

# Caractérisation de la matière organique dissoute des rejets d'une importante station d'épuration et influence sur la biodisponibilité du cuivre

■ B. PERNET-COUDRIER<sup>1</sup>, G. VARRAULT<sup>1</sup>, L. CLOUZOT<sup>1</sup>, O. ROUSSELOT<sup>2</sup>,  
M.-H. TUSSEAU-VUILLEMIN<sup>3</sup>, J.-M. MOUCHEL<sup>4</sup>

Mots-clés : biodisponibilité, biotest, complexation, matière organique dissoute, métal, toxicité

## 1. Introduction

Dans les milieux aquatiques, la matière organique dissoute (MOD) est une composante importante du cycle du carbone qui contrôle la spéciation des métaux traces mais aussi leur biodisponibilité, voire leur toxicité vis-à-vis des organismes vivants [BUFFLE, 1988 ; TESSIER et TURNER, 1995]. Les sources de MOD sont multiples et variées.

Elles peuvent être naturelles :

- allochtones (c'est-à-dire pédogéniques) ayant principalement pour origine les plantes supérieures et les micro-organismes contribuant à leur dégradation et autochtones (c'est-à-dire aquagéniques) provenant des organismes vivants (algues, bactéries et macrophytes) croissant dans l'eau ;
- ou bien d'origine anthropique : eaux de ruissellements (lixiviats de décharges, ruissellement de chaussée) et rejets urbains (domestiques et industriels) et agricoles, traités ou non traités.

Durant les vingt dernières années, de nombreuses études ont montré le pouvoir complexant de la MOD vis-à-vis du cuivre. Beaucoup d'entre elles ont trouvé

des capacités et des constantes de complexation variant significativement avec les conditions expérimentales (constantes conditionnelles) [TOWN et FILELLA, 2000] mais variant également avec la nature et l'origine des matériaux isolés [BUFFLE et al., 1980 ; MANTOURA et al., 1978]. Pour autant, il est intéressant de noter que les données publiées concernent généralement les substances humiques (SH), catégorie définie conventionnellement et correspondant aux macromolécules polyélectroniques hétérogènes isolées par un procédé basé sur l'adsorption à pH acide sur des résines XAD-8. Les SH, fraction la plus hydrophobe de la MOD, dérivent principalement de la dégradation des plantes supérieures et représentent 40 à 60 % du carbone organique dissous (COD) en milieu naturel [MARTIN-MOUSSET et al., 1997]. Cependant en milieu fortement anthropisé, le caractère humique de la MOD ne prédomine plus du fait des différents rejets urbains de MOD ainsi que de la forte productivité primaire induite par ces rejets [IMAI et al., 2002]. Des études menées sur ce type d'effluents, ont souligné une complexation particulière des métaux par les eaux urbaines comparées aux eaux naturelles [BUZIER et al., 2006 ; SARATHY et ALLEN, 2005], notamment à cause de la présence de substances non humifiées (SNH). Du fait de la difficile extraction et purification de ces SNH, fraction la plus hydrophile de la MOD, ainsi qu'à leur faible proportion en milieu naturel, il n'existe, à notre connaissance, que très peu d'informations dans la littérature sur les SNH et aucune ne traite de l'influence

1 CERERE, Université Paris 12, 61 av. du Gal de Gaulle, 94010 Créteil Cedex, France

Mél. : pernet-coudrier@univ-paris12.fr ; varrault@univ-paris12.fr

2 SIAAP, Direction de la Recherche et du Développement, 82 av. Kléber, 92700 Colombes, France

Mél. : olivier.rousselet@siaap.fr

3 Cemagref- Unité QHAN, Parc de Tourvoie, BP 44, 92163 Anthony Cedex, France. Mél. : marie-helene.tusseau@cemagref.fr

4 Sisyphe, Université Paris 6, 4 place Jussieu, 75252 Paris Cedex 05, France. Mél. : jean-marie.mouchel@ccr.jussieu.fr

des MOD urbaines extraites sur la biodisponibilité des métaux.

Le premier objectif de cette étude est d'extraire et de fractionner dans leur intégralité les MOD issues de rejets traités de STEP de l'agglomération parisienne à l'aide d'un protocole récemment développé [CROUÉ, 2004] puis de caractériser ces fractions par différentes analyses (élémentaire et spectroscopiques UV et IR). Le deuxième but est d'étudier l'influence de ces différentes fractions de MOD sur la biodisponibilité du cuivre. Pour cela, étant donné que la concentration toxique dépend de la disponibilité biologique du métal, c'est-à-dire sa capacité d'atteindre la cible biologique [TUSSEAU-VUILLEMIN *et al.*, 2004], un test simple de toxicité sur *Daphnia magna* a été utilisé pour évaluer le rôle protecteur de chacune des fractions de MOD. Des mesures par la technique de gradient de diffusion en couche mince (DGT : Diffusion Gradient in Thin films [DAVISON et ZHANG, 1994]), réalisées en parallèle de ce biotest, ont permis de relier les concentrations toxiques (exprimées en EC50, c'est-à-dire concentration létale pour 50 %

de la population) avec les concentrations de cuivre labile (cuivre libre et complexe facilement dissociables).

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1. Extraction et fractionnement de la MOD : protocole OI/DAX

Un prélèvement a été effectué le 6 avril 2006 (période de temps sec) à la sortie du décanteur secondaire d'Achères 4 de la station d'épuration (STEP) Seine-Aval à Achères. Traitant chaque jour plus de 70 % des effluents de temps secs de l'agglomération parisienne, la STEP Seine-Aval a été choisie pour sa particulière représentativité des rejets urbains parisiens. L'échantillon, contenant 38 mg.l<sup>-1</sup> de COD, a été prélevé à l'aide d'une pompe à double membrane. La filtration a été réalisée avec un système de cartouches en série en polypropylène de porosité 10 µm et 0,45 µm préalablement lavées à l'eau désionisée ultrapure (COD < 0,5 mgC.l<sup>-1</sup>). L'échantillon a ensuite été adouci sur une résine échangeuse catio-

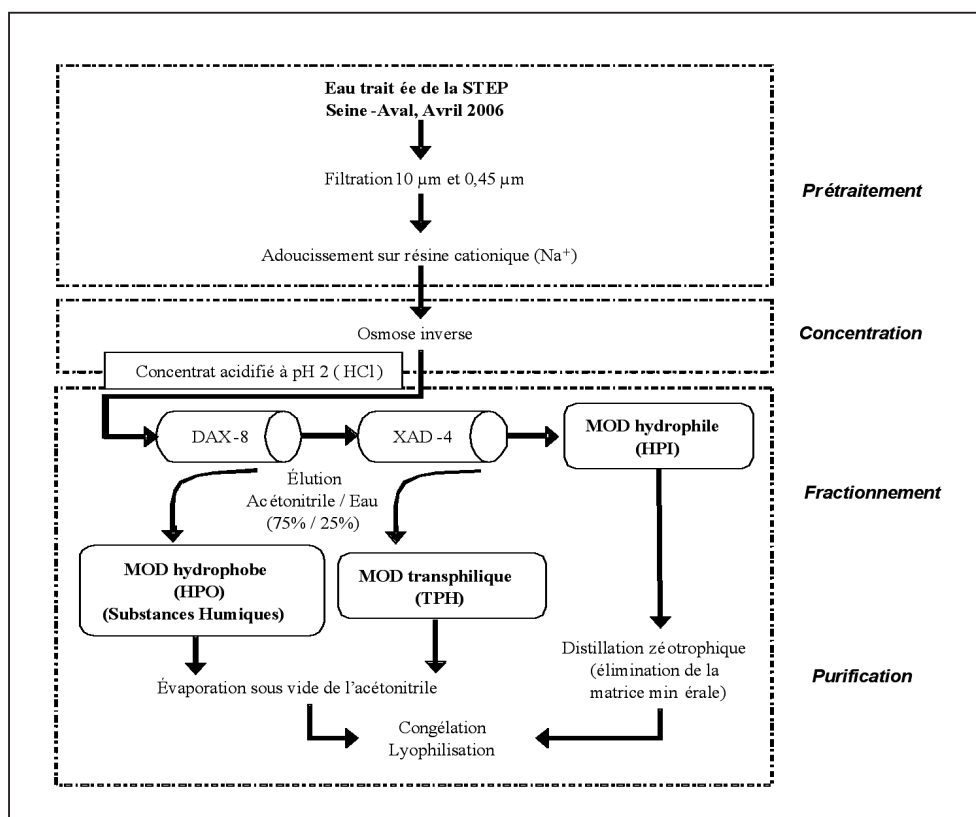


Figure 1. Schéma d'extraction et de fractionnement de la MOD : protocole OI/DAX

nique afin d'éliminer les ions calcium et magnésium qui, lors de l'étape de concentration, coprécipitent avec la MOD et colmatent les membranes d'osmose inverse (OI) diminuant considérablement le rendement de l'étape de concentration. Ce rendement d'OI a été également amélioré par un lavage à la soude (0,05 M) des membranes (Filmtech TW 30) sur lesquelles la MOD peut s'adsorber. L'éluat sodique obtenu a été additionné au concentrat d'OI, acidifié (pH 2) et filtré sur les résines DAX-8 (anciennement XAD-8) et XAD-4 en série (Amberlite, Supelco). Les fractions hydrophobes (HPO) et transphiliques (TPH) ont été obtenues par la procédure reportée sur la figure 1. La fraction hydrophile (HPI), MOD non adsorbée sur les résines DAX-8 et XAD-4 et contenant la quasi-totalité de la matrice minérale initialement présente dans l'échantillon, ne peut être lyophilisée ainsi car les sels interfèrent lors des analyses ultérieures. Cette fraction HPI a donc été purifiée selon un protocole (figure 2) consistant à faire précipiter les sels minéraux tout en conservant la matrice organique sous forme dissoute dans un solvant.

Le matériel en Téflon, utilisé pour le prélèvement, a été lavé plusieurs fois à l'eau désionisée ultrapure (COD < 0,5 mgC.l<sup>-1</sup>). Le matériel en verre, utilisé par la suite, a été lavé au détergent (TFD4, 5 %), rincé abondamment à l'eau désionisée ultrapure et grillé pendant 5 h à 500 °C.

## 2.2. Caractérisation de la MOD

Les analyses de COD ont été effectuées à l'aide d'un analyseur de carbone OI Analytical dont la limite de quantification est de 0,5 mgC.l<sup>-1</sup>.

Les analyses élémentaires ont été réalisées au laboratoire du CNRS à Solaize. Les microanalyses développées au laboratoire CNRS ont permis la détermination des teneurs des éléments suivants : C, H, O, N, S avec une précision de 0,3 % et un écart-type de répétabilité de 0,2 %.

L'absorbance spécifique UV (SUVA) est définie par l'absorbance UV d'un composé à 254 nm divisée par la concentration en COD de la solution. Elle est exprimée en m<sup>-1</sup>.l/mg de C. L'absorbance UV à 254 nm a été déterminée dans des cellules en quartz de 1 cm avec un spectrophotomètre Lambda Perkin Elmer. Les spectres infrarouges (IR) de 2 - 5 mg de fraction de MOD précédemment isolée ont été réalisés à l'aide d'un appareil à transformée de Fourier (IRTF). Pour un but comparatif, tous les spectres ont été normalisés après acquisition avec une absorbance maximale égale à 1.

## 2.3. Biotests sur *Daphnia magna*

Des tests de toxicité aiguë de vingt-quatre heures, ont été menés selon la procédure standard ISO 6341 (International Standard Organisation, 1993) au laboratoire du Cemagref à Antony afin d'étudier

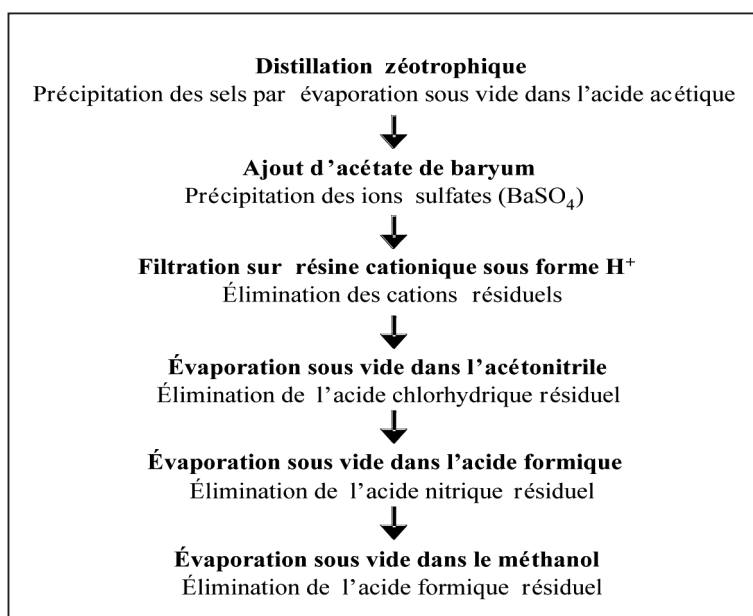


Figure 2. Schéma d'extraction de la MOD HPI

Matrices		Concentrations totales en cuivre (mg.l <sup>-1</sup> )					
Eau minérale (Mont-Dore)		0	0,75	1,5	2,5	4	10
Eau minérale (Mont-Dore)	+ HPO (2 mgC.l <sup>-1</sup> )	0	7,5	15	30	50	80
	+ TPH (2 mgC.l <sup>-1</sup> )						

Tableau I. Matrices des tests écotoxicologiques et concentrations totales en cuivre testées

l'influence des fractions de MOD sur la biodisponibilité du cuivre. Les organismes tests provenant d'un clone sain de *Daphnia magna* (K6) ont été cultivés au laboratoire du Cemagref dans une eau minérale (Mont-Dore) de faible minéralisation dans des conditions de lumière (100 lux, période jour/nuit : 8/16 h), de température (22 ± 1°C) et d'alimentation contrôlées (nourris journalièrement avec *Selanastrum capricornutum* dans sa phase de croissance exponentielle). Un biotest de toxicité aiguë a été conduit pour chaque matrice listée dans le *tableau I* (eau minérale et eau minérale + 2 mgC.l<sup>-1</sup> de MOD précédemment isolée). Un biotest comprend au minimum six expérimentations (1 témoin + 5 concentrations de cuivre).

Pour chaque expérimentation, cinq animaux âgés de moins de vingt-quatre heures ont été exposés en triplicats dans 15 ml de matrice. Toutes les matrices ont été réalisées un jour avant les expérimentations et laissées pendant une nuit à l'équilibre à 22 °C (temps nécessaire pour un équilibre stable entre métal, MOD et complexes métal-MOD). La solution de cuivre utilisée est une solution standard pour spectroscopie d'absorption atomique (Acros Organics, 1 000 mg.l<sup>-1</sup> Cu dans HNO<sub>3</sub> 2 %). Le nombre de daphnies immobilisées est compté après 24 h d'exposition. Les courbes doses-réponses du cuivre et les concentrations toxiques pour 50 % de la population (EC50) ont été obtenues avec un intervalle de confiance à 95 % par ajustement non linéaire du modèle Regtox sur les données expérimentales [ISNARD et al., 2001]. Les échantillons témoins (concentration en cuivre nulle) n'ont montré aucune toxicité sur les daphnies.

#### 2.4. Mesures de cuivre total et labile

Les supports de DGT (piston, diamètre d'ouverture 2 cm), les gels de diffusion et les résines com-

plexantes Chelex proviennent de DGT Research (Lancaster, Royaume-Uni). Pour ces DGT, des gels restrictifs [ZHANG et DAVISON, 2000] de 0,8 mm d'épaisseur ont été utilisés. Une membrane additionnelle d'ester de cellulose (Millipore®, Molsheim, France, épaisseur 0,13 mm) a été utilisée pour séparer le gel de la solution. Pour chacune des 18 expérimentations (trois matrices, six concentrations de cuivre), deux DGT sont déployés dans un béccher de 500 ml en polypropylène contenant un échantillon de la solution étudiée pour le biotest correspondant. Les bécchers sont préalablement lavés au minimum 24 h dans l'acide nitrique à 10 % puis rincés abondamment à l'eau désionisée ultrapure. Au début et à la fin de chaque expérimentation, un échantillon de solution est prélevé et acidifié à pH 1 (HNO<sub>3</sub> ultrapur) pour l'analyse du cuivre total. Au bout de 24 h (fin de l'exposition), les résines complexantes sont démontées des DGT et éluées pendant 24 h dans 5 ml d'acide nitrique ultrapur à 10 %. Le cuivre est mesuré dans chaque échantillon par spectroscopie d'absorption atomique électrothermique (SAAET) (Varian SpectrAA 220Z). La masse totale de cuivre accumulée dans les résines est évaluée en considérant le rendement d'élu-tion égale à 80 % [ZHANG et DAVISON, 1995]. La concentration en cuivre labile est déterminée [DAVISON et ZHANG, 1994] par :

$$C_{DGT} = \frac{M \cdot \Delta g}{t \cdot A \cdot D}, \text{ où } M \text{ représente la masse de cuivre}$$

accumulée dans les résines après un temps d'exposition  $t$ ,  $\Delta g$  étant l'épaisseur de la couche de diffusion (composée ici du gel – 0,8 mm – et de la membrane – 0,13 mm),  $A$  la surface d'exposition et  $D$  le coefficient de diffusion du cuivre ( $4,76 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  à 22 °C pour les gels restrictifs, données provenant de DGT Research : <http://www.dgtresearch.com>). La limite de quantification de la SAAET pour les analyses de cuivre est de 0,5 mg.l<sup>-1</sup> et l'écart-type parmi les répliquats des DGT est inférieure à 15 %.

### 3. Résultats et discussions

#### 3.1. Extraction et composition de la MOD

Pour l'ensemble des eaux étudiées (après adoucissement sur résine échangeuse cationique sous forme Na<sup>+</sup>), les taux de rejets en COD des membranes d'OI (Filmtech TW 30) sont élevés et compris entre 91 % et 98 % [CROUÉ, 2004]. Les fuites dans le perméat d'OI inférieures ici à 0,5 mgC.l<sup>-1</sup> (limite de quantification de l'analyseur de carbone) ont permis de calculer un taux de rejet de 98 % grâce à la relation suivante :  $\text{taux de rejet} = 1 - C_p/C_a$  avec C<sub>p</sub> et C<sub>a</sub> concentrations respectives en COD dans le perméat et l'échantillon initial. Cet excellent taux de rejet montre l'efficacité des membranes à retenir la MOD. Le fractionnement, sur résines DAX-8/XAD-4 de cet échantillon concentré par OI, a permis d'obtenir trois fractions dont la plus hydrophile (HPI) prédomine : 46 % contre 34 % et 20 % respectivement pour les fractions hydrophobe (HPO) et transphilique (TPH) (figure 3).

Cette distribution, inhabituelle pour les eaux naturelles généralement étudiées, a également été obser-

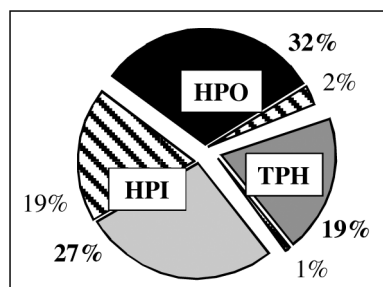


Figure 3. Distribution du COD de l'eau de STEP épurée, obtenue par le protocole d'extraction OI/DAX (section pleine : MOD récupérée ; section hachurée : MOD perdue)

vée dans une autre étude concernant des eaux de sortie de STEP [IMAI et al., 2002]. Les pertes ont été calculées à partir des mesures de COD lors du fractionnement et les résultats d'analyses élémentaires des masses obtenues. Elles proviennent principalement de la fraction HPI suite à la coprécipitation de la MOD avec les sels lors de l'étape de purification. En effet, seuls 58 % de cette importante fraction ont été extraits montrant la difficulté de cette phase de la procédure d'extraction. Un rendement global, d'extraction du COD a été obtenu de 75 %.

#### 3.2. Caractérisation chimique de la MOD

Les résultats de l'analyse élémentaire (tableau II) montrent un bilan global (somme des atomes C, H, O, N, S proche de 100 %  $\geq 94\%$ ) pour l'ensemble des fractions, ce qui souligne l'efficacité du protocole pour séparer les espèces organiques des espèces inorganiques. Les rapports H/C présentés dans le tableau II augmentent lorsque le caractère hydrophile augmente (HPO < TPH < HPI), indiquant un degré d'insaturation plus faible, c'est-à-dire un caractère aromatique moins marqué. De même, les fractions les plus hydrophiles présentent des rapports O/C et N/C plus élevés, traduisant un enrichissement en fonctions azotées et oxygénées.

Le tableau II rassemble également les valeurs de SUVA obtenues pour les fractions précédemment extraites ainsi que celles du barrage du Ribou [VIOLEAU, 1999]. L'absorption de la lumière à 254 nm étant principalement attribuée aux chromophores aromatiques (cycles aromatiques), le SUVA des fractions diminue donc suivant l'ordre d'aromaticité des fractions, c'est-à-dire dans l'ordre HPO > TPH > HPI,

MOD	Source	Composition élémentaire (%)						Ratios atomiques			SuVA (m <sup>2</sup> .l / mgC)
		C	H	O	N	S	Total	H/C	O/C	N/C	
HPO	STEP SA	53,58	6,53	27,88	5,65	2,56	96,2	1,45	0,39	0,09	2,0
	Ribou	49,18	5,16	38,65	2,67	nd	95,6	1,25	0,59	0,05	3,4
TPH	STEP SA	48,37	6,35	28,84	8,38	2,06	94,0	1,56	0,45	0,15	1,4
	Ribou	45,62	5,02	41,49	4,56	nd	96,7	1,31	0,68	0,09	2,1
HPI	STEP SA	43,84	7,07	29,40	12,29	2,14	94,7	1,92	0,50	0,24	0,9
	Ribou	35,19	4,26	44,35	4,82	nd	88,6	1,44	0,95	0,12	1,2

Nd : non déterminé

Tableau II. Composition élémentaire et SuVA des fractions de MOD de la STEP Seine-Aval (cette étude) et du barrage du Ribou [CROUÉ, 2004 ; VIOLEAU, 1999]

confirmant les précédentes observations tirées du rapport H/C. Le SUVA des fractions ici extraites, reste néanmoins plus faible que le SUVA de l'eau du Ribou déjà peu élevé puisque certaines substances humiques atteignent des valeurs de SUVA de  $5 \text{ m}^{-1} \cdot \text{l}/\text{mgC}$ . Ceci traduit un caractère humique peu marqué de cette MOD urbaine, même pour les fractions les plus hydrophobes.

La figure 4 présente les spectres infrarouges des fractions issues de la STEP Seine-Aval et met en évidence des spectres similaires pour les fractions HPO et TPH alors que le spectre de la fraction HPI diffère. Dix zones ont pu être attribuées aux vibrations de différentes liaisons chimiques. La première zone, bande très large, est attribuée à la liaison O-H des alcools et des acides carboxyliques. Les zones 2 et 8 représentent les liaisons C-H. Chacune de ces zones est constituée de deux pics plus ou moins bien résolus correspondant aux groupements  $\text{CH}_3$  ( $2960$  et  $1380 \text{ cm}^{-1}$ ) et  $\text{CH}_2$  ( $2940$  et  $1460$ ). Les zones 3, 4, 6 et 7 sont liées aux liaisons des groupements carboxyliques. Les pics 4 et 6, situés à environ  $1700 \text{ cm}^{-1}$  et très intenses, mettent en évidence le caractère acide de ces fractions HPO, TPH et HPI. La présence de sodium dans la fraction HPI conduit à un décalage du pic 6 à cause de la présence de carboxylate de sodium. Le pic 7, correspondant aux groupements carboxyliques liés à des structures aromatiques, n'est présent que pour les fractions HPO et TPH, HPI

étant pauvre en structures aromatiques. La zone 5 est liée aux groupements amides, caractéristiques des liaisons peptidiques des protéines et des sucres aminés, expliquant ainsi le fort taux d'azote déterminé lors de l'analyse élémentaire. La zone 9 correspond à la liaison C-O des alcools et des sucres. La zone 10 serait liée à la présence de groupements sulfoniques associés à des cycles aromatiques carboxylés. Ces composés sont des produits de dégradation (métabolites) des tensioactifs (LAS : linear alkyl sulfonates) indicateurs des eaux usées urbaines [BARBER *et al.*, 1997].

### 3.3. Biodisponibilité du cuivre en présence de MOD

Les figures 5a et 5b présentent les courbes dose-réponse des biotests de toxicité pour la fraction HPO et comparent les EC50 exprimées en cuivre total et labile (mesuré en DGT), obtenues pour les différentes matrices. Les résultats obtenus pour la fraction HPI ne sont pas présentés ici suite à la contamination en sodium mise en évidence précédemment.

En matrice minérale (eau Mont-Dore sans MOD), les EC50 exprimées en cuivre total et labile sont égales car les complexes inorganiques du cuivre sont totalement labiles en DGT. Concernant les fractions HPO et TPH, les EC50 observées ne sont pas différentes (aux écarts-type près), ce qui indique un rôle quasi identique des fractions HPO et TPH. Pour les matrices organiques, les EC50 exprimées en cuivre total sont nettement supérieures à celle de la matrice

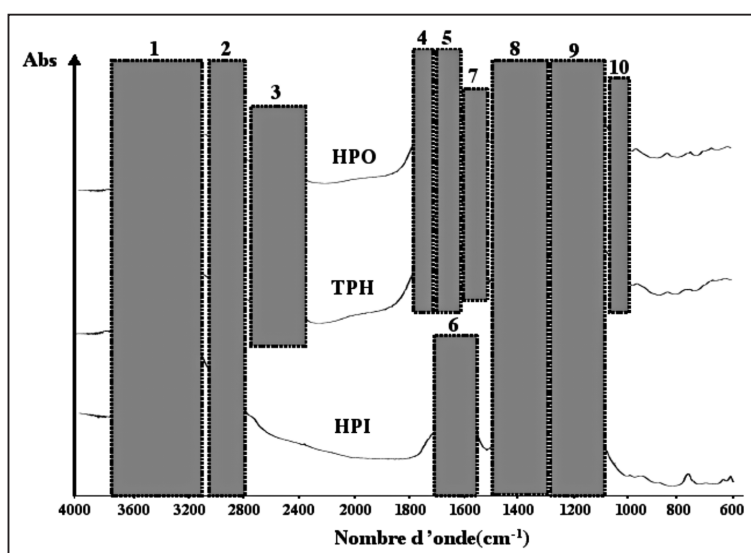


Figure 4. Spectres IRTF des fractions HPO, HPI, TPH extraites de la STEP Seine-Aval

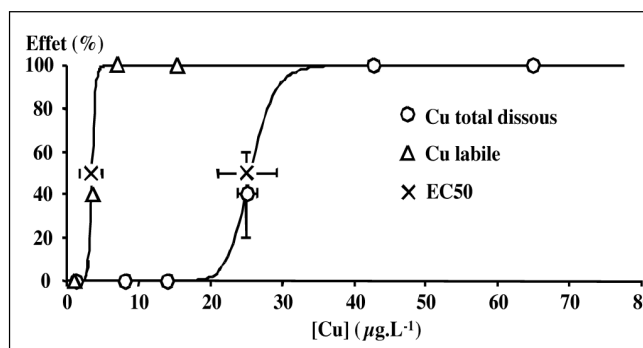


Figure 5a. Courbes dose-réponse du cuivre pour la fraction HPO

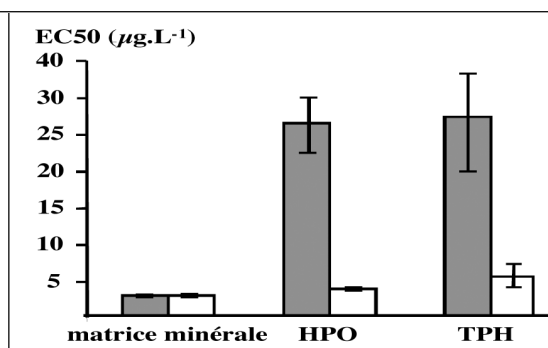


Figure 5b. Valeurs des EC50 obtenues pour chaque fraction de MOD et l'eau Mont-Dore (section grisée : EC50 exprimée en Cu total ; section claire : EC50 exprimée en cuivre labile)

minérale mettant en évidence le rôle protecteur de cette MOD urbaine. Les EC50 en cuivre labile sont statistiquement proches de l'EC50 obtenue en matrice minérale, ce qui montre l'efficacité des DGT pour l'estimation du cuivre biodisponible dans ces matrices. Cependant, dans l'effluent complet et dilué, [BUZIER *et al.*, 2006] observaient des concentrations toxiques en cuivre labile supérieures à celles obtenues en matrice minérale.

## 4. Conclusions

Selon le protocole OI/DAX, la MOD d'un échantillon d'eau de STEP traitée, a été extraite et fractionnée en trois groupes : HPO, TPH et HPI. Contrairement aux rivières naturelles généralement étudiées, la proportion en MOD hydrophile (HPI) s'est révélée la plus importante en sortie de STEP conformément à une autre étude. L'extraction quantitative de la MOD reste néanmoins difficile en milieu anthropisé suite à la forte proportion des MOD HPI et à l'isolation difficile de cette

fraction. Les différentes analyses ont permis d'observer une MOD dans l'ensemble peu humifiée, des fractions HPO et TPH relativement proches et une fraction HPI très différente de par sa faible aromaticité. Concernant la toxicité du cuivre, les biotests sur *Daphnia magna* ont montré que la MOD issues des rejets traités de STEP, bien que peu humifiée, conserve un pouvoir limitant la toxicité du cuivre. Par ailleurs les DGT ont permis d'évaluer correctement la biodisponibilité du cuivre en présence de ces MOD urbaines.

## Remerciements

Les auteurs remercient le SIAAP (Syndicat interdépartemental pour l'assainissement de l'agglomération parisienne) pour l'accès au site de prélèvement ; Isabelle Chardon, Mohamed Saad et Mathieu Cladière pour leur assistance technique ; Emmanuelle Uher et Daniel Stadtmüller pour les analyses chimiques lors des biotests ; le ministère de la Recherche et de l'Enseignement supérieur pour le financement du projet ANR BIOMET dans lequel s'inscrit cette étude.

## Bibliographie

BARBER L.B., BROWN G.K., KENNEDY K.R., LEENHEER J.A., NOYES T.I., ROSTAD C.E., THORN K.A. (1997). "Organic constituents that persist during aquifer storage and recovery of reclaimed water In Los Angeles County, California". In *Conjunctive use of water resources : aquifer storage an recovery, Proceedings of the American water resources association symposium, October 19-23, Long Beach, California, 261-271*

BUFFLE J. (1988). "Complexation reactions in aquatic systems: an analytical approach". Ellis Horwood, 692 p.

BUFFLE J., DELADOEY P., GRETER F.L., HAERDI W. (1980). "Study of the complex formation of copper(II) by humic and fulvic substances". *Analytica Chimica Acta* 116 (2), 255-274.

BUZIER R., TUSSEAU-VUILLEMIN M.-H., MOUCHEL J.-M. (2006). "Evaluation of DGT as a metal speciation tool in wastewater". *The Science of The Total Environment* 358 (1-3), 277-285.

CROUÉ J. F. (2004). "Isolation of humic and non-humic nom fractions: structural characterization". *Environmental Monitoring and Assesment* 92, 193-207.

DAVISON W., ZHANG H. (1994). "In situ speciation measurements of trace components in natural waters using thin-film gels". *Nature* 367 (6463), 546-548.

IMAI A., FUKUSHIMA T., MATSUSHIGE K., KIM Y.-H., CHOI K. (2002). "Characterization of dissolved organic matter in effluents from wastewater treatment plants". *Water Research* 36 (4), 859-870.

ISNARD P., FLAMMARION P., ROMAN G., BABUT M., BASTIEN P., BINTEIN S., ESSERMEANT L., FERARD J.F., GALLOTTI-SCHMITT S., SAOUTER E. (2001). "Statistical analysis of regulatory ecotoxicity tests". *Chemosphere* 45 (4-5), 659-669.

MANTOURA R.F.C., DICKSON A., RILEY J.P. (1978). "The complexation of metals with humic materials in natural waters". *Estuarine and Coastal Marine Science* 6 (4), 387-408.

MARTIN-MOUSSET B., CROUÉ J.P., LEFEBVRE E., LEGUBE B. (1997). "Distribution et caractérisation de la matière organique dissoute d'eaux naturelles de surface". *Water Research* 31 (3), 541-553.

SARATHY V., ALLEN H.E. (2005). "Copper complexation by dissolved organic matter from surface water and wastewater effluent". *Ecotoxicology and Environmental Safety* 61, 337-344.

TESSIER A., TURNER D.R. (1995). "Metal speciation and bioavailability in aquatic systems". John Wiley & Sons, 679 p.

TOWN R.M., FILELLA M. (2000). "A comprehensive systematic compilation of complexation parameters reported for trace metals in natural waters". *Aquatic Sciences - Research Across Boundaries* 62 (3), 252-295.

TUSSEAU-VUILLEMIN M.-H., GILBIN R., BAKKAUS E. et 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 (9), 2154-2161.

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

ZHANG H., DAVISON W. (1995). "Performance-Characteristics of Diffusion Gradients in Thin-Films for the in-Situ Measurement of Trace-Metals in Aqueous-Solution". *Analytical Chemistry* 67 (19), 3391-3400.

ZHANG H., DAVISON W. (2000). "Direct in situ measurements of labile inorganic and organically bound metal species in synthetic solutions and natural waters using diffusive gradients in thin films". *Analytical Chemistry* 72 (18), 4447-4457.

## Résumé

**B. PERNET-COUDRIER, G. VARRAULT, L. CLOUZOT, O. ROUSSELOT, M.-H. TUSSEAU-VUILLEMIN, J.-M. MOUCHEL.** Caractérisation de la matière organique dissoute des rejets d'une importante station d'épuration et influence sur la biodisponibilité du cuivre

La matière organique dissoute (MOD) joue un rôle important dans la spéciation et la biodisponibilité des métaux traces. Cependant aucune information n'est actuellement disponible quant à l'influence des MOD issues du rejet de station d'épuration sur la biodisponibilité du cuivre. Une procédure d'extraction et de fractionnement de la MOD sur résines (DAX-8 et XAD-4) a été mise en place afin d'extraire la MOD urbaine dans son intégralité avec un minimum de perte et d'altération. Trois fractions : hydrophobe (HPO), transphilique (TPH) et hydrophile (HPI) représentant respectivement 34 %, 20 % et 46 % du carbone

ont ainsi été isolées d'une eau de sortie de station d'épuration (STEP). Cette distribution montre l'importance en milieu anthropisé de la fraction HPI souvent négligée de par sa difficile extraction. Différentes techniques analytiques (élémentaires, spectroscopiques : UV, IR) ont permis de caractériser ces fractions mettant ainsi en évidence : une MOD urbaine peu humifiée, des fractions HPO et TPH de nature chimique proche et une fraction HPI différente, notamment de par sa très faible aromaticité. La biodisponibilité du cuivre en présence de chacune de ces trois fractions de MOD a été évaluée à l'aide d'un biotest de toxicité aiguë sur *Daphnia magna*. Les résultats montrent qu'à l'instar des substances humiques, la MOD issue de rejets traités de STEP, bien que moins humifiée, conserve un pouvoir limitant la toxicité du cuivre.