

# Méthodologie et résultats préliminaires de l'évaluation du risque écotoxicologique lié au zinc en Seine

Emmanuelle Uher et M.-H. Tusseau-Vuillemin,  
Cemagref HBAN, Parc de Tourvoie, BP 44, F-92 163 Antony cedex.

|   |          |
|---|----------|
| <b>1. INTRODUCTION</b> .....  | <b>1</b> |
| <b>2. METHODOLOGIE</b> .....  | <b>1</b> |
| 2.1 MESURE DU ZINC DISSOUS.....   | 1        |
| 2.1.1 Echantillonnage et traitement de l'échantillon.....                   | 1        |
| 2.1.2 Analyse.....  | 1        |
| 2.2 MESURE DU ZINC LABILE.....  | 2        |
| 2.3 BIOTESTS.....   | 2        |
| <b>3. RESULTATS ET DISCUSSION</b> .....                                     | <b>3</b> |
| 3.1 VARIABILITE SPATIALE.....   | 3        |
| 3.2 VARIABILITE TEMPORELLE.....   | 3        |
| 3.3 EVALUATION DE LA TOXICITE AIGÛE DU ZINC SUR <i>DAPHNIA MAGNIA</i> ..... | 4        |
| <b>4. CONCLUSION</b> .....  | <b>5</b> |
| <b>5. REFERENCES</b> .....  | <b>5</b> |

## 1. Introduction

L'évaluation du risque lié au zinc nécessite la maîtrise de la mesure chimique, en particulier sous forme dissoute et labile. Or, la forte probabilité de contaminer l'échantillon tout au long de la chaîne analytique rend cette mesure difficile. Il est donc nécessaire de mettre au point et de valider une méthodologie propre au zinc, depuis l'échantillonnage jusqu'à l'analyse.

L'objectif des travaux préliminaires menés en 2006 était de s'assurer de la faisabilité du travail sur le zinc, de tester et d'adapter la technique de mesure DGT de la forme labile au cas du zinc, et de faire une première évaluation de la toxicité aigüe.

## 2. Méthodologie

### 2.1 Mesure du zinc dissous

#### 2.1.1 Echantillonnage et traitement de l'échantillon

Les échantillons destinés au dosage du métal dissous sont prélevés dans des tubes Sarstedt en polypropylène à usage unique. La filtration est réalisée in situ sur des filtres seringues en polyethersulfone (PES) de porosité 0,45 µm, à l'aide de seringues en polyéthylène.

Un blanc de filtration avec de l'eau ultra-pure (Elga UHQ-PS) est réalisé sur place.

Au laboratoire, les échantillons sont acidifiés à 1% (v/v) avec HNO<sub>3</sub> suprapur à 65% sous hotte à flux laminaire de classe 100.

#### 2.1.2 Analyse

Afin de procéder à l'analyse des échantillons, plusieurs techniques sont à notre disposition :

- La Spectrométrie d'Absorption Atomique de Flamme (Varian SpectrAA 220FS) pour les teneurs en Zn supérieures à  $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ .
- La Spectrométrie d'Absorption Atomique en Four Graphite à correction Zeeman (Varian SpectrAA 220Z) sur une gamme allant de  $0,3$  à  $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ .
- L'ICP-AES pour les teneurs supérieures à  $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

En adoptant une démarche de travail spécifique à cet élément, comme le suivi rigoureux de la qualité de l'eau ultra-pure, l'utilisation de vaisselle à usage unique et le travail sous hotte à flux laminaire de classe 100, il est possible d'obtenir des résultats satisfaisants de mesure du zinc :

- $0,06 \mu\text{g.L}^{-1}$  pour le blanc analytique, soit une valeur négligeable par rapport au domaine de travail.
- $0,87 \pm 0,09 \mu\text{g.L}^{-1}$  pour le matériau de référence SLRS-4 dont la valeur certifiée est de  $0,93 \pm 0,10 \mu\text{g.L}^{-1}$ , soit un recouvrement de 93%.

Le zinc à bas niveau est par conséquent mesurable dans les conditions de travail que nous les avons déterminées.

## 2.2 Mesure du zinc labile

Les concentrations en zinc labile, sur site et en laboratoire, ont été déterminées par la technique DGT (DGT research Ltd). Nous avons pour cela utilisé des gels de résine chelex-100, associés à des gels de diffusion restrictifs d'épaisseur  $0,8 \text{ mm}$ . Pour la mesure sur site, nous avons ajouté au dispositif précédent deux membranes filtrantes : ester de cellulose de porosité  $0,45 \mu\text{m}$  et polycarbonate de porosité  $0,4 \mu\text{m}$ . Les DGT sont déployées de quelques heures en laboratoire jusqu'à deux semaines sur site.

Après l'exposition, la résine chelex est éluée dans l'acide nitrique  $1 \text{ mol.L}^{-1}$  pendant au moins 24h. L'éluat est ensuite analysé par Absorption Atomique Flamme. La concentration en zinc labile est déduite de l'équation suivante :

$$C_{\text{labile}} = \frac{M\Delta g}{DtA}$$

Où M est la masse de Zn accumulée sur la résine,  $\Delta g$  est l'épaisseur de diffusion, D le coefficient de diffusion du Zn dans le gel, t le temps d'immersion et A l'aire exposée.

## 2.3 Biotests

Les biotests ont été réalisés sur des daphnies de moins de 24h. Les solutions d'exposition de différentes concentrations en Zn ont été préparées à partir de sels de  $\text{ZnSO}_4$  dans le milieu testé : milieu inorganique ou eau de Seine filtrée. Les différents milieux sont mis à équilibrer à  $20^\circ\text{C}$  24 heures avant le début de l'expérience dans les tubes à essai servant aux tests.

Chaque concentration d'exposition fait l'objet d'un test sur trois réplicats de 5 à 10 daphnies chacun. Le nombre de daphnies immobilisées est comptabilisé au bout de 48h. Des prélèvements d'eau sont effectués en début et fin d'expérience pour vérifier la concentration totale en Zn. Une macro permet ensuite de modéliser l'effet du zinc en fonction de la concentration.

Parallèlement, des DGT sont déployées dans chacun des milieux soumis aux daphnies, nous donnant la concentration en Zn labile correspondante.

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1 Variabilité spatiale

Au cours de l'automne 2006, une campagne d'investigation sur le bassin de la Seine a été réalisée. Le zinc dissous a été analysé en différents points : la Seine en amont (Melun) et en aval (Ecluse d'Andrésy) de Paris, ainsi que des cours d'eau en milieu plus ou moins urbanisés : l'Orge, l'Yvette, la Mauldre et la Celle.

Les résultats obtenus, représentés en Figure 1, montrent la très grande variabilité du paramètre.

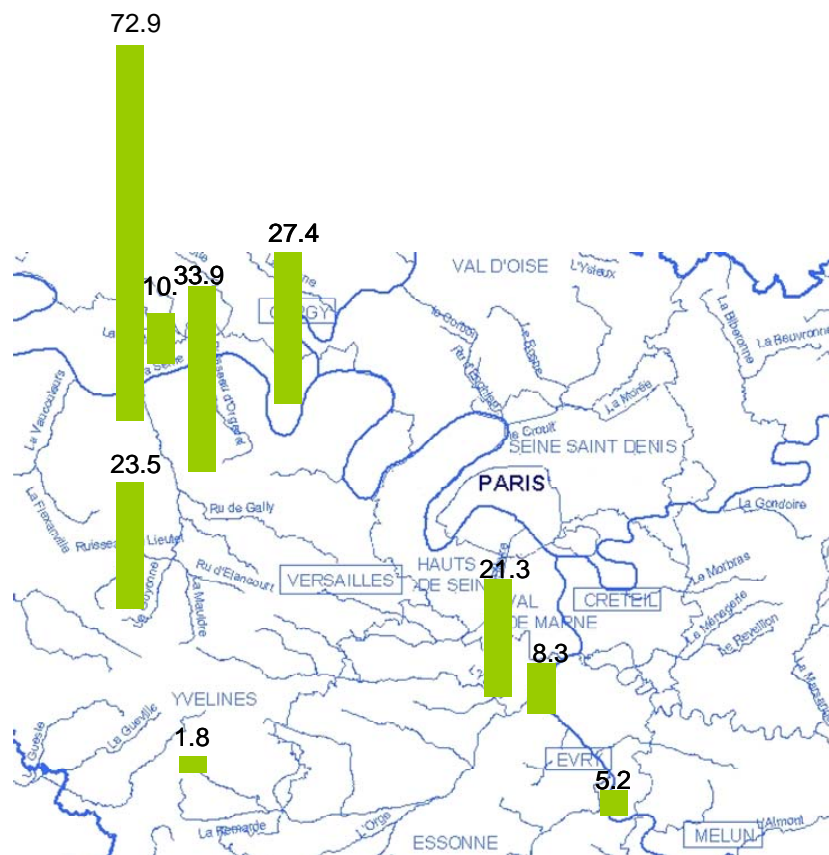


Figure 1. Zn dissous ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) sur le bassin de la Seine, automne 2006.

#### 3.2 Variabilité temporelle

Deux campagnes d'échantillonnage ont été effectuées en 2006 :

- En juillet sur les sites de l'écluse de Saint-Maurice (amont de Paris) et de l'écluse d'Andrésy (aval de Poissy).
- En septembre-octobre 2006 sur le site d'Andrésy.

Les résultats (cf. Figure 2) montrent une forte variabilité entre les deux périodes considérées, allant de  $8 \mu\text{g.L}^{-1}$  en moyenne en juillet à  $32 \mu\text{g.L}^{-1}$  lors de la campagne d'automne. La valeur de Zn labile obtenue en automne est de  $6,4 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

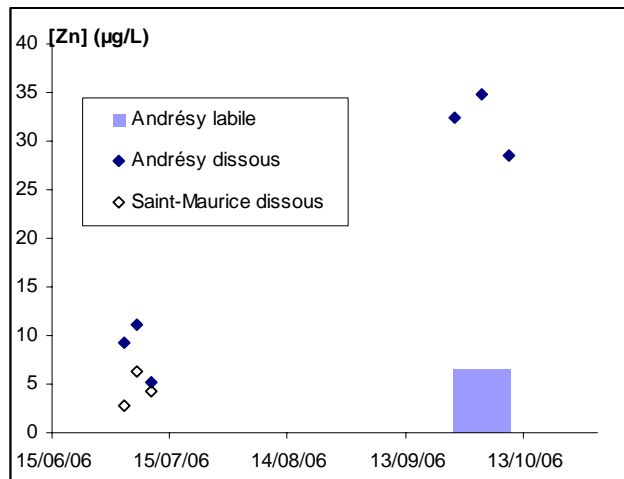


Figure 2. Zn dissous et labile (µg/L) à Saint-Maurice et Andrésey (2006).

Ces résultats sont à rapprocher de ceux obtenus par l'agence de l'eau au cours de la précédente décennie, grâce au suivi systématique des métaux dissous à la station de Poses. Les données de ce suivi (Figure 3) montrent également une forte variabilité sur du zinc dissous pour la période 2001-2006.

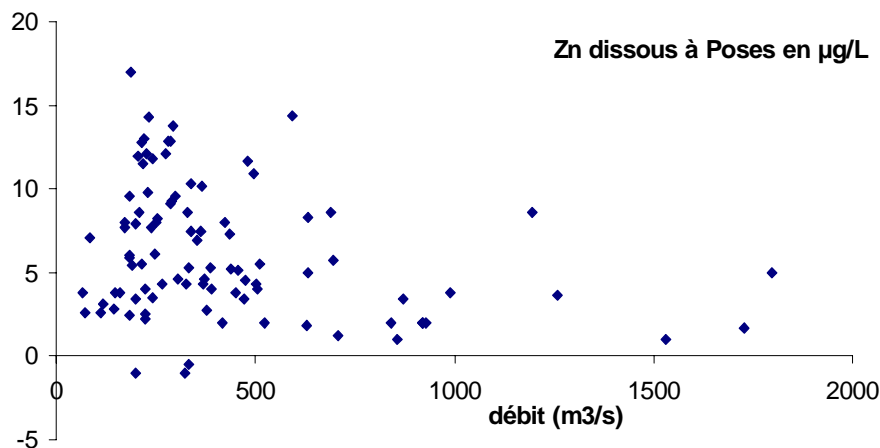


Figure 3. Concentrations en zinc dissous à Poses en µg/L, données du RNB, fournies par l'AESN, Marielle Olivier du SNS et Hervé Maritey du laboratoire de Rouen.

### 3.3 Evaluation de la toxicité aiguë du zinc sur *daphnia magna*

Les biotests réalisés sur les daphnies ont été exploités pour donner une valeur d'EC50 exprimée en :

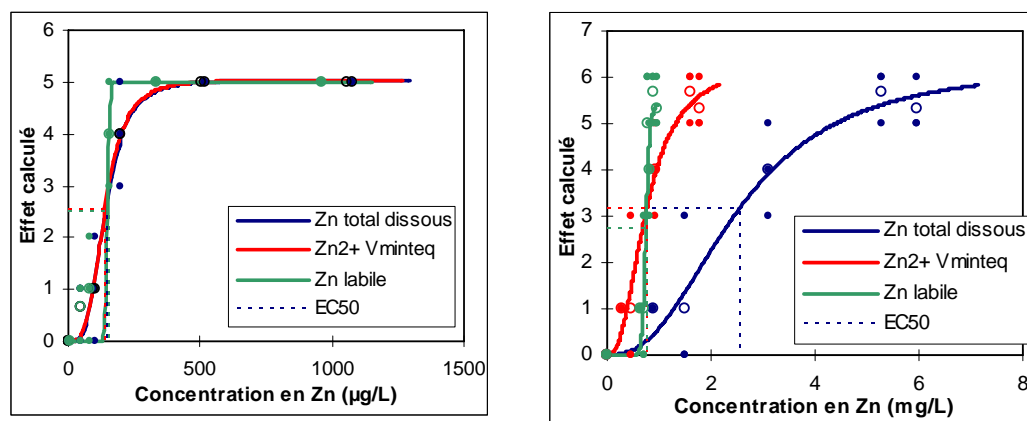
- zinc total dissous (prélèvements et analyse en FAAS)
- zinc labile (DGT)
- $Zn^{2+}$  évalué par le logiciel de spéciation Vminteq, prenant en compte la composition minérale et le carbone organique de la solution d'exposition des daphnies.

Les daphnies ont été testées dans un premier temps en matrice eau minérale (Figure 4a), donnant une EC50 de  $140 \mu g.L^{-1}$  environ.

Le même test réalisé en matrice Seine (Figure 4b), dont la composition minérale diffère du premier test et dont le COD est de  $4 mg.L^{-1}$ , donne un résultat beaucoup plus élevé, montrant

ainsi un effet protecteur de la matière organique et des cations. L'EC50 exprimée en Zn labile (inorganique + quelques complexes labiles) est de 0,75 mg.L<sup>-1</sup>. Compte tenu de la forte minéralisation de l'eau de Seine par rapport à l'eau de Mont-Dore et de l'effet protecteur des cations, l'ordre de grandeur de ce résultat est cohérent avec celui du premier test.

Le résultat donné par la simulation de spéciation Vminteq donne le même résultat que le labile, et par conséquent surestime la valeur du zinc inorganique Zn<sup>2+</sup>.



A b  
**Figure 4 a et b. Courbes de toxicité du Zinc sur Daphnia Magna en matrice eau minérale(a) et matrice Seine (b)**

| EC50                     | MATRICE MONT-DORE      | MATRICE SEINE           |
|--------------------------|------------------------|-------------------------|
| Zn total dissous         | 141 µg.L <sup>-1</sup> | 2,5 mg.L <sup>-1</sup>  |
| Zn labile                | 149 µg.L <sup>-1</sup> | 0,75 mg.L <sup>-1</sup> |
| Zn <sup>2+</sup> Vminteq | 138 µg.L <sup>-1</sup> | 0,76 mg.L <sup>-1</sup> |

Tableau 1. EC50 sur Daphnia Magna en matrice eau minérale et Seine

#### 4. Conclusion

Les résultats obtenus au cours des campagnes d'été et automne 2006 ont permis de valider nos pratiques de laboratoire pour le cas du zinc. Les premières observations montrent une importante variabilité des teneurs en zinc dans le bassin de la Seine et au cours du temps, pouvant s'expliquer par la dispersion des sources possibles, les événements hydrologiques et le comportement de l'élément dans le milieu aquatique. La pertinence de la mesure de la partie labile est confirmée par les biotests réalisés en laboratoire.

#### 5. Références

Heijerick, D. G., K. A. C. De Schamphelaere, et al. (2002). "Predicting acute zinc toxicity for Daphnia magna as a function of key water chemistry characteristics: Development and validation of a biotic ligand model." *Environmental Toxicology and Chemistry* **21**(6): 1309-1315.