux en bas).

Les pourcentages des flux des fractions organiques mesurés à Andrésy (aval) dans le milieu récepteur provenant des rejets urbains de la STEP Seine-Aval ont été calculés (*Figure 59*) de la façon suivante :

$$\% \text{ flux X à Andrésy provenant de la STEP SA} = (\text{flux X}_{\text{STEP SA}} / \text{flux X}_{\text{And}}) * 100$$

$$\text{Avec flux X}_{\text{STEP SA}} = [\text{COD}_X]_{\text{STEP SA}} * \text{débit}_{\text{STEP SA}}$$

$$\text{flux X}_{\text{And}} = [\text{COD}_X]_{\text{And}} * \text{débit}_{\text{And}}$$

Soit X : la MO totale ou hydrophobe ou transphilique ou hydrophile.

([COD] exprimé en mgC/l, débit en m³/sec et flux en gC/sec).

Dans le cas présent, nous pensons que la MO peut être considérée comme un paramètre conservatif étant donnée la proximité des deux sites, moins de 10 km entre le point de rejets de la STEP Seine-Aval et Andrésy. Nous observons que les rejets de la STEP contribuent plus fortement au flux du COD observé à Andrésy en période de basses eaux (30 à 60%) qu'en période de hautes eaux (contribution ne dépassant pas 15%). En période de hautes eaux, le flux de COD à Andrésy provient probablement principalement de l'amont, ce qui a d'ailleurs été observé dans cette étude (*Figure 58*).

Si l'on considère les différentes fractions, nous notons que ces rejets de STEP contribuent d'une manière plus importante au flux de MO transphilique et hydrophile qu'au flux de MO hydrophobe quelque soit la période de l'année, ce qui est lié à leur forte abondance en substances non humiques (*Figure 15*).

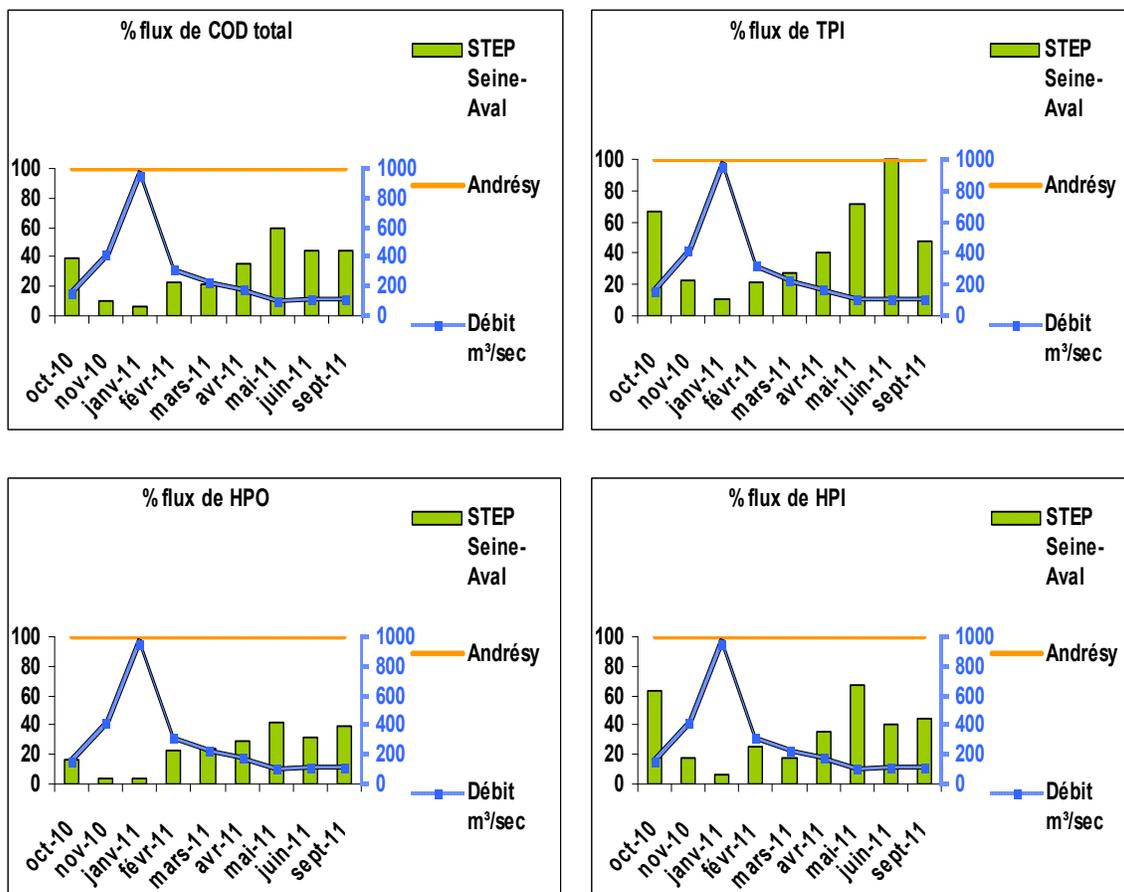


Figure 59: Pourcentage du flux de MO à l’aval de l’agglomération parisienne (Andrésy) provenant de la STEP Seine-Aval et débit de la Seine à Austerlitz.

IV. Conclusion

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'impact des rejets urbains sur la qualité et la quantité de la MOD dans les milieux récepteurs.

Dans ce cadre, nous avons échantillonné des rejets urbains de temps de pluie et également des rejets de station d'épuration. Le milieu récepteur en amont et en aval de l'agglomération parisienne a également été échantillonné. Pour ces trois types d'échantillons, les campagnes d'échantillonnage ont été menées de façon à prendre en compte la variabilité spatio-temporelle de la MOD.

Pour chaque échantillon, la MOD a ensuite été fractionnée selon des critères de polarité et d'acidité, permettant d'obtenir les cinq fractions : hydrophobe, transphilique et hydrophile, acide, basique et neutre. Chaque MOD a également été caractérisée par diverses techniques analytiques afin de tenter d'expliquer les résultats attendus concernant l'affinité de la MOD avec les métaux

La caractérisation de la MOD a été réalisée par la mesure de Carbone Organique Dissous (COD) et par des analyses fonctionnelles (UV-visible et spectrofluorescence) afin de mieux comprendre la composition de la MOD particulièrement en milieu urbain.

La répartition du COD selon les fractions varie fortement d'un site à l'autre et selon la nature de l'échantillon (rejets urbains ou milieu récepteur). La fraction hydrophobe représente un pourcentage plus important du COD dans les échantillons du milieu récepteur amont alors que cette fraction hydrophobe est plus faible dans les RUTP et les effluents de STEP. Pour les échantillons d'origine urbaine, la fraction hydrophile est la fraction prédominante puisqu'elle représente près de la moitié du COD. La fraction transphilique représente de 10 à 30% selon les échantillons.

Des outils d'analyses fonctionnelles, fluorescence et UV-visible, ont été déployés dans le but de caractériser, dans les meilleures conditions possibles, la MOD contenue dans les échantillons non fractionnés et fractionnés (en particulier la fraction HPI). Nous avons observé que la MOD issue des rejets urbains de temps de pluie et des effluents de STEP présente une faible aromaticité comparée à la MOD de l'amont de l'agglomération particulièrement en période de hautes eaux où le caractère humique est dominant. En revanche une plus grande diversité fonctionnelle de la MOD des rejets urbains notamment pour les fractions hydrophiles par rapport à la MOD naturelle a été mise en évidence avec notamment une composante protéique très importante.

En période de basses eaux, la forte proportion de COD hydrophile dans les rejets urbains influence sensiblement le site situé à l'aval de l'agglomération. Nous pouvons observer qu'en période d'étiage, 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.

Conclusion

D'ailleurs, il a été démontré une augmentation d'un facteur deux du flux de la MOD, plus particulièrement pour la MOD hydrophile, en aval par rapport à l'amont en période de basses eaux. Notons que ces résultats ont été acquis durant une année particulièrement sèche (cf.III.4.1) avec des débits faibles et donc des impacts des rejets urbains qui sont amplifiés du fait de la moindre dilution.

Il est donc confirmé que si l'on veut étudier les interactions entre la MOD et les micropolluants métalliques dans les cours d'eau sous forte pression urbaine, il est indispensable de prendre en compte la fraction hydrophile. L'objectif de la partie B de ce travail est de caractériser l'influence de la MOD d'origine urbaine et notamment de sa composante hydrophile sur la spéciation et la biodisponibilité des métaux dans les milieux récepteurs.

PARTIE B : INFLUENCE DE LA MATIERE ORGANIQUE DISSOUE SUR LA SPECIATION ET LA BIODISPONIBILITE DES METAUX.

I. Synthèse bibliographique

I.1. GENERALITES

Dans les écosystèmes aquatiques, les éléments traces métalliques métaux se trouvent à de faibles concentrations, généralement de l'ordre du nanogramme ou du microgramme par litre. Une fois rejetés dans l'environnement, les ETM se caractérisent par leur non-biodégradabilité, qui induit un pouvoir d'accumulation important dans la biosphère, ainsi que par leur faible volatilité (à l'exception du mercure). Ces éléments métalliques sont classés selon leur caractère essentiel ou non. Les éléments essentiels sont nécessaires au bon fonctionnement des organismes, sous une forme et dans une gamme de concentration optimale. A l'inverse, les métaux non essentiels perturbent le cours normal de processus biologiques et ont un effet toxique, y compris à de très faibles concentrations (Rand *et al.*, 1995; Geffard, 2001). (Mason and Jenkins, 1995) distinguent ainsi :

- Les métaux présents en grande quantité dans les organismes (supérieur à 1mmol/kg de poids frais) tels que Na, K, Ca et Mg ;
- Les métaux présents à l'état de traces (entre 0.001 et 1 mmol/kg) comme Ag, As, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Si, Sn, V et Zn.

L'ensemble de ces éléments peut être d'origine naturelle mais les activités anthropiques générant d'importantes pollutions peuvent augmenter leurs concentrations dans les écosystèmes aquatiques. Connaître la quantité ainsi que la spéciation (les formes chimiques) des éléments traces est indispensable pour estimer leur impact dans un environnement donné. Il est donc nécessaire d'étudier tout ce qui concerne les apports (charges), la distribution et le devenir des métaux lourds qui se déversent dans les écosystèmes aquatiques ainsi que leurs effets sur le biote.

I.2. LES SOURCES DES ELEMENTS TRACES METALLIQUES DANS LES SYSTEMES AQUATIQUES

Les métaux lourds qui entrent dans l'environnement aquatique proviennent de sources naturelles et de sources anthropiques. Compte tenu de la toxicité des métaux lourds, il importe d'en connaître la source et de savoir ce qu'ils deviennent dans l'environnement.

I.2.1. LES SOURCES NATURELLES D'ELEMENTS TRACES METALLIQUES

Les métaux sont naturellement présents dans les roches mères sur lesquelles se développent les sols. Ils sont généralement inclus dans la structure cristalline des minéraux du sol (oxydes, carbonates, silicates, sulfures). Les ETM sont donc naturellement présents dans les sols à des niveaux de concentration qui dépendent du type de sol. Le fonds pédogéochimique local traduit la concentration naturelle d'une substance dans un sol résultant de l'évolution géologique et pédologique, à l'exclusion de tout apport anthropique (Baize, 1997). Une partie des métaux présents dans les sédiments provient donc de l'altération de ces roches et de l'érosion du bassin versant. D'autres phénomènes, tels que le volcanisme, les feux de biomasse et les sources thermales, contribuent au rejet de métaux dans l'environnement (Novotny, 1995; Allen *et al.*, 2001; Rocher, 2003). Tout cela constitue le « fonds géochimique », c'est-à-dire la teneur naturelle en ETM. Dans le cas du bassin de la Seine, le fonds géochimique a pu être estimé (Thévenot *et al.*, 1998; Meybeck *et al.*, 2004) notamment grâce à des prélèvements effectués sur un site archéologique situé près de Bercy (dépôts vieux de 5000 ans) qui ont permis de quantifier les teneurs métalliques dans les dépôts du bassin de la Seine avant toute influence humaine importante.

I.2.2. LES SOURCES ANTHROPIQUES D'ELEMENTS TRACES METALLIQUES ET LEURS VOIES DE TRANSFERT DANS LE MILIEU RECEPTEUR

Aux sources naturelles mentionnées ci-dessus s'ajoutent les métaux émis à la suite des activités anthropiques. En effet, étant donné leurs propriétés physiques et chimiques telles que leur ductilité, leur malléabilité et leurs bonnes conductivités thermique et électrique, les métaux sont largement présents dans un grand nombre d'activités industrielles et domestiques (cf. *Tableau 13*).

Les zones urbaines et industrielles sont donc des sources importantes d'ETM, pour l'environnement en général et pour les systèmes aquatiques en particulier. Ces ETM peuvent contaminer les milieux récepteurs aquatiques et terrestres selon différentes voies de transfert. Les principales sources anthropiques sont présentées ci-dessous et leurs voies de transfert sont explicitées par la *Figure 60*.

PARTIE B

Utilisations	Métaux
Batteries et autres appareils électriques	Cd, Hg, Pb, Zn, Mn, Ni
Pigments et peintures	Ti, Cd, Hg, Pb, Zn, Mn, Sn, Cr, Al, Cu, Fe
Alliages et soudures	Cd, As, Pb, Zn, Mn, Sn, Ni, Cu
Biocides (pesticides, herbicides, conservateurs)	As, Hg, Pb, Cu, Sn, Zn, Mn
Agents de catalyse	Ni, Hg, Pb, Cu, Sn
Verre	As, Sn, Mn
Engrais	Cd, Hg, Pb, Al, As, Cr, Cu, Mn, Ni, Zn
Matières plastiques	Cd, Sn, Pb
Produits dentaires et cosmétiques	Sn, Hg
Textiles	Cr, Fe, Al
Raffineries	Ni, V, Pb, Fe, Mn, Zn
Carburants	Ni, Hg, Cu, Fe, Mn, Cd

Tableau 13: Sources industrielles et agricoles des métaux présents dans l'environnement.

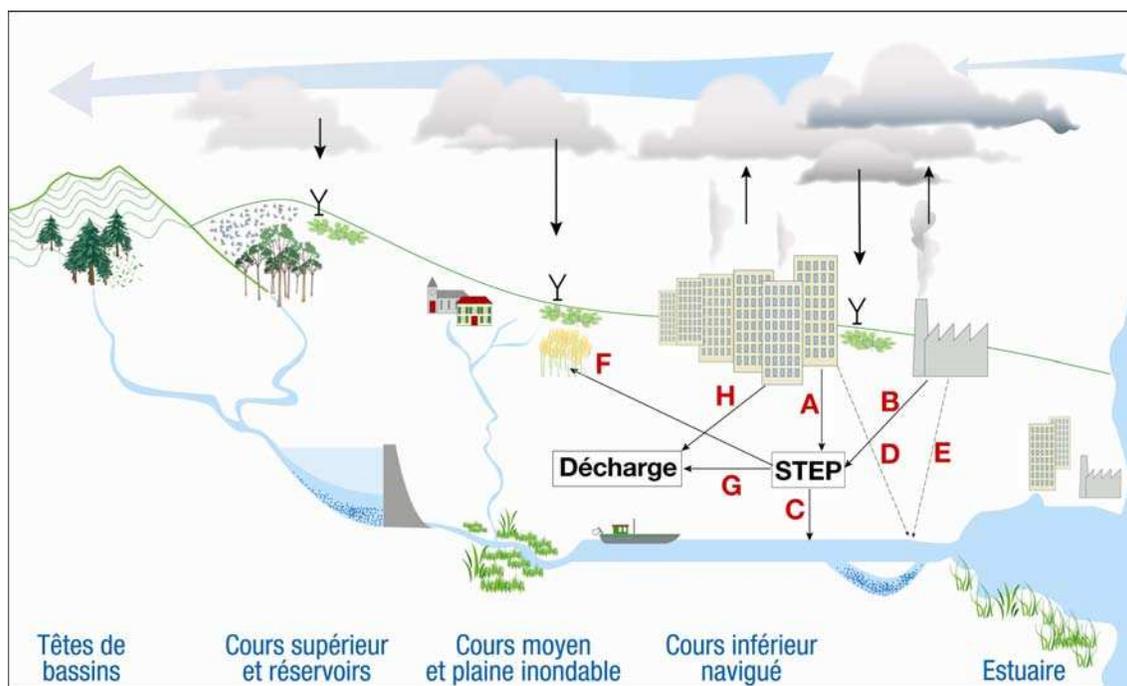


Figure 60: Voies de transfert des métaux résultant des activités humaines

(eaux usées domestiques (A), industrielles (B), rejets d'eaux traitées par les stations d'épuration □STEP □(C), rejets directs d'eaux de ruissellement pluvial (D) et d'eaux usées industriels (E), épandage agricole (F) ou mise en décharge des boues produites par les stations d'épuration (G) et des ordures ménagères (H) d'après (Thévenot et al., 2009)).

I.2.2.1. Les retombées atmosphériques

Les retombées atmosphériques métalliques sont la résultante d'un mélange de différents types d'émissions qui incluent les émissions industrielles, les émissions domestiques et les émissions automobiles (Pacyna and Graedel, 1995). Les principales sources de métaux (As, Cd, Cr, Hg, Ni, Pb, Zn) sont dans l'ordre : l'industrie manufacturière, le résidentiel/tertiaire et la transformation d'énergie. L'ensemble de ces sources émet vers l'atmosphère des ETM principalement sous forme de particules de taille et de composition variables suivant leurs origines. La nature dynamique de l'atmosphère favorise ensuite le transport de ces ETM sur des distances qui peuvent être considérables. Par exemple, le suivi des teneurs en plomb dans les carottes de glace du Groenland (Boutron *et al.*, 2004) permet la mise en évidence des activités minières qui se sont déroulées durant l'empire Romain dans le sud de l'Espagne actuelle.

L'évolution des émissions depuis 1990 montre une forte baisse, en moyenne d'un facteur 5 à 10, en raison principalement de l'amélioration du traitement des fumées dans l'industrie manufacturière. Il faut noter le cas particulier du plomb dont l'origine était principalement les transports routiers (essence au plomb tétraéthyle) jusque dans les années 1990. Cette source a quasiment disparu entraînant une diminution d'un facteur 50 des émissions de plomb entre 1990 et 2010. C'est désormais l'industrie manufacturière qui constitue la principale source de plomb dans l'atmosphère. Le zinc a suivi la même tendance que le plomb avec une diminution, d'un facteur 12 en 20 ans, due principalement à la baisse des émissions de l'industrie manufacturière. Le cuivre se distingue des autres métaux car ses sources principales sont liées aux transports ferroviaire (usure des caténaires) et routier (usure des plaquettes de freins). Au contraire de la plupart des autres ETM, les émissions de cuivre sont stables depuis les années 1990 (CITEPA, 2011).

Les dépôts métalliques peuvent se produire directement sur les sols non imperméabilisés ou dans les systèmes aquatiques. Il s'agit dès lors d'une contamination directe des milieux récepteurs. Des travaux récents, menés sur des sols agricoles du Nord de la France, ont mis en évidence l'importance des flux métalliques (Cu, Ni, Pb et Zn) résultant des dépôts atmosphériques comparés aux autres apports métalliques tels que les intrants agricoles (Azimi *et al.*, 2004). En zone urbaine, où les sols sont majoritairement imperméabilisés, les métaux déposés vont alors pouvoir être transférés vers les milieux récepteurs suite à des épisodes de ruissellement.

En tant que source potentiellement importante d'ETM dans les bassins versants urbains et étant données les variations récentes des émissions atmosphériques, il est nécessaire de bien caractériser les dépôts métalliques en prenant en compte leur variabilité spatio-temporelle dans l'agglomération parisienne et plus largement dans le bassin de la Seine.

I.2.2.2. Les ruissellements en zones urbaines

Les dépôts atmosphériques secs ou humides constituent une part non négligeable des flux métalliques dans les eaux de ruissellement (Garnaud *et al.*, 1999). D'autres sources de métaux existent comme les matériaux de façade et de chaussée et les automobiles (fuite d'huile, plaquette de freins, pneus) (Davis *et al.*, 2001a).

Les contaminations chroniques liées aux automobiles et aux infrastructures routières sont très diverses : usure de la chaussée, abrasion et/ou corrosion des éléments contenant des métaux (pneumatiques, freins, carrosserie, barrières de sécurité), émissions dues aux gaz d'échappement (Davis *et al.*, 2001b), usure des pots catalytiques, fuite de divers liquides (huile de moteur, antigel). Les métaux les plus souvent observés sont

- Le cadmium, provenant d'impuretés contenues dans les additifs à base de zinc et entrant dans la composition des huiles et des pneus.
- Le zinc, issu de la corrosion des glissières de sécurité par les composés acides et de l'oxydation des petits ouvrages de traversée en acier galvanisé (Baladès *et al.*, 1984; Pagotto, 1999) (Gaber, 1993).

Cependant une très grande diversité d'ETM est observée dans ces contaminations chroniques. Le cuivre, le nickel et le chrome suite à l'usure des pneumatiques (Pagotto, 1999), le cuivre, le zinc et le plomb suite à l'abrasion des garnitures de freins (Pagotto, 1999), le fer, le chrome, le nickel, le manganèse suite à la corrosion des carrosseries des véhicules, le plomb et le cadmium suite à l'utilisation de peintures ou enduits anticorrosifs (Abbott *et al.*, 1995). En hiver l'utilisation de produits de déverglçage (chlorure de sodium), en plus d'apporter des métaux sous forme d'impuretés, augmentent la corrosion des surfaces métalliques (véhicules et glissières) et favorisent ainsi la mobilité des métaux traces.

Concernant les contaminations liées aux matériaux de toiture, il a été montré dans le quartier du Marais à Paris que les ruissellements de toiture constituaient des sources très importantes de cadmium, zinc et plomb (Garnaud *et al.*, 1999; Gromaire *et al.*, 2001; Gasperi *et al.*, 2010b). Les ETM contenus dans ces ruissellements proviennent des retombées atmosphériques (humides et sèches) mais aussi de la corrosion des feuilles de zinc qui composent les toitures ainsi que d'autres matériaux constitutifs du toit. Les contaminations observées sont très différentes d'un type de toit à l'autre (Robert-Sainte *et al.*, 2009) et varient selon l'orientation, l'âge et la nature du matériau constitutif. D'une manière générale, les flux d'ETM dans les ruissellements urbains dépendent de nombreux paramètres environnementaux : le volume d'eau précipitée, l'acidité des pluies, l'occurrence des périodes sèches et humides, la direction et la vitesse du vent dominant.

Les eaux de ruissellement sont acheminées en station d'épuration dans le cas d'un réseau d'assainissement unitaire (voies A et B de la *Figure 60*) ou rejetées sans traitement dans le milieu récepteur aquatique dans le cas d'un réseau séparatif ou lors d'un débordement d'un réseau unitaire au moment de fortes pluies (voies D et E de la *Figure 60*).

Les sols non imperméabilisés, par ruissellement érosif, peuvent également être une source d'ETM pour les systèmes aquatiques. Les sols sont donc un milieu récepteur mais aussi une source de contaminants pour les systèmes aquatiques.

I.2.2.3. Les rejets directs dans le réseau d'assainissement

Les rejets directs sont composés des effluents domestiques, artisanaux et industriels. Ces effluents sont toujours traités en stations d'épuration (STEP) (sauf cas de déversement d'orage dans le cas des réseaux unitaires) et donc le devenir des ETM va dépendre très largement de l'efficacité épuratoire de ces stations. Lors du traitement, une part faible des métaux ne sera pas abattue et passera dans le milieu aquatique (voie C de la *Figure 60*). Dans le cas du bassin de la Seine, en période de basses eaux, il a été montré récemment que les flux de métaux labiles¹ en sortie de la STEP Seine-Aval étaient du même ordre de grandeur que ceux provenant de l'amont de l'agglomération parisienne (Buzier *et al.*, 2006a). C'est un résultat que nous avons confirmé au LEESU en 2010 (Bracmort, 2010). Toutefois, la part de métaux la plus importante se trouve piégée dans les boues de station d'épuration et peut donc être transférée soit en décharge (voie G de la *Figure 60*) soit sur des sols agricoles qui reçoivent ce type de boues (voie F de la *Figure 60*).

I.3. DEVENIR DES CONTAMINANTS METALLIQUES DANS L'ENVIRONNEMENT AQUATIQUE : LE ROLE DE LA SPECIATION

Une fois arrivés dans l'environnement aquatique, les métaux se répartissent entre les différents compartiments de l'environnement aquatique (l'eau, les solides en suspension, les sédiments et le biote). Les principaux processus qui gouvernent la distribution et la répartition des métaux lourds sont la dilution, l'advection, la dispersion, la sédimentation et l'adsorption/désorption. Des processus chimiques interviennent également. C'est ainsi que la spéciation selon les diverses formes solubles est régie par les constantes de stabilité des différents complexes, et par les propriétés physico-chimiques de l'eau. En fait, les effets toxiques des métaux ainsi que leur comportement au sein du milieu aquatique (mobilité, biodisponibilité) vont dépendre en grande partie de leur spéciation (Newman and

¹ Métaux libres ou engagés dans des complexes facilement dissociables, c'est aussi une estimation de la fraction biodisponible

McIntosh, 1991; Ure and Davidson, 2002). La spéciation a été définie par comme la « description des différentes espèces, formes ou phases sous lesquelles un élément est présent » (Ure and Davidson, 2002). Le schéma suivant (*Figure 61*) détaille les différentes formes chimiques des métaux dans les milieux aquatiques. L'ion métallique peut se complexer avec des molécules, qu'elles soient inorganiques ou organiques comme les carbonates, les nitrates, les chlorures ou encore de l'EDTA ou de l'acétate (1). Il peut aussi se complexer avec des macromolécules organiques comme la MOD (2) qui elle-même peut être en équilibre avec des complexes macromoléculaires suivant les conditions physico-chimiques du milieu (8). Ces différentes formes chimiques peuvent être absorbées par les organismes vivants (3 ; 5 ; 6).

La formation de complexes inorganiques :

Les métaux, en solution aqueuse, subissent un phénomène de solvatation. Ils fixent autour de leurs atomes, plus ou moins fortement, des molécules d'eau (exemple $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$). Les métaux de transition (e. g. Cu, Zn, Ni, Cr, Au, Ag, Cd, Hg) sont particulièrement susceptibles de former des complexes avec des ligands variés (Arnaud, 1997). Parmi les ligands possibles pour les métaux, on trouve les anions suivants : chlorure (Cl^-), bromure (Br^-), cyanure (CN^-), carbonate (CO_3^{2-}), hydroxyde (OH^-) etc.

La formation de complexes organiques :

La place importante accordée, dans cette partie, aux phénomènes de complexation des métaux avec la matière organique dissoute est proportionnelle à l'influence que ces phénomènes ont sur la spéciation et la biodisponibilité des métaux. En effet, la matière organique dissoute, en raison de sa capacité à complexer les métaux joue un rôle prépondérant dans le devenir des ETM (Kramer and Allen, 1988) où elle favorise la mobilité des métaux traces sous forme de complexes organiques dissous (MacCarthy, 1987; Miller and Orbock Miller, 2007). Comme nous le verrons plus précisément par la suite, l'affinité des métaux vis-à-vis de la matière organique est variable, notamment du fait de l'hétérogénéité très importante de la MOD, et varie en fonction des conditions physico-chimiques du milieu (Förstner and Wittman, 1983; Lin and Chen, 1998; Miller and Orbock Miller, 2007).

Ces phénomènes de complexation sont gouvernés par un ensemble de paramètres physico-chimiques qui modifient la spéciation des métaux, c'est à dire qu'ils influent sur la répartition des différentes formes chimiques métalliques, mais agissent également sur l'assimilation par les organismes vivants. Parmi ces paramètres, on peut citer le pH, le potentiel d'oxydoréduction et bien sûr la quantité de ligands disponible (aussi appelée capacité complexante).

C'est ainsi que, dans la plupart des cas, les concentrations métalliques totales sont connues pour être de mauvais indicateurs de l'effet des métaux sur les organismes du compartiment aquatique (Meyer, 2002). Pour quelques métaux (e. g. Ag, Cd, Cu, Ni, Pb, Zn), les concentrations en ions métalliques libres ainsi que celles de certains complexes sont, semble-t-il, principalement responsables de la toxicité (Campbell, 1995).

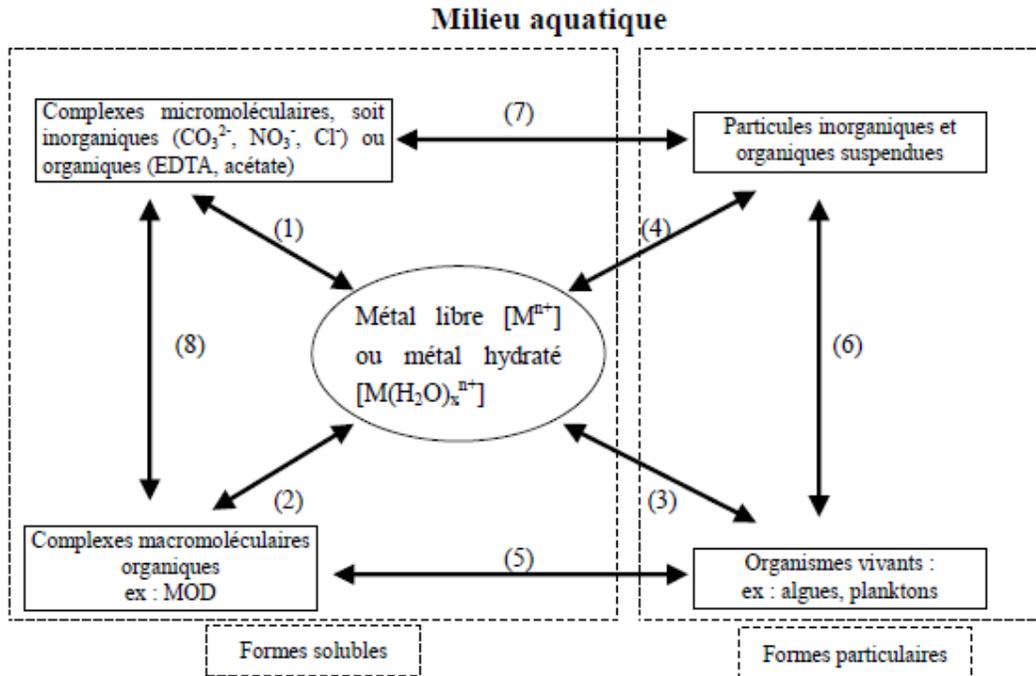


Figure 61: Formes chimiques d'un métal dans un milieu aquatique et leurs réactions dans le système (repris de (Buffle, 1988), « Complexation Reaction in Aquatic Systems »).

I.4. CARACTERISATION DU ROLE DE LA MOD SUR LA SPECIATION DES METAUX TRACES

I.4.1. INTERACTIONS ENTRE LA MOD ET LES METAUX TRACES : INFLUENCE SUR LA SPECIATION DES METAUX

Comme cela a été dit précédemment, la MOD joue un rôle dans la biogéochimie des métaux grâce à ses propriétés de complexation. Les interactions MOD-métaux peuvent fortement influencer le devenir des métaux dans l'environnement (Senesi *et al.*, 1992; Hernandez *et al.*, 2006).

Les interactions entre la MOD et les métaux sont étudiées depuis les années 1960 (Good *et al.*, 1966; Stumm *et al.*, 1970). Les sites complexants de la MOD sont les sites carboxyliques (groupements contribuant à la majorité des sites de complexation), phénoliques, azotés et soufrés présents dans la MOD. Même si certains métaux sont connus pour se fixer préférentiellement sur certains sites (cas du mercure pour les groupements soufrés), la plupart des éléments entrent en

compétition pour l'accès aux sites de complexation de la MO. Ces derniers ont généralement aussi des affinités complexantes pour le proton et les autres cations, notamment le calcium ou le magnésium. Ces éléments vont donc rentrer en compétition avec le métal considéré (Vandenhooft *et al.*, 1995; Christensen and Christensen, 2000; Lu and Allen, 2002). Par exemple, lorsque le pH diminue, on observe généralement une décomplexation des métaux traces, caractérisée par une augmentation de la concentration en métaux non-organiques (i.e. libre et complexé avec les hydroxydes et les ligands inorganiques du milieu) (Cao *et al.*, 2004). Le même phénomène est observable lorsque la concentration en cations divalents alcalino-terreux augmente. En plus, certaines études ont par ailleurs montré que les fortes concentrations en certains métaux (Al et Fe) empêchaient en partie les métaux moins présents de se fixer à la matière organique (Takacs *et al.*, 1999).

Cas du cuivre :

En fait, dans le cadre de cette étude, le cuivre est plus particulièrement à étudier. Il a été par le passé fréquemment étudié dans la littérature (Saar and Weber, 1980; Seitz, 1981; Ryan and Weber, 1982; Cabaniss and Shuman, 1986; Esteves da Silva *et al.*, 1998; Bryan *et al.*, 2002; Lu and Allen, 2002; Witt and Jickells, 2005; Zhao and Nelson, 2005; Hernandez *et al.*, 2006; Hoffmann *et al.*, 2007; Baken *et al.*, 2011; Mounier *et al.*, 2011). Il est toxique sous forme libre (Cu^{2+}) dès 10 pM environ (10^{-11} M, (Sunda *et al.*, 1987)), alors que la toxicité de ses complexes avec un ligand organique est bien moindre voire nulle (Buffle, 1988; Weber, 1988). Il a également été démontré que le cuivre est aussi un très bon « quencheur » de fluorescence, car il peut rapidement former des complexes de haute stabilité avec les substances humiques (Saar and Weber, 1980; Ryan and Weber, 1982; Cabaniss and Shuman, 1986; Weber, 1988). Une étude faite par (Rashid, 1985) sur la compétition des ions métalliques sur des acides humiques d'origine marine a montré l'ordre de complexation suivant : **Cu(II)>>Zn(II)>Ni(II)>Co(II)>Mn(II)**.

I.4.1.1. Le cas de la MOD des rejets de temps sec des stations d'épuration

Compte tenu de la grande hétérogénéité structurelle de la MOD, due principalement aux différentes sources de matières organiques ainsi qu'aux différents processus de dégradation modifiant ses caractéristiques d'origine, les paramètres de complexation des métaux par la MOD sont très variables (Town and Filella, 2000a). Il ne semble donc pas possible de représenter l'ensemble des MOD, observables en milieux aquatiques, par un nombre restreint de propriétés. Cependant, la prise en compte du rôle de la MOD est nécessaire pour correctement interpréter et prévoir le comportement des métaux dans l'environnement (Lorenzo *et al.*, 2002; Gustafsson *et al.*, 2003; Koukal *et al.*, 2003; Slaveykova *et al.*, 2003).

En effet la complexation des métaux traces avec les substances humiques, qui prédominent dans la matière organique d'origine naturelle, a fait l'objet de nombreuses synthèses bibliographiques (Florence and Batley, 1980; Bernhard *et al.*, 1986; Florence, 1986; Landner, 1987; Buffle, 1988; Brockaert *et al.*, 1990; Millward, 1995; Salbu and Steinnes, 1995; Tessier and Turner, 1995; Ure and Davidson, 1995; Town and Filella, 2000a; Batley *et al.*, 2004) démontrant ainsi le nombre important d'études publiées dans ce domaine.

Or il a été démontré que la matière organique dissoute issue des rejets urbains contient principalement de la matière organique non humique, de nature hydrophile (cf. Partie A). En période d'étiage, ces rejets urbains augmentent sensiblement le caractère hydrophile du carbone organique dissous (COD) dans la Seine à l'aval de l'agglomération parisienne. Cette fraction hydrophile présente des teneurs particulièrement importantes en azote mais aussi en soufre (Pernet-Coudrier, 2008). L'influence de cette MOD hydrophile sur la spéciation et la biodisponibilité des métaux est forte puisqu'elle présente un nombre élevé de sites fixateurs comparée à la matière organique provenant de zones moins impactées à l'amont de l'agglomération parisienne ainsi que des constantes de complexation du même ordre de grandeur ou même légèrement supérieures dans le cas du plomb, du cuivre et du mercure notamment (Pernet-Coudrier, 2008; Muresan *et al.*, 2011; Pernet-Coudrier *et al.*, 2011a). Quelques autres travaux ont été consacrés à la mise en évidence de l'influence de la matière organique urbaine provenant des effluents des rejets de stations d'épuration sur la spéciation des métaux (Kawamoto *et al.*, 1992; Pardo *et al.*, 1994; Muller, 1996; Sedlak *et al.*, 1997; Kozelka and Bruland, 1998; Town and Filella, 2000; Sarathy and Allen, 2005; Santos-Echeandia *et al.*, 2008; Tushara Chaminda *et al.*, 2010; Baken *et al.*, 2011; Muresan *et al.*, 2011; Pernet-Coudrier *et al.*, 2011a). Notons que parmi ces travaux, certains ont mis en évidence la différence de comportement des différentes fractions organiques en termes de spéciation des métaux (Pernet-Coudrier, 2008; Muresan *et al.*, 2011; Pernet-Coudrier *et al.*, 2011a). Toutes ces études concernent les rejets urbains de temps sec. Très peu d'études ont porté sur l'influence de la MOD contenue dans les RUTP sur la spéciation des métaux.

I.4.1.2. Le cas de la MOD des rejets urbains de temps de pluie

Avant d'aborder la complexation par la MOD dans les rejets de temps de pluie, il faut signaler que ces derniers ont très peu été étudiés en termes de spéciation des métaux. Les études de (Morrison and Revitt, 1987; Revitt and Morrison, 1987) figurent parmi les rares ayant porté sur les rejets urbains de temps de pluie. On trouve dans la littérature de nombreuses études plus spécifiques: eaux de ruissellement des chaussées autoroutières, spéciations en phase particulaire seulement sur des sédiments de chaussées ou de rivières (Ellis and Revitt, 1982; Hamilton *et al.*, 1984; Harrison and

Wilson, 1985a, b; Pardo *et al.*, 1990). A partir de l'ensemble des études disponibles, il paraît possible de dégager les points suivants (van Dam *et al.*, 1986; Chebbo, 1992; Flores-Rodriguez, 1992) :

- le cadmium est généralement présent sous forme dissoute avec des fractions biodisponibles prédominantes
- le cuivre, avec une répartition dissous/particulaire peu tranchée, présente des formes plutôt stables et peu biodisponibles
- le plomb particulaire est majoritaire et les fractions échangeables ou stables sont variables
- le zinc, comme le cuivre, présente des répartitions dissous/particulaire variables. Sa biodisponibilité est également très fluctuante.

En termes d'interaction matière organique-métaux, quelques travaux ont signalé la forte complexation existante entre la MOD provenant de ce type des rejets et les métaux traces sans toutefois déterminer les paramètres de complexation (Morrison and Revitt, 1987; Morrison *et al.*, 1989; El Samrani *et al.*, 2004; Houhou *et al.*, 2009). On trouve également dans la littérature de quelques études qui portent spécifiquement le cas du cuivre et son interaction avec la MOD contenue dans les rejets urbains de temps de pluie (Morillo *et al.*, 2002; Gnecco *et al.*, 2008; Das *et al.*, 2009; Hnatukova, 2011).

I.4.2. ANALYSE ET MODELISATION DES INTERACTIONS ENTRE LA MOD ET LES METAUX TRACES

I.4.2.1. Analyse des interactions entre la MOD et les métaux traces

Différentes techniques analytiques ont été développées afin d'étudier les propriétés de complexation et de la MOD fractionnée ou non. Elles reposent principalement sur la mesure de la concentration en métal libre ou complexé en équilibre avec la MOD, mais peuvent également être basées sur des mesures de la concentration en ligand libre ou complexé.

Pratiquement, l'analyse des propriétés de complexation d'une MOD consiste à ajouter à l'échantillon des aliquotes d'une ou plusieurs solutions standards de métal, et à suivre l'évolution de la concentration en métal labile ou libre en fonction de la concentration en métal total (Bruland, 1992; Muller, 1996; Kozelka and Bruland, 1998; Rozan *et al.*, 1999; Bruland *et al.*, 2000; Erk and Raspor, 2001; Muller *et al.*, 2001). Le suivi de la concentration en métaux libres ou labiles peut se faire par différentes techniques listées ci-dessous.

• Les techniques électrochimiques:

Les techniques potentiométriques :

Les électrodes sélectives sont utilisées pour étudier les interactions entre la MOD et certains métaux traces ou cations majeurs (Masini *et al.*, 1998; Rozan and Gaboury, 1999; Bryan *et al.*, 2002; Lu and Allen, 2002). A la différence des techniques voltamétriques, l'électrode sélective permet la mesure de l'activité de l'ion libre et non de la fraction labile. Dans la littérature, la plupart des applications de potentiométrie pour la spéciation se limite à l'usage d'électrodes ioniques spécifiques (Ionic Specific Electrode - ISE) (Buffle, 1988; Monbet and Coquery, 2003). L'électrode indicatrice de l'ion Cu^{2+} est principalement construite par les mélanges d' Ag_2S et d'un autre sulfure MS tel que CuS . Le sulfure d'argent apparaît comme un matériau constitutif intéressant en raison de sa solubilité extrêmement faible en solution aqueuse et de sa bonne conductivité ionique à la température ordinaire (Collinson, 1999).

Les méthodes voltampérométriques :

Ces techniques sont souvent utilisées afin d'estimer la complexation des métaux par la MOD (Wang, 1985; Buffle, 1988). En effet, elles permettent de mesurer les concentrations labiles en métaux et ainsi de déterminer la fraction de métal complexé par des ligands organiques, complexes qui sont le plus souvent électrochimiquement "inertes" donc non-détectés à la mesure. Parmi ces méthodes, deux sont fréquemment utilisées, l'ASV (Anodic Stripping Voltammetry) et la CSV (Cathodic Stripping Voltammetry).

L'ASV permet de mesurer, grâce à la formation d'un amalgame sur une goutte ou un film de mercure lors d'une étape de préconcentration, une intensité de courant proportionnelle à la concentration en métal labile (Cu, Pb, Cd, Zn, ...) (Bard and Faulkner, 1983). On rassemble généralement sous le terme de métal labile, le métal libre et l'ensemble des complexes métalliques électrochimiquement labiles à la goutte, i.e. par approximation l'ensemble des hydroxydes et des complexes inorganiques (Wang, 1985; Pizeta and Branica, 1997). Cette technique permet de déterminer simultanément les concentrations en Cd, Pb et Cu labiles, elle peut donc être a priori utilisée pour étudier des phénomènes de compétition entre ces métaux traces. Par contre, le nombre de métaux analysables est relativement limité.

La CSV est quant à elle basée sur la formation d'un complexe entre le métal libre et un ligand spécifique prédéfini ajouté à l'échantillon, puis l'adsorption de ce complexe à la surface de la goutte. Cette technique est plus sensible que l'ASV (Donat and Van Den Berg, 1992) et elle permet de doser un grand nombre d'éléments, notamment des métaux ne formant pas d'amalgames (Co, Ni, Cr, U, V...) (Van den Berg, 1989; Achterberg and Braungardt, 1999). Elle peut donc être utilisée pour déterminer la concentration en un élément, si le ligand ajouté est suffisamment spécifique à l'élément considéré. La détermination des propriétés de complexation d'une MOD est basée sur l'étude de la

compétition entre le ligand ajouté et la MOD vis-à-vis du métal. L'analyse consiste donc, comme en ASV, à suivre la concentration en complexe adsorbé en fonction des ajouts de métaux.

Une technique dérivée de l'ASV a été mise au point, reprenant le principe de la CSV (Scarano *et al.*, 1992; Xue and Sigg, 1998). Cette ASV "à compétition de ligand" repose sur l'ajout d'un ligand (ex. EN, 1,2-diaminoethane) formant des complexes électrochimiquement labiles avec le métal (ex. Cd). Ce ligand rentre en compétition avec les ligands organiques forts, modifiant la spéciation du métal, augmentant alors la fraction de métal labile et donc la sensibilité de la mesure par DPASV. L'interprétation des données (M labile, M total) obtenues, nécessitant la prise en compte des propriétés de complexation de ce ligand ajouté, permet de caractériser les ligands organiques forts, formant avec le métal des complexes inertes.

Cependant la CSV ainsi que l'ASV "à compétition de ligand" dépendent des valeurs de constantes de stabilité de la littérature (Pizeta and Branica, 1997), i.e. les propriétés de complexation et d'adsorption des ligands ajoutés vis-à-vis des métaux, elles ne sont utilisables que dans des conditions précises (gamme de pH, tampon, type d'analyse...) et ont une fenêtre analytique plus restreinte (Scarano *et al.*, 1992) que celle de l'ASV "classique".

Les méthodes chronopotentiométriques:

La chronopotentiométrie se caractérise par l'application d'un courant constant lors de l'étape de redissolution. Le temps est alors mesuré en fonction du potentiel. La redissolution des métaux, précédemment déposés à la surface de l'électrode, se traduit par la présence de plateaux dans les courbes $E = f(t)$ (Figure 62a). Le temps nécessaire à la redissolution est directement proportionnel à la concentration du métal préalablement adsorbé. A partir de cette courbe, l'unité d'analyse établit une courbe dérivée : $dt/dE = f(E)$ (Figure 62b). Celle-ci présente alors des pics dont la hauteur ou la surface est proportionnelle à la concentration.

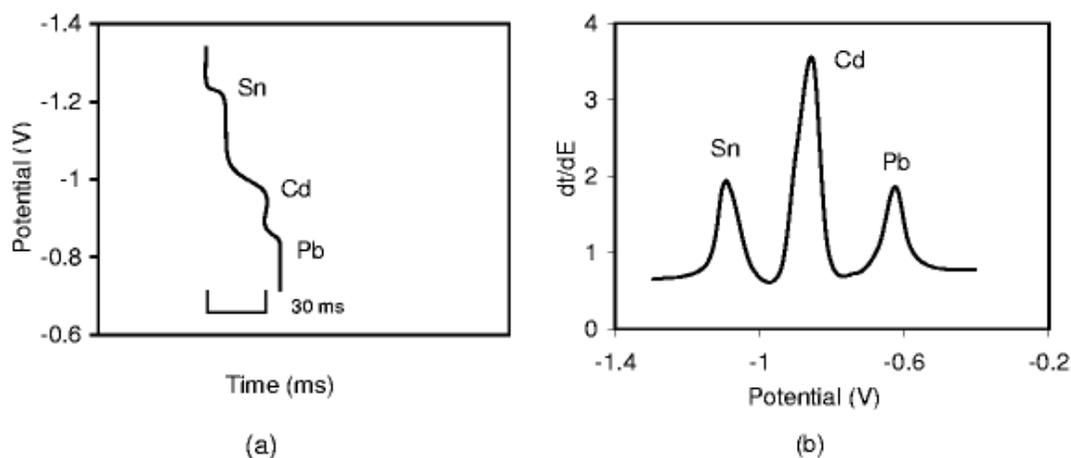


Figure 62: Principe des mesures chronopotentiométriques (Jagner, 1983).

En raison de l'application d'un courant lors de l'étape de redissolution, la chronopotentiométrie a l'avantage d'être beaucoup moins affectée par la présence de matière organique que les méthodes voltampérométriques (Soares and Vasconcelos, 1995; Town and van Leeuwen, 2002a, 2004). En effet le courant appliqué lors de l'étape de redissolution permet de « dégrasser » le film de mercure de la matière organique adsorbée sans que celle-ci n'interfère sur le signal des métaux (pics interférents, dédoublement de pics, pics non gaussiens, etc.). Des concentrations subnanomolaires de cuivre, plomb et cadmium ont ainsi été déterminées dans des eaux naturelles (Riso *et al.*, 1997; Riso *et al.*, 2007). Town et Van Leeuwen ont également étudié des interactions SH – métaux avec cette méthode (Town and van Leeuwen, 2002b; Van Leeuwen and Town, 2003; Town and van Leeuwen, 2004).

• La spectroscopie de fluorescence:

Contrairement aux techniques précédemment mentionnées, la spectroscopie de fluorescence UV-visible est basée sur l'analyse directe des propriétés de la MOD. En effet, parmi les groupements fonctionnels de la MOD, certains d'entre eux ont des propriétés de fluorescence. Si ces groupements possèdent également des propriétés de complexation, un phénomène d'exaltation ou d'atténuation de la fluorescence est observé lors d'ajouts de métaux. Cette propriété, nommée quenching de fluorescence, permet de mettre en évidence les propriétés de complexation de la MOD (Smith and Kramer, 2000; Esteves da Silva and Oliveira, 2002; Patel-Sorrentino *et al.*, 2002; Cao *et al.*, 2004). Cependant, tous les sites fluorescents ne sont pas complexants, et réciproquement, ce qui peut entraîner un biais dans l'analyse complète des propriétés de complexation de la MOD. De plus, compte tenu de la grande hétérogénéité de la MOD, ces propriétés de fluorescence sont complexes et il est difficile de trouver les conditions expérimentales permettant d'obtenir une sensibilité suffisante pour l'analyse d'un échantillon peu concentré en MOD à des teneurs naturelles en métaux traces.

I.4.2.2. Modélisation des interactions entre la MOD et les métaux traces

De par l'hétérogénéité des macromolécules constituant la MOD, ses propriétés de complexations sont très variées et variables suivant les conditions physicochimiques. De ce fait, réduire ces propriétés à seulement une ou deux classes de ligands (telles que celles caractérisables par des techniques de linéarisation) peut sembler hasardeux ou tout au moins trop restrictif pour correctement simuler le comportement d'une MOD. L'amélioration des techniques aidant, un plus grand nombre d'interactions a pu être analysé. Il a donc été nécessaire de développer différents

modèles de MOD visant à simuler ces propriétés. Comme la structure exacte des constituants chimiques de la MOD est inconnue à hauteur d'au moins 80%, il est presque impossible de la représenter par des molécules organiques simples, de caractéristiques connues. La plupart des simulations de la MOD la représente donc par un ensemble de classes ou groupes de ligands "virtuels", donc de structure chimique non définie, caractérisés par une ou plusieurs propriétés. Ces modèles peuvent être regroupés en deux catégories principales: (i) approche continue, (ii) approche discrète.

• **Approche continue:**

Ce modèle de MOD repose sur une représentation continue de ses propriétés de complexation. En effet, ces dernières étant variables presque à l'infini, il semble légitime de les représenter par un continuum. L'approche serait donc de définir pour chaque MOD, vis-à-vis de chaque élément (métal, cation majeur, ...), une courbe d'affinité, représentant les interactions analysées, de la forme: $\theta = f(\log(K))$, θ étant un taux d'occupation des sites de complexation. La modélisation de la MOD viserait alors à déterminer une fonction mathématique reproduisant les variations de cette courbe, donc simulant la distribution de ligands de la MOD. Théoriquement, il n'y a pas de raison pour que cette fonction soit simple, i.e. représentable par exemple par une fonction de type gaussienne.

Dans la pratique, les données expérimentales issues d'une ou plusieurs techniques d'analyse sont rarement assez précises pour atteindre ce but. Les études menées par (Perdue and Lytle, 1983; Dzombak *et al.*, 1986; Fish *et al.*, 1986) ont montré qu'une distribution normale de ligands pouvait être définie pour représenter les affinités d'une MOD. Cette dernière est assimilée à une surface, les interactions vis-à-vis d'un élément étant alors définies par une isotherme de type Langmuir. Pour cela, une ou deux fonctions gaussiennes sont utilisées. L'équation mathématique de cette distribution (Équation 4) repose sur un nombre de paramètres à optimiser (3 par fonctions normales) pour simuler les données expérimentales et donc les interactions analysées.

Une MOD sera donc représentée par plusieurs fonctions, chacune étant spécifique à un élément (Milne *et al.*, 1995; Benedetti *et al.*, 1996; Kinniburgh *et al.*, 1999; Ritchie and Perdue, 2003). La Figure 63 présente une distribution continue simulant les interactions entre un métal et une MOD hypothétique. Les deux fonctions gaussiennes sont respectivement centrées sur les sites de type carboxylique (sites faibles) et de type phénolique (sites forts), comme cela est souvent observé sur des MOD. La fonction bimodale de distribution utilisée est alors de la forme:

$$L_T(K) = L_{T,1}^{\max} \times \exp\left(-\frac{(\log K_1 - \log K)^2}{\sigma_1}\right) + L_{T,2}^{\max} \times \exp\left(-\frac{(\log K_2 - \log K)^2}{\sigma_2}\right) \quad \text{Équation 4}$$

- **Approche discrète:**

L'approche discrète de la complexation d'une MOD repose sur la modélisation de ses propriétés par une distribution discrète de ligands. Cette approche peut donc être utilisée pour caractériser la complexation d'un mélange de molécules simples (EDTA, cystéine, phénol, ...), ce qui est difficile avec un modèle continu. Elle permet en plus de prendre en compte des ligands mono- ou poly-dentates, i.e. la formation de complexes métaux-ligands 1:1 et 1:i. La probabilité qu'il y ait sur une MOD des groupements fonctionnels capables de telles complexations n'est en effet pas nulle, mais il conviendra cependant d'étudier la possibilité de distinguer ces différentes formes de complexation à partir d'un nombre nécessairement restreint de points expérimentaux. Ces ligands sont caractérisés à l'aide de paramètres de complexations: concentration, constante de stabilité. Plus les propriétés de complexation d'une MOD seront complexes, plus le nombre de ligands nécessaire à une modélisation correcte des données sera élevé. Cependant, ce nombre dépend de la précision et du nombre des données expérimentales, de la fenêtre analytique balayée, des capacités d'optimisation du programme utilisé (souvent limité à un nombre restreint de paramètres), ainsi que des interactions analysées (métaux traces, proton, cations majeurs, ...). En général, le nombre de ligands utilisés est donc assez limité: 2 à 4 pour les propriétés de complexation vis-à-vis des métaux traces (Muller, 1996; Vasconcelos and Leal, 2001; Lu and Allen, 2002), jusqu'à 6 pour la modélisation des sites acides (Masini *et al.*, 1998). La *Figure 63* présente une distribution discrète de 6 ligands acides, de constantes réparties entre 4.5 et 10, donc proche des distributions discrètes utilisées pour simuler les propriétés d'acidité des MOD.

Différentes techniques de traitements mathématiques sont utilisées pour calculer les valeurs des paramètres de complexations de ces ligands, à partir du fitting des données expérimentales. Ces techniques peuvent être relativement simples comme les linéarisations (Scatchard, 1949; Ruzic, 1982), elles sont alors limitées à 1 ou 2 ligands, ou plus complexes, utilisant alors des programmes de fitting non-linéaires tels que FITEQL (Westall, 1982). S'ils tiennent compte des interactions avec les autres éléments chimiques, ces programmes nécessitent un sous-programme de calcul de spéciation.

Bien que les ligands déterminés ne correspondent pas à une structure chimique précise, leurs caractéristiques peuvent être facilement intégrés dans les bases de données des programmes de spéciation tels que MINEQL (Westall *et al.*, 1976), MINTEQA2 (Felmy *et al.*, 1984; Eary and Jenne, 1992), CHESS, PHREEQC (Parkhurst *et al.*, 1980).

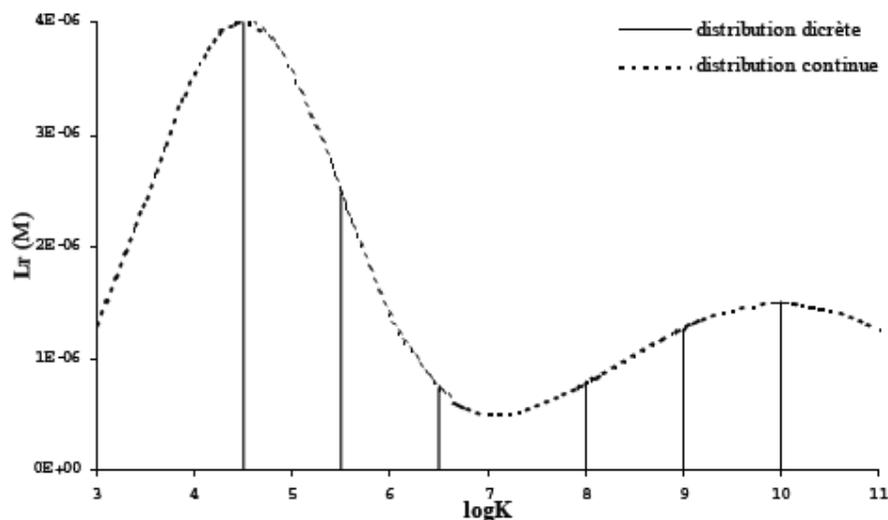


Figure 63: Distributions discrète (6 sites) et continue (bimodales).

I.5. CARACTERISATION DU ROLE DE LA MOD SUR LA BIODISPONIBILITE DES METAUX TRACES

I.5.1. INTERACTIONS ENTRE LA MOD ET LES METAUX TRACES : INFLUENCE SUR LA BIODISPONIBILITE DES METAUX

Outre son influence sur la spéciation, la MOD peut également jouer un rôle sur la biodisponibilité des métaux vis-à-vis les organismes vivants (Kim *et al.*, 1999). Une diminution de la toxicité des métaux, tels que par exemple le cuivre, le plomb et le nickel, a souvent été associée à la présence de matières organiques (Smith and Kramer, 2000; Provenzano *et al.*, 2004; Markiewicz-Patkowska *et al.*, 2005; Zhao and Nelson, 2005). En effet, ces ligands organiques réduisent les concentrations en ions métalliques libres (espèce majoritairement responsable de la toxicité des métaux) dans l'environnement aquatique. Ce sont ces premières observations d'une baisse de la toxicité associée à une baisse de la concentration en ions métalliques libres qui ont conduit à l'élaboration du FIAM (modèle de l'ion libre). (Erickson *et al.*, 1996) ont observé une diminution de la toxicité du cuivre (exprimée en concentration de cuivre total) vis-à-vis de *Pimephales promelas* lors de l'augmentation de la concentration en COD (Carbone Organique Dissous). En effet, les complexes formés entre le cuivre et les ligands organiques sont considérés comme moins biodisponibles pour les organismes vivants. Ce qui a permis d'associer à la MOD son « rôle protecteur » vis-à-vis des organismes vivants. En fait, cet effet protecteur a été mis en évidence pour la MOD d'origine naturelle depuis de nombreuses années au travers de tests menés en laboratoire sur une grande variété d'espèces (Markich *et al.*, 2003; Schwartz *et al.*, 2004; De Schamphelaere and Janssen, 2004a). Outre les

substances humiques qui prédominent dans une MOD naturelle, des travaux ont été consacrés à la mise en évidence de l'influence des substances non humiques qui prédominent dans la matière organique urbaine, comme celles provenant des effluents des rejets de stations d'épuration, sur la biodisponibilité des métaux vis-à-vis les microorganismes vivants (Buzier *et al.*, 2006b; Pernet-Coudrier *et al.*, 2008; Worms *et al.*, 2010; Kang *et al.*, 2011; Yi *et al.*, 2011). Notons que parmi ces travaux, certains ont mis en évidence la différence du comportement des différentes fractions organiques en termes de biodisponibilité des métaux (Pernet-Coudrier, 2008; Muresan *et al.*, 2011; Pernet-Coudrier *et al.*, 2011a).

Quant à la MOD provenant des rejets urbains de temps de pluie, très peu de travaux existent sur le rôle de cette MOD vis-à-vis de la biodisponibilité des métaux.

I.5.2. MODELISATION DE LA BIODISPONIBILITE DES METAUX TRACES DANS LES SYSTEMES AQUATIQUES

I.5.2.1. Modèle de l'ion libre

L'hypothèse de ce modèle est l'existence de sites spécifiques de fixation des métaux (situés à la surface de l'organisme exposé au milieu), au travers desquels l'effet biologique s'exprime. Mis en évidence pour la première fois en 1978 (Anderson and Morel, 1978) dans le cadre d'une étude de la sensibilité d'un dinoflagellé vis-à-vis du cuivre, le rôle du métal libre pour l'expression de la toxicité, a démontré le lien entre la spéciation des métaux et leur effet toxique. Ce lien a été conceptualisé pour aboutir au modèle de l'ion libre (FIAM : Free Ion Activity Model) (Morel, 1983). L'interaction entre le métal et l'organisme se déroule alors en trois étapes (Campbell, 1995) :

- (i) la diffusion des espèces de la solution vers la surface de l'organisme,
- (ii) la complexation du métal sur les sites spécifiques,
- (iii) le transport éventuel du métal à travers la membrane, c'est-à-dire l'internalisation.

De ces trois étapes, l'étape supposée limitante est celle d'internalisation du métal par l'organisme. Ceci implique que les complexes des sites membranaires spécifiques sont à l'état d'équilibre avec les espèces en solution. La quantité de métal fixé sur les sites spécifiques ($\equiv X-M$) est alors directement proportionnelle à l'activité du métal libre en solution quelle que soit la forme initiale du métal fixé, c'est-à-dire une espèce libre, ou une espèce complexée se dissociant à la surface membranaire. L'effet biologique sur l'organisme est alors directement proportionnel à l'activité du métal libre en solution sous l'hypothèse d'une proportionnalité directe entre l'effet biologique et la quantité de sites membranaires occupés par le métal.

Les mécanismes intervenant entre l'accumulation d'un métal dans un organisme et l'expression de sa toxicité sont cependant plus complexes. C'est dans ce contexte que de nombreuses études se sont focalisées sur la bioaccumulation du métal (étape préalable à l'expression de la toxicité), plutôt que d'étudier directement l'effet toxique (Goodyear and McNeill, 1999; Ah-Peng and De Traubenberg, 2004). La biodisponibilité d'un métal est alors définie comme étant sa capacité à atteindre une cible biologique : comme par exemple traverser ou s'adsorber sur une membrane biologique. En conséquence, le FIAM est souvent formulé comme une proportionnalité directe entre métal libre en solution et quantité de métal bioaccumulé. Cette relation directe a pu être vérifiée expérimentalement (Vigneault and Campbell, 2005).

Le FIAM a ainsi permis de comprendre que l'effet protecteur vis-à-vis de l'accumulation (ou de la toxicité) des métaux, de la matière organique dissoute (Penttinen *et al.*, 1998; Alberts *et al.*, 2001; Van Ginneken *et al.*, 2001; Lorenzo *et al.*, 2002) et des matières particulaires (Ma *et al.*, 2002), provenait de la diminution de la quantité de métal libre en solution suite à leur complexation ou adsorption. Ainsi, depuis les années 80, la spéciation des métaux c'est-à-dire la répartition de leurs formes chimiques, est prise en compte pour étudier les mécanismes de la biodisponibilité et ainsi mieux prévoir leur toxicité. Il est important de préciser que cette thématique de recherche n'aurait pu être développée sans les nombreux progrès analytiques réalisés au cours des trente dernières années (Batley *et al.*, 2004).

I.5.2.2. Le biotic ligand Model (BLM)

Le modèle BLM (Di Toro *et al.*, 2001) est un modèle flexible dans la mesure où l'ensemble des paramètres de l'eau pouvant modifier l'écotoxicité d'un métal sont pris en compte. D'un point de vue mécanistique, le BLM se base sur deux modèles théoriques précurseurs : le GSIM «Gill Site Interaction Model» (GSIM) et le «Free-Ion Activity Model» (FIAM), ou modèle de l'ion libre.

- Le GSIM (Pagenkopf, 1983) est un modèle qui permet d'estimer les interactions de surface au niveau des branchies de poissons. Il prend en compte le fait que le pH et l'alcalinité peuvent modifier la spéciation d'un métal comme sa complexation par des anions majeurs. En revanche, les interactions avec la matière organique ne sont pas considérées dans ce modèle. A partir de ce modèle, Playle et ses collaborateurs ont élaboré des méthodologies pratiques permettant de déterminer les constantes d'affinités entre un métal et les branchies de poissons via des expositions de courte durée (2 – 3 H) à des faibles concentrations de métaux (Playle *et al.*, 1992).
- Le modèle de l'ion libre (Morel, 1983), comme cela a été précisé, repose sur l'hypothèse majeure selon laquelle la toxicité d'un métal est essentiellement liée à l'activité de l'ion libre. Ce modèle développé au début des années 80 et revu au début des années 2000 (Brown and

Markich, 2000) focalise sur les interactions entre les cations métalliques et les sites d'action toxique des algues. En revanche, ce modèle considère les interactions potentielles avec la MOD (matière organique dissoute) (Niyogi and Wood, 2004).

- Le BLM tient compte des cations majeurs, pouvant entrer en compétition avec le métal libre (Ca, Na, Mg et H⁺), il a en effet été montré et conceptualisé que leur présence diminuait la toxicité du cuivre vis à vis des daphnies (De Schamphelaere and Janssen, 2002a; De Schamphelaere *et al.*, 2002b; De Schamphelaere and Janssen, 2004a, 2004c), dans les réactions de complexation impliquant des ligands abiotiques (matières organiques dissoutes, chlorures, carbonates, sulfures etc...). Le BLM présente l'avantage d'intégrer l'ensemble des informations fournies par les différents modèles évoqués ci-dessus. L'intérêt de ce modèle est aussi de tenir compte de la densité des sites d'action toxique (Paquin *et al.*, 2002). L'ensemble des mécanismes mis en jeu est décrit dans la *Figure 64*.

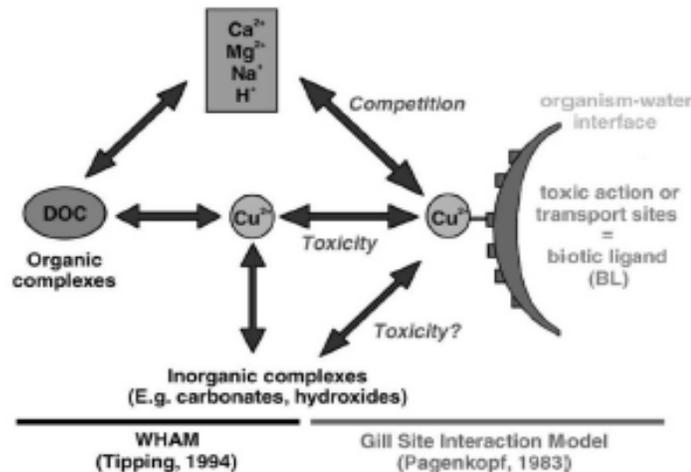


Figure 64: Mécanismes pris en compte dans le modèle du ligand biotique, Janssen et al. (2003).

I.5.3. DETERMINATION DE LA BIODISPONIBILITE A L'AIDE DE BIOTESTS

I.5.3.1. Indicateurs d'effet ; toxicité aiguë et toxicité chronique

Deux types d'exposition peuvent être rencontrés :

- les expositions à court terme (quelques heures à quelques jours) à des concentrations élevées. Dans ce cas, il s'agira de *toxicité aiguë*,
- les expositions sur le long terme (de quelques jours à plusieurs semaines, voire années) pour des concentrations plus faibles. Il s'agira alors d'une *toxicité chronique*.

D'une façon générale, les effets biologiques indicateurs de toxicité sont la mortalité et/ou l'inhibition de la mobilité dans le cas d'une toxicité aiguë. Pour la toxicité chronique, les effets seront plutôt une inhibition de la croissance et/ou de la reproduction (Deleebeeck *et al.*, 2007).

I.5.3.2. Organismes cibles

Les effets sont étudiés sur les organismes aquatiques suivants :

- producteurs primaires comme le phytoplancton : algues unicellulaires appartenant à la famille des algues vertes et au genre *Chlorella* ou *Scenedesmus*.
- consommateurs primaires comme le zooplancton : crustacés planctoniques de la famille des Cladocères. Le genre **Daphnia** est l'organisme le plus étudié.
- consommateurs secondaires/tertiaires comme le poisson : les espèces sur lesquelles ont été réalisées un grand nombre d'expérimentations sont la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) et le poisson « tête de boule » (*Pimephales promelas*).

Les Daphnies ont été largement utilisées pour étudier la toxicité du cuivre et l'influence des divers paramètres (comme par exemple la matière organique) (Andrew *et al.*, 1977; Meador, 1991; Santore *et al.*, 2001; De Schamphelaere and Janssen, 2002a; De Schamphelaere *et al.*, 2002b; Bossuyt and Janssen, 2003; Clement and Zald, 2004; De Schamphelaere *et al.*, 2004; Kramer *et al.*, 2004; De Schamphelaere and Janssen, 2004a, 2004b; De Schamphelaere *et al.*, 2004b; De Schamphelaere and Janssen, 2004c; Apte *et al.*, 2005; De Schamphelaere *et al.*, 2005; Villavicencio *et al.*, 2005; Tsui *et al.*, 2006). Cet organisme a également servi pour l'étude de la toxicité d'autres métaux tels que le zinc, le cadmium, le nickel et le mercure (Oikari *et al.*, 1992; Penttinen *et al.*, 1998; Pane *et al.*, 2003; Guan and Wang, 2004; De Schamphelaere *et al.*, 2005; Hyne *et al.*, 2005; Guan and Wang, 2006; Tsui *et al.*, 2006).

Les daphnies sont des petits crustacés mesurant de un à cinq millimètres, de la famille du genre *Daphnia* phyllopoètes cladocères. Elles vivent dans les eaux douces et stagnantes, quelques espèces supportant des conditions légèrement saumâtres.

Leur nom populaire de « puce d'eau » donne une bonne idée de leur taille, de leur forme et de leur façon d'évoluer dans l'eau. Elles possèdent un corps transparent, trapu et en forme de goutte d'eau asymétrique, protégé par une carapace translucide ; de grandes antennes plumeuses, utilisées pour la nage ; un seul œil (en réalité constitué de deux yeux réunis) ; cinq minuscules paires de pattes reliées au thorax. Sa nourriture est généralement composée d'algues et de bactéries, mais aussi de sédiment fin broyé ou resuspendu (Gillis *et al.*, 2005) qu'elles capturent à l'aide d'un filtre de maille inférieure au micromètre.

Les daphnies connaissent deux modes de reproduction :

- reproduction asexuée : ce mode prévaut quand les conditions de vie sont optimales. Les femelles, sans fécondation, produisent par parthénogenèse, environ de trois à cinquante œufs par semaine, qui vont éclore dans une « poche incubatrice ». Ces œufs ne donneront naissance qu'à des femelles.
- reproduction sexuée : quand les conditions de vie deviennent défavorables (froid, manque de proies, stress, anoxie, forte densité de population...), les daphnies donnent naissance à une génération composée de mâles et de femelles. Après fécondation, deux œufs (dits « de résistance », « de durée » ou « de survie », « éhippie » ou « ehippium ») sont produits. Ces éhippies peuvent survivre à l'hiver, et par exemple éclore au printemps, lorsque les conditions sont plus propices.

Pour les tests écotoxicologiques, la parthénogenèse a l'avantage de conserver le patrimoine génétique d'une génération à l'autre, réduisant par conséquent les variations de sensibilité entre les individus d'une même génération et entre les différentes générations.

I.5.4. ETUDE DES INTERACTIONS ENTRE LA MATIERE ORGANIQUE ET LES METAUX TRACES : QUELLE FORME DE LA MOD DOIT-ON ETUDIER ?

De par sa composition, la MOD observée dans les systèmes aquatiques possède une structure chimique hautement hétérogène, donc un grand nombre de groupements fonctionnels de propriétés différentes. De ce fait, deux voies différentes peuvent être suivies pour étudier les propriétés de la MOD : l'analyse globale et l'analyse après fractionnement selon des critères physico-chimiques.

I.5.4.1. La MOD brute

La première approche consiste en une étude globale de la MOD, non fractionnée, éventuellement isolée globalement du milieu d'origine, par exemple par ultrafiltration, afin de pouvoir comparer entre les différentes sources de la MOD (naturelle/urbaine). Ce type d'étude a l'avantage de ne pas modifier la MOD. Mais elle nécessite des techniques analytiques suffisamment précises pour s'affranchir des perturbations provoquées par le milieu (comme par exemple la compétition des ions chlorures vis-à-vis de la complexation du Cu par les groupements fonctionnels de la MOD), surtout quand la MOD n'a pas été extraite et donc que la concentration en carbone organique dissous (COD) est faible.

I.5.4.2. La MOD fractionnée

La deuxième voie repose sur le fractionnement de la MOD en groupes de composés chimiques ayant certaines propriétés voisines, suivant des protocoles chimiques et/ou physiques. Les groupes

ainsi séparés sont donc constitués de composés chimiques "réels", possédant au moins une propriété en commun, par exemple la taille ou la charge. Le fractionnement d'une MO, constitue une première étape de sa caractérisation, étape qui peut être considérée comme une fin en soi. Pour appréhender son comportement dans un milieu donné, notamment vis-à-vis des métaux, chaque groupe peut ensuite être analysé pour caractériser les propriétés qui lui sont associées. Les analyses sont facilitées par le fractionnement de la MOD. En effet ces séparations permettent de minimiser les phénomènes d'interactions entre les groupements fonctionnels (inévitables lorsqu'ils sont mélangés dans l'échantillon "brut"), annulent a priori les interactions générées par les autres espèces chimiques présentes (par exemple les ions majeurs). Le regroupement de l'ensemble des propriétés analysées pour chaque groupe permet une estimation des caractéristiques globales de la MOD étudiée (Buffle, 1988). S'il est aisé de définir théoriquement différentes fractions de MOD il n'en est pas de même dans la pratique. Du fait de la haute complexité de la MOD, tout type de fractionnement (et d'analyses par la suite) ne pourra fournir qu'une description approximative de l'intégralité de la MOD. En effet le fractionnement, qui ne sépare la MOD que par des critères relatifs à la méthode employée, peut engendrer une disparition et/ou des transformations partielles de la MOD et ainsi produire divers artefacts (Shuman, 1990; Zsolnay, 2003). Ainsi même si des études précises de chaque fraction peuvent fournir une quantité importante et précise d'informations celles-ci sont à considérer avec prudence.

I.6. CONCLUSIONS BIBLIOGRAPHIQUES

L'ensemble de cette partie montre que si l'on s'intéresse à l'effet des métaux sur les écosystèmes il faut prendre en compte leurs diverses formes en solution, c'est-à-dire déterminer leur spéciation. L'objectif est alors d'évaluer l'influence des MOD selon leur nature : hydrophobe versus hydrophile et selon leur origine : naturelle versus anthropique sur la spéciation et la biodisponibilité du cuivre.

Pour cela différentes approches ont été menées :

- une approche chimique par l'étude de la complexation des MOD vis-à-vis du cuivre
- une approche biologique avec : un biotest de toxicité aigüe sur *Daphnia magna* (Strauss)

Concernant l'approche chimique, de nombreux modèles ont été développés afin de simuler les propriétés de complexation des matières organiques vis-à-vis des métaux traces. Leur complexité est dépendante du nombre d'interactions qu'ils sont susceptibles de modéliser. Elle se traduit par un nombre plus ou moins important de paramètres de complexations, une des principales limitations étant la qualité et la quantité de données expérimentales, mais aussi les capacités d'optimisation du programme d'ajustement (« fitting ») utilisé. Un des problèmes principaux de l'étude des propriétés complexantes de matières organiques naturelles est l'obtention de paramètres quasi

thermodynamiques, i.e. indépendants entre autres de la force ionique, des effets de compétition des cations et anions du milieu, du proton (aussi bien en terme de formation d'hydroxydes que de protonation des sites de complexation de la MOD), de la compétition des autres métaux traces. En effet, ces paramètres doivent être, autant que faire se peut, indépendants des conditions d'analyses s'ils sont destinés à être utilisés dans des bases de données comme celles des principaux programmes de spéciation, ou plus simplement comparés à ceux obtenus par d'autres techniques, dans d'autres conditions ou sur d'autres MOD. D'un point de vue analytique, ceci nécessite l'utilisation d'un grand nombre de techniques, spécifiques au proton, métaux traces, cations, etc. permettant l'analyse de l'ensemble de ces interactions avec une certaine sensibilité. En effet la plupart des études concernant les propriétés complexantes de MOD ont été réalisées à des concentrations en ligands nettement supérieures au milieu (2 ou 3 ordre de grandeurs). Les expériences doivent de plus être menées dans des conditions physico-chimiques connues et stables: cellules de mesure thermostatées, force ionique constante, concentrations en ions majeurs connues, pH mesuré, etc. Puis, d'un point de vue modélisation, un calcul de spéciation est requis pour correctement tenir compte des formes chimiques (inorganiques et organiques) des métaux analysés. Idéalement, le modèle de complexation choisi pour simuler la MOD doit pouvoir prendre en compte simultanément l'ensemble de ces interactions.

Quant à l'approche biologique, de nombreux modèles ont été aussi développés afin de simuler le « rôle protecteur » des matières organiques vis-à-vis des organismes vivants. Une grande amélioration est apportée par le modèle BLM dans la prédiction de la biodisponibilité et de la toxicité aiguë des métaux. Ces modèles ont montré que la forme libre du métal est celle à l'origine d'un effet biologique. Une estimation correcte de la biodisponibilité d'un métal dépendra de la nature des flux (diffusion intra-membranaire, internalisation, dissociation...). Tout ceci dépendra de la nature chimique des composants mis en présence, de la taille et du type d'organisme considéré et des paramètres physico-chimiques du milieu environnant. Pour ce faire, des tests *in vitro* ont été réalisés et ont amenés un éclairage sur les mécanismes mis en jeu dans les effets toxiques des métaux.

A la suite de cette étude bibliographique, l'influence des MOD précédemment prélevées et caractérisées (cf. Partie A) en termes de complexation avec le cuivre sera étudiée à l'aide de la technique analytique suivante : électrode ionique sélective qui présente l'avantage de donner une information simple et robuste : la mesure de l'activité l'ion libre. Un effort sera particulièrement porté à la concentration en ligand afin de se rapprocher au mieux des conditions environnementales. La modélisation des propriétés de complexation sera réalisée à l'aide d'un ajustement non linéaire qui repose sur la modélisation des propriétés de complexation de la MOD par une distribution discrète de ligands (en utilisant l'isotherme de Langmuir). La mise en évidence de l'influence de la MOD sur la biodisponibilité de cuivre sera réalisée grâce aux biotests de toxicité aiguë sur *Daphnia magna*.

II. Matériels et méthodes

Après la caractérisation de la MOD en première partie, l'objectif est maintenant d'étudier spécifiquement les interactions entre la MOD et le cuivre. Il s'agit de caractériser le rôle de la MOD sur la spéciation et la biodisponibilité du cuivre dans les milieux récepteurs sous forte pression urbaine.

II.1. CARACTERISATION DU ROLE DE LA MOD SUR LA SPECIATION DU CUIVRE

Pour caractériser ce rôle de la MOD sur la spéciation du cuivre, nous allons déterminer les paramètres de complexation des ligands de la MOD, d'une part les constantes d'affinité (K) et d'autre part la teneur en site complexant (S). Afin de répondre à cet objectif, des titrations des groupements complexants de la MOD sont effectuées, les résultats expérimentaux obtenus sont modélisés à l'aide de l'isotherme de Langmuir à deux ou trois sites.

II.1.1. PRETRAITEMENT DE LA MOD PAR UNE RESINE CHELATANTE

Dans un premier temps, étant donné que la MOD présente dans l'échantillon prélevé a sans doute une partie de ses sites complexants occupés par des métaux traces présents dans le milieu ou qui viennent de contamination lors du traitement au laboratoire de la MOD pour la caractériser, une décontamination préalable a été effectuée pour toutes les solutions de MOD avant de réaliser les titrations.

Cette décontamination est réalisée par la mise en contact de la MOD avec une résine chélatante qui complexe les cations métalliques (Ca^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} ...) pouvant masquer une partie des sites complexants.

Cette résine chélatante, la chelex 100, est un polymère sur lequel sont greffés des groupes iminodiacétate ($\text{IDA} = -\text{NH}^+(\text{CH}_2\text{CO}_2^-)_2$). Les fonctions IDA sont fortement complexantes et vont donc complexer les cations métalliques liés à la MOD.

Pour ce faire, une masse de 0.5 g de chelex 100, préalablement lavée avec de l'eau distillée afin d'éliminer les groupements IDA mal greffés, est ajoutée pour un volume de 50 ml de MOD destinée à être titrée et dont la concentration en COD est comprise entre 10 et 20 mgC/l. La solution est agitée pendant deux heures puis filtrée pour éliminer la résine.

Il est important que la résine ne libère pas de groupements fonctionnels IDA solubles. En effet dans le cas contraire, ces groupements passeraient au travers du filtre dans la solution à titrer et

biaiseraient bien entendu les valeurs des paramètres de complexation. Pour vérifier cela, des blancs constitués d'eau ultrapure ayant été mise au contact avec la résine lavée ont été titrés.

Pour mesurer l'efficacité de ce procédé, des expériences consistant à effectuer des titrages potentiométriques de MOD ayant subi ou non cette procédure de décontamination ont été réalisés. Les résultats seront présentés ultérieurement.

II.1.2. DISPOSITIF GENERAL DE DOSAGE

Afin d'étudier les paramètres de complexation de la MOD pour le cuivre, des titrations de la matière organique avec des ajouts croissants de cuivre ont été réalisés. La mesure de cuivre libre est réalisée à l'aide d'une électrode spécifique ionique (ESI).



Figure 65: Photographie du système de titration utilisé pour l'étude de la complexation du cuivre.

Le stand de titration de la MOD :

Deux appareillages sont utilisés conjointement dans les manipulations : un pH-stat permettant d'ajuster la valeur du pH de manière très précise et une électrode spécifique ionique (ESI) qui répond à la teneur en Cu^{2+} des solutions. La photographie du matériel utilisé est représentée sur la *Figure 65*.

- Le pH-stat comprend une électrode de pH combinée (Metrohm) reliée à un pH-mètre et trois burettes automatiques contenant respectivement une solution de NaOH à deux concentrations différentes ($5 \cdot 10^{-3}$ et $1 \cdot 10^{-1} \text{ mol.l}^{-1}$) et une solution de HNO_3 ($5 \cdot 10^{-2} \text{ mol.l}^{-1}$). Un titrateur automatique TITRINO 835 (TIAMO 1.2/ METROHM) permettant de piloter les trois burettes d'ajouts automatiques qui permet d'ajuster le pH à la valeur de consigne par des ajouts de base ou d'acide.

Un logiciel (Tiamo) permet de sélectionner la valeur désirée du pH et de piloter les burettes automatiques.

- Un potentiomètre 785 DMP Titrino (Metrohm), auquel sont reliées :
 - ✓ Une électrode ionique spécifique aux ions cuivriques (Cu-ESI Metrohm).
 - ✓ Une électrode de référence Ag(s)/AgCl(s)/KCl (3 mol/L) (Metrohm) isolée de la solution à titrer par un double pont salin rempli avec une solution de KNO₃
- Les ajouts de cuivre ont été faits manuellement par des micropipettes à l'aide de deux solutions de cuivre de concentrations 1.10^{-4} et 6.10^{-3} mol.l⁻¹ (solution préparée à partir d'une solution de cuivre à 1g/l dans HNO₃ 0,5M).

La titration se fait dans une cellule en PFA (Perfluoroalkoxyéthylène, volume d'échantillon de 20 à 200 ml).

Lors de la titration, après chaque ajout de cuivre, pour s'assurer que l'équilibre thermodynamique est atteint, les mesures de potentiel sont effectuées après un temps d'attente de 1500 s. Ces conditions ont permis de s'assurer que chaque mesure a été réalisée une fois l'équilibre atteint. Nous devons opérer dans des domaines de concentrations très faibles en métal et ligands correspondants. Il est donc nécessaire d'éliminer au mieux tout risque de contamination pouvant provenir de l'eau, des réactifs, de l'atmosphère (ex : CO₂), des contenants et divers matériels. Pour ce faire:

- Des contenants exclusivement en matériaux plastiques (polyéthylène (PE), polypropylène (PP), polytétrafluoroéthylène (PTFE)) sont utilisés. A la fin de la manipulation, la cellule servant pour la titration est rincée par l'eau ultrapure et est remplie par une solution d'acide nitrique 10% (Suprapur) toute la nuit.
- L'eau utilisée pour la préparation des solutions est une eau déionisée ultrapure (Elga® $\rho = 18,2M\Omega$).
- Les titrations cuivre-MOD ont été effectuées sous flux d'azote de qualité scientifique et sous agitation afin d'éliminer les carbonates initialement présents et d'assurer un équilibre rapide.
- L'électrode de pH est régulièrement calibrée par trois solutions tampons commerciales (pH 4 ; 7 et 9, METROHM).
- L'électrode ionique sélective cuivre a été préalablement polie manuellement à l'aide d'une poudre d'aluminium afin de minimiser les défauts de surface pouvant perturber la mesure.

II.1.3. CALIBRATION DE L'ELECTRODE SPECIFIQUE

La potentiométrie est une technique qui permet d'évaluer la teneur en cuivre libre. Le signal analytique mesuré est une différence de potentiel (ddp) entre l'électrode de travail (spécifique) et l'électrode de référence. Pour relier les potentiels aux concentrations en cuivre libre correspondantes il est indispensable, comme pour n'importe quelle mesure, de calibrer l'électrode spécifique. Afin de pouvoir étalonner l'électrode spécifique aux ions Cu^{2+} dans une très large gamme de valeurs d'activité de ces ions, deux solutions sont utilisées.

- Calibration en matrice minérale :

Une calibration a été réalisée en milieu minéral acidifié fixé à pH 3 à l'aide du pH-stat par une solution d'acide nitrique diluée de concentration 0.01 mol.l^{-1} . Un volume de 50 ml d'une solution de NaNO_3 ou KNO_3 à $10^{-1} \text{ mol.l}^{-1}$ a été placé dans la cellule permettant de tamponner la force ionique, puis des ajouts manuels de cuivre (deux solutions de CuNO_3 de concentration 1.10^{-4} et $6.10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$) ont été réalisés. Les mesures de potentiels donnent après équilibration : $ddp = E(ESI) - E(réf)$

Le logiciel Visual MINTEQ permet pour ces conditions expérimentales, le calcul du coefficient d'activité γCu^{2+} , de l'activité (Cu^{2+}) et de pCu.

Toutefois, en matrice minérale, sans complexant du cuivre en solution, il est difficile de pouvoir travailler à des concentrations inférieures à $10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$ en cuivre libre en raison des contaminations en cuivre qui peuvent être apportées par le système (ensemble des électrodes + cellule + burettes d'ajouts). Or lors de la titration de la MOD, en raison de la présence des ligands, l'activité du cuivre libre en solution est, en début de titration en tout cas, largement inférieure à cette valeur. Afin d'éviter d'utiliser une gamme de calibration inadaptée (et donc de travailler « hors gamme »), une calibration en matrice organique a été réalisée afin de disposer d'une gamme de calibration pour les faibles activités du cuivre.

- Calibration en milieu organique : NTA (acide nitrilotriacétique)

La calibration en présence d'un complexant organique (NTA) a été réalisée de façon à obtenir une courbe de calibration pour les très faibles activités de cuivre (entre $10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$ et $10^{-13} \text{ mol.l}^{-1}$).

La solution (50 ml) contient toujours NaNO_3 ou KNO_3 à $10^{-1} \text{ mol.l}^{-1}$. On introduit NTA à $10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ et $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ à $10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$. Nous faisons varier la concentration en cuivre libre en faisant varier le pH (2 à 11). Les concentrations en cuivre libre sont obtenues par modélisation (logiciel Visual MINTEQ) permettant d'établir une régression linéaire du potentiel en fonction du logarithme de la concentration en cuivre libre. Cette méthode permet de s'affranchir totalement des contaminations initiales en cuivre (de l'ordre de $10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$) très faibles par rapport à la concentration de cuivre apportée ($10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$). De plus la forte complexation du cuivre par le NTA (surtout à pH élevé) nous permet de mesurer des potentiels dans une gamme de très faible activité du cuivre.

Puisque par la suite nous serons amenées à mesurer des valeurs de pCu allant de fortes à faibles valeurs, nous avons décidé d'établir une calibration globale en mettant « bout à bout » les étalons résultant des deux matrices minérales et organiques (voir *Annexe 3*).

II.1.4. TITRATION DE LA MOD ET DETERMINATION DES PARAMETRES DE COMPLEXATION

Titration de la MOD

La titration de la MOD a été réalisée à pH 8 afin de se trouver au plus près des conditions environnementales et à une force ionique de 0,1M. Les constantes de complexation obtenues sont des constantes conditionnelles qui dépendent des conditions expérimentales.

Une solution de 50 ml de MOD (entre 10 et 20 mgC.l⁻¹) et de KNO₃ (0,1 mol.l⁻¹) a été ajustée à pH 8 (et maintenue pendant toute la durée de la titration) à l'aide du pH-stat. Avant le premier ajout de cuivre, la solution est ajustée et maintenue au pH désiré pendant une heure afin d'assurer l'équilibre de la MOD dans les conditions de pH et de force ionique étudiés. Les ions Cu²⁺ sont ajoutés progressivement à partir des solutions de Cu(NO₃)₂ (10⁻⁴ et 6.10⁻³ mol.l⁻¹) légèrement acidifiées (pH~3) par HNO₃. Ces ajouts sont réalisés manuellement. Après chaque ajout, le pH est stabilisé pendant 25 minutes, temps d'attente nécessaire pour assurer l'atteinte d'un équilibre de complexation entre le cuivre et la MOD déjà démontré dans diverses études (Bruland, 1992; Violleau, 1999; Pinheiro *et al.*, 2000; Milne *et al.*, 2001; Companys, 2003; Croue *et al.*, 2003; Garnier, 2004; Christl *et al.*, 2005). Le potentiel est ensuite mesuré.

Traitement des données expérimentales obtenues :

Les données expérimentales issues des titrations avec le cuivre à pH 8 et à la force ionique de 0.1 M ont été traitées avec le code de spéciation Visual MINTEQ (Visual Minteq version 2.40b, (Gustafsson *et al.*, 2003)). La détermination expérimentale du cuivre libre nous permet ensuite grâce au code de spéciation de déterminer la totalité du cuivre lié aux ligands minéraux. Les ligands minéraux considérés sont les hydroxydes, les nitrates (sels de fond) et les chlorures (provenant de l'acidification de la MOD lors du fractionnement si on travaille sur un échantillon fractionné). Une fois connues les concentrations de cuivre libre (M) et lié aux ligands minéraux, la concentration du cuivre lié aux ligands organiques (ML) est obtenue par différence entre la concentration en cuivre total

ajoutée et la concentration en cuivre « minéral » (libre ou lié aux ligands inorganiques). Pour chaque ajout de la titration, nous obtenons donc un couple (M, ML).

Les paramètres de complexation sont ensuite déterminés grâce à l'ajustement de la courbe expérimentale ($ML = f(M)$) par l'isotherme de Langmuir (Sposito, 1994; Lu and Allen, 2002; Anirudhan and Suchithra, 2010).

• *L'isotherme de Langmuir :*

Ce modèle de sorption (Langmuir, 1918) décrit les interactions entre le soluté considéré, ici le cuivre, et l'adsorbant, ici la matière organique dissoute MOD. Il est fondé sur les hypothèses réactionnelles suivantes :

1. la MOD est supposée présenter une capacité maximale d'adsorption S_{\max}
2. Chaque site retient un ion cuivre et un seul
3. Tous les sites sont supposés être énergétiquement et stériquement indépendants de la quantité de cuivre fixée

La réaction suivante est alors considérée entre le métal et le ligand présent sur la MOD :



La loi d'action de masse appliquée à cet équilibre en considérant i ligands conduit à l'Équation 5 suivante :

$$ML = \sum_i \frac{K_i S_{i\max} M}{1 + K_i M} \quad \text{Équation 5}$$

Avec :

i correspond aux types de ligands présents ($i=1, 2, 3, \dots$)

ML la concentration en métal lié à un ligand organique

M la concentration en métal libre

$S_{i\max}$ et K_i sont respectivement le nombre de site maximal d'adsorption et la constante de complexation du ligand i .

L'ajustement des données expérimentales (généralement une quinzaine de couples ML ; M) par l'Équation 5 selon une régression non linéaire permet de déterminer les paramètres de complexation $S_{i\max}$ et K_i . L'ajustement est réalisé à l'aide du logiciel Sigma Plot 11 (*Jandel Scientific*).

Afin de valider la méthode de détermination des paramètres de complexation, un test de répétabilité a été réalisé sur un échantillon de MOD, titré en triplicat à trois dates différentes. La MOD en question est l'acide fulvique standard (SRFA 2S101F) obtenue auprès de l'IHSS.

II.1.5. LES SITES D'ETUDE

Pour cette étude de l'interaction de la matière organique avec le cuivre, les objectifs sont de comparer les paramètres de complexation des différentes sources de MOD, de caractériser l'évolution spatio-temporelle des paramètres de complexation de la MOD dans le milieu récepteur tout cela en lien avec les caractéristiques physico-chimiques de la MOD étudiée dans la première partie. Pour réaliser ces objectifs nous avons caractérisé les interactions entre le cuivre et la MOD provenant :

- Des rejets urbains de temps de pluie (3 événements différents fractionnés).
- Des rejets de temps sec :
 - Variabilité intra-station : comparer les paramètres de complexation pour différentes campagnes effectuées pour la STEP Seine-Aval (dont deux échantillons ont été fractionnés).
 - Variabilité inter-station : comparer les paramètres de complexation de la MOD provenant des cinq STEP, Seine-Amont, Seine-Centre, Seine-Aval, Seine-Grésillons et Marne-Aval.
- Du milieu récepteur : afin de mettre en évidence l'impact des rejets urbains sur le milieu récepteur, nous allons caractériser la MOD présente dans les sites suivants :
 - Ussy-sur-Marne, Fontaine-le-port : sites amont de l'agglomération parisienne provenant respectivement de la Marne et de la Seine.
 - Andrésy : site aval de l'agglomération, impacté par l'urbanisation.
 - Conflans-Fin d'Oise : site situé à la fin de l'Oise et n'a aucun effet de la Seine.

Outre la variation spatiale, nous voulons caractériser la variation temporelle en termes de complexation de ces quatre sites du milieu récepteur. Pour cela, on choisit cinq campagnes dont deux correspondent à une période de hautes eaux (nov.-10 et janv.-11) et trois correspondent à une période de basses eaux (mars-11, juin-11 et sept.-11).

Les caractéristiques de ces sites d'étude sont détaillées précédemment dans la partie A (§ II.2, p.71).

II.2. BIOTEST DE TOXICITE

Les biotests de toxicité aigüe ont été effectués au sein de l'équipe EXPER de l'unité de recherche « hydrosystèmes et bioprocédés » de l'IRSTEA anciennement 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 de la matière organique à tester (Tusseau-Vuillemin *et al.*, 2004). Le résultat est exprimé par une EC50, c'est-à-dire la concentration en cuivre qui provoque l'immobilisation de 50 % de la population. L'espèce utilisée est *Daphnia magna* (crustacé) (Figure 66). L'utilisation de *Daphnia magna* pour les tests écotoxicologiques présente de nombreux avantages. L'élevage est relativement facile, la production de jeunes est régulière et assez élevée, la reproduction est parthénogénétique assurant une population stable génétiquement (Peters and De Bernardi, 1987).

De plus, sa distribution planétaire et son rôle dans l'écosystème aquatique (consommateur primaire, intermédiaire entre les algues et les poissons) en font un indicateur intéressant de l'impact potentiel d'un polluant sur l'environnement.



Figure 66: *Daphnia Magna* (Strauss).

II.2.1. CONDITIONS DE CULTURE

Le clone utilisé pour les tests, *Daphnia magna* Straus, est conservé dans de l'eau minérale Volvic dont la composition est présentée dans le *Tableau 14*. Les cultures se font dans une chambre climatisée ($21 \pm 1^\circ\text{C}$), sous un flux de lumière homogène d'environ 600 lux (Philips TLD-84, blanc froid) avec un cycle jour/nuit de 16h/8h. Chaque mois, une nouvelle culture est débutée avec des nouveau-nés placés dans des bocaux en verre stérilisés contenant 2 l de milieu sous conditions (pH: 8.2, conductivité: $610 \mu\text{S/cm}$, dureté totale: 2.5 mmol/l , l'oxygène dissous doit être maintenu à une valeur égale ou supérieure à 60% de saturation) (Elendt and Bias, 1990). Les daphnies sont nourries quotidiennement avec des algues (*Selenastrum capricornutum*) (5 ml d'algues pour 2 l du milieu). Trois fois par semaine, le milieu est complètement renouvelé. Les daphnies sont alors transférées dans ce nouveau milieu à l'aide d'un compte-goutte, méthode moins stressante que le tamisage. Dans ces conditions dites optimales, leur reproduction est asexuée, c'est-à-dire que les femelles se reproduisent par parthénogenèse en donnant naissance à des organismes-filles génétiquement identiques.

PARTIE B

Composition en mg.l ⁻¹	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺	SO ₄ ²⁻	HCO ₃ ⁻	NO ₃ ⁻	Cl ⁻	SiO ₂	F ⁻
	11.5	8	11.6	6.2	8.1	71	6.3	13.5	31.7	0.22
pH	7									
Température de l'eau au puisage (°C)	8									

Tableau 14: Composition chimique de l'eau Volvic.

- Le jour du test (*Figure 67*) : 90 daphnies sont nécessaires pour réaliser le test. Pour les récupérer, la procédure est la suivante :

Le contenu du flacon de deux litres est passé sur deux filtres successivement, le premier retient les grandes daphnies lesquelles sont mises dans un nouveau milieu de culture où on ajoute 5 ml d'algues et sont conservées à 21°C. Ensuite le filtrat est passé sur un deuxième filtre plus fin et là les nouveaux-nés sont récupérés et remis en suspension avec de l'eau Volvic qui sont par la suite triées par un compte-goutte afin de les utiliser pour les tests.

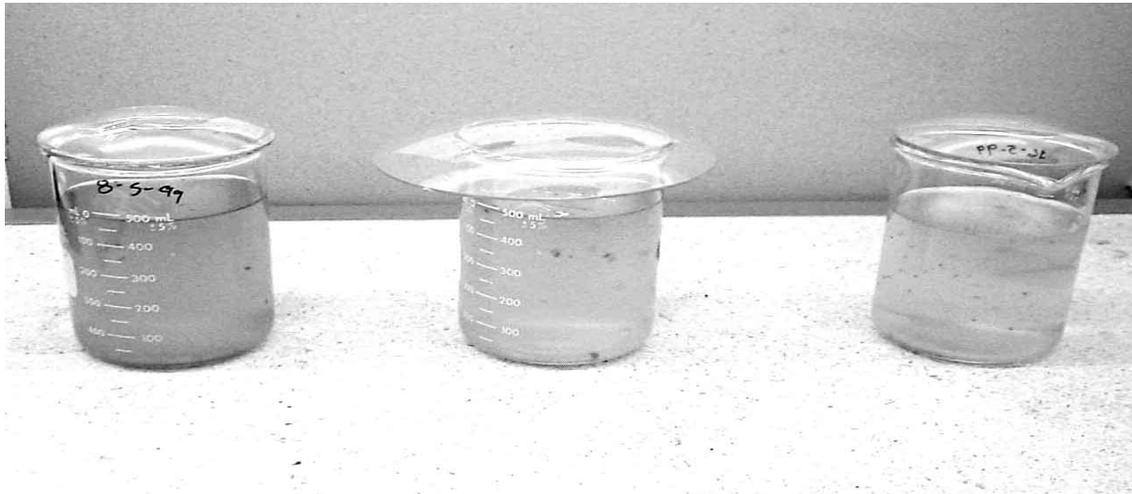


Figure 67: Cultures de daphnies.

II.2.2. CONDITIONS DU BIOTEST

Les milieux expérimentaux sont réalisés dans de l'eau Volvic. Cette eau a été choisie pour sa faible minéralisation influençant donc peu l'effet du métal sur l'organisme vivant. Deux types de milieux ont été réalisés, (i) milieu inorganique constitué par l'eau Volvic et (ii) milieu organique composé par l'échantillon de MOD à tester dilué par de l'eau Volvic de façon à obtenir une concentration en carbone organique dissous de 2 mgC.l⁻¹. Pour chaque milieu, cinq solutions de cuivre

et un contrôle (*Tableau 15*) sont préparés les concentrations de cuivre varient de 0 à 1000 $\mu\text{g.l}^{-1}$. Ces tests nous permettent de déterminer l'EC50 après 24h selon la norme NF EN ISO 6341.

Matrices	Concentrations en cuivre total ($\mu\text{g.l}^{-1}$)					
Inorganique : Eau minérale Volvic	0	20	40	80	150	300
Organique : Eau minérale Volvic + MOD (2 mgC.l⁻¹)	0	50	100	250	500	1000

Tableau 15: Matrices des tests écotoxicologiques et concentrations en cuivre total testées.

Les milieux expérimentaux contaminés en cuivre sont utilisés pour remplir 3 tubes de 15 ml, destinés à recevoir les daphnies. Les triplicats permettent de tenir compte de la variabilité biologique. Afin de limiter l'adsorption du cuivre sur les parois du flacon en verre durant le biotest, les parois doivent avoir été préalablement équilibrées avec une solution similaire. L'ensemble des tubes est mis à équilibrer pendant une nuit à 22 °C. Cinq daphnies, les nouveaux-nés (âgées de moins de 24 h), sont alors ajoutées dans chacun des tubes placés dans une enceinte thermostatée à 21°C et le nombre d'organismes immobilisés est comptabilisé 24 h après le début du biotest. Des mesures en début et fin de biotest, du pH et de la concentration en cuivre total dissous, ne révèlent aucune évolution du milieu (pH 8 et concentrations en cuivre constantes), ce qui met en évidence l'homogénéité des conditions d'exposition des daphnies. Le pH 8 a été choisi pour être proche des conditions environnementales.

Les courbes doses-réponses et la concentration toxique pour 50 % de la population (EC50) sont obtenues par un ajustement non linéaire des données expérimentales à l'aide du modèle logistique REGTOX (basé sur des simulations de Monte-Carlo, E. Vindimian, disponible à l'adresse <http://eric.vindimian.9online.fr>) avec un intervalle de confiance à 95 % (Isnard et al., 2001). Les contrôles (milieu sans ajout de cuivre) n'ont montré aucune toxicité des MOD envers les daphnies.

II.2.3. LES SITES D'ETUDE

Dans l'étude de l'influence de la MOD sur la biodisponibilité du cuivre vis-à-vis de *Daphnia magna*, on compare l'effet des différents types de MOD. Pour ce faire, on prend des échantillons provenant de :

- Rejets urbains de temps de pluie (3 événements différents pour mettre en évidence l'effet de leur diversité dont deux avec leurs fractions organiques)
- STEP Seine-Aval (un échantillon avec ses fractions organiques)

PARTIE B

- Milieu récepteur : afin de mettre en évidence l'impact des rejets urbains sur le milieu récepteur, on prend aussi des échantillons prélevés pendant la campagne effectuée en septembre 2011 des quatre sites :
 - Ussy-sur-Marne, Fontaine-le-port : sites amont de l'agglomération parisienne provenant respectivement de la Marne et de la Seine
 - Andrésy : site aval de l'agglomération, impacté par l'urbanisation
 - Conflans-Fin d'Oise : site situé à la fin de l'Oise et n'a aucun effet de la Seine.

Les caractéristiques de ces sites d'étude sont détaillées précédemment dans la partie A au paragraphe *II.2.*

III. Résultats et discussions

III.1. INTERACTION MATIERE ORGANIQUE _ CUIVRE

Les *Figure 68* et *Figure 69* donnent un exemple des résultats des titrations obtenus pour un échantillon de MOD ainsi que leur description par l'isotherme de sorption de Langmuir. Pour l'ensemble des résultats, les données expérimentales sont correctement ajustées par le modèle avec deux ou trois ligands (R^2 varie entre 0.8 et 0.95). L'ajustement non linéaire est réalisé à l'aide du logiciel SigmaPlot 11. Les valeurs initiales des paramètres de complexation (constantes et teneurs en site) viennent d'un ajustement manuel. Les courbes des données expérimentales et modélisées obtenues sont superposées comme le montre la *Figure 69*. Les points expérimentaux de tout début et de la toute fin de la titration, qui correspondent à des zones de très faible pente, n'ont pas été pris en compte pour l'ajustement des données. Le premier palier obtenu au début de la titration s'explique par le fait que les ajouts de cuivre au début de la titration sont trop faibles par rapport à la quantité déjà présente en solution (contamination résiduelle). Le second palier obtenu en fin de titration, c'est-à-dire aux fortes concentrations de cuivre ajoutées est probablement dû à la précipitation des complexes d'hydroxydes de cuivre (hypothèse vérifiée avec le logiciel de spéciation Visual Minteq).

Dans la suite des résultats, les paramètres de complexation (teneurs en sites et constantes de complexation) des différents types de MOD sont présentés.

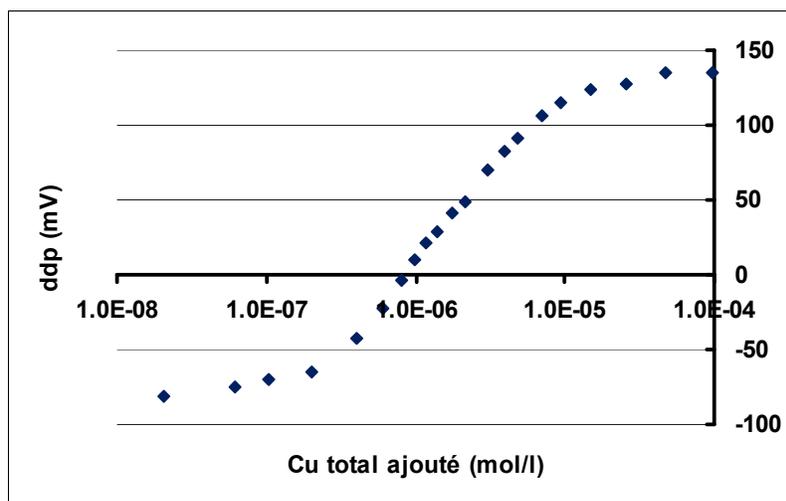


Figure 68: Représentation d'une courbe de titration d'un échantillon de MOD de la STEP Seine-Aval.

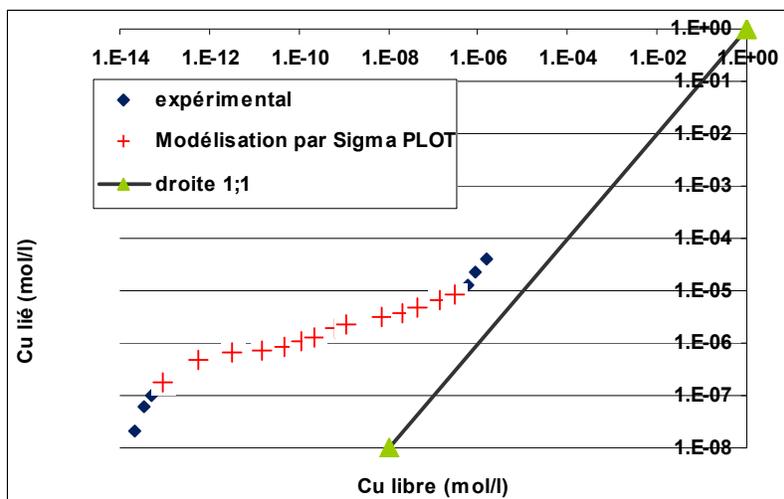


Figure 69: Représentation du cuivre lié à la MOD de la STEP Seine-Aval en fonction du cuivre libre : Comparaison entre les données expérimentales et modélisées par l'ajustement non linéaire.

Rappelons que toutes les titrations de la MOD par le cuivre ont été effectuées à pH 8 et à une force ionique de 0,1 M. En conséquence, les paramètres de complexation présentés ici sont des paramètres conditionnels.

Répétabilité de la méthode de détermination des paramètres de complexation :

Le *Tableau 16* présente les paramètres de complexation obtenus expérimentalement pour la matière organique de référence SRFA qui a été titrée en triplicat à une concentration 20 mgC/l. Les résultats obtenus montrent des constantes de complexation variantes entre 6.8 et 8.5 et entre 10 et 11.5 respectivement pour $\log K_1$ et $\log K_2$. La variation des nombres de sites est légèrement plus faible, validant ainsi la méthodologie employée aussi bien pour la titration de la MOD-Cu que pour la modélisation non linéaire des données expérimentales.

D'autre part, en comparant avec la littérature ces paramètres obtenus à la force ionique de 0.1 M et à un pH égal à 8 lors de la titration de SRFA, on trouve qu'ils sont cohérents avec ceux trouvés dans l'étude de (Lu and Allen, 2002) (*Tableau 16*). Notons que pour cette MOD de référence SRFA ainsi que pour toutes les MOD qui vont être présentées ultérieurement, les teneurs en sites d'affinité faible (S_1) sont classiquement plus importantes que celles d'affinité forte (S_2).

SRFA		log K2 l/mol	S2 mol/kg C	log K1 l/mol	S1 mol/kg C
Triplicat (notre étude)					
A	σ	10.0 0.12	2.9E-01 4.5E-02	6.8 0.30	2.6E+00 1.0E+00
B	σ	11.0 0.10	2.7E-01 3.3E-02	7.9 0.24	1.6E+00 3.4E-01
C	σ	11.5 0.10	3.1E-01 4.2E-02	8.5 0.27	2.2E+00 5.9E-01
Moyenne	σ	10.8 0.75	2.9E-01 2.0E-02	7.7 0.87	2.1E+00 5.3E-01
Etude de Lu et Allen, 2002		9.6 - 12	[7.0E-02 ; 3.0E-01]	6.8 - 8.5	[6.0E-01 ; 3.4E+00]

Tableau 16: Paramètres de complexation déterminés en triplicat pour l'échantillon de référence SRFA.

Prétraitement par une résine chélatante :

A part l'échantillon SRFA, toutes les MOD ont été préalablement décontaminées par mise en contact avec la résine chélatante, chelex 100, comme cela a été expliqué précédemment (II.1.1).

A titre de vérification et afin d'éliminer l'hypothèse d'un relargage de fonctions IDA par la résine chelex 100, « un blanc » a été titré en ajoutant du cuivre dans de l'eau (sans MOD) ayant été mise au contact avec la résine. La capacité complexante de ce blanc n'est pas différente de celle d'une eau ultrapure non mise en contact avec la chelex 100, c'est à dire négligeable. Ce résultat démontre qu'il n'y a pas de relargage de fonctions IDA lors de la décontamination de la MOD.

Afin d'illustrer l'efficacité de ce procédé de décontamination, les résultats des paramètres de complexation obtenus pour deux échantillons décontaminés ou non par la résine sont présentés (Tableau 17).

		log K3 l/mol	S3 mol/kg	log K2 l/mol	S2 mol/kg	log K1 l/mol	S1 mol/kg
SAV janv.11	Sans décont.	14.0	1.4E-02	10.6	6.5E-02	8.0	2.2E-01
	σ	0.82	1.6E-03	0.15	1.2E-02	1.77	3.8E-02
	Avec décont.	14.0	2.4E-02	10.9	7.6E-02	8.2	2.4E-01
	σ	0.38	3.6E-03	0.17	8.8E-03	0.19	3.3E-02
SAV mars 11	Sans décont.	12.8	2.1E-02	9.9	7.3E-02	7.4	3.1E-01
	σ	0.96	1.9E-03	0.18	1.8E-02	0.144	4.1E-02
	Avec décont.	13.0	3.1E-02	10.0	8.8E-02	7.4	3.3E-01
	σ	0.19	4.5E-03	0.27	1.9E-02	0.27	7.2E-02

Tableau 17: Paramètres de complexation de MOD décontaminée ou non par la résine chélatante (échantillons provenant de la STEP Seine-Aval SAV).

Après décontamination, une augmentation moyenne de la teneur en sites complexants de 7%, 15% et 35% respectivement pour S₁, S₂, S₃ a été mise en évidence. Cette tendance à l'augmentation de la teneur en sites d'affinité forte S₂ et S₃ est plus importante que celle de la teneur en sites d'affinité faible S₁.

III.1.1. COMPLEXATION DU CUIVRE PAR LA MOD PROVENANT DES REJETS URBAINS DE TEMPS SEC

Les paramètres de complexation obtenus pour la MOD contenue dans les rejets traités des cinq STEP qui ont été déjà caractérisés dans la première partie, sont présentés dans ce qui suit.

III.1.1.1. Paramètres de complexation pour les échantillons non fractionnés

En plus de la comparaison inter-STEP des paramètres de complexation qui sera présentée ultérieurement, nous comparons d'abord dans la STEP Seine-Aval la variabilité temporelle des paramètres de complexation des effluents. Notons que cette dernière, c.à.d. la variabilité temporelle, est très peu étudiée lors d'études de la complexation métaux-rejets urbains dans la littérature.

Variabilité temporelle des paramètres de complexation pour la STEP Seine-Aval :

Pour l'étude de cette variabilité temporelle, la STEP Seine-Aval a été choisie en raison du volume d'eaux usées qu'elle traite chaque jour ce qui en fait sans doute celle dont les rejets ont potentiellement le plus d'impact sur le milieu récepteur en termes de qualité et de quantité de MO comme cela a été démontré dans la partie précédente.

Les constantes d'affinité ainsi que les teneurs totales en sites complexants exprimées en moles de sites par kg de carbone organique mais aussi en moles de sites par litre d'échantillon (rejets traités) sont présentées dans le *Tableau 18*.

Il est important de noter que globalement ces rejets urbains présentent trois types de ligands (*Tableau 18*). Cela concorde avec la littérature (Muller, 1996; Kozelka and Bruland, 1998; Croue *et al.*, 2003; Sarathy and Allen, 2005) qui montre la présence des ligands plus forts dans les rejets urbains, associée ici aux sites S_3 . D'ailleurs, les constantes de complexation obtenues dans cette étude sont assez comparables à celles déterminées par (Sarathy and Allen, 2005) où elles présentent des valeurs de l'ordre de 7.9, 10.4 et 13.8 respectivement pour $\log K_1$, $\log K_2$ et $\log K_3$ dans les effluents des stations d'épuration. En fait, ces ligands forts sont attribués à des organophosphonates, hydroxycarboxylates, IDS (acide iminodisuccinique), acide gluconique, des groupements à base de sulfures (Knepper, 2003). Ils peuvent être liés à des structures protéiques, des groupements fonctionnels amines et amides présents dans la fraction hydrophile de la matière organique (Pernet-Coudrier *et al.*, 2011b). En plus, d'autres études ont montré aussi que des ligands non humiques peuvent expliquer une forte capacité complexante dans les rejets urbains (Sarathy and Allen, 2005; Pernet-Coudrier, 2008; Baken *et al.*, 2011).

D'autre part, nous pouvons remarquer que certaines campagnes de prélèvement de la STEP Seine-Aval présentent une similarité pour ces paramètres de complexation. C'est le cas par exemple de celles effectuées aux mois de janvier, février et mars, pour lesquelles les teneurs en sites complexants sont du même ordre de grandeur.

Ces paramètres sont différents pour les autres campagnes. Par rapport à la campagne de janvier, nous pouvons noter une augmentation des teneurs en sites (en mol/kgC) pour les deux campagnes d'avril et de mai respectivement d'un facteur de 1.5 et 3 pour les sites d'affinité faible (S_1) et d'un facteur de 4 à 5 pour les sites d'affinité forte (S_2). Cela pourrait être dû à l'augmentation de la proportion des substances non humiques (fraction transphilique (TPI) et hydrophile (HPI)) de 69% à 84% (du COD total) (*Tableau 18*). D'autre part, on note une augmentation du nombre de sites pour les effluents de mois de mai par rapport à ceux d'avril qui pourrait être due à l'augmentation de la fraction hydrophile de 45% en avril à 61% en mai. Cependant, nous n'avons pas pu mettre en évidence une corrélation significative entre la teneur en sites complexants (S_1 , S_2 et S_3) et la polarité de la MO (%HPO et % HPI) (*Figure 70*). Pourtant, il est possible que cette différence remarquée des paramètres de complexation entre les différentes campagnes soit due à des périodes de tests et d'optimisation dans la station Seine-Aval.

Résultats et discussions

STEP Seine-Aval (SAV)		log K3 l/mol	S3 mol/kg C	S3 mol/l	log K2 l/mol	S2 mol/kg C	S2 mol/l	log K1 l/mol	S1 mol/kg C	S1 mol/l	% HPO	% TPI	% HPI
janv-11	σ	14.0 0.38	2.4E-02 3.6E-03	3.26E-07 4.82E-08	10.9 0.17	7.6E-02 8.8E-03	1.02E-06 1.17E-07	8.2 0.19	2.4E-01 3.3E-02	3.18E-06 4.37E-07	31	28	41
févr-11	σ	12.6 0.10	3.4E-02 3.1E-03	5.61E-07 4.79E-08	9.2 0.20	1.1E-01 2.5E-02	1.86E-06 4.07E-07	6.8 0.42	4.1E-01 1.7E-01	6.66E-06 2.70E-06	24	25	51
mars-11	σ	13.0 0.19	3.1E-02 4.5E-03	3.49E-07 5.05E-08	10.0 0.27	8.8E-02 1.9E-02	9.95E-07 2.16E-07	7.4 0.27	3.3E-01 7.2E-02	3.72E-06 8.06E-07	23	26	51
avr-11	σ	12.3 0.17	1.0E-01 1.5E-02	1.75E-06 2.48E-07	9.6 0.31	2.7E-01 5.2E-02	4.54E-06 8.86E-07	6.7 0.16	3.3E-01 6.2E-02	5.72E-06 1.05E-06	16	39	45
mai-11	σ				11.5 0.09	3.2E-01 3.6E-02	2.78E-06 2.75E-07	8.2 0.26	6.5E-01 1.5E-01	5.60E-06 1.22E-06	16	23	61
juin-11	σ				10.8 0.03	2.4E-01 2.6E-02	2.43E-06 2.28E-07	7.2 0.16	6.5E-01 6.0E-02	6.54E-06 5.01E-07	30	25	45
nov-11	σ	12.7 0.19	9.2E-02 5.5E-01	1.18E-06 7.07E-06	9.7 0.18	2.1E-01 4.8E-02	2.67E-06 6.01E-07	6.9 0.08	9.6E-01 4.7E-01	1.23E-05 6.02E-06	26	28	46
Moyenne	σ	12.9 0.65	5.7E-02 3.7E-02	8.33E-07 6.17E-07	10.2 0.82	1.9E-01 9.7E-02	2.33E-06 1.22E-06	7.3 0.62	5.1E-01 2.6E-01	6.25E-06 2.98E-06	24±6	28±5	49±6

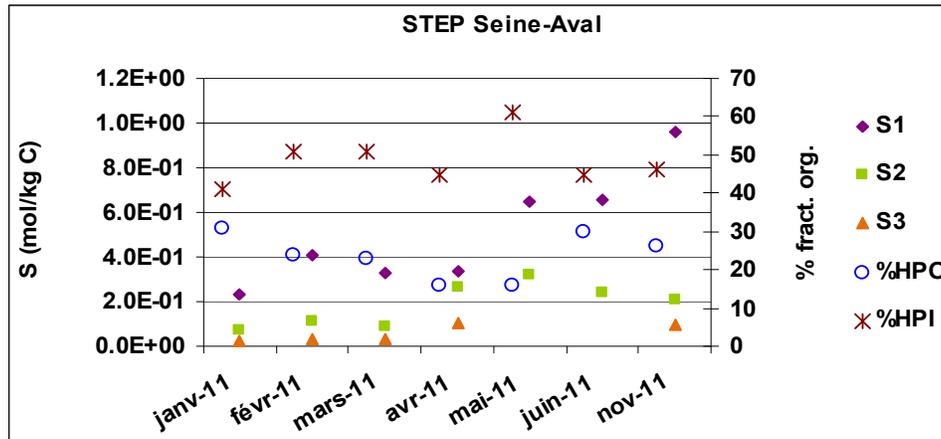


Tableau 18: Variation temporelle des teneurs en sites complexants pour les effluents de la STEP Seine-Aval.

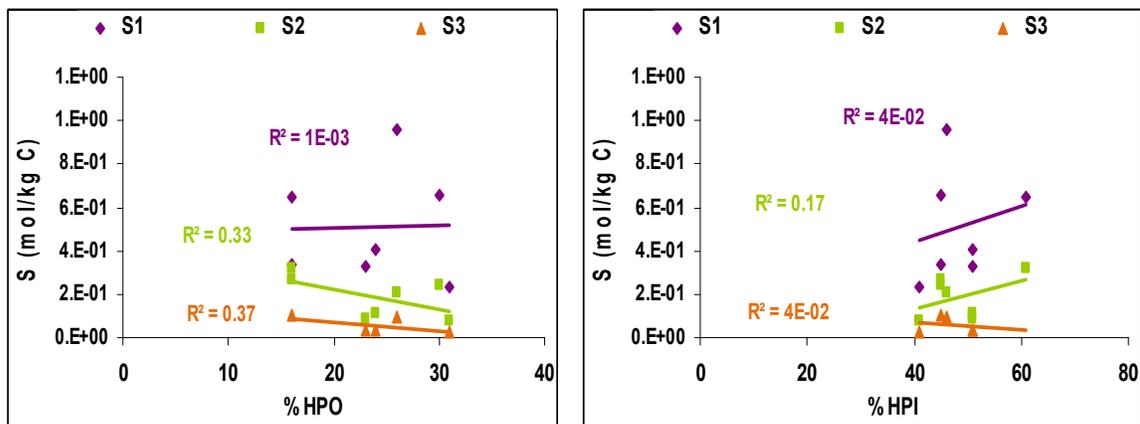


Figure 70: Corrélation entre les teneurs en sites complexants et le pourcentage des fractions organiques HPO et HPI.

Variabilité des paramètres de complexation entre les différentes stations d'épuration :

Les paramètres de complexation de la MOD contenue dans les effluents traités des autres STEP du SIAAP sont déterminés et vont nous permettre de comparer les effluents des différentes STEP en termes de complexation des métaux.

Concernant la STEP Seine-Centre (SEC), pour les deux prélèvements effectués, les résultats ont montré trois types de ligands, au contraire des effluents des STEP Seine Grésillons (SEG), Seine Amont (SAM) et Marne Aval (MAV) (*Tableau 19*). Cependant, pour ces dernières, nous observons des teneurs en sites complexants d'affinité faible et forte (S_1) et (S_2) ainsi que des constantes de complexation ($\log K_1$) et ($\log K_2$) globalement plus élevées que celles de l'effluent de Seine-Centre. Généralement, on peut dire que ces STEP sont comparables entre elles et aussi avec la STEP Seine-Aval (SAV) (*Tableau 18*). Cependant en exprimant la concentration de sites en mol/l d'échantillon, on remarque que l'effluent de la STEP Seine-Aval présente des concentrations plus élevées en sites complexants S_1 , S_2 et S_3 par rapport à celles contenues dans les effluents des autres STEP (*Figure 71*) (à l'exception de l'effluent de la STEP Marne-Aval qui est plus chargé en sites S_2). Ceci est lié aux concentrations élevées en COD dans la STEP Seine-Aval (*Figure 14*), mettant en évidence son rôle important en termes de source de ligands pour le milieu récepteur.

D'une manière générale, les effluents de ces cinq stations du SIAAP présentent les caractéristiques des effluents urbains : nombre élevé des sites complexants et présence parfois d'un troisième type de ligand plus fort. Les résultats obtenus sont cohérents avec la littérature (Pernet-Coudrier, 2008; Santos-Echeandia *et al.*, 2008; Sanchez-Marin *et al.*, 2010; Tushara Chaminda *et al.*, 2010) et notamment avec l'étude de (Santos-Echeandia *et al.*, 2008) qui a déterminé une gamme des sites d'affinité forte comprise entre $7.4 \cdot 10^{-8}$ et $2.2 \cdot 10^{-7}$ mol.l⁻¹ et celle des sites d'affinité faible entre $4 \cdot 10^{-7}$ et $5.4 \cdot 10^{-6}$ mol.l⁻¹. Les constantes d'affinité obtenues dans cette étude, en moyenne de 7.5, 10.5 et 13 respectivement pour $\log K_1$, $\log K_2$ et $\log K_3$, sont cohérentes avec d'autres travaux de la littérature (Muller, 1996; Town and Filella, 2000; Sarathy and Allen, 2005).

Notre étude a pu mettre en évidence d'une part que la nature du traitement ne joue pas un très grand rôle sur les propriétés complexantes de la MOD et d'autre part que la variabilité temporelle au sein de la même station est assez faible.

		log K3	S3	S3	log K2	S2	S2	log K1	S1	S1	% HPO	% TPI	% HPI
		l/mol	mol/kg C	mol/l	l/mol	mol/kg C	mol/l	l/mol	mol/kg C	mol/l			
SEC jan-11	σ	13.3	9.3E-03	5.74E-08	10.0	8.2E-02	5.08E-07	7.7	2.6E-01	1.61E-06	31	25	44
		0.21	1.3E-03	7.78E-09	0.04	3.0E-02	1.87E-07	0.19	5.0E-02	3.07E-07			
SEC fév-11	σ	13.3	2.2E-02	1.42E-07	10.0	1.8E-01	1.20E-06	7.7	1.8E-01	1.22E-06	25	23	52
		0.21	2.5E-03	1.64E-08	0.17	3.7E-02	2.44E-07	0.61	7.3E-02	4.84E-07			
SEG mars-11	σ				11.6	4.5E-02	3.45E-07	8.6	3.2E-01	2.42E-06	22	28	50
					0.22	8.0E-03	6.01E-08	0.24	6.6E-02	4.94E-07			
SEG mai-11	σ				11.5	3.2E-01	2.13E-06	7.9	9.3E-01	6.15E-06	17	23	60
					0.10	3.4E-02	1.97E-07	0.15	1.3E-01	7.85E-07			
SAM juin-11	σ				11.3	2.8E-01	1.72E-06	8.1	5.3E-01	3.21E-06	26	18	56
					0.11	3.8E-02	2.13E-07	0.25	7.9E-02	4.56E-07			
MAV nov-11	σ				10.7	4.4E-01	3.98E-06	7.6	6.3E-01	5.71E-06	19	23	58
					0.05	2.8E-02	1.65E-07	0.13	6.7E-02	5.34E-07			

Tableau 19: Comparaison des paramètres de complexation entre les différentes STEP.

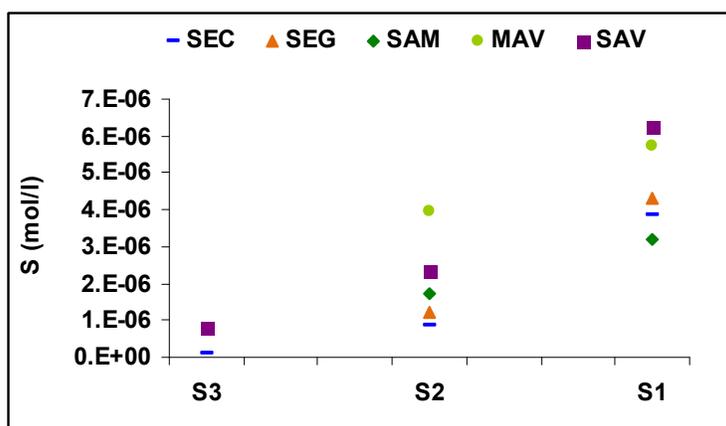


Figure 71: Concentrations en sites complexants exprimées en mol/l d'échantillon pour les cinq rejets de STEP.

III.1.1.2. Paramètres de complexation pour les échantillons fractionnés

Afin de comparer la capacité complexante de chaque fraction de la matière organique provenant des rejets urbains des stations d'épuration, les sorties des résines collectées lors du fractionnement de la MOD de Seine-Aval des campagnes d'avril et juin 2011 ont été titrées. Les paramètres de complexation déterminés à la sortie de chaque résine sont présentés dans le *Tableau 20*. Globalement, nous constatons logiquement une diminution de la concentration de sites (en mol/l) chaque fois qu'une fraction organique est retenue par une résine aussi bien pour la campagne d'avril que celle de juin. Toutefois pour l'effluent contenant la fraction hydrophile acide et neutre (HPI-A + HPI-N) de la campagne de juin, en sortie de résine AGMP-50, on note une augmentation de la

concentration de site S_2 de $8.4 \cdot 10^{-6}$ à $1 \cdot 10^{-5}$ mol.l⁻¹. Ce résultat aberrant est peut être dû à une contamination lors de la titration.

A partir de la quantité de sites (S_1 , S_2 et S_3) qui est déterminée par titration à chaque sortie de résine ainsi que du pourcentage de la MO retenue sur la résine, nous avons calculé la teneur en sites exprimée en mol/kg de carbone de chaque fraction organique (*Tableau 21*) et nous avons établi un bilan des sites complexants portés par les différentes fractions (*Tableau 22*). Nous notons que les substances non humiques, qui correspondent aux fractions transphilique (TPI) et hydrophile (HPI) et qui sont prédominantes dans les effluents de la STEP Seine-Aval représentent 72 et 75% du nombre total des sites complexants de cuivre (*Tableau 22*). A elle seule la fraction hydrophile (HPI) peut contenir entre 42 et 44% du total des sites fixateurs du cuivre. La fraction hydrophobe (HPO), qui correspond aux substances humiques et qui est minoritaire dans les effluents urbains, contient entre 25 et 28% du nombre total de sites complexants. Notons qu'au mois d'avril, elle complexe plus que ce qu'elle représente en termes de COD, elle ne représente que 16% du COD et 25% des sites de fixation.

Ces résultats sont cohérents avec la littérature, quelques études ont montré que les substances non humiques globalement (Sarathy and Allen, 2005; Pernet-Coudrier, 2008; Baken *et al.*, 2011; Muresan *et al.*, 2011), et la fraction hydrophile plus particulièrement (Muresan *et al.*, 2011; Pernet-Coudrier *et al.*, 2011a), jouent un rôle prépondérant dans la complexation des métaux.

Si l'on considère chaque type de site à part, nous observons que la fraction hydrophobe (HPO) représente un faible pourcentage des sites d'affinité faible (entre 19 et 31% du total de S_1 pour les deux campagnes) et plus faible encore pour les sites d'affinité forte (entre 18 et 22% du total de S_2). Concernant les sites d'affinité très forte (S_3), la fraction HPO représente la majorité des sites S_3 (64% du total) pour la campagne d'avril alors qu'elle n'en contient pas en juin.

D'autre part, on remarque que les constantes d'affinité $\log K_1$, $\log K_2$ et $\log K_3$ de l'échantillon composé de la totalité des fractions organiques (HPO+TPI+HPI), sont du même ordre de grandeur voire légèrement inférieures que celles obtenues pour les échantillons qui contiennent seulement les deux fractions transphilique (TPI) et hydrophile (HPI) et que celles qui contiennent seulement la fraction HPI (*Tableau 20*). Ce qui montre la forte affinité complexante des substances non humiques et plus particulièrement de la fraction hydrophile vis-à-vis de la complexation des métaux et conforte ainsi les résultats déjà obtenus.

En outre, il est important de noter que cette capacité complexante de la MO HPI est mise en évidence de deux façons différentes : les teneurs en sites d'affinité forte, S_2 et S_3 , dans la MO HPI sont plus élevées que celles de MO HPO pour l'échantillon du mois de juin alors que c'est la teneur en sites d'affinité faible, S_1 , dans la MO HPI qui est plus élevée que celle déterminée pour la MO HPO pour l'échantillon du mois d'avril (*Tableau 21*). Finalement on peut dire que la capacité complexante de la MOD HPI peut être mise en évidence par sa teneur élevée en sites que ce soit ceux d'affinité faible ou forte.

L'affinité complexante élevée des fractions HPI peut être attribuée à l'abondance de structures protéiques qui ont été mises en évidence précédemment dans la partie A lors de caractérisation de la MOD (spectrofluorescence (§III.2.3.b)). D'autres études ont également montrées que les structures protéiques et plus particulièrement les groupements amines, jouaient un rôle important vis-à-vis des métaux (Fukushi *et al.*, 2001; Croue *et al.*, 2003; Ahearn *et al.*, 2004) comme par exemple les protéines issues de résidus de parois cellulaires bactériennes (Plette *et al.*, 1995), de boues d'épuration traitées ou non (Da Silva *et al.*, 1998; Esteves da Silva and Oliveira, 2002).

Concernant les sous-fractions de la MO hydrophile (*Tableau 22*), nous observons qu'une importante capacité complexante est associée à la fraction hydrophile basique. En effet, elle ne dépasse pas 10% de la fraction hydrophile totale mais elle contribue de 10 à 34% au total de sites complexants dans la MO hydrophile. Cette tendance est également observée en examinant séparément chaque type de site, particulièrement au mois d'avril alors qu'au mois de juin des valeurs aberrantes ont été signalées. Cette tendance peut être due à l'abondance des groupements fonctionnels azotés composant la fraction basique : sucres aminés, pyrimidines, purines, acides aminés, peptides, protéines et amines de faible masse moléculaire (*Tableau 1*). Parmi toutes les fractions organiques et les sous-fractions hydrophiles (*Tableau 21*), la fraction hydrophile basique est celle qui présente les teneurs les plus élevées en sites complexants que ce soit pour S₁, S₂ ou S₃, confirmant ainsi son importance vis-à-vis de la complexation des métaux.

PARTIE B

STEP Seine-Aval avril-11	log K3 l/mol	S3 mol/l	log K2 l/mol	S2 mol/l	log K1 l/mol	S1 mol/l
HPO+TPI+HPI	13.0	7.5E-06	10.3	3.0E-05	7.7	2.9E-05
TPI+HPI	13.7	2.7E-06	10.0	2.4E-05	7.3	2.4E-05
HPI	14.3	2.3E-06	11.0	9.4E-06	8.5	1.7E-05
HPI-A + HPI-N	13.8	1.2E-06	11.6	4.2E-06	9.5	1.4E-05
HPI-N			11.3	1.5E-06	9.0	5.1E-06
σ	0.081	8.6E-07	0.185	4.4E-06	0.675	8.1E-06
	0.128	5.8E-07	0.059	9.9E-06	0.025	2.8E-06
	0.137	2.4E-07	0.230	1.7E-06	0.297	3.4E-06
	0.204	2.3E-07	0.293	1.3E-06	0.258	2.6E-06
			0.378	5.0E-07	0.332	8.1E-07

STEP Seine-Aval juin-11	log K3 l/mol	S3 mol/l	log K2 l/mol	S2 mol/l	log K1 l/mol	S1 mol/l
HPO+TPI+HPI			10.8	1.3E-05	7.2	3.5E-05
TPI+HPI			11.0	1.1E-05	8.3	2.4E-05
HPI	13.0	1.9E-06	10.0	8.4E-06	7.5	1.2E-05
HPI-A + HPI-N			10.0	1.0E-05	7.6	8.1E-06
HPI-N			10.0	4.2E-06	8.4	7.5E-06
σ			0.026	1.4E-06	0.163	3.3E-06
			0.060	9.8E-07	0.086	1.8E-06
	0.169	9.7E-07	0.080	6.5E-07	0.023	2.1E-06
			0.237	2.8E-06	0.088	3.6E-06
			0.172	1.2E-06	0.034	1.4E-06

Zone hachurée: pas de sites

Tableau 20: Paramètres de complexation déterminés au cours de fractionnement de la MOD provenant de la STEP Seine-Aval (haut: avril-11, bas: juin-11).

STEP Seine-Aval/ avr-11	S3 mol/kg C	S2 mol/kg C	S1 mol/kg C	STEP Seine-Aval/ juin-11	S3 mol/kg C	S2 mol/kg C	S1 mol/kg C
HPO	2.5E-01	3.4E-01	2.9E-01	HPO		1.5E-01	7.1E-01
TPI	7.9E-03	2.9E-01	1.3E-01	TPI		1.8E-01	9.1E-01
HPI	4.1E-02	1.7E-01	3.1E-01	HPI	7.6E-02	3.4E-01	4.8E-01
HPI-B	3.1E-01	1.4E+00	9.5E-01	HPI-B		*	4.1E+00
HPI-A	5.0E-02	1.1E-01	3.7E-01	HPI-A		*	4.4E-02
HPI-N		5.3E-02	1.8E-01	HPI-N		3.7E-01	6.6E-01

Zone hachurée: pas de sites

Zone hachurée: pas de sites

* : valeur aberrante

Tableau 21: Teneur en sites complexants exprimée en mol par kg de carbone de chaque fraction organique de la MOD provenant des effluents de la STEP Seine-Aval.

STEP Seine-Aval		% COD	% sites de fixation de Cu				Conductivité µS/cm	COD mgC/l
Date de campagne			S3	S2	S1	Σ Sites		
avr.-11	HPO	16	64	22	19	25	1180	17
	TPI	39	5	47	22	31		
	HPI	45	31	31	59	44		
juin-11	HPO	29		18	31	28	1150	10
	TPI	25		18	35	30		
	HPI	46	100	64	34	42		

STEP Seine-Aval		% COD HPI	% sites de fixation de Cu				Conductivité µS/cm	COD mgC/l
Date de campagne			S3	S2	S1	Σ Sites		
avr.-11	HPI-basique	7	48	55	20	34	1180	17
	HPI-acide	42	52	29	51	44		
	HPI-neutre	51		16	29	23		
juin-11	HPI-basique	4		*	32	10	1150	10
	HPI-acide	50		*	5	32		
	HPI-neutre	46		50	63	58		

Zone hachurée: pas de sites

* : valeur aberrante

Tableau 22: Pourcentage en sites complexants de chaque fraction organique (en haut) et des sous-fractions hydrophiles (en bas) de la MOD provenant des effluents de la STEP Seine-Aval.

III.1.2. COMPLEXATION DU CUIVRE PAR LA MOD PROVENANT DES REJETS URBAINS DE TEMPS DE PLUIE

Un des objectifs principaux de ce travail consiste à l'étude des capacités complexantes des rejets urbains de temps de pluie, il existe à ce jour très peu de données publiées dans la littérature. Les paramètres de complexation obtenus pour les échantillons non fractionnés provenant de trois RUTP différents puis ceux de ces mêmes échantillons fractionnés ont été déterminés.

III.1.2.1. Paramètres de complexation pour les échantillons non fractionnés

Comme cela a été observé pour les rejets de temps sec des stations d'épuration, les rejets urbains de temps de pluie possèdent aussi trois types de ligands (Tableau 23). Cela peut être lié à la forte proportion de substances non humiques contenus dans ces rejets non traités (≈60 % du COD total pour les trois évènements étudiés). Nous observons que ce troisième type de site qui correspond à l'affinité la plus forte varie en fonction de la proportion en eaux usées lors du déversement. Plus

PARTIE B

l'échantillon est chargé en eaux usées (comme c'est le cas de l'évènement du 04 nov.-11), plus la teneur en sites (S_3) est élevée. Ceci peut être dû à l'abondance des groupements soufrés et/ou azotés dans la matière organique de ces rejets. En effet, les groupements azotés présents dans les structures protéiques ont été mis en évidence en spectrofluorescence. Nous observons ici que l'intensité de la bande I_γ/COD est d'autant plus élevée que la teneur en site S_3 augmente (Tableau 23), toutefois cette tendance devrait être confirmée avec un plus grand nombre d'échantillon.

RUTP Date de l'évènement	log K3 l/mol	S3 mol/kg C	S3 mol/l	log K2 l/mol	S2 mol/kg C	S2 mol/l	log K1 l/mol	S1 mol/kg C	S1 mol/l
6-juin-11	12.0	1.8E-02	1.47E-07	8.7	1.5E-01	1.24E-06	6.7	5.9E-01	4.75E-06
	0.11	1.6E-03	1.03E-08	0.15	3.4E-02	2.65E-07	0.31	1.9E-01	1.51E-06
20-juin-11	14.0	2.5E-02	3.24E-07	10.6	4.6E-02	5.98E-07	7.6	3.1E-01	4.02E-06
	0.14	3.0E-03	3.51E-08	0.22	6.3E-03	7.57E-08	0.16	5.1E-02	6.33E-07
4-nov.-11	13.0	3.5E-02	5.64E-07	10.3	2.0E-01	3.26E-06	7.4	6.0E-01	9.60E-06
	0.19	5.4E-03	8.56E-08	0.16	2.2E-02	3.50E-07	0.24	1.5E-01	2.36E-06
Moyenne	13.0	2.6E-02	3.45E-07	9.9	1.3E-01	1.70E-06	7.2	5.0E-01	6.12E-06
	1.00	8.5E-03	2.09E-07	1.04	8.1E-02	1.39E-06	0.44	1.7E-01	3.03E-06

RUTP Date de l'évènement	% HPO	% TPI	% HPI	Conductivité μS/cm	% eaux usées	I _γ /COD
6-juin-11	43	17	40	374	22-28	0.067
20-juin-11	39	21	40	430	28-33	0.087
4-nov.-11	42	17	41	693	54-57	0.089
Moyenne	41	18	40	499	35-39	0.081

Tableau 23: Paramètres de complexation de MOD provenant des RUTP (haut) et leurs caractéristiques (bas).

III.1.2.2. Paramètres de complexation pour les échantillons fractionnés

Les paramètres de complexation des différentes fractions de la matière organique contenue dans les rejets urbains de temps de pluie ont été déterminés afin, d'une part évaluer la contribution respective de chaque fraction à la complexation de cuivre, et d'autre part comparer les résultats avec ceux obtenus pour les rejets de temps sec.

Trois évènements, 06, 20 juin et 04 novembre 2011, différents en termes de volume déversé, teneur en carbone organique et conductivité (% eaux pluviales et eaux usées) (Tableau 10) ont été choisis afin de voir si ces différences peuvent contribuer à des changements en termes de

complexation des fractions organiques. Les échantillons collectés en sortie de résine ont été titrés. Les paramètres de complexation obtenus sont présents dans le *Tableau 24*.

Mises à part les valeurs soulignées (*Tableau 24*), nous constatons généralement une diminution de la concentration en sites complexants (en mol/l) chaque fois qu'une fraction organique est retenue par une résine lors de fractionnement des échantillons provenant de trois événements (06, 20 juin et 04 novembre 2011), ce qui est tout à fait attendu. Dans certains cas, en particulier pour les sites d'affinité la plus forte (S_3), nous remarquons une augmentation de la concentration en sites (valeurs soulignées). Etant données les faibles concentrations de ces sites, il est possible que cela soit dû à une contamination lors de titration. En outre, on aperçoit l'absence du troisième ligand lors du fractionnement de la MOD provenant de l'évènement du 20-juin, bien qu'on note sa présence pour l'échantillon non fractionné (*Tableau 23*). Ce qui peut être dû soit à une contamination comme cela a déjà été signalé soit à une erreur lors de la titration, il est possible qu'un ajout excessif de cuivre au début de la titration ait masqué le point d'équivalence de ce ligand d'affinité la plus forte.

Concernant les constantes de complexation, $\log K_1$, $\log K_2$ et $\log K_3$, nous constatons une tendance à l'augmentation au cours de fractionnement lorsque le caractère hydrophobe diminue. Ceci est clairement constaté entre l'échantillon contenant la MOD totale (HPO+TPI+HPI) et l'échantillon duquel la fraction hydrophobe a été retiré (TPI+HPI) pour les deux événements des 06 et 20 juin 2011. Pour l'échantillon du 04-nov-11 cela n'est pas observé (*Tableau 24*). Dans certains cas, nous notons des constantes plus élevées pour la fraction hydrophile (HPI) par rapport à celles déterminées dans l'échantillon de la MOD totale (HPO+TPI+HPI). Ces résultats sont comparables avec ceux obtenus pour les rejets du temps sec (*Tableau 20*) et permettent de nouveau la mise en évidence de la forte affinité complexante des substances non humiques. D'ailleurs les résultats obtenus peuvent être expliqués par la faible aromaticité après la rétention de la MO hydrophobe au cours du fractionnement. En effet, la présence de groupements aromatiques peut diminuer la valeur des constantes d'affinité par une stabilisation de la charge négative sur l'oxygène par conjugaison. En fait, comme cela a été observé (Pernet-Coudrier, 2008), l'abondance de groupes phényles, responsables en grande partie de l'aromaticité observée dans la MO hydrophobe et considérés comme électro-accepteur, diminue le pKa des groupements carboxyliques, c'est-à-dire leur constante de complexation.

En outre, la teneur en sites complexants exprimée en mol par kg de carbone de chaque fraction organique (*Tableau 25*) ainsi que le bilan de la contribution de chaque fraction organique en termes de sites complexants (*Tableau 26*) ont été calculés.

Nous remarquons que la diversité des RUTP analysés modifie assez peu la répartition des sites complexants entre les différentes fractions organiques (*Tableau 26*). Comme pour les rejets de STEP, les substances non humiques (fractions TPI et HPI) qui sont majoritaires dans les RUTP représentent une part prépondérante des sites complexants des métaux puisqu'elles présentent entre 67 et 78% environ du total des sites complexants pour les trois événements (*Tableau 26*).

Si l'on considère chaque type de site, nous notons que 67 à 79% des sites d'affinité faible S_1 et 62 à 82% des sites d'affinité forte S_2 sont présents dans les substances non humiques (TPI+HPI). Il est difficile d'interpréter les résultats obtenus pour le troisième type de site d'affinité forte S_3 , étant donné que pour un événement (20 juin), il n'y a pas ce troisième ligand et que pour celui de 06 juin nous obtenons des valeurs aberrantes. Quoiqu'il en soit, il est important de noter que parmi les fractions non humiques, c'est la fraction hydrophile (HPI) qui représente le pourcentage le plus élevé en sites complexants.

Ces résultats permettent d'une part de conclure quant à la forte capacité complexante de la MOD HPI dans les rejets de temps de pluie et d'autre part d'attribuer l'affinité des RUTP vis-à-vis la complexation des métaux qui a été mise en évidence dans quelques travaux (Morrison *et al.*, 1984; Morrison and Revitt, 1987; Morillo *et al.*, 2002; Gnecco *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2009; Hnatukova, 2011) à cette MOD hydrophile. Les travaux cités ci-dessus n'ont pas spécifiquement étudié le rôle de la polarité du carbone sur la complexation des métaux.

Nous observons (*Tableau 25*), que la fraction HPI présente une teneur plus élevée en S_1 , S_2 et S_3 exprimée en moles de sites par kg de carbone organique par rapport à celle déterminée pour la fraction HPO, confirmant ainsi la forte capacité complexante de la MO HPI. Cette forte capacité complexante, que ce soit en termes de sites ainsi qu'en termes de constantes d'affinité, trouvée pour la fraction hydrophile (HPI) pourrait être attribuée à la présence de structures protéiques qui ont été mises en évidence précédemment dans la partie A lors de caractérisation de la MOD (spectrofluorescence).

Quant aux sous-fractions hydrophiles, acides, basiques et neutres, on remarque que la fraction basique représente un pourcentage de sites complexants nettement plus importante que ce qu'elle présente en pourcentage du COD HPI (entre 5 et 18% du total de COD HPI). En effet elle représente entre 23 à 34% du total des sites et 22 à 35% des sites d'affinité faible S_1 (*Tableau 26*). La fraction HPI-basique présente d'ailleurs la teneur la plus élevée en sites S_1 , S_2 et S_3 , par rapport aux autres fractions organiques (*Tableau 25*). Ces résultats sont comparables à ceux obtenus pour les effluents des stations d'épuration et peuvent être attribués à l'abondance potentielle des groupements amines et amides dans la fraction hydrophile basique. Nous remarquons que le reste des sites complexants de la MOD hydrophile sont plutôt de type hydrophile acide (*Tableau 26*). Ceci peut être lié aux groupements carboxyliques qui sont abondants dans cette sous-fraction (voir *Tableau 1*). Cela est cohérent avec une teneur plus élevée dans la fraction hydrophile acide des sites d'affinité faible (S_1), qui correspondent aux groupements carboxyliques, par rapport à celle présente dans la fraction hydrophile neutre (*Tableau 25*).

Résultats et discussions

RUTP	log K3	S3	log K2	S2	log K1	S1
06-juin-11	l/mol	mol/l	l/mol	mol/l	l/mol	mol/l
HPO+TPI+HPI	13.6	6.6E-07	9.7	5.5E-06	7.4	2.5E-05
TPI+HPI	15.0	<u>8.0E-07</u>	10.6	4.0E-06	7.6	2.0E-05
HPI	14.5	1.8E-07	9.7	3.5E-06	7.0	1.4E-05
HPI-A + HPI-N	14.9	<u>3.6E-07</u>	10.3	1.4E-06	7.8	1.1E-05
HPI-N			13.0	1.3E-06	8.2	3.2E-06
	0.27	7.2E-08	0.17	1.1E-06	0.19	3.7E-06
	0.12	7.0E-08	0.16	6.4E-07	0.22	4.2E-06
σ	0.22	2.3E-08	0.18	7.8E-07	0.46	6.9E-06
	0.15	4.3E-08	0.29	4.5E-07	0.26	2.4E-06
			0.08	1.2E-07	0.12	3.9E-07

RUTP	log K3	S3	log K2	S2	log K1	S1
20-juin-11	l/mol	mol/l	l/mol	mol/l	l/mol	mol/l
HPO+TPI+HPI			10.8	3.9E-06	7.1	2.9E-05
TPI+HPI			11.5	3.2E-06	8.5	1.9E-05
HPI			11.3	1.9E-06	8.6	1.2E-05
HPI-A + HPI-N			10.8	1.4E-06	8.6	9.2E-06
HPI-N			12.0	<u>2.0E-06</u>	8.5	4.4E-06
			0.15	4.9E-07	0.34	1.3E-05
			0.12	1.0E-07	0.08	6.1E-07
σ			0.10	2.5E-07	0.22	2.7E-06
			0.08	2.0E-07	0.28	3.3E-06
			0.16	2.7E-07	0.41	1.5E-06

RUTP	log K3	S3	log K2	S2	log K1	S1
04-nov-11	l/mol	mol/l	l/mol	mol/l	l/mol	mol/l
HPO+TPI+HPI	13.0	2.7E-06	10.3	1.6E-05	7.4	4.6E-05
TPI+HPI	12.0	2.2E-06	10.3	9.7E-06	7.5	3.2E-05
HPI	12.8	8.8E-07	10.3	7.4E-06	7.5	2.5E-05
HPI-A + HPI-N	14.0	<u>2.1E-06</u>	10.5	5.4E-06	7.6	1.6E-05
HPI-N			11.0	5.0E-06	8.7	1.8E-06
	0.19	4.2E-07	0.16	1.7E-06	0.24	1.1E-05
	0.18	5.6E-07	0.13	8.2E-07	0.18	6.4E-06
σ	0.029	3.6E-07	0.13	5.2E-07	0.23	6.8E-06
	0.14	6.8E-07	0.25	7.5E-07	0.35	5.9E-06
			0.27	2.0E-06	0.13	2.4E-07

Zone hachurée: pas de sites

Tableau 24: Paramètres de complexation déterminés au cours de fractionnement de la MOD provenant des RUTP (6-juin-11, 20-juin-11 et 4-nov-11, respectivement de haut en bas).

PARTIE B

RUTP 06-juin-11	S3 mol/kg C	S2 mol/kg C	S1 mol/kg C
HPO	*	5.5E-02	2.1E-01
TPI	*	5.3E-02	5.1E-01
HPI	7.6E-03	1.4E-01	6.0E-01
HPI-B	*	1.2E+00	2.3E+00
HPI-A	*	7.2E-03	6.1E-01
HPI-N		1.3E-01	3.1E-01

RUTP 20-juin-11	S3 mol/kg C	S2 mol/kg C	S1 mol/kg C
HPO		4.3E-02	5.8E-01
TPI		1.5E-01	8.6E-01
HPI		1.1E-01	7.0E-01
HPI-B		5.8E-01	3.0E+00
HPI-A		*	6.3E-01
HPI-N		*	5.2E-01

RUTP 04-nov-11	S3 mol/kg C	S2 mol/kg C	S1 mol/kg C
HPO	1.5E-02	1.9E-01	4.3E-01
TPI	1.0E-01	1.7E-01	5.6E-01
HPI	2.8E-02	2.3E-01	7.9E-01
HPI-B	*	3.4E-01	1.5E+00
HPI-A	*	2.4E-02	9.0E-01
HPI-N		5.1E-01	1.8E-01

Zone hachurée: pas de sites

* : valeur aberrante

Tableau 25: Teneur en sites complexants exprimée en mol par kg de carbone de chaque fraction organique de la MOD provenant des rejets urbains de temps de pluie (RUTP).

RUTP		% COD	% sites de fixation de Cu				Conductivité μS/cm	COD mgC/l
Date de l'évènement			S3	S2	S1	Σ Sites		
6-juin-11	HPO	43	*	26	21	22	374	13
	TPI	17	*	10	21	19		
	HPI	40	27	64	58	59		
20-juin-11	HPO	39		18	33	31	430	8
	TPI	21		33	26	27		
	HPI	40		49	41	42		
4-nov.-11	HPO	42	18	38	30	33	693	16
	TPI	17	49	14	16	15		
	HPI	41	33	48	54	52		

RUTP		% COD HPI	% sites de fixation de Cu				Conductivité μS/cm	COD mgC/l
Date de l'évènement			S3	S2	S1	Σ Sites		
6-juin-11	HPI-basique	8	*	59	27	33	374	13
	HPI-acide	50	*	3	51	42		
	HPI-neutre	42		38	22	25		
20-juin-11	HPI-basique	5		27	22	23	430	8
	HPI-acide	45		*	41	31		
	HPI-neutre	50		*	37	46		
4-nov.-11	HPI-basique	18	*	27	35	34	693	16
	HPI-acide	50	*	5	57	45		
	HPI-neutre	32		68	8	21		

Zone hachurée: pas de sites

* : valeur aberrante

Tableau 26: Pourcentage en sites complexants de chaque fraction organique (en haut) et des sous-fractions hydrophiles (en bas) de la MOD provenant des RUTP.

III.1.3. COMPLEXATION DU CUIVRE PAR LA MOD PROVENANT DU MILIEU RECEPTEUR

III.1.3.1. Variations temporelles de l'affinité complexante de la MOD

Les teneurs en sites complexants ainsi que les constantes de complexation de la MOD provenant des sites amont et aval de l'agglomération parisienne et leur évolution au cours de l'année 2011 sont présentés dans ce qui suit.

Les sites d'affinité faible S₁ :

Pour les sites amont de l'agglomération parisienne, Ussy-sur-Marne et Fontaine-le-port, on observe en période de hautes eaux des teneurs en sites d'affinité faible (S₁) qui présentent un pic en janvier (*Figure 72, Tableau 27 et Tableau 28*). Cela montre donc la forte affinité complexante de la

MOD qui provient du lessivage de sols ainsi que de la litière dans cette période de crue. Puis cette teneur diminue au mois de mars et réaugmente à nouveau à l'été (mois de juin et septembre) montrant ainsi l'affinité complexante de la MOD autochtone prédominante dans cette période. Si l'on exprime les concentrations des sites complexants en moles par litre de solution (valeur qui dépend donc aussi de la concentration en COD), on trouve le même pic en janvier pour les deux sites amont (*Tableau 27 et Tableau 28*). En été, nous ne remarquons pas le pic observé précédemment car la concentration en COD pour ces deux sites amont est assez faible à l'été (*Figure 39*). Les concentrations en sites d'affinité faible (S_1) sont relativement stables après le pic de janvier pour le reste de l'année (*Figure 72*).

A Andrésy, à l'aval de l'agglomération parisienne, à l'exception de mois de mars, les teneurs en sites S_1 ne présentent pas de variation significative en fonction de la période de l'année. Les valeurs varient de 1.2 à 1.5 mol.kg^{-1} de C (soit entre 3.9 et $5.2 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$) (*Tableau 29*) sauf en mois de mars où la teneur en sites S_1 atteint 2.2 mol.kg^{-1} de C (soit $7.8 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$).

A Conflans-fin d'Oise, les concentrations en sites d'affinité faible S_1 sont plus élevées en période de hautes eaux qu'en période de basses eaux (*Tableau 30*). Ceci est dû à l'abondance de la MOD en hiver qui provient plutôt de lessivage de sols et/ou de l'érosion de la litière (en voie de dégradation) abondante à cette époque sur les berges. Mais, cela ne signifie pas que la MOD complexe plus fortement en période de hautes eaux, en effet la teneur en sites (S_1) varie de $5 \cdot 10^{-1}$ à 1.2 mol de sites par kg de C pendant ces deux périodes de l'année et n'est pas significativement supérieure en période de hautes eaux.

Les sites d'affinité forte S_2 :

Contrairement à ce qui a été observé pour les sites d'affinités faibles (S_1) des sites amont, les teneurs en sites d'affinité forte (S_2) ne présentent pas des pics ni en janvier ni en été (*Figure 73*). Elles sont assez stables pendant toute l'année où les valeurs sont comprises entre $9.5 \cdot 10^{-2}$ et $1.5 \cdot 10^{-1} \text{ mol/kg}$ de C pour ces deux sites (*Tableau 27 et Tableau 28*) sauf à Ussy-sur-Marne en mois de mars et Fontaine-le-port en janvier. Cette stabilité observée pour les teneurs en sites d'affinité forte (S_2) ne permet pas de mettre en évidence d'influence particulière de la nature de la MOD sur les teneurs en sites complexants. Cependant, si l'on exprime la concentration de sites (S_2) en moles par litre d'échantillon, on aperçoit une tendance à la décroissance en période d'été pour ces sites amont (*Figure 73*).

A Andrésy, nous observons une augmentation des teneurs et concentrations en sites S_2 en période de basses eaux (en mol/kg de carbone et en mol/l d'échantillon) (*Figure 73*). Ceci pourrait être lié à la présence de la MOD urbaine à Andrésy. En effet les concentrations et teneurs en sites (S_2) augmentent lorsque le débit diminue c.à.d. quand l'effet de la dilution des rejets urbains est moindre (*Tableau 29*). Il est important de noter qu'à Andrésy la variation des concentrations en sites d'affinité

forte (S_2) n'est pas similaire à celle des sites d'affinité faible (S_1), indiquant ainsi que la présence de la MOD urbaine est plutôt mise en évidence par la présence des sites d'affinité forte.

A Conflans-fin d'Oise, on remarque une légère diminution des concentrations en sites (S_2) en période de basses eaux par rapport à celle de hautes eaux (*Tableau 30*) ce qui met en évidence l'abondance de la MOD en période de crue qui provient de lessivage de sols ainsi que de l'érosion de la litière, également comme cela avait été démontré pour les sites d'affinité faible (S_1). Cela ne signifie pas que la MOD complexe plus fortement en période de hautes eaux, en effet la variation des teneurs en sites S_2 (entre $9.2 \cdot 10^{-2}$ et $1.3 \cdot 10^{-1}$ mol/kg de C) n'est pas significative.

Ratio S_1/S_2 et caractéristiques des MOD :

Nous avons tenté de voir s'il existe une corrélation entre le ratio des sites complexants, S_1 (sites d'affinité faible) et S_2 (sites d'affinité forte), et les caractéristiques de la MOD telles que l'aromaticité (SUVA/UV-visible) et/ou la teneur en structure protéiques ($I\gamma$ /COD/spectrofluorescence)). Les *Figure 74a et b* montrent les relations obtenues.

Tout d'abord pour la MOD provenant des deux sites amont, une diminution du ratio S_1/S_2 , lorsque le SUVA augmente, est observée, c'est-à-dire lorsque l'aromaticité augmente. Ce qui est cohérent avec le fait que les groupements phénoliques, présents en plus grand nombre dans la MO aromatique, sont connus pour être des sites d'affinité forte. Nous observons d'autre part, à Fontaine-le-port, que le ratio S_1/S_2 diminue lorsque l'intensité de la bande γ , désignant la teneur en structures protéiques, diminue. Cela pourrait indiquer, pour la MOD provenant de sites peu impactés par les rejets urbains que la proportion de sites d'affinité forte S_2 est d'autant plus importante que la teneur en structures protéiques est faible et la teneur en composés aromatiques est élevée.

Pour Andrésy, à l'aval de l'agglomération, la tendance est inverse. Lorsque le SUVA (caractère aromatique) diminue le ratio S_1/S_2 diminue aussi ($\rho = 0.9$, corrélation significative au seuil de 5% (valeur $p=1.7\%$)). Cela montre que les sites d'affinité forte sont plus abondants lorsque la MO est peu aromatique donc peu humifiée. Nous constatons de plus que le ratio S_1/S_2 diminue lorsque l'intensité de la bande γ augmente, c.à.d. que les teneurs en sites d'affinité forte sont plus élevées lorsque les structures protéiques sont abondantes. Ces résultats mettent en évidence le rôle des groupements azotés dans la complexation des métaux. En effet, le caractère hydrophile de la MOD urbaine à Andrésy ainsi que ses caractéristiques (abondance des structures protéiques (spectrofluorescence) et la faible aromaticité (UV-visible)) observées précédemment (partie A) nous incitent à attribuer ces sites d'affinité forte aux groupements azotés. Ce qui est cohérent avec la littérature où des études ont aussi attribué la forte teneur en site d'affinité forte au taux élevé d'azote et à l'abondance des fonctions amines observées par IRTF dans la MOD urbaine (Pernet-Coudrier, 2008).

Les constantes de sites d'affinité faible :

On remarque que la constante d'affinité faible $\log K_1$ est aux alentours de 7.5 pour Ussy-sur-Marne quelque soit la période de l'année, mais qu'elle augmente jusqu'à 8.1 en mois de septembre 2011 (*Figure 75*) à la période à laquelle la MOD autochtone est prédominante. A Fontaine-le-port, nous n'observons pas de variation significative, les valeurs de la constante d'affinité faible ($\log K_1$) oscillent entre 7 et 8.2 quelque soit la période de l'année (*Figure 75*). A Andrésy, nous notons une variation de la constante ($\log K_1$) entre 6.8 et 7.8 en fonction du temps. Au mois de mars, mois auquel nous avons noté un maximum pour la concentration en sites d'affinité faible (S_1) (*Figure 72*), nous observons la constante la plus faible ($\log K_1 = 6.8$). Nous remarquons que cette constante augmente légèrement en période de basses eaux pour arriver à une valeur de 7.8 en mois de septembre là où le débit de la Seine est minimal et donc l'effet de dilution de rejets urbains provenant de la STEP Seine-Aval est moindre à Andrésy. Concernant le quatrième site, Conflans-fin d'Oise, on note une variation de la constante ($\log K_1$) entre 7.3 et 8.1 sans remarquer de tendance particulière (*Tableau 30*).

Les constantes de sites d'affinité forte :

Les constantes d'affinité forte ($\log K_2$) augmentent en période de basses eaux pour Ussy-sur-Marne où elles présentent des valeurs aux alentours de 11.2 alors qu'elles sont aux alentours de 10.2 en période de hautes eaux (*Tableau 27*). Ceci met en évidence la forte capacité complexante de la MOD autochtone qui prédomine en période de basses eaux. A Fontaine-le-port, on ne trouve pas la même variation de $\log K_2$ que celle observée pour Ussy-sur-Marne puisqu'elle diminue de 11 jusqu'à 10 en passant entre la période de hautes eaux et celle de basses eaux (*Figure 75*). Pour Andrésy, pas de remarques significatives concernant la variation de la constante d'affinité forte ($\log K_2$) bien qu'elle devienne légèrement plus élevée quand le débit est plus faible, c.à.d. quand la MOD urbaine est plus abondante (*Tableau 29*). Concernant Conflans-fin d'Oise, la constante d'affinité forte ($\log K_2$) oscille entre 10 et 11.3, (*Figure 75*). Toutefois, d'une manière générale, les constantes d'affinité $\log K$ ne sont pas forcément très précises (voir replicats SRFA *Tableau 16*) et donc on ne peut pas en tirer des interprétations trop définitives.

Les résultats obtenus n'ont pas mis en évidence de variation temporelle particulière des teneurs en sites pour la MOD provenant des sites amont de l'agglomération parisienne peu impactés par l'urbanisation (Ussy-sur-Marne et Fontaine-le-port) ainsi que pour la MOD provenant de Conflans-fin d'Oise. En termes de constante d'affinité, nous observons une forte capacité complexante de la MOD autochtone qui prédomine en période de basses eaux (augmentation de $\log K_2$) justement pour Ussy-sur-Marne. Pour Andrésy, la présence de la MOD urbaine a été mise en évidence dans la

variation temporelle de sites complexants, notamment pour les sites d'affinité forte (augmentation de S_2).

Nous notons que les teneurs en sites (S_1 et S_2) obtenues dans cette étude sont comparables à la littérature (Town and Filella, 2000). (Breault *et al.*, 1996) ont étudié les capacités complexantes de la MOD contaminée ou non et ont montré des nombres des sites d'affinité faible (S_1) et forte (S_2) compris respectivement entre 0.8 et 2 et entre 0.13 et 0.36 mol/kg de carbone, ce qui est comparable à nos résultats. Les constantes des sites d'affinité faible et forte ($\log K_1$ et $\log K_2$) sont comparables à des nombreuses études, citons (Kawamoto *et al.*, 1992; Muller, 1996; Town and Filella, 2000; Sarathy and Allen, 2005) où $\log K_1$ est compris entre 7 et 8.5 et $\log K_2$ entre 10 et 12.

III.1.3.2. Variations spatiales de l'affinité complexante de la MOD

Nous nous intéressons ici à l'étude de la variabilité spatiale des paramètres de complexation de la MOD à la traversée de l'agglomération parisienne.

Les sites d'affinité faible S_1 :

La MOD prélevée à Andrésy (site aval) présente une concentration de sites d'affinité faible (S_1) plus élevée que celles prélevées dans les sites amont à Ussy-sur-Marne et Fontaine-le-port et ce quelque soit la période de prélèvement (*Figure 72*). En effet, cette concentration varie entre 3.9 et 7.8 10^{-6} mol.l⁻¹ à Andrésy alors qu'elle est dans une gamme comprise entre 1.7 et 3.3 10^{-6} mol.l⁻¹ et entre 1.2 et 4.1 10^{-6} mol.l⁻¹ respectivement à Ussy-sur-Marne et Fontaine-le-port. Les teneurs en sites (mol.kg⁻¹C) sont supérieures à l'amont excepté à Fontaine-le-port au mois de juin.

Globalement ces résultats nous permettent de mettre en évidence la nature urbaine de la MOD à Andrésy qui complexe plus fortement le cuivre que la MOD d'origine naturelle. Cela montre que les rejets urbains provenant de la STEP Seine-Aval influencent sur la MOD en aval et augmente ainsi la concentration en sites complexants à Andrésy en raison de la concentration élevée en carbone organique dissous dans cette dernière par rapport aux sites amont (*Figure 39*).

Quant à Conflans-fin d'Oise, on remarque que les teneurs en sites d'affinité faible (S_1) sont plus faibles que celles des trois autres sites Ussy-sur-Marne, Fontaine-le-port et Andrésy.

Les sites d'affinité forte S_2 :

Comme cela a été démontré pour les sites d'affinité faible (S_1), la nature de la MOD urbaine à Andrésy a été mise en évidence par les teneurs en sites d'affinité forte (S_2) qui sont plus élevées, en période de basses eaux notamment en juin et septembre, que celles déterminées à l'amont (*Figure 73*). Nous avons déterminé des teneurs moyennes de l'ordre de 2.5 mol.kg⁻¹ de C à Andrésy alors qu'elles sont respectivement de l'ordre de 1.1 10^{-1} à 1.5 10^{-1} mol.kg⁻¹ de C à Ussy-sur-Marne et Fontaine-le-

port. Ces observations sont moins nettes en période de hautes eaux à Andrésy en raison de la dilution des rejets urbains d'une part et de l'abondance des apports de la MOD d'origine terrigène des sites amont d'autre part. L'impact des rejets urbains sur l'augmentation des concentrations en sites complexants à Andrésy est observé quelque soit la période de l'année (*Figure 73*) sauf en janvier, en période de crue, où l'effet de dilution est maximal. Plus la dilution de ces rejets urbains est faible plus les différences de concentration des sites complexants entre Andrésy et celles des sites amont sont élevées. Ces résultats obtenus sont tout à fait en cohérence avec la littérature qui signale une augmentation d'un facteur de 1.5 à 3 de la concentration en sites complexants en aval par rapport à l'amont de l'urbanisation en indiquant que la présence des ligands forts dans les effluents urbains peut influencer ceux en aval des rejets (Baken *et al.*, 2011). Nous n'avons pu observer à Andrésy le troisième type de ligand (S_3) d'affinité très forte pourtant présent dans les rejets urbains. Cela est sans doute dû à la dilution du rejet dans le milieu récepteur.

A Conflans-fin d'Oise, les teneurs obtenues (entre $9.2 \cdot 10^{-2}$ et $1.3 \cdot 10^{-1}$ mol.kg⁻¹ de C) sont plus faibles que celles obtenues à Andrésy (*Figure 73*).

Les constantes de sites d'affinité faible (log K_1):

Pas d'observation significative pour la variation spatiale des constantes d'affinité faible entre les sites, sauf qu'en période de hautes eaux, on note des constantes plus faibles pour Andrésy par rapport aux autres sites et plus élevées pour Fontaine-le-port (*Figure 75*).

Les constantes de sites d'affinité forte (log K_2):

Comme pour les constantes d'affinité faible, pas de remarques significatives quant aux variations spatiales des constantes d'affinité forte (log K_2), sauf que celles de Fontaine-le-port sont les plus élevées en période de hautes eaux et les plus faibles en période de basses eaux par rapport aux autres sites (*Figure 75*).

Les résultats concernant la variation spatiale des paramètres de complexation obtenus pour les différentes sources des MOD ont mis en évidence :

- L'effet des rejets urbains provenant de la STEP Seine-Aval sur l'augmentation des concentrations en sites d'affinité faible et forte (S_1 et S_2) à Andrésy par rapport aux sites amont.
- La forte capacité complexante de la MOD urbaine présente à Andrésy par rapport aux sites amont qui sont moins impactés par l'urbanisation et où la MOD naturelle prédomine.

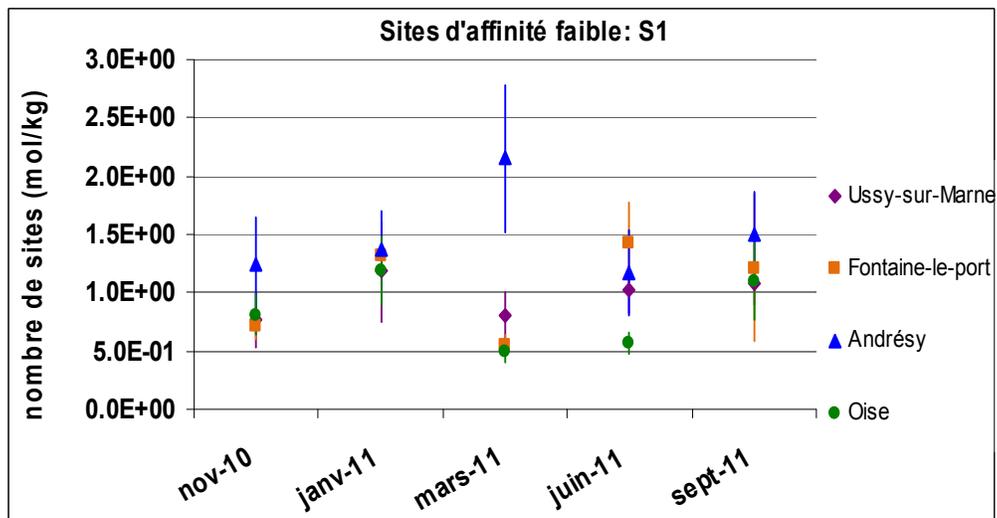
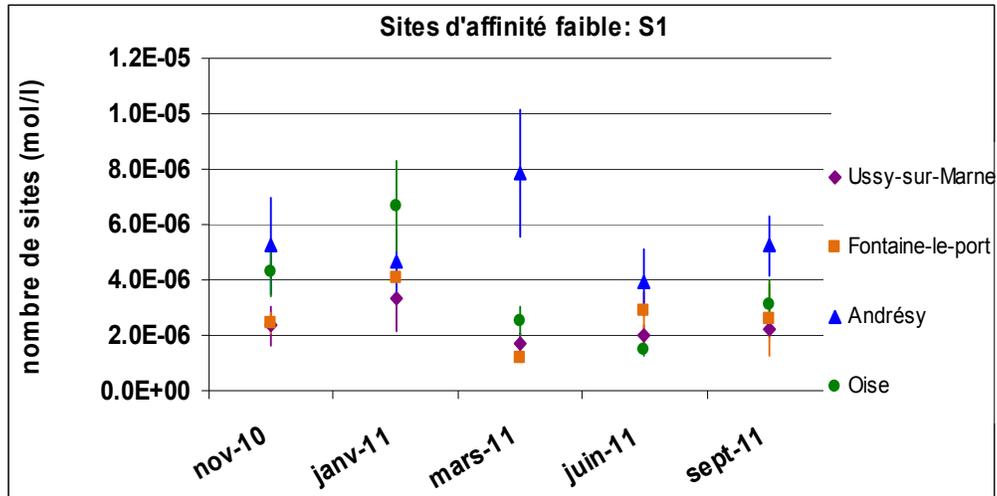


Figure 72: Variation temporelle des teneurs en sites d'affinité faible dans les MOD provenant du milieu récepteur (exprimé en mol/l en haut, et en mol/kg de carbone en bas).

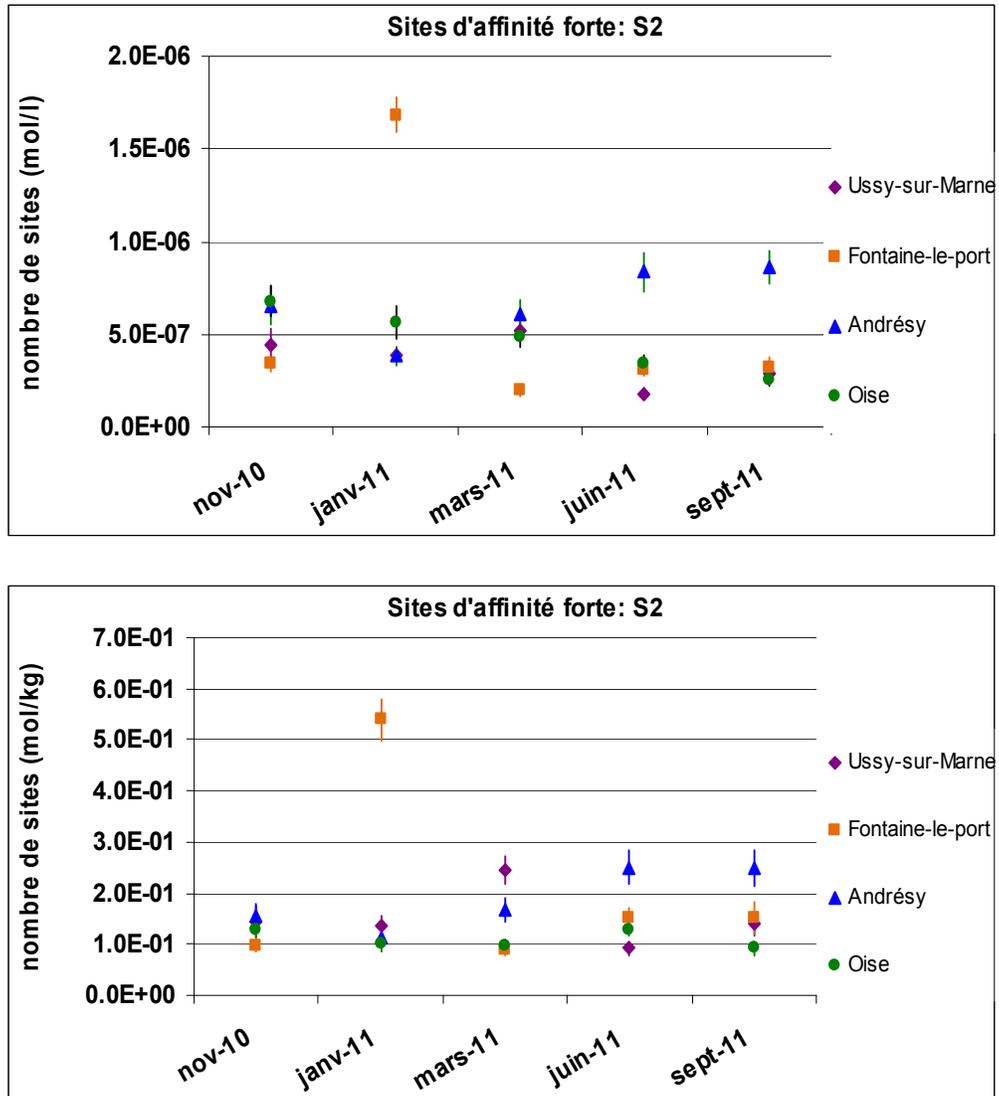


Figure 73: Variation temporelle des teneurs en sites d'affinité forte dans les MOD provenant du milieu récepteur (exprimé en mol/l en haut, et en mol/kg de carbone en bas).

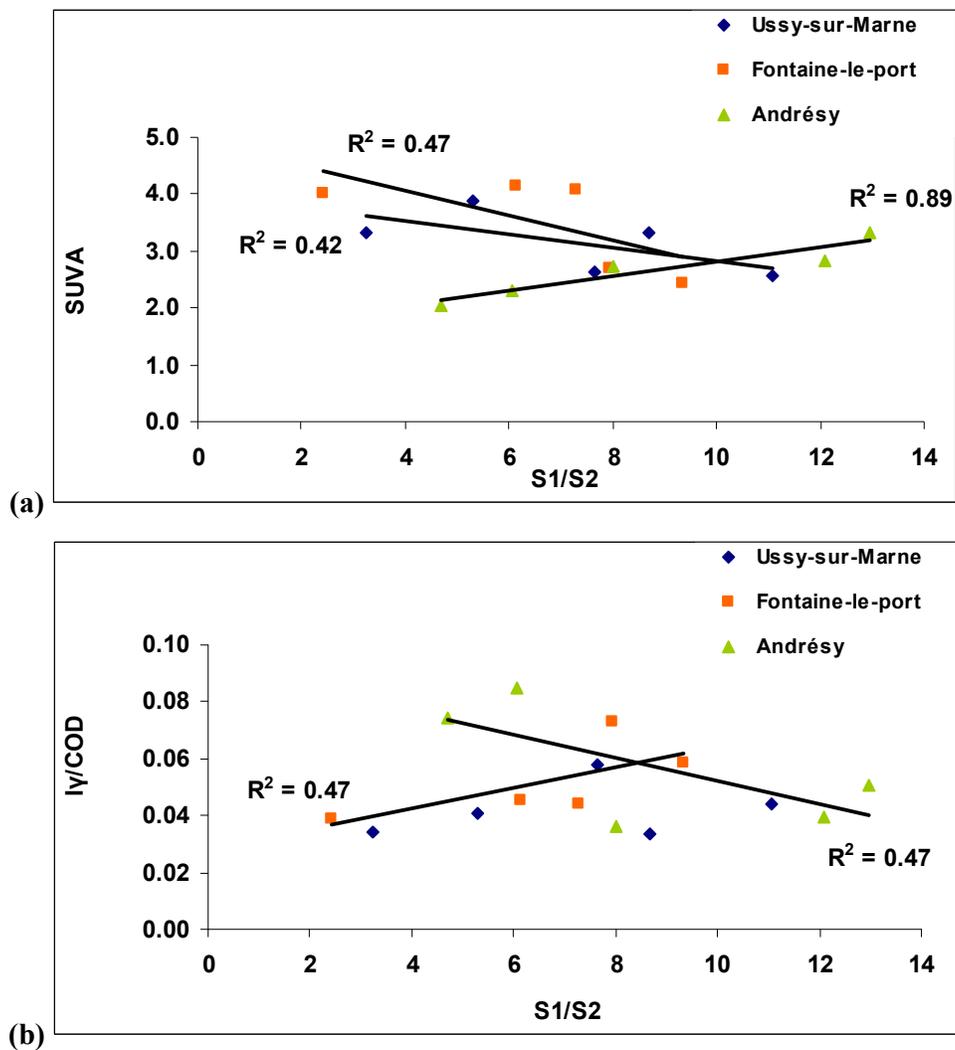


Figure 74: La variation du ratio S_1/S_2 en fonction de l'aromaticité (a) et en fonction de l'intensité de la bande γ normalisé par rapport à la teneur en carbone (b).

PARTIE B

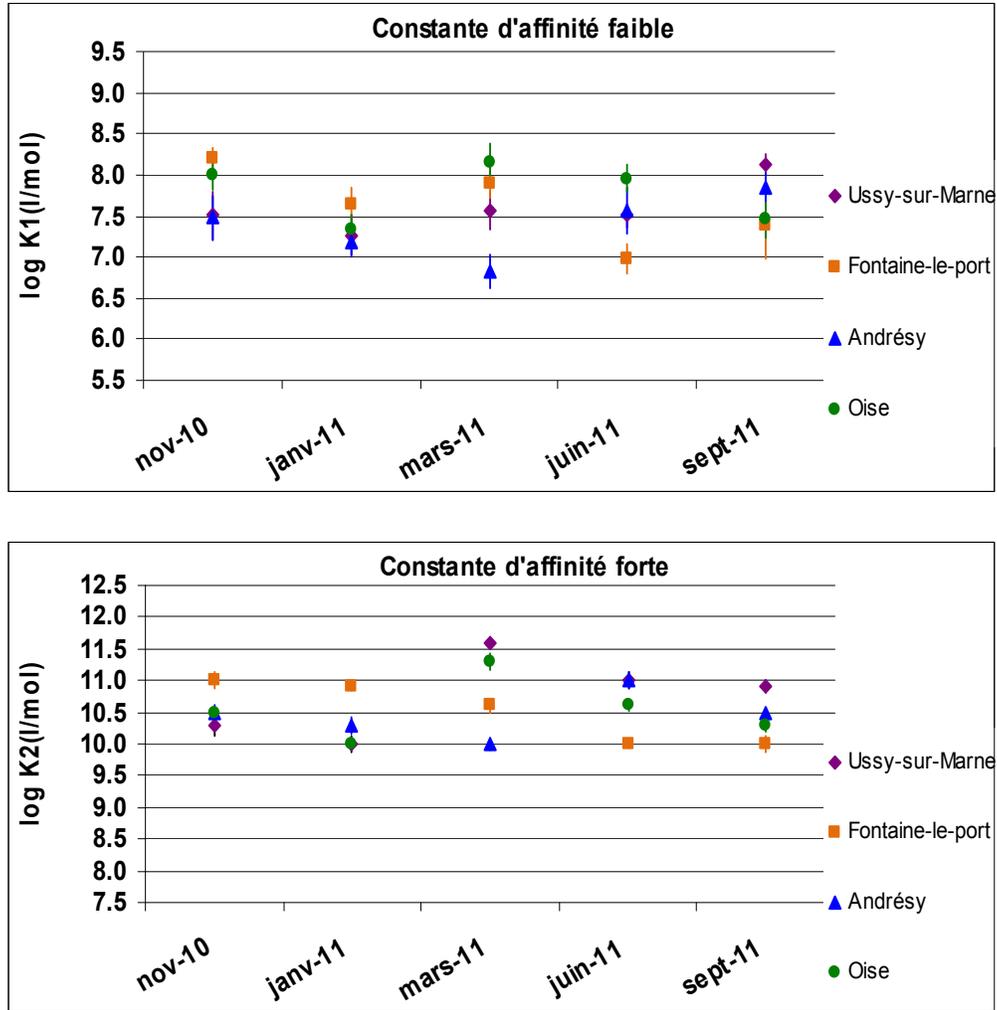


Figure 75: Variation temporelle des constantes de complexation des MOD provenant du milieu récepteur (constante d'affinité faible en haut et d'affinité forte en bas).

Ussy-sur-Marne		log K2 l/mol	S2 mol/kg C	S2 mol/l	log K1 l/mol	S1 mol/kg C	S1 mol/l	% HPO	% TPI	% HPI	Débit à Austerlitz m ³ / sec
nov-10	σ	10.3 0.17	1.5E-01 3.1E-02	4.44E-07 9.18E-08	7.5 0.30	7.7E-01 2.3E-01	2.35E-06 7.09E-07	65	15	20	443
janv.-11	σ	10.0 0.12	1.4E-01 1.7E-02	3.85E-07 4.40E-08	7.3 0.24	1.2E+00 4.3E-01	3.35E-06 1.20E-06	39	27	34	963
mars-11	σ	11.6 0.09	2.4E-01 2.6E-02	5.14E-07 4.81E-08	7.6 0.23	8.0E-01 2.0E-01	1.67E-06 4.20E-07	27	23	50	245
juin-11	σ	11.0 0.13	9.3E-02 1.4E-02	1.81E-07 2.48E-08	7.5 0.14	1.0E+00 2.0E-01	2.00E-06 3.77E-07	43	20	37	128
sept.-11	σ	10.9 0.11	1.4E-01 2.2E-02	2.86E-07 3.25E-08	8.1 0.12	1.1E+00 1.7E-01	2.19E-06 2.57E-07	25	30	45	125

Tableau 27: Suivi de la variation temporelle des paramètres de complexation de la MOD prélevée à Ussy-sur-Marne (concentrations et teneurs en sites exprimé en mol/l et en mol/kg).

Résultats et discussions

Fontaine-le-port		log K2 l/mol	S2 mol/kg C	S2 mol/l	log K1 l/mol	S1 mol/kg C	S1 mol/l	% HPO	% TPI	% HPI	Débit à Austerlitz m ³ / sec
nov.10	σ	11.0 0.13	9.8E-02 1.3E-02	3.37E-07 3.96E-08	8.2 0.14	7.1E-01 1.1E-01	2.45E-06 3.71E-07	58	17	25	443
jan.11	σ	10.9 0.06	5.4E-01 4.0E-02	1.68E-06 9.40E-08	7.7 0.19	1.3E+00 2.3E-01	4.09E-06 6.86E-07	43	21	36	963
mars-11	σ	10.6 0.11	8.9E-02 1.2E-02	1.95E-07 2.39E-08	7.9 0.17	5.4E-01 9.0E-02	1.20E-06 1.89E-07	24	31	45	245
juin-11	σ	10.0 0.07	1.5E-01 1.7E-02	3.08E-07 2.99E-08	7.0 0.17	1.4E+00 3.5E-01	2.87E-06 6.80E-07	32	31	37	128
sept.-11	σ	10.0 0.14	1.5E-01 3.0E-02	3.22E-07 5.82E-08	7.4 0.39	1.2E+00 6.2E-01	2.56E-06 1.30E-06	40	25	35	125

Tableau 28: Suivi de la variation temporelle des paramètres de complexation de la MOD prélevée à Fontaine-le-port (concentrations et teneurs en sites exprimé en mol/l et en mol/kg).

Andrésy		log K2 l/mol	S2 mol/kg C	S2 mol/l	log K1 l/mol	S1 mol/kg C	S1 mol/l	% HPO	% TPI	% HPI	Débit à Austerlitz m ³ / sec
nov.10	σ	10.5 0.16	1.5E-01 2.6E-02	6.54E-07 1.04E-07	7.5 0.26	1.2E+00 4.2E-01	5.22E-06 1.76E-06	58	13	29	443
jan.11	σ	10.3 0.13	1.1E-01 1.6E-02	3.86E-07 4.98E-08	7.2 0.17	1.4E+00 3.3E-01	4.67E-06 1.09E-06	40	16	44	963
mars-11	σ	10.0 0.11	1.7E-01 2.2E-02	6.05E-07 7.58E-08	6.8 0.20	2.2E+00 6.3E-01	7.85E-06 2.27E-06	21	22	57	245
juin-11	σ	11.0 0.13	2.5E-01 3.3E-02	8.35E-07 1.04E-07	7.6 0.28	1.2E+00 3.7E-01	3.93E-06 1.22E-06	34	12	54	128
sept.-11	σ	10.5 0.09	2.5E-01 3.5E-02	8.60E-07 8.63E-08	7.8 0.18	1.5E+00 3.5E-01	5.22E-06 1.10E-06	26	26	48	125

Tableau 29: Suivi de la variation temporelle des paramètres de complexation de la MOD prélevée à Andrésy (concentrations et teneurs en sites exprimé en mol/l et en mol/kg).

Oise		log K2 l/mol	S2 mol/kg C	S2 mol/l	log K1 l/mol	S1 mol/kg C	S1 mol/l	% HPO	% TPI	% HPI	Débit à Austerlitz m ³ / sec
nov.10	σ	10.5 0.09	1.3E-01 1.7E-02	6.78E-07 8.52E-08	8.0 0.19	8.1E-01 1.7E-01	4.27E-06 8.91E-07	54	22	24	443
jan.11	σ	10.0 0.10	1.0E-01 1.6E-02	5.59E-07 8.74E-08	7.3 0.19	1.2E+00 2.9E-01	6.66E-06 1.61E-06	43	22	35	963
mars-11	σ	11.3 0.14	9.7E-02 1.2E-02	4.82E-07 5.34E-08	8.1 0.22	5.0E-01 1.0E-01	2.50E-06 5.08E-07	30	20	50	245
juin-11	σ	10.6 0.10	1.3E-01 1.5E-02	3.46E-07 3.67E-08	8.0 0.17	5.7E-01 9.0E-02	1.51E-06 2.28E-07	19	20	61	128
sept.-11	σ	10.3 0.12	9.2E-02 1.3E-02	2.59E-07 3.34E-08	7.5 0.22	1.1E+00 3.3E-01	3.09E-06 8.98E-07	26	27	47	125

Tableau 30: Suivi de la variation temporelle des paramètres de complexation de la MOD prélevée à Conflans-fin d'Oise (concentrations et teneurs en sites exprimé en mol/l et en mol/kg).

III.1.4. RATIO DES SITES COMPLEXANTS S_1 ET S_2 DES DIFFERENTES TYPES DE MOD ETUDIES

En comparant les ratios des teneurs en sites d'affinité faible (S_1) et forte (S_2) entre les différents types de MOD, on aboutit aux observations suivantes (Figure 76):

- Les rejets urbains de temps de pluie et de temps sec présentent des ratios S_1/S_2 proches. On note par ailleurs que ce ratio est plus variable pour les rejets urbains du temps de pluie, ce qui peut être associé à l'hétérogénéité des événements pluvieux.
- Les rejets urbains du temps de pluie et de temps sec présentent généralement un ratio S_1/S_2 plus faible que la MOD présente dans le milieu récepteur, ce qui montre que la forte capacité complexante déterminée précédemment pour les rejets urbains est due à l'abondance des sites d'affinité forte.
- La MOD en aval à Andrésey, présente en période de basses eaux, notamment en juin et septembre, un ratio S_1/S_2 plus faible que celui des sites amont, Ussy-sur-Marne et Fontaine-le-port, et assez proche du ratio des rejets urbains démontrant ainsi leur impact. En période de hautes eaux, le ratio S_1/S_2 devient très supérieur à celui des rejets (dilution) et même supérieur à celui des sites amont.
- Le faible ratio S_1/S_2 pour les sites amont, Ussy-sur-Marne et Fontaine-le-port, en période de hautes eaux, se traduit par le caractère humique dominant qui induit l'augmentation des sites phénoliques S_2 dans ces MOD.

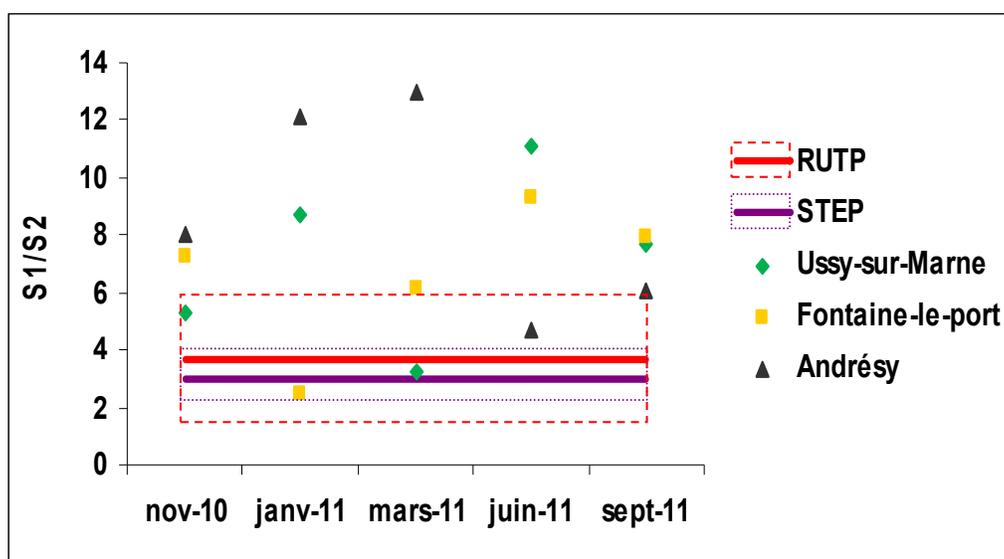


Figure 76: Ratio S_1/S_2 des MOD provenant des différentes origines.

• **Ratio des sites complexants des fractions organiques :**

Les ratios des teneurs en sites (S_1/S_2) pour les fractions organiques dans les rejets urbains sont présentés sous forme de « scattergrams » (Figure 77) afin de mieux visualiser la dispersion des données. Le détail de cette représentation est signalé dans le paragraphe (III.2.1). Les observations sont les suivantes :

- Les ratios S_1/S_2 des différentes fractions organiques des rejets de temps sec sont légèrement plus faibles que ceux déterminés pour les fractions des rejets du temps de pluie, ce qui indique que la teneur en sites d'affinité forte (S_2) peut être probablement liée au pourcentage des eaux usées.
- Pour les rejets de temps sec, le ratio S_1/S_2 diminue pour la fraction hydrophile HPI comparé à celui déterminé pour les fractions HPO et TPI. Ceci est cohérent avec l'étude de (Pernet-Coudrier, 2008) qui montre des teneurs en sites d'affinité forte S_2 plus importante dans la fraction HPI que dans les autres fractions organiques. Ces sites d'affinité forte S_2 ne peuvent pas être des sites phénoliques (étant donné le caractère peu aromatique de cette fraction) mais sont plutôt dues à des groupements azotés. Cet aspect n'est pas observé pour les fractions provenant des rejets de temps de pluie.

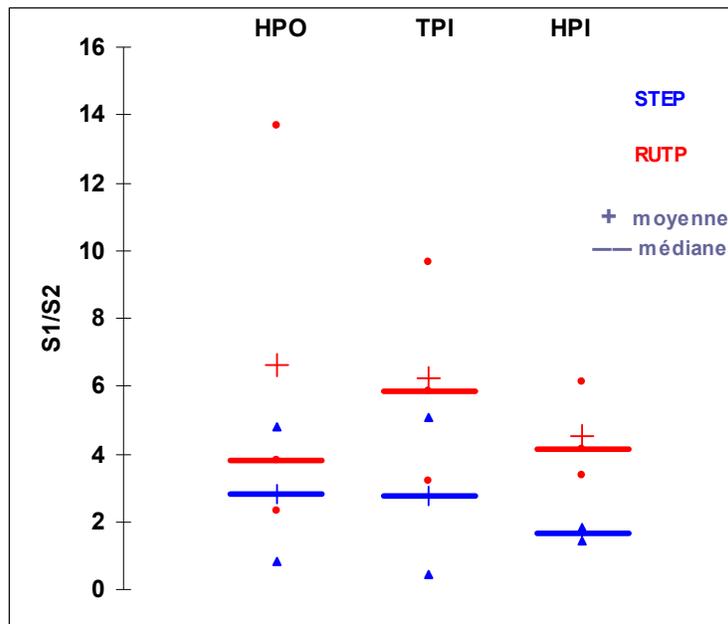


Figure 77: Ratio S_1/S_2 des fractions organiques provenant des rejets urbains.

III.1.5. AFFINITE ET CAPACITE DES MOD ETUDIEES

La distribution de la teneur en sites complexants dans les MOD étudiées en fonction de leur force de complexation pour le cuivre (*Figure 78*) montre :

- une diminution des teneurs en site lorsque la force de la constante augmente quelque soit la source de la MOD, ce qui est cohérent avec plusieurs études dans la littérature (Hirose, 1994; Muller, 1996; Town and Filella, 2000; Witt and Jickells, 2005; Hirose, 2006). En effet les sites d'affinité forte ou très forte seront prioritairement complexés à des teneurs en métal faible puis progressivement les sites d'affinité faible qui sont d'ailleurs plus nombreux contribueront à la complexation,
- une distribution linéaire des sites faibles pour les échantillons provenant du milieu récepteur, alors que pour les sites d'affinité forte de ce dernier ainsi que pour les trois types de ligands contenus dans la MOD des rejets urbains, on ne trouve pas une distribution linéaire des sites en fonction de leur constante de complexation (log K).

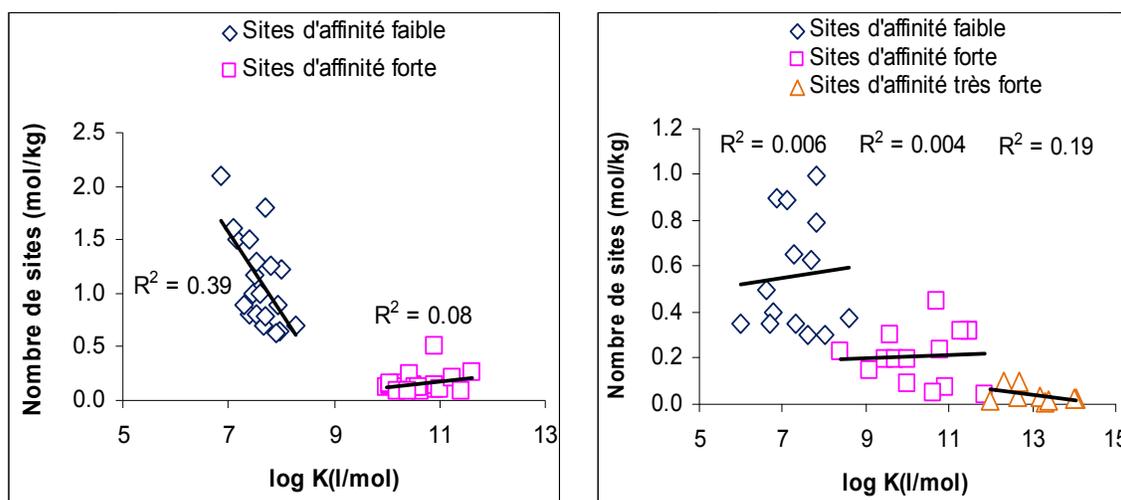


Figure 78: Distribution des teneurs en sites complexants pour le cuivre en fonction de Log K (à gauche pour le milieu récepteur ; à droite pour les rejets urbains).

III.1.6. COMPARAISON DES PARAMETRES DE COMPLEXATION DES DIFFERENTS TYPES DE MOD

Les paramètres de complexation des échantillons prélevés au travers du continuum urbain dans le milieu récepteur ainsi que des rejets urbains sont présentés au *Tableau 31*. Ces données sont également représentées sous forme de « scattergrams » (*Figure 79*).

Dans l'ensemble les valeurs de constantes et de capacités complexantes sont en accord avec la littérature (Breault *et al.*, 1996; Town and Filella, 2000a; Sarathy and Allen, 2005; Hirose, 2006).

La MOD des rejets de temps de pluie et de temps sec présente un pouvoir complexant plus fort pour le cuivre que celle des eaux du milieu récepteur. Ceci est mis en évidence d'une part par les concentrations en sites complexants exprimées en moles par litre d'échantillon qui sont plus élevées dans les rejets urbains (en raison en partie de la forte teneur en carbone organique dissous dans ces rejets) et d'autre part par la présence d'un troisième type de ligand d'affinité plus forte qui est dû à la plus grande richesse fonctionnelle précédemment mise en évidence lors de la caractérisation de ces rejets urbains (partie A). En effet, les rejets urbains sont caractérisés par l'abondance des groupements amines (signalée en spectrofluorescence par la forte intensité I_7/COD), ce qui peut sans doute expliquer les concentrations importantes en sites d'affinité forte (*Figure 53*). En outre, le caractère hydrophile de la MOD de ces rejets, ainsi que le caractère faiblement aromatique déterminé lors de la mesure en spectroscopie d'absorbance (SUVA faible) (*Figure 56*), expliquent leur forte capacité complexante suite aux ligands non humiques qu'ils contiennent. Ces résultats ainsi obtenus sont également cohérents avec les études qui montrent le fort pouvoir complexant des rejets urbains (Sarathy and Allen, 2005; Santos-Echeandia *et al.*, 2008; Sanchez-Marin *et al.*, 2010; Tushara Chaminda *et al.*, 2010; Baken *et al.*, 2011). D'après la littérature, les ligands forts des rejets peuvent être associés à des organophosphonates, hydroxycarboxylates, IDS (acide iminodisuccinique), acide gluconique, des groupements à base de sulfures (Knepper, 2003). D'autres études ont également montré que des ligands non humiques peuvent expliquer une augmentation de la capacité complexante dans les rejets urbains (Sarathy and Allen, 2005; Pernet-Coudrier, 2008; Baken *et al.*, 2011). Ces ligands peuvent être liés à des structures protéiques, des groupements fonctionnels amines et amides présents dans la fraction hydrophile de la matière organique (Pernet-Coudrier *et al.*, 2011b).

D'autre part, en comparant les rejets urbains entre eux, on trouve que ceux de temps sec présentent des concentrations et teneurs en sites, que ce soit exprimé en moles par litre d'échantillon ou en moles par kg de carbone, supérieures à celles contenues dans les rejets de temps de pluie, notamment pour les ligands de forte affinité (S_2 et S_3). Ce qui pourrait probablement montrer une corrélation entre la teneur en eaux usées et l'abondance en ligands forts. La fraction hydrophile qui est plus abondante dans les rejets de temps sec (entre 50 et 60%) que dans ceux de temps de pluie (~40%) pourrait être responsable en partie de cette abondance de ligands forts.

A Andrésy, la MOD semble présenter en période de basses eaux des sites d'affinité forte et faible plus importants que la MOD provenant de l'amont. Ceci est probablement dû aux rejets urbains qui sont également responsables de l'importante teneur en carbone organique dissous COD observée à Andrésy (cf. *Figure 39*). Ajoutons que la forte capacité complexante de la MOD urbaine qui y est présente est aussi mise en évidence grâce à la forte teneur en site exprimée en moles de sites par kg de carbone qui est plus élevée que celle de la MOD naturelle prédominante dans les sites amont. D'ailleurs, les corrélations mises en évidence entre le ratio S_1/S_2 avec les caractéristiques des MOD amont et aval : I_7/COD et SUVA (*Figure 74*), confortent les résultats obtenus et attribuent cette forte capacité complexante de la MOD urbaine aux ligands non humiques et aux groupements fonctionnels

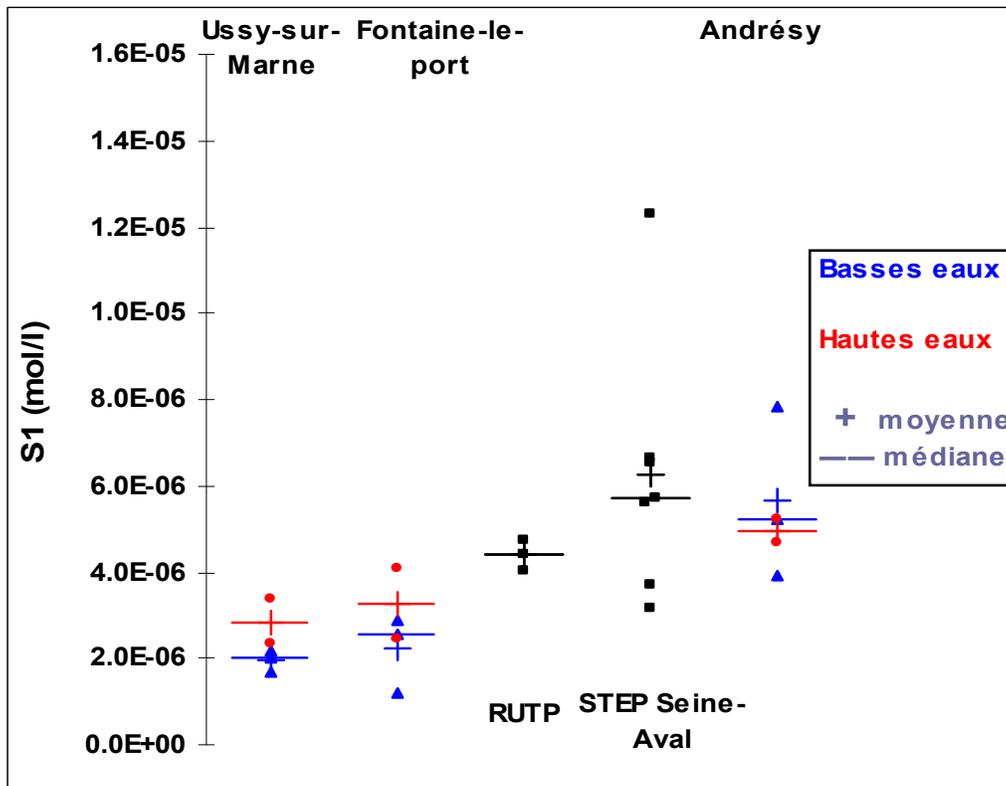
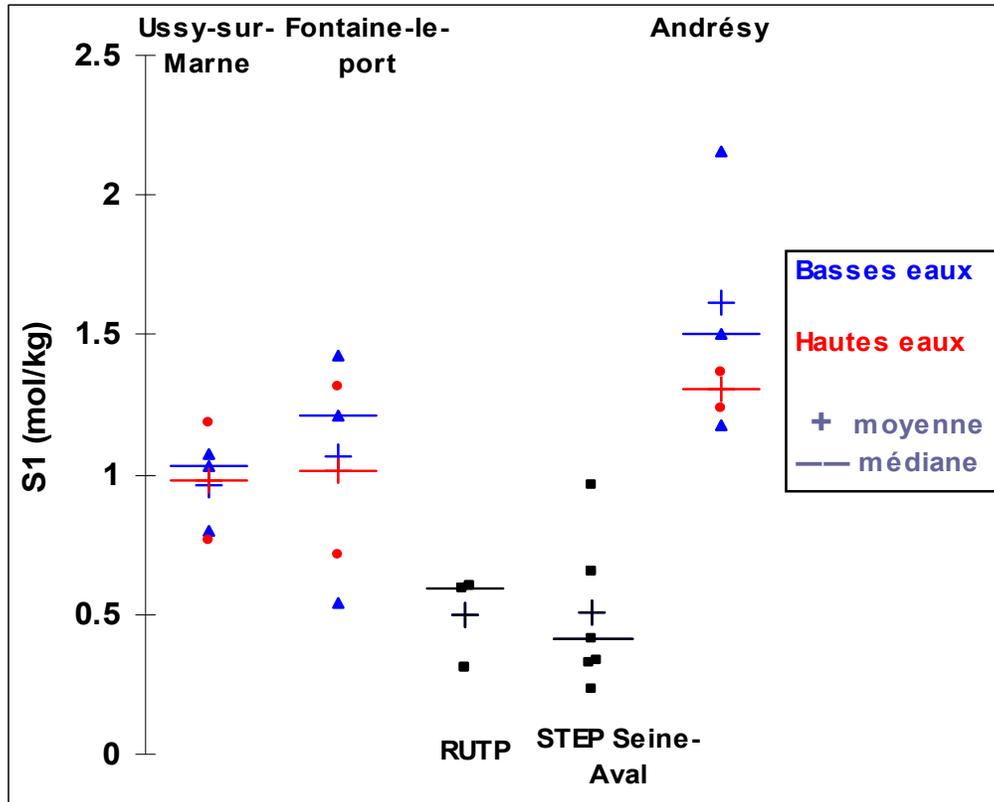
PARTIE B

contenus dans les structures protéiques. Ces résultats sont cohérents avec la littérature qui montre l'impact des rejets urbains sur l'évolution des constantes ainsi que des capacités complexantes de MOD de l'amont à l'aval (Pardo *et al.*, 1994; Muller, 1996; Kozelka and Bruland, 1998; Town and Filella, 2000; Pernet-Coudrier, 2008; Santos-Echeandia *et al.*, 2008). Notons que cet aspect est moins marqué en période de hautes eaux en raison de la dilution des rejets.

Ces résultats indiquent le rôle important des substances non humiques, notamment de la MOD hydrophile (HPI), dans la complexation du cuivre. Ces composés hydrophiles sont d'ailleurs très abondants dans les rejets urbains de temps de pluie et de temps sec et sont sans doute plus facilement dégradables (faible aromaticité et forte présence de protéines). Ils soulèvent donc la question suivante : si d'une part la MOD issue des rejets urbains révèle un pouvoir complexant plus important que la MOD en amont de Paris, et d'autre part cette MOD urbaine présente un faible degré de maturité, comment la biodégradation va-t-elle affecter la spéciation des métaux en aval de la Seine ?

	log K3	S3	S3	log K2	S2	S2	log K1	S1	S1
	l/mol	mol/kg C	mol/l	l/mol	mol/kg C	mol/l	l/mol	mol/kg C	mol/l
Basses eaux									
Ussy-sur-Marne				11.2	1.6E-01	3.24E-07	7.7	9.7E-01	1.97E-06
				0.38	7.8E-02	1.76E-07	0.34	1.5E-01	5.71E-07
Fontaine-le-port				10.2	1.3E-01	2.74E-07	7.4	1.1E+00	2.32E-06
				0.35	3.7E-02	1.02E-07	0.46	4.6E-01	1.12E-06
RUTP	13.0	2.6E-02	3.45E-07	9.9	1.3E-01	1.70E-06	7.2	5.0E-01	6.12E-06
	1.00	8.5E-03	2.09E-07	1.04	8.1E-02	1.39E-06	0.44	1.7E-01	3.03E-06
STEP Seine-Aval	12.9	5.7E-02	8.33E-07	10.2	1.9E-01	2.33E-06	7.3	5.1E-01	6.25E-06
	0.65	3.7E-02	6.17E-07	0.82	9.7E-02	1.22E-06	0.62	2.6E-01	2.98E-06
Andrésy				10.5	2.2E-01	7.67E-07	7.4	1.6E+00	5.58E-06
				0.50	4.8E-02	1.99E-07	0.53	5.0E-01	1.92E-06
Hautes eaux									
Ussy-sur-Marne				10.2	1.4E-01	4.12E-07	7.4	9.8E-01	2.88E-06
				0.21	5.9E-03	7.21E-08	0.17	3.0E-01	1.00E-06
Fontaine-le-port				11.0	3.2E-01	1.05E-06	7.9	1.0E+00	3.28E-06
				0.07	1.1E-01	3.99E-07	0.38	4.2E-01	1.47E-06
RUTP	13.0	2.6E-02	3.45E-07	9.9	1.3E-01	1.70E-06	7.2	5.0E-01	6.12E-06
	1.00	8.5E-03	2.09E-07	1.04	8.1E-02	1.39E-06	0.44	1.7E-01	3.03E-06
STEP Seine-Aval	12.9	5.7E-02	8.33E-07	10.2	1.9E-01	2.33E-06	7.3	5.1E-01	6.25E-06
	0.65	3.7E-02	6.17E-07	0.82	9.7E-02	1.22E-06	0.62	2.6E-01	2.98E-06
Andrésy				10.4	1.3E-01	4.97E-07	7.3	1.3E+00	4.97E-06
				0.12	2.9E-02	1.29E-07	0.21	9.5E-02	7.45E-07

Tableau 31: Constantes d'affinité et capacités complexantes des MOD de différentes sources en périodes de hautes eaux et de basses eaux (valeurs moyennes en gras et incertitudes).



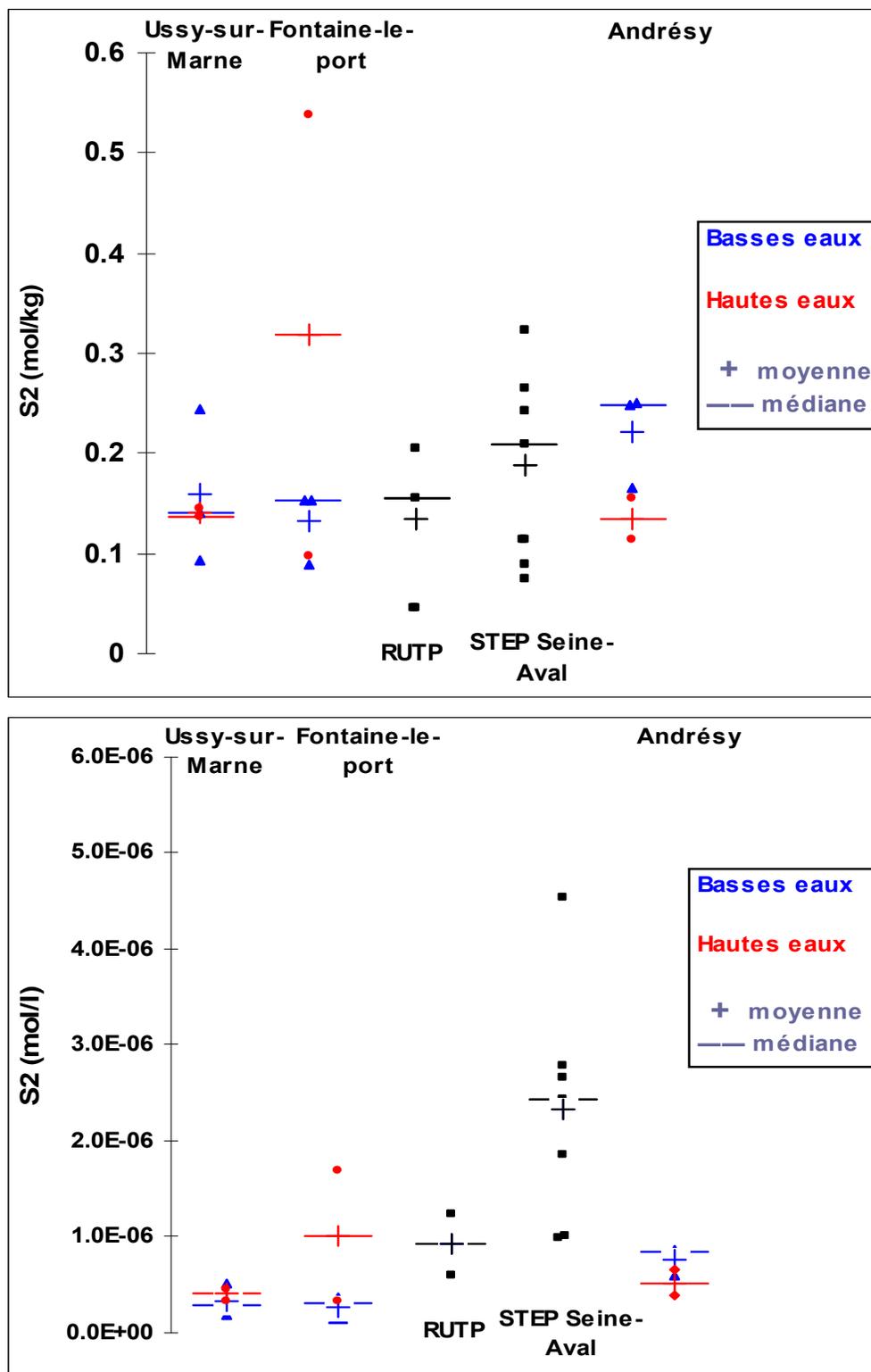


Figure 79 : Distribution des capacités complexantes des MOD des différentes sources en fonction de la période de l'année (en haut: sites d'affinité faible S_1 , en bas: sites d'affinité forte S_2).

III.1.6.1. Pourcentage du flux de sites complexants à l'aval de l'agglomération provenant de la STEP Seine-Aval

Le calcul du pourcentage du flux de sites provenant de la STEP Seine-Aval à l'aval de l'agglomération (Andrésey) montre clairement qu'en période de basses eaux, le flux de sites complexants à Andrésey provenant des rejets de la STEP Seine Aval est beaucoup plus important qu'en période de hautes eaux (dilution de rejets) (*Figure 80*). Ceci est mis en évidence pour tous les types de ligands ainsi que pour la somme de ces sites complexants. Nous pouvons observer que le pourcentage de sites d'affinité forte (S_2) observés à Andrésey qui provient de la STEP Seine-Aval est plus important que celui des sites d'affinité faible (S_1). Ce qui montre que l'impact des rejets urbains sur les sites en aval, comme à Andrésey, est principalement mis en évidence par les ligands forts caractéristiques de ces rejets. Cependant on n'a pas pu calculer la contribution en pourcentage des sites du troisième type de ligand de l'affinité la plus forte (S_3) provenant de SAV à Andrésey, puisque comme les résultats précédents le montrent, la MOD à Andrésey possède deux types de ligands et non pas trois. Pour cela, on a calculé le pourcentage de la somme des sites (S_2+S_3) provenant de la STEP Seine-Aval par rapport au nombre des sites (S_2) présent à Andrésey. En effet l'absence de ce troisième type de ligand à Andrésey peut être due au fait de dilution de S_3 provenant des rejets lors du mélange avec le milieu récepteur vu déjà sa faible concentration.

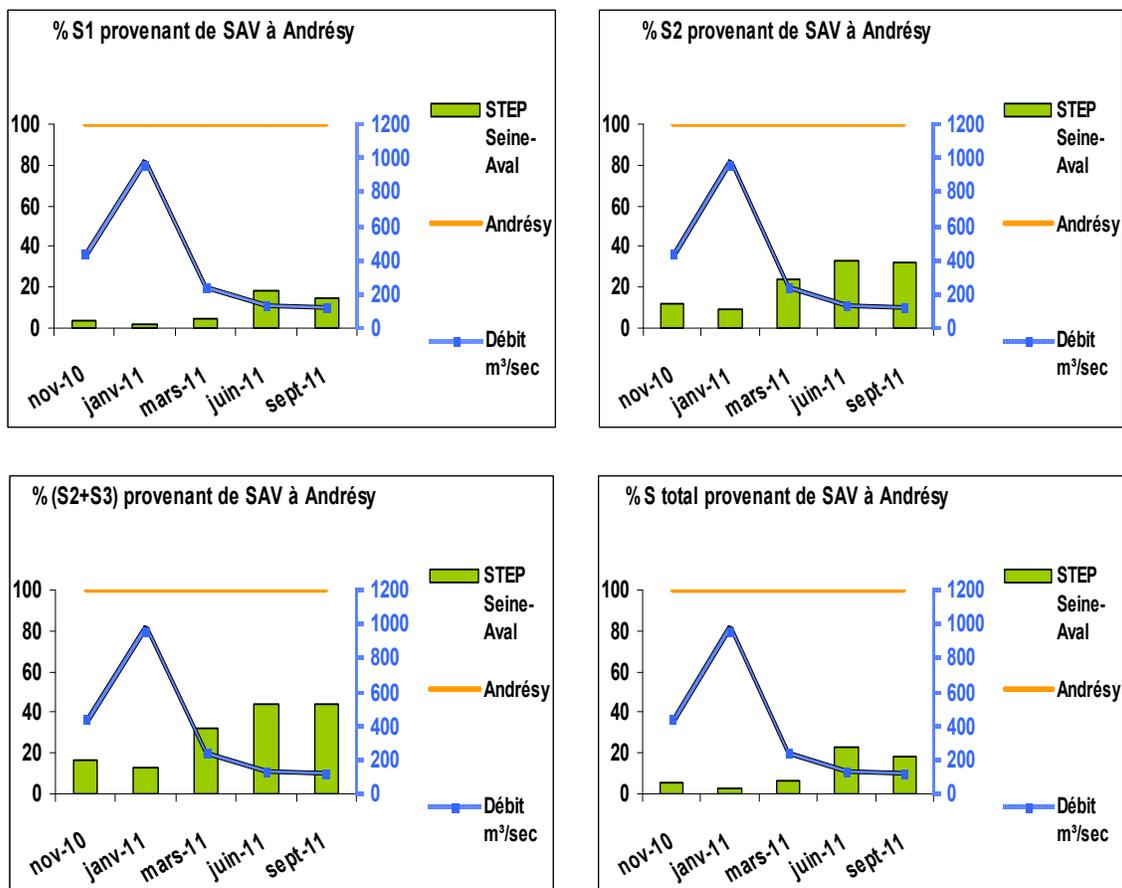


Figure 80: Variation temporelle du pourcentage du flux de sites complexants à l'aval de l'agglomération provenant de la STEP Seine-Aval

III.2. EVALUATION DU ROLE DE LA MOD SUR LA BIODISPONIBILITE DU CUIVRE

Après la détermination des paramètres de complexation des MOD caractérisées précédemment, l'influence de la MOD sur la biodisponibilité du cuivre a été étudiée. Pour ce faire, des biotests de toxicité ont été réalisés. Nous présentons dans ce paragraphe les résultats obtenus. La méthodologie utilisée est présentée dans le paragraphe (II.2) de cette partie.

La Figure 81 suivante illustre à titre d'exemple le type de courbes doses-réponses obtenues dans notre étude. L'effet, ici le pourcentage de daphnies immobilisées, est exprimé en fonction de la concentration en cuivre. La concentration en cuivre peut être exprimée en cuivre libre ou en cuivre total dissous (cas de l'illustration). Lorsque la concentration en cuivre est exprimée en cuivre total dissous, nous pouvons observer le très fort impact de la (MOD) sur les courbes dose-réponse obtenues. En effet, en complexant le cuivre, la MOD diminue sa biodisponibilité et par conséquent nécessite des

concentrations plus élevées en cuivre pour obtenir le même effet, d'où le décalage de la courbe dose réponse vers les plus fortes concentrations. Les courbes doses-réponses et la concentration provoquant un effet (immobilisation) sur 50 % de la population (EC50) sont obtenues par un ajustement non linéaire des données expérimentales à l'aide du modèle logistique REGTOX (cf II.2.2).

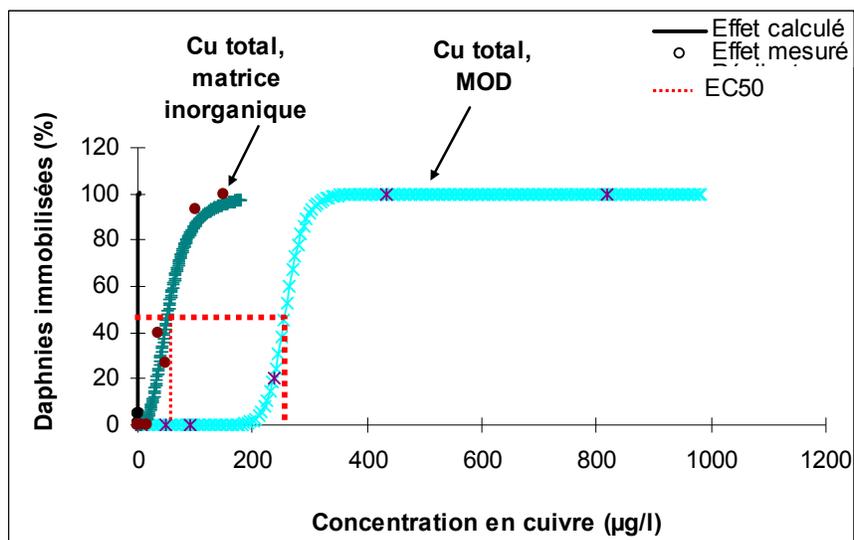


Figure 81: Courbes doses-réponses du cuivre exprimées en cuivre total pour la matrice inorganique et organique.

III.2.1. EVALUATION DU RÔLE DE LA MOD SUR LA BIODISPONIBILITÉ DU CUIVRE : LE CAS DES ÉCHANTILLONS NON FRACTIONNÉS

Plusieurs études ont montré que *Daphnia magna* répondait bien au modèle du ligand biotique vis à vis du cuivre (Di Toro *et al.*, 2001). Si le modèle du ligand biotique est respecté, alors pour un même effet toxique, l'activité du métal libre est toujours la même quel que soit la nature des ligands organiques en solution (sous réserve que l'activité des ions majeurs reste constante). Par conséquent, l'activité du cuivre libre dans les biotests en matrice minérale et organique est identique lorsque l'on se place à des niveaux de toxicité similaires (l'EC50 par exemple). Il est donc possible d'estimer la concentration de cuivre libre à l'EC50 (ainsi qu'à n'importe quel autre effet) en matrice organique à partir des biotests réalisés en matrice inorganique. Parallèlement, la concentration en cuivre libre en matrice organique peut aussi être déterminée en utilisant l'électrode ionique spécifique (ESI).

En matrice inorganique, la concentration en cuivre libre responsable de l'immobilisation de 50% de la population en daphnies a été calculée à partir de la composition de l'eau minérale Volvic et des EC50 mesurées en utilisant le code de spéciation (logiciel VisualMINTEQ).

La Figure 82 présente l'ensemble des EC50 obtenues pour chaque MOD et exprimées en cuivre total et libre (mesuré par électrode spécifique). Notons que les concentrations en cuivre total sont les concentrations mesurées dans l'échantillon même du biotest en fin de biotest.

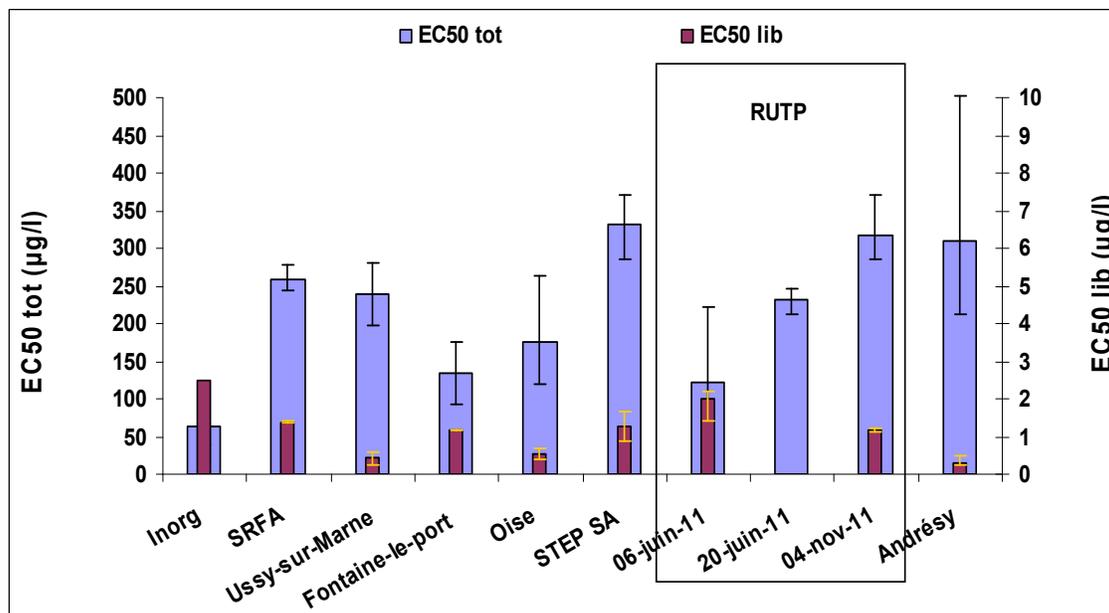


Figure 82: EC50 exprimées en cuivre total et en cuivre libre (ISE) pour chaque MOD étudiée et pour la matrice inorganique.

Les résultats obtenus montrent tout d'abord une faible variabilité pour les 3 tests effectués en matrice minérale soulignant la bonne répétabilité du biotest et la non-évolution de l'élevage de clones de daphnies.

Les $EC50_{tot}$ (exprimée en cuivre total) sont systématiquement supérieures en présence de MOD par rapport aux tests réalisés en matrice inorganique. Ceci montre l'effet protecteur de la MOD vis-à-vis de la toxicité du cuivre pour les organismes vivants. Ceci est très cohérent avec la littérature qui montre le rôle de la matière organique dans la diminution de la toxicité des métaux (Markich *et al.*, 2003; Schwartz *et al.*, 2004; De Schamphelaere *et al.*, 2004b; DePalma *et al.*, 2011; Trenfield *et al.*, 2011). Néanmoins, nous pouvons observer de fortes différences (du simple au double) des $EC50_{tot}$ selon le type de MOD avec des incertitudes parfois importantes (jusqu'à 60 % de la valeur de l' $EC50_{tot}$).

Les MOD issues des milieux faiblement impactés par l'urbanisation présentent des différences significatives entre elles. Nous observons, par exemple, que l' $EC50_{tot}$ de la MOD prélevée à Fontaine-le-port est plus faible que celles mesurées pour Conflans-fin d'Oise et Ussy-sur-Marne. Les valeurs obtenues pour ces deux derniers sites sont comparables avec celle obtenue pour la matière organique SRFA. Cela démontre l'important rôle protecteur de la MO hydrophobe de référence (Pernet-coudrier

et al., 2008; Sanchez-Marin and Beiras, 2011, 2012; Sanchez-Marin *et al.*, 2012). Pour le site en aval de l'agglomération parisienne, comparé aux sites amont, nous observons une $EC50_{tot}$ plus élevée (Fontaine-le-port) ou comparable (Ussy-sur-Marne). Ces résultats mettent en évidence l'effet protecteur de la MOD urbaine vis-à-vis de la toxicité du cuivre pour *Daphnia magna*.

Le rôle protecteur de la MOD issue des effluents de STEP Seine-Aval est supérieur à celui des MOD provenant des sites amont. Cela confirme l'influence de la MOD urbaine dans la diminution de la toxicité vis-à-vis les métaux comme cela a été démontré dans quelques études (Buzier *et al.*, 2006b; Pernet-coudrier *et al.*, 2008; Sanchez-Marin *et al.*, 2010; Worms *et al.*, 2010; DePalma *et al.*, 2011; Kang *et al.*, 2011; Yi *et al.*, 2011).

Concernant les rejets urbains de temps de pluie, certaines différences peuvent être observées pour les trois évènements qui ont été étudiés :

- les $EC50_{tot}$ des évènements des 06-juin, 20-juin et 04-nov-2011 présentent des différences significatives. Cette différence peut être expliquée par la proportion d'eaux usées qui varie entre ces trois évènements (*Tableau 10*). L' $EC50_{tot}$ semble augmenter avec l'augmentation des teneurs en eaux usées même si le nombre d'évènement est trop faible pour affirmer une tendance.
- En comparant les $EC50_{tot}$ des RUTP avec celle mesurée pour les rejets de STEP, on constate que ces derniers présentent un $EC50_{tot}$ plus élevée. Dans une certaine mesure, cela corrobore la tendance observée dans les RUTP entre l' $EC50_{tot}$ et la proportion d'eaux usées lors de l'évènement.

En présence de MOD, les $EC50_{libre}$ (mesurées par ESI) sont toujours très inférieures aux $EC50_{tot}$. Ces $EC50_{libre}$ sont du même ordre de grandeur pour les différents types MOD et pour la matrice inorganique, ce qui est cohérent avec le modèle de l'ion libre.

III.2.2. EVALUATION DU ROLE DE LA MOD SUR LA BIODISPONIBILITE DU CUIVRE : LE CAS DES ECHANTILLONS FRACTIONNES

La *Figure 83* présente la variation des $EC50$ lors du fractionnement de la MOD provenant des rejets urbains. Les résultats mettent en évidence une $EC50_{tot}$ plus élevée pour la fraction hydrophile (HPI) aussi bien dans les rejets urbains de temps de pluie des deux évènements 06 et 20-juin que dans les rejets de temps sec de la STEP Seine-Aval.

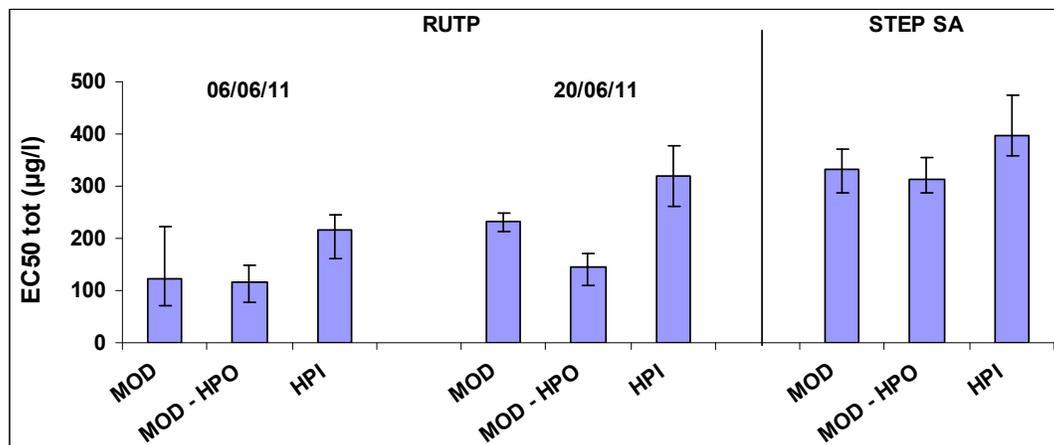


Figure 83: EC50 exprimées en cuivre total des différentes fractions obtenues en sortie de résine au cours du fractionnement de la MOD contenue dans les RUTP et dans les rejets de temps sec STEP.

Même si les différences d'EC50_{tot} ne sont pas toujours significatives (en tenant compte des incertitudes) entre les échantillons collectés au cours du fractionnement, il apparaît qu'il y a une tendance à l'augmentation de l'EC50_{tot} avec l'hydrophilicité.

Il semble donc possible de dire que le pouvoir protecteur de la MOD issue des rejets urbains, en partie grâce à la fraction hydrophile qui y est abondante, joue un rôle très important sur la biodisponibilité du cuivre avec un pouvoir protecteur au moins aussi important vis-à-vis de la toxicité du cuivre que la MOD en amont de l'agglomération parisienne issue d'un site peu urbanisé.

Le SUVA : un outil prédictif de l'effet protecteur de la MOD ?

Il a été démontré que le SUVA à 254 nm était un bon indicateur de l'effet protecteur de la MOD vis-à-vis de la toxicité de cuivre pour *Daphnia magna* (Kramer *et al.*, 2004; De Schamphelaere *et al.*, 2004b). En effet, l'effet protecteur et l'aromaticité, sont positivement corrélés. Dans notre étude, le SUVA ne peut pas être utilisé pour estimer l'effet protecteur de la MOD (Figure 84). Aucune corrélation entre le SUVA et l'EC50_{tot} n'apparaît.

Ceci est tout à fait en accord avec les résultats obtenus précédemment. En effet nous avons mis en évidence le fait que la MOD contenue dans les rejets urbains et également à l'aval de l'agglomération parisienne avait une forte affinité complexante. Nous avons également montré que cette forte affinité complexante était due à des composés non humiques, principalement à des composés azotés et éventuellement à des composés soufrés et à des polysaccharides. Ces composés exercent donc un réel effet protecteur, bien qu'absorbant faiblement dans le domaine UV.

Dans ce contexte, le développement de critères pour évaluer la qualité des eaux doit tenir compte non seulement de la présence d'acides humiques et fulviques mais aussi de celle d'autres substances telles que par exemple les polysaccharides et les protéines qui présentent une faible

absorbance en UV mais semble jouer un rôle important dans la complexation des métaux. En conséquence, l'introduction de facteurs de corrections basés sur l'aromaticité de la MOD peut être éventuellement appropriée si la composition de la MOD est dominée par les SH mais ça n'est pas le cas dans des milieux récepteurs sous forte pression urbaine

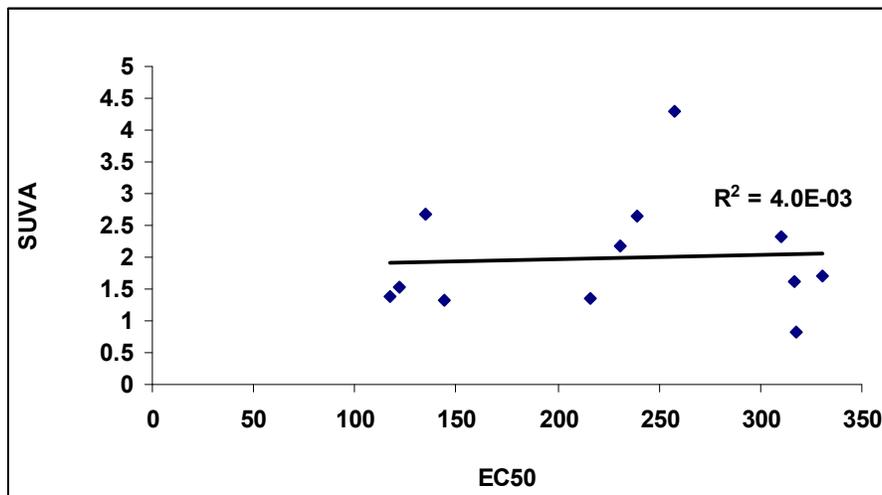


Figure 84: Corrélation entre le SUVA et les $EC50_{tot}$ ($\mu\text{g/L}$) déterminées pour les différentes sources de MOD étudiées.

IV. Conclusion

L'influence de la MOD sur la spéciation du cuivre a été étudiée dans la deuxième partie de ce travail. Les constantes et capacités de complexation ont été obtenues grâce à la titration de la MOD par des ajouts croissants de cuivre. Le cuivre libre a été déterminé par une mesure à l'électrode spécifique. L'ajustement des données expérimentales par l'isotherme de Langmuir nous a permis d'obtenir les paramètres de complexation de la matière organique dissoute en nous focalisant sur la fraction hydrophile. Les résultats obtenus ici montrent une réactivité importante de la MOD d'origine urbaine et particulièrement de sa fraction HPI vis-à-vis du cuivre comparée à celle que nous avons déterminée pour la MOD plus hydrophobe provenant de l'amont de l'agglomération parisienne. En outre, nous avons pu démontrer que cette forte affinité complexante de la MOD des rejets urbains influence fortement celle de la MOD présente en aval de l'agglomération parisienne qui présente des teneurs plus importantes en sites complexants qu'à l'amont de l'agglomération.

En termes de flux de sites complexants, la contribution des rejets de la STEP Seine-Aval sur le site aval de l'agglomération est plus marquée en période de basses eaux qu'en période de hautes eaux (dilution), et plus particulièrement pour les sites d'affinité forte.

Des corrélations intéressantes ont pu être dégagées entre les paramètres de complexation de la MOD et leurs caractéristiques structurales, démontrés précédemment, mettant en évidence le rôle particulier des groupements azotés dans la complexation du cuivre par la MOD d'origine urbaine.

Si la MOD d'origine anthropique possède un fort pouvoir complexant vis-à-vis du cuivre, qu'en est-il de son pouvoir protecteur vis-à-vis de la toxicité des métaux pour les organismes vivants dans le milieu aquatique ?

La réponse à la deuxième question a fait aussi l'objet de cette deuxième partie de cette étude. En réalité, l'effet des métaux sur les écosystèmes dépend principalement de leurs diverses formes en solution, c'est-à-dire leur spéciation. En dépit de certaines exceptions, les modèles FIAM et BLM ont montré que la forme libre du métal est proportionnelle à l'effet biologique observé. La biodisponibilité du cuivre a été évaluée ici biologiquement en déterminant la réponse toxique d'un crustacé (*Daphnia magna*) à une exposition au cuivre en présence des différents échantillons de MOD testées (cette réponse biologique reflétant alors la concentration biodisponible du métal). Cette approche a révélé pour l'ensemble des MOD un effet protecteur vis-à-vis du cuivre sur les organismes vivants et notamment pour la MOD issue des rejets urbains. On a pu montrer d'ailleurs que cet effet est positivement corrélé avec la teneur en eaux usées, notamment pour les MOD des RUTP et plus particulièrement pour la fraction hydrophile (HPI), signalant ainsi la forte influence de la MOD d'origine urbaine sur la biodisponibilité et la toxicité du cuivre.

CONCLUSIONS GENERALES ET PERSPECTIVES

Les systèmes aquatiques urbanisés présentent des teneurs importantes en micropolluants organiques et métalliques en raison notamment des rejets urbains. L'impact de ces micropolluants, plus particulièrement des micropolluants métalliques, sur le milieu récepteur dépend pour une large part de leur spéciation. En effet, les métaux traces sont présents dans les milieux aquatiques sous différentes formes chimiques. Au sein de la phase dissoute (au sens opérationnel du terme), les métaux peuvent être sous forme libre hydratée ou sous forme de complexe inorganique ou organique voire adsorbée sur une fraction colloïdale. Ces différentes formes, qui évoluent en fonction des conditions physicochimiques 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 les cycles géochimiques des métaux traces. Si durant les dernières décennies, de nombreuses études ont été publiées sur la capacité de la matière organique dissoute (MOD) à complexer les métaux, les paramètres de complexation déterminés pour les différents métaux présentent une grande variabilité. Cette grande dispersion peut être due à la variabilité expérimentale, mais elle est sans doute largement imputable à la nature de la matière organique étudiée. En effet, il est intéressant de noter que la plupart des travaux se sont bornés à étudier les substances humiques qui représentent en moyenne de 40 à 60 % du carbone organique dissous dans les eaux naturelles de surface et qui constituent la fraction hydrophobe de la matière organique. Cependant, dans les cours d'eau urbanisés, en raison des rejets urbains et de la productivité primaire induite, le caractère hydrophile de la MOD augmente et des études récentes menées sur des eaux usées urbaines ont mis en évidence leur capacité à complexer les métaux malgré (ou en raison de) leur forte teneur en substances hydrophiles (Pernet-Coudrier, 2008). Cependant en raison de la très grande difficulté d'isolation et de purification de la matière organique hydrophile, très peu d'informations sur son rôle sur la spéciation et sur la biodisponibilité des métaux dans les milieux aquatiques sont disponibles dans la littérature.

L'objectif de ce travail était donc d'étudier les interactions entre la matière organique dissoute d'origine urbaine, notamment la fraction hydrophile, et les métaux (cuivre) afin de mettre en évidence l'influence de la MOD des milieux urbanisés sur la spéciation et la biodisponibilité des métaux dans les milieux récepteurs en zone urbaine.

Afin de mettre en évidence le rôle de la matière organique dissoute d'origine urbaine sur la spéciation et la biodisponibilité des métaux et de le comparer à des substances hydrophobes issues du milieu naturel, trois types de MOD ont été étudiés dans le cadre de ce travail en tenant compte toutefois de la variabilité temporelle. Il s'agit tout d'abord des rejets urbains de temps de pluie non

Conclusion

traités qui sont déversés dans le milieu pendant les événements pluvieux intenses et qui sont récupérés au déversoir d'orage de Clichy. Nous avons également étudié les rejets urbains de temps sec provenant des cinq principales stations d'épuration de l'agglomération parisienne dont les traitements épuratoires sont différents. Enfin, la MOD du milieu récepteur a également été étudié sur quatre sites de l'amont à l'aval de l'agglomération parisienne. Les deux sites localisés à l'amont de l'agglomération parisienne, ont été choisis en raison de leur faible urbanisation et ont constitué en quelque sorte notre « référence » peu urbanisée. Un troisième site localisé sur la Seine, à l'aval de l'agglomération parisienne, a été choisi afin d'évaluer l'impact des rejets urbains sur la qualité et la quantité de la MOD en Seine. Le quatrième site est localisé sur l'Oise à Conflans-fin d'Oise a été étudié pour évaluer les caractéristiques de la MOD qui joue un rôle important selon sa polarité en formation de sous-produits de désinfection ainsi qu'en colmatage des membranes de filtration dans un cadre de potabilisation des eaux ou de réutilisation des eaux usées.

Pour répondre à notre objectif, il a été décidé de réaliser le fractionnement de la MOD selon des critères de polarité. En effet le fractionnement de la MOD nous permet de travailler spécifiquement sur la composante hydrophile de la MOD contenue dans l'échantillon et donc d'étudier spécifiquement son rôle sur la biogéochimie (spéciation et biodisponibilité) des éléments traces métalliques dans les systèmes aquatiques.

L'échantillon préconcentré et acidifié est passé sur des résines chromatographiques placées en série dans le but de fractionner l'échantillon selon la polarité. Les deux premières résines utilisées sont des résines non ioniques (DAX-8 et XAD-4) qui retiennent respectivement les deux fractions, hydrophobe (HPO) et transphilique (TPI). La fraction hydrophile (HPI) non retenue par ces deux résines est fractionnée selon des critères d'acidité en trois sous-fractions hydrophiles acide, basique et neutre grâce à des résines supplémentaires AGMP-50 et AGMP-1. Ces deux résines sont respectivement des résines échangeuses de cations et d'anions. La sous-fraction hydrophile neutre non retenue par aucune de ces résines se trouve dans l'effluent final.

Dans le cadre des travaux précédents menés par Benoit Pernet-Coudrier, il avait été décidé de travailler sur les fractions HPO, TPI et surtout HPI purifiées. La purification des fractions obtenues présente l'avantage d'éliminer les sels présents et donc d'avoir accès à un plus large panel de techniques de caractérisation de la MOD. Toutefois, la purification des fractions organiques, en plus d'entraîner des pertes de MO, est très longue et diminue très fortement notre cadence analytique. Notre objectif étant de prendre en compte la variabilité spatio-temporelle de la MOD dans le milieu récepteur ainsi que dans les rejets urbains, il nous est apparu indispensable de modifier notre méthodologie afin d'augmenter très sensiblement notre cadence analytique. Pour cette raison, les fractions de MOD n'ont pas été purifiées et contiennent donc les sels initialement présents en solution. Cela limite bien entendu le panel d'outils de caractérisation de la MOD à notre disposition par contre cela n'influence que très peu les paramètres de complexation qui ont été déterminés. La méthodologie

que nous avons retenue présente en outre l'avantage d'obtenir les sous fractions hydrophiles et par conséquent de mieux cibler les composés chimiques responsables des caractéristiques observées.

La répartition du COD selon les fractions varie fortement d'un site à l'autre et selon la nature de l'échantillon (rejets urbains ou milieu récepteur). La fraction hydrophobe représente un pourcentage plus important du COD dans les échantillons du milieu récepteur amont alors que cette fraction hydrophobe est plus faible dans les RUTP et les effluents de STEP. Pour les échantillons d'origine urbaine, la fraction hydrophile est la fraction prédominante puisqu'elle représente près de la moitié du COD. La fraction transphilique représente de 10 à 30% selon les échantillons. En période de basses eaux, la forte proportion de COD hydrophile dans les rejets urbains influence sensiblement le site situé à l'aval de l'agglomération. Nous pouvons observer qu'en période d'étiage, 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. D'ailleurs, il a été démontré une augmentation d'un facteur deux du flux de la MOD, plus particulièrement pour la MOD hydrophile, en aval par rapport à l'amont en période de basses eaux. Il est donc confirmé que si l'on veut étudier les interactions entre la MOD et les micropolluants métalliques dans les cours d'eau fortement urbanisés, il est indispensable de prendre en compte la fraction hydrophile. Notons que ces résultats ont été acquis durant une année particulièrement sèche (cf.III.4.1 de la partie A) avec des débits faibles et donc des impacts des rejets urbains qui sont amplifiés du fait de la moindre dilution.

Des outils d'analyses fonctionnelles, fluorescence et UV-visible, ont été déployés dans le but de caractériser, dans les meilleures conditions possibles, la MOD contenue dans les échantillons non fractionnés et fractionnés (en particulier la fraction HPI). Les analyses en spectroscopie UV-visible mettent en évidence une faible aromaticité des rejets urbains comparée à celle des MOD de l'amont particulièrement en période de hautes eaux où le caractère humique est dominant. Une forte proportion des structures protéiques dans la MOD des rejets urbains notamment pour les fractions hydrophiles a également pu être observée en spectrofluorescence, entraînant une présence importante de groupements fonctionnels azotés potentiellement fixateurs de métaux (confirmée par l'étude des interactions avec les métaux).

L'influence de la MOD sur la spéciation du cuivre a été étudiée. Les constantes et capacités de complexation ont été obtenues grâce à la titration de la MOD par des ajouts croissants de cuivre. Le cuivre libre a été déterminé par une mesure à l'électrode spécifique. L'ajustement des données expérimentales par l'isotherme de Langmuir nous a permis d'obtenir les paramètres de complexation de la matière organique dissoute en nous focalisant sur la fraction hydrophile. Les résultats obtenus ici montrent une réactivité importante de la MOD d'origine urbaine et particulièrement de sa fraction HPI vis-à-vis du cuivre comparée à celle que nous avons déterminée pour la MOD plus hydrophobe provenant de l'amont de l'agglomération parisienne. En outre, nous avons pu démontrer que cette forte capacité complexante de la MOD des rejets urbains influence fortement la MOD en aval de

Conclusion

l'agglomération parisienne qui présente des teneurs plus importantes en sites complexants qu'à l'amont de l'agglomération. En effet, la contribution des rejets de la STEP Seine-Aval sur le site aval de l'agglomération a été plus marquée en période de basses eaux qu'en période de hautes eaux (dilution) en termes des concentrations en sites, et plus particulièrement pour les sites d'affinité forte. Des corrélations intéressantes ont pu être dégagées entre les paramètres de complexation et les caractéristiques structurales des fractions mettant en évidence le rôle particulier de groupements azotés dans la complexation du cuivre. L'étude de la structure des complexes par l'emploi de techniques telles que la spectroscopie d'absorption des rayons X permettrait peut-être d'affiner le niveau de comparaison entre les différentes fractions et, par là même, de mieux définir la nature des sites complexants.

L'effet des métaux sur les écosystèmes dépend principalement de leurs diverses formes en solution, c'est-à-dire leur spéciation. En dépit de certaines exceptions, les modèles FIAM et BLM ont montré que la forme libre du métal est proportionnelle à l'effet biologique observé. La biodisponibilité du cuivre a été évaluée ici biologiquement en évaluant la réponse toxique d'un crustacé (*Daphnia magna*) à une exposition au cuivre en présence des différents échantillons de MOD testées (cette réponse biologique reflétant alors la concentration biodisponible du métal). Cette approche a révélé pour l'ensemble des MOD un effet protecteur vis-à-vis du cuivre sur les organismes vivants et notamment pour la MOD issue des rejets urbains. On a pu montrer d'ailleurs que cet effet est positivement corrélé avec la teneur en eaux usées, notamment pour les MOD des RUTP et plus particulièrement pour la fraction hydrophile (HPI), signalant ainsi la forte influence de la MOD d'origine urbaine sur la biodisponibilité et la toxicité du cuivre.

L'ensemble de cette étude a permis non seulement d'apporter de nombreuses informations sur la composition et la structure de la MOD en milieu urbain mais aussi d'évaluer son influence sur la spéciation et la biodisponibilité des métaux. Si sa réactivité vis-à-vis des métaux semble particulièrement importante, principalement en raison de sa richesse en groupements fonctionnels, notamment azotés, en revanche son faible degré d'aromaticité, d'hydrophobicité autrement dit de maturation soulève de nouvelles perspectives sur le devenir de ces MOD d'origine anthropique dans le milieu récepteur en particulier notamment vis-à-vis de la spéciation et de la biodisponibilité des métaux. En effet, il est particulièrement important de pouvoir évaluer, grâce à des études de biodégradabilité de la MOD urbaine, la persistance de cette MOD dans le milieu récepteur et donc la persistance de son effet sur la spéciation, la biodisponibilité et la toxicité des métaux traces dans les systèmes urbanisés. D'autre part, il semble intéressant d'étudier les interactions entre la matière organique dissoute d'origine urbaine et les contaminants organiques ainsi qu'avec les particules afin d'évaluer l'effet de la MO sur la capacité de sorption des micropolluants par les particules, qui peut influencer d'ailleurs la sédimentation des micropolluants et donc leur transport et leur devenir dans les cours d'eau urbanisés.

ANNEXES

Annexe 1: La filière de traitement biologique : Les Biostyrs

Les Biostyrs sont des biofiltres dont le matériau filtrant est constitué de biostyrène. Ces granulats fins de polystyrène expansé offrent un support pour les bactéries qui traitent la pollution. De densité inférieure à 1, ils sont retenus par un plafond à crépines lorsque le matériau entre en compression sous l'action mécanique du flux d'eaux usées. Le Biostyr fonctionne en courant ascendant. Le système est co-courant car l'air injecté servant à la croissance des bactéries circule dans le même sens que l'eau. Le lavage s'effectue quant-à lui à contre-courant grâce aux eaux traitées situées à la surface du biofiltre. Les eaux de lavage sont récupérées à la base du biofiltre et envoyées dans une bache d'eaux sales.

Annexe 2: La filière de traitement biologique : Les Biolests

Ces biofiltres sont des Biolest. Le matériau employé est de la Biozzolane (billes poreuses de pouzzolane) ayant une densité supérieure à 1. Le matériau qui repose sur un plancher à buselures entre ainsi en expansion au passage du flux. L'eau et l'air sont injectés à co-courant ascendant. L'eau traitée est évacuée en surface via une goulotte. Le lavage s'effectue grâce aux eaux en provenance d'une bache d'eau d'eaux de lavage qui sont injectées, tout comme l'air de lavage en courant ascendant. Lors de ce dernier, les frottements au sein du matériau décrochent le biofilm et la matière organique en excès. Les eaux sales sont déversées dans une goulotte menant vers la bache à eaux sales.

Annexe 3: Calibration de l'électrode ionique sélective

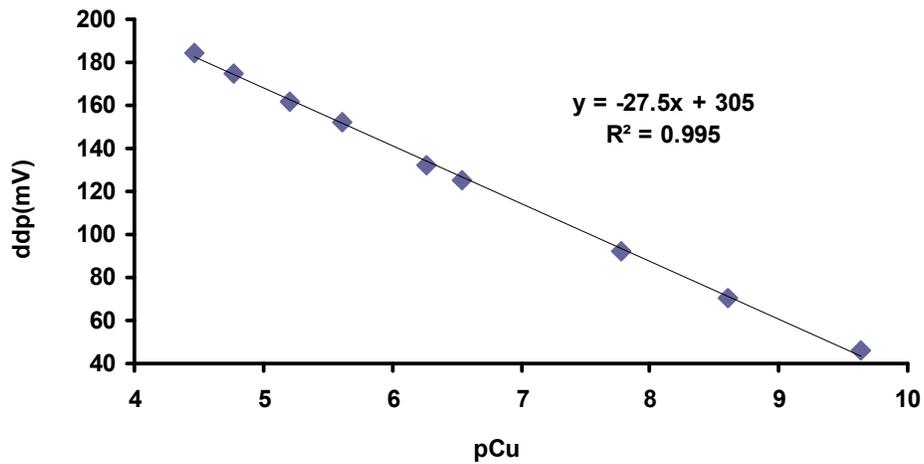


Figure 85: Exemple de courbe obtenue pour la calibration de l'électrode ionique sélective cuivre.

La Figure 85 présente la calibration en matrice minérale et organique aboutissant à une droite dont l'équation est :

$$ddp = -27.5 pCu + 305 \quad \text{Équation 6}$$

que nous calculerons les valeurs de pCu ou de (Cu^{2+}) selon la formule suivante :

$$pCu = \frac{ddp_{mesuré}(mV) - 305}{-27.5} \langle \text{avec } pCu = -\log(Cu^{2+}) \rangle \quad \text{Équation 7}$$

REFERENCES

- 2000/60/DCE. (23 octobre 2000). Directive 2000/60/CE du Parlement et du Conseil établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau, 32000L0060.
- Abbott, P., Harley, S., Hickman, A., Layfield, R., McCrae, I., Nelson, P., Phillips, S., and Wilson, J. (1995). The environmental assessment of traffic management schemes., Transport Research Laboratory, Crowthorne.
- Achterberg, E.P., and Braungardt, C. (1999). Stripping voltammetry for the determination of trace metal speciation and in-situ measurements of trace metal distributions in marine waters. *Analytica Chimica Acta* 400.
- Admiraal, W., Barranguet, C., van Beusekom, S.A.M., Bleeker, E.A.J., van den Ende, F.P., van der Geest, H.G., Groenendijk, D., Ivorra, N., Kraak, M.H.S., and Stuijzand, S.C. (2000). Linking ecological and ecotoxicological techniques to support river rehabilitation. *Chemosphere* 41, 289-295.
- Afcharian, A., Levi, Y., Kiene, L., and Scribe, P. (1997). Fractionation of dissolved organic matter from surface waters using macroporous resins. *Water Research* 31.
- Ah-Peng, C., and De Traubenberg, C.R. (2004). Aquatic bryophytes as pollutant accumulators and ecophysiological bioindicators of stress : bibliographic synthesis. *Cryptogamie Bryologie* 25.
- Ahearn, G.A., Mandal, P.K., and Mandal, A. (2004). Mechanisms of heavy-metal sequestration and detoxification in crustaceans: a review. *Journal of Comparative Physiology B-Biochemical Systemic and Environmental Physiology* 174.
- Ahmad, S., and Reynolds, D. (1994). Synchronous fluorescence spectroscopy of wastewater and some potential constituents, vol. 29, *Water research*, 1599-1602.
- Aiken, G., and Leenheer, J. (1993). Isolation and chemical characterization of dissolved and colloidal organic matter, *Chem. Ecol*, 8.
- Aiken, G.R., McKnight, D.M., Thorn, K.A., and Thurman, E.M. (1992). Isolation of hydrophilic organic-acids from water using nonionic macroporous resins. *Organic Geochemistry* 18, 567-573.
- Aiken, G.R., Thurman, E.M., Malcolm, R.L., and Walton, H.F. (1979). Comparison of XAD macroporous resins for the resins for the concentration of fulvic-acid from aqueous-solution. *Analytical Chemistry* 51.
- Akkanen, J., Lyytikäinen, M., Tuikka, A., and Kukkonen, J.V.K. (2005). Dissolved organic matter in pore water of freshwater sediments: Effects of separation procedure on quantity, quality and functionality. *Chemosphere* 60, 1608-1615.
- Alberts, J.J., Takacs, M., and Pattanayek, M. (2001). Influence of IHSS standard and reference materials on copper and mercury toxicity to *Vibrio fischeri*. *Acta Hydrochimica Et Hydrobiologica* 28.
- Allen, A.G., Nemitz, E., Shi, J.P., Harrison, R.M., and Greenwood, J.C. (2001). Size distributions of trace metals in atmospheric aerosols in the United Kingdom. *Atmospheric Environment* 35.
- Anderson, D.M., and Morel, F.M.M. (1978). Copper sensitivity of "*Gonyaulax tamarensis*", vol. 23 (2), *Limnology and Oceanography*, 283-290.
- Andrew, R.W., Biesinger, K.E., and Glass, G.E. (1977). Effects of inorganic complexing on the toxicity of copper to *Daphnia magna*, vol. 11 (3), *Water Research*, 309-315.

- Andy Baker, R.I., Martin Charlton, Susie Richmond. (2002). Detecting river pollution using fluorescence spectrophotometry: case studies from the Ouseburn, NE England. *Environmental Pollution* 124 (2003) 57–70, 57-70.
- Anirudhan, T.S., and Suchithra, P.S. (2010). Heavy metals uptake from aqueous solutions and industrial wastewaters by humic acid-immobilized polymer/bentonite composite: Kinetics and equilibrium modeling. *Chemical Engineering Journal* 156.
- Apte, S.C., Batley, G.E., Bowles, K.C., Brown, P.L., Creighton, N., Hales, L.T., Hyne, R.V., Julli, M., Markich, S.I., Pablo, F., Rogers, N.J., Stauber, J.L., and Wilde, K. (2005). A comparison of copper speciation measurements with the toxic responses of three sensitive freshwater organisms. *Environmental Chemistry* 2.
- Arnaud, P. (1997). *Cours de chimie physique*, Dunod.
- Artinger, R., Buckau, G., Geyer, S., Fritz, P., Wolf, M., and Kim, J.I. (2000). Characterization of groundwater humic substances: influence of sedimentary organic carbon. *Applied Geochemistry* 15, 97-116.
- Assemi, S., Newcombe, G., Hepplewhite, C., and Beckett, R. (2004). Characterization of natural organic matter fractions separated by ultrafiltration using flow field-flow fractionation. *Water Research* 38, 1467-1476.
- Azimi, S., Cambier, P., Lecuyer, I., and Thevenot, D. (2004). Heavy metal determination in atmospheric deposition and other fluxes in northern France agrosystems. *Water Air and Soil Pollution* 157, 295-313.
- Baize, D. (1997). *Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols (France)*, Institut National de la Recherche Agronomique INRA, pp. 409.
- Baken, S., Degryse, F., Verheyen, L., Merckx, R., and Smolders, E. (2011). Metal Complexation Properties of Freshwater Dissolved Organic Matter Are Explained by Its Aromaticity and by Anthropogenic Ligands. *Environmental Science & Technology* 45, 2584-2590.
- Baker, A. (2001). Fluorescence excitation-emission matrix characterization of some sewage-impacted rivers. *Environmental Science & Technology* 35, 948-953.
- Baker, A., and Inverarity, R. (2004). Protein-like fluorescence intensity as a possible tool for determining river water quality. *Hydrological Processes* 18, 2927-2945.
- Baker, A., Inverarity, R., Charlton, M., and Richmond, S. (2003). Detecting river pollution using fluorescence spectrophotometry: case studies from the Ouseburn, NE England. *Environmental Pollution* 124, 57-70.
- Baker, A., and Spencer, R.G.M. (2004). Characterization of dissolved organic matter from source to sea using fluorescence and absorbance spectroscopy. *Science of the Total Environment* 333, 217-232.
- Baker, A., Ward, D., Lieten, S.H., Periera, R., Simpson, E.C., and Slater, M. (2004). Measurement of protein-like fluorescence in river and waste water using a handheld spectrophotometer. *Water Research* 38, 2934-2938.
- Baladès, J., Peybernard, J., and Pilloy, J. (1984). *La pollution chronique des eaux de ruissellement d'autoroutes interurbaines*, LCPC-Scetauroute-SETRA.
- Bard, A.J., and Faulkner, L.R. (1983). *Electrochimie, Principes, méthodes et applications*, Masson, 791p.
- Batley, G.E. (1989). *Trace element speciation: analytical methods and problems*, CRC Press,, Boca Raton,.
- Batley, G.E., Apte, S.C., and Stauber, J.L. (2004). Speciation and bioavailability of trace metals in water: Progress since 1982. *Australian Journal of Chemistry* 57.
- Benedetti, M.F., vanRiemsdik, W.H., and Koopal, L.K. (1996). Humic substances considered as a heterogeneous donnan gel phase. *Environmental Science & Technology* 30.

REFERENCES

- Bernhard, M., Brinckman, F.E., and Sadler, P.J. (1986). The importance of chemical "speciation" in environmental processes". Springer-Verlag Berlin and Heidelberg GmbH & Co. KG, Berlin, 762p.
- Berthe, C. (2006). Etude de la Matière Organique contenue dans des lixiviats issus de différentes filières de traitement des déchets ménagers et assimilés, Université de Limoges.
- Bollag, J.M., Myers, C.J., and Minard, R.D. (1992). biological and chemical interactions of pesticides with soil organic-matter. *Science of the Total Environment* 123, 205-217.
- Bossuyt, B.T.A., and Janssen, C.R. (2003). Acclimation of *Daphnia magna* to environmentally realistic copper concentrations. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology* 136.
- Boutron, C., Rosman, K., Barbante, C., Bolshov, M., Adams, F., Hong, S.M., and Ferrari, C. (2004). Anthropogenic lead in polar snow and ice archives. *Comptes Rendus Geoscience* 336, 847-867.
- Bracmort, G. (2010). Détermination des métaux labiles par les disques chélatants : validation de la méthode et application sur des matrices environnementales Université Paris Est Créteil Val de Marne.
- Breault, R.F., Colman, J.A., Aiken, G.R., and McKnight, D. (1996). Copper speciation and binding by organic matter in copper-contaminated streamwater. *Environmental Science & Technology* 30.
- Bridgeman, J., Bieroza, M., and Baker, A. (2011). The application of fluorescence spectroscopy to organic matter characterisation in drinking water treatment. *Reviews in Environmental Science and Bio-Technology* 10, 277-290.
- Brockaert, J.A.C., Gucer, S., and Adams, F. (1990). Metal speciation in the environment, Springer-Verlag, Berlin.
- Brombach, H., Weiss, G., and Fuchs, S. (2005). A new database on urban runoff pollution: comparison of separate and combined sewer systems. *Water Science and Technology* 51, 119-128.
- Brown, P.L., and Markich, S.J. (2000). Evaluation of the free ion activity model of metal-organism interaction: extension of the conceptual model. *Aquatic Toxicology* 51, 177-194.
- Bruland, K.W. (1992). Complexation of Cadmium by Natural Organic-Ligands in the Central North Pacific., vol. 37 (5), 1008-1017., *Limnology and Oceanography*.
- Bruland, K.W., Rue, E.L., Donat, J.R., Skrabal, S.A., and Moffett, J.W. (2000). Intercomparison of voltammetric techniques to determine the chemical speciation of dissolved copper in a coastal seawater sample. *Analytica Chimica Acta* 405.
- Bryan, S.E., Tipping, E., and Hamilton-Taylor, J. (2002). Comparison of measured and modelled copper binding by natural organic matter in freshwaters. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology* 133, 37-49.
- Buffle, J. (1988). Complexation reactions in aquatic systems : an analytical approach, Masson M. and Tyson J. F., Ellis Horwood, New York, 692 p.
- Buffle, J., Deladoey, P., and Haerdi, W. (1978). use of ultrafiltration for separation and fractionation of organic-ligands in fresh waters. *Analytica Chimica Acta* 101, 339-357.
- Burba, P., Aster, B., Nifant'eva, T., Shkinev, V., and Spivakov, B.Y. (1998). Membrane filtration studies of aquatic humic substances and their metal species: a concise overview Part 1. Analytical fractionation by means of sequential-stage ultrafiltration. *Talanta* 45, 977-988.
- Burm, R.J., Krawczyk, D.F., and Harlow, G.L. (1968). Chemical and physical comparison of combined and separate sewer discharges. *Journal - Water Pollution Control Federation* 40, 112-126.
- Buzier, R. (2005). Evolution de la speciation des métaux dans les eaux résiduaires urbaines lors du traitement par boues activées".

- Buzier, R., Tusseau-Vuillemin, M., Meriadec, C., Rousselot, O., and Mouchel, J. (2006a). Trace metal speciation and fluxes within a major French wastewater treatment plant: Impact of the successive treatments stages. *Chemosphere* 65, 2419-2426.
- Buzier, R., Tusseau-Vuillemin, M.H., and Mouchel, J.M. (2006b). Evaluation of DGT as a metal speciation tool in wastewater. *Science of the Total Environment* 358.
- Cabaniss, S.E., and Shuman, M.S. (1986). Combined ion-selective electrode and fluorescence quenching detection for copper-dissolved organic-matter titrations. *Analytical Chemistry* 58.
- Calace, N., Liberatori, A., Petronio, B.M., and Pietroletti, M. (2001). Characteristics of different molecular weight fractions of organic matter in landfill leachate and their role in soil sorption of heavy metals. *Environmental Pollution* 113, 331-339.
- Calderoni, G., and Schnitzer, M. (1984). effects of age on the chemical-structure of paleosol humic acids and fulvic-acids. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 48, 2045-2051.
- Campbell, P.G.C. (1995). Interactions between trace metals and aquatic organisms: a critique of the free-ion activity model. In: *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems.*, eds. A. Tessier and D.R. Turner.
- Cao, J., Lam, K.C., Dawson, R.W., Liu, W.X., and Tao, S. (2004). The effect of pH, ion strength and reactant content on the complexation of Cu²⁺ by various natural organic ligands from water and soil in Hong Kong. *Chemosphere* 54.
- Celerier, J. (2008). Caractérisation moléculaire et dynamique de la matière organique de compost (Déchets verts/ Biodéchets) dans un sol, L'université de Poitiers.
- Chebbo, G. (1992). Solides des rejets urbains de temps de pluie : caractérisation et traitabilité., Ecole Nationale des Ponts et Chaussées, Paris.
- Chebbo, G., and Gromaire, M.C. (2004). The experimental urban catchment 'Le Marais' in Paris: what lessons can be learned from it? *Journal of Hydrology* 299, 312-323.
- Chen, W., Westerhoff, P., Leenheer, J.A., and Booksh, K. (2003). Fluorescence excitation - Emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter. *Environmental Science & Technology* 37, 5701-5710.
- Cheshire, M.V., Russell, J.D., Fraser, A.R., Bracewell, J.M., Robertson, G.W., Benzingpurdie, L.M., Ratcliffe, C.I., Ripmeester, J.A., and Goodman, B.A. (1992). Nature of soil carbohydrate and its association with soil humic substances. *Journal of Soil Science* 43.
- Chian, E.S.K., and Dewalle, F.B. (1976). sanitary landfill leachates and their treatment. *Journal of the Environmental Engineering Division-Asce* 102, 411-431.
- Chin, Y.P., Aiken, G., and Oloughlin, E. (1994). molecular-weight, polydispersity, and spectroscopic properties of aquatic humic substances. *Environmental Science & Technology* 28, 1853-1858.
- Chocat, B. (1995). innovative technologies in urban storm drainage (novatech-95) - selected proceedings of the 2nd novatech conference on innovative technologies in urban storm drainage, held in lyon, france, 30 may 1 june. *Water Science and Technology* 32, R7-R9.
- Chocat, B. (1997). Town planning and hydrology. *Houille Blanche-Revue Internationale De L Eau* 52, 12-19.
- Choi, K., Kim, B., Imai, A., and Matsushige, K. (2002). Vertical distribution and fractionation of dissolved organic carbon in a deep Korean reservoir, Lake Soyang. *Archiv Fur Hydrobiologie* 155, 333-352.
- Christensen, J.B., and Christensen, T.H. (2000). The effect of pH on the complexation of Cd, Ni and Zn by dissolved organic carbon from leachate-polluted groundwater. *Water Research* 34.
- Christensen, J.B., Jensen, D.L., and Christensen, T.H. (1996). Effect of dissolved organic carbon on the mobility of cadmium, nickel and zinc in leachate polluted groundwater. *Water Research* 30, 3037-3049.

REFERENCES

- Christl, I., Metzger, A., Heidmann, I., and Kretzschmar, R. (2005). Effect of humic and fulvic acid concentrations and ionic strength on copper and lead binding. *Environmental Science & Technology* 39.
- CITEPA. (2011). Emissions dans l'air en France. Substances relatives aux métaux lourds., pp.28.
- Clement, B., and Zald, S. (2004). A new protocol to measure the effects of toxicants on daphnid-algae interactions. *Chemosphere* 55.
- Coble, P.G. (1996). Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation emission matrix spectroscopy. *Marine Chemistry* 51, 325-346.
- Coleman, W.E., Munch, J.W., and Kopfler, F.C. (1984). Advances in the analysis of organic contaminants in drinking-water by gas-liquid partition and GC/MS. Abstracts of Papers of the American Chemical Society 188, 48-ENVR.
- Collinson, M.M. (1999). Sol-gel strategies for the preparation of selective materials for chemical analysis. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 29.
- Companys, E. (2003). Speciation of heavy metals in macromolecular systems by electroanalytical techniques, Departament de Química, Universitat de Lleida, Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Agrària.
- Cook, R.L. (2004). Coupling NMR to NOM. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 378.
- Cooney, R.P., Vodinh, T., and Winefordner, J.D. (1977). Sit image vidicon as a gas-phase fluorescence detector for gas-chromatography. *Analytica Chimica Acta* 89, 9-19.
- Cox, L., Celis, R., Hermosin, M.C., Cornejo, J., Zsolnay, A., and Zeller, K. (2000). Effect of organic amendments on herbicide sorption as related to the nature of the dissolved organic matter. *Environmental Science & Technology* 34, 4600-4605.
- Cronan, C.S., and Aiken, G.R. (1985). chemistry and transport of soluble humic substances in forested watersheds of the adirondack park, new-york. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 49, 1697-1705.
- Croue, J.-P. (2004). Isolation of humic and non-humic NOM fractions: structural characterization. *Environmental monitoring and assessment* 92, 193-207.
- Croue, J.P., Benedetti, M.F., Violleau, D., and Leenheer, J.A. (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. *Environmental Science & Technology* 37, 328-336.
- Croue, J.P., Violleau, D., Bodaire, C., and Legube, B. (1999a). Removal of hydrophobic and hydrophilic constituents by anion exchange resin. *Water Science and Technology* 40, 207-214.
- Croue, J.P., Violleau, D., Labouyrie-Rouillier, L., Leenheer, J.L., and Aiken, G. (1999b). DBP formation potentials of hydrophobic and hydrophilic NOM fractions: A comparison between a low and a high-humic water. Abstracts of Papers of the American Chemical Society 217, U722-U722.
- Croué, J., Debroux, J., Aiken, G., Leenheer, J., and Amy, G. (1999). "Natural organic matter : structural characteristics and reactive properties". in Formation and control of disinfection by-products in drinking water, Singer P. C., The American Water Works Association, Denver.
- Croué, J.-P., Korshin, G., Leenheer, J., and Benjamin, M. (2000). Isolation, fractionation and characterization of natural organic matter in drinking Water, The American Water Works Association, Denver,.
- Da Silva, J., Machado, A., and Silva, M. (1998). Acid-base properties of fulvic acids extracted from an untreated sewage sludge and from composted sludge. *Water Research* 32.
- Das, B., Nordin, R., and Mazumder, A. (2009). Watershed land use as a determinant of metal concentrations in freshwater systems. *Environmental Geochemistry and Health* 31.

- Davis, A.P., Shokouhian, M., and Ni, S.B. (2001a). Loading estimates of lead, copper, cadmium, and zinc in urban runoff from specific sources. *Chemosphere* 44, 997-1009.
- Davis, A.P., Shokouhian, M., and Ni, S.B. (2001b). Loading estimates of lead, copper, cadmium, and zinc in urban runoff from specific sources. *Chemosphere* 44.
- Davis, W.M., Erickson, C.L., Johnston, C.T., Delfino, J.J., and Porter, J.E. (1999). Quantitative Fourier Transform Infrared spectroscopic investigation of humic substance functional group composition. *Chemosphere* 38.
- De Schamphelaere, K.A.C., Heijerick, D.G., and Janssen, C.R. (2002b). Refinement and field validation of a biotic ligand model predicting acute copper toxicity to *Daphnia magna*. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology* 133.
- De Schamphelaere, K.A.C., Heijerick, D.G., and Janssen, C.R. (2004). Comparison of the effect of different pH buffering techniques on the toxicity of copper and zinc to *Daphnia magna* and *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Ecotoxicology* 13.
- De Schamphelaere, K.A.C., and Janssen, C.R. (2002a). A biotic ligand model predicting acute copper toxicity for *Daphnia magna*: The effects of calcium, magnesium, sodium, potassium, and pH. *Environmental Science & Technology* 36.
- De Schamphelaere, K.A.C., and Janssen, C.R. (2004a). Development and field validation of a biotic ligand model predicting chronic copper toxicity to *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23.
- De Schamphelaere, K.A.C., and Janssen, C.R. (2004b). Effects of chronic dietary copper exposure on growth and reproduction of *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23.
- De Schamphelaere, K.A.C., and Janssen, C.R. (2004c). Effects of dissolved organic carbon concentration and source, pH, and water hardness on chronic toxicity of copper to *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23.
- De Schamphelaere, K.A.C., Unamuno, V.I.R., Tack, F.M.G., Vanderdeelen, J., and Janssen, C.R. (2005). Reverse osmosis sampling does not affect the protective effect of dissolved organic matter on copper and zinc toxicity to freshwater organisms. *Chemosphere* 58.
- De Schamphelaere, K.A.C., Vasconcelos, F.M., Tack, F.M.G., Allen, H.E., and Janssen, C.R. (2004b). Effect of dissolved organic matter source on acute copper toxicity to *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23, 1248-1255.
- Deines, P. (1980). The isotopic composition of reduced organic carbon, *Handbook of environmental isotope geochemistry*, Fritz P. and Fontes J. C.,; Elsevier, Amsterdam, 329-406.
- Deleebeek, N.M.E., De Schamphelaere, K.A.C., and Janssen, C.R. (2007). A bioavailability model predicting the toxicity of nickel to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and fathead minnow (*Pimephales promelas*) in synthetic and natural waters. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 67.
- DePalma, S.G.S., Arnold, W.R., McGeer, J.C., Dixon, D.G., and Smith, D.S. (2011). Effects of dissolved organic matter and reduced sulphur on copper bioavailability in coastal marine environments. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74.
- Determann, S., Lobbes, J.M., Reuter, R., and Rullkotter, J. (1998). Ultraviolet fluorescence excitation and emission spectroscopy of marine algae and bacteria. *Marine Chemistry* 62, 137-156.
- Di Toro, D.M., Allen, H.E., Bergman, H.L., Meyer, J.S., Paquin, P.R., and Santore, R.C. (2001). Biotic ligand model of the acute toxicity of metals. 1. Technical basis. *Environmental Toxicology and Chemistry* 20.
- Dignac, M.-F. (1998). Caractérisation chimique de la matière organique au cours du traitement des eaux usées par boues activées, Centre International de recherche sur l'eau et l'environnement, Université de Paris VI.

REFERENCES

- Dignac, M.F., Ginestet, P., Bruchet, A., Audic, J.M., Derenne, S., and Largeau, C. (2001). Changes in the organic composition of wastewater during biological treatment as studied by NMR and IR spectroscopies. *Water Science and Technology* 43.
- Donat, J.R., and Van Den Berg, C.M.G. (1992). A new cathodic stripping voltammetric method for determining organic copper complexation in seawater. *Marine Chemistry* 38.
- Drewes, J.E., Croue, J.P., Committee, I.P., Committee, I.P., Iwa, P., and Committee. (2002). New approaches for structural characterization of organic matter in drinking water and wastewater effluents. 2nd World Water Congress: Drinking Water Treatment 2.
- Dudley, R., and Fyfe, C. (1982). Evaluation of the quantitative reliability of the ^{13}C CP/MAS technique for the analysis of coals and related materials, vol. 61 (7), *Fuel*, 651-657.
- Duursma, E., and Dawson, R. (1981). Evolution, composition, interactions and chemistry of organic matter in seawater, *Marine organic chemistry*.: Amsterdam - Oxford - New York: Elsevier Oceanography Series.
- Dzombak, D.A., Fish, W., and Morel, F.M.M. (1986). Metal humate interactions. I. Discrete ligand and continuous distribution models. *Environmental Science & Technology* 20.
- Eary, L.E., and Jenne, E.A. (1992). Version 4.00 of the MINTEQ Geochemical Code. Paci.c. Northwest National Laboratory Report PNL-8190. 155.
- Edzwald, J.K. (1993). Coagulation in drinking-water treatment -particles, organics and coagulants. *Water Science and Technology* 27, 21-35.
- El Samrani, A.G., Lartiges, B.S., Ghanbaja, J., Yvon, J., and Kohler, A. (2004). Trace element carriers in combined sewer during dry and wet weather: an electron microscope investigation. *Water Research* 38.
- Elendt, B.P., and Bias, W.R. (1990). Trace nutrient deficiency in *Daphnia-Magna* cultured in standard medium for toxicity testing - Effects of the optimization of culture conditions on life-history parameters of *Daphnia-Magna*. *Water Research* 24.
- Ellis, J.B., and Revitt, D.M. (1982). Incidence of heavy-metals in street surface sediments-solubility and grain-size studies. *Water Air and Soil Pollution* 17.
- Erickson, R.J., Benoit, D.A., Mattson, V.R., Nelson, H.P., and Leonard, E.N. (1996). The effects of water chemistry on the toxicity of copper to fathead minnows. *Environmental Toxicology and Chemistry* 15.
- Erk, M., and Raspor, B. (2001). Anodic stripping voltammetry in the complexation study of the peptide Lys-Cys-Thr-Cys-Cys-Ala 56-61 MT I and cadmium: application in determination of the complexing capacity and stability constant. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 502.
- Esteves da Silva, J.C., Machado, A.A., Oliveira, C.J., and Pinto, M.S. (1998). Fluorescence quenching of anthropogenic fulvic acids by Cu(II), Fe(III) and UO₂(2+). *Talanta* 45.
- Esteves da Silva, J.C.G., and Oliveira, C.J.S. (2002). Metal ion complexation properties of fulvic acids extracted from composted sewage sludge as compared to a soil fulvic acid. *Water research* 36.
- Even, S., Billen, G., Bacq, N., They, S., Ruelland, D., Garnier, J., Cugier, P., Poulin, M., Blanc, S., Lamy, F., and Paffoni, C. (2007). New tools for modelling water quality of hydrosystems: An application in the Seine River basin in the frame of the Water Framework Directive. *Science of the Total Environment* 375, 274-291.
- Felmy, A.R., Girvin, D., and Jenne, E.A. (1984). MINTEQ: A computer program for calculating aqueous geochemical equilibria, US Environmental Protection Agency, 98.
- Fernandez, X., and Cabrol-Bass, D. (2007). Analyses des arômes: Université de Nice-Sophia Antipolis.
- Fiedler, S., and Kalbitz, K. (2003). Concentrations and properties of dissolved organic matter in forest soils as affected by the redox regime. *Soil Science* 168, 793-801.

- Filella, M. (2008). Freshwaters: which NOM matters?, *Environmental Chemistry Letters*, 10.1007/s10311-008-0158-x.
- Fish, W., Dzombak, D.A., and Morel, F.M.M. (1986). Metal humate interactions .2. Application and comparison of models. *Environmental Science & Technology* 20.
- Florence, T.M. (1986). Electrochemical approaches to trace-element speciation in waters - a review. *Analyst* 111.
- Florence, T.M., and Batley, G.E. (1980). Chemical speciation in natural-waters. *Crc Critical Reviews in Analytical Chemistry* 9.
- Flores-Rodriguez, J. (1992). Les métaux toxiques dans les eaux pluviales en milieu urbain : caractéristiques physico-chimiques., Université Paris XII - Val de Marne, Créteil, 229 p.
- Frimmel, F.H. (1998). Characterization of natural organic matter as major constituents in aquatic systems. *Journal of Contaminant Hydrology* 35, 201-216.
- Fukushi, K., Kato, S., Antsuki, T., and Omura, T. (2001). Isolation of copper-binding proteins from activated sludge culture. *Water Science and Technology* 44.
- Förstner, U., and Wittman, G. (1983). *Metal pollution in the aquatic environment.*, Springer Verlag, Berlin, Allemagne.
- Gaber, J. (1993). L'eau et la route. Les atteintes aux milieux aquatiques.
- Galapate, R.P., Baes, A.U., Ito, K., Mukai, T., Shoto, E., and Okada, M. (1998). Detection of domestic wastes in Kurose River using synchronous fluorescence spectroscopy. *Water Research* 32, 2232-2239.
- Garnaud, S. (1999). Transfert et évolution géochimique de la pollution métallique en bassin versant urbain.
- Garnaud, S., Mouchel, J.M., Chebbo, G., and Thevenot, D.R. (1999). Heavy metal concentrations in dry and wet atmospheric deposits in Paris district: comparison with urban runoff. *Science of the Total Environment* 235, 235-245.
- Garnier, C. (2004). Modélisation et évaluation des équilibres de complexation entre la matière organique naturelle, les métaux traces et le proton. Applications aux eaux naturelles, Université du Sud Toulon Var.
- Gasperi, J. (2006). Introduction et transfert des hydrocarbures à différentes échelles spatiales dans le réseau d'assainissement parisien., École Nationale des Ponts et Chaussées.
- Gasperi, J., Garnaud, S., Rocher, V., and Moilleron, R. (2009). Priority pollutants in surface waters and settleable particles within a densely urbanised area: Case study of Paris (France). *Science of the Total Environment* 407.
- Gasperi, J., Garnaud, S., Rocher, V., and Moilleron, R. (2011). Priority substances in combined sewer overflows: case study of the Paris sewer network. *Water Science and Technology* 63.
- Gasperi, J., Gromaire, M.C., Kafi, M., Moilleron, R., and Chebbo, G. (2010a). Contributions of wastewater, runoff and sewer deposit erosion to wet weather pollutant loads in combined sewer systems. *Water Research* 44.
- Gasperi, J., Gromaire, M.C., Kafi, M., Moilleron, R., and Chebbo, G. (2010b). Contributions of wastewater, runoff and sewer deposit erosion to wet weather pollutant loads in combined sewer systems. *Water Research* 44, 5875-5886.
- Gasperi, J., Kafi-Benyahia, M., Lorgeoux, C., Moilleron, R., Gromaire, M.C., and Chebbo, G. (2008). Wastewater quality and pollutant loads in combined sewers during dry weather periods. *Urban Water Journal* 5.
- Geffard, O. (2001). Toxicité potentielle des sédiments marins et estuariens contaminés : évaluation chimique et biologique, biodisponibilité des contaminants étudiés., Université de Bordeaux 1, France.

REFERENCES

- Gillis, P.L., Chow-Fraser, P., Ranville, J.F., Ross, P.E., and Wood, C.M. (2005). *Daphnia* need to be gut-cleared too: the effect of exposure to and ingestion of metalcontaminated sediment on the gut-clearance patterns of *D. magna*, vol. 71 (2), *Aquatic Toxicology*.
- Gjessing, E.T., and Lee, G.F. (1967). Fractionation of organic matter in natural waters on Sephadex columns. *Environmental science & technology* 1, 631-638.
- Gnecco, I., Sansalone, J.J., and Lanza, L.G. (2008). Speciation of zinc and copper in stormwater pavement runoff from airside and landside aviation land uses. *Water Air and Soil Pollution* 192.
- Goldman, J.H., Rounds, S.A., and Needoba, J.A. (2012). Applications of Fluorescence Spectroscopy for Predicting Percent Wastewater in an Urban Stream. *Environmental Science & Technology* 46, 4374-4381.
- Goni, M., Teixeira, M., and Perkey, D. (2003). Sources and distribution of organic matter in a river-dominated estuary (Winyah Bay, SC, USA), *Estuarine Coastal and Shelf Science* 57 (5-6),.
- Gonzalez-Vila, F.J., Lankes, U., and Ludemann, H.D. (2001). Comparison of the information gained by pyrolytic techniques and NMR spectroscopy on the structural features of aquatic humic substances. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 58.
- Good, N.E., Winget, G.D., Winter, W., Connolly, T.N., Izawa, S., and Singh, R.M. (1966). Hydrogen ion buffers for biological research. *Biochemistry* 5.
- Goodyear, K.L., and McNeill, S. (1999). Bioaccumulation of heavy metals by aquatic macro-invertebrates of different feeding guilds: a review. *Science of the Total Environment* 229.
- Gounou, C. (2004). Caractérisation des sources d'éléments traces métalliques dans le réseau d'assainissement de Paris. CERREVE-ENPC, Rapport DEA Sciences et techniques de l'environnement.
- Gounou, C., Varrault, G., Amedzro, K., Gasperi, J., Moilleron, R., Garnaud, S., and Chebbo, G. (2011). Research of trace metals as markers of entry pathways in combined sewers. *Water Science and Technology* 63.
- Gromaire, M.C., and Chebbo, G. (2001). Pollutant concentration measurement uncertainties in sewage. *Houille Blanche-Revue Internationale De L Eau*, 109-114.
- Gromaire, M.C., Garnaud, S., Saad, M., and Chebbo, G. (2001). Contribution of different sources to the pollution of wet weather flows in combined sewers. *Water Research* 35, 521-533.
- Gromaire, M.C., Kafi-Benyahia, M., Gasperi, J., Saad, M., Moilleron, R., and Chebbo, G. (2008). Settling velocity of particulate pollutants from combined sewer wet weather discharges. *Water Science and Technology* 58.
- Gromaire-Metz, M.-C. (1998). La pollution des eaux pluviales urbaines en réseau d'assainissement unitaire. Caractéristiques et origines.
- Gruau. (2004). Pollution des captages d'eau brute de Bretagne par les matières organiques. DRASS de Bretagne et Région Bretagne, Rennes.
- Guan, R., and Wang, W.X. (2004). Cd and Zn uptake kinetics in *Daphnia magna* in relation to Cd exposure history. *Environmental Science & Technology* 38.
- Guan, R., and Wang, W.X. (2006). Multigenerational cadmium acclimation and biokinetics in *Daphnia magna*. *Environmental Pollution* 141.
- Guggenberger, G., and Zech, W. (1994). dissolved organic-carbon in forest floor leachates - simple degradation products or humic substances. *Science of the Total Environment* 152, 37-47.
- Guo, W., Xu, J., Wang, J., Wen, Y., Zhuo, J., and Yan, Y. (2010). Characterization of dissolved organic matter in urban sewage using excitation emission matrix fluorescence

spectroscopy and parallel factor analysis. *Journal of Environmental Sciences-China* 22, 1728-1734.

Gustafsson, J.P., Pechova, P., and Berggren, D. (2003). Modeling metal binding to soils: The role of natural organic matter. *Environmental Science & Technology* 37.

Haitzer, M., Hoss, S., Traunspurger, W., and Steinberg, C. (1999). Relationship between concentration of dissolved organic matter (DOM) and the effect of DOM on the bioconcentration of benzo a pyrene. *Aquatic Toxicology* 45.

Hamelink, J.L., Landrum, P.F., Bergman, H.L., and Benson, W.H. (1994). *Bioavailability: Physical, Chemical and Biological Interactions.*, CRC Press.

Hamilton, R.S., Revitt, D.M., and Warren, R.S. (1984). Levels and physico-chemical associations of Cd, Cu, Pb and Zn in road sediments., vol. vol 33, *The Science of the Total Environment*, pp 59-74.

Harmsen, J. (1983). identification of organic-compounds in leachate from a waste tip. *Water Research* 17, 699-705.

Harrison, R.M., and Wilson, S.J. (1985a). The chemical-composition of highway drainage waters .2. Chemical associations of metals in the suspended sediment. *Science of the Total Environment* 43.

Harrison, R.M., and Wilson, S.J. (1985b). The chemical-composition of highway drainage waters.3. Runoff water metal speciation characteristics. *Science of the Total Environment* 43.

Hatcher, P.G., Dria, K.J., Kim, S., and Frazier, S.W. (2001). Modern analytical studies of humic substances. *Soil Science* 166.

Hayase, K., and Tsubota, H. (1984). reversed-phase liquid-chromatography of molecular-weight fractionated sedimentary fulvic-acid. *Journal of Chromatography* 295, 530-532.

Hedges, J.I., Eglinton, G., Hatcher, P.G., Kirchman, D.L., Arnosti, C., Derenne, S., Evershed, R.P., Kogel-Knabner, I., de Leeuw, J.W., Littke, R., Michaelis, W., and Rullkotter, J. (2000). The molecularly-uncharacterized component of nonliving organic matter in natural environments. *Organic Geochemistry* 31.

Her, N., Amy, G., Foss, D., and Cho, J.W. (2002). Variations of molecular weight estimation by HP-size exclusion chromatography with UVA versus online DOC detection. *Environmental Science & Technology* 36, 3393-3399.

Hernandez, D., Plaza, C., Senesi, N., and Polo, A. (2006). Detection of copper(II) and zinc(II) binding to humic acids from pig slurry and amended soils by fluorescence spectroscopy. *Environmental Pollution* 143.

Hirose, K. (1994). Conditional stability-constants of metal-complexes of organic-ligands in sea-water - past and present, and a simple coordination chemistry model. *Analytica Chimica Acta* 284.

Hirose, K. (2006). Chemical speciation of trace metals in seawater: a review. *Analytical Sciences* 22.

Hnatukova, P. (2011). Geochemical distribution and mobility of heavy metals in sediments of urban streams affected by combined sewer overflows. *Journal of Hydrology and Hydromechanics* 59.

Hoffmann, S.R., Shafer, M.M., and Armstrong, D.E. (2007). Strong colloidal and dissolved organic ligands binding copper and zinc in rivers. *Environmental Science & Technology* 41, 6996-7002.

Hood, E., Williams, M., and McKnight, D. (2005). Sources of dissolved organic matter (DOM) in a Rocky Mountain stream using chemical fractionation and stable isotopes, *Biogeochemistry* 74 (2).

Houhou, J., Lartiges, B.S., Montarges-Pelletier, E., Sieliechi, J., Ghanbaja, J., and Kohler, A. (2009). Sources, nature, and fate of heavy metal-bearing particles in the sewer system. *Science of the Total Environment* 407.

REFERENCES

- Hu, J.Y., Ong, S.L., Shan, J.H., Kang, J.B., and Ng, W.J. (2003a). Treatability of organic fractions derived from secondary effluent by reverse osmosis membrane. *Water Research* 37.
- Hu, J.Y., Ong, S.L., Shan, J.H., Kang, J.B., and Ng, W.J. (2003b). Treatability of organic fractions derived from secondary effluent by reverse osmosis membrane. *Water Research* 37, 4801-4809.
- Huber, S.A., Scheunert, I., Dorfler, U., and Frimmel, F.H. (1992). interaction of dissolved organic-carbon (doc) with some pesticides in aqueous. *Zeitschrift Fur Wasser- Und Abwasser-Forschung-Journal for Water and Wastewater Research-Acta Hydrochimica Et Hydrobiologica*, 74-81.
- Hudson, N., Baker, A., and Reynolds, D. (2007). Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters - A review. *River Research and Applications* 23, 631-649.
- Huffman, J., and Stuber, H. (1985). Analytical methodology for elemental analysis of humic substances. In: *Humic Substances in Soil, Sediment and Water. Geochemistry, Isolation, and Characterization*, eds. G. Aiken, D. McKnight, R. Wershaw, P. MacCarthy, and S. Kounaves, Wiley, New York, 433-455.
- Huguet, A., Vacher, L., Relexans, S., Saubusse, S., Froidefond, J.M., and Parlanti, E. (2009). Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. *Organic Geochemistry* 40, 706-719.
- Hur, J., and Cho, J. (2012). Prediction of BOD, COD, and Total Nitrogen Concentrations in a Typical Urban River Using a Fluorescence Excitation-Emission Matrix with PARAFAC and UV Absorption Indices. *Sensors* 12, 972-986.
- Hur, J., Hwang, S.-J., and Shin, J.-K. (2008). Using synchronous fluorescence technique as a water quality monitoring tool for an urban river. *Water Air and Soil Pollution* 191, 231-243.
- Hyne, R.V., Pablo, F., Julli, M., and Markich, S.J. (2005). Influence of water chemistry on the acute toxicity of copper and zinc to the cladoceran *Ceriodaphnia cf dubia*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24.
- Imai, A., Fukushima, T., Matsushige, K., and Kim, Y.H. (2001). Fractionation and characterization of dissolved organic matter in a shallow eutrophic lake, its inflowing rivers, and other organic matter sources. *Water Research* 35, 4019-4028.
- Imai, A., Fukushima, T., Matsushige, K., Kim, Y.H., and Choi, K. (2002). Characterization of dissolved organic matter in effluents from wastewater treatment plants. *Water Research* 36, 859-870.
- Ishiwatari, R., Yamamoto, S., and Handa, N. (1995). Characterization of sinking particles in the ocean by pyrolysis-gas chromatography mass-spectrometry. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 32.
- Isnard, P., Flammarion, P., Roman, G., Babut, M., Bastien, P., Bintein, S., Essermeant, L., Ferard, J.F., Gallotti-Schmitt, S., Saouter, E., Saroli, M., Thiebaud, H., Tomassone, R., and Vindimian, E. (2001). Statistical analysis of regulatory ecotoxicity tests. *Chemosphere* 45.
- Jagner, D. (1983). Automated-determination of some trace-elements by means of computerized potentiometric stripping analysis. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society* 186.
- Jarusutthirak, C., and Amy, G. (2006). Role of soluble microbial products (SMP) in membrane fouling and flux decline. *Environmental Science & Technology* 40.
- Jarusutthirak, C., and Amy, G. (2007). Understanding soluble microbial products (SMP) as a component of effluent organic matter (EfOM). *Water Research* 41.
- Jarusutthirak, C., Amy, G., and Croue, J.P. (2002). Fouling characteristics of wastewater effluent organic matter (EfOM) isolates on NF and UF membranes. *Desalination* 145.

- Johannessen, S., Macdonald, R., and Paton, D. (2003). A sediment and organic carbon budget for the greater Strait of Georgia, *Estuarine Coastal and Shelf Science* 56 (3-4).
- Jones, K.C., and de Voogt, P. (1999). Persistent organic pollutants (POPs): state of the science. *Environmental Pollution* 100.
- Kafi, M., Gasperi, J., Moilleron, R., Gromaire, M.C., and Chebbo, G. (2008). Spatial variability of the characteristics of combined wet weather pollutant loads in Paris. *Water Research* 42.
- Kafi-Benyahia, M. (2006). Variabilité spatiale des caractéristiques et des origines des polluants de temps de pluie dans le réseau d'assainissement unitaire parisien.
- Kaiser, K., and Benner, R. (2008). Major bacterial contribution to the ocean reservoir of detrital organic carbon and nitrogen, *Limnology and Oceanography* 53 (1).
- Kalbitz, K., Geyer, W., and Geyer, S. (1999). Spectroscopic properties of dissolved humic substances - a reflection of land use history in a fen area. *Biogeochemistry* 47.
- Kang, S.-W., Seo, J., Han, J., Lee, J.-S., and Jung, J. (2011). A comparative study of toxicity identification using *Daphnia magna* and *Tigriopus japonicus*: Implications of establishing effluent discharge limits in Korea. *Marine Pollution Bulletin* 63, 370-375.
- Kawamoto, H., Ishida, W., Tsunoda, K., and Akaiwa, H. (1992). Copper (II) complexing capacity of river waters in the urban area. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* 65.
- Kilduff, J., and Weber, W.J. (1992). transport and separation of organic macromolecules in ultrafiltration processes. *Environmental Science & Technology* 26, 569-577.
- Kim, S.D., Ma, H.Z., Allen, H.E., and Cha, D.K. (1999). Influence of dissolved organic matter on the toxicity of copper to *Ceriodaphnia dubia*: Effect of complexation kinetics. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18.
- Kinniburgh, D.G., van Riemsdijk, W.H., Koopal, L.K., Borkovec, M., Benedetti, M.F., and Avena, M.J. (1999). Ion binding to natural organic matter: competition, heterogeneity, stoichiometry and thermodynamic consistency. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* 151, 147-166.
- Knepper, T.P. (2003). Synthetic chelating agents and compounds exhibiting complexing properties in the aquatic environment. *Trac-Trends in Analytical Chemistry* 22.
- Koukal, B., Gueguen, C., Pardos, M., and Dominik, J. (2003). Influence of humic substances on the toxic effects of cadmium and zinc to the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Chemosphere* 53.
- Kouyi, G.L., Vazquez, J., Gallin, Y., Rollet, D., and Sadowski, A.G. (2005). Use of 3D modelling and several ultrasound sensors to assess overflow rate. *Water Science and Technology* 51, 187-194.
- Kowalenko, C.G., and Lowe, L.E. (1978). effects of added nitrogen on net mineralization of soil sulfur from 2 soils during incubation. *Canadian Journal of Soil Science* 58, 99-101.
- Kozelka, P.B., and Bruland, K.W. (1998). Chemical speciation of dissolved Cu, Zn, Cd, Pb in Narragansett Bay, Rhode Island. *Marine Chemistry* 60.
- Kracht, O. (2001). "Origin and genesis of dissolved organic matter" Max Planck Institut für biogeochemie.
- Kramer, J.R., and Allen, H.E. (1988). *Metal Speciation: Theory, Analysis and Application.*: Lewis Publishers, Chelsea, Etats-Uni.
- Kramer, K.J.M., Jak, R.G., van Hattum, B., Hooftman, R.N., and Zwolsman, J.J.G. (2004). Copper toxicity in relation to surface water-dissolved organic matter: Biological effects to *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23.
- Krejci, V., Dauber, L., Novak, B., and Gujer, W. (1987). Contribution of different sources to pollutant loads in combined sewers, 4th Int. Conf. on "Urban Storm Drainage". Lausanne, Suisse, 31 août-4 sept. 1987.

REFERENCES

- Labanowski, J. (2004). Matière organique naturelle et anthropique : vers une meilleure compréhension de sa réactivité et de sa caractérisation, Université de Limoges.
- Lagier, T. (2000). Etude des macromolécules de lixiviat, caractérisation et comportement vis à vis des métaux., Université de Poitiers.
- Lai, T.M., Shin, J.-K., and Hur, J. (2011). Estimating the Biodegradability of Treated Sewage Samples Using Synchronous Fluorescence Spectra. *Sensors 11*, 7382-7394.
- Landner, L. (1987). Speciation of metals in water, sediment and soil systems, Springer-Verlag., Berlin, 190p.
- Langmuir, I. (1918). The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum., vol. vol. 40, The Journal of the American Chemical Society, P. 1361-1403.
- Lavaud, A. (2010). Extraction et caractérisation de la matière organique soluble des horizons profonds d'un sol arable, Université de Poitiers.
- Lee, J.H., Bang, K.W., Ketchum, L.H., Choe, J.S., and Yu, M.J. (2002). First flush analysis of urban storm runoff. *Science of the Total Environment 293*, 163-175.
- Lee, J.S., Bang, C.S., Lee, S.H., and Choi, I.Y. (2000). Assessment of grouting effect using experimental and numerical approaches. *Pacific Rocks 2000: Rock around the Rim*, 641-647.
- Leenheer, J., Croué, J., Benjamin, M., Korshin, G., Hwang, C., Bruchet, A., and Aiken, G. (2000). Comprehensive Isolation of Natural Organic Matter from Water for Spectral Characterizations and Reactivity Testing, Barret, S.E., Krasner, S.W. et Amy, G.L. *Natural Organic Matter and Disinfection By-Products: Characterization*.
- Leenheer, J.A. (1981). comprehensive approach to preparative isolation and fractionation of dissolved organic-carbon from natural-waters and wastewaters. *Environmental Science & Technology 15*, 578-587.
- Leenheer, J.A., Hsu, J., and Barber, L.B. (2001). Transport and fate of organic wastes in groundwater at the Stringfellow hazardous waste disposal site, southern California. *Journal of Contaminant Hydrology 51*, 163-178.
- Leenheer, J.A., and Rostad, C.E. (2004). Fractionation and characterization of organic matter in wastewater from a Swine waste-retention basin., vol. 21, U. S. Departement of the Interior and U. S. Geological Survey: Scientific Investigations Report.
- Li, L.Y., Hall, K., Yuan, Y., Mattu, G., McCallum, D., and Chen, M. (2009). Mobility and Bioavailability of Trace Metals in the Water-Sediment System of the Highly Urbanized Brunette Watershed. *Water Air and Soil Pollution 197*.
- Lin, J.-G., and Chen, S.-Y. (1998). The relationship between adsorption of heavy metal and organic matter in river sediments., vol. 24; 345-352., *Environment International*.
- Lorenzo, J.I., Nieto, O., and Beiras, R. (2002). Effect of humic acids on speciation and toxicity of copper to *Paracentrotus lividus* larvae in seawater. *Aquatic Toxicology 58*.
- Lu, Y.F., and Allen, H.E. (2002). Characterization of copper complexation with natural dissolved organic matter (DOM) - link to acidic moieties of DOM and competition by Ca and Mg. *Water Research 36*, 5083-5101.
- Ma, H.Z., Allen, H.E., and Yin, Y.J. (2001). Characterization of isolated fractions of dissolved organic matter from natural waters and a wastewater effluent. *Water Research 35*, 985-996.
- Ma, H.Z., Kim, S.D., Allen, H.E., and Cha, D.K. (2002). Effect of copper binding by suspended particulate matter on toxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry 21*.
- MacCarthy, P. (1987). *Aquatic Humic Substances. Influence on Fate and Treatment of Pollutants*.
- Maccarthy, P., and Malcolm, R.L. (1989). the nature of commercial humic acids. *Acs Symposium Series 219*, 55-63.

- Macko, S., and Estep, M. (1984). Microbial alteration of stable nitrogen and carbon isotopic compositions of organic matter, vol. 6, *Organic Geochemistry*, 787-790.
- Malcolm, R.L., and Maccarthy, P. (1992). quantitative-evaluation of xad-8 and xad-4 resins used in tandem for removing organic solutes from water. *Environment International* 18, 597-607.
- Malliarou, E., Collins, C., Graham, N., and Nieuwenhuijsen, M.J. (2005). Haloacetic acids in drinking water in the United Kingdom. *Water Research* 39, 2722-2730.
- Manka, J., and Rebhun, M. (1982). Organic groups and molecular-weight distribution in tertiary effluents and renovated waters. *Water Research* 16, 399-403.
- Marhaba, T.F., Pu, Y., and Bengraïne, K. (2003). Modified dissolved organic matter fractionation technique for natural water. *Journal of Hazardous Materials* 101, 43-53.
- Markich, S.J., Brown, P.L., Jeffree, R.A., and Lim, R.P. (2003). The effects of pH and dissolved organic carbon on the toxicity of cadmium and copper to a freshwater bivalve: Further support for the extended free ion activity model. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 45, 479-491.
- Markiewicz-Patkowska, J., Hursthouse, A., and Przybyla-Kij, H. (2005). The interaction of heavy metals with urban soils: sorption behaviour of Cd, Cu, Cr, Pb and Zn with a typical mixed brownfield deposit. *Environment International* 31.
- Marschner, B., and Kalbitz, K. (2003). Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils. *Geoderma* 113, 211-235.
- Martin, L. (2009). Fonctionnement écologique de la Seine à l'aval de la station d'épuration d'Achères : données expérimentales et modélisation bidimensionnelle.
- Martin-Mousset, B., Croue, J.P., Lefebvre, E., and Legube, B. (1997a). Distribution and characterization of dissolved organic matter of surface waters. *Water Research* 31.
- Martin-Mousset, B., Croue, J.P., Lefebvre, E., and Legube, B. (1997b). Distribution et caractérisation de la matière organique dissoute d'eaux naturelles de surface Distribution and characterization of dissolved organic matter of surface waters. *Water Research* 31, 541-553.
- Masini, J.C., Abate, G., Lima, E.C., Hahn, L.C., Nakamura, M.S., Lichtig, J., and Nagatomy, H.R. (1998). Comparison of methodologies for determination of carboxylic and phenolic groups in humic acids. *Analytica Chimica Acta* 364.
- Mason, A., and Jenkins, K. (1995). Metal speciation and bioavailability in aquatic systems., John Wiley & Sons Ltd, Chichester, Royaume-Uni.
- Mayer, L.M., Schick, L.L., and Loder, T.C. (1999). Dissolved protein fluorescence in two Maine estuaries. *Marine Chemistry* 64, 171-179.
- McCarthy, M.D., Fogel, M., Lee, C., Hedges, J.I., and Benner, R. (2001). Molecular tracers of organic nitrogen sources in the sea: Del 15N and 13C composition of amino acids in dissolved and particulate organic matter from the Equatorial Pacific. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society* 221, U525-U525.
- McDonald, S., Bishop, A.G., Prenzler, P.D., and Robards, K. (2004). Analytical chemistry of freshwater humic substances. *Analytica Chimica Acta* 527.
- McKinney, M.L. (2002). Urbanization, biodiversity, and conservation. *Bioscience* 52, 883-890.
- McKnight, D., Thurman, E.M., Wershaw, R.L., and Hemond, H. (1985). biogeochemistry of aquatic humic substances in thoreau bog, Concord, Massachusetts. *Ecology* 66, 1339-1352.
- Meador, J.P. (1991). The interaction of pH, dissolved organic-carbon, and total copper in the determination of ionic copper and toxicity. *Aquatic Toxicology* 19.
- Mejbri. (1997). Fractionnement et caractérisation de la matière organique dissoute dans les lixiviats de décharges d'ordures ménagères : Effets du traitement par lagunage aéré., Université de Limoges.

REFERENCES

- Meybeck a, Laurence Lestel b, Philippe Bonté c, Régis Moilleron d, Jean Louis Colin e, Olivier Rousselot f, Daniel Hervé g, Claire de Pontevès a, Cécile Grosbois h, Daniel R. Thévenot d. (2007). Historical perspective of heavy metals contamination (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn) in the Seine River basin (France) following a DPSIR approach (1950-2005). *Science of the Total Environment* 375 (2007) 204–231 204-231, 204-231.
- Meybeck, M. (1982). carbon, nitrogen, and phosphorus transport by world rivers. *American Journal of Science* 282, 401-450.
- Meybeck, M. (1998). La Seine en son bassin. Fonctionnement écologique d'un système fluvial anthropisé, Elsevier, 749.
- Meybeck, M., Horowitz, A.J., and Grosbois, C. (2004). The geochemistry of Seine River Basin particulate matter: distribution of an integrated metal pollution index. *Science of the Total Environment* 328.
- Meyer, J.S. (2002). The utility of the terms "bioavailability" and "bioavailable fraction" for metals. *Marine Environmental Research* 53.
- Miege, C., Ravelet, C., Croue, J.P., and Garric, J. (2005). Semi-permeable membrane device efficiency for sampling free soluble fraction of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Analytica Chimica Acta* 536, 259-266.
- Miller, J., and Orbock Miller, S. (2007). Sediment-Trace Metal Interactions. In: *Contaminated Rivers: an overview*, 33-67.
- Millward, G.E. (1995). Processes affecting trace-element speciation in estuaries - a review. *Analyst* 120.
- Milne, C.J., Kinniburgh, D.G., Dewit, J.C.M., Vanriemsdijk, W.H., and Koopal, L.K. (1995). Analysis of proton binding by a peat humic acid using a simple electrostatic model. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 59.
- Milne, C.J., Kinniburgh, D.G., and Tipping, E. (2001). Generic NICA-Donnan model parameters for proton binding by humic substances. *Environmental Science & Technology* 35.
- Monbet, P., and Coquery, M. (2003). *Approches analytiques pour l'évaluation de la biodisponibilité des métaux dans les milieux aquatiques*, Paris. INERIS, 87.
- Morel, M.L.L. (1983). *Principles of aquatic chemistry*, John Wiley & sons, New York, 446p.
- Morillo, J., Usero, J., and Gracia, I. (2002). Partitioning of metals in sediments from the Odiel River (Spain). *Environment International* 28.
- Morrison, G.M., Revitt, D.M., and Ellis, J.B. (1989). Sources and storm loading variations of metal species in a Gullypot catchment. *Science of the Total Environment* 80.
- Morrison, G.M.P., and Revitt, D.M. (1987). Assessment of metal species bioavailability and geochemical mobility in polluted waters. *Environmental Technology Letters* 8.
- Morrison, G.M.P., Revitt, D.M., Ellis, J.B., Svensson, G., and Balmer, P. (1984). Variations of dissolved and suspended solid heavy-metals through an urban hydrography. *Environmental Technology Letters* 5.
- Mounier, S., Patel, N., Quilici, L., Benaim, J.Y., and Benamou, C. (1999). Three-dimensional fluorescence of the dissolved organ carbon in the Amazon River. *Water Research* 33, 1523-1533.
- Mounier, S., Zhao, H., Garnier, C., and Redon, R. (2011). Copper complexing properties of dissolved organic matter: PARAFAC treatment of fluorescence quenching. *Biogeochemistry* 106.
- Muller, F.L.L. (1996). Interactions of copper, lead and cadmium with the dissolved, colloidal and particulate components of estuarine and coastal waters. *Marine Chemistry* 52.
- Muller, F.L.L., Gulin, S.B., and Kalvoy, A. (2001). Chemical speciation of copper and zinc in surface waters of the western Black Sea. *Marine Chemistry* 76.

- Mulliss, R., Revitt, D.M., and Shutes, R.B.E. (1997). The impacts of discharges from two combined sewer overflows on the water quality of an urban watercourse. *Water Science and Technology* 36, 195-199.
- Murayama, S. (1984). changes in the monosaccharide composition during the decomposition of straws under field conditions. *Soil Science and Plant Nutrition* 30, 367-381.
- Muresan, B., Pernet-Coudrier, B., Cossa, D., and Varrault, G. (2011). Measurement and modeling of mercury complexation by dissolved organic matter isolates from freshwater and effluents of a major wastewater treatment plant. *Applied Geochemistry* 26, 2057-2063.
- Nam, S., and Amy, G. (2008a). Differentiation of wastewater effluent organic matter (EfOM) from natural organic matter (NOM) using multiple analytical techniques. *Water Science and Technology* 57, 1009-1015.
- Nam, S.-N., and Amy, G. (2008b). Differentiation of wastewater effluent organic matter (EfOM) from natural organic matter (NOM) using multiple analytical techniques. *Water Science and Technology* 57, 1009-1015.
- Newcombe, G., Drikas, M., Assemi, S., and Beckett, R. (1997). Influence of characterised natural organic material on activated carbon adsorption : I. Characterisation of concentrated reservoir water., *Wat. Res.*, 31(5).
- Newman, M.C., and McIntosh, A.W. (1991). *Metal Ecotoxicology: Concepts And Applications.*, Lewis Publishers, Chelsea, Etats-Unis.
- Niyogi, S., and Wood, C.M. (2004). Biotic ligand model, a flexible tool for developing site-specific water quality guidelines for metals. *Environmental Science & Technology* 38.
- Novotny, V. (1995). Diffuse Sources of Pollution by Toxic Metals and Impact on receiving Waters. In: *Heavy Metals*, ed. S. Verlag, Berlin , Allemagne, pp.33-52.
- Oades, J.M. (1984). soil organic-matter and structural stability - mechanisms and implications for management. *Plant and Soil* 76, 319-337.
- Odegaard, H., and Koottatep, S. (1982). removal of humic substances from natural-waters by reverse-osmosis. *Water Research* 16, 613-620.
- Oikari, A., Kukkonen, J., and Virtanen, V. (1992). Acute toxicity of chemicals to *Daphnia-Magna* in humic waters. *Science of the Total Environment* 118.
- P., R.-S. (2009). Contribution des matériaux de couverture à la contamination métallique des eaux de ruissellement., Université Paris-Est.
- Pacyna, J.M., and Graedel, T.E. (1995). Atmospheric emissions inventories - status and prospects. *Annual Review of Energy and the Environment* 20.
- Pagenkopf, G.K. (1983). Gill Surface Interaction-Model for trace-metal toxicity to fishes - Role of complexation, pH, and water hardness. *Environmental Science & Technology* 17.
- Pagotto, C. (1999). Etude sur l'émission et le transfert dans les eaux et les sols des traces métalliques et des hydrocarbures en domaine routier., Université de Poitiers.
- Pagotto, C., Remy, N., Legret, M., and Le Cloirec, P. (2001). Heavy metal pollution of road dust and roadside soil near a major rural highway. *Environmental Technology* 22, 307-319.
- Pane, E.F., Smith, C., McGeer, J.C., and Wood, C.M. (2003). Mechanisms of acute and chronic waterborne nickel toxicity in the freshwater cladoceran, *Daphnia magna*. *Environmental Science & Technology* 37.
- Pankasem, S., Kuczynski, J., and Thomas, J.K. (1994). Photochemistry and photodegradation of polycarbonate. *Macromolecules* 27.
- Panyapinyopol, B., Marhaba, T.F., Kanokkantapong, V., and Pavasant, P. (2005). Characterization of precursors to trihalomethanes formation in Bangkok source water. *Journal of Hazardous Materials* 120, 229-236.
- Paquin, P.R., Zoltay, V., Winfield, R.P., Wu, K.B., Mathew, R., Santore, R.C., and Di Toro, D.M. (2002). Extension of the biotic ligand model of acute toxicity to a physiologically-based model of the survival time of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to silver.

REFERENCES

- Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology *133*, 305-343.
- Pardo, R., Barrado, E., Perez, L., and Vega, M. (1990). Determination and speciation of heavy-metals in sediments of the Pisuerga River. *Water Research* *24*.
- Pardo, R., Barrado, E., Vega, M., Deban, L., and Tascon, M.L. (1994). Voltammetric complexation capacity of waters of the Pisuerga river. *Water Research* *28*.
- Parkhurst, D.L., Thorstenson, D.C., and Plummer, L.N. (1980). PHREEQE-a computer program for geochemical calculations, US Geological Survey Report, USGS/WRI-80-96. 193.
- Parlanti, E., Morin, B., and Vacher, L. (2002). Combined 3D-spectrofluorometry, high performance liquid chromatography and capillary electrophoresis for the characterization of dissolved organic matter in natural waters. *Organic Geochemistry* *33*, 221-236.
- Parlanti, E., Worz, K., Geoffroy, L., and Lamotte, M. (2000). Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. *Organic Geochemistry* *31*, 1765-1781.
- Patel-Sorrentino, N., Mounier, S., and Benaim, J.Y. (2002). Excitation-emission fluorescence matrix to study pH influence on organic matter fluorescence in the Amazon basin rivers. *Water Research* *36*.
- Penttinen, S., Kostamo, A., and Kukkonen, J.V.K. (1998). Combined effects of dissolved organic material and water hardness on toxicity of cadmium to *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry* *17*.
- Perdue, E.M., and Lytle, C.R. (1983). Distribution model for binding of protons and metal-ions by humic substances. *Environmental Science & Technology* *17*.
- Pernet-Coudrier, B. (2008). Influence de la matière organique dissoute sur la spéciation et la biodisponibilité des métaux :
Cas de la Seine, un milieu sous forte pression urbaine.
- Pernet-coudrier, B., Clouzot, L., Varrault, G., Tusseau-vuillemin, M.-H., Verger, A., and Mouchel, J.-M. (2008). Dissolved organic matter from treated effluent of a major wastewater treatment plant: Characterization and influence on copper toxicity. *Chemosphere* *73*, 593-599.
- Pernet-Coudrier, B., Companys, E., Galceran, J., Morey, M., Mouchel, J.-M., Puy, J., Ruiz, N., and Varrault, G. (2011a). Pb-binding to various dissolved organic matter in urban aquatic systems: Key role of the most hydrophilic fraction. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* *75*, 4005-4019.
- Pernet-Coudrier, B., Varrault, G., Saad, M., Croue, J.P., Dignac, M.F., and Mouchel, J.M. (2011b). Characterisation of dissolved organic matter in Parisian urban aquatic systems: predominance of hydrophilic and proteinaceous structures. *Biogeochemistry* *106*, 89-106.
- Perre, C.d. (2009). Interactions between Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) and Dissolved Organic Matter (DOM) in pore waters from Arcachon Bay.
- Peters, R., and De Bernardi, R. (1987). *Daphnia*, Memorie Dell 'Istituto Italiano di Idrobiologia., p.502.
- Petit-Jean, P., Henin, O., and Gruau, G. (2004). Dosage du carbone organique dissous dans les eaux douces naturelles: Université de Rennes 1.
- Peuravuori, J., Ingman, P., and Pihlaja, K. (2003). Critical comments on accuracy of quantitative determination of natural humic matter by solid state (¹³C) NMR spectroscopy. *Talanta* *59*.
- Peuravuori, J., Ingman, P., Pihlaja, K., and Koivikko, R. (2001). Comparisons of sorption of aquatic humic matter by DAX-8 and XAD-8 resins from solid-state C-13 NMR spectroscopy's point of view. *Talanta* *55*.

- Peuravuori, J., Koivikko, R., and Pihlaja, K. (2002a). Characterization, differentiation and classification of aquatic humic matter separated with different sorbents: synchronous scanning fluorescence spectroscopy. *Water Research* 36.
- Peuravuori, J., Lehtonen, T., and Pihlaja, K. (2002b). Sorption of aquatic humic matter by DAX-8 and XAD-8 resins - Comparative study using pyrolysis gas chromatography. *Analytica Chimica Acta* 471.
- Peuravuori, J., Monteiro, A., Eglite, L., and Pihlaja, K. (2005). Comparative study for separation of aquatic humic-type organic constituents by DAX-8, PVP and DEAE sorbing solids and tangential ultrafiltration: elemental composition, size-exclusion chromatography, UV-vis and FT-IR. *Talanta* 65, 408-422.
- Peuravuori, J., Pihlaja, K., and Valimäki, N. (1997). Isolation and characterization of natural organic matter from lake water: Two different adsorption chromatographic methods. *Environment International* 23, 453-464.
- Piccolo, A., and Stevenson, F.J. (1982). Infrared-spectra of Cu²⁺, Pb²⁺, and Ca²⁺ complexes of soil humic substances. *Geoderma* 27, 195-208.
- Pinheiro, J.P., Mota, A.M., and Benedetti, M.F. (2000). Effect of aluminum competition on lead and cadmium binding to humic acids at variable ionic strength. *Environmental Science & Technology* 34.
- Pitt, R., Field, R., Lalor, M., and Brown, M. (1995). Urban stormwater toxic pollutants - assessment, sources, and treatability. *Water Environment Research* 67, 260-275.
- Pitt, R., and Lalor, M. (2001). The role of pollution prevention in stormwater management. *Models and Applications to Urban Water Systems, Monograph 9* 9, 1-20.
- Pizeta, I., and Branica, M. (1997). Simulation and fitting of anodic stripping voltammetry data for determination of the metal complexing capacity. *Analytica Chimica Acta* 351.
- Playle, R.C., Gensemer, R.W., and Dixon, D.G. (1992). Copper accumulation on gills of fathead minnows - influence of water hardness, complexation and pH of the gill microenvironment. *Environmental Toxicology and Chemistry* 11.
- Plette, A.C.C., Vanriemsdijk, W.H., Benedetti, M.F., and Vanderwal, A. (1995). pH dependent charging behavior of isolated cell-walls of a gram positive soil bacterium. *Journal of Colloid and Interface Science* 173.
- Poirier, N., Derenne, S., Rouzaud, J.N., Largeau, C., Mariotti, A., Balesdent, J., and Maquet, J. (2000). Chemical structure and sources of the macromolecular, resistant, organic fraction isolated from a forest soil (Lacadee, south-west France). *Organic Geochemistry* 31.
- Provenzano, M.R., D'Orazio, V., Jerzykiewicz, M., and Senesi, N. (2004). Fluorescence behaviour of Zn and Ni complexes of humic acids from different sources. *Chemosphere* 55.
- Rand, G.M., Wells, P.G., and McCarthy, L.S. (1995). Introduction to Aquatic Toxicology. In: *Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate, and Risk Assessment*, (Ed. by G. M. Rand). Taylor & Francis, Etats-Unis.
- Rashid, M. (1985). *Geochemistry of Marine Humic Substances*, Springer-Verlag.
- Reemtsma, T. (2001). The use of liquid chromatography-atmospheric pressure ionization mass spectrometry in water analysis - Part I: Achievements, vol. 20 (9), *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 500-517.
- Revitt, D.M., and Morrison, G.M. (1987). Metal speciation variations within separate stormwater systems. *Environmental Technology Letters* 8.
- Reynolds, D.M. (2003). Rapid and direct determination of tryptophan in water using synchronous fluorescence spectroscopy. *Water Research* 37, 3055-3060.
- Reynolds, D.M., and Ahmad, S.R. (1997). Rapid and direct determination of wastewater BOD values using a fluorescence technique. *Water Research* 31, 2012-2018.

REFERENCES

- Riso, R.D., LeCorre, P., and Chaumery, C.J. (1997). Rapid and simultaneous analysis of trace metals (Cu, Pb and Cd) in seawater by potentiometric stripping analysis. *Analytica Chimica Acta* 351.
- Riso, R.D., Pernet-Coudrier, B., Waeles, M., and Le Corre, P. (2007). Dissolved iron analysis in estuarine and coastal waters by using a modified adsorptive stripping chronopotentiometric (SCP) method. *Analytica Chimica Acta* 598.
- Ritchie, J.D., and Perdue, E.M. (2003). Proton-binding study of standard and reference fulvic acids, humic acids, and natural organic matter. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 67.
- Robert-Sainte, P., Gromaire, M.C., De Gouvello, B., Saad, M., and Chebbo, G. (2009). Annual Metallic Flows in Roof Runoff from Different Materials: Test-Bed Scale in Paris Conurbation. *Environ. Sci. Technol.* 43, 5612-5618.
- Rocher, V. (2003). Introduction et stockage des hydrocarbures et des éléments métalliques dans le réseau d'assainissement unitaire parisien.
- Rostad, C.E., and Leenheer, J.A. (2004). Factors that affect molecular weight distribution of Suwannee river fulvic acid as determined by electrospray ionization/mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 523, 269-278.
- Rozan, T.F., Benoit, G., Marsh, H., and Chin, Y.P. (1999). Intercomparison of DPASV and ISE for the measurement of Cu complexation characteristics of NOM in freshwater. *Environmental Science & Technology* 33.
- Rozan, T.F., and Gaboury, B. (1999). Geochemical factors controlling free Cu ion concentrations in river water. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 63.
- Ruzic, I. (1982). Theoretical aspects of the direct titration of natural waters and its information yield for trace metal speciation, *Analytica Chimica Acta* 140 (1), 99-113.
- Ryan, D., and Weber, J. (1982). Fluorescence Quenching Titration for Determination of Complexing Capacities and Stability Constants of Fulvic Acid, *Analytic Chemistry*, p. 986-990.
- Saadi, I., Borisover, M., Armon, R., and Laor, Y. (2006). Monitoring of effluent DOM biodegradation using fluorescence, UV and DOC measurements. *Chemosphere* 63, 530-539.
- Saar, R.A., and Weber, J.H. (1980). Lead (II) complexation by fulvic-acid - How it differs from fulvic-acid complexation of copper (II) and cadmium (II). *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 44.
- Salbu, B., and Steinnes, E. (1995). Trace elements in natural waters, CRC Press, Boca Raton, 314p.
- Sanchez-Marin, P., and Beiras, R. (2011). Adsorption of different types of dissolved organic matter to marine phytoplankton and implications for phytoplankton growth and Pb bioavailability. *Journal of Plankton Research* 33.
- Sanchez-Marin, P., and Beiras, R. (2012). Quantification of the increase in Pb bioavailability to marine organisms caused by different types of DOM from terrestrial and river origin. *Aquatic Toxicology* 110.
- Sanchez-Marin, P., Ignacio Lorenzo, J., Mubiana, V.K., Blust, R., and Beiras, R. (2012). Copper uptake by the marine mussel *Mytilus edulis* in the presence of fulvic acids. *Environmental Toxicology and Chemistry* 31.
- Sanchez-Marin, P., Santos-Echeandia, J., Nieto-Cid, M., Anton Alvarez-Salgado, X., and Beiras, R. (2010). Effect of dissolved organic matter (DOM) of contrasting origins on Cu and Pb speciation and toxicity to *Paracentrotus lividus* larvae. *Aquatic Toxicology* 96.
- Santore, R.C., Di Toro, D.M., Paquin, P.R., Allen, H.E., and Meyer, J.S. (2001). Biotic ligand model of the acute toxicity of metals. 2. Application to acute copper toxicity in freshwater fish and *Daphnia*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 20.

- Santos-Echeandia, J., Laglera, L.M., Prego, R., and van den Berg, C.M.G. (2008). Copper speciation in continental inputs to the Vigo Ria: Sewage discharges versus river fluxes. *Marine Pollution Bulletin* 56.
- Sarathy, V., and Allen, H.E. (2005). Copper complexation by dissolved organic matter from surface water and wastewater effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 61, 337-344.
- Scarano, G., Bramanti, E., and Zirino, A. (1992). Determination of copper complexation in sea-water by a ligand competition technique with voltammetric measurement of the labile metal fraction. *Analytica Chimica Acta* 264.
- Scatchard, G. (1949). The attraction of proteins for small molecules and ions, vol. 57, *Annals of New York, Academy of Sciences*, 660-672.
- Schell, D.M., Barnett, B.A., and Vinette, K.A. (1998). Carbon and nitrogen isotope ratios in zooplankton of the Bering, Chukchi and Beaufort seas. *Marine Ecology-Progress Series* 162.
- Schimpf, M.E., and Petteys, M.P. (1997). Characterization of humic materials by flow field-flow fractionation. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* 120, 87-100.
- Schwartz, M.L., Curtis, P.J., and Playle, R.C. (2004). Influence of natural organic matter source on acute copper, lead, and cadmium toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 23, 2889-2899.
- Sedlak, D.L., Phinney, J.T., and Bedsworth, W.W. (1997). Strongly complexed Cu and Ni in wastewater effluents and surface runoff. *Environmental Science & Technology* 31, 3010-3016.
- Seidl, M., Huang, V., and Mouchel, J.M. (1998a). Toxicity of combined sewer overflows on river phytoplankton: the role of heavy metals. *Environmental Pollution* 101, 107-116.
- Seidl, M., Servais, P., Martaud, M., Gandouin, C., and Mouchel, J.M. (1998b). Organic carbon biodegradability and heterotrophic bacteria along a combined sewer catchment during rain events. *Water Science and Technology* 37, 25-33.
- Seitz, R. (1981). Fluorescence methods for studying speciation of pollutants in water, vol. vol.1, *Analytical chemistry*, p. 79-83.
- Senesi, N., Saiz-Jiminez, C., and Miano, T.M. (1992). Spectroscopic characterization of metal-humic acid-like complexes of earthworm-composted organic wastes, vol. vol.117-118, *Science of The Total Environment*, p. 111-120.
- Servais, P., Seidl, M., and Mouchel, J.M. (1999). Comparison of parameters characterizing organic matter in a combined sewer during rainfall events and dry weather. *Water Environment Research* 71, 408-417.
- Shuman, M.S. (1990). "Carboxyl acidity of aquatic organic matter : possible systematic errors introduced by XAD extraction". vol. 97-109, in *Organic Acids in Aquatic Ecosystems*, Ltd J. W. a. s., Perdue, E. M. and Gjessing, E. T., Chapel Hill.
- Sierra, M.M.D., Donard, O.F.X., Lamotte, M., Belin, C., and Ewald, M. (1994). Fluorescence spectroscopy of coastal and marine waters. *Marine Chemistry* 47, 127-144.
- Simon, L., Maldiney, M.A., and Mouchel, J.M. (1994). transfer of combined sewer overflows in the seine river. *Water Science and Technology* 29, 209-217.
- Sirivedhin, T., and Gray, K.A. (2005). Part I. Identifying anthropogenic markers in surface waters influenced by treated effluents: a tool in potable water reuse. *Water Research* 39.
- Slaveykova, V.I., Wilkinson, K.J., Ceresa, A., and Pretsch, E. (2003). Role of fulvic acid on lead bioaccumulation by *Chlorella kesslerii*. *Environmental Science & Technology* 37.
- Smith, D.S., and Kramer, J.R. (2000). Multisite metal binding to fulvic acid determined using multiresponse fluorescence. *Analytica Chimica Acta* 416.
- Soares, H., and Vasconcelos, M. (1995). Potentiometric stripping analysis vs differential-pulse anodic-stripping voltammetry for copper (II) analysis at relatively positive deposition potential. *Analytica Chimica Acta* 303.

REFERENCES

- Sposito, G. (1981). Trace-metals in contaminated waters. *Environmental Science & Technology* 15.
- Sposito, G. (1994). *Chemical equilibria and kinetics in soils*, Oxford university press.
- Stevenson, F.-J. (1994). *Humus chemistry: Genesis, composition, reaction*, 2nd ed. Wiley, New York.
- Stumm, W., Huang, C.P., and Jenkins, S.F. (1970). Specific chemical interaction affecting stability of dispersed systems, vol. vol.42, *Croatica Chemica Acta A.*, p. 223.
- Suffet, L.H., Jafvert, C.T., Kukkonen, J.V.K., Servos, M.R., Spacie, A., Williams, L.L., and Noblet, J.A. (1994). Synopsis of discussion session: influences of particulate and dissolved material on the bioavailability of organic compounds. In: *Bioavailability: Physical, Chemical and Biological Interactions.*, eds. J.L. Hamelink, P.F. Landrum, H.L. Bergman, and W.H. Benson, CRC Press: pp. 93-108.
- Sunda, W.G., Tester, P.A., and Huntsman, S.A. (1987). Effects of cupric and zinc ion activities on the survival and reproduction of marine copepods. *Marine Biology* 94.
- Takacs, M., Alberts, J.J., and Egeberg, P.K. (1999). Characterization of natural organic matter from eight Norwegian surface waters: Proton and copper binding. *Environment International* 25.
- Tanaka, T., Nagao, S., and Ogawa, H. (2001). Attenuated total reflection-fourier transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy of functional groups of humic acid dissolving in aqueous solution, vol. 17 (9), *Analytical Sciences*, 1081-1084.
- Tang, J.I.S. (1981). The use of macroreticular resin for separation of coal conversion process wastewater. In: *American Chemical Society symposium on the chemistry of engine combustion deposits*, Atlanta, GA, USA, 29 Mar 1981.
- Tessier, A., and Turner, D.R. (1995). Metal speciation and bioavailability in aquatic systems, vol. 679, ed. B.J.a.V.L.H. P., John Wiley & sons: Chichester.
- Thomsen, M., Dobel, S., Lassen, P., Carlsen, L., Mogensen, B.B., and Hansen, P.E. (2002). Reverse quantitative structure-activity relationship for modelling the sorption of esfenvalerate to dissolved organic matter - A multivariate approach. *Chemosphere* 49, 1317-1325.
- Thurman, E.M. (1984). *Organic geochemistry of natural waters.*, Wileys and Sons, New York.
- Thurman, E.M. (1985). *Organic Geochemistry of Natural Waters*. Martinus Nijhoff/Dr W. Junk, Dordrecht, Netherlands, 497 P.
- Thurman, E.M., and Malcolm, R.L. (1981a). nature and source of humic substances isolated from surface waters. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society* 181, 7-GEOC.
- Thurman, E.M., and Malcolm, R.L. (1981b). preparative isolation of aquatic humic substances. *Environmental Science & Technology* 15, 463-466.
- Thurman, E.M., Malcolm, R.L., and Aiken, G.R. (1978). prediction of capacity factors for aqueous organic solutes adsorbed on a porous acrylic resin. *Analytical Chemistry* 50, 775-779.
- Thévenot, D., Meybeck, M., and Chevreuil, M. (1998). Métaux: sources multiples et accumulation La Seine en son bassin. Meybeck, M., pp.437.
- Thévenot, D.R., Lestel, L., Tusseau-Vuillemin, M.H., Gonzalez, J.L., and Meybeck, M. (2009). Les métaux dans le bassin de la Seine Collection du programme Piren-Seine.
- Tipping, E. (1993). Modeling ion-binding by humic acids. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* 73.
- Tipping, E., Rey-Castro, C., Bryan, S.E., and Hamilton-Taylor, J. (2002). Al(III) and Fe(III) binding by humic substances in freshwaters, and implications for trace metal speciation. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 66, 3211-3224.

- Town, R.M., and Filella, M. (2000). A comprehensive systematic compilation of complexation parameters reported for trace metals in natural waters. *Aquatic Sciences* 62.
- Town, R.M., and Filella, M. (2000a). Dispelling the myths: Is the existence of L1 and L2 ligands necessary to explain metal ion speciation in natural waters? *Limnology and Oceanography* 45.
- Town, R.M., and van Leeuwen, H.P. (2002a). Effects of adsorption in stripping chronopotentiometric metal speciation analysis. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 523.
- Town, R.M., and van Leeuwen, H.P. (2002b). Significance of wave form parameters in stripping chronopotentiometric metal speciation analysis. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 535.
- Town, R.M., and van Leeuwen, H.P. (2004). Dynamic speciation analysis of heterogeneous metal complexes with natural ligands by stripping chronopotentiometry at scanned deposition potential (SSCP). *Australian Journal of Chemistry* 57.
- Trebouet. (1998). Caractérisation et traitement des lixiviats stabilisés de décharge par des procédés à membrane., Université de Nantes.
- Trenfield, M.A., McDonald, S., Kovacs, K., Leshner, E.K., Pringle, J.M., Markich, S.J., Ng, J.C., Noller, B., Brown, P.L., and van Dam, R.A. (2011). Dissolved Organic Carbon Reduces Uranium Bioavailability and Toxicity. 1. Characterization of an Aquatic Fulvic Acid and Its Complexation with Uranium VI. *Environmental Science & Technology* 45.
- Tsui, M.T.K., Wang, W.-X., and Wong, M.H. (2006). Influences of macroalga-derived dissolved organic carbon on the aquatic toxicity of copper and cadmium. *Chemosphere* 65.
- Tushara Chaminda, G.G., Nakajima, F., Furumai, H., Kasuga, I., and Kurisu, F. (2010). Comparison of metal (Zn and Cu) complexation characteristics of DOM in urban runoff, domestic wastewater and secondary effluent. *Water science and technology : a journal of the International Association on Water Pollution Research* 62.
- Tusseau-Vuillemin, M.-H. (1998). Mode d'établissement des niveaux de rejets d'épuration en cours d'eau, convention F.N.D.A.E. n° 97 02 9 100 U.
- Tusseau-Vuillemin, M.H., Gilbin, R., Bakkaus, E., and Garric, J. (2004). Performance of diffusion gradient in thin films to evaluate the toxic fraction of copper to *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23, 2154-2161.
- Ure, A.M., and Davidson, C.M. (1995). *Chemical speciation in the environment*, Blackie, Glasgow.
- Ure, A.M., and Davidson, C.M. (2002). *Chemical Speciation in the Environment.*, Blackwell Publishing, Oxford, Royaume-Uni.
- Vacher, L. (2004a). Étude par fluorescence des propriétés de la matière organique dissoute dans les systèmes estuariens. cas des estuaires de la Gironde et de la Seine.
- Vacher, L. (2004b). Étude par fluorescence des propriétés de la matière organique dissoute dans les systèmes estuariens. Cas des estuaires de la Gironde et de la Seine., L'Université de Bordeaux 1.
- van Dam, C.H., Scholten, M., and van de Ven, F.H.M. (1986). Urban water quality in Lelystad : rainfall and runoff from selected surfaces. *Proceedings of the 1^o International Conference on Urban Storm Water Quality and Effects upon Receiving Waters, Wageningen*, pp 25-37.
- Van den Berg, C.M.G. (1989). Chapter 51: Electroanalytical Chemistry of Sea-water. In: *Chemical Oceanography*, vol. 9, ed. J.P. Riley, London.
- Van Ginneken, L., Bervoets, L., and Blust, R. (2001). Bioavailability of Cd to the common carp, *Cyprinus carpio*, in the presence of humic acid. *Aquatic Toxicology* 52.
- Van Leeuwen, H.P., and Town, R.M. (2003). Electrochemical metal speciation analysis of chemically heterogeneous samples: The outstanding features of stripping

REFERENCES

- chronopotentiometry at scanned deposition potential. *Environmental Science & Technology* 37.
- VanBuren, M.A., Watt, W.E., and Marsalek, J. (1997). Application of the log-normal and normal distributions to stormwater quality parameters. *Water Research* 31, 95-104.
- Vandenhooft, M., Vanleeuwen, H.P., Pinheiro, J.P., Mota, A.M., and Goncalves, M.D.L. (1995). Voltammetric analysis of the competition between calcium and heavy-metals for complexation by humic material. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* 95.
- Vasconcelos, M., and Leal, M.F.C. (2001). Seasonal variability in the kinetics of Cu, Pb, Cd and Hg accumulation by macroalgae. *Marine Chemistry* 74.
- Vigneault, B., and Campbell, P.G.C. (2005). Uptake of cadmium by freshwater green algae: Effects of pH and aquatic humic substances. *Journal of Phycology* 41.
- Villavicencio, G., Urrestarazu, P., Carvajal, C., De Schamphelaere, K.A.C., Janssen, C.R., Torres, J.C., and Rodriguez, P.H. (2005). Biotic ligand model prediction of copper toxicity to daphnids in a range of natural waters in Chile. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24.
- Violleau. (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.
- Wang, J. (1985). Stripping analysis, principles, instrumentation and applications: VCH Publishers, 160p.
- Wang, L.-S., Hu, H.-Y., and Wang, C. (2007). Effect of ammonia nitrogen and dissolved organic matter fractions on the genotoxicity of wastewater effluent during chlorine disinfection. *Environmental Science & Technology* 41.
- Wang, X., Chen, R., and Gardner, B. (2004). Sources and transport of dissolved and particulate organic carbon in the Mississippi River estuary and adjacent coastal waters of the northern Gulf of Mexico, *Marine Chemistry* 89 (1-4).
- Weber, J. (1988). Binding and transport of Metals by Humic Materials., F.H. Frimmel, R.F. Christman, p. 165-178.
- Weidner, R.B., Christianson, A.G., Weibel, S.R., and Robeck, G.G. (1969). Rural runoff as a factor in stream pollution. *Journal - Water Pollution Control Federation* 41, 377-384.
- Weishaar, J.L., Aiken, G.R., Bergamaschi, B.A., Fram, M.S., Fujii, R., and Mopper, K. (2003). Evaluation of specific ultraviolet absorbance as an indicator of the chemical composition and reactivity of dissolved organic carbon. *Environmental Science & Technology* 37, 4702-4708.
- Westall, J.C. (1982). FITEQL : a program for the determination of chemical equilibrium constants from experimental data. Department of chemistry, Oregon state university,.
- Westall, J.C., Zachary, J.L., and Morel, F. (1976). MINEQL : a program for the calculation of chemical equilibrium composition of aqueous systems, R.M. parsons laboratory technical note. Massachusetts institute of technology, 18.
- Wetzel, R.G. (1983a). Hypertrophic Ecosystems - Barica, J, Mur, Lr. *Limnology and Oceanography* 28, 1042-1042.
- Wetzel, R.G. (1983b). *Limnology*. CBS College Publishing, Philadelphia.
- Witt, M., and Jickells, T. (2005). Copper complexation in marine and terrestrial rain water. *Atmospheric Environment* 39, 7657-7666.
- Wong, C.S., Boyle, E., Bruland, K.W., Burton, J.D., and Goldberg, E.D. (1983). Trace metals in seawater, Plenum, New York, 920p.

- Worms, I.A.M., Traber, J., Kistler, D., Sigg, L., and Slaveykova, V.I. (2010). Uptake of Cd(II) and Pb(II) by microalgae in presence of colloidal organic matter from wastewater treatment plant effluents. *Environmental Pollution* 158, 369-374.
- Wu, Y., Zhang, J., Liu, S., Zhang, Z., Yao, Q., Hong, G., and Cooper, L. (2007). Sources and distribution of carbon within the Yangtze River system, vol. 13-25, *Estuarine Coastal and Shelf Science* 71 (1-2).
- Xue, H.B., and Sigg, L. (1998). Cadmium speciation and complexation by natural organic ligands in fresh water. *Analytica Chimica Acta* 363.
- Yi, X., Kim, E., Jo, H.-J., Han, T., and Jung, J. (2011). A Comparative Study on Toxicity Identification of Industrial Effluents Using *Daphnia magna*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 87, 319-323.
- Yoo, T.J., and Parker, C.W. (1968). Fluorescent enhancement in antibody-hapten interaction 1-anilino-naphthalene-8-sulfonate as a fluorescent molecular probe for anti-azonaphthalene sulfonate antibody. *Immunochemistry* 5, 143-153.
- Zhang, H., Qu, J., Liu, H., and Zhao, X. (2008). Isolation of dissolved organic matter in effluents from sewage treatment plant and evaluation of the influences on its DBPs formation. *Separation and Purification Technology* 64, 31-37.
- Zhao, J., and Nelson, D.J. (2005). Fluorescence study of the interaction of Suwannee River fulvic acid with metal ions and Al³⁺-metal ion competition. *Journal of Inorganic Biochemistry* 99.
- Zhou, J.L., and Banks, C.J. (1990). fractionation of humic-acid components by ion-exchange chromatography. *Environmental Technology* 11, 1147-1152.
- Zsolnay, A. (2003). Dissolved organic matter: artefacts, definitions, and functions. *Geoderma* 113, 187-209.
- Zsolnay, A., Baigar, E., Jimenez, M., Steinweg, B., and Saccomandi, F. (1999). Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere* 38, 45-50.