

Matière organique : sources, caractérisation et rôle dans la biogéochimie des contaminants

Caroline Soares-Pereira¹, Zeinab Matar¹, Caroline Bonnot², Yuzhe Guo³, Marie-Ange Cordier³, Edith Parlanti³, Alexandre Gelabert², Laure Cordier², Mickaël Tharaud², Benjamin Mercier⁴, Anun Martinez⁴, Josette Garnier⁴, Marc Benedetti², Sylvie Derenne⁵, Adèle Bressy¹ et Gilles Varrault^{1*}

¹ LEESU, UPEC, UPEMLV, ENPC, AgroParisTech, UMR MA 102

² Equipe Géochimie des Eaux, Univ. Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Institut de Physique du Globe - UMR 7154, Paris

³ EPOC, Bordeaux 1, Bordeaux 4, EPHE, CNRS, UMR 5805

⁴ Sisyphe, UPMC, EPHE, CNRS, UMR 7619

⁵ BIOEMCO, UPMC, CNRS, INRA, IRD, ENS, AgroParisTech, Université Paris-Est, UMR 7618

* personne à contacter : Gilles Varrault : varrault@u-pec.fr

1 Introduction

Dans le cadre du bloc « Matière organique » du thème Biogéochimie de l'axe fluvial, il est prévu d'étudier spécifiquement la matière organique (MO) dans le bassin versant de la Seine. En effet la matière organique dissoute (MOD) joue un rôle important à plusieurs niveaux. Son rôle est notamment très important sur la biogéochimie des micropolluants métalliques et organiques influençant potentiellement leur spéciation et leur biodisponibilité. En excès dans les eaux de surface sous une forme biodégradable, elle peut conduire à des déficits en oxygène lors de sa minéralisation. En outre, d'un point de vue opérationnel, la matière organique est un paramètre clé lors de la potabilisation des eaux. Elle est notamment impliquée dans la formation de sous-produits de désinfection et dans le colmatage des membranes de traitement des eaux. Elle peut en outre être difficile à éliminer entraînant un dépassement de la norme en sortie d'usine. Il a été déjà démontré que l'influence de la MOD sur la spéciation des polluants, la formation de sous-produits de désinfection et sur le colmatage des membranes de traitement dépend des teneurs en MOD dans le milieu mais dépend aussi pour une large part de ses propriétés physico-chimiques.

Les objectifs principaux de cette action sont donc :

- (i) identifier les sources et suivre l'évolution de la MOD dans le bassin de la Seine.
- (ii) caractériser la MOD dans les zones amont (en lien avec (i)) mais aussi au niveau de l'agglomération parisienne (amont et aval) de manière à estimer son influence sur la biogéochimie des contaminants ainsi que son impact sur le traitement des eaux.

2 Thème 1 : Caractérisation physico-chimique de la matière organique dissoute dans les systèmes aquatiques urbanisés et détermination de ses sources

Ce thème 1 présente deux objectifs principaux qui sont la détermination des sources de matière organique dissoute et particulaire (MOD, MOP) dans le bassin de la Seine et la caractérisation physico-chimique fine de la MO présente au niveau de l'agglomération parisienne (Seine, Marne aval et Oise aval).

Il s'agit ici de déterminer les sources de cette matière organique. Nous souhaitons donc tracer les sources de la matière organique dans les zones peu urbanisées situées en amont de la Seine, de la Marne et de l'Oise et d'estimer leur variabilité spatio-temporelle. La matière organique issue des rejets urbains de temps sec ou de temps de pluie sera également caractérisée quantitativement et qualitativement. La transformation de la

matière organique issue des zones situées en amont lors de son transit vers l'agglomération parisienne sera aussi déterminée.

Les sources de matière organique dissoute sont multiples:

- Autochtone naturelle (1): provenant du biote présent dans le milieu (algues, bactéries, macrophytes),
- Allochtone naturelle (2a) : issue des sols
- Allochtone anthropique (2b) : rejets urbains domestiques et industriels.

La proportion du carbone organique dissous (COD) selon ces différentes sources variera avec la saison et la nature du bassin versant (plutôt forestier pour l'Oise, un peu plus agricole pour la Seine). Outre son intérêt scientifique évident en termes de biogéochimie de la matière organique, cette action devrait nous permettre de déterminer et expliquer les différences de concentrations de MOD observées dans les rivières Oise, Seine et Marne.

Afin d'identifier ces sources de matière organique, des campagnes snapshot ont déjà été menées dans le bassin de la Seine en basses eaux notamment, à deux saisons différentes (automne 2011 et été 2012). D'autres campagnes vont être menées dans des situations hydrologiques contrastées (crues notamment). Ces campagnes sont menées sur un grand nombre de sites localisés principalement à l'amont de l'agglomération parisienne. En complément de ces campagnes snapshot, des campagnes d'échantillonnage avec une fréquence de prélèvements mensuelle et sur une année seront mis en place afin de suivre des sous-bassins caractéristiques très marqués en termes d'occupation des sols et de se focaliser sur un type de source précis de la matière organique. Des sous-bassins forestiers et agricoles seront suivis dans ce cadre. Ces campagnes seront réalisées en 2013-2014.

En collaboration avec le SIAAP et dans le cadre du programme OPUR (<http://leesu.univ-paris-est.fr/opur>), les rejets traités de stations d'épuration (STEP) (cinq stations d'épuration du SIAAP, n=13) ainsi que des rejets urbains de temps de pluie (RUTP) (n=9) du déversoir d'orage de Clichy ont également été échantillonnés afin de caractériser la MO d'origine urbaine.

En outre, neuf campagnes ont été menées à l'amont et à l'aval de l'agglomération parisienne entre octobre 2010 et septembre 2011 afin de mettre en évidence l'impact des rejets urbains sur la MO dans l'axe fluvial tant au niveau qualitatif que quantitatif.

2.1 Caractérisation de la matière organique dans le bassin de la Seine : les campagnes snapshot

La localisation des sites échantillonnés durant les deux campagnes snapshot de novembre 2011 et août/septembre 2012 est présentée respectivement sur les Figures 1 et 2. Le descriptif complet des stations échantillonnées ainsi que leurs codes sont mentionnés dans le tableau 1 ci-dessous. Les codes sont utilisés dans certaines figures qui suivent dans ce rapport.

Ces deux campagnes, bien que menées à deux époques différentes, ont été effectuées dans des conditions de débits similaires (environ $100 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$) à Austerlitz. La proportion du débit assuré par la restitution des grands lacs de Seine est d'environ 50% en août/septembre 2012 contre seulement 20% en novembre 2011 (soutien étiage tardif).

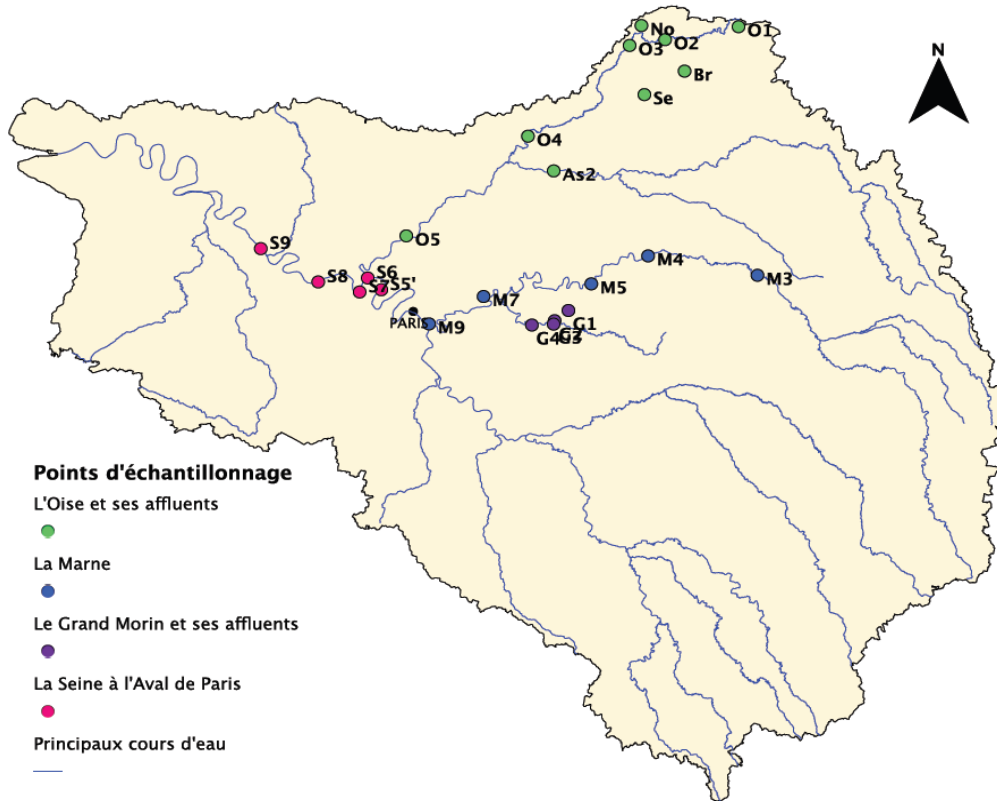


Figure 1 : Localisation des stations échantillonnées durant la campagne snapshot de novembre 2011

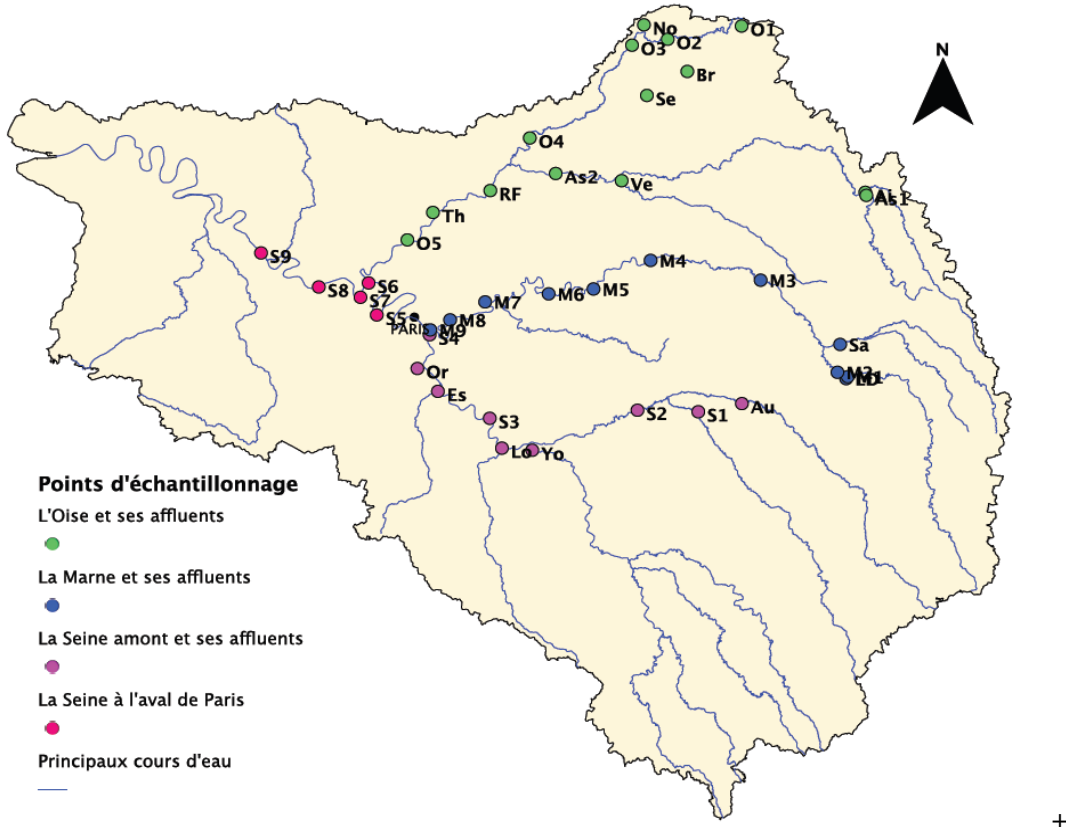


Figure 2 : Localisation des stations échantillonnées durant la campagne snapshot d'août/septembre 2012

Tableau 1 : Descriptif et codes des stations échantillonnées durant les campagnes snapshot de 2011 et 2012

Sous-bassin	Rivière - Station	Code	Sous-bassin	Rivière – Station	Code	Sous-bassin	Rivière - Station	Code
Gd Morin-Marne	Rû de Fosse Rognon (Melarchez)	G1	OISE	La Vesle (Ciry)	Ve	Seine	Aube (Arcis/Aube)	Au
Gd Morin-Marne	Rû des Avenelles (Moulin)	G2	OISE	Aire (Termes)	Ai	Seine	Essonne (Corbeil-Essonnes)	Es
Gd Morin-Marne	Rû de l'Orgeval (Theil)	G3	OISE	Aisne (Senuc)	As1	Seine	Loing (Moret/Loing)	Lo
Gd Morin-Marne	Grand Morin (Tresmes)	G4	OISE	Aisne (Vic/Aisne)	As2	Seine	Orge (Savigny/Orge)	Or
Marne	Lac de Der (Arrigny)	LD	OISE	La rivière brune (Houry)	Br	Seine	Seine (Mery/Seine)	S1
Marne	Marne (Larzacourt)	M1	OISE	Le Noirrieu (Tupigny)	No	Seine	Seine (Marnay/Seine)	S2
Marne	Marne (Moncetz l'Abbaye)	M2	OISE	Oise (Forêt Hirson)	O1	Seine	Seine (Fontaine le port)	S3
Marne	Marne (Matougues)	M3	OISE	Oise (Proisy)	O2	Seine	Seine (Alfortville)	S4
Marne	Marne (Dormans)	M4	OISE	Oise (Macquigny)	O3	Seine	Seine (Bougival)	S5
Marne	Marne (Saulchery)	M5	OISE	Oise (Ribécourt-Dreslincourt)	O4	Seine	Seine (Conflans Ste Honorine)	S6
Marne	Marne (Sammeron)	M6	OISE	Oise (Beaumont/Oise)	O5	Seine	Seine (Poissy)	S7
Marne	Marne (Annet/Marne)	M7	OISE	Ruisseau forestier Compiègne	RF	Seine	Seine (Porcheville)	S8
Marne	Marne (Neuilly/Marne)	M8	OISE	La Serre (Crecy/Serre)	Se	Seine	Seine (Vernon)	S9
Marne	Marne (Saint Maurice)	M9	OISE	Le Therain (Cramoisy)	Th	Seine	Yonne (Cannes-Ecluse)	Yo

2.1.1 Matériel et méthodes

La matière organique contenue dans les échantillons a été caractérisée par un grand nombre de techniques différentes. Ces techniques sont présentées succinctement ci-dessous.

- **La spectroscopie d'absorption UV-visible**

L'une des principales caractéristiques que le spectre d'absorption peut permettre de déterminer est l'aromaticité de la matière organique contenue dans l'échantillon. Deux paramètres sont généralement utilisés pour caractériser l'aromaticité d'un échantillon :

- *le SUVA*

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

où Abs_{254} est l'absorbance à 254 nm et [COD] est la concentration en COD en mg.L^{-1} .

- *le pourcentage d'aromaticité*

Il a été calculé de deux façons :

1. à partir de l'absorbance à 280 nm

$$\text{aromaticité } (\%) = 0,05 \times \frac{\text{Abs}_{280}}{[\text{COD}]} + 6,74$$

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

2. à partir du SUVA

$$\text{aromaticité } (\%) = 6,5 \times \text{SUVA} + 3,6$$

Des rapports d'absorbances peuvent également être utilisés. Par exemple, le rapport appelé E_4/E_6 équivalent à l'absorbance à 465 nm divisée par l'absorbance à 665 nm est souvent utilisé pour caractériser la taille moyenne des macromolécules (diminution du rapport E_4/E_6 lorsque la taille moyenne des macromolécules augmente). Un autre rapport est souvent utilisé, E_2/E_3 (l'absorbance à 250 nm divisée par l'absorbance à 365 nm), qui augmente quand l'aromaticité diminue.

Le rapport de pentes spectrales SR (pente 275–295 nm / pente 350–400 nm) calculé à partir des spectres d'absorbance UV-Visible permet également d'estimer la variation du poids moléculaire de la MOD. Quand SR augmente le poids moléculaire diminue.

Le spectrophotomètre UV-visible utilisé (Jasco V-560) 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. Bien que l'appareil fonctionne en mode double faisceau, il est utilisé en mode simple faisceau : le signal de référence (cuve + solvant) n'est pas acquis simultanément avec l'échantillon mais avant l'échantillon et soustrait manuellement afin d'utiliser exactement la même cuve dans les deux acquisitions.

- **La spectrofluorimétrie**

Les propriétés de fluorescence de la MOD permettent d'obtenir des informations sur la structure et les propriétés générales des macromolécules. La fluorescence est une technique très sensible qui permet de caractériser la MOD à partir d'un échantillon aqueux de faible volume sans nécessité de concentration ou d'extraction. Pour caractériser la MOD, la fluorescence tridimensionnelle (3D) est généralement utilisée. Cette technique consiste à accumuler les spectres d'émission acquis pour plusieurs longueurs d'onde d'excitation. Les données quantitatives et qualitatives à prendre en compte sont l'intensité et la position des maxima de fluorescence qui varient en fonction de la nature et de l'origine des échantillons et dépendent des espèces moléculaires fluorescentes qu'ils contiennent.

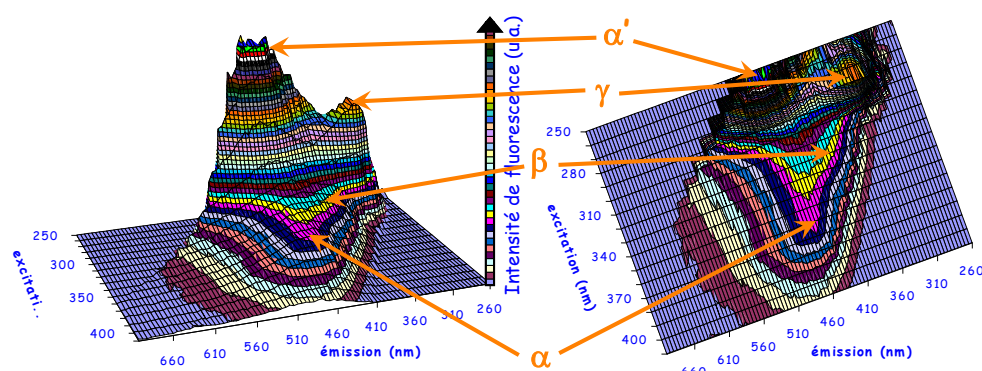


Figure 3 : Exemple de spectre de fluorescence 3D et sa projection dans le plan

Le spectre 3D obtenu est interprété par la présence de pics et de rapports d'intensité caractéristiques. Les principales bandes généralement observées pour les eaux naturelles sont mentionnées sur un spectre 3D et sa projection dans le plan sur la Figure 2 et dans le Tableau 1.

Tableau 2 : Fluorophores majeurs dans les eaux naturelles.

Pics	Longueur d'onde d'excitation (nm)	Longueur d'onde d'émission (nm)	Type de composés
α	330 - 350	420 - 480	Substances type humiques
α'	250 - 260	380 - 480	Substances humiques + matériel plus récent
β	310 - 320	380 - 420	Matériel récent, composante biologique
γ	270 - 280	300 - 320	Tyrosine, tryptophane ou protéines + activité bactérienne

Les indices de fluorescence HIX et BIX sont également déterminés afin d'estimer les sources et le degré de maturation de la MOD fluorescente.

La détermination de l'indice d'humification HIX est basée sur le fait que l'avancement des processus d'humification conduit à une augmentation du rapport C/H, i.e. à une augmentation de l'aromaticité de la MOD. Cette augmentation entraîne un déplacement du spectre de fluorescence vers les plus grandes longueurs d'onde d'émission. L'indice HIX est calculé en réalisant le rapport des deux aires définies respectivement par l'intervalle **L**: 300-345 nm et **H**: 435-480 nm pour une longueur d'onde d'excitation de 250 nm. L'indice d'humification HIX est alors donné par le rapport **H/L**.

Lorsque le degré d'aromaticité de la matière organique augmente, l'indice HIX augmente. En d'autres termes, de fortes valeurs de HIX indiquent la présence d'un matériel organique humifié. Les valeurs de HIX diminuent lorsque la fluorescence de la MOD est déplacée vers les courtes longueurs d'onde, i.e. pour des composés présentant un degré d'aromaticité moins important et des masses moléculaires plus faibles.

L'indice BIX est calculé à partir du spectre d'émission à 310 nm en divisant l'intensité de fluorescence émise à 380 nm, qui correspond au maximum d'intensité de fluorescence de la bande β quand elle est isolée, par celle émise à 430 nm, qui correspond au maximum de la bande α . Une augmentation de l'indice BIX est liée à une présence plus marquée du fluorophore β dans les échantillons d'eaux naturelles. Puisque le fluorophore β est lié à l'activité biologique autochtone, l'indice BIX permet de juger de la production de matière organique dissoute due à cette activité. Les fortes valeurs de cet indice traduisent une origine autochtone prépondérante de la MOD et la présence de matière organique fraîchement produite dans le milieu.

Les spectres de fluorescence ont été enregistrés à l'aide d'un spectrofluorimètre Fluorolog SPEX Jobin-Yvon FL3-22, équipé de doubles monochromateurs à l'excitation et à l'émission. Les échantillons sont placés dans

des cuves en quartz de 1cm de trajet optique, thermostatées à 20°C. Les spectres de fluorescence 3D sont générés par l'enregistrement successif de 17 spectres d'émission (260-700nm) à des longueurs d'ondes d'excitation prises tous les 10nm entre 250 et 410 nm. Les spectres 3D des échantillons sont obtenus par soustraction du spectre 3D d'un blanc d'eau ultrapure (Millipore, Milli-Q).

Un algorithme trinéaire de décomposition nommé PARAFAC (Parallel Factor Analysis) a été utilisé sous le logiciel Matlab (DOMFluor toolbox). PARAFAC est une procédure multidimensionnelle qui permet de traiter un jeu de donnée à 3 dimensions dans sa globalité. C'est une méthode d'analyse de données consistant à construire un modèle linéaire, en estimant les spectres d'excitation et d'émission de F fluorophores et le coefficient appliqué à chacune de ces matrices, afin de pouvoir recomposer le cube de données.

On analyse ainsi un ensemble d'échantillons dans lequel chaque matrice d'excitation et d'émission est un mélange de F composants fluorescents différents.

On considère :

- $x_{i,j,k}$ comme l'intensité de fluorescence d'un échantillon i donné, mesuré au couple de longueurs d'onde d'excitation-émission (j, k),
- $a_{i,f}$ comme facteur de fluorescence (produit de la concentration et du rendement quantique) du fluorophore f (f variant de 1 à F) dans l'échantillon i (variant de 1 à I)
- $b_{i,f}$ comme valeur du spectre d'absorption du fluorophore f à la longueur d'onde j
- $c_{i,f}$ comme valeur du spectre d'émission du fluorophore f à la longueur d'onde k
- $\varepsilon_{i,j,k}$ comme résidus (bruit et autres variations non expliquées par le modèle)

La loi de Beer-Lambert donne :

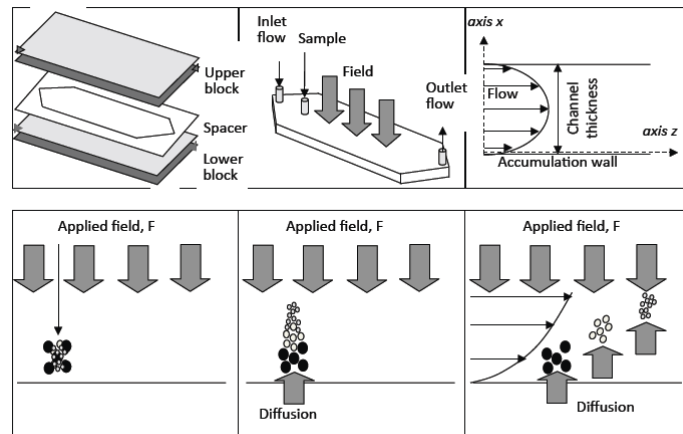
$$\forall i,j,k \quad x_{i,j,k} = \sum_{f=1}^F a_{i,f} b_{i,f} c_{i,f} + \varepsilon_{i,j,k}$$

Ainsi à partir d'un jeu d'échantillons comprenant autant de matrices d'excitation et d'émission de fluorescence, les trois inconnues a, b et c sont estimées par PARAFAC en fonction du nombre de fluorophores F fixé et validé pour le modèle le plus approprié, c'est à dire celui présentant des résidus minimum tout en conservant un maximum d'information sans que celle-ci soit répétée. Le modèle a été contraint à la non-négativité des valeurs et le mode « split half analysis » a été utilisé pour valider les composants identifiés.

Il convient d'avoir un nombre élevé d'échantillons pour que l'analyse soit plus précise et le modèle plus fiable.

• Le Fractionnement par Flux/Force avec Flux Asymétrique

Aujourd'hui, parmi les techniques de séparation en ligne, les systèmes de fractionnement par couplage flux-force (FFF) présentent un grand intérêt pour séparer les différentes fractions colloïdales, car ils possèdent de nombreux avantages par rapport aux techniques chromatographiques, notamment une grande résolution et une large gamme de distribution en taille (de 1 nm à quelques 10 µm). Récemment, de nombreux travaux ont été réalisés grâce au système de fractionnement par flux/force avec flux asymétrique (Asymmetric-Flow Field-Flow Fractionation – AF4), une technique de FFF qui est apparue très prometteuse en terme de pouvoir séparatif et de possibilités de couplage avec des détecteurs variés. Cette technique offre de nouvelles perspectives dans la caractérisation et la séparation des biopolymères, des macromolécules colloïdales et des nanoparticules. C'est une technique qui permet de séparer le matériel colloïdal en fonction de sa taille et représente une alternative aux dispositifs de chromatographie sur colonne. La séparation a lieu dans un canal (Figure 3) sans phase stationnaire et permet de déterminer non seulement la taille mais également l'état de dispersion et la forme des colloïdes.



Elution/ Fractionnement

Figure 4 : Principe de l'AF4 (Gaëtane Lespes – IPREM – UPPA)

Le système AF4 utilisé est un Eclipse 3 de Wyatt Technology Europe. Il est équipé d'un détecteur UV (HP1200 series, Agilent) et d'un détecteur à diffusion de lumière statique multi-angles (3 angles de mesure - miniDAWN TREOS, Wyatt Technology Europe). L'AF4 est équipé d'un canal de séparation court Eclipse avec un espaceur de 490 μm d'épaisseur et d'une membrane Pall Omega en polyethersulfone de seuil de coupure 1 kDa. Le débit au détecteur est maintenu constant à 1 ml/min. Après équilibre du débit, 1 ml d'échantillon est injecté à un débit de 0,2 ml/min pendant 5 min avec un flux de focus de 2 ml/min (Figure 4). L'éluion est réalisée avec un flux croisé constant de 3,5 ml/min pendant 35 min.

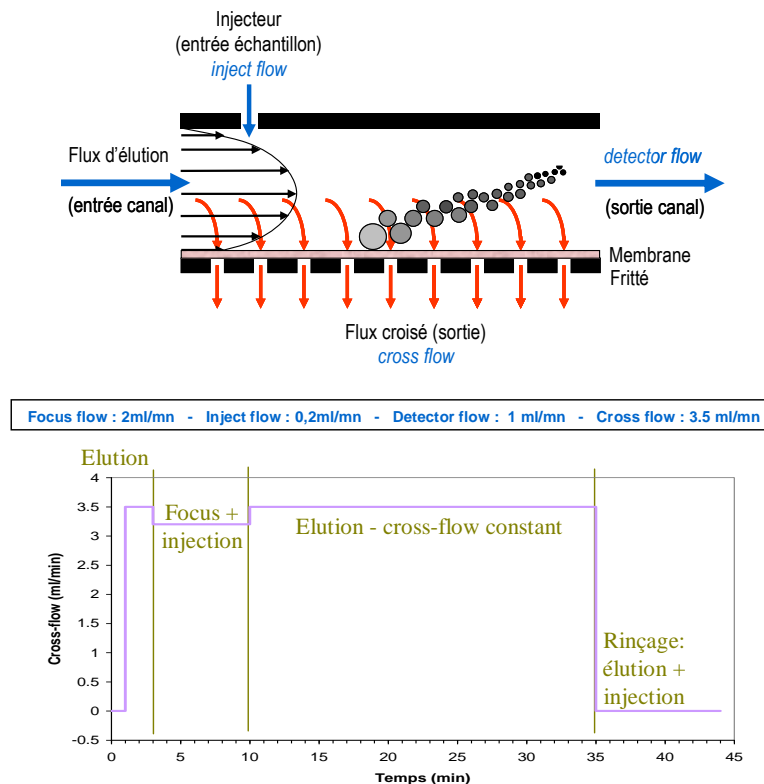


Figure 5 : Paramètres du fractionnement

- Le fractionnement de la MOD

Afin de caractériser la répartition du carbone organique dissous entre les fractions hydrophobes (HPO), transphilique (TPI) et hydrophile (HPI), la MOD des différents échantillons prélevés a été fractionnée selon des critères de polarité. Pour ce faire, nous avons décidé de choisir les deux résines présentant la meilleure

adsorption DAX-8 et XAD-4 (composées de méthacrylate de polyméthyle) afin de retenir d'une part la fraction hydrophobe (HPO) et d'autre part la fraction transphilique (TPI) de la MOD. La rétention de la matière organique sur ces résines repose sur un équilibre soluté/résine, contrôlé par les propriétés physicochimiques de la surface. Dans le cadre de la thèse de Zeinab Matar, 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. Les résultats obtenus ne sont toutefois pas présentés ici mais figurent dans son manuscrit de thèse (Matar, Z., 2012).

- **Caractérisation de la MOD sur la spéciation du cuivre**

Pour caractériser ce rôle de la MOD sur la spéciation du cuivre, nous avons déterminé 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 : sites 1 (S1 ; K1) ligand d'affinité faible, sites 2 (S2 ; K2) ligand d'affinité forte, sites 3 (S3 ; K3) ligand d'affinité très forte.

- **Caractérisation de la MOD sur la biodisponibilité du cuivre**

Des biotests de toxicité aiguë ont été effectués pour mesurer l'effet de la présence de la MOD sur la biodisponibilité du cuivre. 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).

- **Le carbone organique dissous biodégradable (CODB)**

Le carbone organique dissous biodégradable est mesuré selon la méthode des bioessais (Servais et al., 1995). Le carbone organique dissous est mesuré au temps T0 du prélèvement/filtration et après 50j d'incubation (Tfin) à l'obscurité, sous agitation et à la température du laboratoire (20°C). La différence entre le T0 et le Tfin représente la quantité de carbone biodégradable.

Compte tenu des concentrations attendues assez élevées, le matériel utilisé (stockage de l'eau, appareil à filtration) est lavé à l'eau distillée, puis à l'eau milliQ et rincé à l'eau du point pour chacune des stations de prélèvement. L'eau est filtrée à travers un filtre GF/F grillé à 500°C pendant 5h. Le filtrat est conservé dans un tube en verre grillé de 40ml auquel on ajoute de l'acide (0,1 ml H₂SO₄ 4 M dans 30 ml). Pour le bioessai, 200 ml d'eau filtrée sont versés dans un flacon en verre grillé etensemencés en bactéries avec 2 ml d'eau brute. Après incubation, 50 ml d'eau du bioessai sont filtrés et conservés comme pour le T0. L'analyse du carbone est réalisée avec un TOC analyser (Aurora 1030 TOC Analyser, O-I Analytical) avec une précision de ± 0.01 ppm.

2.1.2 Résultats

Pour la campagne snapshot de novembre 2011 (Figure 6), nous pouvons constater que les valeurs de COD sont légèrement plus importantes dans les zones amont de l'Oise et de l'Aisne comparées au bassin de la Marne. La Seine à l'amont de Paris n'a pas été échantillonnée durant cette première campagne snapshot et ne peut par conséquent pas être comparée à la Marne ou à l'Oise. A l'aval de Paris, la Seine présente des COD relativement élevés. La Marne présente des COD faibles, inférieures à 2 mgC.L^{-1} en légère augmentation à Saint Maurice avec $2,13 \text{ mgC.L}^{-1}$. Pour l'Oise, les valeurs sont plus élevées puisque les COD sont de l'ordre de $2,7 \text{ mgC.L}^{-1}$ à Ribecourt (Oise amont) et Vic/Aisne (Aisne) et de $2,5 \text{ mgC.L}^{-1}$ à Beaumont/Oise près de la confluence avec la Seine. Un ruisseau caractéristique d'un sous bassin forestier a été également échantillonné dans la partie amont du bassin de l'Oise et présente un COD de 4 mgC.L^{-1} .

Dans la Seine, les concentrations en COD sont élevées, particulièrement à l'aval de la STEP Seine-Aval, en effet la concentration en COD passe de $2,6$ à $3,6 \text{ mgC.L}^{-1}$ soit une augmentation de 40%. Ceci est tout à fait cohérent avec le débit mesuré le jour du prélèvement ($103 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$ à Austerlitz) le débit moyen quotidien de la STEP Seine Aval ($\cong 18 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$) et la concentration en COD dans les rejets traités de la STEP (10 à 15 mgC.L^{-1}). Le rû de l'Orgeval présente également des teneurs importantes de l'ordre de 9 mgC.L^{-1} .

- Les concentrations en carbone organique dissous (COD)

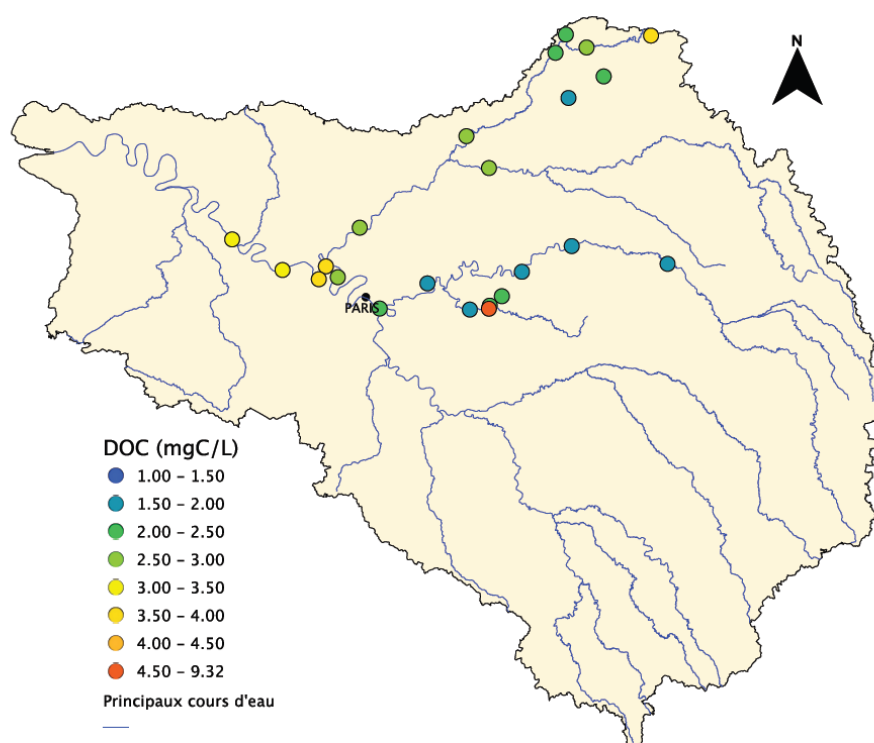


Figure 6 : Concentrations en carbone organique dissous (COD) pour les sites échantillonnés durant la campagne de novembre 2011

Pour la campagne de l'été 2012, les valeurs de COD sont globalement de l'ordre de 2 à $2,5 \text{ mgC.L}^{-1}$ sur l'ensemble des rivières du bassin avec des valeurs très légèrement supérieures dans le cas de l'Oise. Dans le cas de l'axe Seine les valeurs sont nettement supérieures avec notamment une augmentation de la concentration en COD de $2,4$ à $3,2 \text{ mgC.L}^{-1}$ à l'amont de l'agglomération en raison des impacts des rejets urbains notamment ceux de la STEP Seine-Aval. Contrairement à la campagne de novembre les deux échantillons provenant des zones forestières, O1 et RF (cf. Tableau 1), ne présentent pas des valeurs de COD sensiblement plus élevées que celles des autres sites du bassin (respectivement $1,9$ et $2,9 \text{ mgC.L}^{-1}$). Nous pouvons noter que même si ces deux campagnes ont été effectuées dans des conditions de débits similaires

(environ $100 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$) à Austerlitz, la proportion du débit assuré par la restitution des grands lacs de Seine est d'environ 50% en aout/septembre 2012 contre seulement 20% en novembre 2011 (soutien étiage tardif).

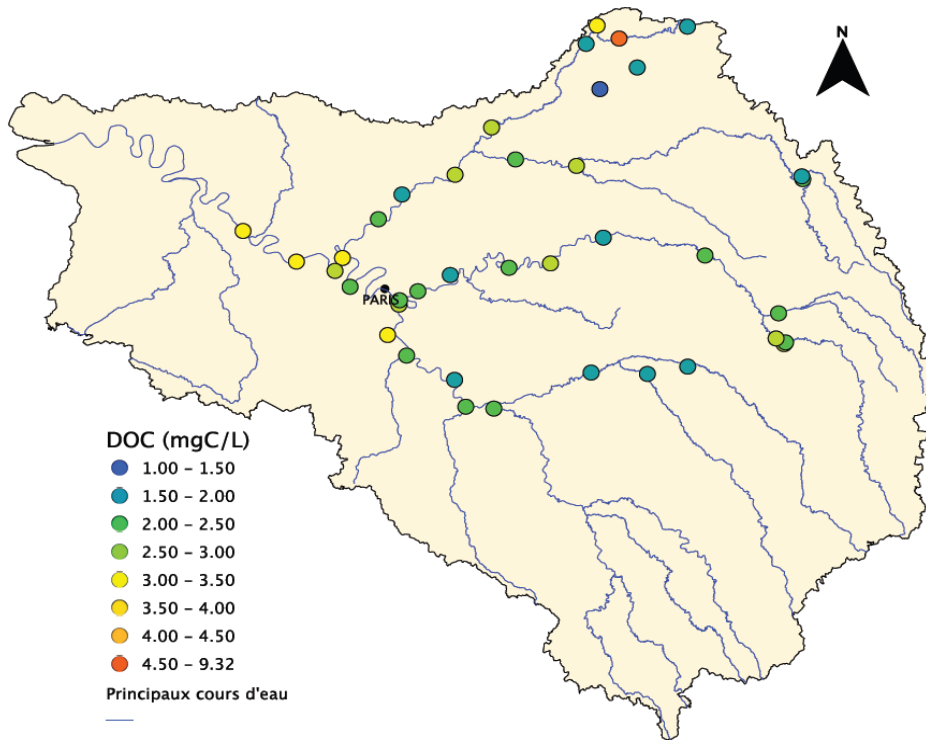


Figure 7 : Concentrations en carbone organique dissous (COD) pour les sites échantillonnés durant la campagne d'août/septembre 2012

- **Le fractionnement de la matière organique dissoute**

La matière organique dissoute contenue dans les échantillons prioritaires a été fractionnée selon des critères de polarité.

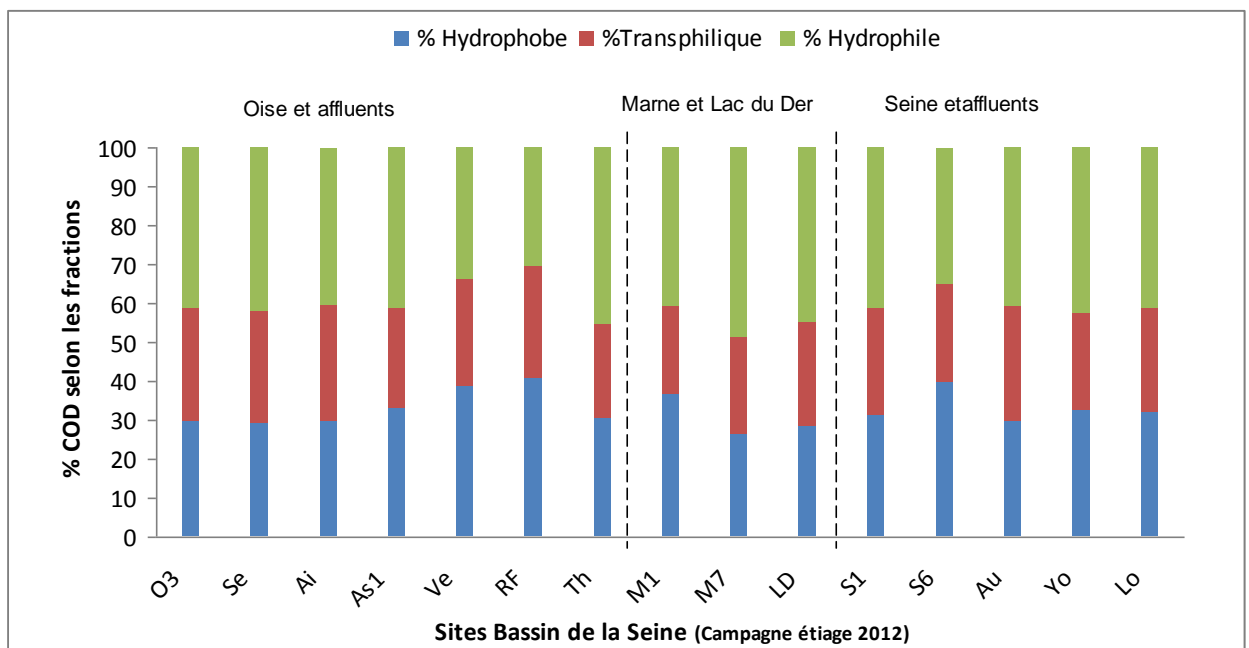


Figure 8 : Répartition du carbone organique dissous (%) selon les fractions hydrophobes, transphilique et hydrophile pour les sites prioritaires échantillonnées durant la campagne d'août/septembre 2012

La répartition du COD entre les différentes fractions est illustrée à la Figure 8 tandis que la concentration en COD hydrophobe, transphilique et hydrophile est illustrée à la Figure 9. Globalement la répartition du COD entre les trois fractions varie peu d'une station à l'autre des fractions hydrophobe (HPO), transphilique (TPI) et hydrophile (HPI) qui représentent respectivement 32%, 27% et 41%. Ces valeurs évoluent peu d'une station à l'autre et peu également de l'amont vers l'aval. Cette faible hydrophobicité est tout à fait en cohérence avec les résultats obtenus dans le cadre de la thèse de Zeinab Matar (Matar Z., 2012). Cela confirme donc la faible proportion de MOD humifiée à cette période et une prépondérance de matière organique fraîche peu mature sans doute due à une production autochtone. Une plus forte hydrophobicité est attendue en période de crue avec des valeurs de COD hydrophobe atteignant nettement plus de 60% en raison des apports terrigènes.

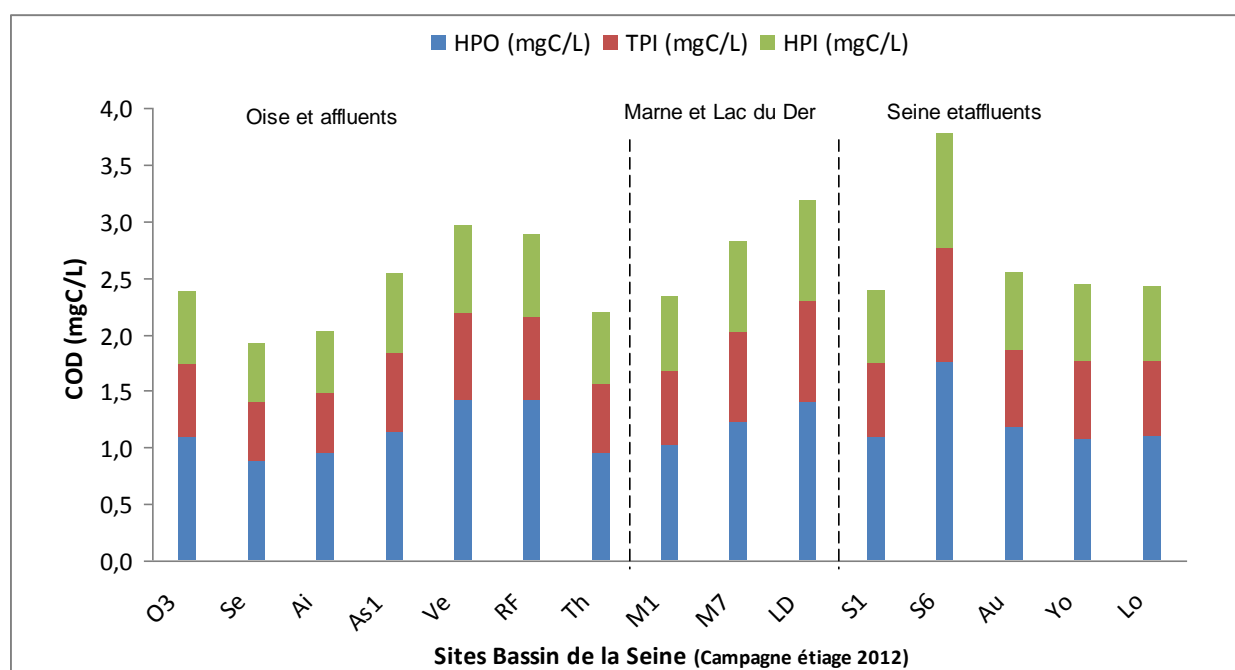


Figure 9 : Concentrations en carbone organique dissous (mgC/L) selon les fractions hydrophobes, transphilique et hydrophile pour les sites prioritaires échantillonnées durant la campagne d'août/septembre 2012

- **Le carbone organique dissous biodégradable (CODB)**

Les campagnes de novembre 2011 et d'août/septembre 2012 ont été réalisées dans des conditions de débit très similaires, malgré la saison. Les concentrations moyennes toutes rivières confondues sont de 3.4 mgC l⁻¹ et 23 % de biodégradable en novembre et 2.7 mgC l⁻¹ et 29.6 % de biodégradable en août. Il apparaît que les niveaux en COD sont légèrement supérieurs en automne à la fin de la période de production primaire, alors que la proportion de biodégradable est un peu plus faible, la matière organique la plus labile ayant été minéralisée.

Pour les trois rivières, Oise, Seine et Marne, les concentrations en carbone organique dissous et en biodégradable sont proches avec une même tendance saisonnière (Figure 10). C'est dans l'axe de la Basse Seine que les valeurs sont logiquement les plus élevées, puisque les effluents traités de la station d'épuration Seine Aval en contiennent environ 11 mgC l⁻¹. Malgré un contenu en carbone biodégradable d'environ 50% dans les effluents, c'est la Marne qui présente la plus grande fraction de carbone biodégradable.

A noter que les têtes de bassins ne montrent pas de différences de concentrations avec les stations les plus aval, tant en novembre qu'en août.

Il apparaît désormais important de comparer avec une campagne de hautes eaux (février 2013). Par ailleurs les déclinés de blooms phytoplanctoniques (lyse) pourraient être des situations à explorer.

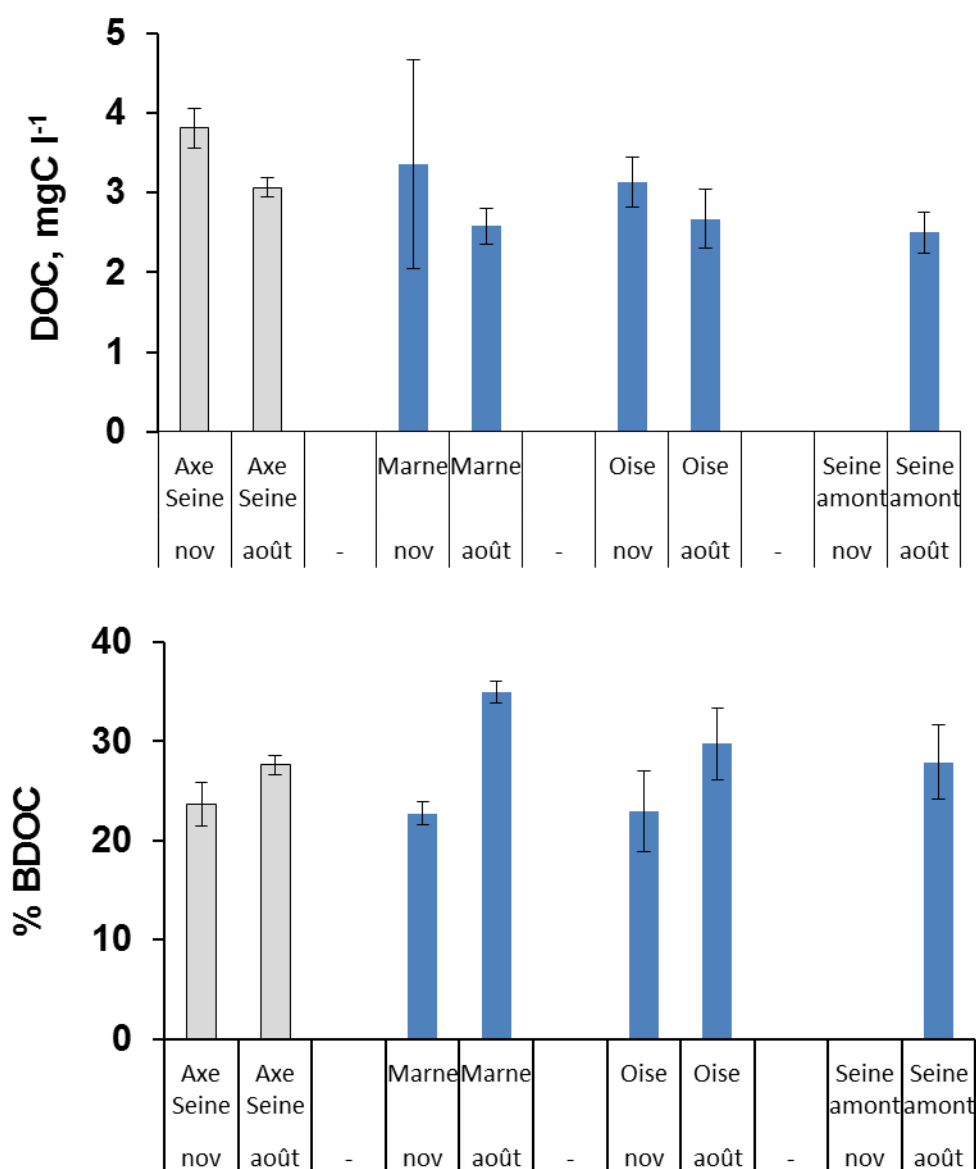


Figure 10 : Valeurs moyennes du carbone organique dissous (DOC) et de la fraction biodégradable (BDOC), pour l'Oise, la Marne et La Seine en amont de Paris, ainsi qu'en Basse Seine pour les deux campagnes de basses eaux en novembre 2011 et en août/septembre 2012.

- **Résultats fluorescence**

Campagne Snapshot novembre 2011

Les matrices d'excitation et d'émission de fluorescence des 23 échantillons de la campagne Snapshot de novembre 2011 ont été traitées par PARAFAC. Un modèle à 7 composants (Figure 11) a ainsi été déterminé, expliquant 99,8 % de la variabilité du jeu de données. La Figure 12 présente les variations d'intensité de fluorescence de ces 7 composants pour l'ensemble des échantillons.

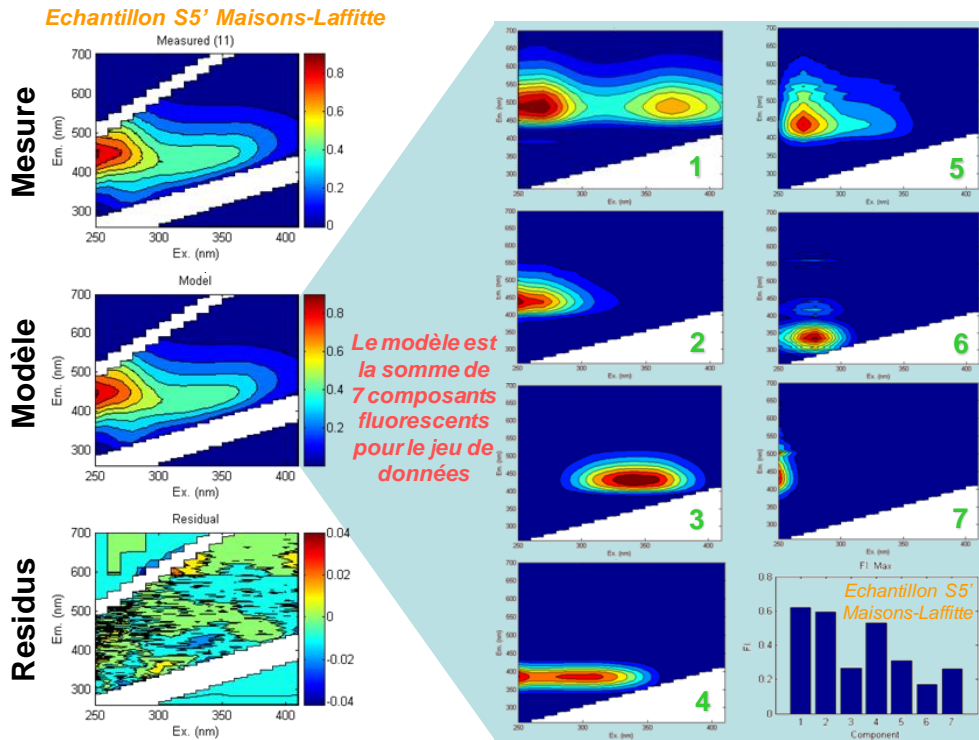
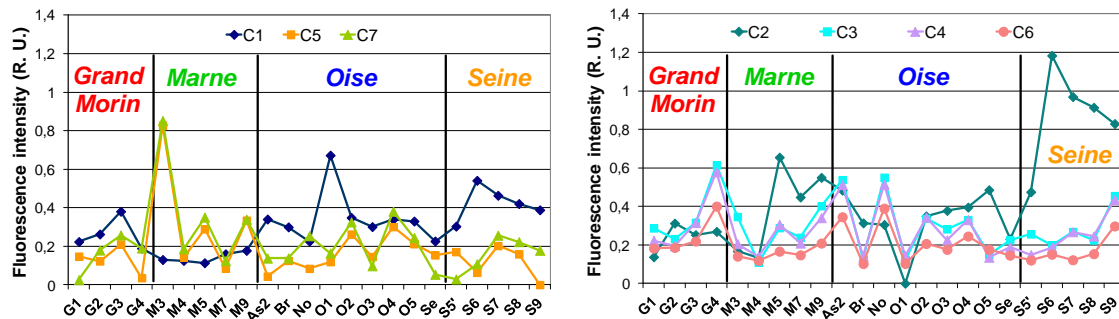


Figure 11 : Modèle à 7 composants déterminé par PARAFAC – échantillon S5' Maisons-Laffite pris comme exemple



(Code des stations au tableau 1)

Figure 12: Variation spatiale des 7 composants déterminés par PARAFAC

Une analyse en composantes principales a été réalisée en utilisant comme variables les 7 composants déterminés par l'analyse PARAFAC, les indices de fluorescence (HIX, BIX, $I_{\alpha'}/I_{\alpha}$, I_{β}/I_{α} et I_{γ}/I_{α}) et la teneur en COD (Figure 13).

Les composants 2, 3, 4 et 6 semblent être liés à l'activité biologique dans le milieu pour ce jeu d'échantillons (Figure 13-A). Le composant 4 est similaire au fluorophore β et le composant 6 correspond au matériel de type protéique (fluorophore γ). Les composants 1, 5 et 7, quant à eux, s'apparentent à du matériel de type humique (fluorophores α' et α).

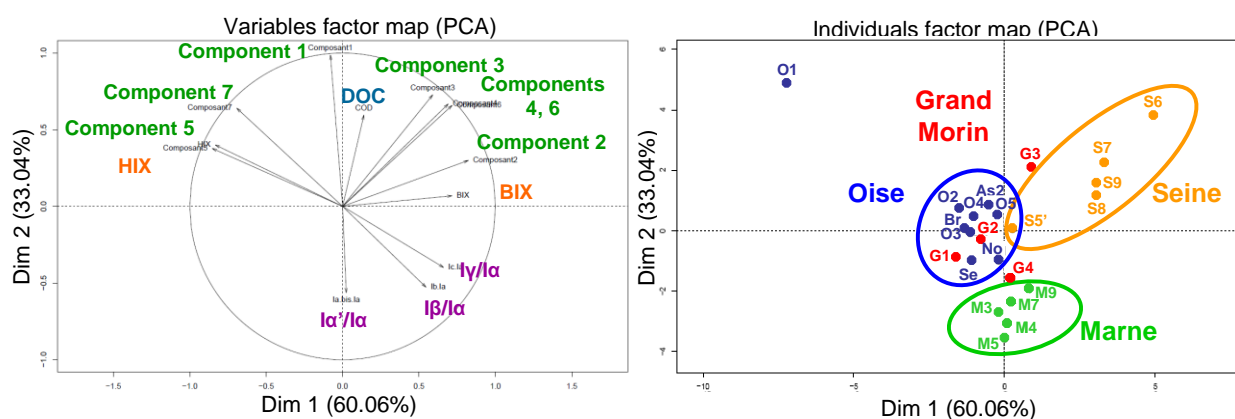


Figure 13 : Analyse des données par ACP

L'analyse ACP a permis de différencier 3 types de MOD (Figure 13-B). Les échantillons de la Seine sont caractérisés par la plus forte activité biologique (très certainement en relation avec la présence de la station d'épuration « Seine Aval ». La MOD du bassin de l'Oise présente des caractéristiques plus « humiques ». Les échantillons collectés dans le bassin de la Marne sont caractérisés par un troisième type de matière organique bien différencié. Les échantillons du bassin du Grand Morin montrent une MOD de propriétés plutôt similaires à celles du bassin de l'Oise à l'exception de l'échantillon « Theil ». Il apparaît d'autre part que la MOD sur l'axe Seine est assez hétérogène.

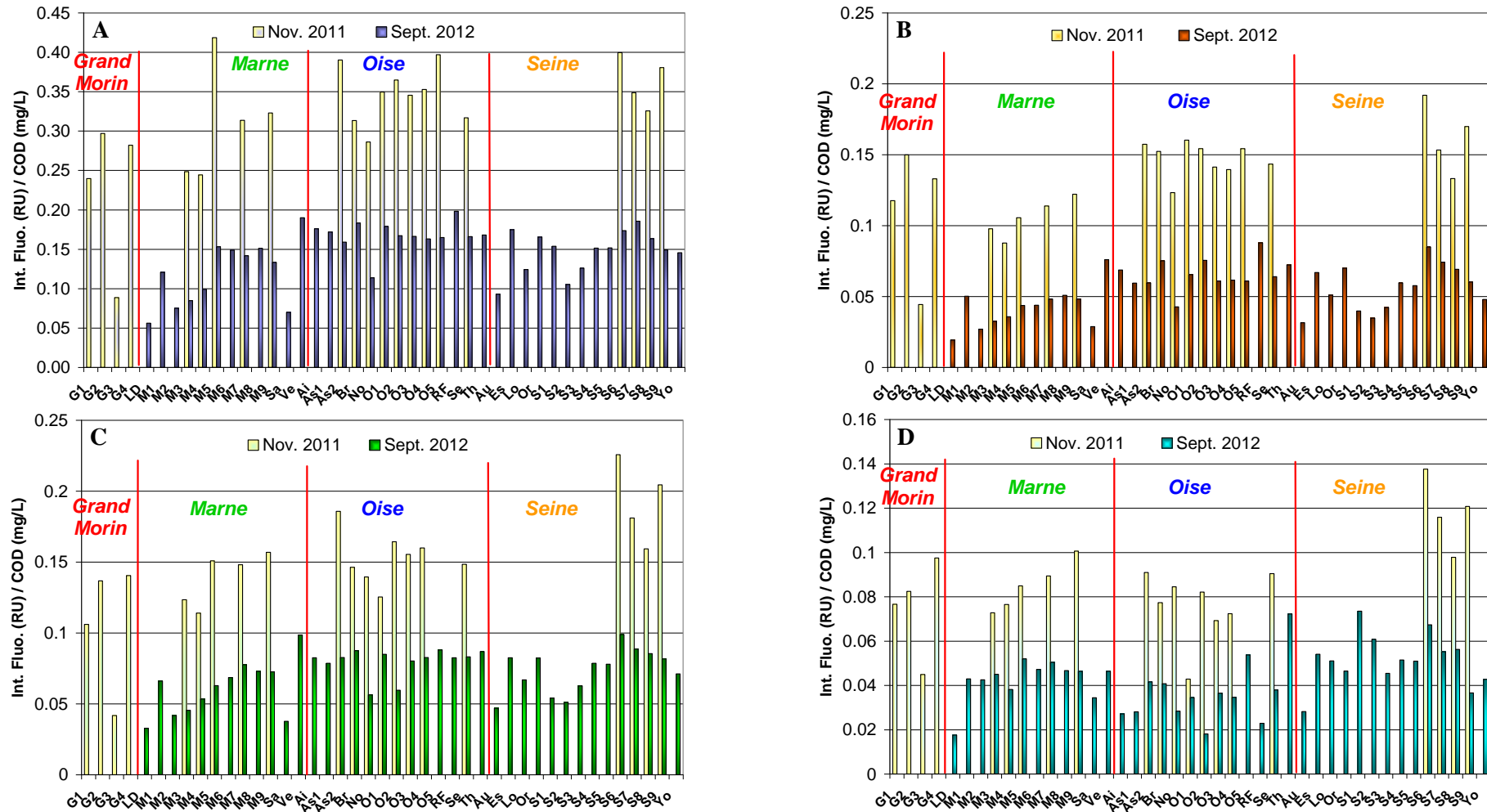
Campagne Snapshot août/septembre 2012

L'analyse par fluorescence des échantillons de la campagne SNAPSHOT de septembre 2012 a montré des intensités de fluorescence globalement moins élevées qu'en 2011, traduisant des concentrations en matériel fluorescent plus faibles.

La Figure 14 montre la distribution des intensités des bandes de fluorescence α' , α , β et γ normalisées par rapport à la teneur en carbone organique dissous. Les concentrations en carbone organique fluorescent en septembre 2012 sont plus faibles qu'en novembre 2011. Les échantillons de Seine sont caractérisés par une plus forte proportion de composés de type protéique, notamment pour les points S1 et S2, traduisant une plus forte activité biologique dans ces eaux.

D'un point de vue qualitatif, l'examen des rapports d'intensités des principales bandes de fluorescence caractéristiques d'un matériel récent et d'origine plutôt autochtone (α' , β et γ) sur la bande α spécifique du matériel le plus humifié, donc plus ancien, est intéressant car il permet d'estimer les contributions relatives des différentes composantes de la MOD et le type de matériel en présence. La Figure 15 présente les distributions de ces rapports d'intensités de bandes. Les valeurs de ces rapports sont majoritairement plus élevées pour les échantillons de la campagne snapshot de 2012 que pour ceux de 2011. Ceci tend à montrer la présence d'un matériel organique fluorescent plus récent en septembre 2012. Une forte contribution biologique est à nouveau observée pour les échantillons de Seine S1, S2 et S3, mais également pour les échantillons prélevés dans le bassin de la Marne.

Les indices de fluorescence HIX et BIX montrent également des variations spatiales de la qualité de la MOD (Figure 16). Les plus fortes valeurs de l'indice HIX, traduisant le matériel organique le plus mature et aromatique, sont observées de façon logique en zones forestières, mais pas pour les mêmes sites en 2011 et 2012 (O1 en 2011, O2 et RF en 2012). L'ensemble des échantillons est globalement caractérisé par une activité biologique en moyenne relativement élevée ($BIX > 0.6$), les plus fortes valeurs étant observées en Seine et pour plus de la moitié des échantillons du bassin de la Marne (plus forte valeur pour Moncetz).



(Code des stations au tableau 1)

Figure 14 : Intensités de fluorescence exprimées en unités Raman normalisées par rapport à la teneur en COD. Comparaison des campagnes snapshot de 2011 et 2012. A : bande α – B : bande α' – C : bande β – D : bande γ

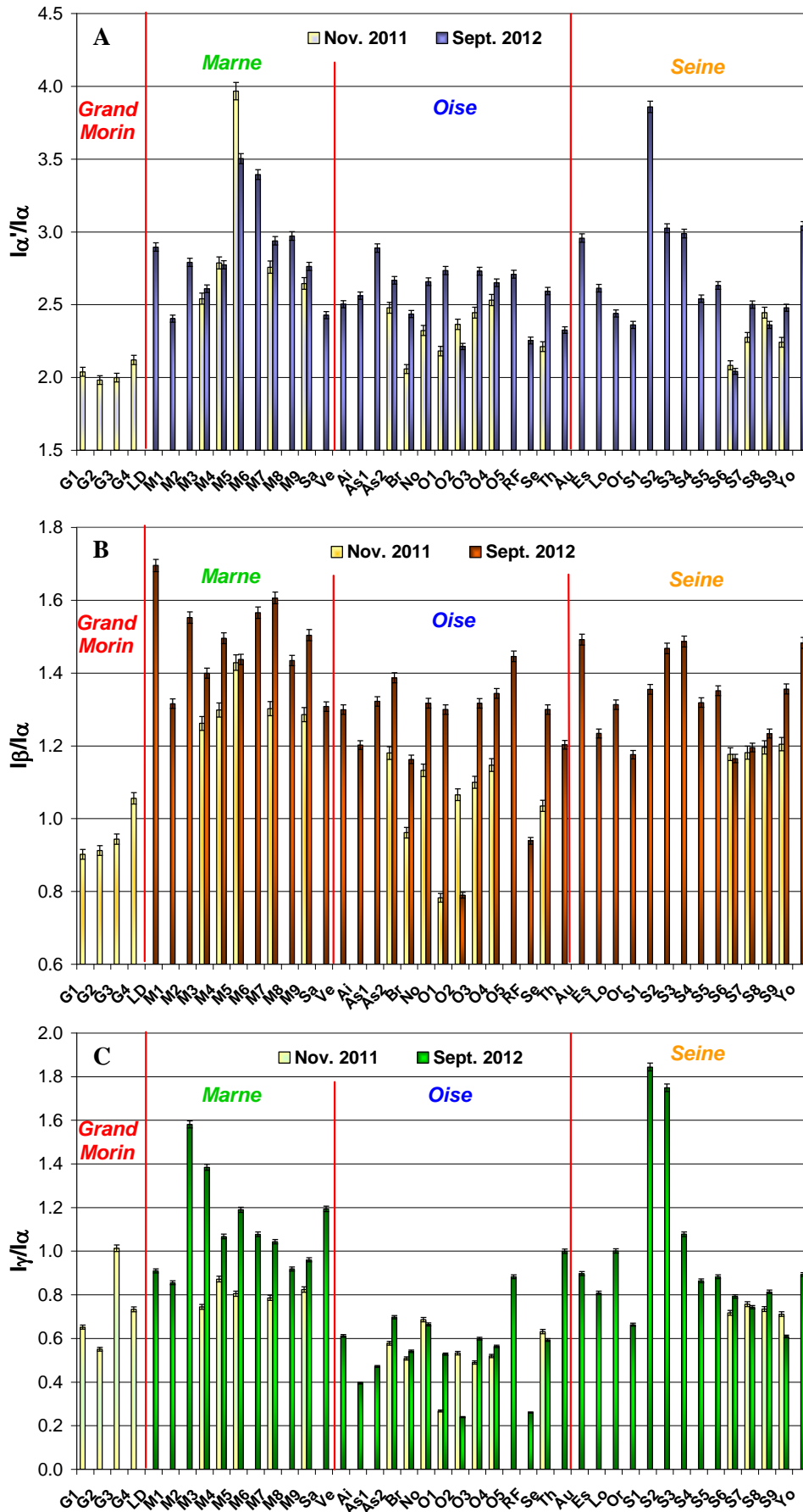


Figure 15 : Rapports des intensités de fluorescence. A : $I_{\alpha'}/I_{\alpha}$ – B : I_{β}/I_{α} – C : I_{γ}/I_{α}
 Comparaison des campagnes snapshot de 2011 et 2012.

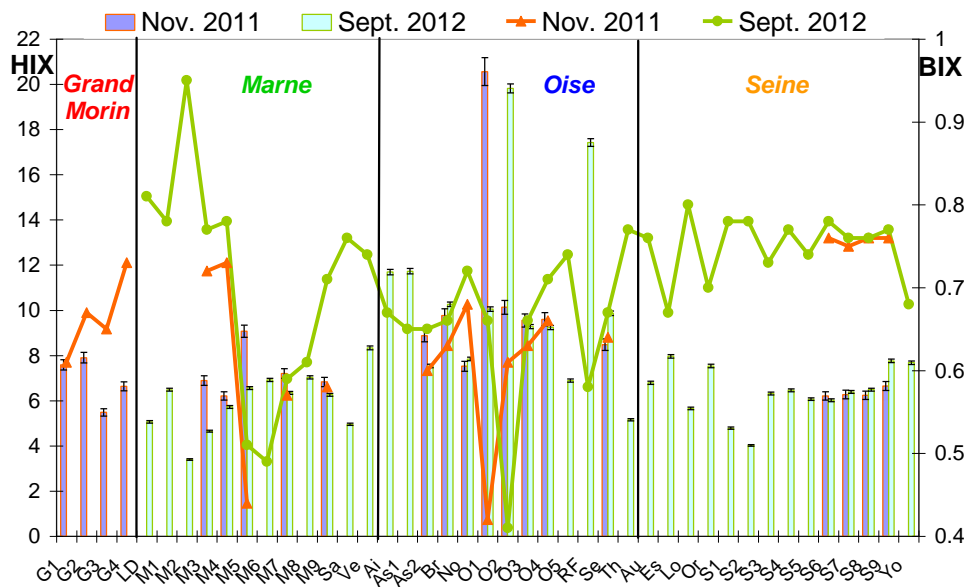


Figure 16 : Variation des indices de fluorescence HIX (histogrammes) et BIX (courbes). Comparaison des campagnes snapshot de 2011 et 2012.

• Résultats spectrophotométrie UV - Visible

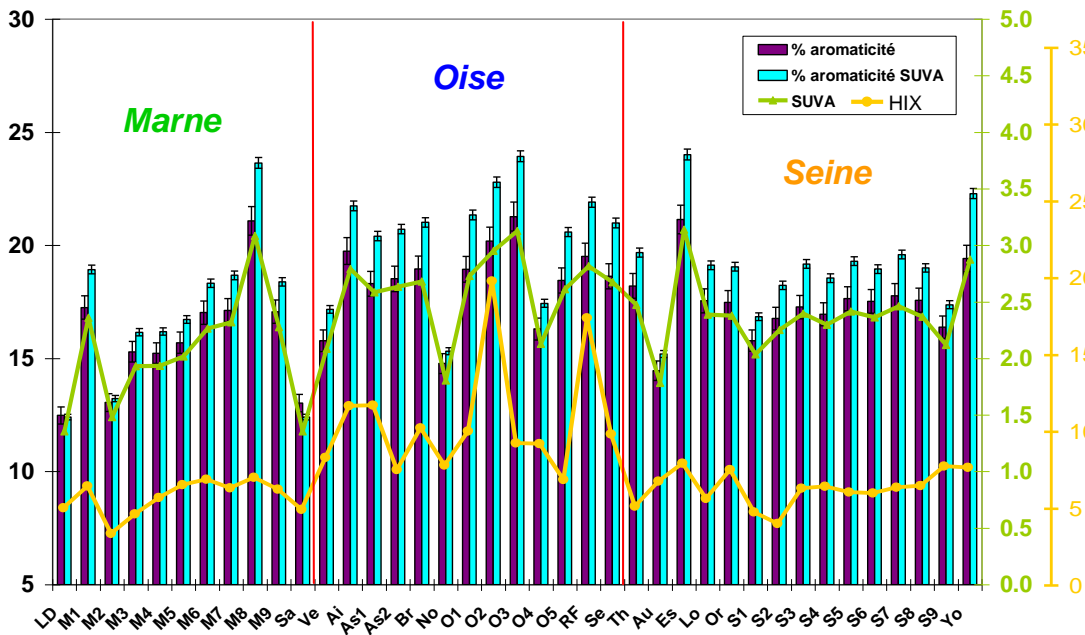


Figure 17 : Variation des pourcentages d'aromaticité et des indices SUVA ($L.m^{-1}.mg^{-1}C$) et HIX pour la campagne snapshot d'août/septembre 2012

La Figure 17 montre les variations des pourcentages de carbone aromatique calculés à partir des absorbances à 254 nm et 280 nm, ainsi que de l'indice SUVA. Ces variations sont comparées à celle de l'indice HIX. Les distributions observées sont cohérentes pour les quatre paramètres.

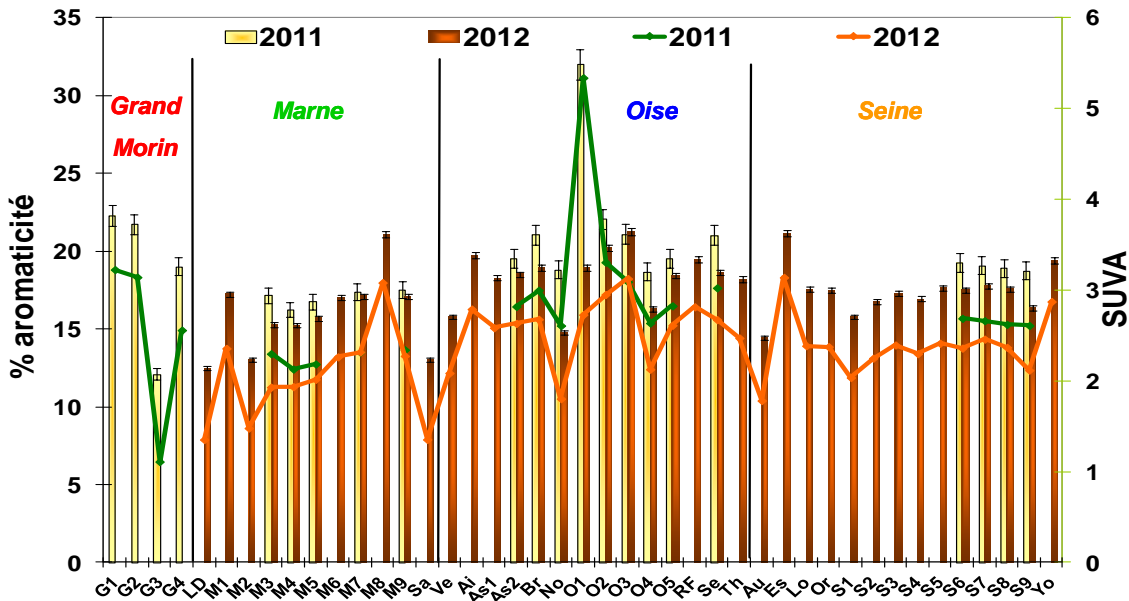


Figure 18 : Comparaison des variations du pourcentage d'aromaticité (histogramme) et de l'indice SUVA ($L.m^{-1}.mg^{-1}.C$) (courbes) pour les campagnes snapshot de novembre 2011 et août/septembre 2012

Le pourcentage d'aromaticité et l'indice SUVA sont globalement plus élevés pour les échantillons de la campagne snapshot de novembre 2011 (Figure 18).

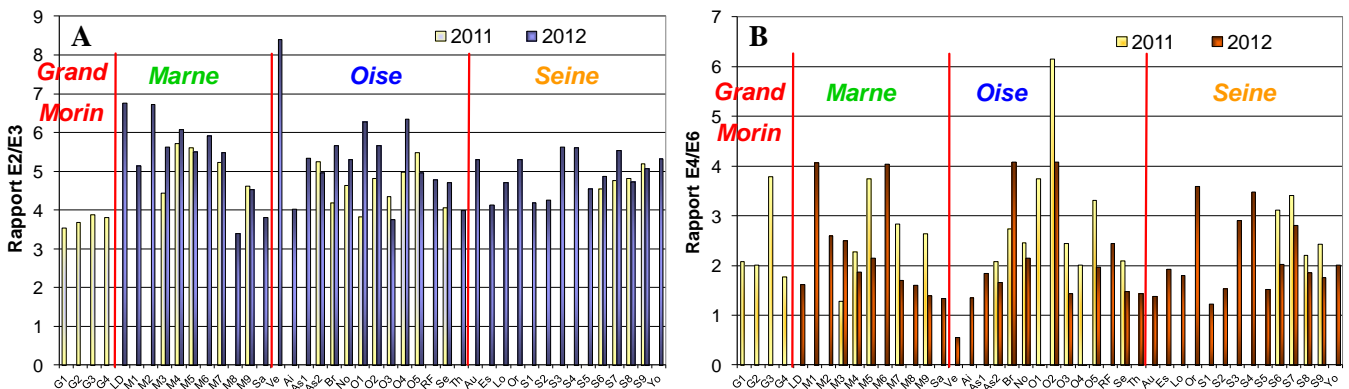


Figure 19 : Distribution des rapports d'absorbance pour les campagnes snapshot de novembre 2011 et août/septembre 2012. A : E2/E3 - B : E4/E6

Les rapports d'absorbances E2/E3 ($A_{250\text{ nm}} / A_{365\text{ nm}}$) et E4/E6 ($A_{465\text{ nm}} / A_{665\text{ nm}}$) sont présentés sur la Figure 19 pour l'ensemble des échantillons des campagnes snapshot de novembre 2011 et août/septembre 2012.

On observe des variations de ces deux rapports au sein de chacun des bassins de la Marne, de l'Oise, de la Seine et du Grand Morin, traduisant une variabilité de l'aromaticité et de la taille moyenne de la MOD pour chaque bassin et sur la globalité de la zone d'étude. On observe notamment des variations de la taille de la MOD pour les échantillons du bassin de l'Oise et, pour certains sites, de nettes différences entre les prélèvements de 2011 et 2012.

Ces différences apparaissent également sur la Figure 20-A présentant les variations du rapport de pentes spectrales S_R .

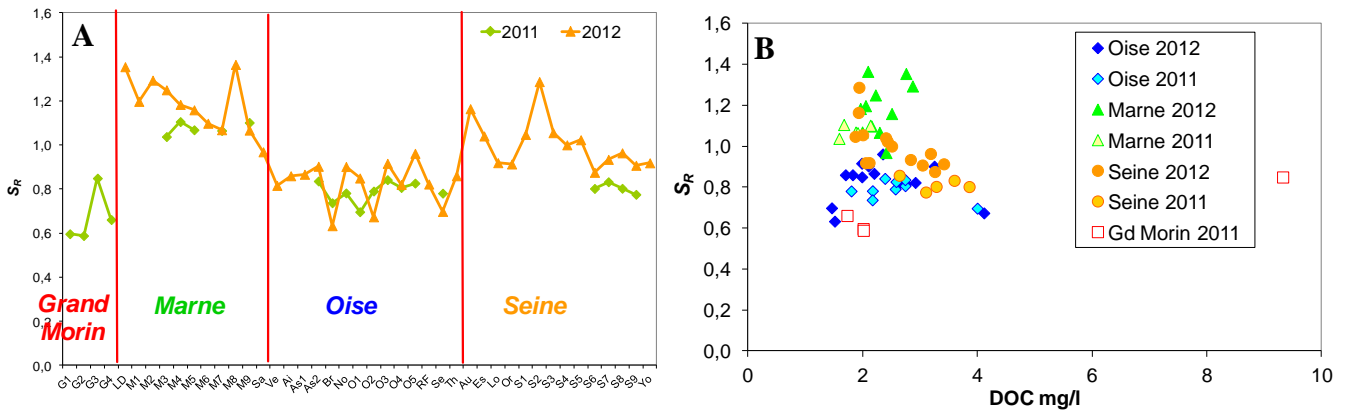


Figure 20 : Distribution du rapport de pentes spectrales S_R (pente 275–295 nm / pente 350–400 nm) pour les campagnes snapshot de novembre 2011 et août/septembre 2012 (A) Variation du rapport S_R en fonction des teneurs en COD (B)

La Figure 20-B présente la variation des rapports des pentes spectrales S_R pour l'ensemble des sites et des deux campagnes de prélèvement. Les échantillons de la Marne sont caractérisés par le matériel organique de plus faible poids moléculaire ainsi que quelques échantillons de la Seine de 2012 (Au, Es, S1, S2, S3, S4 et S5). Le matériel de plus haut poids moléculaire est observé pour les échantillons de Grand Morin en 2011, à l'exception du point G3 (Theil).

L'analyse des propriétés optiques de la MOD a permis de discriminer différentes sources de matières organiques et de mettre en évidence des variations spatio-temporelles de la qualité de cette MOD.

• **Résultats AF4**

Tous les échantillons de la campagne snapshot de novembre 2011 ont été fractionnés par couplage flux/force avec flux asymétrique. Les fractogrammes obtenus sont donnés Figure 21. Le bassin de la Marne est caractérisé par une MOD majoritairement constituée de molécules de petites tailles en bon accord avec les résultats de l'analyse de la variation des rapports des pentes spectrales S_R (Figure 20-B). Une seconde population de molécules de taille supérieure est observée en moindre proportion. Les échantillons du bassin de l'Oise montrent globalement une population majoritaire de molécules de taille intermédiaire si l'on compare avec celles observées pour le bassin de la Marne. Dans le bassin de la Seine on observe une distribution avec deux populations en proportions similaires (S6 et S7), les deux de tailles légèrement supérieures par rapport aux échantillons de la Marne. On retrouve cette distribution pour les échantillons G2 et G3 du bassin du Grand Morin. Les distributions observées pour les échantillons S5', S8 et S9 du bassin de la Seine s'apparentent plus aux distributions en taille de molécules des échantillons du bassin de l'Oise de même que pour l'échantillon G1 du bassin du Grand Morin. L'échantillon G4 de ce dernier bassin présente une distribution en taille similaire à celles déterminées pour les échantillons du bassin de la Marne.

On observe ainsi globalement trois types de distributions (Figure 22) en bon accord avec la discrimination mise en évidence par l'analyse ACP (Figure 13) et les résultats de l'analyse de la variation des rapports des pentes spectrales S_R (Figure 20-B). Un premier type est caractérisé par une prédominance de petites molécules et d'une autre population de taille supérieure (par exemple M7, Figure 22). Le second type serait caractérisé par deux populations en proportions similaires et de tailles légèrement supérieures à celles du type 1 (par exemple S6, Figure 22). La troisième catégorie est constituée d'une seule population de molécules de taille intermédiaire (par exemple Se, Figure 22).

Le fractionnement par AF4 des échantillons a ainsi confirmé la variabilité spatiale et temporelle en composition et en taille de la MOD et a permis de distinguer différents types de matière organique colloïdale.

Pour quelques échantillons ciblés, les différentes fractions obtenues par AF4 devront être collectées pour une caractérisation plus fine des propriétés de la MOD.

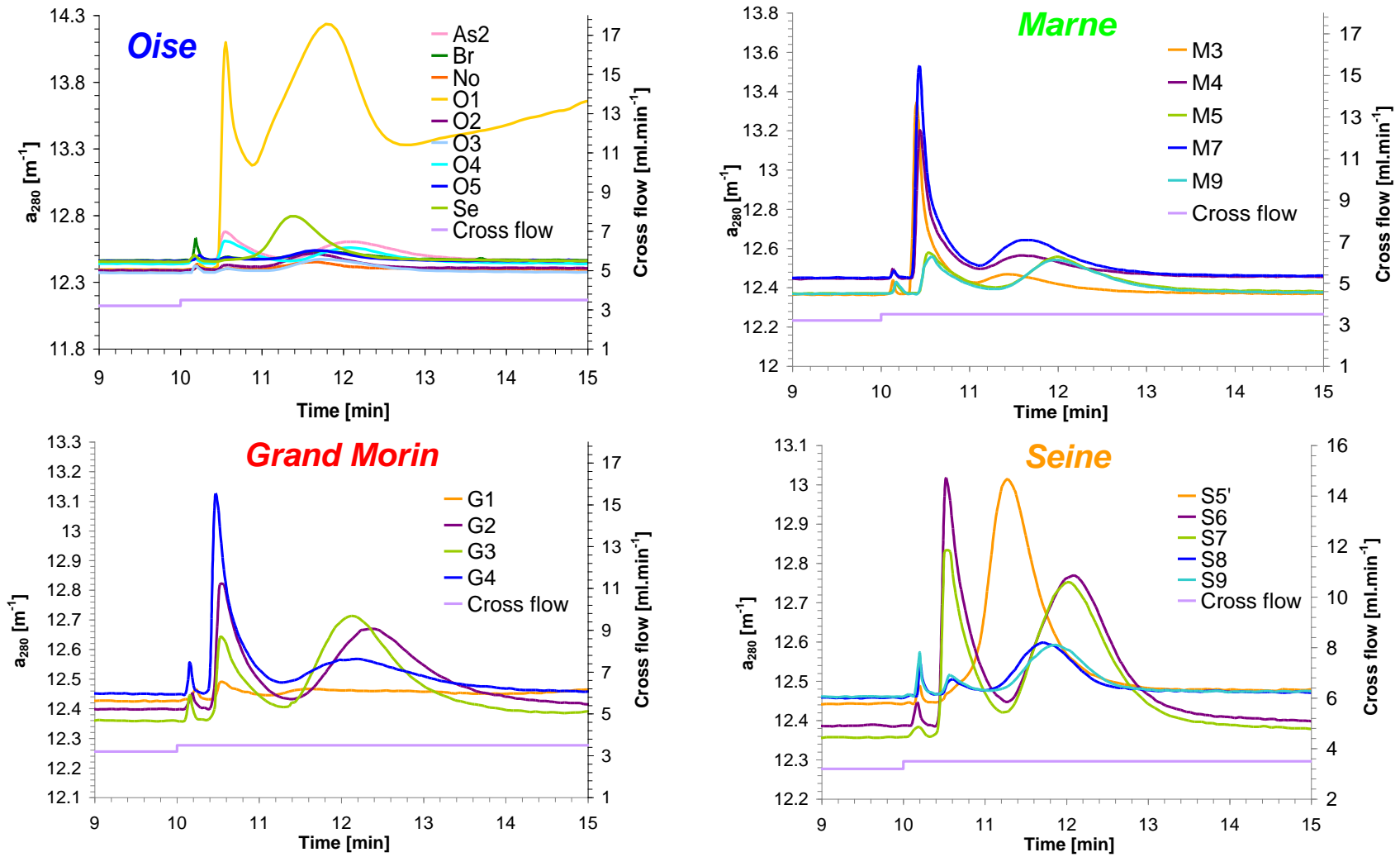


Figure 21 : Séparation par couplage flux/force avec flux asymétrique de la MOD des échantillons de la campagne snapshot de novembre 2011

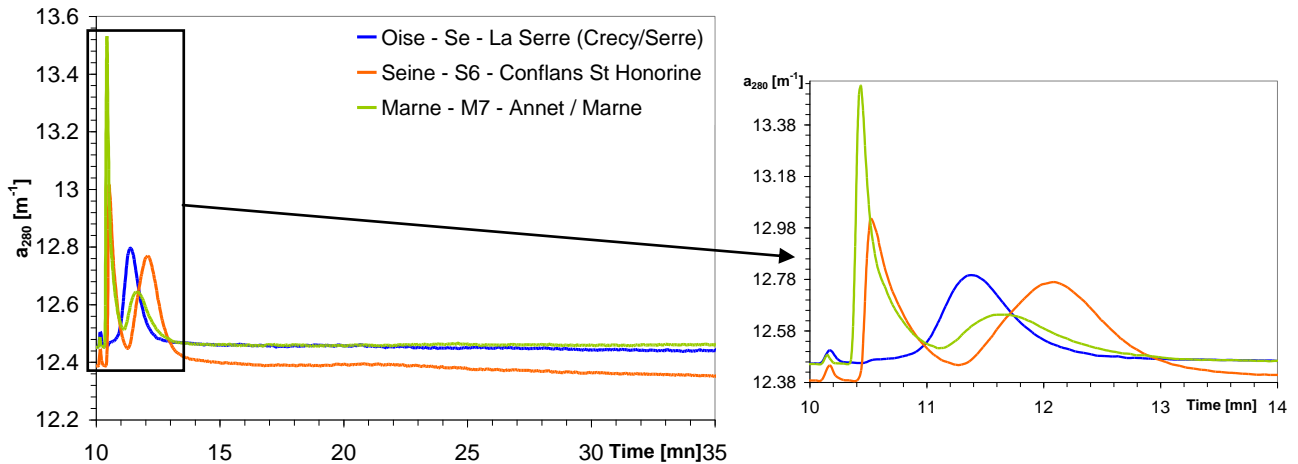


Figure 22 : Distributions types de MOD observées pour les échantillons de la campagne de 2011

2.2 Caractérisation des impacts quantitatifs et qualitatifs des rejets urbains de l'agglomération parisienne sur la matière organique dissoute du milieu récepteur

En complément de la campagne snapshot de novembre 2011, un suivi mensuel a été réalisé sur une période d'un an au niveau de l'agglomération parisienne dans le but de mettre en évidence l'impact des rejets de l'agglomération sur la MOD tant en termes de qualité que de quantité. Il s'agit donc ici de caractériser finement la MOD présente dans le bassin de la Seine au niveau de l'agglomération parisienne.

Dans le cadre de la thèse de Zeinab Matar, quatre sites du milieu récepteur ont été échantillonnés en 2010 et 2011. Il y a eu 9 campagnes d'octobre 2010 à septembre 2011. Les paramètres globaux obtenus sont présentés dans le tableau 2. Ces sites sont localisés à Ussy/Marne (marne amont agglomération parisienne), Fontaine le Port (Seine amont agglomération parisienne), Andrésy (Seine, aval des rejets de la STEP Seine-Aval) et Conflans-Sainte-Honorine (Oise à la confluence avec la Seine).

Les paramètres globaux ainsi que les concentrations en COD mesurés lors de ces différentes campagnes ont été présentés dans le rapport de l'année dernière.

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. Ce qui est détaillé par la suite.

- **Estimation des flux de matière organique de l'amont à l'aval de l'agglomération parisienne : impacts des rejets urbains**

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 23) de la façon suivante :

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

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

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

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 ce cas, 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 rejet de la STEP Seine-Aval et Andrésey. Nous observons que les rejets de la STEP contribuent plus fortement au flux du COD observé à Andrésey 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 Andrésey provient probablement principalement de l'amont.

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.

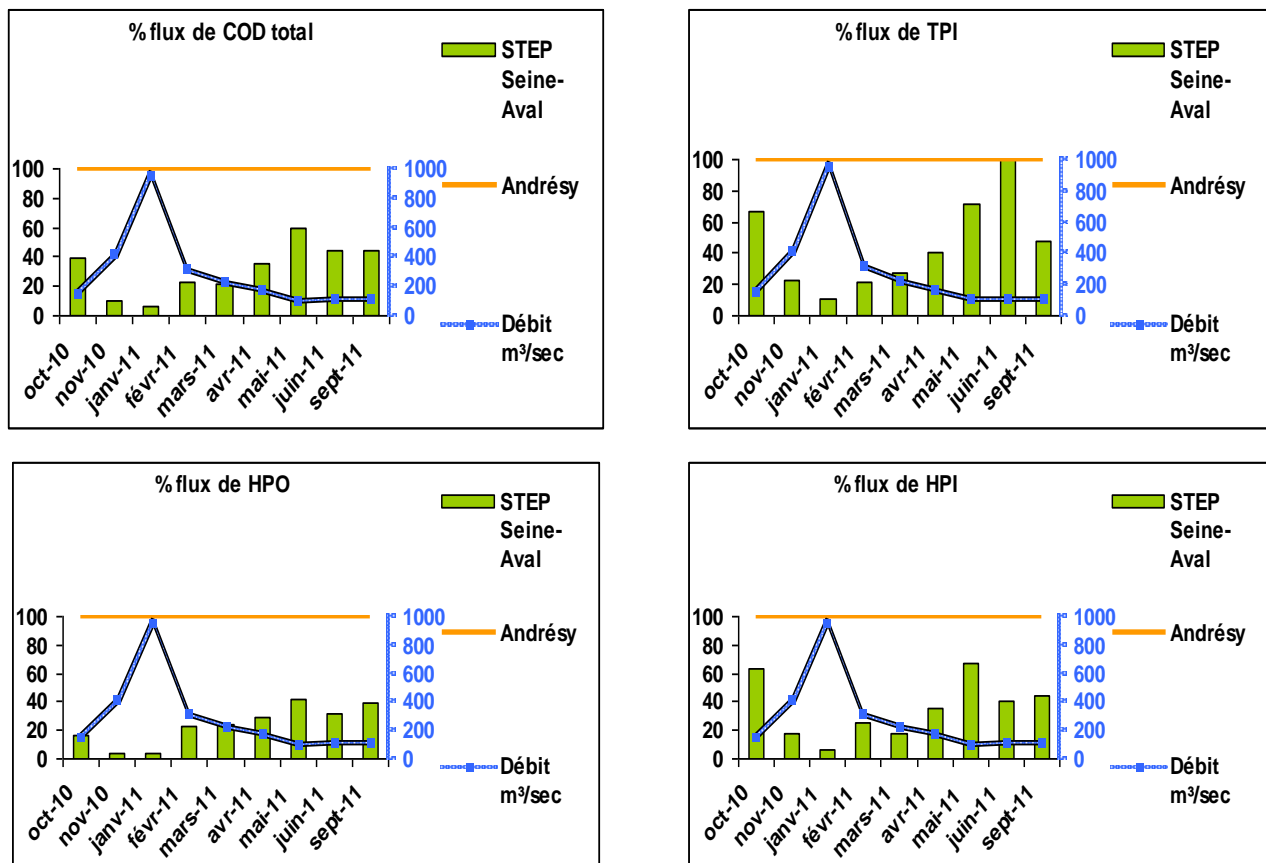


Figure 23: Pourcentage du flux de MO à l'aval de l'agglomération parisienne (Andrésey) provenant de la STEP Seine-Aval et débit de la Seine à Austerlitz.

Il est donc confirmé d'après ces résultats 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 avec des débits faibles et donc des impacts des rejets urbains qui sont amplifiés du fait de la dilution moindre.

Des outils d'analyse fonctionnelle, 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 présentée ultérieurement).

3 Thème 2 : « Rôle » de la matière organique dissoute

La matière organique, selon ses propriétés physico-chimiques va pouvoir jouer un rôle important dans la biogéochimie des contaminants. Les premiers résultats acquis en 2011 sont présentés dans ce qui suit.

3.1 Influence de la MOD sur la spéciation des métaux : paramètres de complexation des différents types de MOD

L'influence de la MOD sur la spéciation du cuivre a été étudiée. Les paramètres de complexation des échantillons prélevés au travers du continuum urbain dans le milieu récepteur ainsi que des rejets urbains sont présentés sous forme de « scattergrams » (Figure 24).

Dans l'ensemble les valeurs de constantes et de capacités complexantes sont en accord avec la littérature (Breault et al., 1996; Hirose, 2006; Sarathy and Allen, 2005; Town and Filella, 2000a).

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 mise en évidence lors de la caractérisation de ces rejets urbains. En effet, les rejets urbains sont caractérisés par l'abondance des groupements azotés (signalée en spectrofluorescence), ce qui peut sans doute expliquer les concentrations importantes en sites d'affinité forte. 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, 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 (Baken et al., 2011; Sanchez-Marín et al., 2010; Santos-Echeandia et al., 2008; Sarathy and Allen, 2005; Tushara Chaminda et al., 2010). 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 (Baken et al., 2011; Pernet-Coudrier, 2008; Sarathy and Allen, 2005). 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 l'aval, 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 l'aval. 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, déterminées en spectrofluorescence et en spectroscopie d'absorbance UV-visible, confortent les résultats obtenus et attribuent cette forte capacité

complexante de la MOD urbaine aux ligands non humiques et aux groupements fonctionnels 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 (Kozelka and Bruland, 1998; Muller, 1996; Pardo et al., 1994; Pernet-Coudrier, 2008; Santos-Echeandia et al., 2008; Town and Filella, 2000). Notons que cet aspect est moins marqué en période de hautes eaux en raison de la dilution des rejets

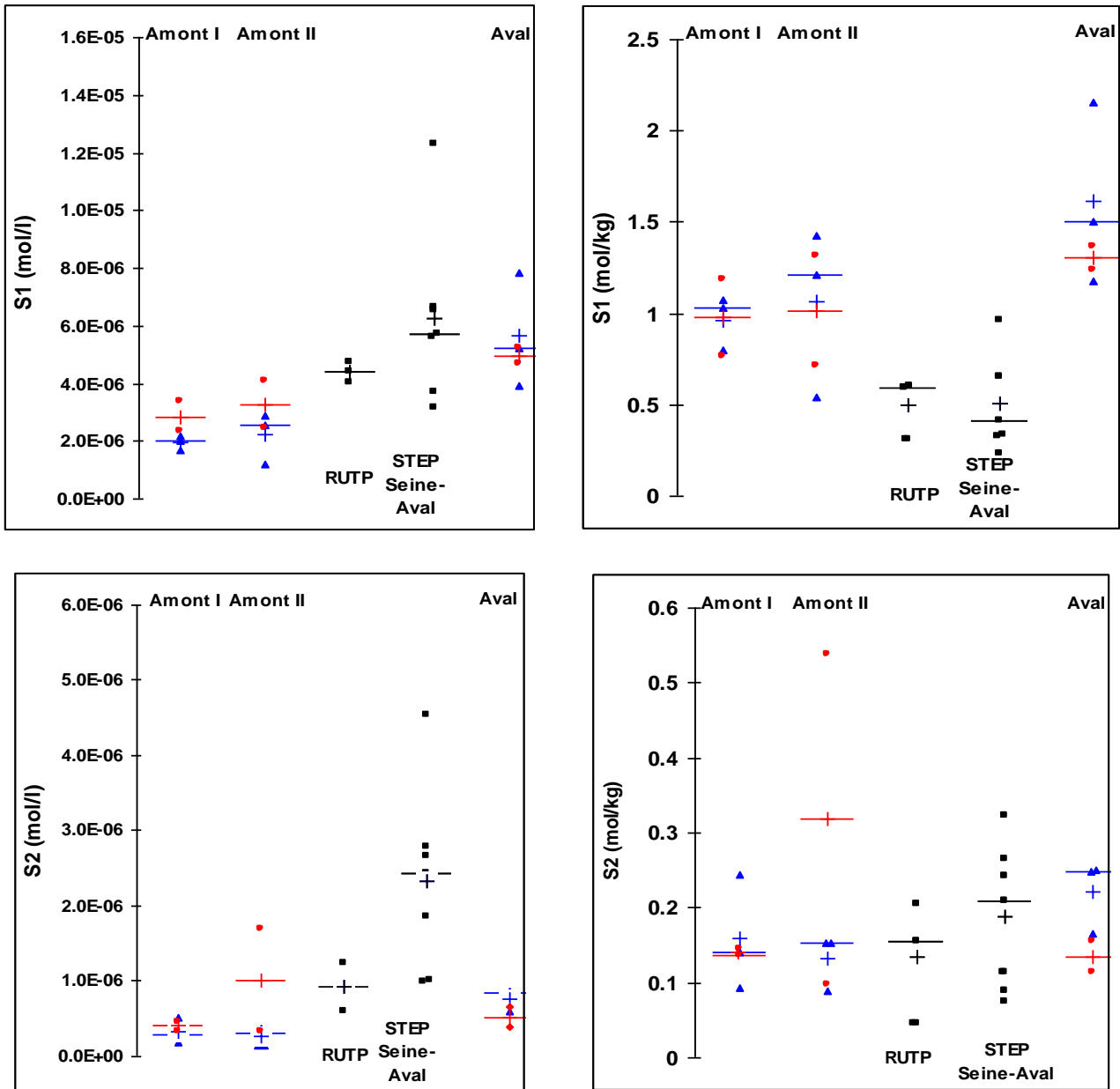


Figure 24: Distribution des capacités complexantes des MOD des différentes sources en fonction de la période de l'année (basses eaux, hautes eaux) / + : moyenne __ : médiane (en haut: sites d'affinité faible S_1 , en bas: sites d'affinité forte S_2)(Amont I : marne, Amont II : Seine Amont).

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 ?

3.2 Part 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, la contribution de la STEP Seine Aval est beaucoup plus importante qu'en période de hautes eaux (dilution de rejets) (Figure 25). 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) observé 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, nous n'avons 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 la MOD à Andrésey possède deux types de ligands et non pas trois. Pour cela, nous avons 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 à la dilution de S_3 provenant des rejets lors du mélange avec le milieu récepteur vu déjà sa faible concentration.

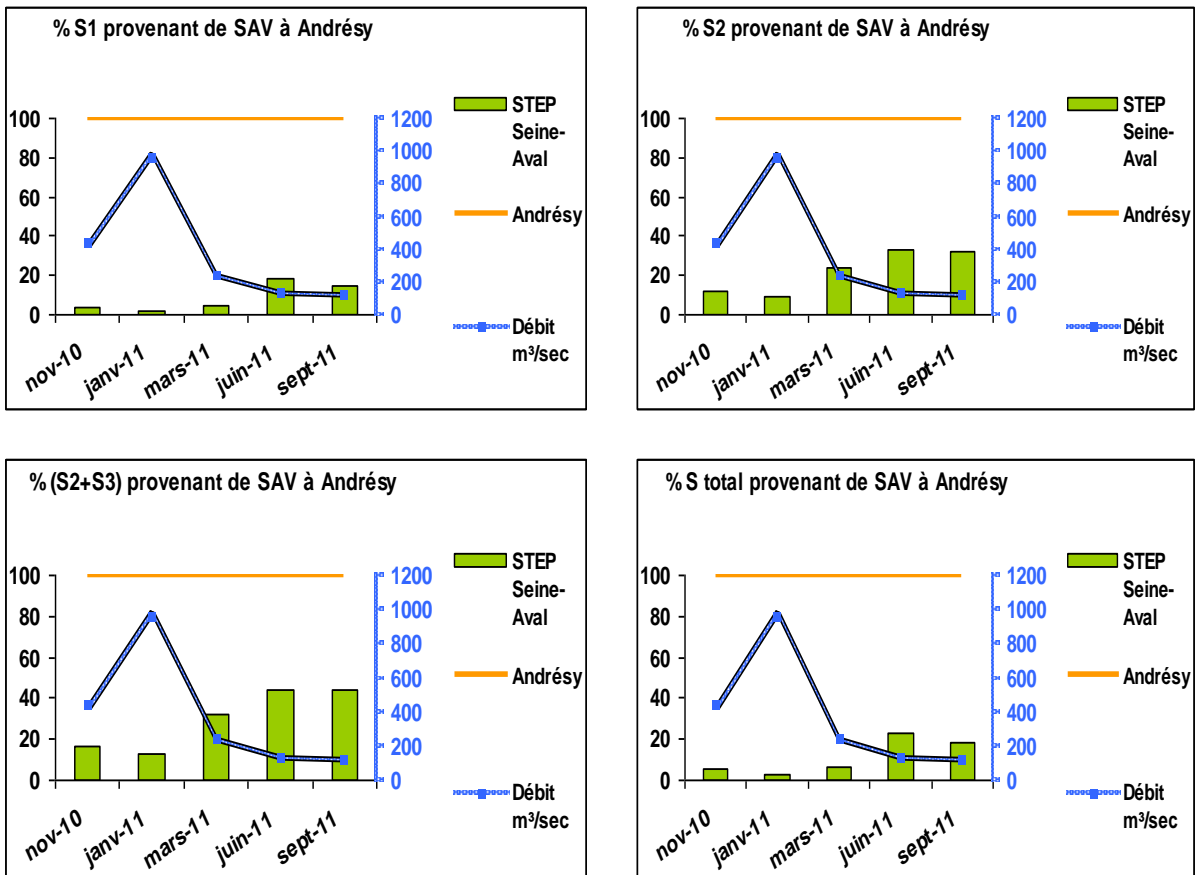


Figure 25: Variation temporelle du pourcentage du flux de sites complexants à l'aval de l'agglomération provenant de la STEP Seine-Aval

3.3 Influence de la MOD sur la biodisponibilité du cuivre

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 (modèle de l'ion libre) et

BLM (modèle du ligand biotique) 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 (cette réponse biologique reflétant alors la concentration biodisponible du métal) (Figure 26).

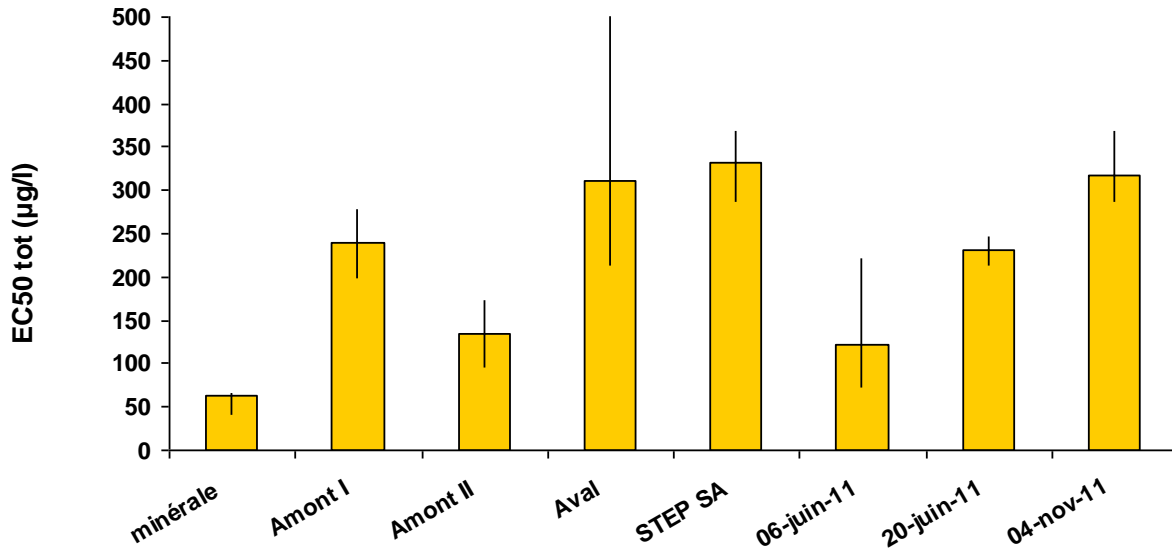


Figure 26: EC50 exprimées en cuivre total pour chaque MOD étudiée et pour la matrice inorganique.

Plusieurs études ont montré que *Daphnia magna* répondait bien au modèle du ligand biotique vis à vis du cuivre (Di Toro et al., 2001).

Les EC50_{tot} 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 (De Schamphelaere et al., 2004b; DePalma et al., 2011; Markich et al., 2003; Schwartz et al., 2004; Trenfield et al., 2011).

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 l'amont II est plus faible que celle mesurée pour l'amont I. Pour le site en aval de l'agglomération parisienne, comparé aux sites amont, nous observons une EC50_{tot} plus élevée (amont II) ou comparable (amont I). 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., 2006; DePalma et al., 2011; Kang et al., 2011; Pernet-coudrier et al., 2008; Sanchez-Marin et al., 2010; Worms et al., 2010; 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. L'EC50_{tot} semble augmenter avec l'augmentation des teneurs en eaux usées même si le nombre d'évènement est trop faible pour confirmer cette tendance.

En comparant les EC50_{tot} des RUTP avec celles mesurées pour les rejets de STEP, on constate que ces derniers présentent une EC50_{tot} plus élevée.

4 Conclusions et perspectives

Deux campagnes snapshot ont été menées en 2011 et 2012. Une quarantaine de stations ont été échantillonnées principalement dans les zones amont du bassin de la Seine. La polarité, la biodégradabilité et les propriétés optiques (fluorescence notamment) de la matière organique dissoute contenue dans ces échantillons ont été caractérisées. L'utilisation d'un grand panel d'outils pour caractériser la MOD dans les échantillons prélevés lors des deux campagnes snapshot a déjà permis d'apporter quantité d'informations intéressantes sur la nature de la matière organique dans le bassin de la Seine et ainsi déjà de mettre en évidence des typologies différentes de matière organique selon le sous-bassin considéré. D'autres résultats à venir concernant la caractérisation de la matière organique particulaire (RMN¹³C, ¹³C, ¹⁵N, Py-GC-MS) devraient nous apporter également des informations intéressantes. En raison du ruissellement et des écoulements de subsurface, à l'occasion de la campagne snapshot en période de crue (en cours lors de la rédaction de ce rapport), des différences plus marquées de MO devraient être mises en évidence selon le sous-bassin considéré et l'occupation des sols. En 2013, L'interprétation plus poussée des résultats obtenus lors des trois campagnes snapshot devrait nous permettre de sélectionner au mieux les sous-bassins à suivre avec une fréquence plus élevée en 2013/2014 toujours dans l'objectif de mieux caractériser les sources de MOD dans le bassin de la Seine.

La thèse de Zeinab Matar a permis de caractériser finement l'impact des rejets urbains sur la qualité et la quantité de MOD à l'aval de l'agglomération parisienne. En période de basses-eaux, en raison de la faible dilution de ses effluents, la STEP Seine-Aval contribue à part égale à celle de la Seine au flux de MOD. Cette contribution est d'autant plus importante pour la fraction hydrophile étant donnée la forte hydrophilicité des rejets urbains. La polarité de la MOD est assez peu modifiée à la traversée de l'agglomération dans la mesure où, en période de basses-eaux, la MOD venant de l'amont est déjà relativement hydrophile (comme la MOD des rejets de STEP).

En outre ces travaux de thèse ont permis de démontrer que la matière organique dissoute contenue dans les rejets urbains présente une forte affinité pour les métaux traces et qu'elle va donc influencer considérablement leur spéciation et leur biodisponibilité à l'aval de l'agglomération. A l'aval de l'agglomération, en période de basses eaux, de 20 à 30% des ligands présents proviennent des rejets de la STEP Seine-Aval. Cette étude démontre le rôle de la MOD d'origine urbaine sur la biogéochimie des métaux dans les systèmes aquatiques sous forte pression urbaine. En 2013, ces travaux vont se poursuivre avec notamment l'étude des interactions entre la MOD, les particules minérales et les contaminants organiques et métalliques. La MOD d'origine urbaine sera particulièrement étudiée.

5 Références

- Baken, S., et al. (2011). "Metal Complexation Properties of Freshwater Dissolved Organic Matter Are Explained by Its Aromaticity and by Anthropogenic Ligands." Environmental Science & Technology **45**(7): 2584-2590.
- Breault, R. F., et al. (1996). "Copper speciation and binding by organic matter in copper-contaminated streamwater." Environmental Science & Technology **30**(12).
- Buzier, R., et al. (2006). "Evaluation of DGT as a metal speciation tool in wastewater." Science of the Total Environment **358**(1-3).
- De Schamphelaere, K. A. C., et al. (2004b). "Effect of dissolved organic matter source on acute copper toxicity to *Daphnia magna*." Environmental Toxicology and Chemistry **23**(5): 1248-1255.
- DePalma, S. G. S., et al. (2011). "Effects of dissolved organic matter and reduced sulphur on copper bioavailability in coastal marine environments." Ecotoxicology and Environmental Safety **74**(3).
- Di Toro, D. M., et al. (2001). "Biotic ligand model of the acute toxicity of metals. 1. Technical basis." Environmental Toxicology and Chemistry **20**(10).
- Hirose, K. (2006). "Chemical speciation of trace metals in seawater: a review." Analytical Sciences **22**(8).
- Kang, S.-W., et al. (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**(5-12): 370-375.
- Knepper, T. P. (2003). "Synthetic chelating agents and compounds exhibiting complexing properties in the aquatic environment." Trac-Trends in Analytical Chemistry **22**(10).
- Kozelka, P. B. and K. W. Bruland (1998). "Chemical speciation of dissolved Cu, Zn, Cd, Pb in Narragansett Bay, Rhode Island." Marine Chemistry **60**(3-4).
- Markich, S. J., et al. (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**(4): 479-491.
- 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**(3-4).
- Pardo, R., et al. (1994). "Voltammetric complexation capacity of waters of the Pisuega river." Water Research **28**(10).
- 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. Université Paris-Est: 292 p.
- Pernet-coudrier, B., et al. (2008). "Dissolved organic matter from treated effluent of a major wastewater treatment plant: Characterization and influence on copper toxicity." Chemosphere **73**(4): 593-599.
- Pernet-Coudrier, B., et al. (2011). "Characterisation of dissolved organic matter in Parisian urban aquatic systems: predominance of hydrophilic and proteinaceous structures." Biogeochemistry **106**(1): 89-106.
- Sanchez-Marin, P., et al. (2010). "Effect of dissolved organic matter (DOM) of contrasting origins on Cu and Pb speciation and toxicity to *Paracentrotus lividus* larvae." Aquatic Toxicology **96**(2).
- Santos-Echeandia, J., et al. (2008). "Copper speciation in continental inputs to the Vigo Ria: Sewage discharges versus river fluxes." Marine Pollution Bulletin **56**(2).
- Sarathy, V. and H. E. Allen (2005). "Copper complexation by dissolved organic matter from surface water and wastewater effluent." Ecotoxicology and Environmental Safety **61**(3): 337-344.
- Schwartz, M. L., et al. (2004). "Influence of natural organic matter source on acute copper, lead, and cadmium toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)." Environmental Toxicology and Chemistry **23**(12): 2889-2899.
- Town, R. M. and M. Filella (2000). "A comprehensive systematic compilation of complexation parameters reported for trace metals in natural waters." Aquatic Sciences **62**(3).

Town, R. M. and M. Filella (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**(6).

Trenfield, M. A., et al. (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**(7).

Servais P., Barillier A. and Garnier J. (1995) Determination of the biodegradable fraction of dissolved and particulate organic carbon. Annales de Limnologie 31(1), 75±80.

Tushara Chaminda, G. G., et al. (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**(9).

Tusseau-Vuillemin, M. H., et al. (2004). "Performance of diffusion gradient in thin films to evaluate the toxic fraction of copper to *Daphnia magna*." Environmental Toxicology and Chemistry **23**(9): 2154-2161.

Worms, I. A. M., et al. (2010). "Uptake of Cd(II) and Pb(II) by microalgae in presence of colloidal organic matter from wastewater treatment plant effluents." Environmental Pollution **158**(2): 369-374.

Yi, X., et al. (2011). "A Comparative Study on Toxicity Identification of Industrial Effluents Using *Daphnia magna*." Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology **87**(3): 319-323.