

Projet Seine-Aval 5

MOSAIC

« Dynamique de la Matière Organique dans le bouchon vaSeux de l'estuAire de Seine en lien avec les nutrIments et les Contaminants organiques »

Aout 2018

Coordination : Arnaud Huguet

Co-auteurs : Alexandre Thibault, Céline Roose-Amsaleg, Edith Parlanti, Anniet Laverman, Laura Fuster, Hélène Budzinski, Eric Viollier



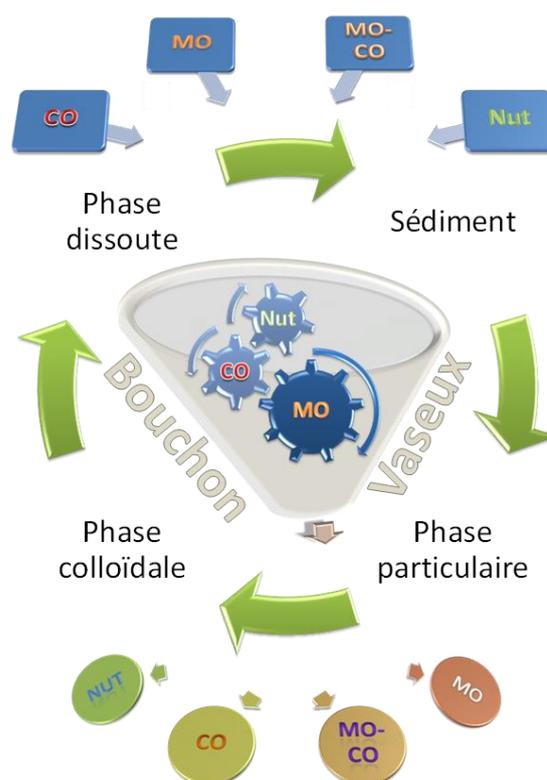
TABLE DES MATIERES

RESUME EXECUTIF	3
SCIENTIFIQUES AYANT PARTICIPE AU PROJET	6
PARTICIPANTS AU SUIVI DE PROJET	6
RESULTATS	7
Introduction	7
1 Stratégie d'échantillonnage	8
2 Description des principaux résultats	10
2.1 I. Tâche Dynamique de la matière organique	10
2.1.1 Dynamique de la MO sous ses différentes formes dans l'estuaire de Seine	10
2.1.2 Suivi resserré de la dynamique de la MOD dans l'estuaire de Seine	19
2.1.3 Synthèse des résultats obtenus sur la dynamique de la MO	33
2.2 Tâche Dynamique des contaminants	37
2.2.1 Descriptif et choix des molécules	37
2.2.2 Etat des lieux de la contamination et partition le long de l'estuaire de Seine	40
2.2.3 Variabilités temporelles sur la contamination	43
2.3 Tâche Dynamique des nutriments et métabolismes	47
2.3.1 Introduction	47
2.3.2 Matériel et méthodes	47
2.3.3 Résultats et discussion	48
2.4 Dynamique croisée de la matière organique, des contaminants et des nutriments	57
2.4.1 Base de données	57
2.4.2 Croisement des données	59
Conclusion	70
BIBLIOGRAPHIE	72
ANNEXES	77

RESUME EXECUTIF

La sauvegarde des estuaires et de la qualité de leur eau représente un défi de société majeur au vu de la pression croissante exercée sur ces écosystèmes. Ceci est particulièrement vrai pour l'estuaire de Seine, dont le bassin contient l'une des plus grandes mégapoles d'Europe. La qualité et la quantité de matière organique (MO) – ensemble de macromolécules issues de la dégradation de matériel biologique animal ou végétal, d'origine terrestre ou aquatique – sont des paramètres clefs influençant la qualité de l'eau et les processus biogéochimiques en milieu estuarien. Les mécanismes impliqués dans le transport et la transformation des contaminants et des nutriments dans les estuaires, comme celui de la Seine, vont fortement dépendre de la taille, la structure et la biodisponibilité de la MO. Il apparaît donc indispensable d'étudier plus précisément la nature et les caractéristiques de la MO afin de mieux comprendre son influence sur la dynamique des contaminants et des nutriments lors de leur transit des eaux fluviales vers le milieu marin. Elucider la dynamique de la MO en milieu estuarien demeure cependant un véritable défi, de par (i) la nature hétérogène de cette dernière et (ii) la grande variabilité des processus environnementaux et physiques dans les estuaires.

Le projet MOSAIC avait pour but de contraindre les sources et le devenir de la MO dans l'estuaire de Seine au niveau global et moléculaire, et de déterminer sa variabilité spatio-temporelle. Nous avons en parallèle cherché à étudier l'influence des modifications qualitatives et quantitatives de la MO sur la dynamique des nutriments et de deux classes de contaminants (hydrocarbures aromatiques polycycliques - HAP et composés pharmaceutiques) dans l'estuaire de Seine. Afin d'atteindre ces objectifs, 5 campagnes d'échantillonnage ont été réalisées sur le navire Côtes de la Manche (CNRS/INSU) entre janvier 2015 et avril 2016. Ces campagnes ont couvert les différentes parties de l'estuaire : en amont (Rouen / Caudebec), dans le bouchon vaseux (BV, zone de turbidité maximale, entre Fatouville et Tancarville) et en aval de ce dernier (Honfleur ou La Carosse). Des prélèvements d'eau (environ 500 pour l'ensemble des campagnes) et de sédiment (8 carottes de 10 cm) ont été effectués dans chaque partie de l'estuaire.



Les caractéristiques de la MO sous ses différentes formes (dissoutes - MOD ; particulaire - MOP ; sédimentaire) ont été déterminées au niveau global et moléculaire. L'analyse en composantes principales réalisées à partir de ces données a montré une forte variation de la signature de la MO entre les compartiments, la composition de la MOD différant de manière significative de celle de la MOP et MO sédimentaire. La datation des

échantillons au ^{14}C a par ailleurs révélé l'âge récent (> 1950) de la MOD et de la MOP, contrairement à la MO sédimentaire, dont l'âge (jusqu'à 1000 ans B.P. -Before Present-) dépend fortement de la saison et des conditions hydroclimatiques associées. La variabilité spatiale des caractéristiques de la MO le long de l'estuaire a également été mise en avant. Ainsi, le mélange des eaux douces et marines semble être le principal facteur contrôlant la composition de la MO dans l'estuaire, comme le révèle (i) l'augmentation linéaire du $\delta^{13}\text{C}$ de la MOP de l'amont vers l'aval et (ii) la diminution concomitante de la diversité moléculaire de la MOD (ca. 5000 molécules en amont vs. 2700 à l'aval). Par ailleurs, la dilution non linéaire de la MOD colorée et/ou fluorescente le long de l'estuaire a montré le caractère hautement dynamique de la MOD, qui ne résulte pas uniquement d'un mélange des eaux douces et marines, mais subit des transformations de l'amont vers l'aval et est soumise à des apports variés. La combinaison des analyses isotopiques et moléculaires de la MO indique en outre une origine principalement autochtone de cette dernière dans l'estuaire, même si des composés d'origine terrigène ont pu être détectés dans les différents échantillons. Enfin, des variations saisonnières de composition de la MO ont, dans une moindre mesure, été observées, les analyses spectroscopiques montrant par exemple que la MOD est plus aromatique et a une masse plus élevée en hiver qu'en été.

En parallèle, nos résultats ont également montré que les nutriments et une grande partie des éléments traces avaient un comportement conservatif dans l'estuaire. Différents processus biogéochimiques transforment les nutriments en dégradant la MO. Nous avons cherché à inventorier les activités et les micro-organismes associés aux cycles biogéochimiques dans l'eau et les sédiments de l'estuaire, avec un focus particulier sur le cycle de l'azote. La colonne d'eau et en particulier le bouchon vaseux montre une disparition de nitrate, une production de N_2O et une abondance très importante de bactéries dénitrifiantes. Ceci indique une activité dénitrifiante dans cet environnement globalement oxygène et suggère la présence de microniches anoxiques dans les matières en suspension de la colonne d'eau pour permettre à ce processus d'avoir lieu. Les taux de réduction de nitrate sont beaucoup plus élevés (facteur 1000) dans les sédiments en raison de conditions plus favorables, à savoir la présence de matière organique et l'absence d'oxygène. Il en découle que les sédiments se comportent comme des puits de NO_3^- . La dégradation de la MO dans les sédiments entraîne un flux d'ammonium émis par les sédiments.

Les analyses de contaminants organiques ont montré que les HAP légers étaient présents préférentiellement dans la phase dissoute et les plus lourds dans le sédiment et la phase particulaire, et que leur concentration dans l'eau était fortement liée à la marée (diminution d'un facteur 2 à 3 entre la pleine mer et la basse mer). A l'inverse, la teneur en HAP dans la phase particulaire est globalement constante aux périodes étudiées. En parallèle, un screening des composés pharmaceutiques a été réalisé sur un panel d'échantillons, permettant d'identifier 8 molécules « traceurs », considérées comme représentatives de l'ensemble des composés. Ces derniers sont faiblement concentrés dans les sédiments et dans la phase particulaire, et ont majoritairement (99%) été détectés dans la phase dissoute. Les concentrations en composés pharmaceutiques sont globalement stables en amont et dans le bouchon vaseux, et diminuent uniquement à l'embouchure. Par ailleurs, elles sont fortement dépendantes de la marée (basse mer vs. pleine mer) et des conditions hydrologiques (débit et hauteur d'eau). Ainsi, à Fatouville et Honfleur, les concentrations en composés pharmaceutiques peuvent varier jusqu'à 80 % en quelques heures en période de bas débit (mesuré à Poses) et de fort coefficient de marée.

Dans un dernier temps, les dynamiques de la MO, des contaminants et des nutriments ont été examinées conjointement. Nous avons montré que les variations à la fois qualitatives et quantitatives de la MOD influencent directement les concentrations en composés pharmaceutiques et HAP dans la phase dissoute. Certains constituants de la MOD interagissent plus particulièrement avec les contaminants organiques. Les interactions MO-contaminants organiques dépendent de la nature de la MO et des contaminants. La dynamique de la MOD et des contaminants organiques, interdépendantes, montrent une forte variabilité saisonnière. Par ailleurs, la concentration en HAP, normalisée à la teneur en carbone organique de la MO, diminue le long de l'estuaire dans la phase particulaire et augmente en parallèle dans le sédiment. On observe donc une accumulation des HAP dans le compartiment sédimentaire à l'embouchure de l'estuaire de Seine. De même, la dynamique de la MO et celle des composés azotés sont étroitement liées. L'estuaire a ainsi un fort potentiel à épurer les charges importantes en azote qu'il contient comme le montrent de façon concordante les nombres de micro-organismes dénitrifiants, les taux de réduction de nitrates et les fortes teneurs en MO métabolisables par les micro-organismes.

Au final, le projet MOSAIC a démontré, via des approches distinctes et complémentaires, les interactions étroites entre dynamique de la MO, des contaminants et des nutriments dans la colonne d'eau et le sédiment. Les nombreux résultats obtenus, regroupés dans une base de données à disposition de la communauté scientifique, pourront servir à alimenter les modèles de dynamique biogéochimique de l'estuaire de Seine.

SCIENTIFIQUES AYANT PARTICIPE AU PROJET

- **Equipe 1** : Laboratoire : METIS, UMR 7619 CNRS, UPMC
Coordination scientifique : HUGUET Arnaud
Autres chercheurs (ou équivalents) : ROOSE-AMSALEG Céline; DERENNE Sylvie, THIBAUT Alexandre, ANQUETIL Christelle

- **Equipe 2** : EPOC-LPTC UMR 5805 CNRS, Université de Bordeaux
Coordinateur scientifique : PARLANTI Edith, CR1 CNRS,
Autres chercheurs (ou équivalents) : BUDZINSKI Hélène, FUSTER Laura, LE MENACH Karyn, MICHEAU Clara, SOURZAC Mahaut

- **Equipe 3** Ecobio, UMR 6553 CNRS, Université de Rennes
Coordination scientifique : LAVERMAN Anniet

- **Equipe 4** LGE, UMR 7154 CNRS, Université Paris Diderot-Paris 7
Coordination scientifique : VIOLLIER Eric
Autres chercheurs (ou équivalents) : RAIMBAULT Emmanuelle, THARAUD Mickaël, HEGEDUS Sarah ; SASSI Mariem

PARTICIPANTS AU SUIVI DE PROJET

Personnes ayant contribué au suivi du projet ou ponctuellement à un atelier de travail.

Acteurs de l'estuaire : Catherine Dehondt (UIC), Barbara Leroy (AESN)

Scientifiques : Thierry Berthe (Université de Rouen – M2C), Gilles Varrault (Université Paris Est- Créteil – LEESU)

Introduction

La qualité et la quantité de matière organique (MO) – ensemble de macromolécules issues de la dégradation de matériel biologique animal ou végétal, d'origine terrestre ou aquatique – sont des paramètres clefs influençant la qualité de l'eau et plus globalement les processus biogéochimiques en milieu estuarien. Les sources de MO dans les estuaires sont multiples : autochtone naturelle (algues, bactéries, macrophytes), allochtone naturelle (issue des sols) et allochtone anthropique (rejets urbains domestiques et industriels). Les mécanismes impliqués dans le transport et la transformation des contaminants et des nutriments dans les estuaires, comme celui de la Seine, vont fortement dépendre de la taille, la structure et la biodisponibilité de la MO. Il apparaît donc indispensable d'étudier plus précisément la nature et les caractéristiques de la MO afin de mieux comprendre son influence sur la dynamique des contaminants et des nutriments lors de leur transit des eaux fluviales vers le milieu marin et plus globalement son rôle sur les propriétés de l'eau dans les estuaires. Par ailleurs, la MO joue un rôle clef sur la production bactérienne et les processus trophiques en milieu estuarien, en servant plus particulièrement de substrat aux microorganismes. L'étude des facteurs contrôlant le transfert, la production, la consommation et l'accumulation de la MO en milieu estuarien revêt donc une importance écologique et biogéochimique.

Elucider la dynamique de la MO en milieu estuarien demeure cependant un véritable défi, de par (i) la nature hétérogène de la MO, constituée d'une grande diversité de composés, de différentes tailles et avec différentes propriétés physico-chimiques et (ii) l'état dynamique de ce matériel, soumis en permanence à des cycles de synthèse biologique, métabolisation et décomposition. La forte variation des paramètres environnementaux en milieu estuarien (e.g. lumière, salinité) sous l'effet des marées et en fonction des saisons peut profondément modifier les caractéristiques de la MO, ce qui y complique l'étude de ce matériel et de ces interactions avec les contaminants et les nutriments. Ceci est particulièrement le cas dans le bouchon vaseux (BV), soumis à des cycles de sédimentation/remise en suspension et à des migrations longitudinales liées au débit du fleuve et à la marée.

Le projet MOSAIC se propose de déterminer les caractéristiques globales et moléculaires de la MO dans la colonne d'eau (compartiments dissous/colloïdal, particulaire) et dans le sédiment à différents points de l'estuaire, c'est-à-dire dans le bouchon vaseux ainsi qu'en amont et en aval de ce dernier. Nous avons en parallèle cherché à étudier l'influence des modifications qualitatives et quantitatives de la MO sur la dynamique des nutriments et de deux classes de contaminants (hydrocarbures aromatiques polycycliques - HAPs et composés pharmaceutiques) dans l'estuaire de Seine.

La détermination des différentes sources/qualités/réactivités de la MO tout au long de l'estuaire est au cœur du projet MOSAIC, de même que l'étude de la variabilité spatio-temporelle de ces caractéristiques. Connaître le substrat organique, c'est connaître son potentiel de libération/rétention des nutriments ou des contaminants organiques sur des échelles de temps allant de courte (cycle de marée) à saisonnière, voire pluriannuelle.

Le projet avait pour objectif de répondre aux trois questions suivantes :

1. Quelle est la dynamique de la MO dans le BV et l'estuaire de Seine ?
2. Comment est-elle liée à celle des contaminants organiques et des nutriments ?
3. Quel est l'impact des variations saisonnières et des conditions environnementales dans l'estuaire sur les caractéristiques de la MO, sur les interactions MO-contaminants dans les phases particulières et dissoutes et sur la dynamique des nutriments ?

1 Stratégie d'échantillonnage

Les résultats obtenus dans le cadre du projet MOSAIC résultent de cinq campagnes d'échantillonnage, réalisées sur le navire CNRS/INSU Côtes de la Manche : deux campagnes SYNAPSES, effectuées en janvier et juillet 2015 (coordinateur : R. Verney, IFREMER), et trois campagnes DYNAMOSEINE (coordinateur : A. Huguet), effectuées en avril et septembre 2015 et en avril 2016. Les conditions hydroclimatiques contrastées de ces campagnes nous ont permis d'étudier l'impact de la variabilité temporelle sur la dynamique de la MO, des contaminants et des nutriments et nous ont permis d'atteindre l'ensemble des objectifs prévus initialement dans le projet. Les paramètres environnementaux correspondants ont été mesurés lors de chaque campagne et sont fournis dans la base de données.

La stratégie d'échantillonnage est récapitulée dans le tableau 1. Les campagnes SYNAPSES ont servi uniquement à compléter l'étude de la dynamique saisonnière de la MO, les campagnes DYNAMOSEINE ayant quant à elles réuni l'ensemble des participants du projet MOSAIC. L'échantillonnage a couvert l'ensemble de l'estuaire : l'amont (Rouen/Caudebec), le BV (Fatouville/Tancarville) et l'aval (Honfleur/La Carosse) de l'estuaire (Fig. 1). Un transect entre Caudebec et Rouen (13 points d'échantillonnage ; Fig. 1) a par ailleurs été réalisé lors de la campagne d'avril 2016. Les coordonnées GPS des différents points de prélèvement sont précisées dans la base de données.

Campagne	Période	Cycles de marée	de 1/2 cycles de marée	Gros volume	Sédiment
SYNAPSES 1	21 au 24 janvier 2015	Fatouville ; Tancarville		Tancarville	
DYNAMOSEINE LEG 1	26 au 29 avril 2015	Fatouville ; Tancarville	Honfleur ; Caudebec	4 sites des cycles et 1/2 cycles	Fatouville ; Tancarville ; Honfleur
SYNAPSES 2	17 au 20 juillet 2015	Fatouville ; Tancarville ; La Carosse		Tancarville ; La Carosse	
DYNAMOSEINE LEG 2	26 au 29 septembre 2015	Fatouville ; Tancarville	Honfleur ; Caudebec	4 sites des cycles et 1/2 cycles	Fatouville ; Tancarville ; Honfleur
DYNAMOSEINE 2	23 au 26 avril 2016	Fatouville ; Tancarville	Honfleur ; La Carosse	Rouen ; Caudebec ; Tancarville ; Fatouville ; La Carosse	Rouen ; Tancarville ; Fatouville ; La Carosse

Tableau 1. Récapitulatif de la stratégie d'échantillonnage du projet MOSAIC (janvier 2015 à avril 2016).

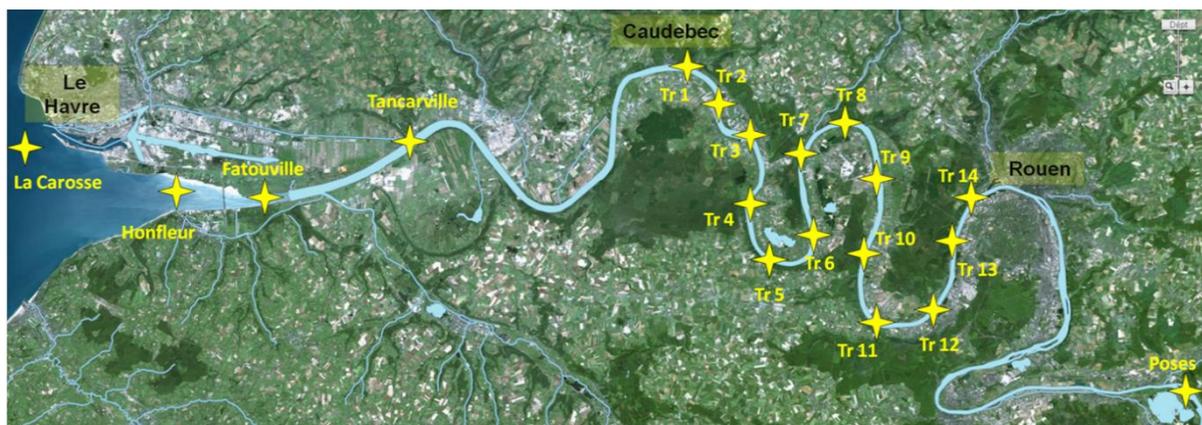


Figure 1. Répartition des sites d'échantillonnage des campagnes SYNAPSES et DYNAMOSEINE le long de l'estuaire de Seine.

De petits prélèvements d'eau (quelques litres) ont été effectués toutes les heures au cours des cycles de marées en subsurface, à mi-profondeur et au fond de la colonne d'eau (soit 12 prélèvements par cycle de marée ou 6 par demi-cycle). Les échantillons, destinés aux analyses de matière organique dissoute (MOD), ont été filtrés à 0,7 μm sur des unités en polyéthylène (Nalgène®) sur le bateau (filtres Whatman GF/F pyrolysés à 450°C pendant 1 heure) immédiatement après leur prélèvement puis conservés à 4°C au réfrigérateur et à l'abri de la lumière avant leurs analyses. Cette filtration permet de séparer la phase particulaire qui reste sur le filtre de la phase dissoute/colloïdale. Les échantillons destinés aux analyses des contaminants organiques ont été filtrés (filtres Whatman GF/F 0,7 μm pyrolysés) sur des unités en polyéthylène (Nalgène®) pour l'ensemble de molécules analysées, exceptée pour les eaux destinées à l'analyse des HAP qui ont été filtrées sur des unités en verre. Ces échantillons ont ensuite été conservés congelés à -20°C avant analyses. Les échantillons destinés à l'analyse des nutriments ont été filtrés à 0,22 μm immédiatement après le prélèvement (Minisart Sartorius PES) et conservés au réfrigérateur avant le transport vers le laboratoire. De gros volumes d'eau (environ 100 litres) ont également été prélevés à mi-fond à l'aide d'une pompe Spido (Ecc Pro 300) - en ciblant le maximum de turbidité à Tancarville et Fatouville, et la pleine mer à Honfleur et la Carosse - puis filtrés (filtres Whatman GF/F 0,7 μm pyrolysés) sur le bateau pour séparer la MO particulaire (retenue par le filtre) de la MO dissoute. Les échantillons filtrés ont ensuite été concentrés et dessalés au laboratoire par osmose inverse et électrodialyse en vue des analyses de la MOD au niveau structural (cf. paragraphe suivant).

Enfin, des carottes de sédiment d'une dizaine de centimètres ont été prélevées dans le chenal à l'aide d'un carottier UWITEC dans la zone du bouchon vaseux, à La Carosse et dans le port de Rouen. Les stations de Honfleur, trop sableuse et la station de Caudebec (zone à galets) n'ont pu être prélevées par cette technique. L'eau porale a été récupérée tous les cm (entre 0 et 10 cm) à l'aide d'échantillonneurs in situ de type « Rhizon » (Rhizosphère RP, 0,2 μm) et stockées à 4°C. Les carottes sédimentaires (90 mm de diamètre et de 20 à 40 cm de hauteur) ont ensuite été découpées sur le pont arrière en tranches d'1 cm, qui ont été congelées à -20°C puis lyophilisées en vue des différentes analyses (MO, CHNS, granulométrie). L'étude des contaminants organiques a été réalisée sur du sédiment prélevé à l'aide d'une benne Shipeck sur l'ensemble des stations MOSAIC sauf à Caudebec (zone à galets).



2 Description des principaux résultats

2.1 I. Tâche Dynamique de la matière organique

Cette partie du projet a consisté à déterminer et comparer les caractéristiques de la MO à différentes échelles – globale (i.e. la MO prise dans son ensemble) et moléculaire – entre l'amont et l'aval du BV. A notre connaissance, à ce jour, la MO estuarienne n'a été que très rarement caractérisée au niveau moléculaire (e.g. Koprinyjak et al., 2009 ; Helms et al., 2015), les études réalisées jusqu'à présent en milieu estuarien, notamment dans l'estuaire de Seine (e.g. projet CYMES, Seine-Aval 3, 2007) se limitant à l'échelle globale. Les caractérisations à l'échelle moléculaire sont pourtant indispensables afin de déterminer avec précision le rôle de la MO sur la dynamique des contaminants et des nutriments en milieu estuarien.

Des analyses ont par ailleurs été effectuées sur l'ensemble des compartiments de la MO afin d'avoir l'image la plus complète de ce matériel : la MO sédimentaire d'une part ; la MO aquatique d'autre part, où l'on peut distinguer (i) la MO particulaire (MOP), retenue par filtration des échantillons, et (ii) la MO dissoute/colloïdale (MOD). Comme détaillé ci-dessous, l'ensemble des caractérisations nous ont permis de suivre l'évolution qualitative et quantitative de la MO sous ses différentes formes et ont fourni des informations complémentaires sur l'origine, la dynamique et le devenir de ce matériel complexe dans l'estuaire de Seine.

Les données obtenues reposent sur :

- un suivi « espacé » des caractéristiques de la MO, correspondant au prélèvement d'un échantillon d'eau et de sédiment par site et par campagne (16 échantillons au total) dans le but d'analyser la MO sous ses différentes formes (MO sédimentaire, MOD, MOP). Les contraintes analytiques, en termes notamment de quantité de matériel requis et de coût, ne permettent pas d'analyser un plus grand nombre d'échantillons.
- un suivi « resserré » des caractéristiques de la MOD suite au prélèvement de petits volumes d'eau au cours de cycles de marée tout au long de l'estuaire (ca. 500 échantillons)

La suite de cette section présentera les principaux résultats obtenus à partir de chaque suivi.

2.1.1 Dynamique de la MO sous ses différentes formes dans l'estuaire de Seine

Dans cette partie, la MO a été caractérisée sous ses différentes formes (dissoute, particulaire et sédimentaire) au niveau global et structural, fournissant des informations à la fois quantitatives et qualitatives sur ce matériel le long du continuum eau-sédiment.

2.1.1.1 Concentration et dessalement des échantillons d'eau pour analyses de la MOD

La plupart des études liées à la MO en milieu estuarien concernent les compartiments particulaires et sédimentaires. La caractérisation de la matière organique dissoute, fortement diluée (quelques mg/l en milieu estuarien), chimiquement complexe et associée à de fortes salinités en milieu marin constitue en effet un défi international. Elle nécessite d'en isoler des



quantités suffisantes (20 à 100 mg de C) pour réaliser des analyses élémentaires ou moléculaires de ce matériel, tout en enlevant les sels et sans en modifier la composition.

Afin d'atteindre cet objectif, une méthode originale et innovante, disponible à ce jour dans un seul autre laboratoire au niveau mondial (Koprinvjak et al., 2006, 2009) a été développée à l'Université de Bordeaux : il s'agit de l'osmose inverse couplée à l'électrodialyse (OI/ED). La MOD et les sels sont retenus et concentrés par une membrane d'osmose inverse qui ne laisse passer que les molécules d'eau, et les sels sont ensuite retirés de la solution par électrodialyse pour que les analyses moléculaires soient possibles.

Cette méthode a été optimisée au début du projet en utilisant 40 litres d'eau (conductivité : 520 $\mu\text{S}/\text{cm}$; pH 8.4) prélevés dans la partie fluviale de la Seine, à Herblay (environ 30 km en aval de Paris). Ces 40 litres ont été filtrés à 0,7 μm sur des filtres en fibre de verre (GF/F Whatman) afin de séparer la MOP de la MOD. L'échantillon filtré a ensuite été concentré par OI et ramené à 4,5 litres. Le volume restant a ensuite été dessalé par ED afin d'atteindre la conductivité la plus basse possible (conductivité finale : 33 $\mu\text{S}/\text{cm}$). Des aliquotes ont été prélevés tout au long de la concentration par OI et du dessalement par ED et ont montré que la qualité de la MOD fluorescente n'avait pas été modifiée lors du traitement de l'échantillon, malgré des pertes de l'ordre de 40 à 50%. Le couplage de l'OI et de l'ED permet donc d'obtenir un échantillon représentatif de l'échantillon de départ. Cette méthode a été utilisée pour isoler la MOD des échantillons des différentes campagnes, en partant de volumes d'eau d'approximativement 100 litres. Après concentration par OI et dessalement par ED, les échantillons sont concentrés à l'évaporateur rotatif jusqu'à l'obtention d'un volume d'eau résiduel (environ 100 ml) puis sont congelés à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ et lyophilisés. Lors de ces différentes étapes, la qualité de la MOD a été testée par fluorescence tridimensionnelle et montrait peu de variations. La poudre ainsi obtenue peut ensuite être soumise aux mêmes analyses que la MOP et le sédiment.

2.1.1.2 Analyses de la MO au niveau global

Analyses élémentaires et isotopiques

Les analyses élémentaires (teneur en carbone et azote) et isotopiques en carbone ($\delta^{13}\text{C}$) de la MO sont classiquement utilisées, pour les phases particulaires et sédimentaires, pour déterminer la ou les source(s) du matériel organique en milieu estuarien - autochtone (i.e. produit *in situ*, plancton estuarien) et/ou allochtone (i.e. matériel d'origine terrigène) - et son degré de dégradation. De telles analyses ont été effectuées sur l'ensemble des échantillons de MOD, MOP et MO sédimentaire obtenues au cours des différentes campagnes du projet (Tableau 1).

On note tout d'abord que le rapport C/N de la MOP et la MO sédimentaire est compris entre 10 et 12 pour l'ensemble des échantillons, la MOD présentant des valeurs légèrement supérieures (entre 12 et 15 ; Fig. 2). Les végétaux terrestres sont principalement composés de lignine et de cellulose, qui sont pauvres en azote et présentent des rapports C/N généralement supérieurs à 20 et pouvant atteindre 500 (Hedges et al., 1997). Les (macro)molécules constitutives des algues et des bactéries vivant dans l'estuaire (colonne d'eau et/ou sédiment) sont caractérisées par des teneurs moyennes en azote plus élevées que celles des végétaux terrestres (Talbot et Johannessen, 1992) et sont plus labiles, conduisant à des rapports C/N généralement inférieurs à 10 (Meyers, 1994).



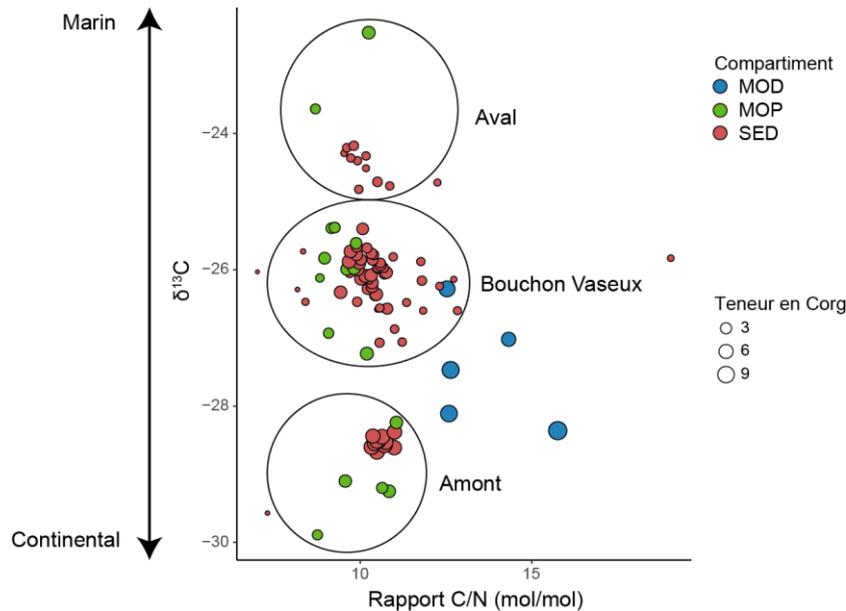


Figure 2. Valeurs du rapport C/N et du $\delta^{13}\text{C}$ de la MO sous ses différentes formes (MOP, MOD, MO sédimentaire) tout au long de l'estuaire. La taille des cercles est directement liée à la teneur en carbone organique des échantillons.

Dans l'estuaire de Seine, les valeurs du rapport C/N (Fig. 17) sont intermédiaires entre celles des algues/bactéries et des végétaux terrestres et montrent que la MO résulte du mélange de matériel terrigène et autochtone (produit dans la partie fluviale ou marine).

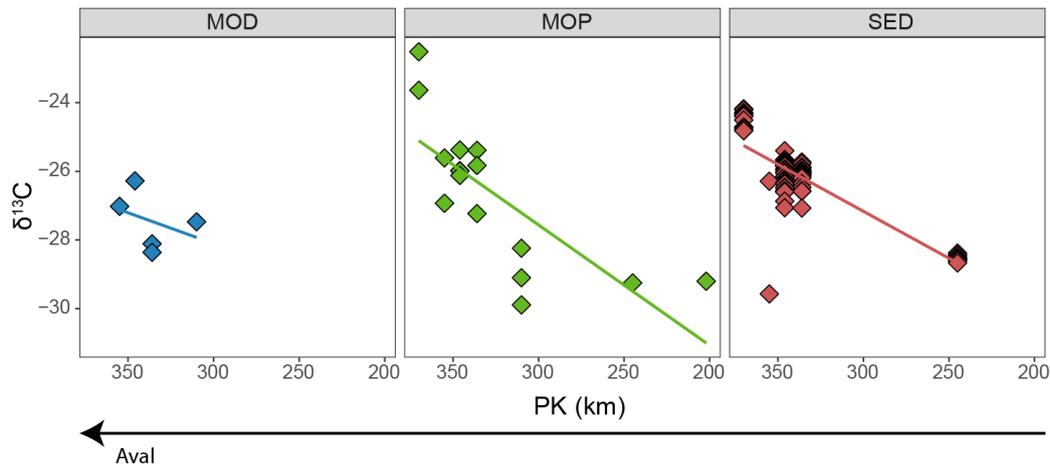


Figure 3. Variation de la composition isotopique en ^{13}C de la MO sous ses différentes formes (MOD, MOP, MO sédimentaire) de l'amont vers l'aval de l'estuaire de Seine.

Les valeurs du $\delta^{13}\text{C}$ de la MO permettent, de manière complémentaire au rapport C/N, d'évaluer l'origine de la MO en milieu estuarien. La MO marine présente en général des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ comprises entre -21 et -18 ‰ (e.g. Wada et al., 1987). Le $\delta^{13}\text{C}$ de la MO fluviale dépend lui des contributions relatives de la MO terrigène (-25 à -33 ‰) et de la MO autochtone, principalement le phytoplancton d'eau douce (-25 à -33 ‰ ; Middelburg et Niewenhuize, 1998). Quel que soit le compartiment considéré (MOD, MOP ou sédiment), on note une augmentation du $\delta^{13}\text{C}$ le long de l'estuaire de Seine (Fig. 3). La signature isotopique en ^{13}C permet ainsi de discriminer le type de MO présent dans les différentes parties de l'estuaire (amont, BV et aval).

L'augmentation linéaire du $\delta^{13}\text{C}$ de la MO le long de l'estuaire est indépendante de la saison et indique que la composition de la MO dans l'estuaire de Seine est principalement

contrôlée par le mélange des masses d'eaux douces et marines. Cela pourrait également expliquer la diminution de la diversité moléculaire de la MOD déduite des analyses de spectrométrie de masse haute résolution (ca. 5000 molécules en amont vs. 2700 à l'aval). L'enrichissement en $\delta^{13}\text{C}$ de la MO de l'amont vers l'aval a été observé dans de nombreux estuaires autour du monde (e.g. Zong et al., 2006 ; Yu et al., 2010). Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ et du rapport C/N observées dans les parties fluviales et marines de l'estuaire de Seine sont en bon accord avec celles typiquement rapportées dans la littérature (Lamb et al., 2006 et références incluses).

Datations au ^{14}C de la MO

En plus des analyses élémentaires et isotopiques, des datations au ^{14}C de la MO ont été effectuées afin d'estimer l'âge de ce matériel. Afin de dater uniquement le carbone organique et d'éliminer le carbone inorganique, les échantillons de MOP et MO sédimentaire ont préalablement été décarbonatés (traitement avec une solution HCl 3M), prétraitement qui n'est pas nécessaire pour la MOD ne contenant plus de carbonates après dessalement par électrodialyse.

Les mesures de ^{14}C ont été réalisées au niveau de la plateforme nationale ARTEMIS du CNRS sur les échantillons de MOD, de MOP, et les sédiments prélevés à 0-1 et 9-10 cm de profondeur. L'âge obtenu est exprimé en BP (Before Present ; Fig. 4). Pour ce type d'analyses, le présent correspond à l'année 1950, date où l'atmosphère n'était pas contaminée en ^{14}C par les nombreux essais nucléaires des années 1960.

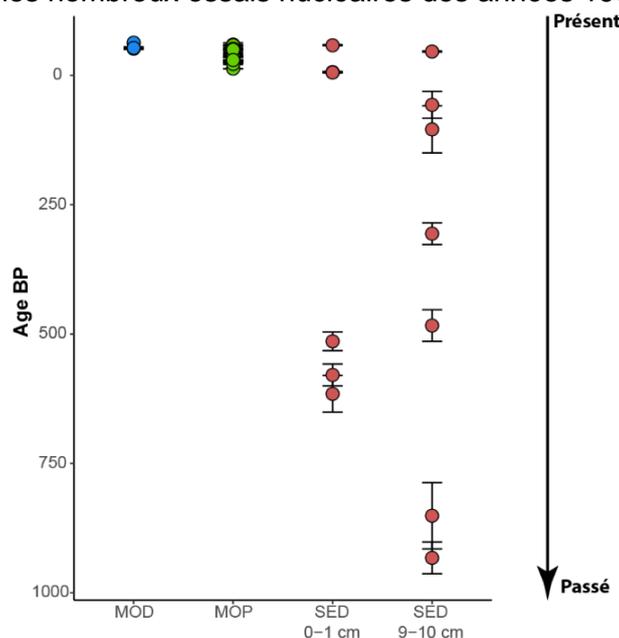


Figure 4. Age moyen du carbone organique constituant la MO dissoute, particulaire et sédimentaire obtenu après datation au ^{14}C (plateforme ARTEMIS).

Les datations au ^{14}C ont révélé l'âge moderne (dizaine à quelques dizaines d'années) de la MOD et de la MOP, quel que soit le lieu de prélèvement le long de l'estuaire. A l'opposé, l'on observe une forte variabilité de l'âge moyen de la MO sédimentaire, de moderne à environ 1000 ans. Il est important de préciser que les datations effectuées fournissent l'âge moyen des milliers de molécules individuelles constituant la MO, qui présentent des signatures isotopiques très variées. Ainsi même si la plupart des molécules constitutives de la MO ont été produites récemment, il suffit qu'une faible proportion d'entre elles aient une signature ^{14}C ancienne pour que l'âge moyen de la MO augmente fortement. De nombreux paramètres

peuvent en effet influencer l'âge de la MO estuarienne. Ainsi, le lessivage des sols transporte jusqu'à l'estuaire du matériel organique allochtone dont l'âge, très variable, dépend directement de celui du dépôt des sols. Les changements de végétation et de précipitation le long des bassins versants modifient la quantité de MO issue des sols, qui va se mélanger à la MO autochtone, produite dans le milieu estuarien. Les changements de productivité phytoplanctonique, liée entre autres à la température de l'eau et à la quantité de nutriments, vont également modifier la quantité et la qualité de la MO. Au final, l'ensemble des processus sus-cités présentent une dynamique spatio-temporelle importante et complexe, expliquant les fortes variations des caractéristiques de la MO, dont l'âge de cette dernière, en milieu estuarien. Ainsi, en mer Baltique – mer intracontinentale assimilable à un estuaire – il a été observé que l'âge ^{14}C moyen du sédiment différait d'environ 600 ans entre deux carottes prélevées dans la même zone (âge moyen de 620 ans pour la première carotte et 1200 ans pour la seconde) et variait également avec la profondeur (variation de 200 ans ; Lougheed et al., 2017). Cette forte variabilité spatio-temporelle se retrouve de la même manière dans les sédiments de l'estuaire de Seine.

Comme le montre la figure 5, l'âge de la MO sédimentaire du bouchon vaseux est directement lié aux conditions hydrodynamiques dans l'estuaire de Seine. On peut ainsi supposer que les fortes marées conduisent à une remise en suspension du sédiment superficiel « frais », laissant en surface un matériel organique ancien, à l'opposé des marées de faibles amplitudes, qui conduisent au dépôt de MO plus récent au fond de la colonne d'eau. Cette hypothèse expliquerait l'âge plus élevé de la MO sédimentaire observé lors des campagnes de vives-eaux de septembre 2015 et avril 2016 (coefficients de marée supérieurs à 75) par rapport à celle de mortes-eaux réalisée en avril 2015 (coefficient de marée inférieur à 50).

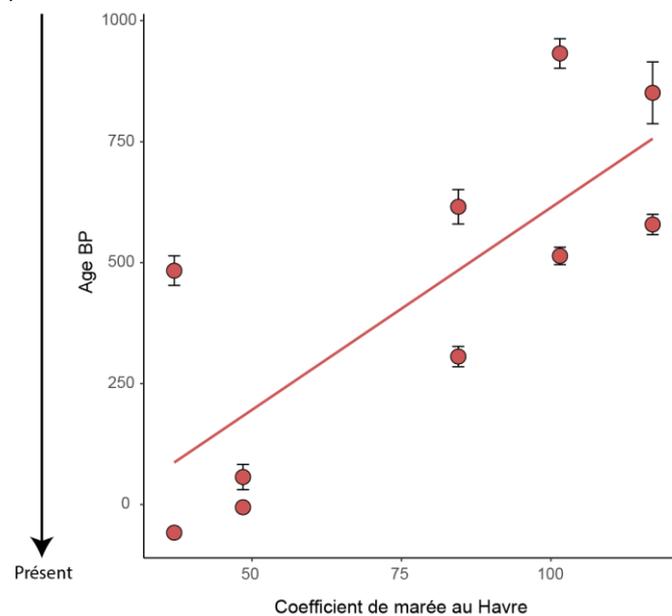


Figure 5. Relation entre l'âge moyen du carbone organique constituant la MO sédimentaire du bouchon vaseux (Fatouville et Tancarville) et le coefficient de marée lors des différentes campagnes du projet MOSAIC.

Au final, les datations au ^{14}C ont montré que la MO sédimentaire présentait un âge globalement supérieur à celui de la MOP et de la MOD. Ce résultat indique le caractère plus dégradé du matériel organique dans le sédiment par rapport à la colonne d'eau, cette tendance étant amplifiée lors de fortes marées.

Principales conclusions :

- ✓ La composition de la MO varie le long de l'estuaire de Seine, et est principalement contrôlée par la rencontre des eaux douces et marines.
- ✓ La MO sédimentaire présente un caractère plus dégradé que la MO particulaire et dissoute. Les caractéristiques globales de la MO sédimentaire, en particulier son âge moyen, sont fortement dépendantes des conditions hydrodynamiques, à l'inverse de la MOD et de la MOP.

2.1.1.3 Analyses de la MO au niveau structural : Résonance magnétique nucléaire du carbone à l'état solide (RMN ^{13}C)

Les analyses effectuées précédemment nous ont permis de déterminer les caractéristiques globales de la MO. Il est cependant essentiel d'examiner de manière plus approfondie la composition chimique de la MO, cette dernière influençant directement les différents processus biogéochimiques (transfert des contaminants, transformation des nutriments et activité des microorganismes associés etc.) se déroulant en milieu estuarien.

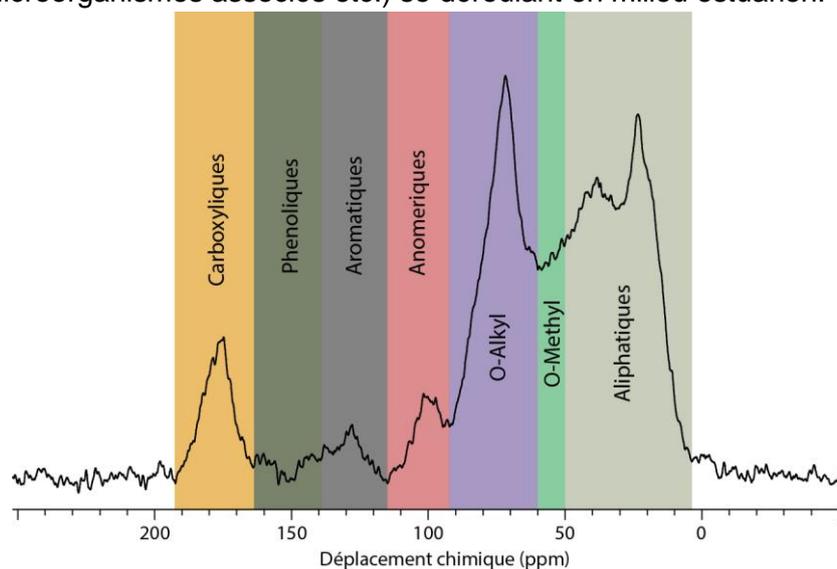


Figure 6. Exemple d'un spectre RMN du ^{13}C (MOD prélevée à Caudebec en avril 2015) et déplacements chimiques associés aux principaux groupements fonctionnels carbonés.

La résonance magnétique nucléaire du carbone (RMN ^{13}C) à l'état solide est une méthode d'analyse semi-quantitative permettant de déterminer les principaux groupements fonctionnels liés aux atomes de carbone. On peut distinguer six grands types de fonctions carbonées, présentées dans l'ordre croissant de leurs déplacements chimiques (e.g. Fig. 6) : les C aliphatiques (CH_3 , CH_2 et CH) ; les groupements méthoxy (OCH_3) ; les C de type alkoxy (C-O) ; les C anomériques (O-C-O) ; les C aromatiques ; les fonctions carboxyliques (COOH). Ces différentes fonctions ont été observées sur les spectres RMN ^{13}C des échantillons de l'estuaire de Seine, comme par exemple celui d'un échantillon de MOD prélevé à Caudebec en avril 2015 (Fig. 6).

Chaque spectre RMN a par la suite été déconvolué puis intégré. L'aire relative de chacun des types de carbone est représentée sur la Fig. 7, qui permet de comparer les signatures



structurales de la MOD, de la MOP et de la MO sédimentaire pour l'ensemble des campagnes de prélèvement.

Les trois types de MO présentent des caractéristiques structurales contrastées. La MOD et la MOP sont ainsi plus riches en carbones de type aliphatique que la MO sédimentaire. Par ailleurs, la proportion de carbones aromatiques (C-H et C-O) et de type OCH₃ est plus élevée pour les compartiments particulaires et sédimentaires que pour la MOD, qui est elle-même enrichie en groupements alcoxys. Le fait que la MOD soit appauvrie en carbones aromatiques et enrichie en fonctions alcoxys par rapport à la MOP et à la MO sédimentaire est en accord avec le caractère plus hydrophile de la MO dans la phase dissoute. En outre, l'aromaticité de la MO augmente en général lors de la dégradation de cette dernière, ce qui suggère que la MOP et la MO sédimentaire présentent un caractère plus dégradé que la MOD.

On note que pour le compartiment dissous, la signature de la MO varie peu entre les différents échantillons prélevés tout au long de l'estuaire de Seine lors de campagnes d'échantillonnage distinctes, contrairement à la MOP et la MO sédimentaire (Fig. 7). Cela suggère une composition chimique globale de la MOD comparable en amont et en aval de l'estuaire. Cette hypothèse est confirmée par les analyses de spectrométrie de masse haute résolution des échantillons de MOD, qui fournissent les masses individuelles des différents constituants de la MOD. Ces analyses ont révélé que plus de 40 % des molécules (lignine, tannins, composés acycliques riches en fonctions carboxyliques) étaient communes à l'ensemble des échantillons de MOD, quel que soit leur lieu de prélèvement dans l'estuaire.

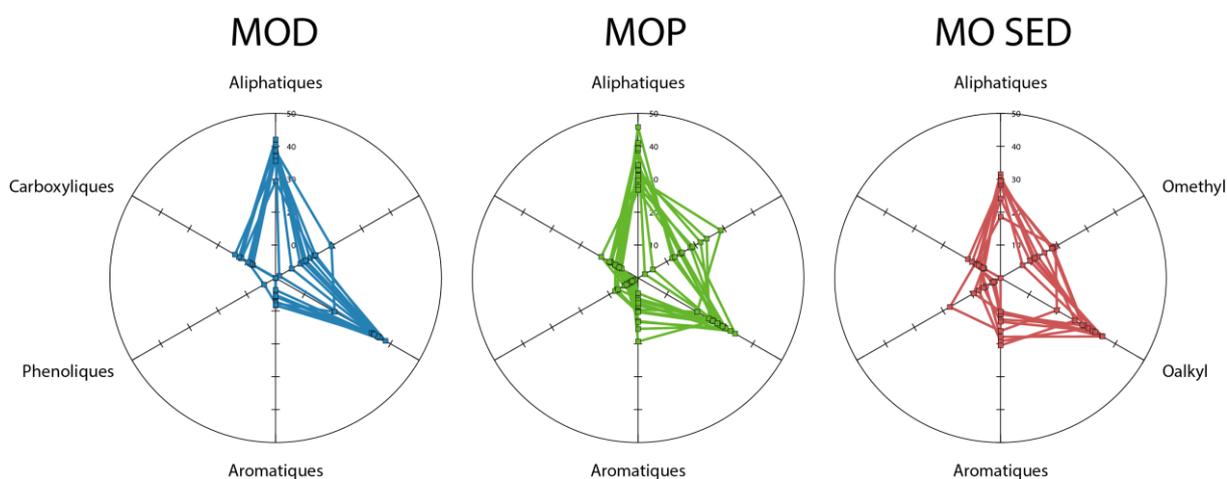


Figure 7. Composition structurale de la MOD, MOP et MO sédimentaire issue des analyses de RMN ¹³C sur les échantillons des différentes campagnes. Les échantillons d'un même type (MOD, MOP ou sédiment) apparaissent sur le graphique correspondant. Chaque graduation correspond à une abondance relative de 10% pour le groupement fonctionnel considéré par rapport à l'ensemble des fonctions carbonées.

Les propriétés structurales de la MOD de l'estuaire de Seine ont été comparées avec celles de MOD marines prélevées dans l'Océan Atlantique et Pacifique, également isolées par osmose inverse et électrodialyse (Helms et al., 2015). Les échantillons de MOD estuariens et marins présentent, d'après les analyses RMN ¹³C, une composition similaire, suggérant qu'une grande partie des composés constitutifs de la MOD sont communs à différents environnements aquatiques.

Enfin, les spectres RMN ¹³C peuvent également être utilisés pour préciser les sources de la MO dans l'estuaire et estimer la proportion relative de MO fraîchement produite *in situ* par rapport à la MO terrigène. En effet, un modèle, développé par Baldock et al. (2004) permet de calculer l'abondance relative de six grandes familles de molécules constitutives de la MO (sucres, protéines, lignines, lipides, composés carbonylés, char). Les sucres et les protéines sont des composés labiles, considérés comme représentatifs de la MO autochtone, à l'inverse, de la lignine, biopolymère présent chez les végétaux terrestres (et donc d'origine allochtone). Nous avons observé que la MO fraîchement produite dans l'estuaire (i.e. sucres et protéines) représentait entre 75 et 80 % de l'ensemble de la MO (autochtone + allochtone ; Tableau 2), quel que soit le compartiment considéré.

Au final, ces résultats montrent l'intérêt de la caractérisation structurale de la MO, qui apporte des informations qualitatives et quantitatives sur ce matériel, non disponibles à partir des seules analyses globales. Il apparaît ainsi que la MO est principalement d'origine autochtone dans l'estuaire de Seine.

Site / date de prélèvement	Compartiment	MO autochtone (%)
Caudebec avril 2015	MOD	80.1
Caudebec avril 2015	MOP	76.5
Tancarville janvier 2015	MOD	78.7
Tancarville avril 2015	MOD	79.9
Tancarville avril 2015	MOP	75.8
	Sédiment 0-1	
Tancarville avril 2015	cm	75.8
	Sédiment 9-10	
Tancarville avril 2015	cm	75.9
Fatouville avril 2015	MOP	75.3
	Sédiment 0-1	
Fatouville avril 2015	cm	76.0
	Sédiment 9-10	
Fatouville avril 2015	cm	75.3

Tableau 2. Proportion de MO produite *in situ* par rapport à l'ensemble de la MO (autochtone et terrigène), estimée à partir des analyses RMN¹³C (set d'échantillons pris à titre d'exemple). Dans ce modèle, les sucres et les protéines sont considérés comme représentatifs de la MO autochtone et la lignine de la MO terrigène.

Principales conclusions :

- ✓ La MO présente des caractéristiques structurales différentes en fonction du compartiment considéré (dissous, particulaire ou sédimentaire).
- ✓ Les propriétés structurales de la MOD, basés sur les analyses RMN ¹³C, varient peu entre les différents échantillons de l'estuaire de Seine. Une grande partie des molécules constitutives de la MOD semblent donc communes aux échantillons prélevés à l'amont et à l'aval.

Les analyses RMN¹³C ont permis de préciser les résultats obtenus à partir des analyses globales et montré que la MO était principalement d'origine autochtone (i.e. produite *in situ*) dans l'estuaire de Seine.



2.1.1.4 Effet combiné du type de MO et de la variabilité spatio-temporelle

Afin d'examiner conjointement les différences entre MOD, MOP et MO sédimentaire, et les variations spatio-temporelles de la MO dans ces trois compartiments, une analyse en composante principale (ACP) a été réalisée sur les données de RMN ^{13}C et d'analyses élémentaires (rapport C/N) et isotopique ($\delta^{13}\text{C}$) des différents échantillons (Fig. 8).

On distingue statistiquement les trois types de MO (MOD, MOP et MO sédimentaire) le long de la dimension 1 de l'ACP (Fig. 8). La MOD est liée aux plus faibles valeurs dans cette dimension, fortement influencée par la proportion de groupements carbonés de type alkoxy contenus dans les sucres. Cette tendance suggère que la MOD contient un matériel moins dégradé que la MOP et la MO sédimentaire, comme suggéré précédemment. Au final, l'ACP met en avant une forte variabilité inter-compartiments des caractéristiques globales et structurales de la MO. Ces différences de propriétés chimiques peuvent directement influencer les interactions avec les contaminants et les nutriments dans l'estuaire. Une étude plus détaillée du lien entre la dynamique de la MO, des contaminants et des nutriments sera proposée dans la suite de ce rapport.

La dimension 2 de l'ACP met par ailleurs en avant la variabilité spatiale des propriétés de la MO, principalement particulaire (Fig. 8). Les échantillons de MOP prélevés à l'amont présentent ainsi des valeurs plus faibles que ceux prélevés à l'aval, plus particulièrement à la Carosse (point le plus à droite). La répartition des différents échantillons le long de l'axe 2 est fortement liée à la composition isotopique en ^{13}C , qui augmente de l'amont vers l'aval comme nous l'avons vu précédemment (Fig. 3). Cette ACP a été effectuée à partir d'échantillons prélevés lors de différentes campagnes. Nous n'avons pas noté d'influence saisonnière notable sur les caractéristiques de la MO, et ce quel que soit le compartiment considéré.

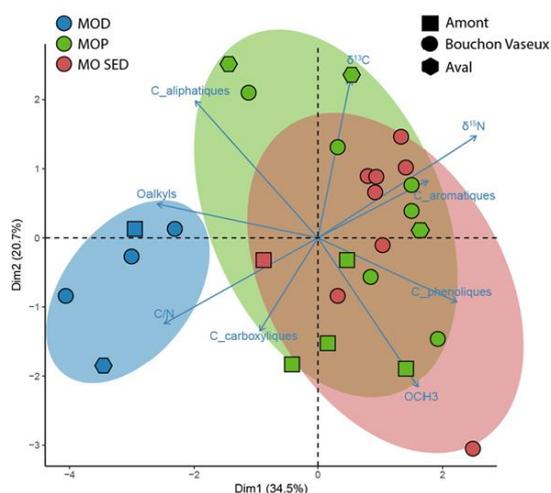


Figure 8. Distribution des variables (C/N, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) de la MO, groupements fonctionnels liés aux analyses RMN ^{13}C et des échantillons dans les deux dimensions de l'ACP effectuée suite aux analyses globales et structurales de l'ensemble des MOD, MOP, et MO sédimentaire de l'estuaire de Seine.

Principales conclusions :

- ✓ Le traitement statistique des données (ACP) a montré la forte variabilité des caractéristiques globales et structurales de la MO dans les différents compartiments liés à la colonne d'eau et au sédiment.
- ✓ La variabilité spatiale des propriétés de la MO a également été mise en avant, principalement dans le compartiment particulaire. A l'inverse, il n'a pas été observé d'influence saisonnière majeure sur les propriétés globales et structurales de la MO.

2.1.2 Suivi resserré de la dynamique de la MOD dans l'estuaire de Seine

Comme décrit précédemment un peu plus de 500 échantillons, prélevés en points fixes au cours de cycles de marée lors des 5 campagnes d'échantillonnage et lors d'un transect réalisé dans la partie fluviale de l'estuaire en avril 2016, ont été analysés de façon globale afin d'appréhender la dynamique de la MOD dans l'estuaire de Seine. Compte tenu du nombre d'échantillons étudiés et dans un souci d'alléger la présentation des résultats, ceux-ci seront présentés pour un nombre restreint d'échantillons et quelques paramètres choisis comme exemple pour illustrer la discussion. Les résultats de la campagne de 2016 seront notamment présentés car cette campagne compte le plus grand nombre de sites étudiés d'amont en aval. La totalité des résultats sont évidemment pris en compte pour les discussions et conclusions et pour le croisement final des données.

2.1.2.1 Teneurs en carbone organique dissous (COD)

Les mesures des teneurs en carbone organique dissous (COD) ont été réalisées par oxydation thermique dans un four à 680°C en présence d'un catalyseur à l'aide des analyseurs de carbone TOC-V CSN et TOC-L CSH/CSN SHIMADZU. L'appareil est étalonné à l'aide de gammes d'étalonnage réalisées à partir d'une solution standard de phtalate de potassium diluée à différentes concentrations. Pour chaque échantillon le résultat donné est la moyenne d'au moins trois mesures satisfaisantes en termes d'écart type et de coefficient de variation. De plus, au moins deux échantillons de référence certifiés (CRM) (ANALAB, Environnement Canada) sont testés, en début et fin de chaque séquence d'analyse d'échantillons, afin de valider les résultats (Parot, 2016).

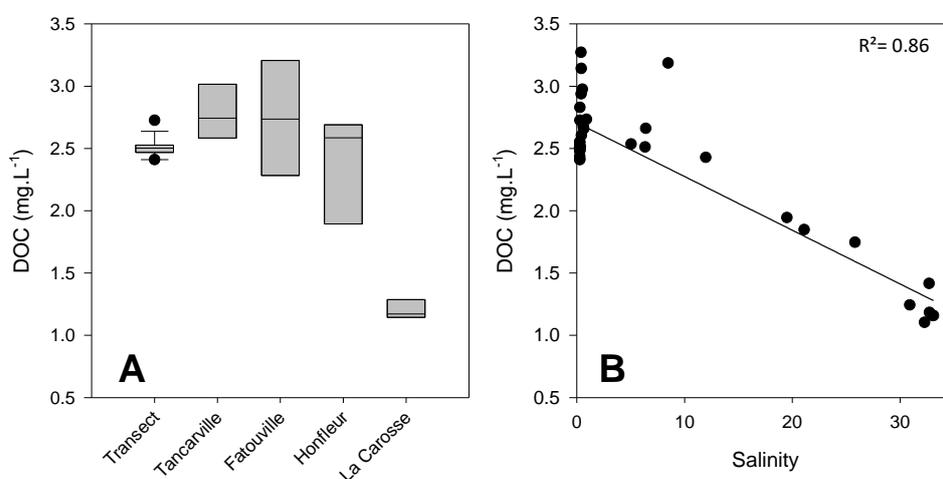


Figure 9. (A) Teneurs moyennes en COD des échantillons prélevés en avril 2016 (B) distribution du COD en fonction de la salinité

Ces mesures ont montré une forte variabilité spatiale des teneurs en COD de l'ensemble des échantillons, comme illustré sur la Figure 9A pour les échantillons prélevés en avril 2016. Les concentrations en COD varient de 2.73 ± 0.03 à 2.41 ± 0.03 mg.L⁻¹ dans la partie fluviale de l'estuaire (transect) (moyenne 2.51 ± 0.08 mg.L⁻¹), de 3.14 à 2.52 mg.L⁻¹ (moyenne 2.79 ± 0.24 mg.L⁻¹) à Tancarville, de 3.27 à 1.85 mg.L⁻¹ (moyenne 2.7 ± 0.54 mg.L⁻¹) à Fatouville, de 2.73 à 1.74 mg.L⁻¹ (moyenne 2.38 ± 0.43 mg.L⁻¹) à Honfleur et enfin de 1.41 à 1.10 mg.L⁻¹ (moyenne 1.21 ± 0.11 mg.L⁻¹) à La Carosse. La Figure 9B montre un modèle de dilution de type conservatif le long de l'estuaire pour cette période de l'année (c'est-à-dire une dilution linéaire du carbone organique avec la salinité sous l'effet du



mélange des masses d'eaux douces et marines, sans ajout ni perte de matériel le long de l'estuaire). Ces résultats sont en bon accord avec de précédentes études sur le COD en zones estuariennes (Abril et al., 2002 ; Asmala et al., 2012).

La Figure 10 et les Figures A1-A et C et A2-A et C en annexe présentent les variations observées dans la colonne d'eau pendant les cycles de marée avec de fortes valeurs en surface pour Fatouville et Tancarville par exemple alors que les plus fortes valeurs sont obtenues pour les échantillons de fond pour les sites de La Carosse et Honfleur (Fig. 10). Les valeurs de COD dans la partie fluviale montrent peu de variations et sont plus faibles qu'à Tancarville et Fatouville (Figures 10 et A3-A en annexe).

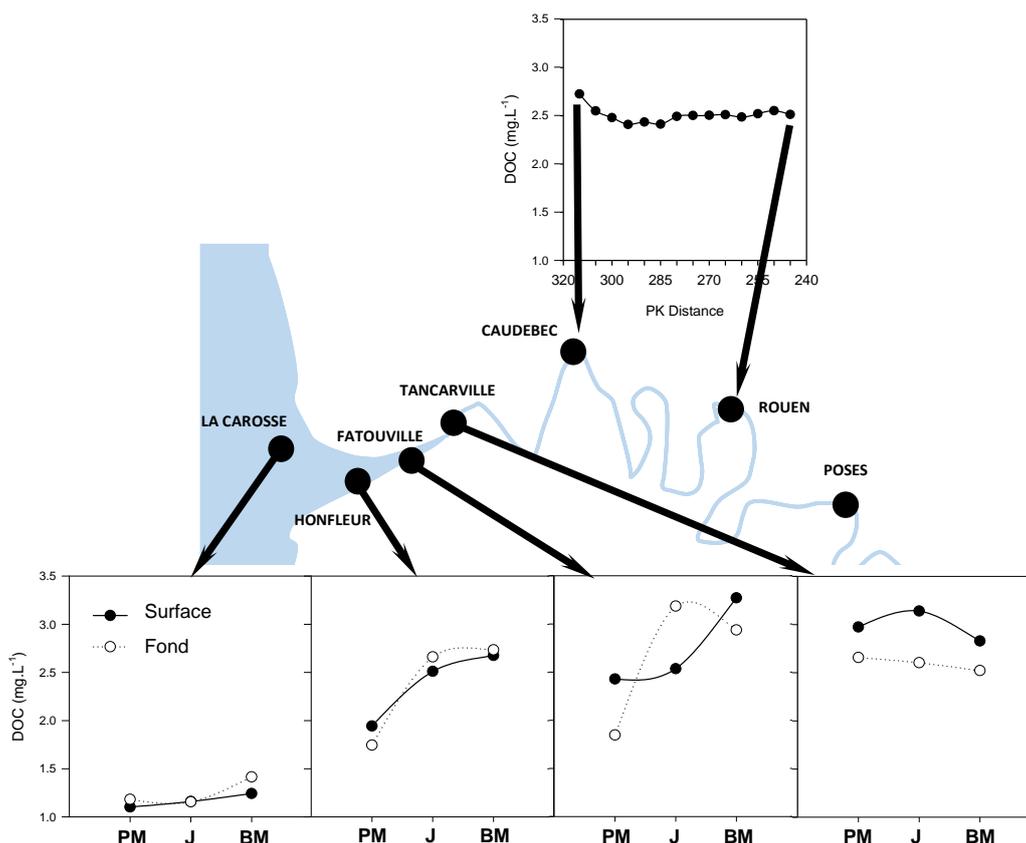


Figure 10. Teneurs en COD des échantillons d'avril 2016, en surface et au fond, pour La Carosse, Honfleur, Fatouville et Tancarville à pleine mer (PM), jusant (J) et basse mer (BM) ainsi que pour les échantillons de surface prélevés entre Caudebec et Rouen.

La teneur en COD comme seul paramètre ne permet cependant pas de rendre compte du type de MOD présente, de son rôle environnemental et des multiples transformations qu'elle peut subir dans les milieux aquatiques.

La connaissance du matériel organique dissous/colloïdal et de son évolution dans les systèmes aquatiques naturels, notamment estuariens et côtiers, et des relations existant entre ses caractéristiques et ses propriétés vis-à-vis des contaminants, constitue encore un défi au niveau international. Dans l'environnement, la complexité des démarches analytiques vient de l'extrême diversité et complexité de la MOD associée aux faibles concentrations en milieux aquatiques. Afin de pallier à ces difficultés analytiques, la caractérisation détaillée, en utilisant une combinaison de techniques permet d'obtenir des informations complémentaires sur les propriétés de la MOD (taille, concentration, conformation, composition, etc.).

Parmi les outils de caractérisation de la MOD, les techniques optiques ont été largement utilisées depuis de nombreuses années : spectrophotométrie (Hayase and Shinozuka, 1995 ; Helms et al., 2008 ; Stubbins et al., 2012) et spectrofluorimétrie notamment (Mopper and Schultz, 1993 ; Coble 1996 ; Huguet et al., 2009). Les techniques de fractionnement par couplage flux/force (Field-Flow Fractionation, FFF), développées dans les années 1970-1980, permettent, d'autre part, la séparation de molécules et macromolécules sur une large gamme de tailles pouvant aller de quelques nanomètres à plusieurs micromètres. Avec l'explosion des études sur des objets aux échelles nanométriques ces techniques ont connu un net regain d'intérêt depuis quelques années. Actuellement les études de la MOD se font principalement par fractionnement par couplage flux force avec flux asymétrique (AF4) (Baalousha et al., 2011 ; Guéguen et al., 2011 ; Kammer et al., 2005).

2.1.2.2 Absorbance de la MOD

La fraction de la MOD qui absorbe à la fois dans les ultraviolets et le visible est appelée matière organique colorée ou chromophorique (MODC). La spectroscopie d'absorption UV-visible a été utilisée pour la détermination rapide des propriétés générales de la MODC. Les analyses ont été effectuées à l'aide s'un spectrophotomètre Jasco V-560.

Afin d'obtenir des informations sur les propriétés de la MODC à partir des spectres d'absorbance (enregistrés entre les longueurs d'onde de 200 et 800nm), l'absorption à des longueurs d'onde spécifiques est utilisée pour quantifier la MODC et différents indices ont été développés et appliqués à l'étude de la MOD en milieu aquatique tels que le SUVA ou les pentes spectrales.

L'absorbance à 254nm normalisée par la concentration en COD, appelée $SUVA_{254}$ (Specific UV Absorbance), est corrélée avec le pourcentage d'aromaticité de la MOD (Weishaar et al., 2003). Le $SUVA_{254}$ est donc considéré comme un indicateur de l'aromaticité, de la réactivité et du caractère hydrophobe ou hydrophile de la MOD en milieu aquatique. Quand sa valeur est haute (> 4) la MOD est dite hydrophobe avec un caractère aromatique fort alors que quand elle est faible (< 3) la MOD est dite hydrophile (Matilainen et al., 2011).

La pente du spectre d'absorption permet d'avoir une idée de la source, de l'aromaticité, de la taille moléculaire et des propriétés chimiques de la MOD (Helms et al., 2008; Stubbins et al., 2012). La pente spectrale calculée entre les longueurs d'onde 275 et 295nm ($S_{275-295}$) a été utilisée pour caractériser la MOD en termes de taille moléculaire, d'aromaticité et comme un traceur du COD terrigène dans les zones côtières et océaniques sous influence terrestre (Blough and Del Vecchio, 2002; Helms et al., 2008). Ainsi $S_{275-295}$ présente des valeurs élevées ($S > 0,018nm^{-1}$) pour la MOD d'origine autochtone et/ou photodégradée, alors que des valeurs plus faibles ($S < 0,018 nm^{-1}$) ont été obtenues pour les zones côtières influencées par des apports en MOD d'origine terrestre (Blough and Del Vecchio, 2002).

Le rapport des pentes spectrales (S_R) est calculé comme le rapport de la pente spectrale pour les courtes longueurs d'onde ($S_{275-295}$) sur la pente spectrale de plus grandes longueurs d'onde ($S_{350-400}$). Le rapport S_R est négativement corrélé avec la taille de la MOD (Helms et al., 2008), quand S_R augmente le poids moléculaire diminue. Cet indice donne également des informations sur l'origine de la MOD, S_R est ainsi supérieur à 1 pour les eaux sous influence marine (autour de 1,7 pour les zones côtières et de 4 pour les zones océaniques) et inférieur à 1 pour la MOD d'origine terrestre (Helms et al., 2008).



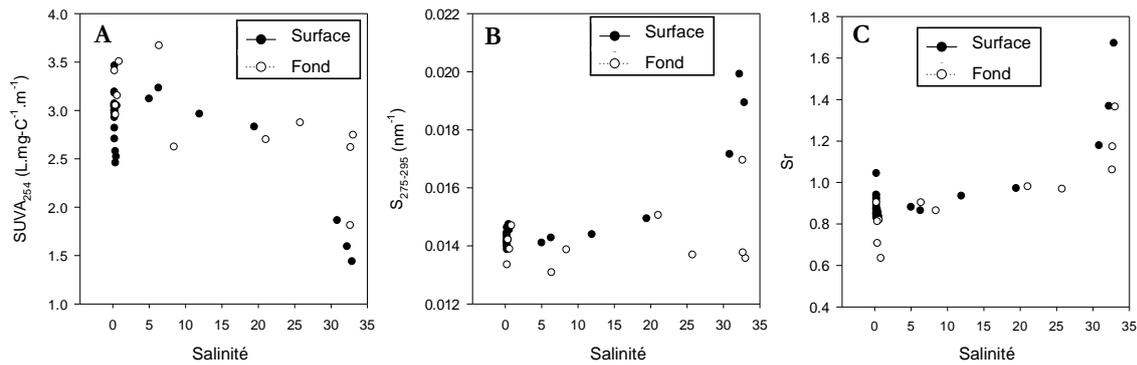


Figure 11. Distribution en fonction de la salinité des indices (A) $SUVA_{254}$, (B) $S_{275-295}$ and (C) S_R pour les échantillons prélevés en avril 2016 en surface et au fond de la colonne d'eau.

La Figure 11 montre la distribution de ces indices en fonction de la salinité pour les échantillons de la campagne DYNAMOSEINE 2 prise comme exemple.

Les plus fortes valeurs du $SUVA_{254}$ ont été observées dans la partie fluviale de l'estuaire ainsi qu'à Tancarville, Fatouville et Honfleur. Ceci traduit probablement des apports allochtones de MOD d'origine terrigène et/ou anthropique comme rapporté dans la littérature (Hernes and Benner, 2003).

Les Figures 11B et 11C ne montrent pas de relation particulière avec la salinité pour les indices $S_{275-295}$ et S_R . La taille moyenne de la MOD semble donc être affectée dans l'estuaire par des processus autres qu'un simple mélange des eaux douces et marines. La distribution du rapport de pentes spectrales S_R (Fig. 11C) suggère une séparation de l'estuaire en deux zones : tout d'abord la partie fluviale et amont de l'estuaire caractérisée par de forts apports allochtones constitués de MOD aromatique et de masse moléculaire (MM) élevée et d'autre part la partie la plus aval de l'estuaire caractérisé par de faibles MM et taux d'aromaticité et du matériel d'origine autochtone fraîchement produit et/ou de la MOD dégradée.

L'ensemble de ces indices montrent que l'abondance, la qualité et la composition de la MOD ne varient pas linéairement le long de l'estuaire.

2.1.2.3 Fluorescence de la MOD

Une partie de la MOD chromophorique présente des propriétés de fluorescence qui 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 (ou matrices d'excitation-émission (EEM) de fluorescence) est généralement utilisée pour l'étude de la dynamique et des mélanges de masses d'eau en milieu côtier et estuarien (Guéguen et al., 2007 ; Hugué et al., 2009 ; Jaffé et al., 2004 ; Tzortziou et al., 2015) ou la discrimination des masses d'eau (Carstea et al., 2010 ; Coble, 1996 ; Mopper and Schultz, 1993).



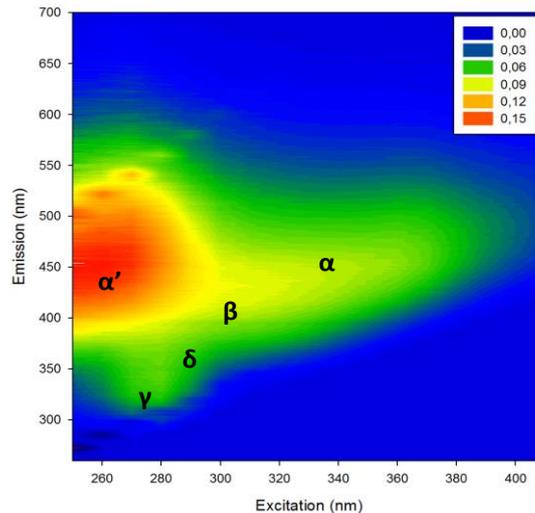


Figure 12. Projection dans le plan d'une matrice EEM d'un échantillon d'eau estuarienne. Les lettres représentent les bandes de fluorescences spécifiques identifiées dans l'échantillon

Les spectres EEM (Figure 12) mettent en évidence les différents fluorophores (Tableau 3) constituant la MOD et donnent des informations sur sa source, sa composition chimique, son état de dégradation et sa réactivité (Coble et al., 1990 ; Fellman et al., 2010 ; McKnight et al., 2001 ; Parlanti et al., 2000).

Les spectres ont été enregistrés à l'aide d'un spectrofluorimètre Fluorolog Horiba Jobin-Yvon FL3-22. Les données quantitatives et qualitatives à prendre en compte sont l'intensité (proportionnelle à la concentration des fluorophores) 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 (Tableau 2). Des indices de fluorescence (HIX, BIX, f450/f500, les rapports d'intensités des bandes de fluorescence α'/α , β/α et γ/α) sont également déterminés afin d'estimer les sources et le degré de maturation de la MOD fluorescente.

Nom des fluorophores	Type de fluorophores	Origine	Longueurs d'ondes d'excitation (nm)	Longueurs d'ondes d'émission (nm)
α'	Substances type humique + matériel plus récent	allochtone/ autochtone	230-260	380-480
α	Substances type humique	allochtone/ autochtone	330-370	420-480
β	Matériel biologique et origine microbienne / matériel récent	autochtone	310-320	360-410
γ	Protéines et activité bactérienne	autochtone	270-280	300-350
δ	Protéines et composés phénoliques	autochtone	280-300	320-380

Tableau 3. Principales bandes de fluorescence de la MOD citées dans la littérature pour décrire les eaux naturelles (Coble, 1996 ; Parlanti et al., 2000 ; Stedmon et al., 2003)



L'indice d'Humification HIX (Zsolnay et al., 1999) a été développé pour estimer le degré de maturation de la MOD en se basant sur le fait que le maximum d'émission de fluorescence pour une longueur d'onde d'excitation de 254nm se décale vers les grandes longueurs d'onde lorsque l'aromaticité et donc le degré de maturation augmente. De fortes valeurs de HIX indiquent donc la présence d'un matériel organique humifié/aromatique. Les valeurs de HIX diminuent pour des composés présentant un degré d'aromaticité moindre et souvent des masses moléculaires plus faibles.

Un indice d'activité biologique (BIX) a été développé afin de caractériser la production autochtone de MOD (Vacher, 2004 ; Huguet et al., 2009). Il correspond au rapport des intensités de fluorescence à 380nm et à 430nm pour une longueur d'excitation de 310nm et permet d'estimer la présence de matière organique fraîchement produite dans le milieu (une valeur supérieure à 1 indique une MOD produite récemment et d'origine autochtone et plus cette valeur se rapproche de 0,5 plus la part de matériel frais est faible).

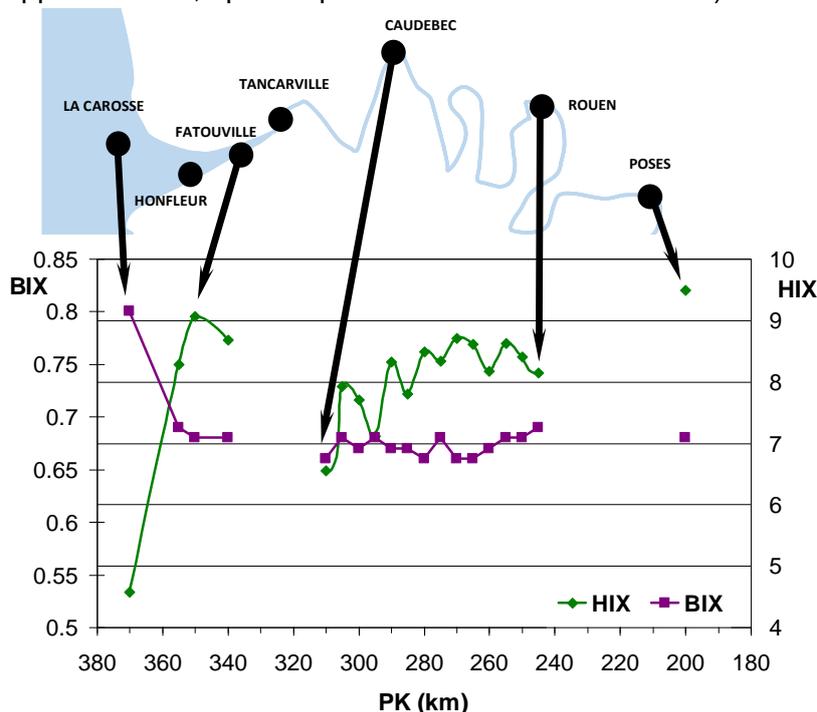


Figure 13. Distribution des indices HIX et BIX le long de l'estuaire pour les échantillons d'avril 2016 prélevés en surface et à basse mer.

L'indice *FI* Permet d'identifier la contribution relative de MOD terrestre ($FI = 1,3$) ou aquatique/microbienne ($FI = 1,9$) (Mc Knight et al., 2001 ; Cory et al., 2010).

Les rapports d'intensités des bandes de fluorescence α'/α , β/α et γ/α correspondent au rapport des intensités des fluorophores caractéristiques d'un matériel fraîchement produit dans le milieu (α' , β et γ) sur l'intensité du fluorophore α considéré comme étant le plus mature et réfractaire.

Les résultats des rapports α'/α , β/α et γ/α (Fig. en annexe A1-B et D, A2-B et D (cycles de marée avril 2016) et A3-B (transect avril 2016)) et de *FI* ne sont pas présentés ici mais utilisés dans le croisement des données (partie IV).

La figure 13 présente comme exemple les valeurs de HIX et BIX déterminées pour les échantillons d'avril 2016 prélevés en surface à un même moment de la marée pour pouvoir être comparables. Une forte variabilité de ces indices est observée d'amont en aval avec logiquement la plus forte valeur de BIX et la plus faible de HIX pour l'échantillon le plus marin. Les fortes valeurs de HIX (parfois supérieures à celles du transect fluvial) pour

Fatouville, Tancarville et Honfleur ne reflètent pas les apports de l'amont mettant ainsi en évidence des processus de dégradation de la MOD ou des apports différents dans cette partie de l'estuaire. Il faut noter que, globalement, les valeurs de HIX restent relativement faibles et montrent une très forte variabilité traduisant à la fois une activité biologique dans le milieu (faible HIX et BIX moyen) et certainement différentes sources d'apports de matière organique dans la partie fluviale et des processus et/ou sources différents autour de Fatouville, probablement en lien avec la présence du bouchon vaseux.

Des variations des propriétés de fluorescence sont également observées dans la colonne d'eau et au cours du cycle de marée comme illustré sur la Figure 14 pour les échantillons de Fatouville d'avril 2015.

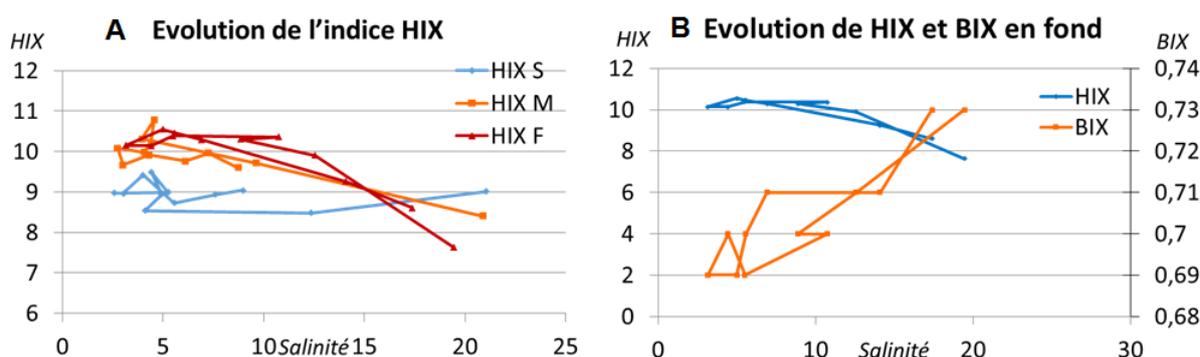


Figure 14. Evolution au cours d'un cycle de marée à Fatouville en avril 2015
 A) de HIX dans la colonne d'eau - B) des indices HIX et BIX pour les prélèvements en fond.

Les valeurs de HIX, qui restent relativement faibles (comprises entre 7 et 11), sont plus faibles en surface. Elles augmentent pendant le jusant et diminuent ensuite pendant le flot pour être inférieures aux valeurs de surface à marée haute (Fig. 14A). Les valeurs de BIX autour de 0,7, traduisant une activité biologique moyenne, sont maximales à marée haute et minimales à marée basse.

La Figure 15 montre l'évolution des intensités de fluorescence de la bande α' prise comme exemple au cours d'un cycle de marée dans la colonne d'eau toujours pour les échantillons de Fatouville d'avril 2015. Tous les fluorophores montraient un comportement similaire à la bande α' présentée ici.

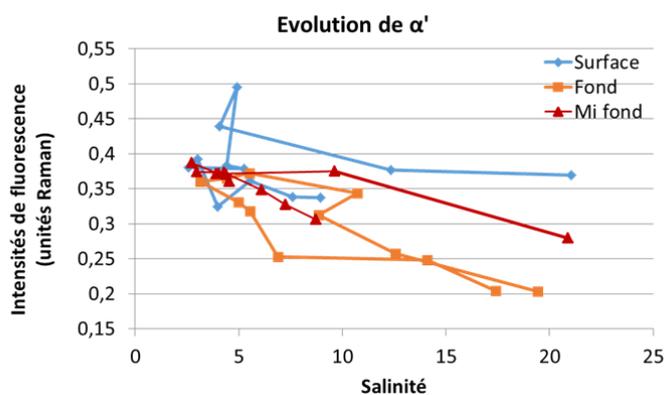


Figure 15. Evolution de l'intensité de la bande α' au cours d'un cycle de marée dans la colonne d'eau à Fatouville en avril 2015

Les intensités sont plus fortes en surface et diminuent quand la profondeur augmente. L'intensité augmente pendant le jusant puis diminue pendant le flot. Les intensités sont similaires entre surface, mi-fond et fond à basse mer traduisant une homogénéisation dans la colonne d'eau pendant l'étalement contrairement à la pleine mer.

2.1.2.4 Fractionnement de la MOD par AF4

Le fractionnement par couplage flux/force avec flux asymétrique (AF4) est une technique proche de la chromatographie liquide mais où la séparation, en fonction de la taille des molécules, se fait dans un canal et non sur une phase stationnaire dans une colonne. Le fractionnement par AF4 est basé sur le coefficient de diffusion des particules. Il permet de séparer plus rapidement les molécules et de réduire les phénomènes de dilution, souvent problématiques lors de l'étude environnementale à faible concentration. L'appareil utilisé est un système Eclipse 3 (Wyatt Technology, Dernbach, Germany) couplé à une chaîne HPLC (Agilent HP 1200 series). Le canal de séparation est équipé d'un espaceur de 490 μm et d'une membrane de seuil de coupure de 1kDa (PES, Pall Omega® ou Alting®) (Parot, 2016).

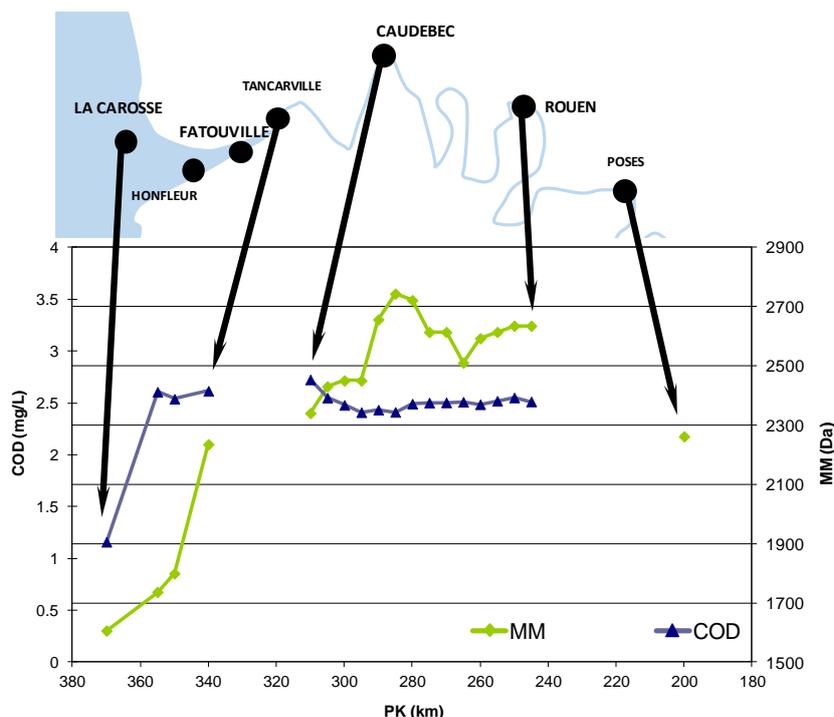


Figure 16. Evolution de la masse moléculaire moyenne (MM) et du COD le long de l'estuaire pour les échantillons d'avril 2016 prélevés en surface et à basse mer.

La figure 16 montre la variabilité spatiale des teneurs en COD et de la masse moléculaire moyenne (MM), déterminée par AF4, le long de l'estuaire. La MM diminue globalement d'amont en aval en bon accord avec ce qui a déjà été observé en estuaire de Seine (Vacher, 2004 ; Huguet et al., 2010) ou en zones côtières (Hassellöv, 2005 ; Zanardi-Lamardo et al., 2002). Les valeurs les plus élevées sont observées dans la partie fluviale de l'estuaire et sont caractérisées à nouveau par une grande variabilité confirmant le caractère très hétérogène des propriétés de la MOD dans cette zone amont de l'estuaire alors que les teneurs en COD restent relativement constantes.

La plus grande variabilité de la MM au cours du cycle de marée est observée pour les sites d'Honfleur et Fatouville en avril 2016 (Fig. 17), les plus grandes valeurs ayant été mesurées pour les échantillons de surface pendant le jusant pour ces deux sites notamment.

On observe une forte variabilité de la MM au cours du cycle de marée mais aussi dans la colonne d'eau (valeurs supérieures au fond à basse mer) à Fatouville (Fig. 18A). Les variations au cours du cycle de marée sont encore plus prononcées à Tancarville en septembre 2015 (Fig. 18B).

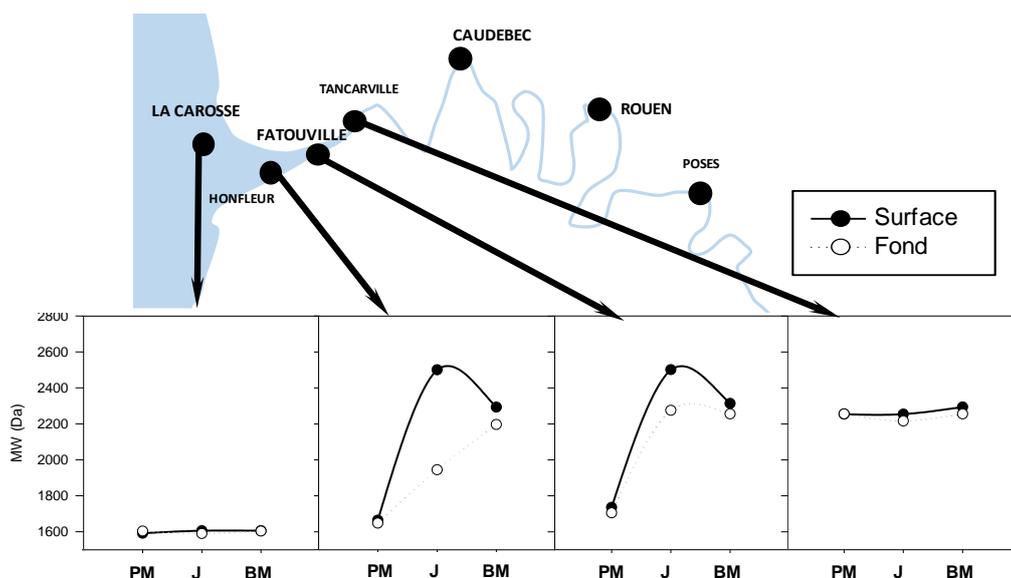


Figure 17. Evolution de la masse moléculaire moyenne (MM) des échantillons d'avril 2016, en surface et au fond, pour La Carosse, Honfleur, Fatouville et Tancarville à pleine mer (PM), jusant (J) et basse mer (BM)

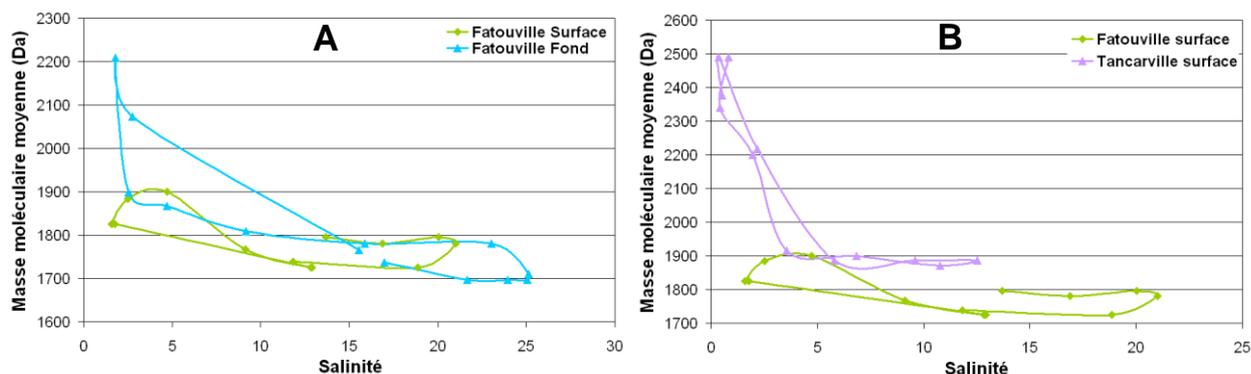


Figure 18. Evolution de la masse moléculaire moyenne (MM) pendant un cycle de marée en septembre 2015 A) à Fatouville (échantillons de surface et de fond) – B) à Fatouville et Tancarville (échantillons de surface)

2.1.2.5 Analyse statistique des données optiques (UV-Visible), AF4 et mesures COD

Une analyse en composante principale a été réalisée, pour les échantillons de la campagne DYNAMOSEINE 2, en considérant les variables suivantes : COD, $SUVA_{254}$, Abs_{254} , S_R , salinité et MM (Fig. 19).



Cette ACP a permis de discriminer les échantillons en fonction de la marée, de leur position dans l'estuaire et dans la colonne d'eau. Six clusters ont pu être identifiés. Deux se différencient dans l'estuaire aval, l'un correspondant aux échantillons de surface et le second aux échantillons profonds. L'estuaire amont à marée haute ressort de l'analyse sans distinction cette fois entre les échantillons dans la colonne d'eau. Trois clusters correspondent enfin à l'estuaire amont à marée basse et l'estuaire fluvial : un cluster regroupe les échantillons de l'estuaire fluvial, les 2 autres clusters réunissent les échantillons de Fatouville et Tancarville l'un pour les eaux de surface et l'autre pour les échantillons de fond.

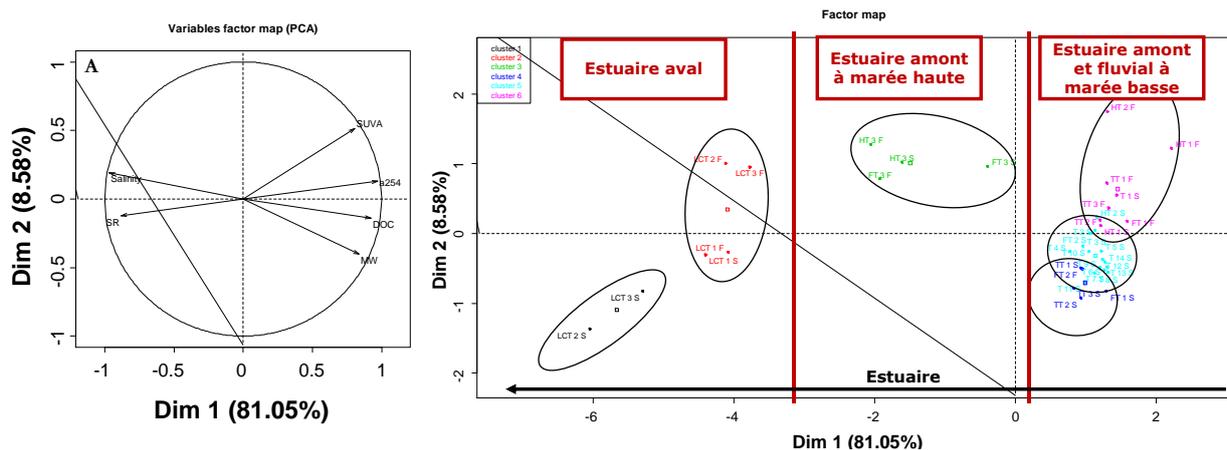


Figure 19. Analyse en Composantes Principales des données optiques (UV-Visible), AF4 et mesures COD pour l'ensemble des échantillons prélevés en avril 2016

Cette analyse montre l'intérêt de prendre en compte la MM pour étudier la dynamique de la MOD et a mis en évidence la variabilité et le caractère hétérogène de ses caractéristiques (variations spatiales des propriétés de la MOD, différences entre eaux de surface et de fond, différences en fonction de la marée).

Principales conclusions :

- ✓ Les propriétés (optiques et taille) de la MOD ont montré des différences significatives dans les caractéristiques de la MOD et une forte variabilité :
 - spatiale le long de l'estuaire
 - au cours des cycles de marée
 - dans la colonne d'eau
- ✓ La MOD est caractéristique d'apports terrigènes mais aussi d'une activité biologique relativement élevée.
- ✓ Dans l'estuaire de Seine, la MOD change donc de taille, de nature et de type entre l'amont (MOD plus allochtone) et l'aval (MOD plus autochtone), de façon non linéaire, ce qui traduit une production et/ou la transformation de MOD dans l'estuaire.
- ✓ Cette variabilité traduit l'hétérogénéité des constituants de la MOD, de ses sources et des processus de transformation dans l'estuaire.

Les techniques de caractérisation globale de la MOD (optiques et taille) apparaissent comme de bons outils pour discriminer les différentes sources et la dynamique de la MOD.

2.1.2.6 Variations saisonnières

L'investigation des variations saisonnières par comparaison des résultats des différentes campagnes de prélèvement est présentée dans cette partie en se focalisant notamment sur les échantillons de septembre 2015 et d'avril 2016.

La détermination de la MM par AF4 a montré de fortes variations de la taille des molécules (Fig. 20). Ces résultats montrent à nouveau une diminution de la taille des constituants de la MOD en allant vers l'aval pour les 2 périodes considérées et des masses moléculaires globalement plus élevées en avril 2016 qu'en septembre 2015 (Fig. 20 A et B). Une plus forte variabilité de la MM est observée en avril 2016 (Fig. 20B et C) pour Fatouville et Honfleur pour les eaux de surface notamment et de fond également. Cette variabilité peut s'expliquer par le fait que ces deux sites sont soumis aux plus fortes variations de salinité au cours du cycle de marée qui semblerait donc affecter d'avantage la taille moyenne des constituants de la MOD dans les eaux de surface. Cependant en septembre 2015 (Fig. 20A) la variabilité de la MM est bien moindre et plutôt au niveau de Tancarville et Fatouville (Fig. 20A et C). Les variations de salinité ne suffisent donc pas à expliquer les variations de taille observées qui sont très certainement en lien avec la présence du bouchon vaseux, sur Tancarville/Fatouville en septembre 2015 et Fatouville/Honfleur en avril 2016, et avec une plus grande hétérogénéité des composants de la MOD dans la colonne d'eau en avril 2016 pour Fatouville et Honfleur notamment (Fig. 20C).

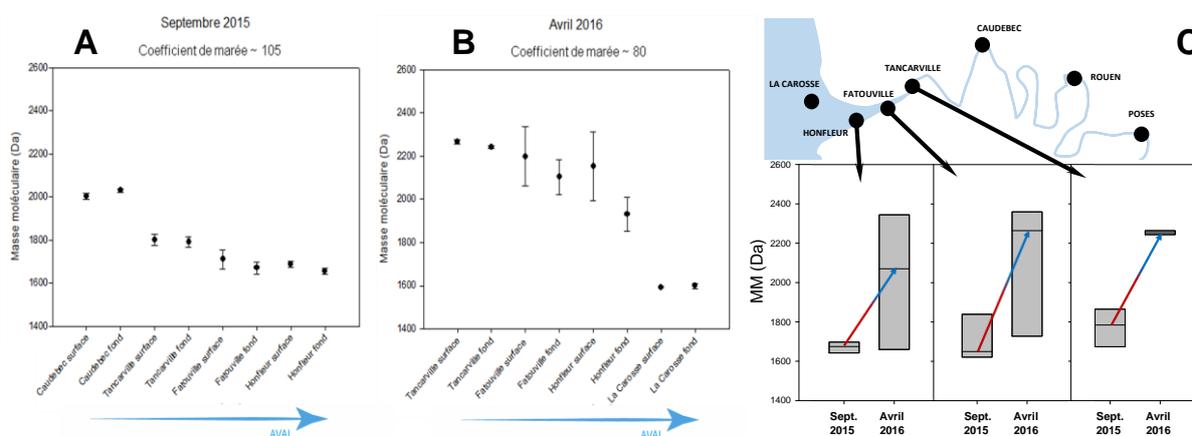


Figure 20. Comparaison des masses moléculaires moyennes(A) le long de l'estuaire en septembre 2015 (B) en avril 2016 (C) entre septembre 2015 et avril 2016 pour les sites de Honfleur, Fatouville et Tancarville

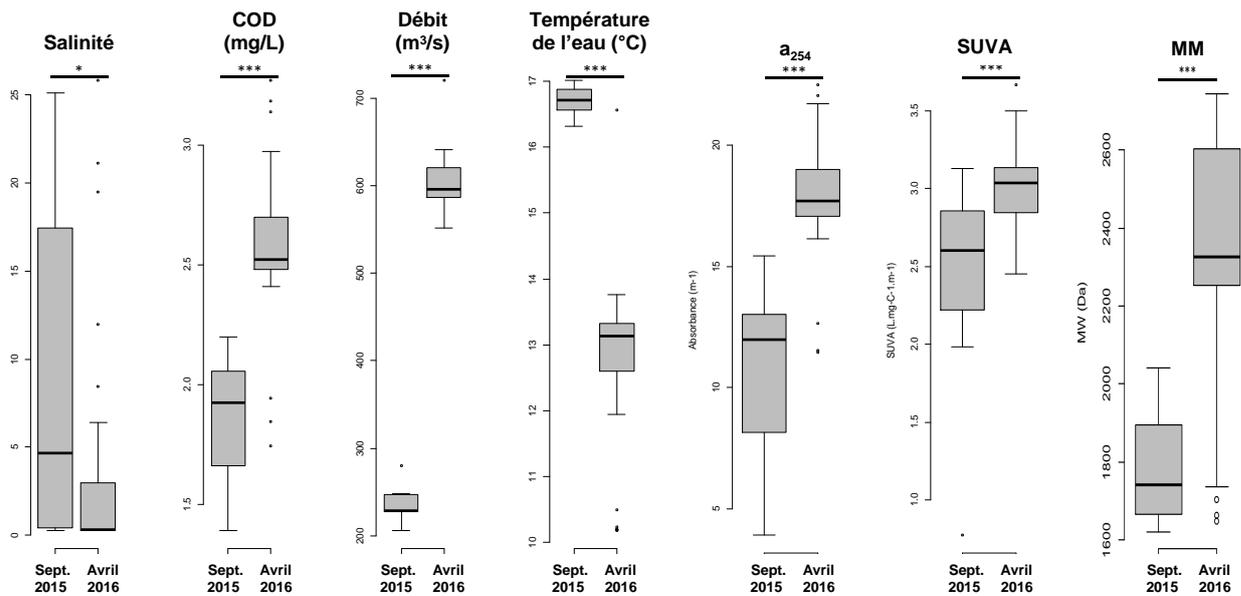


Figure 21. Comparaison des paramètres environnementaux, d'absorbance et de MM entre septembre 2015 et avril 2016

Septembre 2015 est caractérisé par de fortes variations de salinité, de faibles débits et teneurs en COD et de fortes températures de l'eau alors qu'en avril 2016 les variations de salinité et de la température de l'eau sont plus faibles et les débits et teneurs en COD plus élevés (Fig. 21). Les indices d'absorbance $SUVA_{254}$ et a_{254} sont plus faibles en septembre 2015 qu'en avril 2016, en accord avec les teneurs en COD, alors que la pente $S_{275-295}$ présente des valeurs significativement plus fortes en septembre 2015. Ces résultats traduisent une prédominance des apports terrigènes en avril 2016 en lien avec les forts débits et les faibles températures de l'eau et en accord avec les plus fortes MM, alors que les conditions de septembre 2015 (faibles débits, température de l'eau élevée) sont propices à la production primaire, aux apports autochtones et à la transformation de la MOD.

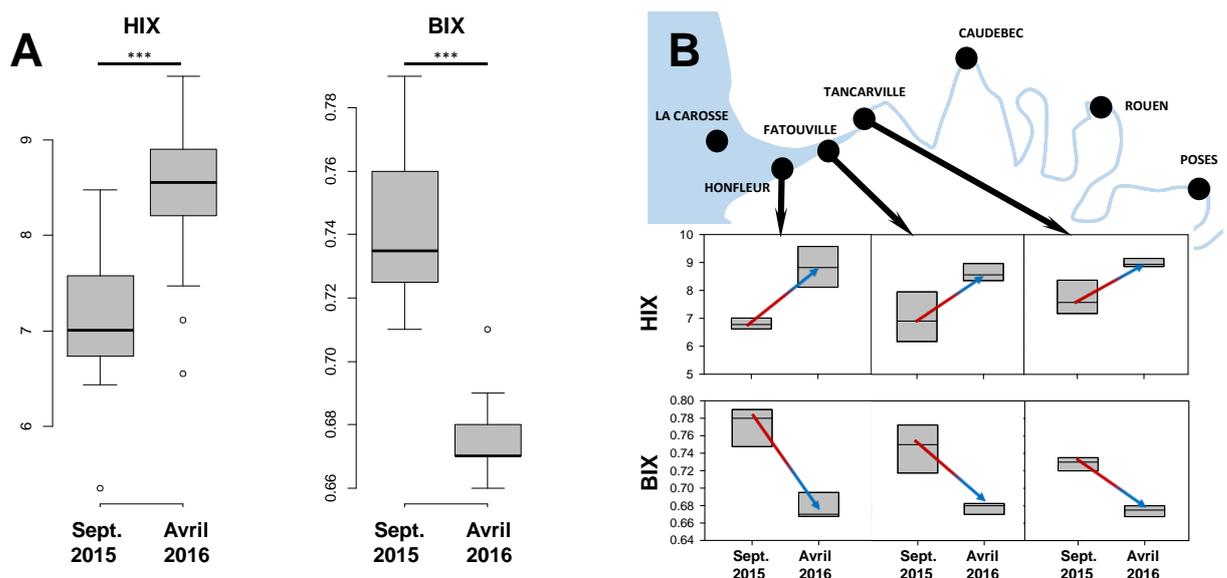


Figure 22. Variations des indices HIX et BIX (A) entre septembre 2015 et avril 2016 pour l'ensemble des sites (B) pour Honfleur, Fatouville et Tancarville

La Figure 22 montre des valeurs significativement plus faibles pour HIX et plus fortes pour BIX en septembre 2015 par rapport à avril 2016 confirmant les plus forts apports terrigènes et une activité biologique réduite en avril 2016. Il faut noter à nouveau les faibles amplitudes de variations de ces indices en estuaire de Seine en comparaison avec d'autres estuaires pour lesquels des valeurs de HIX entre 5 et 14 et de BIX entre 0.5 et 1 ont été rapportées (Couturier et al., 2016 ; Huguet et al., 2009 ; Yang et al., 2015).

L'ensemble des résultats des données optiques (absorbance et fluorescence) et de masse moléculaire suggèrent que la MOD dans la Seine en période estivale est fortement influencée par la production autochtone, les apports des eaux marines et les processus de transformation alors que les apports terrigènes, associés aux forts débits, sont prépondérants en hiver/début de printemps (Bittar et al., 2016 ; Jaffé et al., 2008).

Dans un spectre EEM de fluorescence de MOD, les pics se superposent et ont des influences les uns sur les autres. Afin d'extraire plus d'informations des spectres de fluorescence EEM, une méthode numérique de traitement des spectres a été développée et permet une séparation mathématique des différentes contributions spectrales. Cette approche statistique de modélisation nommée PARAFAC (PARAllel FACtors analysis) est devenue incontournable pour traiter les spectres tridimensionnels de MOD en milieux naturels (Stedmon et al., 2003, 2008 ; Chen et al., 2013 ; Guo et al., 2011 ; Osburn et al., 2016).

Les matrices d'excitation et d'émission de fluorescence de l'ensemble des échantillons des campagnes de septembre 2015 et avril 2016 ont été traitées par PARAFAC. Un modèle à 6 composants (Figure 23A) a ainsi pu être déterminé et validé, expliquant 99,8 % de la variabilité du jeu de données. Les 6 composants ont été comparés à la base de données « OpenFluor database » (<http://www.openfluor.org/>) (Murphy et al., 2013).

Les deux premiers composants (C1 et C2), qui contribuent à la fluorescence des bandes α' et α , correspondent à du matériel d'origine majoritairement terrigène communément trouvés dans des eaux douces et estuariennes et généralement associés à des masses moléculaires élevées et du matériel aromatique d'origine terrestre (Stedmon and Markager, 2005 ; Yamashita et al., 2013). Le troisième et le quatrième composants (C3 et C4) sont attribués à de la MOD de type protéique (C4 assimilable à γ) et/ou fraîchement produite dans le milieu d'origine microbienne ou bactérienne (Catalá et al., 2016 ; Fellman et al., 2008). C3 est assimilable à la bande β . Le cinquième composant (C5) pourrait correspondre à de la MOD anthropique issue d'effluents (Cawley et al., 2012). Le sixième composant (C6) contribue à la bande de fluorescence α' et a déjà été détecté dans des environnements continentaux et côtiers et attribué à du matériel d'origine terrigène et/ou dégradé photochimiquement (Cawley et al., 2012 ; Stedmon and Markager, 2005).



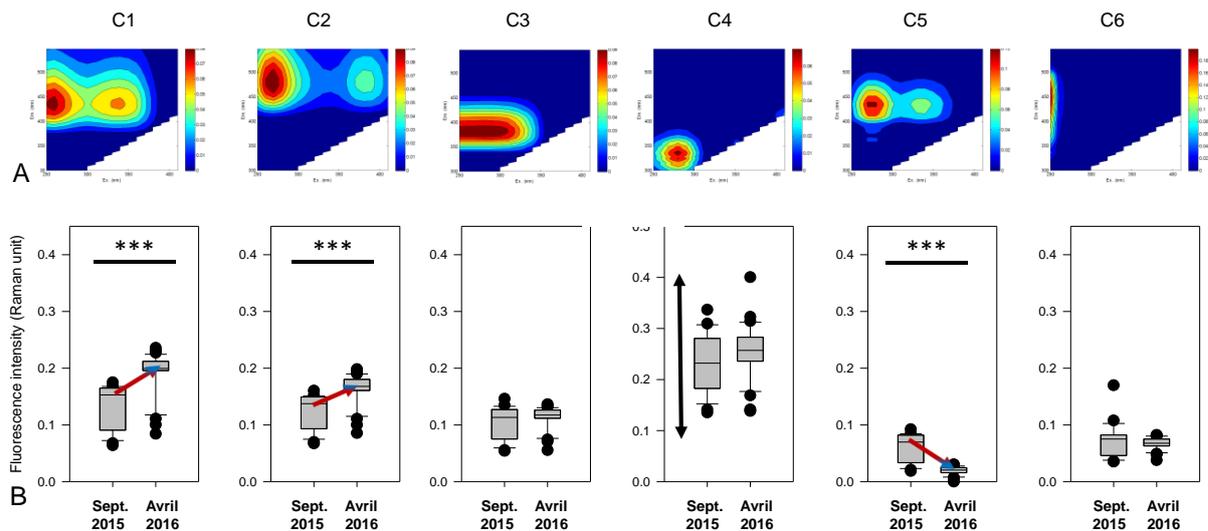


Figure 23. A) Composants déterminés par PARAFAC - B) Distribution de ces 6 composants en septembre 2015 et avril 2016

Les comparaisons des distributions de ces composants entre septembre 2015 et avril 2016 (Fig. 23B) montrent des différences significatives pour C1 et C2, avec une augmentation des concentrations en avril 2016, et pour C5 observé majoritairement en septembre 2015 en raison des plus faibles débits et apports terrigènes à cette période (Parot, 2016). Les composants C3, C4 et C6 ne montrent pas de différences significatives entre les deux périodes de l'année. C3 pourrait donc être produit par dégradation microbienne ou bactérienne des composants d'origine terrigène C1 et C2 (Jørgensen et al., 2011 ; Lambert et al., 2016 ; Parot, 2016). Le composant C4, associé à des substances de type protéique, ne montre pas de variations saisonnières ce qui laisse envisager deux sources différentes pour ce composant : allochtone anthropique et autochtone par dégradation microbienne (Lambert et al., 2016 ; Stedmon and Markager, 2005).

Principales conclusions :

L'étude des caractéristiques de la MOD a montré des variations saisonnières.

- ✓ **L'hiver/début de printemps est caractérisé par de forts apports fluviaux (liés au débit de la Seine) avec des eaux plus chaudes que dans l'estuaire → sources allochtones majoritaires de la MOD (matériel aromatique, masses moléculaires élevées). Deux principaux facteurs influencent les caractéristiques de la MOD à cette période :**
 - le mélange des eaux douces et marines
 - la température de l'eau notamment en ce qui concerne les apports liés à l'activité biologique
- ✓ **La période estivale, caractérisée par de faibles débits de la Seine, est propice à une MOD moins soumise aux apports fluviaux mais fortement influencée par la production autochtone, les apports des eaux marines et les processus de transformation.**
- ✓ **De potentiels apports anthropiques (effluents) ont été mis en évidence pendant cette période. Ils sont également présents en période hivernale mais masqués par les apports fluviaux de MOD.**



2.1.3 Synthèse des résultats obtenus sur la dynamique de la MO

L'ensemble des résultats obtenus au cours du projet MOSAIC nous conduisent à proposer un schéma de synthèse de la dynamique de la MO sous ses différentes formes dans l'estuaire de Seine (Figure 24).

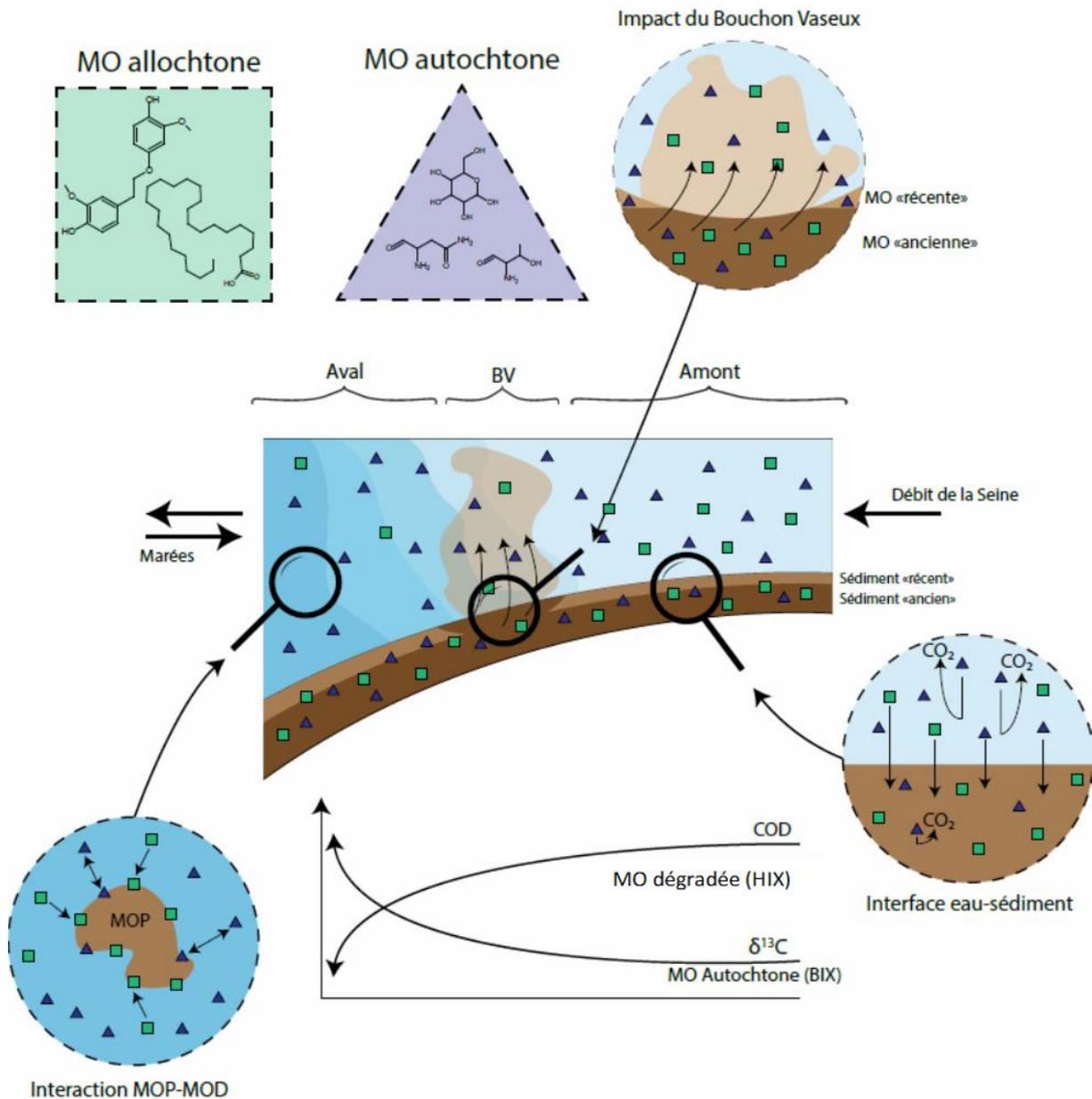


Figure 24. Schéma de synthèse illustrant la dynamique de la matière organique sous ses différentes formes (dissoute, particulaire et sédimentaire) dans l'estuaire de Seine et variation des principaux descripteurs globaux associés.



Les principales informations à retenir du schéma ci-dessus sont les suivantes :

- ✓ **La MO est principalement d'origine autochtone (i.e. produite *in situ*) dans l'estuaire de Seine.**
- ✓ **La proportion de MO allochtone (i.e. terrigène) diminue de l'amont vers l'aval de l'estuaire.**
- ✓ **Le mélange des masses d'eaux douces et marines contrôle la teneur et la composition de la MO estuarienne. La MO, en particulier dissoute, subit des transformations non-linéaires (taille, nature, degré de dégradation) le long de l'estuaire.**
- ✓ **Les différents compartiments de la MO (MO dissoute, particulaire et sédimentaire) sont en constante interaction. Chaque pool de MO présente des caractéristiques spécifiques, la MO sédimentaire est globalement plus ancienne que la MO dissoute et particulaire, d'âge récent.**
- ✓ **Dans le bouchon vaseux, l'âge et la composition de la MO sédimentaire sont fortement dépendants des conditions hydrodynamiques. En présence de marées de faibles amplitudes, la MO particulaire, récente, se dépose au fond de la colonne d'eau. A l'inverse, de forts coefficients de marée conduisent à une remise en suspension du sédiment fraîchement déposé et peu dégradé dans la colonne d'eau et laissent en surface un matériel plus dégradé et ancien.**

Plusieurs descripteurs « clefs » des caractéristiques de la MO ont été utilisés au cours du projet. Certains peuvent être appliqués à l'ensemble des compartiments (Tableau 4), d'autres uniquement à la phase dissoute colloïdale (Tableau 5). Tous ces descripteurs ne peuvent être utilisés en routine de par le coût analytique associé et le temps nécessaire pour la préparation des échantillons. Un suivi pérenne des caractéristiques de la MO pourrait être effectué à partir d'analyses élémentaires, isotopiques et spectroscopiques (UV-Visible et fluorescence 3D).



Particulaire, dissous et sédiment					
Méthode	Nom complet	Abréviation	Calcul	Description	Références
Analyse élémentaire et isotopique	Rapport atomique entre le Carbone organique et l'Azote total	C_{org}/N	Proportion du Carbone organique divisée par la proportion en Azote total	Estimation des sources et du degré de dégradation de la MO. Une augmentation de ce rapport indique la présence d'une MO plus terrigène et/ou plus dégradée alors qu'une diminution correspond à une MO plus autochtone et plus fraîche	Thornton et McManus 1994, Meyers 1994
	Signature isotopique du ^{13}C	$\delta^{13}C$	$\delta^{13}C = ((^{13}C/[^{12}C \text{ échantillon}]) / (^{13}C/[^{12}C \text{ standard}]) - 1) \times 1000$	Le $\delta^{13}C$ de la MO augmente lors du mélange de la MO continentale (-30‰) avec de la MO marine (entre -21 et -18‰). Permet également de différencier les plantes en C3 (appauvries en ^{13}C) des plantes en C4 (enrichies en ^{13}C)	Middelburg et Herman 2007
Spéctrométrie de masse par accélération	Age moyen de la MO	Age	Calibration de la teneur en ^{14}C en utilisant les courbes IntCal13 et PostBomb NH1 (pour les échantillons plus récents que 1950). La calibration peut s'effectuer sur le site d'OxCal	Age moyen de l'ensemble des molécules constituant la MO. Un âge récent signifie que la majorité des molécules ont été produites récemment, alors qu'un âge ancien montre la présence d'une proportion de MO âgée et dégradé, pouvant provenir des sols ou bien d'une pollution aux hydrocarbures	Marwick et al. 2015, Raymond et Bauer 2001
Résonance magnétique nucléaire du ^{13}C en polarisation croisée avec rotation à l'angle magique en phase solide	Proportion de carbones aliphatiques (CH_3 , CH_2 , CH)	Aliphatique	Aire des pics entre 0 et 50 ppm	Indique l'abondance relative en carbone de type aliphatique (CH_3 , CH_2 , CH)	Helms et al. 2015, Abdulla et al. 2010, Mao et al. 2012, Koprivnjak et al. 2009, Sannigrahi et al. 2005
	Proportion de groupements méthoxy (OCH_3)	Méthoxy	Aire du pic à 55 ppm	Atteste de la présence de lignine dans les échantillons en combinaison avec la présence de fonctions phénoliques	
	Proportion de groupements O-Alkyls ($CHOH$, CH_2OH etc...)	O-Alkyls	Aire des pics entre 60 et 90 ppm	Teneur en fonctions O-Alkyls ($CHOH$, CH_2OH etc...) présentes en grande partie dans les carbohydrates	
	Proportion en carbones anomériques	Anomériques	Aire du pic entre 102 et 104 ppm	Atteste de la présence de sucres dans la MO	
	Proportion de carbones aromatiques (protonnés et non protonnés)	Aromatiques	Aire des pics entre 120 et 140 ppm	Une augmentation de la teneur en fonctions aromatiques indique une plus forte proportion de MO terrigène et/ou dégradée	
	Proportion de groupements phénoliques	Phénoliques	Aire du pic à 155 ppm	Atteste de la présence de lignine dans les échantillons en combinaison avec la présence de fonctions méthoxy	
	Proportion de groupements carboxyliques, ester et amides	Carboxyliques	Aire du pic à 174 ppm	Abondance relative en groupements carboxyliques, ester et amides	
	Modèle de mélange moléculaire	MMM	Application d'un modèle transformant le spectre RMN en mélange de 5 constituants de la MO	Estimation des abondances relatives des différents constituants de la MO des échantillons : Lipides, Charbons, Carbohydrates, Protéines et Carbonyls	Baldock et al. 2004

Tableau 4. Principaux descripteurs des caractéristiques de la MO utilisables pour l'ensemble des compartiments.

Dissous					
Méthode	Nom complet	Abréviation	Calcul	Description	Références
Spectroscopie UV-visible	Absorbance spécifique à 254 nm	SUVA254	Abs 254 nm/COD x 100	Indicateur de l'aromaticité et du caractère hydrophobe ou hydrophile de la MOD SUVA254 > 4: MOD hydrophobe avec un caractère aromatique fort ; SUVA254 < 3: MOD hydrophile.	Weishar et al. 2003 Matilainen et al., 2011
	Rapport des pentes spectrales	Sr	Pente spectrale entre 275 et 295 nm divisée par la pente spectrale entre 350 et 400 nm	Estimation du poids moléculaire de la MOD, plus la valeur est forte, plus le poids moléculaire de la MOD est faible Sr > 1 pour les eaux marines ; Sr < 1 MOD terrestre	Helms et al. 2008
Actionnement flux-force (AF)	Poids moléculaire	MW	Calibration avec des molécules de références	Mesure plus précise du poids moléculaire de la MOD	Cuss et al. 2012
Fluorescence 3D	Substances de type humique	α	Intensité maximale pour les longueurs d'ondes d'excitation 350-370 nm et d'émission 420-480 nm	Substances de type humique	Parlanti et al. 2000
	Substances de type humique et matériel récent	α'	Intensité maximale pour les longueurs d'ondes d'excitation 230-260 nm et d'émission 380-480 nm	Substances de type humique et matériel récent	Parlanti et al. 2000
	Matériel biologique récent	β	Intensité maximale pour les longueurs d'ondes d'excitation 310-320 nm et d'émission 460-410 nm	Matériel biologique récent	Parlanti et al. 2000
	Protéines et activité microbienne	γ	Intensité maximale pour les longueurs d'ondes d'excitation 270-280 nm et d'émission 300-320 nm	Protéines et activité microbienne	Parlanti et al. 2000
	Rapport de pic α'/α	α'/α	Rapport de l'intensité du pic α' sur le pic α	Indicateur de la proportion de substances humiques récentes par rapport aux substances humiques. Augmente avec le caractère récent de la MOD	Huguet et al. 2009
	Rapport de pic β/α	β/α	Rapport de l'intensité du pic β sur le pic α	Indicateur du caractère autochtone de la MOD. Augmente avec la MO d'origine autochtone	Parlanti et al. 2000
	Rapport de pic γ/α	γ/α	Rapport de l'intensité du pic γ sur le pic α	Indicateur de la proportion de MOD de type protéique par rapport à la MOD humique. Augmente avec la MO autochtone et la productivité dans l'environnement	Huguet et al. 2009
	Indice d'humification de la MOD	HIX	Rapport de l'aire de l'émission 435-480 nm sur l'aire de l'émission 300-345 nm pour une excitation de 250 nm	Estimation du degré d'aromaticité et d'humification de la MOD. De fortes valeurs indiquent la présence de MOD dégradée alors que des valeurs faibles indiquent une MOD plus récente et moins aromatique. HIX > 12: caractère humique fort - apports terrigènes importants ; HIX < 4: origine biologique ou bactérienne aquatique	Ohno et al. 2002 Vacher 2004
	Indice de production biologique de la MOD	BIX	Rapport de l'intensité à une émission de 380 nm sur l'émission à 430 nm pour une excitation de 250 nm	Estimation de la production de MOD autochtone et la présence de MOD fraîchement produite. Augmente avec la production biologique. BIX > 1: origine biologique ou bactérienne aquatique ; BIX < 0.5: faible activité biologique	Vacher 2004 Huguet et al. 2009
	Indice de fluorescence	FI	Rapport de l'intensité à une émission de 450 nm sur l'émission à 500 nm pour une excitation de 370 nm	Estimation des sources de la MOD, des valeurs fortes (>1.9) indiquent une MOD microbienne, alors que des valeurs faibles (<1.3) indiquent une MOD terrestre	Mc Knight et al. 2001
Parallel Factor Analysis	PARAFAC	Analyse statistique multivariée des spectres de fluorescence 3D qui permet de déconvoluer les spectres en n composantes	Permet de déterminer les différents constituants de la MOD fluorescente ainsi que leurs sources (allochtone, anthropique, autochtone etc...)	Stedmon et Markager 2005, Stedmon 2008	

Tableau 5. Principaux descripteurs des caractéristiques de la MO dissoute



2.2 Tâche Dynamique des contaminants

Ce volet du projet s'est intéressé en premier lieu à caractériser de manière globale, la contamination de l'estuaire par deux classes emblématiques des milieux fortement anthropisés : les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les composés pharmaceutiques. En effet, différents projets Seine Aval ont montré la présence des contaminants en estuaire de Seine (Budzinski et al., 2014 ; Cailleaud et al., 2007 ; Togola, 2006). La contamination par ces composés organiques a été étudiée dans différents compartiments (dissous, particulaire, sédiment) de Rouen à La Carosse. Dans cette partie, l'étude s'est focalisée sur la partition des contaminants dans la colonne d'eau dans des zones où différents paramètres environnementaux sont très variables (salinité, turbidité). Dans un deuxième temps, la dynamique de la contamination a été étudiée à deux échelles temporelles afin de mettre en avant de potentielles variations en fonction des saisons, mais aussi au cours d'une même journée dans les zones de balancement des marées. L'objectif final était de pouvoir croiser les données de dynamique des contaminants avec celle de la matière organique.

2.2.1 Descriptif et choix des molécules

2.2.1.1 Les hydrocarbures aromatiques

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont des molécules organiques ubiquistes constitués par plusieurs cycles benzéniques. On distingue les HAP légers (naphtalène, anthracène) des HAP lourds (benzo(a)pyrène, benzo(g,h,i)pérylène) notamment par le nombre de cycles aromatiques qui influe sur leurs propriétés physico-chimiques (Figure 25) et donc sur leur devenir dans l'environnement.

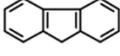
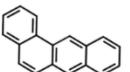
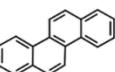
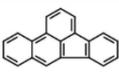
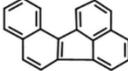
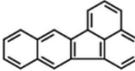
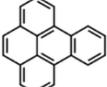
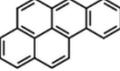
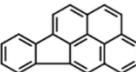
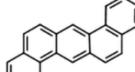
						
Molécule	Naphtalène	Acénaphthylène	Acénaphtène	Fluorène	Phénanthrène	Anthracène
Masse molaire	128,20	152,20	154,20	166,20	178,20	178,20
Log Kow	3,37	4,06	3,92	4,18	4,50	4,45
						
Molécule	Fluoranthène*	Pyrène	Benzo(a)anthracène	Chrysène	Triphénylène	Benzo(b)fluoranthène**
Masse molaire	202,30	202,30	228,30	228,20	228,30	252,30
Log Kow	5,20	4,88	5,70	5,61	5,49	6,50
						
Molécule	Benzo(j)fluoranthène	Benzo(k)fluoranthène**	Benzo(e)pyrène	Benzo(a)pyrène**	Pérylène	
Masse molaire	252,30	252,30	252,30	252,30	252,30	
Log Kow	6,1	6,80	7,40	6,31	6,63	
						
Molécule	Indéno(1,2-c,d)pyrène**	Dibenzo(a+h)anthracène	Benzo(g,h,i)pérylène**			
Masse molaire	276,30	278,40	252,30			
Log Kow	6,7	6,50	7,20			
						* Substance prioritaire DCE ** Substance dangereuse prioritaire DCE

Figure 25. Liste des HAP étudiés (masse molaire en g/mol et log Kow : sans unité).

Ces molécules sont notamment caractérisées comme des molécules stables et plutôt hydrophobes. Leur formation est naturelle ou anthropique et peut être subdivisée en trois sources : pyrolytique (combustion de matières organiques), pétrogénique (bruts pétroliers et dérivés) et diagénétique (formation naturelle pétrole). Cette famille de composés est notamment prise en compte dans la directive cadre sur l'eau (DCE) et fait partie des molécules les plus déclassantes de l'état chimique des masses d'eau. Parmi cette vaste famille chimique, sept molécules sont incluses dans le cadre de la surveillance chimique comme substances prioritaires (naphtalène, anthracène, fluoranthène) ou dangereuses (benzo[a]pyrène, benzo[b]fluoranthène, benzo[k]fluoranthène, benzo[g,h,i]pérylène, Indéno[1,2-c,d]pyrène).

2.2.1.2 Les composés pharmaceutiques

Les composés pharmaceutiques font partie des molécules dites d'intérêts émergents dont le comportement dans les masses d'eau est encore peu renseigné. Ces molécules sont particulièrement préoccupantes du fait de leur consommation importante mais aussi du fait de leur activité biologique. Les différentes phases Seine Aval (2, 3, 4) ont, d'ores et déjà, démontré la présence de ces molécules dans l'estuaire de Seine (Togola, 2006).

Un premier état des lieux a été réalisé sur la phase dissoute d'échantillons prélevés lors des campagnes DYNAMOSEINE LEG 1 et 2 de 2015. Cette étude préliminaire a permis de sélectionner les molécules majoritairement retrouvées en estuaire de Seine. Ainsi, un screening sur 53 composés pharmaceutiques a été réalisé sur un panel d'échantillons, permettant d'identifier 8 molécules « traceurs » (Figure 26), considérées comme représentatives de l'ensemble des composés (80 % de l'abondance relative). Cette liste regroupe 2 bêtabloquants (aténolol et sotalol), 2 antiépileptiques (carbamazépine et gabapentine), 1 anxiolytique (oxazépam), et 3 anti-inflammatoires non stéroïdien (diclofénac, ibuprofène et son métabolite le 2-hydroxy ibuprofène).

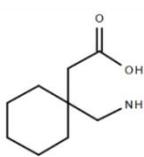
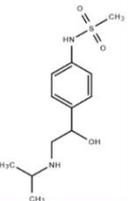
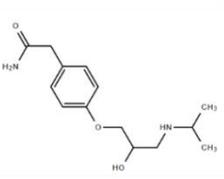
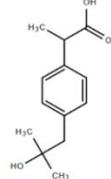
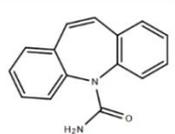
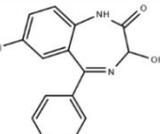
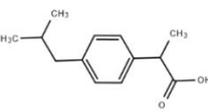
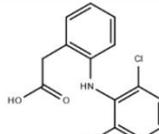
				
Molécule	Gabapentine	Sotalol	Aténolol	2-hydroxy-ibuprofène
Masse molaire	171,24	272,36	266,34	222,28
Log Kow	-1,3	-0,4	0,43	2,37
LogD (pH 7)*	-1,2	-2,4	-2	0,1
				
Molécule	Carbamazépine	Oxazépam	Ibuprofène	Diclofénac
Masse molaire	236,27	286,71	206,28	296,15
Log Kow	2,77	2,92	3,84	4,26
LogD (pH 7)*	2,9	2,9	1,6	1,4

Figure 26. Liste des composés pharmaceutiques étudiés (masse molaire en g/mol et log Kow : sans unité, logD à pH 7 prédit par ChemAxon).

2.2.1.3 Echantillons et méthodes analytiques

Les études se sont focalisées sur les échantillons prélevés lors des campagnes DYNAMOSEINE 1 et 2. En premier lieu, l'ensemble des composés ont été recherchés de Rouen à La Carosse dans 3 compartiments : phase dissoute (<0,7 µm), phase particulaire (>0,7 µm) et sédiments. L'objectif était dans un premier temps d'évaluer la répartition de ces contaminants dans la colonne d'eau et le sédiment, puis dans un deuxième temps de comprendre leurs interactions avec la MO dans ces compartiments. En deuxième lieu, la variabilité de la dynamique de la contamination a été étudiée au cours du cycle de marée au niveau des sites de Caudebec, Tancarville, Fatouville et Honfleur. Pour chaque site, 3 temps de marée (pleine mer, basse mer et jusant) à 3 profondeurs différentes ont été analysés.

	DISSOUS	PARTICULAIRE	SEDIMENTS
HAP	<ul style="list-style-type: none"> ■ Extraction SPME ■ Volume : 10 ml ■ Analyse en CG-SM 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Extraction MAE (100 % DCM) ■ Prise d'essai : 0,1-0,3 g ■ Purification CL sur colonne ouverte alumine-silice ■ Analyse en CG-SM 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Extraction MAE (100 % DCM) ■ Prise d'essai : 2-3 g ■ Purification CL sur colonne ouverte alumine-silice ■ Analyse en CG-SM
Pharmaceutiques	<ul style="list-style-type: none"> ■ Injection directe ■ Analyse en CL-SM/SM 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Extraction MAE ■ Prise d'essai : 0,1-0,3 g ■ Purification SPE ■ Analyse en CL-SM/SM 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Extraction MAE ■ Prise d'essai : 2-3 g ■ Purification SPE ■ Analyse en CL-SM/SM

Tableau 6. Récapitulatif des méthodes analytiques employées pour caractériser la contamination au niveau du sédiment, de la phase dissoute et de la phase particulaire.

Un récapitulatif des analyses effectuées est présenté dans le tableau 6. Pour l'analyse de la phase dissoute, les HAP ont été extraits par micro extraction sur phase solide (SPME) suivi d'une séparation et analyse en chromatographie gazeuse couplée à de la spectrométrie de masse (GC-SM). Du fait du nombre important d'eaux échantillonnées dans le cadre de l'étude des cycles de marée, des méthodes à haut débit (injection directe) ont été développées. Ainsi, les analyses des 8 composés pharmaceutiques en phase dissoute ont été réalisées en injection directe et chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (CL-SM/SM). Les 8 molécules ont ainsi été analysées par 4 protocoles analytiques dans le but d'obtenir les meilleures performances analytiques. L'extraction des HAP et des composés pharmaceutiques a été réalisé par micro-ondes (MAE) sur les particules et sédiments préalablement lyophilisés (prise d'essai : 2-3 g pour le sédiment et 0.1-0.3 g pour les particules). Après purification, les composés ont été analysés en CG-SM pour les HAP et CL-SM/SM pour les composés pharmaceutiques.

	MOLECULES	ETALON INTERNE	SEDIMENTS		DISSOUS
			PARTICULES ng/g	ng/g	
HAP	Naphtalène	Naphtalène-d8	0,5	10	9
	Acénaphthylène	Acénaphthylène-d8	0,5	1	0,5
	Acénaphthène	Acénaphthène-d10	0,2	1	0,3
	Fluorène	Fluorène-d10	0,2	1	0,5
	Phénanthrène	Phénanthrène-d10	2	30	1
	Anthracène	Anthracène-d10	0,4	10	0,2
	Fluoranthène	Fluoranthène-d10	0,6	15	0,3
	Pyrène	Fluoranthène-d10	0,5	15	0,2
	Benzo(a)anthracène	Benzo(a)anthracène-d12	0,1	0,5	0,2
	Triphénylène + Chrysène	Chrysène-d12	0,1	0,5	0,2
	Benzo(b+j+k)fluoranthène	Benzo(k)fluoranthène-d12	0,1	0,5	0,7
	Benzo(e)pyrène	Benzo(e)pyrène-d12	0,1	0,5	0,7
	Benzo(a)pyrène	Benzo(a)pyrène-d12	0,1	0,5	0,7
	Pérylène	Benzo(e)pyrène-d12	0,1	0,5	0,7
	Indéno(1,2-c,d)pyrène	Indéno(1,2-c,d)pyrène-d12	0,1	1	0,5
	Dibenzo(ac + ah)anthracène	Dibenzo(ac)anthracène-d14	0,1	1	0,5
Benzo(g,h,i)pérylène	Benzo(g,h,i)pérylène-d12	0,1	1	0,5	
Pharmaceutiques	Aténolol	Aténolol d7	4	4	1
	Carbamazépine	Carbamazépine d10	0,3	0,3	1
	Gabapentine	Gabapentine d4	7	7	1
	Oxazépam	Oxazépam d5	0,3	0,3	1
	Sotalol	Sotalol d7	2	2	1
	Diclofénac	Diclofénac d4	1	1	1
	Hydroxy-ibuprofène	Hydroxy-ibuprofène d6	9	9	4
	Ibuprofène	Ibuprofène d3	1	1	1

Tableau 7. Récapitulatif des limites de quantification de l'ensemble des molécules ciblées dans les 3 matrices : sédiment, phases dissoute et particulaire. Ces limites sont données en ng/l dans la phase dissoute et en ng/g dans la phase particulaire.

Excepté pour le naphtalène et l'hydroxy-ibuprofène, les limites de quantification sont inférieures à 1 ng/l dans la phase dissoute (Tableau 7). Dans le sédiment, les limites de quantification oscillent entre 0,1 et 9 ng/g alors qu'elles varient entre 0,3 et 30 ng/g pour les particules (Tableau7).

2.2.2 Etat des lieux de la contamination et partition le long de l'estuaire de Seine

2.2.2.1 Contamination par les HAP

Dans la phase dissoute, la somme totale des HAPs varie entre 15 et 74 ng/l avec des concentrations maximales au niveau de Fatouville (Figure 27A). Globalement, la contamination en HAP au cours des années est assez variable. En effet, des valeurs similaires ont déjà été retrouvées (4-36 ng/l) dans une étude au niveau de l'estuaire de Seine réalisée en 1997 (Fernandes et al., 1997). Les concentrations adsorbées sur la phase

particulaire diminuent d'un facteur 10 le long du transect, passant de 4720 ng/g à 416 ng/g de poids sec. Les niveaux de contaminants retrouvés sont comparables à ceux qui avaient été recensés par Cailleaud et al. 2009. Dans le sédiment, les concentrations les plus importantes ont été retrouvées au niveau de Rouen (0,59 µg/g), cependant aucun gradient amont-aval n'a pu être clairement défini, ce qui est cohérent avec les données acquises lors de projets antérieurs. mais également avec les concentrations retrouvées dans l'estuaire de la Gironde (Budzinski et al., 1997). Les concentrations en HAP dans les sédiments sont corrélées aux teneurs en carbone organique, comme observé dans d'autres estuaires (e.g. Jiao et al., 2012 ; Wang et al., 2014).

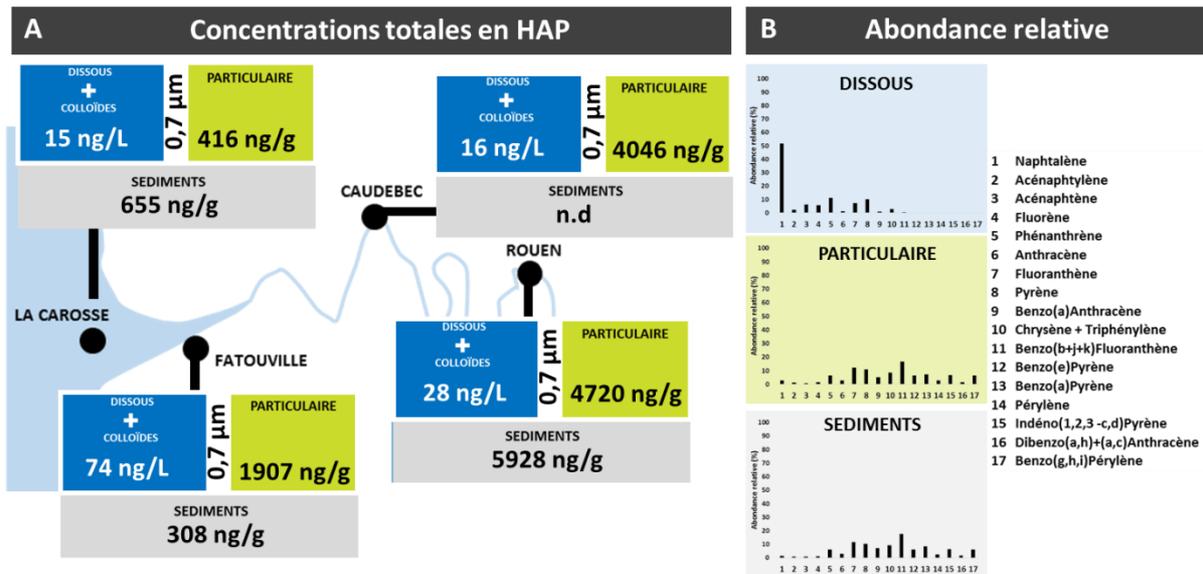


Figure 27. Synthèse des concentrations (A) et abondance relative (B) en HAP recherchés dans le sédiment et dans les phases dissoute et particulaire. (<LQ : inférieur à la limite de quantification, nd : non déterminé). Les résultats synthétisent les données obtenues durant la campagne d'avril 2016.

2.2.2.2 Contamination par les composés pharmaceutiques

La présence des composés pharmaceutiques ciblés est peu marquée dans le sédiment. Les composés les plus hydrophobes (carbamazépine, oxazépam, ibuprofène, diclofénac) ont été quantifiés seulement au niveau de Rouen avec une concentration totale de 9 ng/g (Figure 28A). Dans l'ensemble des autres matrices étudiées, les concentrations individuelles des huit composés pharmaceutiques étaient en dessous des limites de quantification.

Les concentrations totales en phase dissoute diminuent peu entre Rouen et Fatouville passant de 409 à 342 ng/l (Figure 28A). Une diminution marquée des concentrations n'a été observée qu'au niveau du point marin, La Carosse. A l'exception du 2-hydroxy-ibuprofène, l'ensemble des composés ont été quantifiés dans la phase particulaire (Figure 28B). Les concentrations individuelles sont en accord avec les données qui avaient été obtenues dans le cadre du projet MEDSEINE (SA4) (Togola, 2006; Togola and Budzinski, 2007) et celles obtenues par le projet CRAPPSE (SA5). La gabapentine est le composé majoritaire et représente plus de 50% de la concentration en phase dissoute mais également en phase particulaire. Elle est en revanche peu retrouvée dans les sédiments. Cette partie apporte des informations complémentaires au projet CRAPPSE, qui s'est intéressé aux composés pharmaceutiques plus en amont de l'estuaire (de Poses à Caudebec-en Caux).

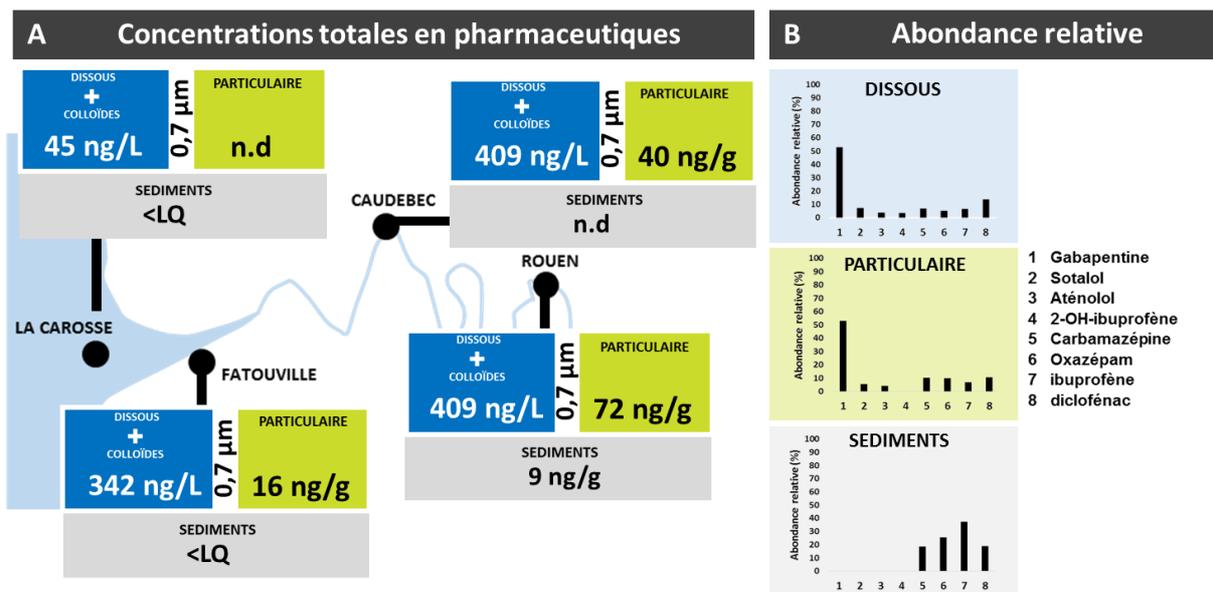


Figure 28. Synthèse des concentrations (A) et abondance relative (B) en pharmaceutiques recherchés dans le sédiment et dans les phases dissoute et particulaire. (<LQ : inférieur à la limite de quantification, nd : non déterminé). Les résultats synthétisent les données obtenues durant la campagne d'avril 2016.

2.2.2.3 Evolution globale des concentrations dans la colonne d'eau et partition

Le devenir des HAP entre les phases dissoute et particulaire de Rouen à La Carosse est présenté en Figure 29A. Globalement, les concentrations au niveau de la colonne d'eau augmentent d'un facteur 4 entre les sites de Caudebec (pk : 310) et Fatouville (pk : 350). Ainsi, le long de cette partie de l'estuaire, les concentrations en HAP dans la colonne d'eau peuvent varier entre 53 et 350 ng/l. Ce résultat est en accord avec les données obtenues entre 2003-2007 au niveau de l'estuaire de Seine (Cailleaud et al., 2009). Ces concentrations sont supérieures à celles observées dans l'estuaire de San Francisco (Ross and Oros, 2004) mais inférieures à celles observés dans le delta de la rivière Pearl (Luo et al., 2004).

La partition est fortement dépendante de la concentration en matière en suspension notamment au niveau de Fatouville. Ainsi dans les zones à fortes concentrations en matière en suspension (pK : 350, Fatouville), la part de HAP portée par les particules peut atteindre 80 %. Le même phénomène a déjà été observé en estuaire de Seine, une corrélation positive entre concentration en matière en suspension et concentration en HAP avait été mise en évidence (Fernandes et al., 1997). Ce phénomène est également associé à une plus forte affinité des HAP pour la phase particulaire concomitante avec l'augmentation de la salinité

Un comportement différent a pu être observé pour les composés pharmaceutiques (Figure 29B). De Rouen à Fatouville les concentrations varient peu, et passent de 409 ng/l à 342 ng/l. Les concentrations quantifiées au niveau de la colonne d'eau sont le reflet des composés présents dans la phase dissoute et colloïdale. En effet, moins de 1% de la contamination en pharmaceutiques étudiés est portée par les matières en suspension. Ce comportement est similaire quelques soient les molécules considérées. Le pourcentage porté par les particules tend à augmenter au niveau de la zone de turbidité pour quelques molécules (oxazépam et hydroxy-ibuprofène) mais n'excèdent pas 4 %. Ce résultat est

cohérent avec différentes études menées dans l'estuaire de la Gironde et East River (New York) (Aminot, 2013; Lara-martín et al., 2014).

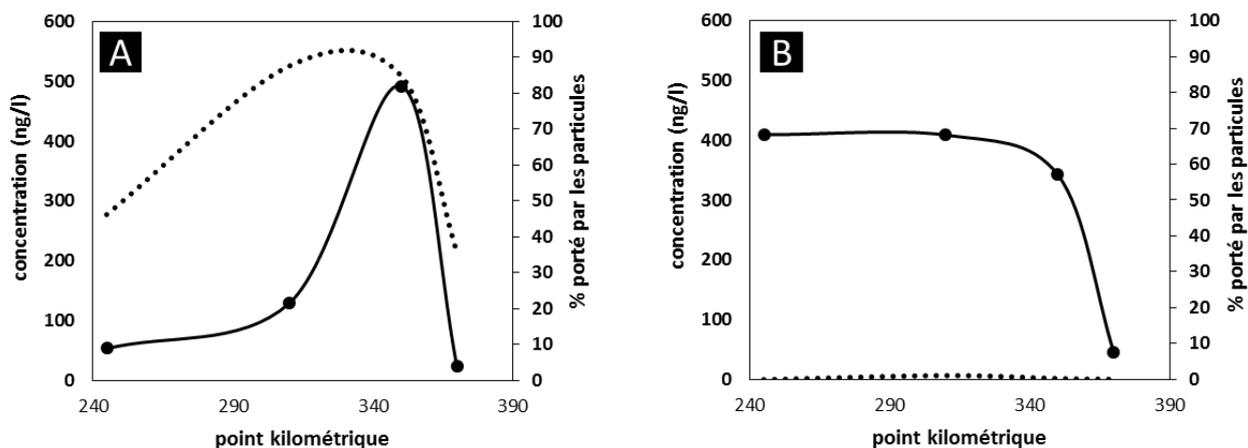


Figure 29. Evolution de la concentration et du pourcentage (pointillés) porté par les particules dans la colonne d'eau (dissous+ particulaire) de Rouen à La Carosse pour : A. Σ HAP et B. Σ pharmaceutiques. Résultats obtenus à partir de la campagne d'avril 2016.

Principales conclusions :

- ✓ Les HAPs se retrouvent tout le long de l'estuaire de Seine dans les 3 matrices étudiées mais avec des profils de contamination différents. En zones fortement turbides, la charge portée par les matières en suspension peut atteindre 80 %.
- ✓ Les composés pharmaceutiques sont retrouvés principalement dans la phase dissoute (99%). Leur présence est faible dans la phase particulaire et n'a pu être quantifiée qu'au niveau de Rouen dans le sédiment.

2.2.3 Variabilités temporelles sur la contamination

La dynamique des pharmaceutiques et HAP a été étudiée à différentes échelles temporelles :

- une première très large dans le but de mettre en avant des tendances saisonnières
- une seconde à l'échelle d'une journée, en point fixe au cours d'un cycle de marée

Une première comparaison de la contamination en HAP a permis de mettre en évidence d'importantes variations des concentrations dans la phase dissoute. A l'inverse, les concentrations adsorbées sur les particules sont relativement stables lors des 3 campagnes effectuées (Figure 30A). Ce constat est le plus marqué au niveau du site de Fatouville, où la somme des HAP atteint 73 ng/l en avril 2016. Ces différences s'expliquent en majorité par les HAP bi et tri -aromatiques tels que le naphthalène, acénaphène, fluorène et phénanthrène (Figure 30B). Une telle variabilité saisonnière des concentrations en HAP dans la colonne d'eau a déjà été observée dans d'autres estuaires (e.g. Rivière des Perles en Chine ; Niu et al., 2018). La teneur en MES et la température de l'eau sont considérés comme des facteurs clefs dans la régulation de la teneur et de la distribution des HAP.

En raison, de leur faible présence durant les campagnes d'avril et septembre 2015, l'étude du comportement des HAP au cours du cycle des marées s'est focalisée sur les

résultats obtenus en avril 2016. La Figure 31A présente l'évolution des concentrations en HAP au cours d'un cycle de marée au niveau des sites de Tancarville, Fatouville et Honfleur. Les variations les plus importantes ont été constatées au niveau de Fatouville où les concentrations oscillent entre 10 et 70 ng/l en quelques heures. Sur ces 3 sites, les concentrations ont varié d'un facteur 1,7 à 4.

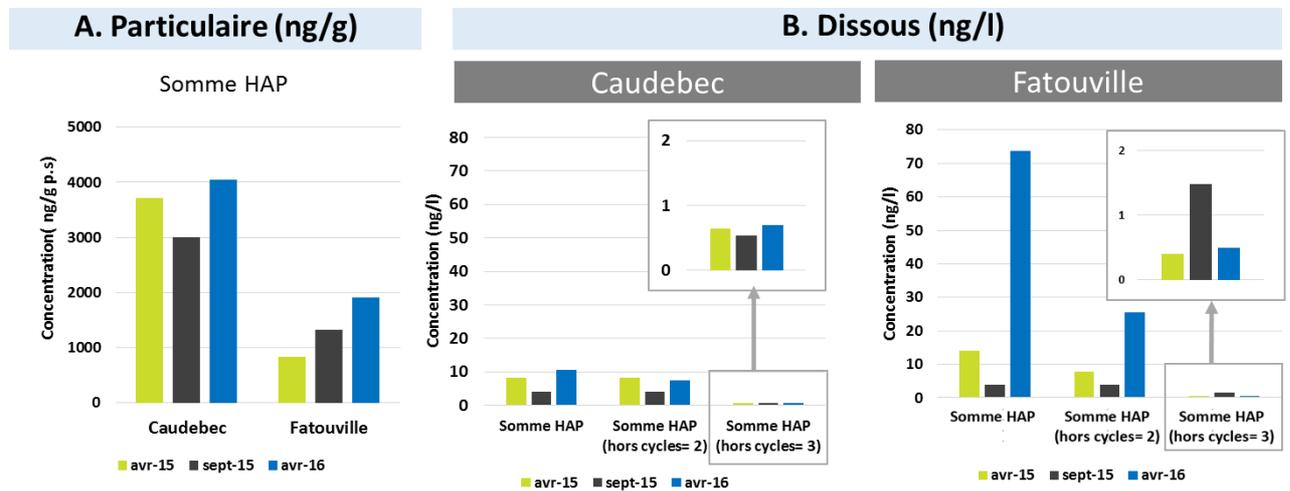


Figure 30 . Comparaison des concentrations en HAP retrouvées au niveau de la phase particulaire (A) et de la phase dissoute (B) lors des différentes campagnes d'échantillonnage au niveau des sites de Caudebec et Fatouville.

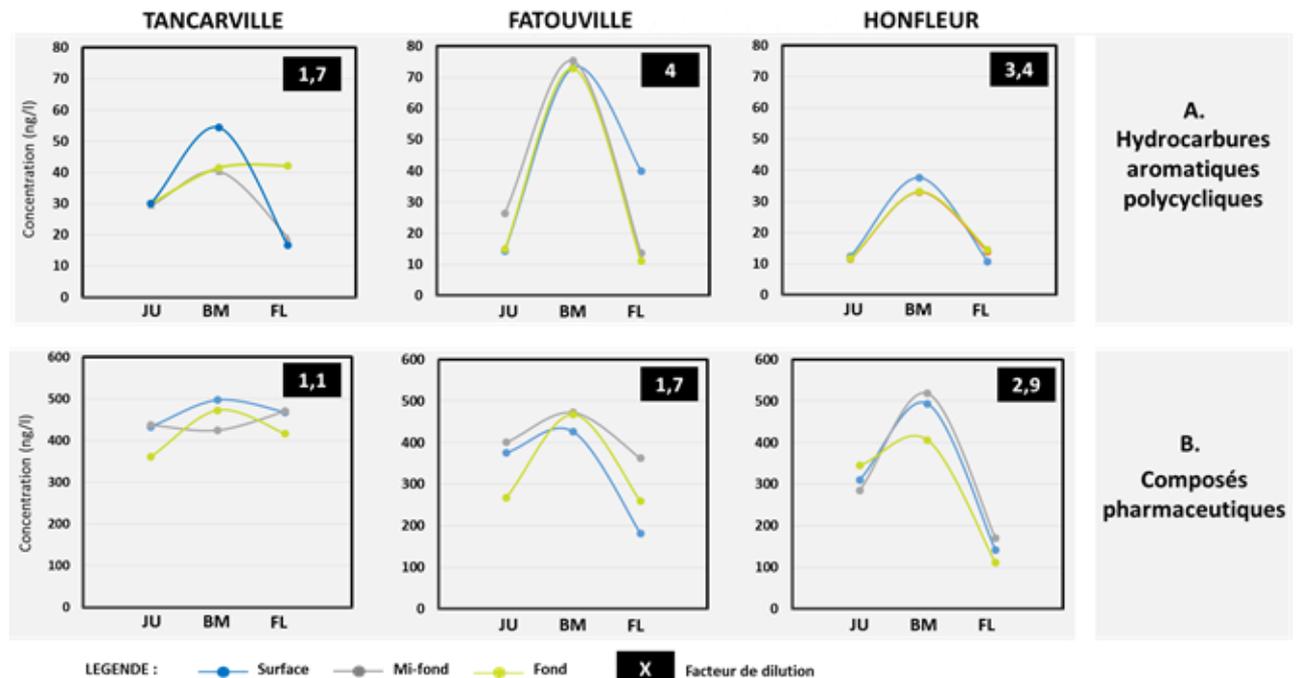


Figure 31. Dynamique de la contamination des HAP et composés pharmaceutiques dissous au cours d'un cycle de marée au niveau des sites de Tancarville, Fatouville, Honfleur. Les résultats concernent uniquement la phase dissoute et sont exprimés en ng/l. Les échantillons ont été prélevés durant le courant de jusant (JU), l'étape de basse mer (BM) et le courant de flot (FL).

En revanche, sur l'ensemble des sites, les mêmes tendances ont été constatées pour les huit composés pharmaceutiques étudiés (Figure 31B). Les variations de concentration durant ces campagnes oscillent d'un facteur allant de 1,1 à 2,9. Les dilutions engendrées par

la marée sont les plus marquées au niveau d'Honfleur avec des concentrations qui varient de 140 ng/l à 470 ng/l. En remontant vers l'amont, une atténuation du facteur de dilution a été mise en évidence. Les résultats obtenus aux différentes profondeurs ne permettent pas de définir de tendance ou de stratification de la colonne d'eau. Le comportement des médicaments est ainsi fortement influencé par les cycles tidaux. L'impact de la marée sur les concentrations en pharmaceutiques a déjà été observé dans l'estuaire de Seine (Togola, 2006), dans l'estuaire Yangtze (Yang et al., 2011 ; Zhao et al., 2015).

L'impact de la marée sur la dynamique de la contamination en pharmaceutiques a pu être comparée à des saisons pseudo hivernales (avril 2015) et estivales (septembre 2015). Ces deux périodes d'échantillonnages sont marquées par des conditions de débits différentes mais également par des coefficients de marées opposés. Une synthèse des résultats obtenus concernant les composés pharmaceutiques est décrite en Figure 32.

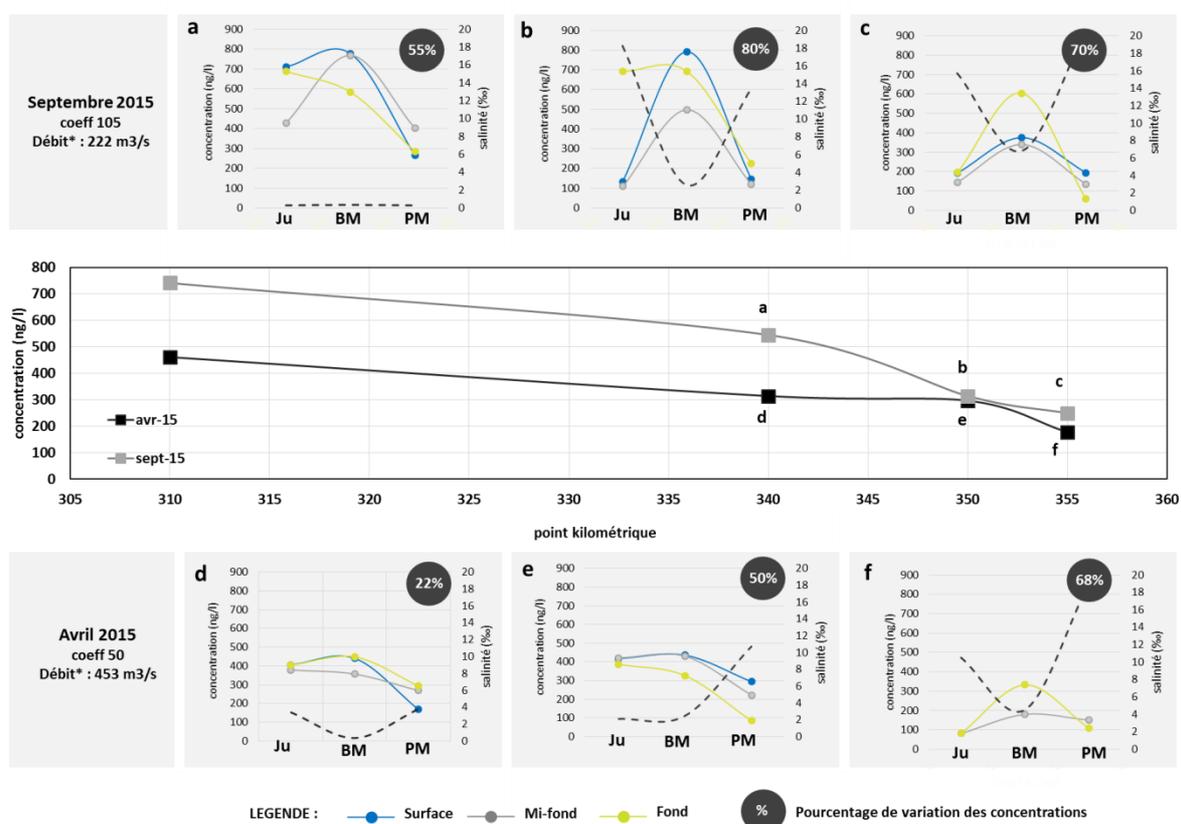


Figure 32. Evolution des concentrations (ng/l) moyenne (basse, pleine mer et jusant) en composés pharmaceutique de l'amont vers l'aval : Dynamique de la contamination au cours d'un cycle de marée. Le graphique central représente les concentrations moyennes en avril et septembre 2015 de Caudebec à Honfleur. Les graphiques a, b, c, d, e, f représentent les variations de concentrations au niveau d'un site au cours d'un même cycle de marée. Les échantillons ont été prélevés à basse mer (BM), jusant (Ju) et pleine mer (PM).

Des concentrations moyennes journalières plus élevées en septembre ont été retrouvées jusqu'à Tancarville (pk 340 ; Figure 32). Au niveau de Fatouville (pK 350) et Honfleur (pK 355), les niveaux de pharmaceutiques sont équivalents aux temps échantillonnés. Cependant à une échelle de temps plus réduite (cycle de marée), l'estuaire moyen subit de grandes variations en concentrations. Au niveau du site d'Honfleur, une variation des

concentrations d'environ 70 % a été constatée quels que soient les conditions hydrodynamiques et le coefficient de marée (Figure 31). L'impact de la marée sur les concentrations est dépendant des conditions de débit du fleuve au niveau des sites de Fatouville et dans une moindre mesure à Tancarville. En condition d'un faible débit (222 m³/s à Poses) et d'un fort coefficient de marée (105), le site de Fatouville a subi les plus fortes fluctuations de concentration (80% lors de septembre 2015). Des variations de concentrations ont été observées sur certains sites entre le fond et la surface, avec des écarts de 100 à 300 ng/l au niveau d'Honfleur et Fatouville en septembre 2015. Cependant, aucune tendance concernant une stratification de la contamination entre surface et fond n'a pu clairement être mise en avant.

Ces fortes variations de concentrations lors d'une même journée, pose une réelle question quant à l'évaluation du risque chimique en zone estuarienne. Effectivement, les concentrations étant très variables, la représentativité d'échantillon ponctuel peut être remise en question. L'utilisation d'échantillonneurs passifs qui permettent d'intégrer la contamination semble tout à fait pertinente pour évaluer la contamination dans ces zones de balancement des marées.

Principales conclusions :

- ✓ **La contamination de la phase particulaire en HAP est relativement constante, aux périodes étudiées. De fortes variations de la phase dissoute ont été observées. Ce constat est dû aux HAP de faibles poids moléculaires tels que le naphthalène. Au cours du cycle de marée, les variations en phase dissoute peuvent atteindre un facteur 4. Les variations les plus importantes ont été observées au niveau du site de Fatouville.**
- ✓ **La contamination en composés pharmaceutiques est dépendante de la saison. En période de bas débits, des concentrations moyennes deux fois plus importantes ont été constatées au niveau des points les plus amont. En aval de l'estuaire, les différences sont moins marquées. Ceci est le résultat des fortes variations qui s'opèrent dans les zones de forts marnages. C'est le cas, au niveau d'Honfleur et Fatouville où les oscillations des concentrations sont les plus importantes. Ce phénomène est amplifié en période de bas débit (à Poses) et de fort coefficient de marée où les concentrations peuvent varier jusqu'à 80 % en quelques heures.**



2.3 Tâche Dynamique des nutriments et métabolismes

2.3.1 Introduction

Les objectifs de ce travail étaient multiples et concernaient l'ensemble du fleuve (colonne d'eau et sédiment). Il s'agissait de déterminer les taux de dégradation de la matière organique dans le bouchon vaseux (BV) en conditions oxiques et anoxiques, ainsi que les taux de réduction des nitrates dans les sédiments. Il était également question de mesurer les concentrations en nutriments dans les eaux porales des sédiments afin d'en déduire les taux des processus biogéochimiques et les flux de nutriments dans les sédiments et à l'interface eau-sédiment par modélisation (diagenèse précoce). Enfin cela a consisté à estimer les densités des communautés microbiennes fonctionnelles du cycle de l'azote.

2.3.2 Matériel et méthodes

2.3.2.1 Microbiologie

La non-cultivabilité des micro-organismes est une difficulté majeure en microbiologie environnementale et nous contraint à requérir à la biologie moléculaire pour leur caractérisation.

Dans le cas présent, l'ADN microbien a été directement extrait à partir de sédiments ou de matières en suspension de la colonne d'eau, préalablement collectées sur filtre (PolyVinylidene DiFluoride, 0,2 µm). Les ADN ont été récupérés selon la méthode décrite par Griffith et al (2000) grâce à des billes (Precellys lysing soil grinding mix SK38). Puis les gènes d'intérêt marqueurs des fonctions suivies ont été ciblés par PCR : anammox (anaerobic ammonium oxidation), dénitrification, oxydation de l'ammonium, oxydation du nitrite, DNRA (Dissimilative Nitrate Reduction to Ammonium). En parallèle, les nombres totaux de bactéries et d'archées ont été mesurés par quantification du nombre de copies de gènes codant pour l'ARN ribosomique (ARNr) 16S bactérien et archéen, respectivement.

Concernant l'ADN microbien de la colonne d'eau d'avril 2015, les filtres ont été coupés en trois afin d'obtenir des triplicatas. En septembre 2015 et avril 2016, l'extraction a également été réalisée en triplicatas mais à partir de demi-filtres. Pour chaque sédiment, a été pesé 0,5 g d'échantillon frais en triplicatas pour les trois campagnes.

La qPCR quantifie en temps réel un nombre de fragments d'ADN d'intérêt, synthétisés in vitro. Pour cela, deux amorces sont choisies de façon à être spécifiques d'une séquence d'ADN. Le gène microbien ciblé n'étant pas toujours en copie unique dans le génome, ces mesures donnent une approximation des effectifs microbiens. Dans ce rapport, nous parlerons d'effectifs en étant bien conscients qu'il s'agit du nombre de copies de gènes. Une normalisation par rapport aux ARNr 16S est réalisée pour tous les gènes fonctionnels utilisés car il nous importait de mesurer la représentativité de chaque groupe fonctionnel. Chaque extrait d'ADN a été amplifié en triplicatas.



2.3.2.2 Détermination des taux biogéochimiques et micro-profils d'oxygène dissous

Pendant les campagnes de septembre 2015 et avril 2016 pour les 4 stations (Honfleur, Fatouville, Tancarville et Caudebec) les transformations en azote et carbone dans le bouchon vaseux ont été déterminées par incubation en batch. Pour cela, 50 ml de bouchon vaseux ont été incubés dans des flacons de 250 ml en triplicatas en conditions oxygène et anoxique. Les différents composés azotés (NO_3^- , NO_2^- , NH_4 , N_2O) et carbonés (CO_2 et CH_4) ont été dosés pour estimer leurs taux de consommation et/ou production dans la phase liquide ou gazeuse. Ceci a été permis par des prélèvements effectués en début d'incubation (T0) et après 4h (T1).

En septembre 2015, des taux de réduction de nitrate et sulfate des sédiments de Fatouville ont été déterminés aux profondeurs de 0-2 cm et 10-12 cm en réacteur à flux continu (pour détails sur la méthode, voir Laverman et al., 2006, 2012). Pendant la campagne d'avril 2016, ces taux en réacteurs ont été déterminés pour 4 stations, La Carosse, Fatouville, Tancarville et Rouen, à la profondeur de 0-2 cm.

La vitesse de la consommation d'oxygène (métabolisme aérobie) a été réalisée à bord sur les échantillons du bouchon vaseux. Ces échantillons sont répartis en triplicatas dans des tubes avec septum de 10ml. La mesure de la concentration de l'oxygène dissous dans l'eau se fait à l'aide des mini-optodes (ROP, Firesting O2, Pyroscience). La calibration des mini-optodes a été faite à deux points du % de saturation (0, 100). L'acquisition des données a été réalisée dans l'incubateur pendant 24h et dans les conditions optimales : obscurité, température in situ de l'échantillon et agitation (agitateur rotatif 360°, RT35, Grant-Bio).

Les micro-profils d'oxygène dissous ont été mesurés à l'interface eau-sédiment durant les campagnes Dynamoseine Leg 2 et Dynamoseine 2. Ces mesures ont été faites en utilisant une micro-optode, un mini-fluorimètre FireSting® (Pyroscience) et un micro-manipulateur permettant des incréments verticaux de 100 μm . Ces micro-profils donnent accès pour chaque station à la profondeur de pénétration de l'oxygène et la possibilité de calculer le flux benthique diffusif d'oxygène (i.e., demande benthique en oxygène), ainsi que le taux net des métabolismes aérobie dans les premiers mm de sédiment.

2.3.2.3 Nutriments dans les eaux porales et la colonne d'eau

Les dosages des nutriments ont été faits par spectrophotométrie à flux segmenté, par un analyseur automatique type AXFLOW QUAATRO après dilution. Les formes de l'azote mesurées sont les nitrites NO_2^- , les nitrates NO_3^- et l'azote ammoniacal ΣNH_3 (essentiellement sous la forme de NH_4^+). Pour le phosphore et le silicium, les concentrations mesurées correspondent aux sommes des formes dissoutes ΣPO_4 et ΣSi .

2.3.3 Résultats et discussion

2.3.3.1 Densités microbiennes pendant le cycle de marée

C'est en avril 2015, en mortes eaux, qu'un cycle de marée a été étudié à Fatouville. Ceci a permis d'y observer l'évolution des densités microbiennes et notamment de mettre en évidence un pic de densités microbiennes ($8,9 \cdot 10^8$ copies/l pour les bactéries et $2,2 \cdot 10^8$, les



archées ; Fig. 33) à 11h30, qui correspondait au maximum de turbidité (250 NTU). Les bactéries montraient des effectifs supérieurs d'un facteur 4 à 8 à ceux des archées.

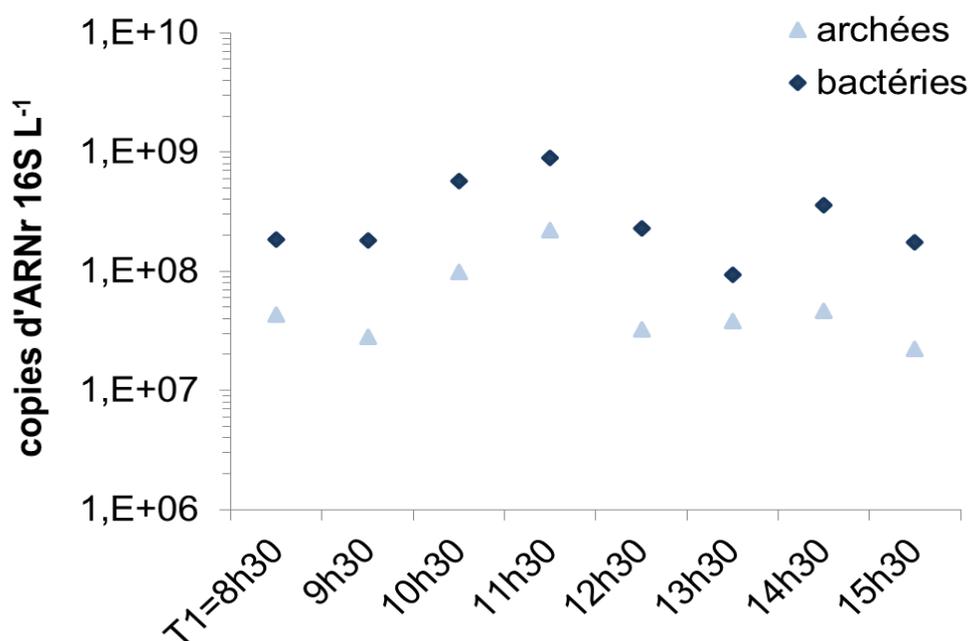


Figure 33. Densités microbiennes (bactériennes et archéennes) dans la colonne d'eau à Fatouville pendant le cycle de marée.

A cette turbidité maximale de mortes eaux, les bactéries oxydant l'ammonium représentaient 1,68 % des bactéries, les archées oxydant l'ammonium 0,59 % des archées et les bactéries oxydant le nitrite 0,41 % des bactéries. Les métabolismes aérobies de l'azote n'étaient donc pas potentiellement favorisés par les conditions du milieu. Ceci nous a incités, par la suite, à rechercher les micro-organismes impliqués à la fois dans les métabolismes aérobies et anaérobies dans la colonne d'eau.

2.3.3.2 Distribution verticale des nutriments et micro-organismes dans l'eau porale et le sédiment

Dans la carotte de sédiments récupérée à la même date (avril 2015), il apparaît que les micro-organismes les plus représentés sont ceux capables de réaliser la dénitrification quelle que soit la profondeur (Figure 33). L'épaisseur 0-1 cm est la seule qui contient de l'oxygène (données non montrées) ; tous les groupes fonctionnels y sont sur-représentés par rapport aux horizons plus profonds. Il faut noter une plus forte représentation des archées nitrifiantes par rapport aux bactéries nitrifiantes dans tous les horizons. Les bactéries et archées nitrifiantes et dénitrifiantes sont présentes à des profondeurs où oxygène et nitrate, requis pour leurs activités, sont absents. Une première hypothèse pour expliquer ce résultat est que ces micro-organismes peuvent être présents mais pas forcément actifs. D'autres études dans des sédiments ont montré la présence active de bactéries dénitrifiantes à des profondeurs où il n'y a plus de nitrate et proposent comme hypothèses, qu'il s'agit soit d'un autre métabolisme soit d'un transport de sédiment (Papaspyrou et al., 2014).

L'abondance des archées oxydant l'ammonium est en accord avec d'autres études dans des sédiments estuariens anglais (Bernhard et al., 2010). Il sera intéressant d'inclure pour de futures recherches, des analyses à la fois de la présence et de l'activité des micro-organismes pour choisir parmi ces différentes hypothèses.

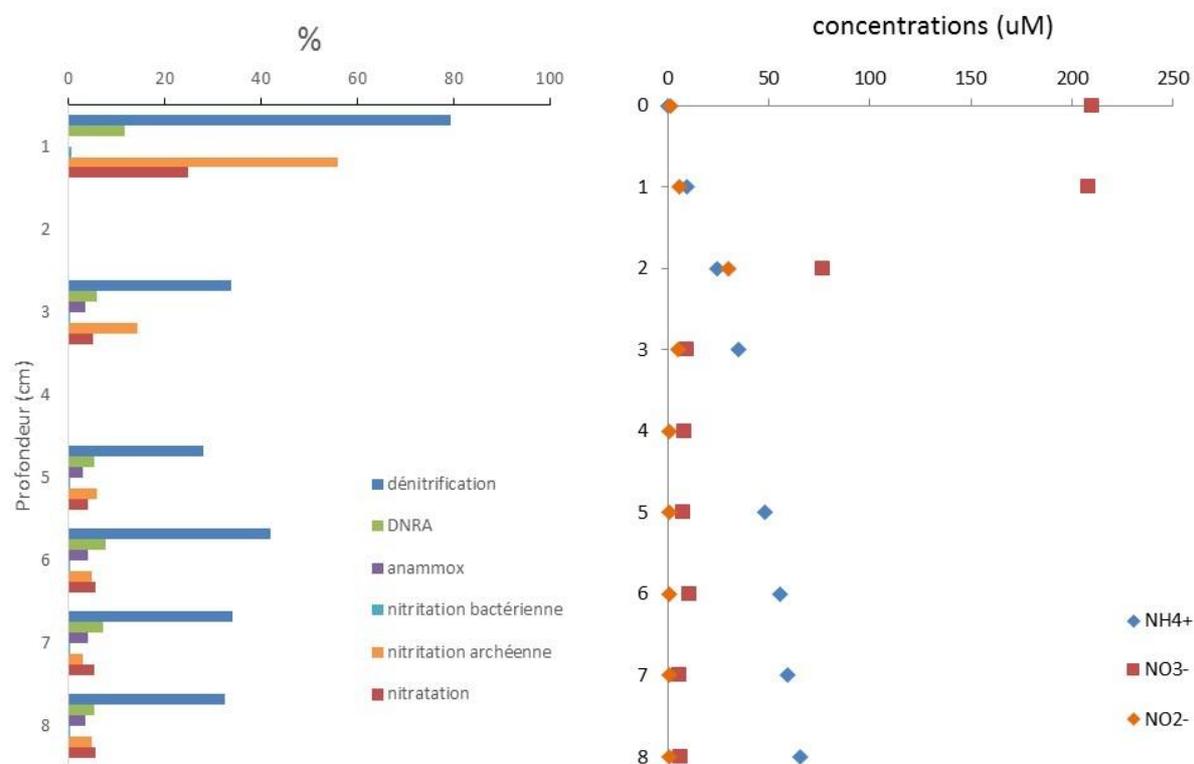


Figure 34. Nombres de copies de gènes fonctionnels normalisés par rapport aux estimations d'effectifs microbiens (gauche), concentrations des nutriments (droite) en fonction de la profondeur du sédiment pour la campagne d'avril 2015 à Fatouville.

Les concentrations en NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ dans le sédiment à Fatouville sont représentées en Figure 34. Les concentrations de NO_3^- sont maximales en surface (220 μM) pour diminuer jusqu'à leur disparition à 3 cm de profondeur. Cette diminution est classique et due à la réduction des nitrates en absence de O_2 (pénétration d' O_2 environ 3 mm, résultats non montrés). Les concentrations de NO_2^- – intermédiaires de la dénitrification – sont faibles avec une petite augmentation à 2 cm, en lien avec une activité de dénitrification à cette profondeur. Les concentrations d'ammonium augmentent en profondeur, grâce à la minéralisation de la matière organique et à l'absence d'oxydants en profondeur.

2.3.3.3 Taux biogéochimiques et abondances microbiennes de la colonne d'eau

Pendant les campagnes de septembre 2015 et avril 2016, des taux biogéochimiques et des densités microbiennes des différents groupes impliqués dans les transformations azotées ont été déterminés pour les 4 stations dans la colonne d'eau (marées de vives eaux). Les nombres totaux de bactéries et archées dans la colonne d'eau de septembre 2015 sont présentés dans la Figure 35.

Parmi tous les processus du cycle de l'azote recherchés, c'est la dénitrification qui est largement dominante en cette période de vives eaux dans le bouchon vaseux en atteignant 100% des micro-organismes présents ou presque dans tous les sites (données non montrées). Concernant les processus secondaires, qui représentent moins d'1 %, il s'agit de la nitrification bactérienne, la DNRA et la nitratisation. Aucun gène marqueur du processus anammox ou de la nitrification archéenne n'a pu être détecté avec la méthode utilisée.

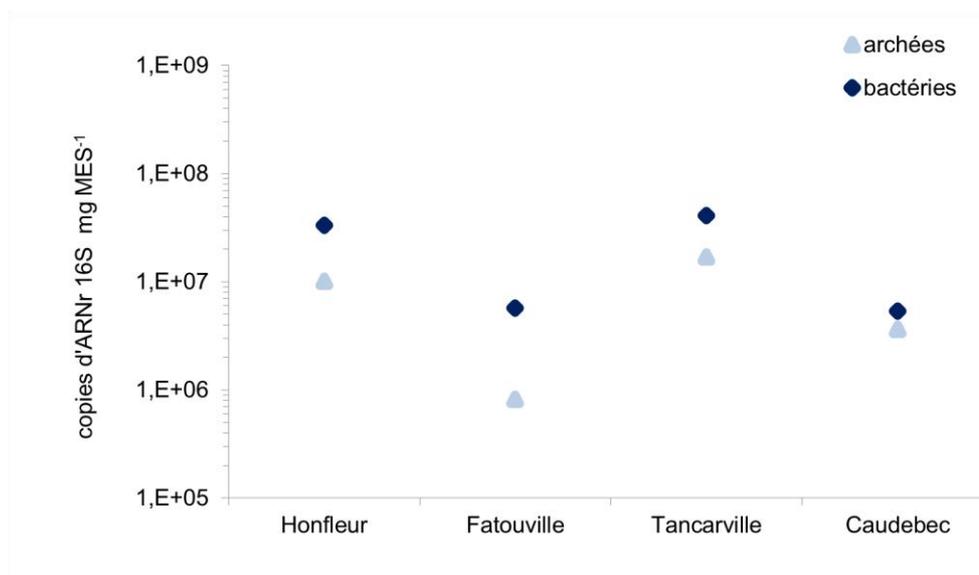


Figure 35. Nombre des bactéries et archées dans la colonne d'eau, septembre 2015.

Les taux de transformation d'ammonium et nitrate dans le bouchon vaseux sont montrés en Figure 36. Pour les 4 sites, est observée une consommation (oxydation) d'ammonium entre 0,02 et 0,18 nmol NH₄⁺ mg MES⁻¹ h⁻¹. Les nitrates sont également consommés à un taux plus élevé que pour l'ammonium (entre 0,3 et 26 nmol NO₃⁻ mg MES⁻¹ h⁻¹), avec un taux très élevé à Tancarville (26 nmol NO₃⁻ mg MES⁻¹ h⁻¹).

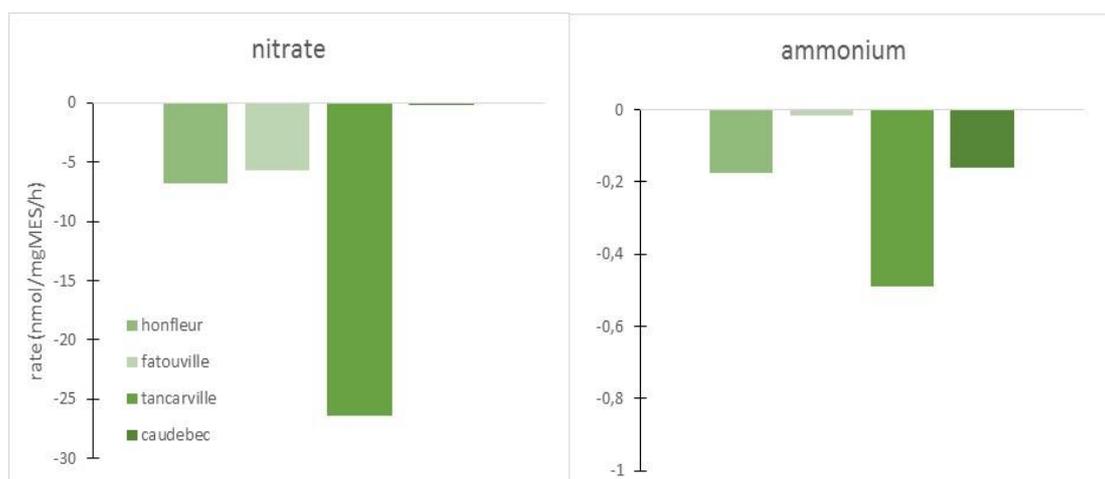


Figure 36. Taux de consommation de nitrate et ammonium dans la colonne d'eau des 4 différentes stations en conditions oxygènes (septembre 2015).

Les productions de N₂O et CO₂ dans les incubations en batch (Figure 37) varient entre 3 et 5 pmol mg MES⁻¹ h⁻¹ pour le N₂O et entre 1 et 4 nmol mg MES⁻¹ h⁻¹ pour le CO₂. La production de CO₂ était la plus faible à Tancarville.

La disparition de nitrate observée dans la colonne d'eau peut être due à la dénitrification ou l'assimilation des nitrates. Même si les conditions expérimentales étaient oxiques, cette consommation de nitrate est plus vraisemblablement due à la dénitrification, vue la dominance et la présence des bactéries dénitrifiantes (Fig. 34). Il est très probable que le fort contenu en MES et une activité hétérotrophe importante créent des micro-niches anoxiques favorisant la dénitrification. La production de N₂O semble aussi une indication pour la dénitrification en micro-niches, même si la production de N₂O peut provenir de la nitrification. Cependant, les très faibles taux de nitrification ne semblent pas à l'origine de cette production. Les concentrations de N₂O produit sont dans tous les cas très faibles (de l'ordre du pmol). Cette production de N₂O ne semble pas significative par rapport à la consommation de nitrate.

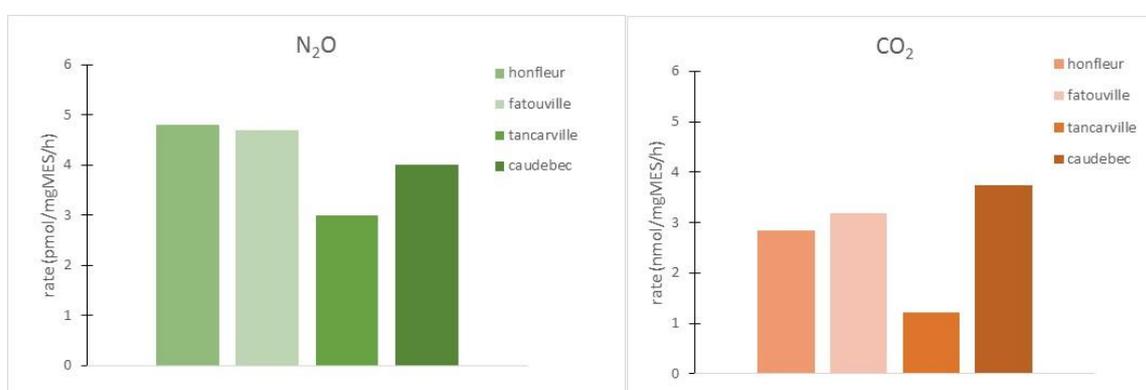


Figure 37. Taux de production de N₂O (en pmol) et CO₂ dans la colonne d'eau des 4 différentes stations en conditions oxiques (septembre 2015).

2.3.3.4 Abondances microbiennes sédimentaires, taux biogéochimiques et distribution des nutriments dans les eaux porales (sédiments)

Pendant la campagne d'avril 2016, des sédiments de 4 sites entre Rouen et La Carosse ont été analysés en termes de taux, d'abondances microbiennes (Figure 38) et de distribution verticale des concentrations en nutriments. Les densités microbiennes s'échelonnent entre 10¹⁰ et 10¹¹ copies d'ADNr 16S par g de sédiment sec.

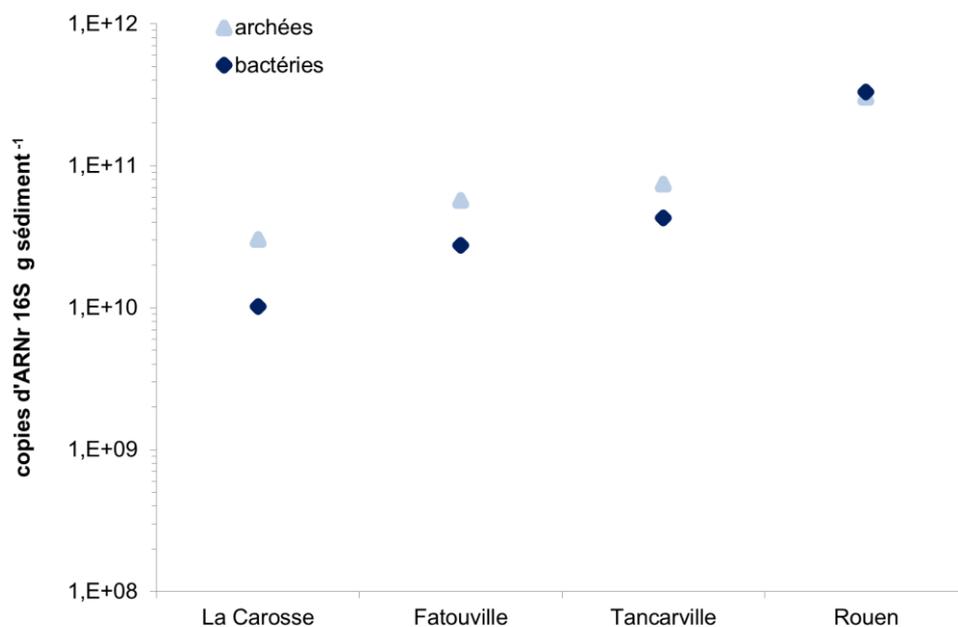


Figure 38. Nombre de copie bactéries et archées dans les sédiments (0-2 cm) en avril 2016.

De même que dans la colonne d'eau, ce sont les micro-organismes capables de réaliser la dénitrification qui dominent, suivis par ceux réalisant la DNRA (Figure 38). Les proportions observées sont dix fois plus importantes que dans les eaux. Les densités de bactéries anammox restent inférieures au seuil de détection de la méthode.

Il faut souligner que le nombre de copies de gène de bactéries dénitrifiantes élevé détecté à Tancarville (Figure 39) ne peut être considéré comme un indicateur de taux de réduction des nitrates plus importants au niveau de ce site. Cette mesure révèle uniquement la présence de bactéries dénitrifiantes mais en aucun cas leur activité.

Les taux de réduction de nitrate et la production d'ammonium dans les sédiments des 4 différents sites de prélèvements sont donnés en Figure 40. Les taux de réduction de nitrate sont très élevés à Rouen ($\approx 400 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ h}^{-1}$), de même que la production d'ammonium ($\approx 80 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ h}^{-1}$). Les sites plus en aval montrent à la fois des taux plus faibles de réduction de nitrate (≈ 60 et $80 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ h}^{-1}$) et de production d'ammonium, entre 2 et $8 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ h}^{-1}$ avec des taux minimaux à Fatouville. Les taux de réduction de nitrate sont du même ordre de grandeur que ceux mesurés précédemment dans des vasières de la Seine (Laverman et al, rapport RE2, Seine Aval) ou encore dans d'autres sédiments estuariens (entre 100 et $350 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ h}^{-1}$, Laverman et al 2012, Ogilvie et al 1997).

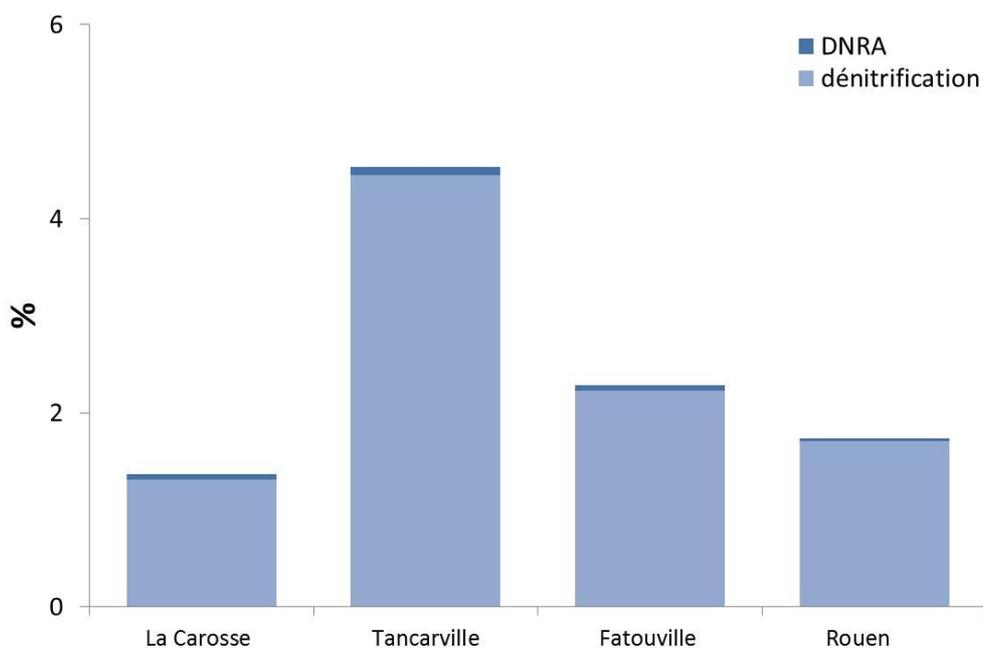


Figure 39. Nombres de copies de gènes fonctionnels normalisés par rapport aux estimations d'effectifs microbiens en avril 2016, dans les 0-2 cm du sédiment.

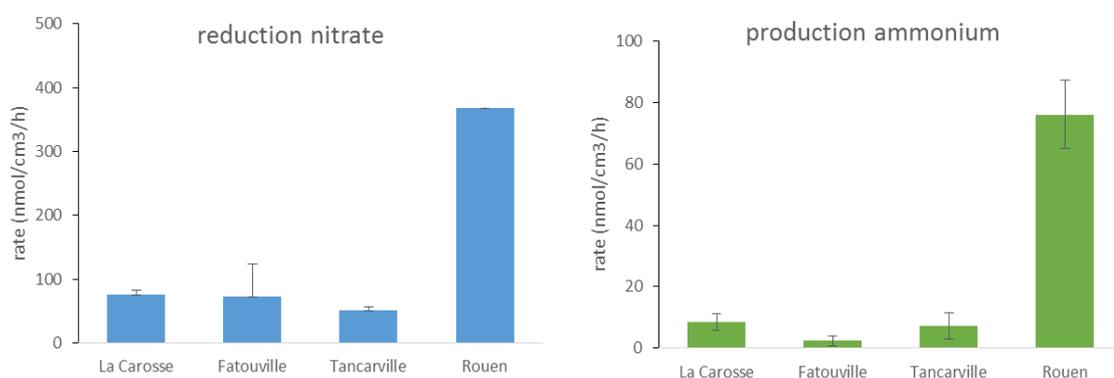


Figure 40. Taux de réduction de nitrate (gauche) et production d'ammonium (droite) dans les sédiments (0-2 cm) des 4 sites de prélèvements en avril 2016.

Les concentrations en nutriments dans les eaux porales des sédiments montrent des profils classiques (Figure 41). Les concentrations en nitrate diminuent avec la profondeur grâce à la réduction de nitrate (dénitrification, DNRA, anammox) en absence d'oxygène et les concentrations en ammonium augmentent suite à la dégradation de matière organique et l'absence d'oxydants. Les concentrations en nitrates sont les plus élevées dans l'eau surnageante à Rouen et Fatouville (305, 350 μM) et plus faibles à La Carosse (20 μM). La disparition de nitrate au bout de 2 cm à Rouen indique une réduction de nitrate élevée par rapport à Fatouville où le nitrate diminue plus lentement (donc taux plus faible) et a disparu au bout de 6 cm. Cette activité élevée à Rouen est confirmée par les concentrations d'ammonium élevées en profondeur (jusqu'à 1500 μM), preuve d'une dégradation de matière organique intense. La profondeur de pénétration d' O_2 de 3 mm (non montrée) démontre également l'existence d'une activité microbienne (dégradation de matière organique, nitrification) très importante à Rouen.

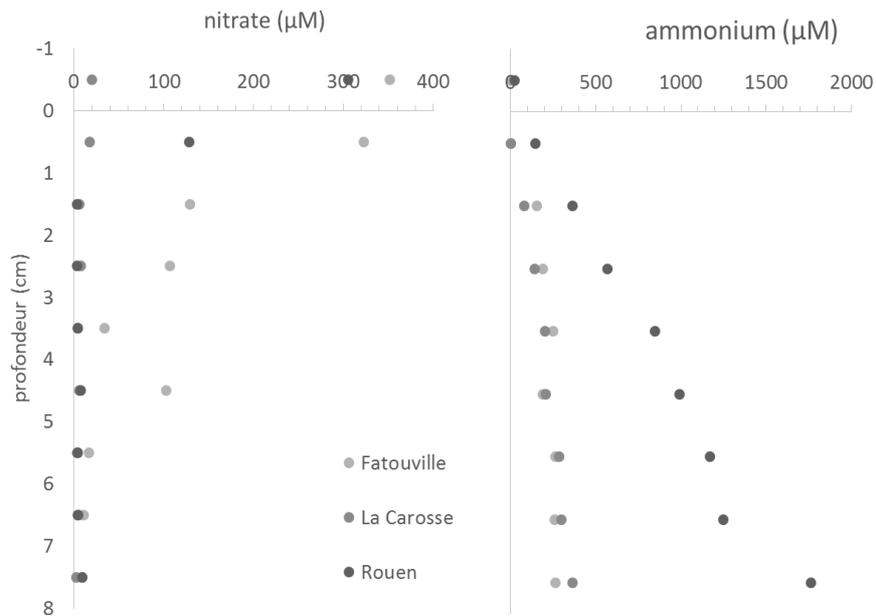


Figure 41. Concentrations de nitrate et ammonium dans les eaux porales à La Carosse, Fatouville et Rouen pour la campagne d'avril 2016.

Afin de mieux comprendre les flux d'azote à l'interface sédiment – eau et les distributions fines des taux biogéochimiques, un modèle de transport réactif a été appliqué (pour plus de détails : <https://uwaterloo.ca/ecohydrology/software>). Cette partie, non initialement inscrite dans le projet Mosaic, est en cours de réalisation. A ce jour, le modèle a permis d'ajuster les profils d'eau porale d' O_2 , NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ pour les sites de La Carosse, Fatouville et Rouen, pour la campagne d'avril 2016. La Figure 42 montre les données de nitrate et ammonium mesurées dans les eaux porales de Fatouville et les résultats du modèle avec les meilleurs ajustements des paramètres de ce dernier.

Le taux des différents processus en fonction de la profondeur prédits par le modèle sont représentés dans la Figure 43. Les taux de nitrification sont faibles et localisés dans les premiers millimètres. La dénitrification est le processus dominant à compter de la zone de disparition d'oxygène. Il nous est apparu que les facteurs les plus importants à prendre en compte dans la modélisation des flux de nitrate et d'ammonium sont la quantité et la qualité de la matière organique, les concentrations en nitrate et la teneur en oxygène (conditions oxiques/anoxiques).

Le modèle permet ainsi une estimation satisfaisante des flux à l'interface sédiment-eau ; les flux pour les formes d'azotes dissous sont représentés dans le Tableau 8. A Fatouville et La Carosse, les sédiments sont un puits pour les nitrates et une source d'ammonium. Des travaux sont en cours pour les autres sites et saisons. Ces flux sortant d'ammonium et entrant de nitrate sont en accord avec des flux déterminés dans d'autres études pour des sédiments estuariens ou lacustres (e.g. Canavan et al 2006, Dedieu et al 2007).

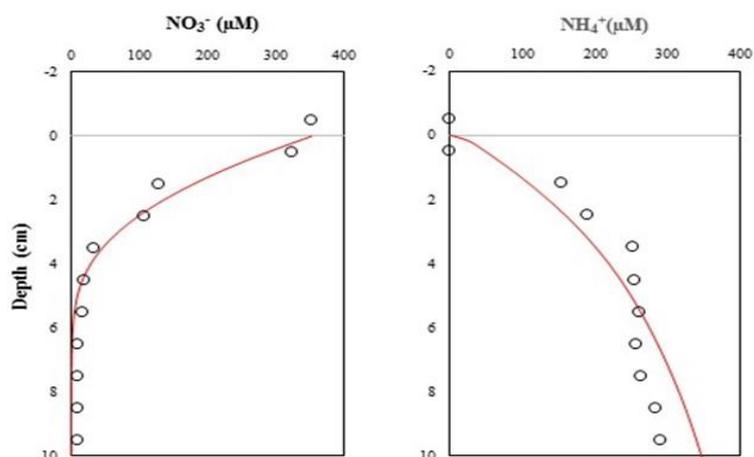


Figure 42. Concentrations mesurées et modélisées de nitrate et ammonium pour Fatouville.

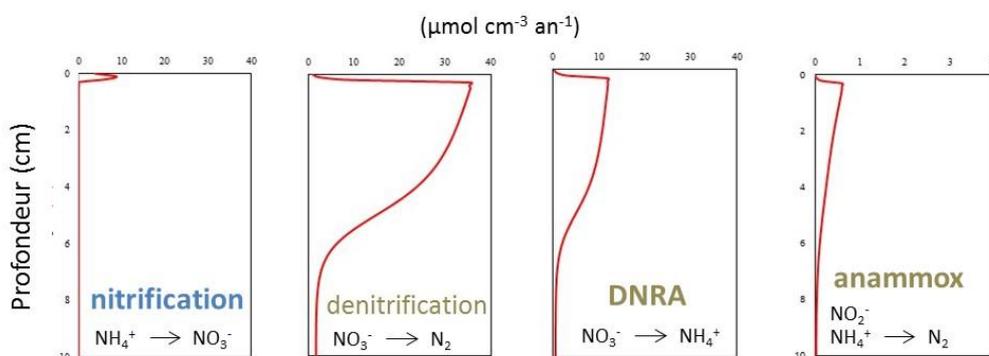


Figure 43. Distribution en profondeur des taux modélisés pour la nitrification, dénitrification, DNRA et anammox

Il est difficile de mettre en regard les flux/taux calculés localement avec ceux transitant dans l'estuaire. Seule une estimation très globale peut être réalisée, non prévue initialement dans le cadre du projet MOSAIC. Le modèle sédimentaire prédit des flux à l'interface sédiment/eau. Les flux sédimentaires de NO_3^- en direction du sédiment pour Fatouville - $98 \mu\text{mol m}^{-2} \text{h}^{-1}$ (Tableau 8), soit $3.3 \text{ mgN m}^{-2} \text{ jour}^{-1}$ (ou $12000 \text{ kgN km}^{-2} \text{ an}^{-1}$). Pour le NH_4^+ les flux en direction de la colonne d'eau sont d'environ $4.4 \text{ mgN m}^{-2} \text{ jour}^{-1}$ ou $16150 \text{ kgN km}^{-2} \text{ an}^{-1}$. Dans le bouchon vaseux, il y a une consommation de NH_4^+ d'environ $0.5 \text{ kg N km}^{-3} \text{ an}^{-1}$. Il y a donc à Fatouville plutôt une source sédimentaire de N en direction de la colonne d'eau, même s'il y a un flux significatif de nitrate en direction du sédiment et un peu de consommation de NH_4^+ dans le BV.

En première approche, en prenant l'exemple de Fatouville, les flux d'azote à l'interface des sédiments du chenal semblent négligeables par rapport à la quantité d'N passant dans la colonne d'eau.

	NO_3^-	NO_2^-	NH_4^+
	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{h}^{-1}$		
Fatouville	-98,1	-0,1	131,7
la Carosse	-4,9	0,9	105,6
Rouen	<i>en cours</i>		

Tableau 8. Flux de nitrates, nitrite et ammonium calculés par la modélisation à l'interface sédiment eau.

Conclusions

- ✓ Les résultats d'abondances microbiennes montrent que la présence des micro-organismes est associée à la présence de MES.
- ✓ La colonne d'eau et en particulier le bouchon vaseux montre une disparition de nitrate, une production de N_2O et une abondance très importante de bactéries dénitrifiantes. Ceci indique une activité dénitrifiante dans cet environnement globalement oxygène, qu'est la colonne d'eau et y suggère la présence de microniches anoxiques dans les MES pour permettre à ce processus d'avoir lieu. Les taux de réduction de nitrate sont beaucoup plus élevés (facteur 1000) dans les sédiments en raison de conditions plus favorables, à savoir la présence de matière organique et l'absence d'oxygène. Il en découle que les sédiments se comportent comme des puits de NO_3^- . La dégradation de la MO dans les sédiments entraîne également un flux d'ammonium émis par les sédiments.
- ✓ Les MES de la colonne d'eau et surtout des sédiments, riches en MO et en micro-organismes dénitrifiants ont un fort potentiel de réduction de nitrates. En outre, les sédiments, par rapport à la colonne d'eau, présentent l'avantage que les conditions requises pour la réduction des nitrates y sont réunies.

2.4 Dynamique croisée de la matière organique, des contaminants et des nutriments

Dans les parties précédentes, les dynamiques de la MO, des contaminants organiques et des nutriments ont été évaluées séparément. Il est désormais essentiel d'examiner conjointement ces trois dynamiques, et le rôle de la MO sur le transfert des contaminants organiques et des nutriments en milieu estuarien. La grande quantité de données acquise au cours des différentes campagnes nous a permis d'étudier l'influence des modifications à la fois qualitatives et quantitatives de la MO sous ses différentes formes sur la dynamique des contaminants et des nutriments. Ce travail constitue un point particulièrement original et innovant du projet, les études conjointes de la MO, des contaminants et des nutriments étant en effet souvent réalisées à l'échelle globale (i.e. flux de matière ; e.g. McQuirk Flynn, 2008 ; Zhou et al., 1999), alors qu'il est crucial de comprendre, d'un point de vue qualitatif et mécanistique, comment se déroule conjointement le transfert substances naturelles et anthropiques en milieu estuarien (e.g. Santschi et al., 1997).

2.4.1 Base de données

L'étude croisée de la dynamique de la MO, des contaminants et des nutriments a nécessité dans un premier temps l'établissement d'une base de données, contenant l'ensemble des informations (paramètres environnementaux, résultats des différentes analyses effectuées) liés aux échantillons prélevés lors des différentes campagnes d'échantillonnage. Cette base met à disposition l'ensemble du jeu de données obtenu lors du projet MOSAIC et a été



fournie au GIP Seine-Aval en même temps que ce rapport. Elle a été réalisée sur le système de gestion de base de données relationnelle (SGBDR) Access développé par Microsoft. Ce SGBDR a été choisi pour sa simplicité de mise en œuvre, sa forte complémentarité avec Excel et sa relative facilité d'utilisation par rapport à d'autres SGBDR (MySQL par exemple).

La structure de la base est centrée sur la table « Echantillon », contenant toutes les informations sur les échantillons prélevés lors du projet (Fig. 44). Cette structure permet de faciliter le croisement entre les différentes analyses ainsi que l'exportation des données. Les différentes données environnementales et analytiques ont ensuite été croisées. Les résultats associés sont présentés dans la suite de ce rapport.

pharmaceutiques (cf. annexe). Concernant les composés pharmaceutiques, ce résultat est en accord avec des études antérieures réalisées dans l'estuaire Yangtze en Chine qui ont trouvé la même relation en lien avec les cycles tidaux de l'estuaire (Yan et al., 2013 ;Zhao et al., 2015). Nos résultats montrent donc que les contaminants organiques représentent une proportion variable du COD, cette dernière étant directement liée à la saison.

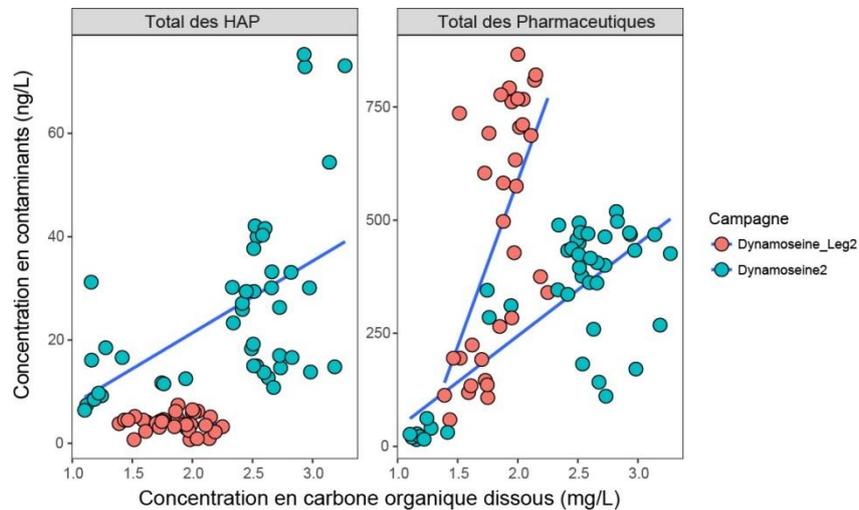


Figure 45. Relation entre la concentration en contaminants organiques et en carbone organique lors des campagnes Dynamoseine Leg 2 (septembre 2015) et Dynamoseine 2 (avril 2016).

ii) MOD et composés pharmaceutiques

Les variations de concentrations en contaminants le long de l'estuaire sont également liées à la qualité de la matière organique. Ainsi, la concentration totale en composés pharmaceutiques diminue linéairement avec le BIX, indicateur de production biologique de MOD (obtenu après analyses de la MO fluorescente, cf. tâche MO), et ce pour l'ensemble des campagnes (Fig. 31). L'augmentation de la proportion de MO autochtone comparativement à la MO terrigène est donc corrélée à la diminution de la teneur en composés pharmaceutiques dans l'estuaire.

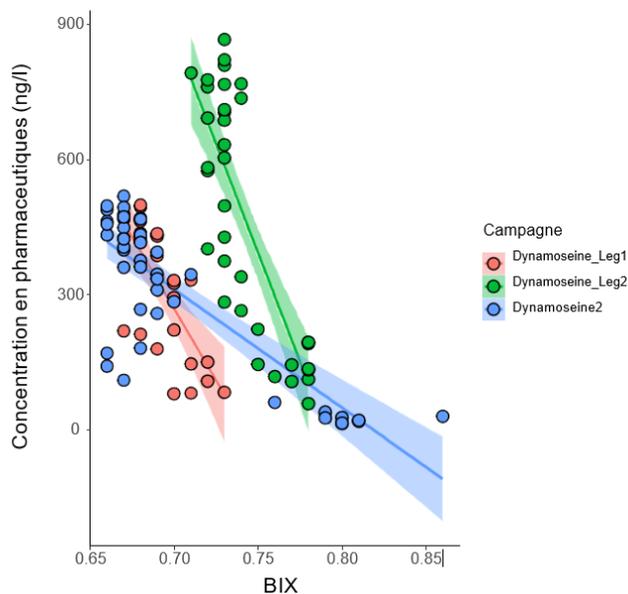


Figure 46. Relation entre la concentration en composés pharmaceutiques et l'indice de fluorescence BIX (indice de production autochtone de la MO) pour l'ensemble des campagnes Dynamoseine.

Ceci pourrait s'expliquer par une source commune des composés pharmaceutiques et de la MO terrigène dans l'estuaire de Seine, qui proviendraient majoritairement de l'amont de la Seine (agglomération parisienne, Rouen) et se dilueraient ensuite le long de l'estuaire sous l'influence des masses d'eaux marines. Ce lien observé pourrait être une spécificité de l'estuaire de Seine, avec une mégapole située très en amont de l'estuaire qui produit une grande partie des contaminants observés dans l'estuaire. Cependant, il n'existe à notre connaissance aucune étude conjointe des contaminants organiques associés à la MOD fluorescente dans les estuaires. La corrélation observée dépend cependant de la saison, montrant une nouvelle fois la forte variabilité temporelle des dynamiques des contaminants et de la MO dans l'estuaire de Seine. Ces observations montrent la nécessité d'étudier les interactions MO-contaminants dans les parties plus amont de la Seine, en particulier autour de l'agglomération rouennaise (STEP Emeraude) ainsi qu'avant et après l'agglomération parisienne (en lien avec le PIREN Seine).

Afin d'approfondir l'étude des interactions MO-contaminants, nous avons examiné le lien existant entre les constituants de la MOD fluorescente et la concentration en composés pharmaceutiques. A notre connaissance, ce lien n'a encore jamais été testé. Les spectres de fluorescence 3D de la MOD de la Seine ont été décomposés en 6 composants (cf. tâche MO). Les deux premiers composants (C1 et C2) correspondent à du matériel d'origine terrigène, le troisième et le quatrième à de la MO fraîche, d'origine biologique, le cinquième à de la MO issue d'effluents industriels ou urbains et le sixième à du matériel de type terrigène et/ou dégradé (Parot, 2016).

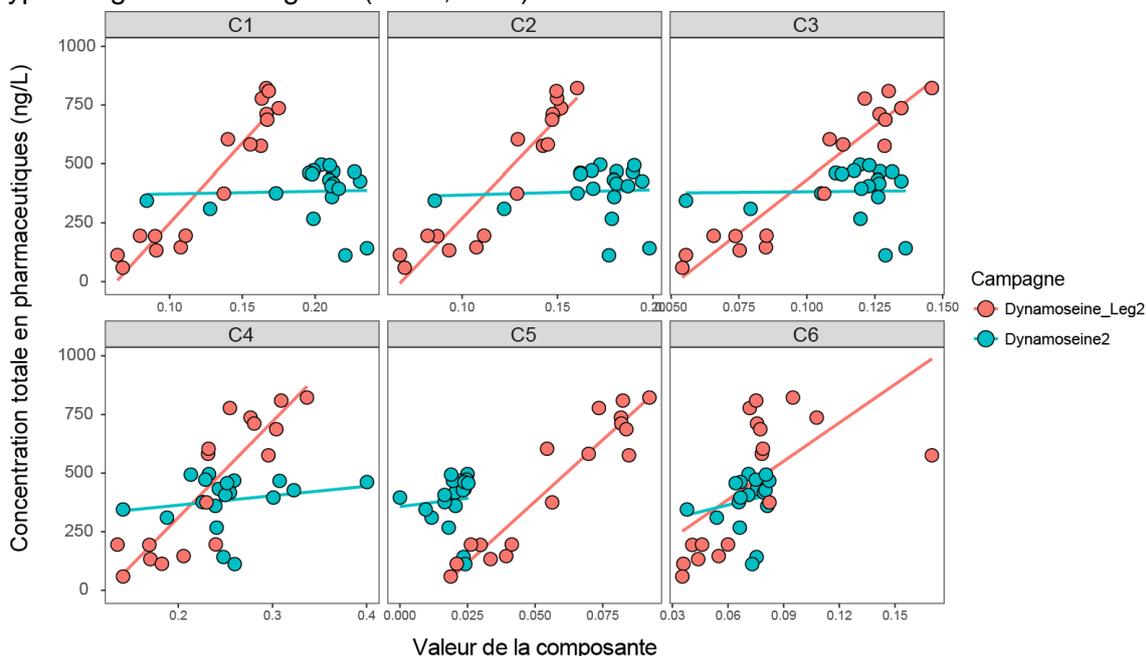


Figure 47 Relation entre la concentration en composés pharmaceutiques et les composants (C1 à C6) déterminés par PARAFAC à partir des spectres de fluorescence de la MOD pour les échantillons des campagnes Dynamoseine leg 2 (septembre 2015) et Dynamoseine 2 (avril 2016).

Nous avons observé que la concentration totale en composés pharmaceutiques était corrélée linéairement à l'ensemble des constituants de la MOD fluorescente lors de la campagne de septembre 2015 (Dynamoseine leg 2), montrant la forte interaction entre la MOD dissoute et ces contaminants (Fig. 47). De telles corrélations n'ont pas été observées en avril

2016, ce qui pourrait s'expliquer par la faible gamme de variations des teneurs en composés pharmaceutiques, et dans une moindre mesure, de l'intensité des constituants de la MOD fluorescente lors de la campagne 2016. A l'inverse, la gamme des concentrations en contaminants et intensité de la MOD fluorescence est nettement plus forte en septembre 2015.

Nos résultats suggèrent donc que les interactions entre la MOD et les composés pharmaceutiques dépendent fortement de la saison considérée. Afin de mieux comprendre la variabilité des corrélations existantes entre MOD et contaminants organiques, il apparaît nécessaire d'examiner en détail le type des groupements fonctionnels de la MO liés aux interactions MO-contaminants tout au long de l'estuaire, notamment par spectrométrie de masse haute résolution, et de poursuivre les travaux initiés dans le cadre du projet MOSAIC en précisant la nature de ces interactions (e.g. par quenching de fluorescence, extraction sur phase solide (SPE) couplée à la GC-MS...).

Par ailleurs, la nature du composé pharmaceutique joue un rôle sur les interactions possibles avec la MOD (Ding et al. 2013). Ainsi, lorsque l'on examine le lien existant entre la concentration de composés pharmaceutiques individuels et l'intensité des constituants de la MOD fluorescente, il apparaît que la quantité de la plupart des pharmaceutiques augmente avec celle de la MOD (Tableau 9). L'aténolol (bétabloquant) présente un comportement opposé aux autres composés. Par ailleurs, aucune relation n'existe entre la concentration en sotalol (autre bétabloquant) et la MOD fluorescente. Les comportements spécifiques de l'aténolol et du sotalol pourraient s'expliquer par leur caractère plus hydrophile par rapport aux autres composés pharmaceutiques (cf. valeurs de log Kow et logD ; Fig. 26).

	Carbamazépine	Oxazepam	Atenolol	Sotalol	Gabapentine	Diclofénac	Hydroxy Ibuprofène
C1	↗	↗	↘	■	↗	↗	↗
C2	↗	↗	■	■	↗	↗	↗
C3	↗	↗	↘	■	↗	↗	↗
C4	↗	↗	↘	■	↗	↗	↗
C5	↗	↗	↘	■	↗	↗	↗
C6	↗	↗	■	■	↗	↗	■

Tableau 9. Corrélations entre les constituants de la MOD fluorescente et différents composés pharmaceutiques. Les flèches croissantes (encadré vert) indiquent une corrélation positive, les flèches décroissantes (encadré bleu) une corrélation négative.

iii) MOD et hydrocarbures aromatiques polycycliques

De la même manière que pour les composés pharmaceutiques, la relation entre les constituants de la MOD fluorescence et les HAP a été étudiée et est présentée sur la Fig. 48.

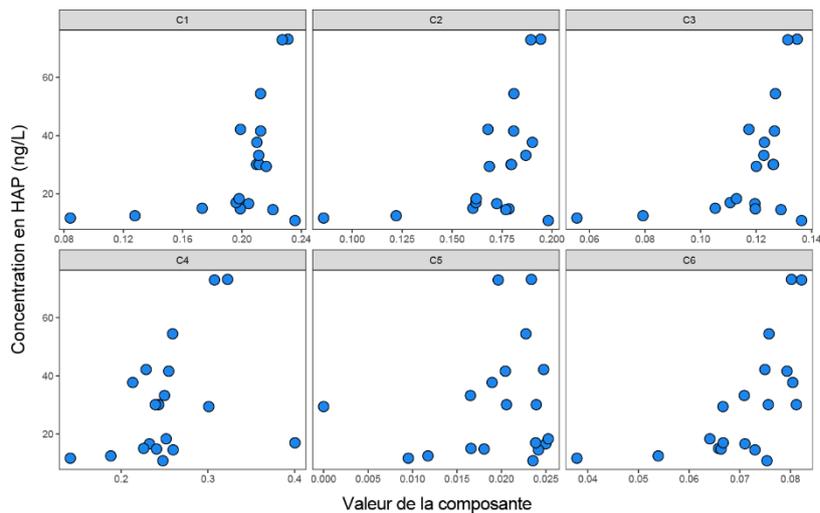


Figure 48. Relation entre la concentration en composés pharmaceutiques et les principaux constituants des spectres de fluorescence (C1 à C6) de la MOD, pour les échantillons de la campagne Dynamoseine 2 (avril 2016).

On observe une relation exponentielle entre la concentration totale en HAP dans la phase dissoute et l'intensité de l'ensemble des composants de la MOD fluorescente, excepté C5. L'absence de corrélation avec C5 pourrait être expliquée par l'origine spécifique de ce composant, qui semble provenir des stations d'épuration, contrairement aux autres constituants C1-C4 et C6, liés à la MO naturelle. Ce résultat suggère en tout cas que les dynamiques des HAP et de la MO sont étroitement liées dans l'estuaire de Seine. Cependant, le tableau 10 montre que seuls les HAP contenant 2 et 3 cycles interagissent avec la MOD fluorescente, principalement les constituants C1 à C3 représentant les deux principales sources de MO (terrigène et autochtone). Aucune relation n'a été observée entre la concentration en MOD fluorescente et celle des HAP à 4 cycles, probablement en lien avec le caractère plus hydrophobe de ces composés en comparaison des analogues à 2 et 3 cycles.

	2 CYCLES	3 CYCLES	4 CYCLES
C1	↗	↗	
C2	↗	↗	
C3	↗	↗	
C4	→		
C5			
C6	↗	↗	

Tableau 10. Corrélations entre les constituants de la MOD fluorescente et les HAP à 2, 3 et 4 cycles. Les flèches croissantes arrondies indiquent une corrélation positive exponentielle, les flèches droites une corrélation linéaire. La corrélation est d'autant plus forte que l'encadré vert est foncé.

iv) Phase particulaire et sédiment

Le croisement des données entre les contaminants organiques et la MO dans la phase particulaire s'est focalisé sur les HAP, les composés pharmaceutiques étant très peu

abondants dans ce compartiment. Comme dans la phase dissoute (Fig. 45), on observe globalement une augmentation de la concentration en HAP avec la teneur en carbone organique (C_{org}) dans le matériel en suspension (Fig. 49a).

Par ailleurs, la concentration en HAP normalisée par rapport à la quantité de C_{org} diminue de manière exponentielle avec une augmentation du $\delta^{13}C$ de la MOP (i.e. une MO plus marine ; Fig. 49b). Ce résultat montre que la quantité de HAP représente une part de moins en moins importante du matériel organique particulaire en allant de l'amont vers l'aval de l'estuaire. Par ailleurs, la concentration de chaque HAP pris individuellement diminue également avec le $\delta^{13}C$ de la MOP, montrant l'absence d'interactions préférentielles entre certains HAP et la MOP. A l'inverse, Countway et al. (2003) ont étudié les liens entre l'abondance relative des différents HAP et celle de constituants spécifiques de la MO – stérols et acides gras, deux familles de lipides utilisés comme marqueurs de sources de la MOP (allochtone/autochtone) – dans l'estuaire de York (Etats-Unis). Ces auteurs ont montré que la teneur en HAP les plus volatils était corrélée à celle en MOP autochtone, l'abondance en HAP les plus lourds étant corrélée avec la concentration MOP allochtone. Les interactions entre les HAP et la MOP semblent donc estuaire-dépendant et mériteraient une étude plus approfondie, en reproduisant l'approche développée par Countway et al. (2003).

Dans le sédiment, la concentration totale en HAP est également corrélée avec la teneur en C_{org} (Fig. 50a). Néanmoins, lorsque la teneur totale en HAP est normalisée par rapport au C_{org} , l'on s'aperçoit que cette dernière augmente avec le $\delta^{13}C$ de la MO, i.e. de l'amont vers l'aval de l'estuaire de Seine (Fig. 49b).

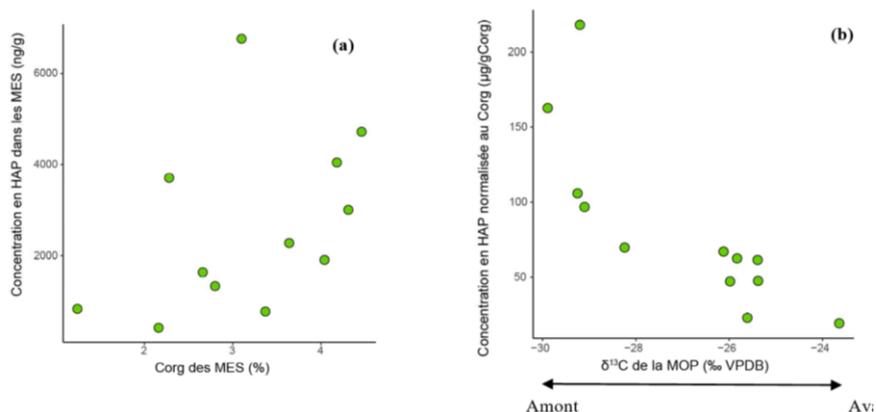


Figure 49. (a) Relation entre la concentration en HAP et la teneur en carbone organique dans la phase particulaire pour les échantillons de la campagne Dynamoseine 2 (avril 2016). (b) Relation entre la concentration en HAP et $\delta^{13}C$ de la MOP pour les échantillons de la campagne Dynamoseine 2 (avril 2016).

La diminution de la concentration en HAP dans les phases particulaires (Fig. 49) et dissoutes (Fig. A5 en annexe) le long de l'estuaire est donc à mettre en parallèle de l'augmentation de cette dernière dans le sédiment. Au final, nos résultats démontrent un transfert des HAP depuis les compartiments dissous et particulaires vers le sédiment, conduisant à une accumulation de ces composés dans le sédiment à l'embouchure de l'estuaire. Ce phénomène d'accumulation des HAP a précédemment été observé dans d'autres écosystèmes côtiers (e.g. Soclo et al., 2000).



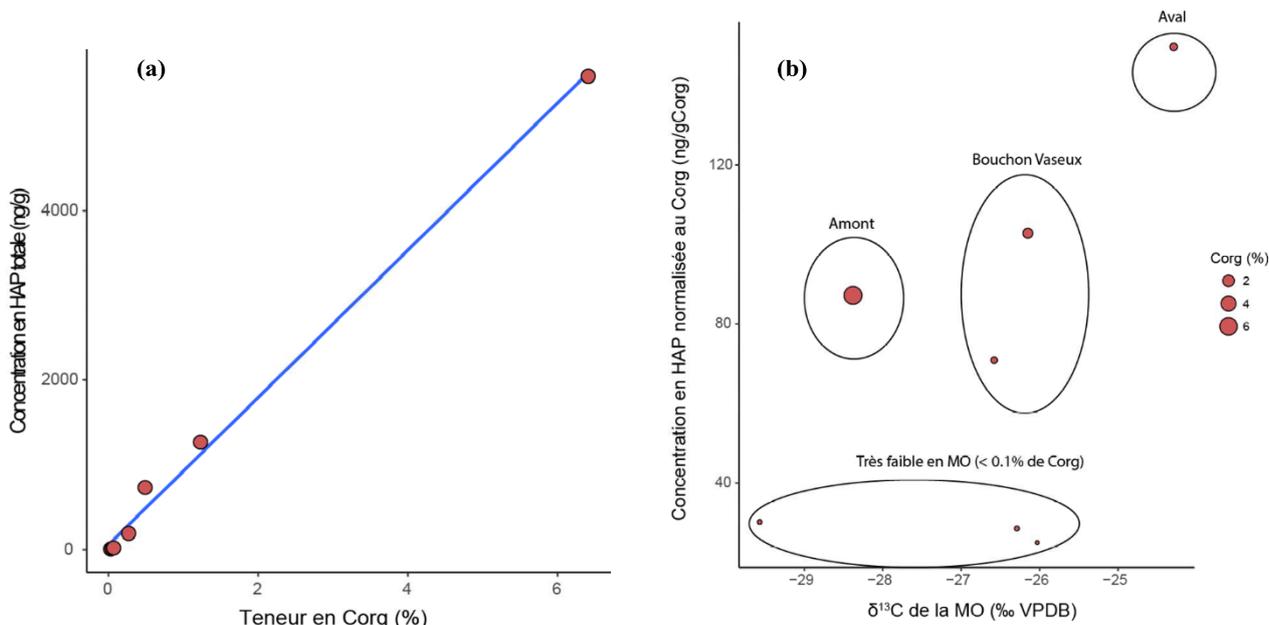


Figure 50. (a) Relation entre la concentration en HAP et la teneur en carbone organique dans le sédiment pour les échantillons de la campagne Dynamoseine 2 (avril 2016). (b) Relation entre la concentration en HAP et $\delta^{13}\text{C}$ de la MO sédimentaire pour les échantillons de la campagne Dynamoseine 2 (avril 2016).

L'accumulation de HAP dans la MO sédimentaire pourrait induire un plus fort taux de consommation de ces contaminants par les microorganismes benthiques, maillon d'entrée dans la chaîne alimentaire. Une augmentation de leur transfert dans le reste du réseau trophique pourrait entraîner une hausse des mutations génétiques et des cancers du biote dans la baie de Seine. Toutefois, la biodisponibilité des HAP dépend de nombreux facteurs, comme la qualité de la MO ou la nature de la matrice sédimentaire, qu'il conviendrait d'étudier plus en détail.

Principales conclusions :

- ✓ Les variations à la fois qualitatives et quantitatives de la MOD influencent directement les concentrations en composés pharmaceutiques et HAP dans la phase dissoute. Certains constituants de la MOD interagissent plus particulièrement avec les contaminants organiques. Les dynamiques de la MOD et des contaminants organiques, interdépendantes, montrent une forte variabilité saisonnière.
- ✓ La concentration en HAP, normalisée à la teneur en carbone organique de la MO, diminue le long de l'estuaire dans la phase particulaire et augmente en parallèle dans le sédiment. On observe donc une accumulation des HAP dans le compartiment sédimentaire à l'embouchure de l'estuaire.



Pour aller plus loin dans la compréhension des interactions MO-contaminants dans l'estuaire de Seine, des analyses conjointes, au niveau moléculaire et sur les mêmes échantillons, de la MO, des contaminants libres et des contaminants liés sont nécessaires. Des méthodes analytiques ont récemment pu être développées pour déterminer les quantités de composés pharmaceutiques (Ding et al., 2013) ou HAP (de Perre et al., 2014) liées à la MOD par SPE. De plus, l'utilisation de biomarqueurs lipidiques dans les phases particulaires et sédimentaires semble être prometteuse pour mieux élucider les sources des HAP (atmosphérique, érosion des sols, urbaines...).

L'analyse des contaminants souffre des problèmes liés à l'environnement très dilué qui limite parfois les interprétations. Afin d'approfondir les résultats et aborder des questions plus mécanistiques, il serait nécessaire de se focaliser sur un site (ex: Fatouville). Par ailleurs, il serait intéressant, toujours au niveau d'un seul site, de rechercher, en plus des interactions MO-contaminants, des couples composés parents produits de transformation afin de mettre en avant des processus de transformation *in situ*, au niveau du bouchon vaseux.

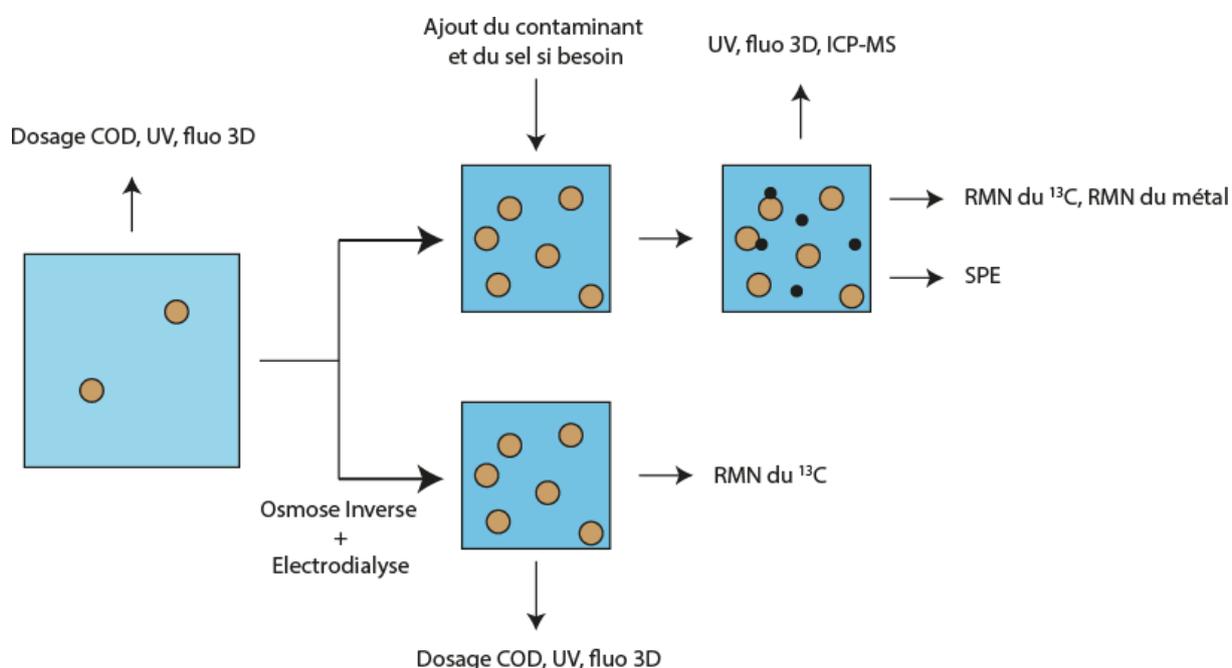


Figure 51. Schéma expérimental proposé pour l'étude des interactions entre la MOD et les contaminants

Il serait également intéressant d'étudier le lien entre la dynamique de la MO et des contaminants inorganiques dans l'estuaire de Seine, qui n'était pas prévu et n'a donc pas été abordé au cours du projet MOSAIC. En effet, la MOD est connue pour piéger les métaux, principalement grâce à ces fonctions carboxyliques et phénoliques (Ding et al., 2013). Afin de comprendre ces phénomènes, des enrichissements de l'eau de l'estuaire de Seine en métaux (^{63}Cu , ^{95}Mo , ^{59}Co , ^{75}As , ^{111}Cd) dans des échantillons préalablement concentrés et dessalés pourraient être effectués. L'étude des interactions MO-métaux se trouverait facilitée dans de telles conditions. Cette expérimentation permettrait de suivre la complexation des contaminants inorganiques avec la MOD. L'étude de l'effet de la salinité sur la formation de complexes MOD-métaux dans l'estuaire de Seine pourrait être effectuée en modifiant artificiellement la teneur en sels de l'eau. La nature des groupements fonctionnels liés aux métaux pourrait être déterminée par analyse RMN du métal



sélectionné. Par exemple, la RMN du ^{113}Cd permet de déterminer le type d'environnement chimique du Cd en solution aqueuse (Li et al., 1998). Cette analyse pourrait être complétée par un dosage des métaux dans la solution par ICP-MS.

La complexation des contaminants organiques et inorganiques pourrait également être suivie par quenching de fluorescence. En effet, lorsque la MOD se lie aux contaminants, l'intensité de fluorescence peut augmenter ou diminuer. L'étude des interactions MOD-contaminants devra être réalisée en parallèle d'une caractérisation fine de la MOD libre pour mieux élucider les interactions possibles. La figure 51 résume les différentes manipulations et analyses qui pourraient être réalisées.

2.4.2.2 *Lien entre la matière organique et les processus biogéochimiques du cycle de l'azote*

Au cours du projet, le devenir des nutriments et des éléments traces lors de leur transfert du milieu continental au milieu océanique, et notamment lors de leur passage dans le bouchon vaseux, a été étudié. Ces éléments ont été analysés dans les échantillons d'eau prélevés lors des différents cycles de marée des campagnes DYNAMOSEINE (Tableau 1 et Fig. 1). Les résultats obtenus indiquent que la plupart des nutriments (cf. Fig. A8-9 en annexe) et une grande partie des éléments traces (^7Li , ^{85}Rb , ^{89}Y , ^{95}Mo , ^{133}Cs , ^{137}Ba , ^{238}U , ^{197}Au , ^{205}Tl , ^{59}Co , ^{88}Sr) ont un comportement conservatif dans l'estuaire. D'autres éléments traces (^{111}Cd , ^{118}Sn , ^{208}Pb , ^{51}V , ^{52}Cr , ^{63}Cu , ^{75}As), ainsi que les nitrites et phosphates (Fig. A6 et A10 en annexe) présentent des résultats variables en fonction des sites et des campagnes.

En parallèle de ces mesures quantitatives, les activités et densités microbiennes associées au cycle de l'azote dans l'eau et les sédiments de l'estuaire ont plus particulièrement été quantifiées (cf. section III). Dans cette dernière partie du rapport, nous avons cherché à déterminer l'influence du type et de la quantité de MO dans l'eau et les sédiments sur les processus biogéochimiques et la présence de microorganismes du cycle de l'azote.

Dans la colonne d'eau, il apparaît tout d'abord que la production ou la consommation de NO_2 , intermédiaire de la dénitrification, est favorisée par de faibles teneurs en COD, une tendance opposée étant observée pour la consommation de NH_4^+ (mesurée en batch, en conditions oxiques ; Tableau 11). Par ailleurs, les nombres de microorganismes capables de réaliser la dénitrification ou la DNRA sont corrélés positivement à l'indice de fluorescence BIX (indice de production biologique), au rapport d'intensité des fluorophores β/α (lié à la MOD autochtone) et à l'indice *FI* (faible pour la MOD terrigène, élevé pour la MOD aquatique/microbienne), et sont corrélés négativement au HIX (indice d'humification de la MOD ; Tableau 11). La dénitrification et la DNRA sont donc favorisées en présence de MOD peu dégradée, d'origine autochtone, c'est-à-dire le type de MO détecté de manière prédominante dans l'estuaire et d'autant plus à l'aval (cf. résultats de la tâche MO). Ceci est cohérent avec le métabolisme hétérotrophe des microorganismes réalisant les processus de dénitrification et DNRA, qui, pour rappel, sont les micro-organismes associés aux MES, ayant été récupérés par filtration. Outre la quantité de MO, la qualité de cette dernière joue donc également un rôle important sur les processus biogéochimiques liés au cycle de l'azote, comme



précédemment observé dans d'autres estuaires (e.g. Eyre et al., 2013). La MO autochtone, enrichie en sucres

et composés azotés est facilement dégradable, et entraîne une hausse de l'activité microbienne, à l'inverse de la MO terrigène, moins biodégradable.

	COD	HIX	BIX	f450/f500	α/α	β/α	γ/α	SUVA	S275-290	Sr
μ organismes impliqués dans la dénitrification		↘	↗	↗		↗				
Bactéries impliquées dans la DNRA		↘	↗	↗		↗				
Bactéries					↘ log					
Archées										
Production N ₂ O		↘	↗							
Production CO ₂								↗	↘	
Production/Consommation NO ₂	↘							↗		
Production NO ₃										
Consommation NH ₄	↗									

BATCH (conditions oxiques)

Tableau 11. Corrélations entre la teneur en COD, les caractéristiques de la MOD (reflétées par différents indices de fluorescence – HIX, BIX f450/f500 –, les rapports d'intensité des constituants de la MOD fluorescente et des indices calculés à partir de spectres UV – SUVA, S275-S290, Sr) et les processus biogéochimiques + les microorganismes du cycle de l'azote dans la colonne d'eau.

Dans le sédiment, d'un point de vue quantitatif, des teneurs en carbone organique élevées entraînent de plus forts taux de réduction de nitrate, de production de nitrites et d'ammonium (mesurés en conditions anoxiques ; Tableau 12). Ce lien entre les capacités de dénitrification et la quantité de carbone organique a déjà été démontré dans des sédiments estuariens et marins (Hardison et al., 2015), mais également dans les sols (Burford and Bremner, 1975). Nous n'avons par contre pas observé dans l'estuaire de Seine de corrélation significative entre les processus liés au cycle de l'azote et le caractère frais/réfractaire de la MO (Tableau 12). Ce résultat est en accord avec les conclusions tirées de l'étude conjointe de la MO et de ces mêmes processus dans les vasières de l'estuaire de Seine (projet SA4 RE2). L'effet de la qualité de la MO sur le taux de dénitrification semble cependant lié au site d'échantillonnage. Ainsi, Dodla et al. (2008) ont observé des corrélations positives entre les teneurs en polysaccharides (MO fraîche) et les taux de dénitrification, et négatives avec les composants phénoliques (MO réfractaire).

En parallèle, si l'on s'intéresse au nombre de bactéries dénitrifiantes dans le sédiment, on s'aperçoit que ce dernier diminue lorsque le rapport C/N de la MO augmente, i.e. que la MO est plus dégradée (Tableau 12). Comme dans la colonne d'eau, on observe donc un lien direct entre le nombre de bactéries responsables de la dénitrification et la fraîcheur de la MO. Enfin, les nombres de bactéries et d'archées détectés dans les sédiments de l'estuaire de Seine tendent à diminuer lorsque le $\delta^{13}\text{C}$ de la MO augmente, i.e. vers le milieu marin. Le nombre de



microorganismes liés au cycle de l'azote diminue donc le long de l'estuaire, en lien avec la diminution de la quantité de MO de l'amont vers l'aval. Ces résultats, obtenus dans la colonne d'eau et le sédiment, seront complétés par l'étude détaillée de la MO et des processus biogéochimiques (cycle de l'azote en particulier) dans la vase Nord de l'estuaire de Seine (projet SA6 PHARE-SEE).

	Corg (%)	TN (%)	$\delta^{13}C$	$\delta^{15}N$	C/N	Age	Granulométrie	Sucres (mg/gsed)	Protéines (mg/gsed)	Sucres (mg/gCorg)	Protéines (mg/gCorg)
μ organismes impliqués dans la dénitrification				↗	↘						
Bactéries impliquées dans la DNRA											
Bactéries			↘						↘		
Archées			↘	log							
REACTEUR (conditions anoxiques)	Production NO ₂	↗	↗			↗	↘		↘		↘
	Reduction NO ₃	↗	↗						↘		
	Production NH ₄	↗	↗						↘		
BATCH (conditions oxic)	Production N ₂ O			↘							↘
	Production CO ₂	↗	↗	↘							↘
	Production NO ₃	↘	↘				↗				
	Consommation NH ₄	↘	↘		↗	↘	↗				

Tableau 12. Corrélations entre la teneur en carbone organique du sédiment, les caractéristiques de la MO et les processus biogéochimiques + les microorganismes du cycle de l'azote.

Conclusion :

L'estuaire dans son ensemble révèle un potentiel à épurer les charges importantes en azote qu'il contient comme le montrent de façon concordante les nombres de micro-organismes dénitrifiants, les taux de réduction de nitrates et les fortes teneurs en MO métabolisables par les micro-organismes. Ceci confirme ce qui avait été montré dans une précédente étude Seine-Aval (RE2) sur les vaseières. Il conviendrait maintenant de s'intéresser à l'activité des micro-organismes en plus de leur présence.



Conclusion

Le projet MOSAIC avait pour but de contraindre les sources et le devenir de la MO dans l'estuaire de Seine au niveau global et moléculaire, et de déterminer sa variabilité spatio-temporelle. Nous avons en parallèle cherché à étudier l'influence des modifications qualitatives et quantitatives de la MO sur la dynamique des nutriments et de deux classes de contaminants (hydrocarbures aromatiques polycycliques - HAP et composés pharmaceutiques) dans l'estuaire de Seine. Afin d'atteindre ces objectifs, 5 campagnes d'échantillonnage ont été réalisées sur le navire Côtes de la Manche (CNRS/INSU) entre janvier 2015 et avril 2016. Ces campagnes ont couvert les différentes parties de l'estuaire : en amont (Rouen / Caudebec), dans le bouchon vaseux (BV, zone de turbidité maximale, entre Fatouville et Tancarville) et en aval de ce dernier (Honfleur ou La Carosse). Des prélèvements d'eau (environ 500 pour l'ensemble des campagnes) et de sédiment (8 carottes de 10 cm) ont été effectués dans chaque partie de l'estuaire.

Les caractéristiques de la MO sous ses différentes formes (dissoutes/colloïdales - MOD ; particulaire - MOP ; sédimentaire) ont été déterminées au niveau global et moléculaire. L'analyse en composantes principales réalisées à partir de ces données a montré une forte variation de la signature de la MO entre les compartiments, la composition de la MOD différant de manière significative de celle de la MOP et MO sédimentaire. La datation des échantillons au ^{14}C a par ailleurs révélé l'âge récent (> 1950) de la MOD et de la MOP, contrairement à la MO sédimentaire, dont l'âge (jusqu'à 1000 ans B.P.) dépend fortement de la saison et des conditions hydroclimatiques associées. La variabilité spatiale des caractéristiques de la MO le long de l'estuaire a également été mise en avant. Ainsi, le mélange des eaux douces et marines semble être le principal facteur contrôlant la composition de la MO dans l'estuaire, comme le révèle (i) l'augmentation linéaire du $\delta^{13}\text{C}$ de la MOP de l'amont vers l'aval et (ii) la diminution concomitante de la diversité moléculaire de la MOD déduite des analyses de spectrométrie de masse haute résolution (ca. 5000 molécules en amont vs. 2700 à l'aval). Par ailleurs, la dilution non linéaire de la MOD le long de l'estuaire a montré son caractère hautement dynamique, qui ne résulte pas uniquement d'un mélange des eaux douces et marines, mais subit des transformations de l'amont vers l'aval et est soumise à des apports variés. La combinaison des analyses isotopiques et moléculaires de la MO indique en outre une origine principalement autochtone de cette dernière dans l'estuaire, même si des composés d'origine terrigène ont pu être détectés dans les différents échantillons. Enfin, des variations saisonnières de composition de la MO ont été observées, les analyses spectroscopiques montrant par exemple que la MOD est plus aromatique et a une masse plus élevée en hiver qu'en été.

En parallèle, nos résultats ont également montré que les nutriments et une grande partie des éléments traces avaient un comportement conservatif dans l'estuaire. Différents processus biogéochimiques transforment les nutriments en dégradant la MO. Nous avons cherché à inventorier les activités et les micro-organismes associés aux cycles biogéochimiques dans l'eau et les sédiments de l'estuaire, avec un focus particulier sur le cycle de l'azote. La colonne d'eau et en particulier le bouchon vaseux montre une disparition de nitrate, une production de N_2O et une abondance très importante de bactéries dénitrifiantes. Ceci indique une activité dénitrifiante dans cet environnement globalement oxygène et suggère la présence de microniches anoxiques dans les matières en suspension de la colonne d'eau pour permettre à ce processus d'avoir lieu. Les taux de réduction de



nitrate sont beaucoup plus élevés (facteur 1000) dans les sédiments en raison de conditions plus favorables, à savoir la présence de matière organique et l'absence d'oxygène. Il en découle que les sédiments se comportent comme des puits de NO_3^- . La dégradation de la MO dans les sédiments entraîne un flux d'ammonium émis par les sédiments.

Les analyses de contaminants organiques ont montré que les HAP légers étaient présents préférentiellement dans la phase dissoute et les plus lourds dans le sédiment et la phase particulaire, et que leur concentration dans l'eau était fortement liée à la marée (diminution d'un facteur 2 à 3 entre la pleine mer et la basse mer). A l'inverse, la teneur en HAP dans la phase particulaire est globalement constante aux périodes étudiées. En parallèle, un screening des composés pharmaceutiques a été réalisé sur un panel d'échantillons, permettant d'identifier 8 molécules « traceurs », considérées comme représentatives de l'ensemble des composés. Ces derniers sont faiblement concentrés dans les sédiments et dans la phase particulaire, et ont majoritairement (99%) été détectés dans la phase dissoute. Les concentrations en composés pharmaceutiques sont globalement stables en amont et dans le bouchon vaseux, et diminuent uniquement à l'embouchure. Par ailleurs, elles sont fortement dépendantes de la marée (basse mer vs. pleine mer) et des conditions hydrologiques (débit et hauteur d'eau). Ainsi, à Fatouville et Honfleur, les concentrations en composés pharmaceutiques peuvent varier jusqu'à 80 % en quelques heures en période de bas débit (mesuré à Poses) et de fort coefficient de marée.

Dans un dernier temps, les dynamiques de la MO, des contaminants et des nutriments ont été examinées conjointement. Nous avons montré que les variations à la fois qualitatives et quantitatives de la MOD influencent directement les concentrations en composés pharmaceutiques et HAP dans la phase dissoute. Certains constituants de la MOD interagissent plus particulièrement avec les contaminants organiques. Les interactions MO-contaminants organiques dépendent de la nature de la MO et des contaminants. La dynamique de la MOD et des contaminants organiques, interdépendantes, montrent une forte variabilité saisonnière. Par ailleurs, La concentration en HAP, normalisée à la teneur en carbone organique de la MO, diminue le long de l'estuaire dans la phase particulaire et augmente en parallèle dans le sédiment. On observe donc une accumulation des HAP dans le compartiment sédimentaire à l'embouchure de l'estuaire de Seine. De même, la dynamique de la MO et celle des composés azotés sont étroitement liées. L'estuaire a ainsi un fort potentiel à épurer les charges importantes en azote qu'il contient comme le montrent de façon concordante les nombres de micro-organismes dénitrifiants, les taux de réduction de nitrates et les fortes teneurs en MO métabolisables par les micro-organismes.

Au final, le projet MOSAIC a démontré, via des approches distinctes et complémentaires, les interactions étroites entre dynamique de la MO, des contaminants et des nutriments dans la colonne d'eau et le sédiment. Les nombreux résultats obtenus, regroupés dans une base de données à disposition de la communauté scientifique, pourront servir à alimenter les modèles de dynamique biogéochimique de l'estuaire de Seine.



BIBLIOGRAPHIE

- Abril, G., Nogueira, M., Etcheber, H., Cabeçadas, G., Lemaire, E., Brogueira, M.J., 2002. Behaviour of Organic Carbon in Nine Contrasting European Estuaries. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 54, 241–262.
- Aminot, Y., 2013. Etude de l'impact des effluents urbains sur la qualité des eaux de la Garonne : application aux composés pharmaceutiques et aux filtres Uv.
- Asmala, E., Stedmon, C. a., Thomas, D.N., 2012. Linking CDOM spectral absorption to dissolved organic carbon concentrations and loadings in boreal estuaries. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 111, 107–117.
- Baalousha, M., Stolpe, B., Lead, J.R., 2011. Flow field-flow fractionation for the analysis and characterization of natural colloids and manufactured nanoparticles in environmental systems: a critical review. *J. Chromatogr. A* 1218, 4078–103.
- Baldock J.A., Masiello C.A., Gélinais Y., Hedges J.I., 2004. Cycling and composition of organic matter in terrestrial and marine ecosystems. *Marine Chemistry* 92, 39-64.
- Bernhard, A.E., Landry, Z.C., Blevins, A., de la Torre, J.R., Giblin, A.E. and Stahl, D.A. (2010) Abundance of Ammonia-Oxidizing Archaea and Bacteria along an Estuarine Salinity Gradient in Relation to Potential Nitrification Rates. *Applied and Environmental Microbiology* 76(4), 1285-1289.
- Bittar, T.B., Berger, S.A., Birsa, L.M., Walters, T.L., Thompson, M.E., Spencer, R.G.M., Mann, E.L., Stubbins, A., Frischer, M.E., Brandes, J.A., 2016. Seasonal dynamics of dissolved, particulate and microbial components of a tidal saltmarsh-dominated estuary under contrasting levels of freshwater discharge. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 182, 72-85.
- Blough, N.V., Del Vecchio, R., 2002. Chromophoric DOM in the coastal environment, in: Hansell, D.A., Carlson, C.A. (Eds.), . Elsevier, Amsterdam, pp.509–578.
- Budzinski, H., Forget-Leray, J., Aït-Aïssa, S., 2014. MEDSEINE, étude de la contamination par les médicaments de l'estuaire de Seine. Application des capteurs passifs à un meilleur diagnostic de leur présence, flux, et impact toxique. *Rapp. Seine-Aval*.
- Budzinski, H., Jones, I., Bellocq, J., Picrard, C., Garrigues, P., 1997. Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary. *Mar. Chem.* 58, 85–97.
- Burford, J.R., Bremner, J.M., 1975. Relationships between the denitrification capacities of soils and total, water-soluble and readily decomposable soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 7, 389-394.
- Cachot, J., Forget-Leray, J., Ouddane, B., Deloffre, J., 2012. TOXSEINE : Analyse de la toxicité globale et identification des composés toxiques à risque dans l'estuaire de Seine (Seine-Aval 4).
- Cailleaud, K., Forget-Leray, J., Peluhet, L., Lemenach, K., Souissi, S., Budzinski, H., 2009. Tidal influence on the distribution of hydrophobic organic contaminants in the Seine Estuary and biomarker responses on the copepod *Eurytemora affinis*. *Environ. Pollut.* 157, 64–71.
- Cailleaud, K., Forget-Leray, J., Souissi, S., Hilde, D., Lemenach, K., Budzinski, H., 2007. Seasonal variations of hydrophobic organic contaminant concentrations in the water-column of the Seine Estuary and their transfer to a planktonic species *Eurytemora affinis*. Part 1 : PCBs and PAHs. *Chemosphere* 70, 270–280.
- Carstea, E.M., Baker, A., Bieroza, M., Reynolds, D., 2010. Continuous fluorescence excitation–emission matrix monitoring of river organic matter. *Water Res.* 44, 5356–5366.
- Catalá, T.S., Álvarez-Salgado, X.A., Otero, J., Iuculano, F., Companys, B., Horstkotte, B., Romera-Castillo, C., Nieto-Cid, M., Latasa, M., Morán, X.A.G., 2016. Drivers of fluorescent dissolved organic matter in the global epipelagic ocean. *Limnol. Oceanogr.* 61, 1101–1119.
- Cawley, K.M., Butler, K.D., Aiken, G.R., Larsen, L.G., Huntington, T.G., McKnight, D.M., 2012. Identifying fluorescent pulp mill effluent in the Gulf of Maine and its watershed. *Mar. Pollut. Bull.* 64, 1678–87.
- Chen, H., Meng, W., Zheng, B., Wang, C., An, L., 2013. Optical signatures of dissolved organic matter in the watershed of a globally large river (Yangtze River, China). *Limnol. - Ecol. Manag. Int. Waters* 43, 482–491.
- Chin, Y.P., Aiken, G.R., O'Loughlin, E., 1994. Molecular weight, polydispersity, and spectroscopic properties of aquatic humic substances. *Environ. Sci.* ... 28, 1853–1858.
- Coble, P.G., 1996. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Mar. Chem.* 51, 325–346.
- Countway, R.E., Dickhut, R.M., Canuel, E.A., 2003. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) distributions and associations with organic matter in surface waters of the York River, VA Estuary. *Org. Geochem.* 34, 209-224.



- Couturier, M., Nozais, C., Chaillou, G., 2016. Microtidal subterranean estuaries as a source of fresh terrestrial dissolved organic matter to the coastal ocean. *Mar. Chem.* 186, 46–57.
- Cory, R.M., McKnight, D.M., 2005. Fluorescence spectroscopy reveals ubiquitous presence of oxidized and reduced quinones in dissolved organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 39, 8142–9.
- Del Vecchio, R., Blough, N. V., 2004. On the origin of the optical properties of humic substances. *Environ. Sci. Technol.* 38, 3885–91.
- Ding, Y., Teppen, B.J., Boyd, S.A., Li, H., 2013. Measurement of associations of pharmaceuticals with dissolved humic substances using solid phase extraction. *Chemosphere* 91, 314–319.
- Dodla, S.K., Wang, J.J., DeLaune, R.D. and Cook, R.L. (2008) Denitrification potential and its relation to organic carbon quality in three coastal wetland soils. *Science of the Total Environment* 407(1), 471–480.
- Eyre, B.D., Maher, D.T., Squire, P., 2013. Quantity and quality of organic matter (detritus) drives N₂ effluxes (net denitrification) across seasons, benthic habitats, and estuaries. *Global Biogeochem. Cycles* 27, 1083–1095
- Fellman, J.B., D'Amore, D. V., Hood, E., Boone, R.D., 2008. Fluorescence characteristics and biodegradability of dissolved organic matter in forest and wetland soils from coastal temperate watersheds in southeast Alaska. *Biogeochemistry* 88, 169–184.
- Fellman, J.B., Hood, E., Spencer, R.G.M., 2010. Fluorescence spectroscopy opens new windows into dissolved organic matter dynamics in freshwater ecosystems: A review. *Limnol. Oceanogr.* 55, 2452–2462.
- Fernandes, M.B., Sicre, M., Boireau, A., Tronczynski, J., 1997. Polyaromatic Hydrocarbon (PAH) Distributions in the Seine River and its Estuary. *Mar. Chem.* 34, 857–867.
- Guéguen, C., Guo, L., Yamamoto-Kawai, M., Tanaka, N., 2007. Colored dissolved organic matter dynamics across the shelf-basin interface in the western Arctic Ocean. *J. Geophys. Res.* 112, C05038.
- Guéguen, C., Cuss, C.W., 2011. Characterization of aquatic dissolved organic matter by asymmetrical flow field-flow fractionation coupled to UV–Visible diode array and excitation emission matrix fluorescence. *J. Chromatogr. A* 1218, 4188–98.
- Guo, W., Yang, L., Hong, H., Stedmon, C.A., Wang, F., Xu, J., Xie, Y., 2011. Assessing the dynamics of chromophoric dissolved organic matter in a subtropical estuary using parallel factor analysis. *Mar. Chem.* 124, 125–133.
- Hardison, A. K., Algar, C. K., Giblin, A. E. & Rich, J. J., 2015. Influence of organic carbon and nitrate loading on partitioning between dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) and N₂ production. *Geochim. Cosmochim. Acta* 164, 146–160
- Hassellöv, M., 2005. Relative molar mass distributions of chromophoric colloidal organic matter in coastal seawater determined by Flow Field-Flow Fractionation with UV absorbance and fluorescence detection. *Mar. Chem.* 94, 111–123.
- Hayase, K., Shinozuka, N., 1995. Vertical distribution of fluorescent organic matter along with AOU and nutrients in the equatorial Central Pacific. *Mar. Chem.* 48, 283–290.
- Hedges J.I., Keil R.G., Benner R., 1997. What happens to terrestrial organic matter in the ocean? *Organic Geochemistry* 27, 195–212.
- Helms, J.R., Stubbins, A., Ritchie, J.D., Minor, E.C., Kieber, D.J., Mopper, K., 2008. Absorption spectral slopes and slope ratios as indicators of molecular weight, source, and photobleaching of chromophoric dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.* 53, 955–969.
- Helms J.R., Mao J., Chen H., Perdue J.M., Green N.W., Hatcher P.G., Mopper K., Stubbins A., 2015. Spectroscopic characterization of oceanic dissolved organic matter isolated by reverse osmosis coupled with electro dialysis. *Marine Chemistry* 177, 278–287.
- Hernes, P.J., Benner, R., 2003. Photochemical and microbial degradation of dissolved lignin phenols: Implications for the fate of terrigenous dissolved organic matter in marine environments. *J. Geophys. Res.* 108, 3291.
- Huguet, A., Vacher, L., Relexans, S., Saubusse, S., Froidefond, J.-M.J.M., Parlanti, E., 2009. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. *Org. Geochem.* 40, 706.
- Huguet, A., Vacher, L., Saubusse, S., Etcheber, H., Abril, G., Relexans, S., Ibalot, F., Parlanti, E., 2010. New insights into the size distribution of fluorescent dissolved organic matter in estuarine waters. *Org. Geochem.* 41, 595–610.
- Jaffé, R., Boyer, J.N., Lu, X., Maie, N., Yang, C., Scully, N.M., Mock, S., 2004. Source characterization of dissolved organic matter in a subtropical mangrove-dominated estuary by fluorescence analysis. *Mar. Chem.* 84, 195–210.



- Jaffé, R., McKnight, D., Maie, N., Cory, R., McDowell, W.H., Campbell, J.L., 2008. Spatial and temporal variations in DOM composition in ecosystems: The importance of long-term monitoring of optical properties. *J. Geophys. Res.* 113, G04032.
- Jiao W., Wang T., Khim J.S., Luo W., Hu W., Naile J.E., Giesy J.P., Lu Y., 2012. PAHs in surface sediments from coastal and estuarine areas in the northern Bohai and Yellow Seas, China. *Environ. Geochem. Health* 34, 445-456.
- Jørgensen, L., Stedmon, C. a., Kragh, T., Markager, S., Middelboe, M., Søndergaard, M., 2011. Global trends in the fluorescence characteristics and distribution of marine dissolved organic matter. *Mar. Chem.* 126, 139–148.
- Kammer, F. v. d., Baborowski, M., Friese, K., 2005. Field-flow fractionation coupled to multi-angle laser light scattering detectors: Applicability and analytical benefits for the analysis of environmental colloids. *Anal. Chim. Acta* 552, 166–174.
- Kitidis, V., Stubbins, A.P., Uher, G., Goddard, R.C.U., Law, C.S., Woodward, E.M.S., 2006. Variability of chromophoric organic matter in surface waters of the Atlantic Ocean. *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* 53, 1666–1684.
- Koprivnjak J.F., Perdue E.M., Pfromm P.H., 2006. Coupling reverse osmosis with electro dialysis to isolate natural organic matter from fresh waters. *Water Research* 40, 3385-3392.
- Koprivnjak J.F., Pfromm P.H., Ingall E., Vetter T.A., Schmitt-Kopplin P., Hertkorn N., Frommberger M., Knicker H., Perdue E.M., 2009. Chemical and spectroscopic characterization of marine dissolved organic matter isolated using coupled reverse osmosis– electro dialysis. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 73, 4215–4231.
- Kowalczyk, P., Tilstone, G.H., Zabłocka, M., Röttgers, R., Thomas, R., 2013. Composition of dissolved organic matter along an Atlantic Meridional Transect from fluorescence spectroscopy and Parallel Factor Analysis. *Mar. Chem.* 157, 170–184.
- Lamb A.L., Wilson G.P., Leng M.J., 2006. A review of coastal and palaeoclimate and relative sea-level reconstructions using $\delta^{13}C$ and C/N ratios in organic material. *Earth Science Reviews* 75, 29-57.
- Lambert, T., Teodoru, C.R., Nyoni, F.C., Bouillon, S., Darchambeau, F., Massicotte, P., Borges, A. V., 2016. Along-stream transport and transformation of dissolved organic matter in a large tropical river. *Biogeosciences* 13, 2727–2741.
- Lara-martín, P.A., González-mazo, E., Petrovic, M., Barceló, D., Brownawell, B.J., 2014. Occurrence, distribution and partitioning of nonionic surfactants and pharmaceuticals in the urbanized Long Island Sound Estuary (NY). *Mar. Pollut. Bull.* 85, 710–719.
- Laverman, A.M., Van Cappellen, P., van Rotterdam-Los, D., Pallud, C. and Abell, J. (2006) Potential rates and pathways of microbial nitrate reduction in coastal sediments. *FEMS Microbiology Ecology* 58(2), 179-192.
- Laverman A. M., Pallud C.P., Abell, J. and Van Cappellen, P (2012) Comparative survey of potential nitrate and sulfate reduction rates in aquatic sediments. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 77, 474-488.
- Laverman A. (coord.), Derenne S., 2012. Projet RE2 : Rôle Epurateur de réductions des nitrates et Restauration Ecologique de l'estuaire de la Seine. *Projet Seine-Aval* 4, 25p.
- Li, J., Perdue, E.M., Gelbaum, L.T., 1998. Using Cadmium-113 NMR spectrometry to study metal complexation by natural organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 32, 483-487.
- Liang, X., Chen, B., Nie, X., Shi, Z., Huang, X., Li, X., 2013. Chemosphere The distribution and partitioning of common antibiotics in water and sediment of the Pearl River Estuary, South China. *Chemosphere* 92, 1410–1416.
- Lougheed B.C., Obrochta S.P., Lenz C., Mellström A., Metcalfe B., Muscheler R., Rieinholdsson M., Snowball I., Zillén L., 2017. Bulk sediment ^{14}C dating in an estuarine environment: How accurate can it be? *Paleoceanography* 32, 123-131.
- Luo, X., Mai, B., Yang, Q., Fu, J., Sheng, G., 2004. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and organochlorine pesticides in water columns from the Pearl River and the Macao harbor in the Pearl River Delta in South China. *Mar. Pollut. Bull.* 48, 1102– 1115.
- Mc Guirk Flynn A., 2008. Organic Matter and Nutrient Cycling in a Coastal Plain Estuary: Carbon, Nitrogen, and Phosphorus Distributions, Budgets, and Fluxes. *Journal of Coastal Research* 55, pp. 76 – 94.
- McKnight, D.M., Boyer, E.W., Westerhoff, P.K., Doran, P.T., Kulbe, T., Andersen, D.T., 2001. Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity. *Limnol. Oceanogr.* 46,



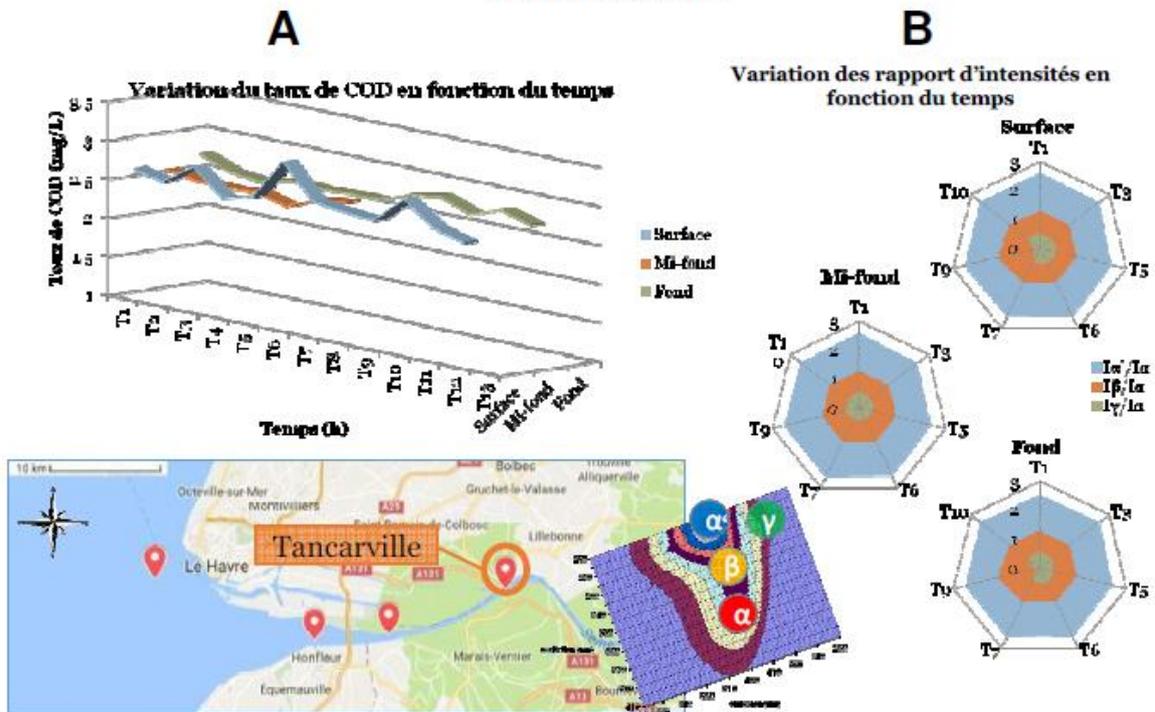
- Matilainen, A., Gjessing, E.T., Lahtinen, T., Hed, L., Bhatnagar, A., Sillanpää, M., 2011. An overview of the methods used in the characterisation of natural organic matter (NOM) in relation to drinking water treatment. *Chemosphere* 83, 1431–1442.
- Mopper, K., Schultz, C.A., 1993. Fluorescence as a possible tool for studying the nature and water column distribution of DOC components. *Mar. Chem.* 41, 229–238.
- Murphy, K.R., Stedmon, C.A., Waite, T.D., Ruiz, G.M., 2008. Distinguishing between terrestrial and autochthonous organic matter sources in marine environments using fluorescence spectroscopy. *Mar. Chem.* 108, 40–58.
- Murphy, K.R., Stedmon, C. a., Graeber, D., Bro, R., 2013. Fluorescence spectroscopy and multi-way techniques. *PARAFAC. Anal. Methods* 5, 6557.
- Meyers P.A., 1994. Preservation of elemental and isotopic source identification of sedimentary organic matter. *Chemical Geology* 114, 289-302.
- Middelburg J.J., Nieuwenhuize J., 1998. Carbon and nitrogen stable isotopes in suspended matter and sediments from the Schelde Estuary. *Marine Chemistry* 60, 217-225.
- Niu L., Cai H., Van Gelder P.H.A.J.M., Luo P., Liu F., Yang Q., 2018. Dynamics of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in water column of Pearl River Estuary (China): Seasonal pattern, environmental fate and source implication. *Applied Geochemistry* 90, 39-49.
- Ogilvie, B., D. B. Nedwell, R. M. Harrison, A. Robinson, and A. Sage. 1997. High nitrate, muddy estuaries as nitrogen sinks: the nitrogen budget of the River Colne estuary (United Kingdom). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 150:217–228.
- Osburn, C.L., Boyd, T.J., Montgomery, M.T., Bianchi, T.S., Coffin, R.B., Paerl, H.W., 2016. Optical Proxies for Terrestrial Dissolved Organic Matter in Estuaries and Coastal Waters. *Front. Mar. Sci.* 2, 127.
- Parlanti, E., Worz, K., Geoffroy, L., Lamotte, M., 2000. Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. *Org. Geochem.* 31, 1765–1781.
- Papaspyrou, S., Smith, C.J., Dong, L.F., Whitby, C., Dumbrell, A.J. and Nedwell, D.B. (2014) Nitrate Reduction Functional Genes and Nitrate Reduction Potentials Persist in Deeper Estuarine Sediments. Why? *Plos One* 9(4).
- Parot J., 2016. Développement méthodologique du fractionnement par couplage flux / force (AF4) et spectroscopie optique pour l'étude de la matière organique dissoute aquatique : Application aux estuaires de Seine et de Gironde. Thèse de l'Université de Bordeaux, 332 pages.
- de Perre, C., Le Menach, K., Ibalot, F., Parlanti, E., Budzinski, H., 2014. Development of solid-phase microextraction to study dissolved organic matter-Polycyclic aromatic hydrocarbon interactions in aquatic environment, *Anal. Chim. Acta* 807, 51-60.
- Ross, J.R.M., Oros, D.R., 2004. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the San Francisco Estuary water column : Sources , spatial distributions , and temporal trends (1993 – 2001). *Chem. Cent. J.* 57, 909–920.
- Santschi P.H., Lenhart J.J., Honeyman B.D., 1997. Heterogeneous processes affecting trace contaminant distribution in estuaries: The role of natural organic matter. *Marine Chemistry* 58, 99-125.
- Socio H.H., Garrigues P.H., Ewald M., 2000. Origin of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in coastal marine sediments: case studies in Cotonou (Benin) and Aquitaine (France) areas. *Marine Pollution Bulletin* 40, 387-396.
- Stedmon, C.A., Markager, S., Bro, R., 2003. Tracing dissolved organic matter in aquatic environments using a new approach to fluorescence spectroscopy. *Mar. Chem.* 82, 239–254.
- Stedmon, C.A., Markager, S., 2005. Tracing the production and degradation of autochthonous fractions of dissolved organic matter by fluorescence analysis. *Limnol. Oceanogr.* 50, 1415.
- Stedmon, C.A., Bro, R., 2008. Characterizing dissolved organic matter fluorescence with parallel factor analysis: a tutorial. *Limnol. Ocean. Methods* 6, 572–579.
- Stubbins, A., Hood, E., Raymond, P. a., Aiken, G.R., Sleighter, R.L., Hernes, P.J., Butman, D., Hatcher, P.G., Striegl, R.G., Schuster, P., Abdulla, H. a. N., Vermilyea, A.W., Scott, D.T., Spencer, R.G.M., 2012. Anthropogenic aerosols as a source of ancient dissolved organic matter in glaciers. *Nat. Geosci.* 5, 198–201.
- Talbot M.R., Johannessen T., 1992. A high resolution paleoclimatic record for the last 27,500 years in tropical West Africa from the carbon and nitrogen isotopic composition of lacustrine organic matter. *Earth and Planetary Science Letters* 110, 23-37.
- Togola, A., 2006. Présence et devenir des substances pharmaceutiques dans les écosystèmes aquatiques.



- Togola, A., Budzinski, H., 2007. Analytical development for analysis of pharmaceuticals in water samples by SPE and GC – MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 627–635
- Tzortziou M., Zeri C., Dimitriou E., Ding Y., Jaffé R., Anagnostou E., Pitta E., Mentzafou A., 2015. Colored dissolved organic matter dynamics and anthropogenic influences in a major transboundary river and its coastal wetland. *Limnol. Oceanogr.* 60, 1222– 1240.
- Vacher, L., 2004. Etude par fluorescence des propriétés de la matière organique dissoute dans les systèmes estuariens. Cas des estuaires de la Gironde et de la Seine. Thèse de l'Université Bordeaux 1, 255 pages.
- Wada E., Minagawa M., Mizutani H. et al., 1987. Biogeochemical studies on the transport of organic matter along the Otsuchi River watershed, Japan. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 25, 321-336.
- Wang Z., Liu Z., Xu K., Mayer L.M., Zhang Z., Kolker A.S., Wu W., 2014. Concentrations and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface coastal sediments of the northern Gulf of Mexico. *Geochem. Trans.* 15, 2.
- Weishaar, J.L., Aiken, G.R., Bergamaschi, B. a, Fram, M.S., Fujii, R., Mopper, K., 2003. Evaluation of specific ultraviolet absorbance as an indicator of the chemical composition and reactivity of dissolved organic carbon. *Environ. Sci. Technol.* 37, 4702–8.
- Yamashita, Y., Boyer, J.N., Jaffé, R., 2013. Evaluating the distribution of terrestrial dissolved organic matter in a complex coastal ecosystem using fluorescence spectroscopy. *Cont. Shelf Res.* 66, 136–144.
- Yang, Y., Fu, J., Peng, H., Hou, L., Liu, M., Zhou, J.L., 2011. Occurrence and phase distribution of selected pharmaceuticals in the Yangtze Estuary and its coastal zone 190, 588–596.
- Yang, L., Chen, C.-T.A., Hong, H., Chang, Y.-C., Lui, H.-K., 2015. Mixing behavior and bioavailability of dissolved organic matter in two contrasting subterranean estuaries as revealed by fluorescence spectroscopy and parallel factor analysis. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 166, 161–169.
- Yu F., Zong Y., Lloyd J.M. et al., 2010. Bulk organic $\delta^{13}\text{C}$ and C/N as indicators for sediment sources in the Pearl River delta and estuary, southern China. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 87, 618-630.
- Zanardi-Lamardo, E., Clark, C.D., Moore, C.A., Zika, R.G., 2002. Comparison of the molecular mass and optical properties of colored dissolved organic material in two rivers and coastal waters by flow field-flow fractionation. *Environ. Sci. Technol.* 36, 2806–2814.
- Zhao, H., Zhou, J.L., Zhang, J., 2015. Tidal impact on the dynamic behavior of dissolved pharmaceuticals in the Yangtze Estuary, China. *Sci. Total Environ.* 536, 946–954.
- Zhou J.L., Fileman T.W., House W.A., Long J.L.A., Mantoura R.F.C., Meharg A.A., Osborn D., Wright J., 1999. Fluxes of organic contaminants from the river catchment into, through and out of the Humber Estuary, UK. *Marine Pollution Bulletin* 37, 330- 342.
- Zong Y., Lloyd J.M., Leng M.J. et al., 2006. Reconstruction of Holocene monsoon history from the Pearl River Estuary, southern China, using diatoms and carbon isotope ratios. *Holocene* 16, 251-263.
- Zsolnay, A., Baigar, E., Jimenez, M., Steinweg, B., Saccomandi, F., 1999. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere* 38, 45–50.

ANNEXES

Tancarville



Fatouville

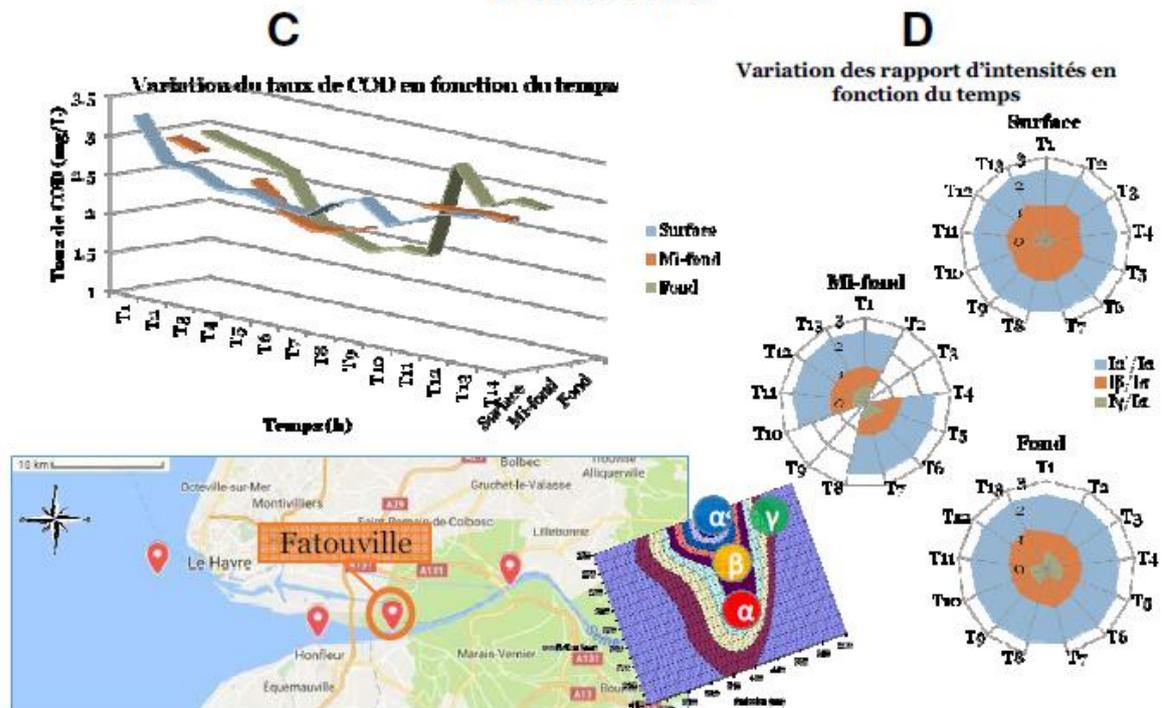
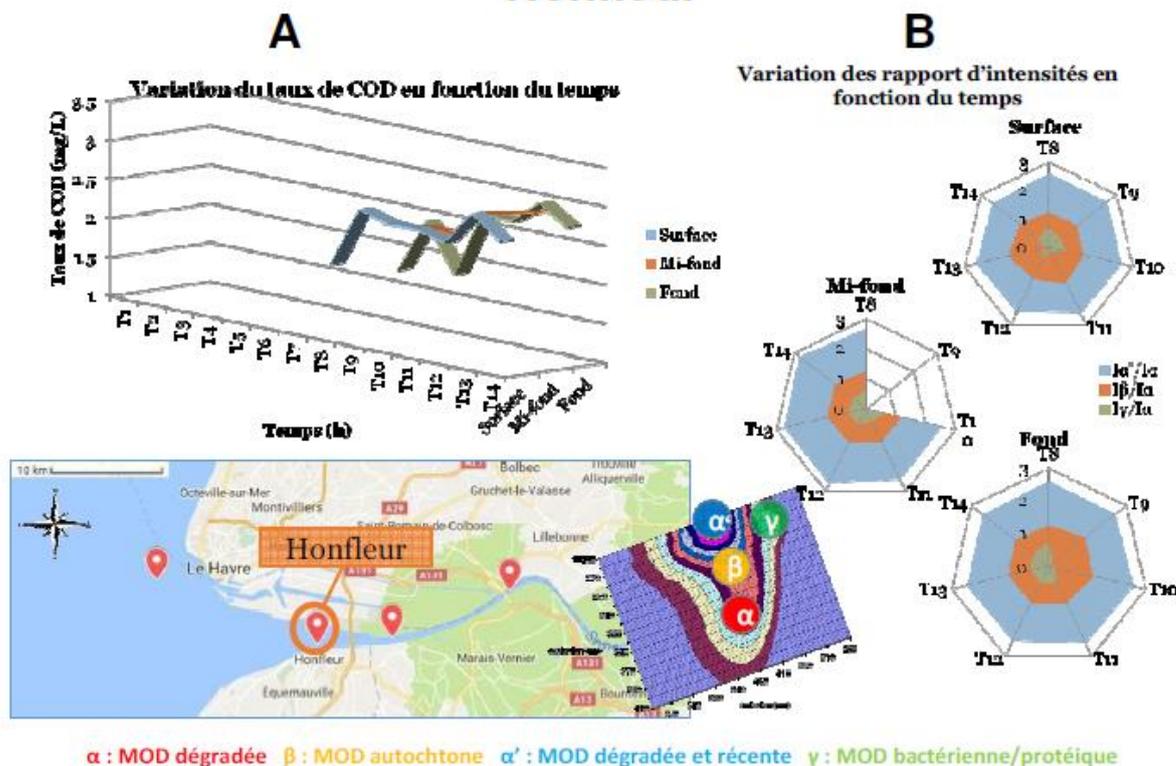


Figure A1. Variations au cours d'un cycle de marée (campagne avril 2016) : des teneurs en COD à (A) Tancarville et (C) Fatouville; des rapports α'/α , β/α et γ/α à (B) Tancarville et (D) Fatouville.

Honfleur



La Carosse

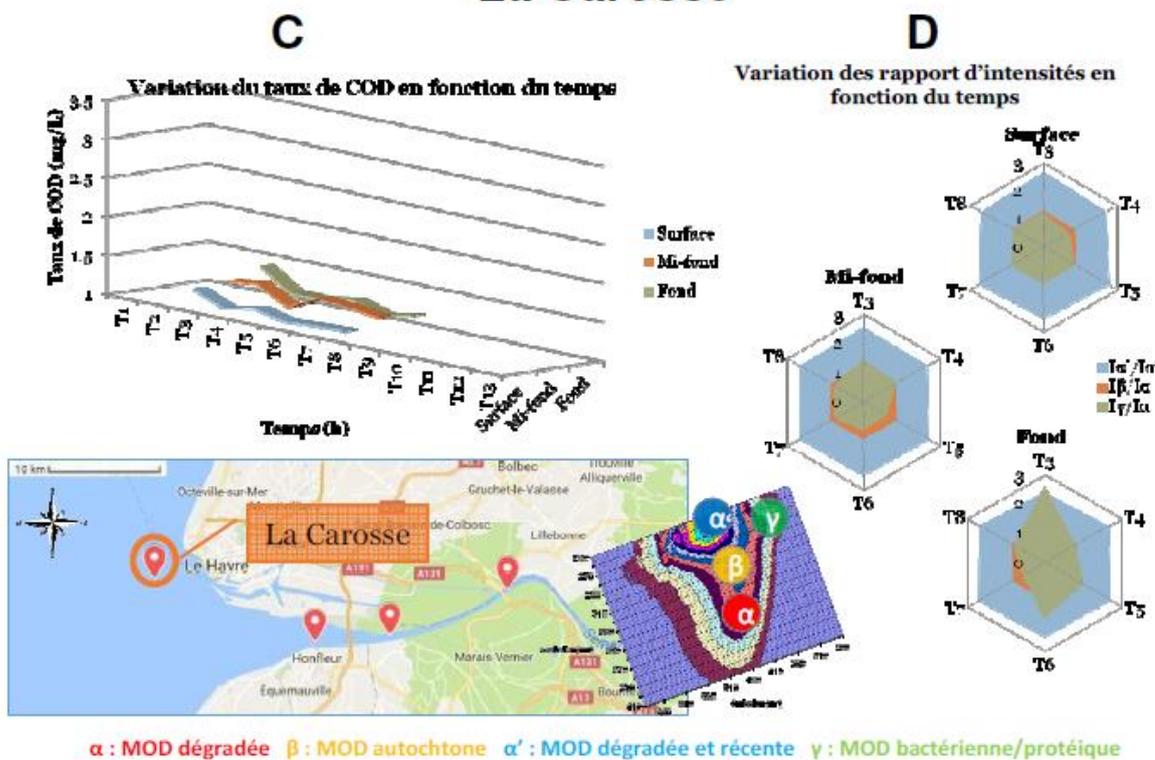


Figure A2. Variations au cours d'un cycle de marée (campagne avril 2016): des desteneurs en COD à (A) Honfleur et (C) La Carosse; des rapports α'/α , β/α et γ/α à (B) Honfleur et (D) La Carosse.

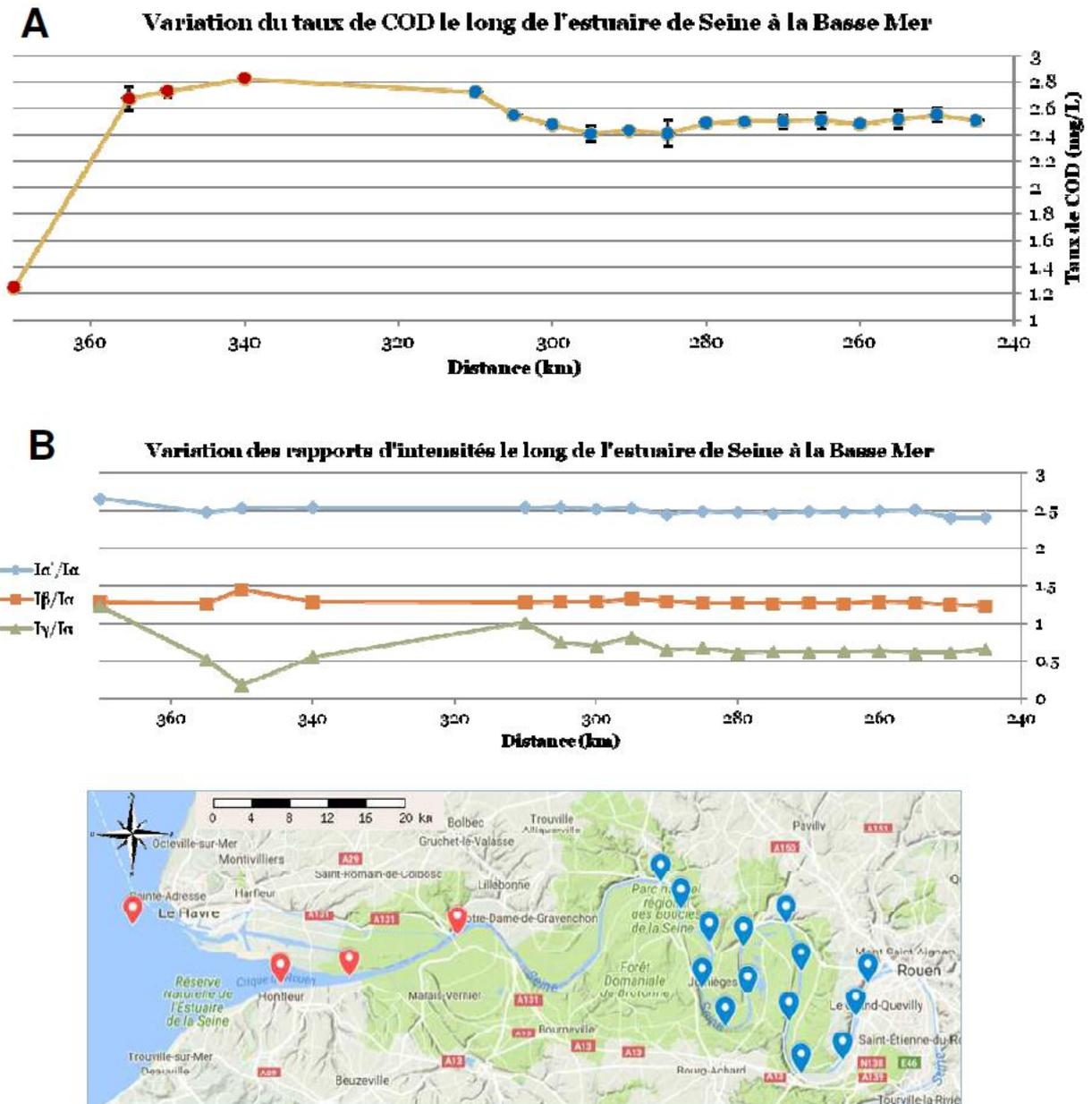


Figure A3. Variations le long de l'estuaire à basse mer en avril 2016 (A) de teneurs en COD et (B) des rapports α'/α , β'/α et γ'/α

2.4.2.2.1.1 Septembre 2015

Avril 2016

Janvier 2015

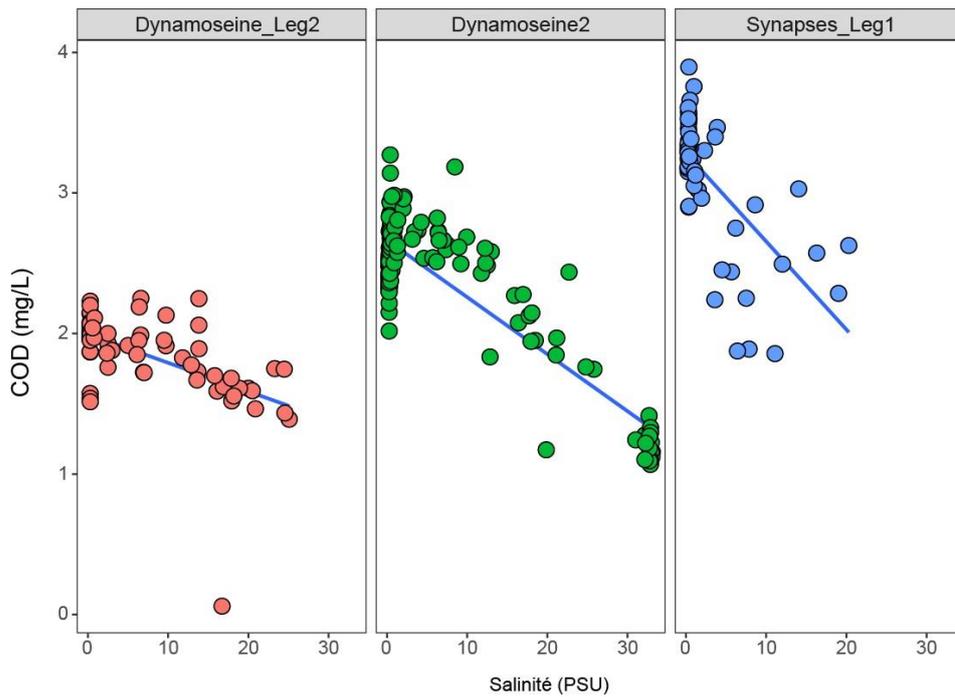


Figure A4. Variation de la teneur en carbone organique dissous (COD) avec la salinité lors des différentes campagnes d'échantillonnage MOSAIC.

2.4.2.2.1.2 Avril 2015

Septembre 2016

Avril 2016

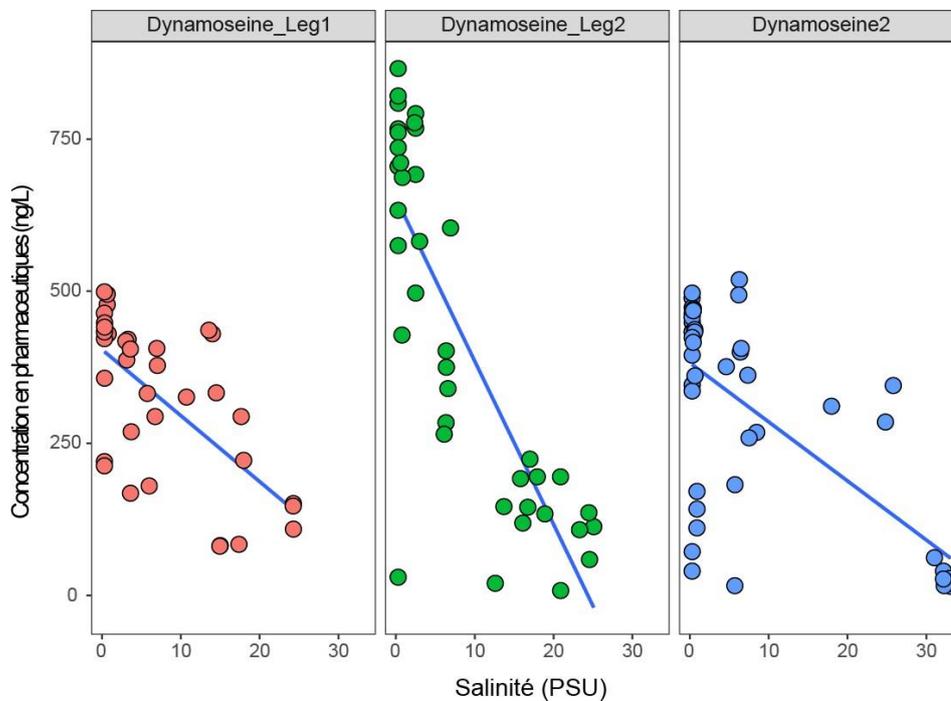


Figure A5. Variation de la concentration en composés pharmaceutiques avec la salinité lors des différentes campagnes d'échantillonnage MOSAIC.

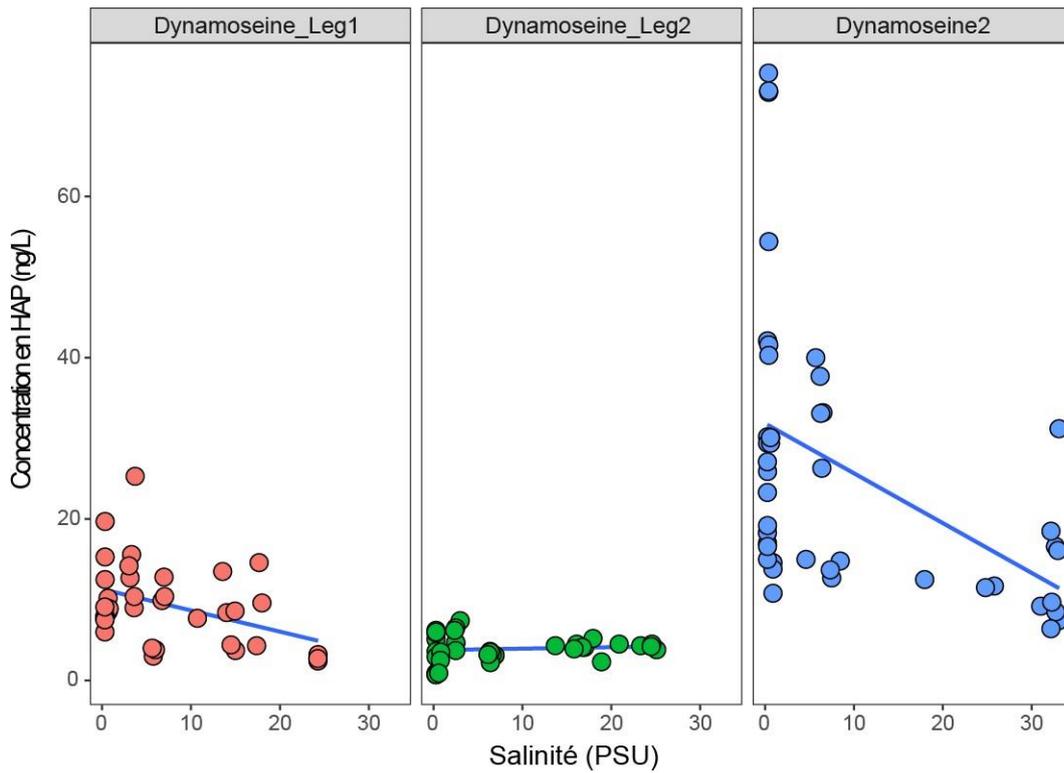


Figure A6. Variation de la concentration en HAP avec la salinité lors des différentes campagnes d'échantillonnage MOSAIC.

2.4.2.2.1.3 Avril 2015
2016

Septembre 2015

Avril

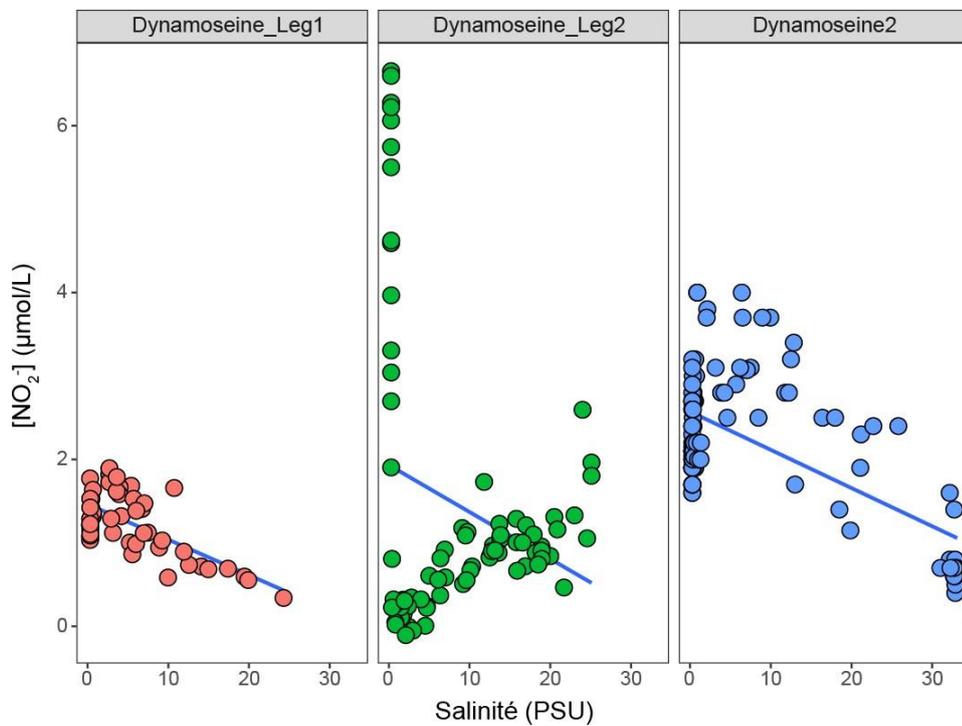


Figure A7. Variation de la concentration en NO₂⁻ avec la salinité lors des campagnes Dynamoseine.



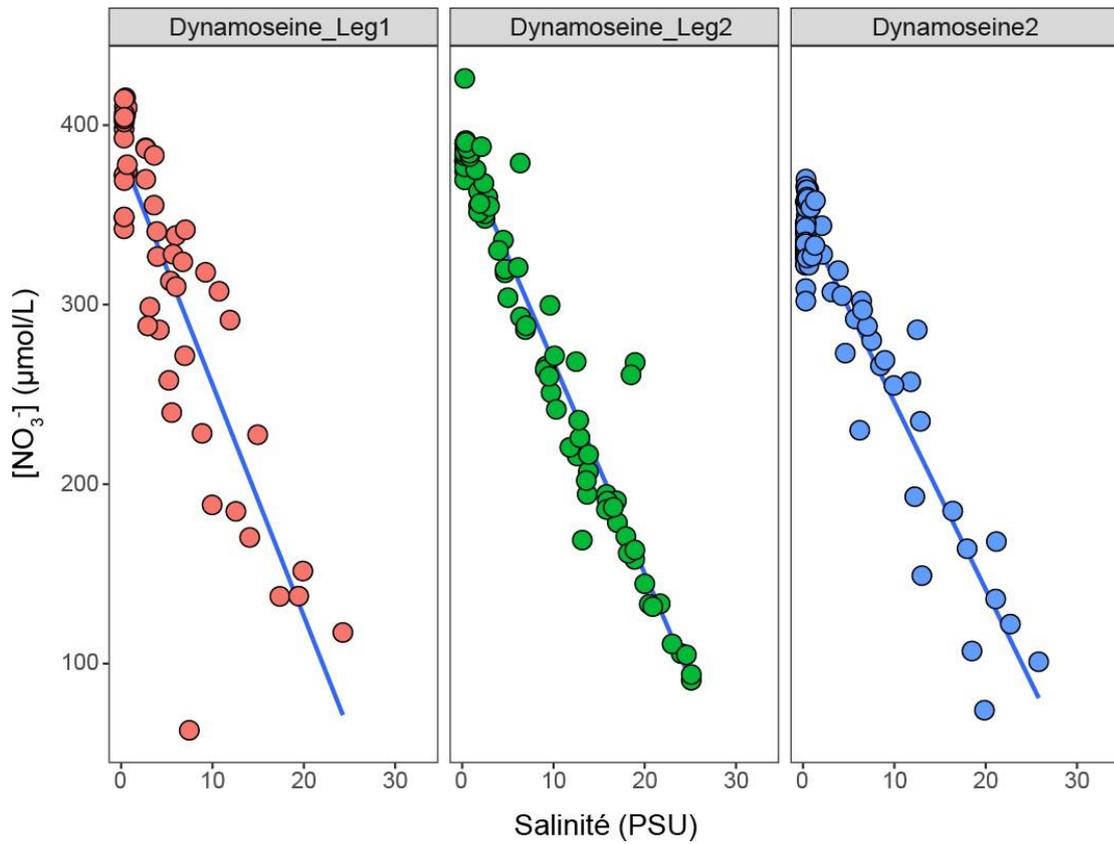


Figure A8. Variation de la concentration en NO_3^- avec la salinité lors des campagnes Dynamoseine.

2.4.2.2.1.4 Avril 2015

Septembre 2015

Avril 2016

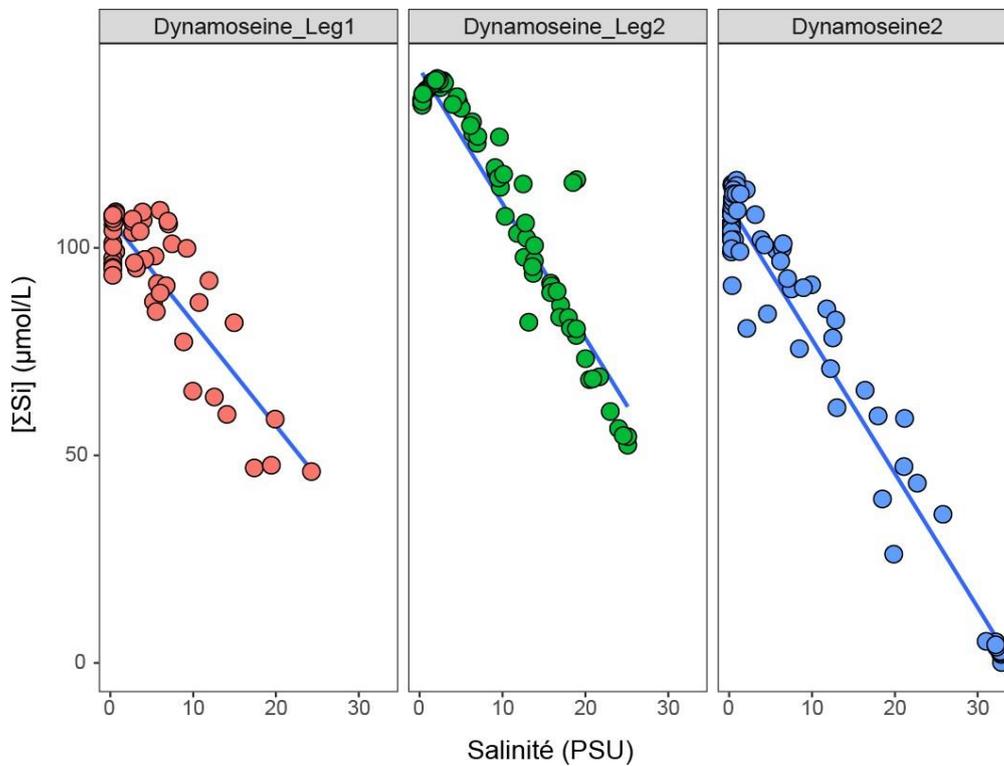


Figure A9. Variation de la concentration en Si avec la salinité lors des campagnes Dynamoseine.



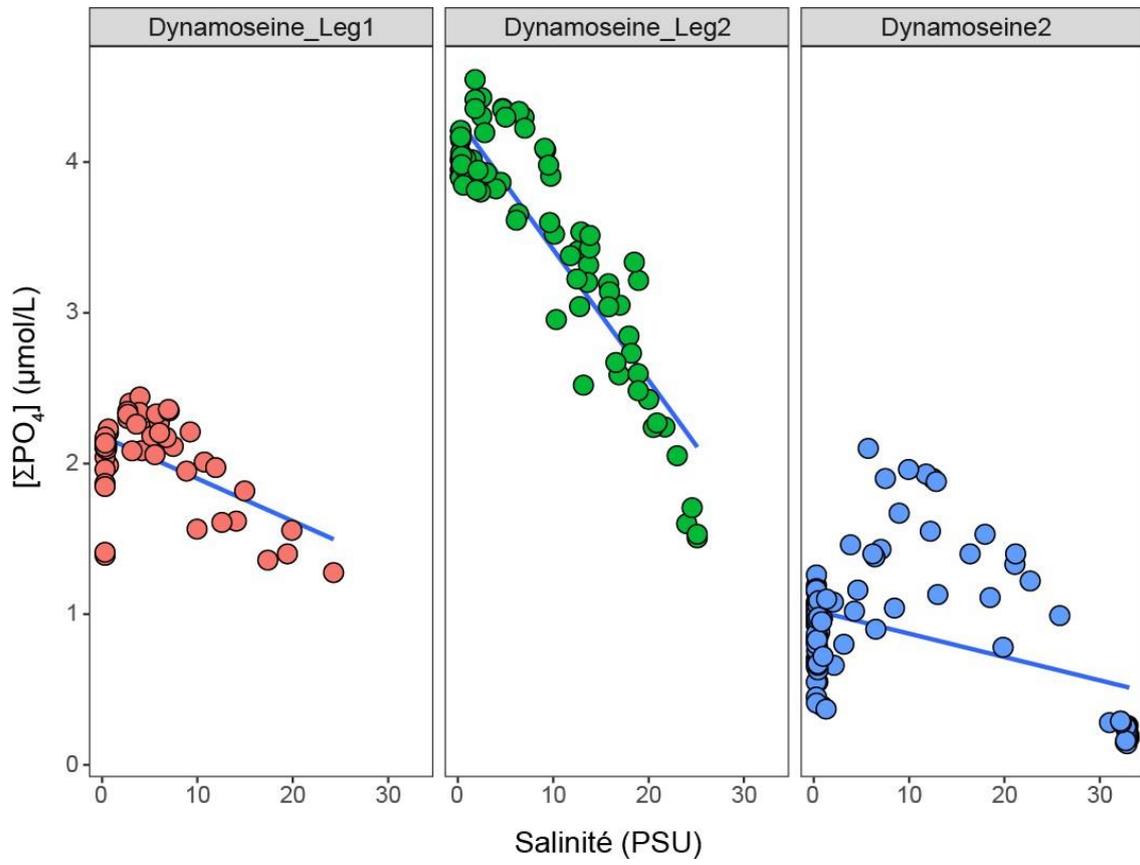


Figure A10. Variation de la concentration en phosphates avec la salinité lors des campagnes Dynamoseine.

POUR PLUS D'INFORMATIONS SUR LE GIP SEINE-AVAL

www.seine-aval.fr

CONTACT

Groupement d'Intérêt Public Seine-Aval
Pôle Régional des Savoirs
115, Boulevard de l'Europe
76100 ROUEN
Tél : 02 35 08 37 64
gipsa@seine-aval.fr

En cas d'utilisation de données ou d'éléments de ce rapport, il devra être cité sous la forme suivante :

Huguet A. (coord.), Thibault A., Roose-Amsaleg C., Parlanti E., Laverman A., Fuster L., Budzinski H., Viollier E., 2018. Projet MOSAIC « Dynamique de la Matière Organique dans le bouchon vaseux de l'estuaire de Seine en lien avec les nutriments et les Contaminants organiques ». Rapport de recherche du programme Seine-Aval 5, 84 p.

Le GIP Seine-Aval ne saurait être tenu responsable d'évènements pouvant résulter de l'utilisation et de l'interprétation des informations mises à disposition.
Pour tout renseignement, veuillez contacter le GIP Seine-Aval.

Les membres financeurs du GIP Seine-Aval sont :

