

Sorbonne Université

Ecole doctorale Géosciences, Ressources Naturelles et Environnement

UMR 7619 METIS, Département de biogéochimie

Dynamique de la matière organique dans la Seine

Approche globale et moléculaire

Par Alexandre THIBAUT

Thèse de doctorat en géochimie organique

Dirigée par Arnaud HUGUET et Sylvie DERENNE

Soutenue publiquement le 6 décembre 2018

Devant un jury composé de :

Mme Valérie Mesnage, Maître de conférences, Université de Rouen	Rapporteur
M. Stéphane Mounier, Maître de conférences, Université de Toulon	Rapporteur
M. François Baudin, Professeur, Sorbonne Université	Examineur
M. Vincent Grossi, Directeur de recherche CNRS, Villeurbanne	Examineur
M. Marc Benedetti, Professeur, Université Paris Diderot	Examineur
Mme Sylvie Derenne, Directrice de recherche CNRS, Paris	Directrice de thèse
M. Arnaud Huguet, Chargé de recherche CNRS, Paris	Directeur de thèse
M. Nicolas Bacq, GIP Seine Aval, Rouen	Invité



Except where otherwise noted, this work is licensed under
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>

REMERCIEMENTS

Je tiens d'abord à remercier l'ensemble des membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail et notamment Valérie Mesnage et Stéphane Mounier pour avoir accepté de le rapporter.

Je tiens également à remercier Jean-Marie Mouchel pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire METIS durant ces 3 années.

Je remercie aussi Edith Parlanti, Gilles Varrault, Gérard Gruau et François Baudin pour m'avoir aidé et guidé lors de mes deux comités de pilotage.

Un grand merci à Arnaud Huguet et Sylvie Derenne pour m'avoir donné la chance d'effectuer cette thèse. Encore un grand merci pour m'avoir aidé tout le long de cette aventure humaine, pour vos conseils, vos soutiens, et votre disponibilité, notamment pour les dernières semaines !

Je remercie également le personnel d'EPOC pour leur accueil lors de mes séjours à Bordeaux, notamment Edith Parlanti, Clara Micheau, Mahault Sourzac et Laura Fuster. Je tiens aussi à remercier Christine Hatté pour son aide sur les interprétations des données ¹⁴C, Philippe Schmitt-Kopplin pour nous avoir proposé d'analyser nos échantillons de MOD gratuitement en FT-ICR-MS et Frédérique Pourpoint pour les tests en RMN DNP. Je remercie également Mercedes Mendez et Magloire Madeng-Yogo pour les analyses élémentaires et leur accueil à l'IRD !

Merci à l'ensemble des membres du projet MOSAIC, notamment pour m'avoir fait confiance sur la réalisation de la base de données et sur le croisement statistique.

Christelle, merci pour ta dose de bonne humeur quotidienne et pour tes encouragements lors des derniers mois et pour les super analyses ! Emmanuel, merci pour m'avoir aidé pour les analyses COD et pour le terrain !

Clément, Su, merci pour le super boulot que vous avez réalisé lors de vos stages !

Je tiens également à remercier l'ensemble des gens du couloir 56-66 4^e étage pour leur accueil. Franck pour ces deux années de co-bureau passé en ta compagnie. Fred pour tes conseils et nos rigolades (mais pas pour le fameux bar de Florence). Yannick pour ta bonne humeur et nos discussions en stats. Guillaume pour tes encouragements. Et merci à l'ensemble des personnes le midi pour ces bons moments : Marie, Thanh, Maryse, Katell, Véro et Amélie ! Et pour finir, merci qui ? merci Pierre !

Enfin, un grand merci à l'ensemble de ma famille, à Cindy et à Gauvain pour m'avoir supporté et encouragé pendant ces 3 années !

Je voudrais également remercier Jérémy Jacob pour m'avoir initié au fabuleux monde de la recherche !

J'espère n'oublier personne !

Ah si... Je tiens à remercier la SNCF pour sa ponctualité exemplaire lors de ces trois années !

Table des matières

Introduction générale.....	9
Chapitre 1 : La matière organique dans les estuaires	14
1.1 Les estuaires	15
1.1.1 Généralités sur les systèmes côtiers et les estuaires	15
1.1.2 Le phénomène de marée	19
1.1.3 La formation du bouchon vaseux et son rôle dans les estuaires	20
1.1.4 Le rôle des estuaires dans la société et l'environnement	22
1.2 La matière organique dans les milieux aquatiques.....	23
1.2.1 Les formes de la MO dans les estuaires	23
1.2.2 Son rôle dans l'environnement	27
1.3 Méthodes d'isolement de la MOD en milieu estuarien	28
1.3.1 Extractions sur phase solide	28
1.3.2 L'ultrafiltration	31
1.3.3 L'osmose inverse et l'électrodialyse.....	32
1.3.4 Synthèse et comparaison	33
1.4 Caractérisation globale de la MO estuarienne.....	34
1.4.1 Caractérisation de la MOD chromophorique	34
1.4.2 Analyses élémentaires du carbone et de l'azote	40
1.4.3 La composition en isotope stable du carbone	42
1.4.4 La composition en isotope stable de l'azote	43
1.4.5 La datation par le radiocarbone	44
1.4.6 La résonance magnétique nucléaire	47
1.5 Composition moléculaire de la MO.....	50
1.5.1 La MO hydrosoluble	50
1.5.2 Les lipides	56
1.5.3 Les macromolécules	63
1.6 Synthèse sur la dynamique de la MO dans les estuaires	68
1.6.1 Les sources de la MO en milieu estuarien.....	68
1.6.2 Transformation de la MO dans les estuaires.....	70
1.7 Le site d'étude : la Seine.....	74
1.7.1 Le bassin versant de la Seine.....	74
1.7.2 La Seine et son estuaire.....	76
1.7.3 La flore de l'estuaire de Seine	79

1.7.4	La contamination chimique dans l'estuaire de Seine.....	80
1.7.5	La MO de l'estuaire de Seine.....	81
1.7.6	Les programmes de recherches sur la Seine	81
1.8	Conclusions.....	81
Chapitre 2 : Matériels et méthodes		83
2.1	Sites de prélèvements	84
2.1.1	Dans la zone amont	84
2.1.2	Dans l'estuaire de Seine	86
2.2	Isolement de la MOD.....	90
2.2.1	L'osmose inverse	90
2.2.2	L'électrodialyse.....	92
2.3	Analyses globales de la MO.....	93
2.3.1	Teneur en carbone organique dissous (COD).....	93
2.3.2	Spectroscopie UV-visible	94
2.3.3	La fluorescence tridimensionnelle	94
2.3.4	Analyses élémentaires et isotopiques.....	96
2.3.5	Mesure du radiocarbone.....	98
2.4	Analyses structurales et moléculaires de la MO	98
2.4.1	Résonance magnétique nucléaire	98
2.4.2	Extraction de la MO hydrophile et des lipides	101
2.4.3	Analyse des sucres et protéines	102
2.4.4	L'analyse des lipides	103
2.4.5	Pyrolyse couplée à la chromatographie gazeuse et à la spectrométrie de masse	107
2.4.6	Spectrométrie de masse ultrahaute résolution	108
2.4.7	Analyses statistiques	108
2.5	Synthèse des techniques d'analyse.....	110
Chapitre 3 : Dynamique de la matière organique dans l'estuaire de Seine : approche globale et structurale		111
3.1	Introduction.....	112
3.2	Results	114
3.2.1	Isolation of the DOM	114
3.2.2	Elemental and isotopic composition	116
3.2.3	Radiocarbon composition	118
3.2.4	Functional groups.....	119

3.3	Discussion	122
3.3.1	Validation of the RO/ED protocol to isolate DOM	122
3.3.2	Characteristics and sources of OM in the different pools.....	124
3.3.3	Spatial variations	129
3.3.4	Combined effect of spatial and temporal variations.....	133
3.4	Conclusion	135
Chapitre 4 : Les biomarqueurs lipidiques dans les sédiments de l'estuaire de Seine.....		137
4.1	Introduction.....	138
4.2	Résultats et discussion	139
4.2.1	Propriétés physico-chimiques des sédiments	139
4.2.2	Les molécules aliphatiques.....	143
4.2.3	Les stérols et stanols	154
4.2.4	Les tétraéthers de glycérol.....	161
4.3	Conclusions.....	166
Chapitre 5 : La composition (macro)moléculaire de la MO dans l'estuaire de Seine		169
5.1	Introduction.....	170
5.2	Résultats et discussions.....	171
5.2.1	Pyrochromatogrammes et origine des molécules	171
5.2.2	La MO terrigène.....	184
5.2.3	La MO bactérienne	193
5.2.4	La MO aquatique	196
5.2.5	La MO anthropique	197
5.2.6	Cas des carbohydrates et des composés azotés	199
5.2.7	Comparaison de la composition macromoléculaire obtenue par thermochimiolysse et par RMN 203	
5.2.8	Comparaison de la composition macromoléculaire entre le sédiment et la MOP	205
5.2.9	Variations des propriétés de la MO le long des carottes de sédiment	208
5.3	Conclusions.....	211
Chapitre 6 : Impact des crues majeures de la Seine sur la qualité de la MO : premiers résultats et implications		219
6.1	Introduction.....	220
6.2	Présentation des échantillons	221
6.3	Résultats et discussions.....	222
6.3.1	Sources de la MO lors des crues de la Seine	222

6.3.2	Impact de Paris sur la qualité de la MO.....	231
6.3.3	Comparaison des propriétés de la MO dans les laisses de crue de juin 2016 et janvier 2018	236
6.3.4	Comparaison des propriétés de la MO des laisses de crue et des sédiments estuariens de la Seine	240
6.4	Conclusions.....	244
	Conclusions générales et perspectives	247
	Références bibliographiques.....	259
	Annexe 1 : Dynamique croisée de la matière organique, des contaminants et des nutriments.....	286
	Annexe 2 : Structures moléculaires.....	301
	Annexe 3 : Supplementary material du chapitre 3	303
	Annexe 4 : Scripts R pour les analyses statistiques.....	309
	Annexe 5 : Descripteurs de la MO.....	310
	Annexe 6 : Liste des conférences	313
	Liste des figures.....	315
	Liste des tableaux.....	323

INTRODUCTION GENERALE

Depuis plusieurs décennies, l'Homme défie la nature en transformant les paysages et en bouleversant les écosystèmes, via par exemple la déviation des rivières et l'altération de la composition des eaux (polluants métalliques, organiques, eutrophisation...) et de l'atmosphère. Les milieux côtiers et estuariens sont soumis à une forte pression anthropique. En effet, les zones côtières et estuariennes ont, depuis toujours, attiré les populations, notamment par leur forte productivité et richesse en nourriture, la facilité pour le commerce maritime et les transports, mais également pour les activités récréationnelles et culturelles (Neumann et al., 2015). Ces zones sont des niches écologiques importantes. Les estuaires abritent ainsi une faune unique et servent de nurserie pour de nombreuses espèces de poisson dont les juvéniles restent dans les eaux saumâtres des estuaires avant de rejoindre l'océan lorsqu'ils seront adultes. Ces milieux restent encore de nos jours méconnus, malgré leur rôle écologique essentiel. Dans le contexte actuel de changement climatique global et dans un objectif de préservation, il est nécessaire de mieux comprendre le fonctionnement de ces écosystèmes fortement touchés par les rejets humains, à la fois industriels et domestiques, mais également par la hausse du niveau marin, prédit dans les modèles climatiques.

Les estuaires sont des milieux particuliers puisqu'ils se forment à l'interface entre le milieu continental et marin. Il en résulte des écosystèmes propres à ces derniers. Les estuaires vont transférer de nombreuses substances, du milieu continental vers le milieu océanique. Ces dernières peuvent être d'origine anthropique (polluants émergents, métaux etc...) ou bien naturelle (minéraux, matière organique (MO)...). Ils constituent un milieu d'intérêt pour la compréhension des cycles biogéochimiques des polluants et des matières naturelles.

La MO est un mélange complexe et hétérogène de molécules d'origine naturelle ou anthropique. En milieu aquatique, la MO peut se trouver sous plusieurs formes (ou compartiments). Tout d'abord dans la colonne d'eau, on distingue la MO dissoute colloïdale (MOD) et la MO particulaire (MOP), séparés de manière opérationnelle par filtration. La MO sédimentaire constitue un pool distinct. Les compartiments de la MO ne sont pas cloisonnés, et sont en interaction permanente, ces dernières dépendant des paramètres environnementaux comme la salinité, la température, la turbidité ou bien le pH. Deux types de MO d'origine naturelle différente peuvent ainsi être distingués : la MO terrigène produite

par les végétaux et dans les sols, et la MO aquatique produite *in situ*, i.e. dans la colonne d'eau ou le sédiment.

La MO joue un rôle clé sur la qualité de l'eau, de par ses interactions avec les contaminants organiques ou inorganiques et les nutriments, et influencent directement leur devenir et leur biodisponibilité dans l'environnement. La MO est également à la base des régimes alimentaires des organismes benthiques et pélagiques. Elle joue par ailleurs un rôle très important dans les cycles biogéochimiques, notamment du carbone et de l'azote. Il apparaît donc essentiel de mieux comprendre les sources et le devenir de la MO en milieu estuarien. Ceci constitue un véritable défi, la MO étant constituée de plusieurs milliers de molécules et sa composition évoluant en permanence, particulièrement en milieu estuarien, soumis à une grande variabilité des paramètres environnementaux. La MO est de plus faiblement concentrée en milieu estuarien et associée à de fortes teneurs en sels, rendant encore plus complexe sa caractérisation. La majorité des analyses sur la MO en milieu estuarien sont à l'échelle globale, et peu sont à l'échelle moléculaire alors que c'est à cette échelle qu'ont lieu les transformations de la MO ainsi que ses interactions avec les différents contaminants.

L'objectif de cette thèse est d'étudier la dynamique de la MO dans la Seine, et notamment dans la zone estuarienne, aussi bien au niveau global, structural et moléculaire. Ces résultats permettront d'affiner les connaissances sur les sources ainsi que le devenir de la MO dans l'estuaire de Seine, ainsi que de comparer les différents compartiments constituant la MO.

Le manuscrit traitera successivement des travaux portant sur la dynamique de la MO dans l'estuaire de Seine abordée via une approche multi-échelle et multi-techniques (chapitre 3 à 5) puis s'intéressera aux effets des événements climatiques extrêmes sur les caractéristiques de la MO dans la partie amont du bassin de la Seine (chapitre 6).

Avant la présentation des résultats, le premier chapitre de cette thèse propose une synthèse bibliographique sur les estuaires et la dynamique de la MO estuarienne. Les différentes méthodes de caractérisation de la MO sont également abordées. Le second chapitre porte sur la stratégie d'échantillonnage et sur les différentes techniques analytiques et statistiques utilisées.

Quatre chapitres discutent ensuite des données obtenues au cours cette thèse :

- Le troisième chapitre s'intéresse à la dynamique de la MO dans l'estuaire de Seine à l'échelle globale et structurale, en vue de comprendre la variabilité spatio-temporelle et inter-compartiments (particulaire, dissous et sédimentaire) des propriétés de la MO.
- Le quatrième chapitre porte sur les sources de la MO dans les sédiments de l'estuaire de Seine étudiées à l'échelle moléculaire à l'aide de biomarqueurs lipidiques.
- Le cinquième chapitre s'intéresse à l'application de la pyrolyse couplée à la chromatographie gazeuse et à la spectrométrie de masse pour déterminer la composition et suivre la transformation des (macro)molécules constitutives de la MO dans l'estuaire de Seine.
- Enfin, le sixième chapitre porte sur la caractérisation des sources de la MO dans les sédiments déposés lors des crues majeures de la Seine qui se sont déroulées en février 2016 et juin 2018.

Ce travail s'inscrit en grande partie dans le cadre du projet du Groupement d'Intérêt Public Seine-Aval MOSAIC (Dynamique de la Matière Organique dans le bouchon vaseux de l'estuaire de Seine en lien avec les nutriments et les Contaminants organiques) qui s'est déroulé entre 2014 et 2017. Ce projet, regroupant quatre laboratoires français, avait pour objectif de relier les dynamiques de la MO, des contaminants organiques (notamment hydrocarbures aromatiques polycycliques et composés pharmaceutiques) et des nutriments dans l'estuaire de Seine. Cette thèse, financée par la région Ile-de-France, le GIP Seine-Aval et l'Agence de l'Eau Seine-Normandie, a contribué au projet MOSAIC en caractérisant à l'échelle globale, structurale et moléculaire la MO dissoute, particulaire et sédimentaire. De plus, j'ai réalisé une base de données regroupant l'ensemble des résultats obtenus au cours du projet, permettant ensuite d'étudier, via une approche statistique, les interactions entre la MO, les contaminants. L'ensemble de ce travail est présenté en annexe 1. En parallèle, un travail portant sur les propriétés de la MO transportée lors des crues majeures de la Seine et en particulier l'utilisation de traceurs de la contamination fécale, a également été effectué via un financement de l'Agence de l'Eau Seine-Normandie. Enfin, une étude sur la caractérisation de la MO dans la partie amont du bassin de la Seine, réalisée dans le cadre du programme de

Introduction générale

recherche PIREN Seine, a été initiée. Les résultats obtenus étant encore trop préliminaires, ils ne seront pas présentés dans ce manuscrit.

CHAPITRE 1 : LA MATIERE ORGANIQUE DANS LES ESTUAIRES

1.1 Les estuaires

1.1.1 Généralités sur les systèmes côtiers et les estuaires

Les systèmes côtiers présentent des morphologies très diverses qui dépendent de 3 facteurs principaux : le débit de la rivière, la force de la marée et la force des vagues. Ils peuvent être classés dans un système ternaire Débit-Marée-Vagues (Figure 1). Les systèmes dominés par le débit de la rivière forment des deltas, qui vont prograder¹ sur l'océan, comme le Mississippi, le Rhône ou le Nil (Dalrymple et al., 1992). Lorsque l'énergie des vagues est prédominante, un cordon littoral se forme, bloquant le cours d'eau par une barrière sableuse. Lorsque les marées prédominent fortement, des vasières se forment, avec des dépôts marins qui vont prograder¹ sur le continent. Enfin, lorsque deux ou trois de ces paramètres cohabitent, il y a formation d'un estuaire : si les vagues sont peu présentes par rapport aux marées, l'estuaire est dit dominé par la marée, et dans le cas inverse, il est dit dominé par les vagues.

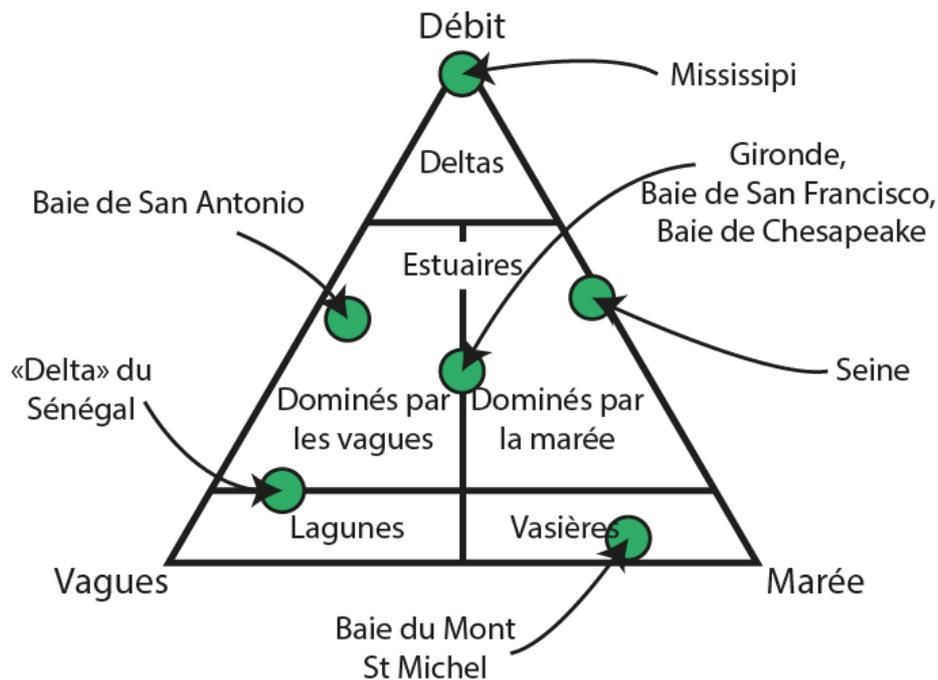


Figure 1 : Classification des embouchures des rivières en fonction du débit, de l'énergie de la marée et de la force des vagues, d'après (Dalrymple et al., 1992).

¹ C'est-à-dire que le delta va progressivement avancer sur la mer en cas de marées faibles, ou que les dépôts marins sont de plus en plus avancés sur le continent en cas de marées fortes.

Les estuaires peuvent être définis comme une zone où l'eau de mer se dilue dans de l'eau douce (Pritchard, 1967) et ils sont caractérisés par une salinité comprise entre 0,1 et 30-35. Dalrymple et al. (1992) ont modifié cette définition en se basant sur des propriétés sédimentaires. Un estuaire peut, selon ces auteurs, être considéré comme la partie aval d'une vallée submergée qui reçoit des sédiments fluviaux et marins et qui contient des faciès sédimentaires influencés par les marées, les vagues et les processus fluviaux. Les estuaires sont donc soumis à 3 grands phénomènes physiques : le débit de la rivière qui domine dans la zone amont, les marées et les vagues qui dominent dans la zone aval, et enfin, le mélange de ces processus dans l'estuaire moyen (Figure 2).

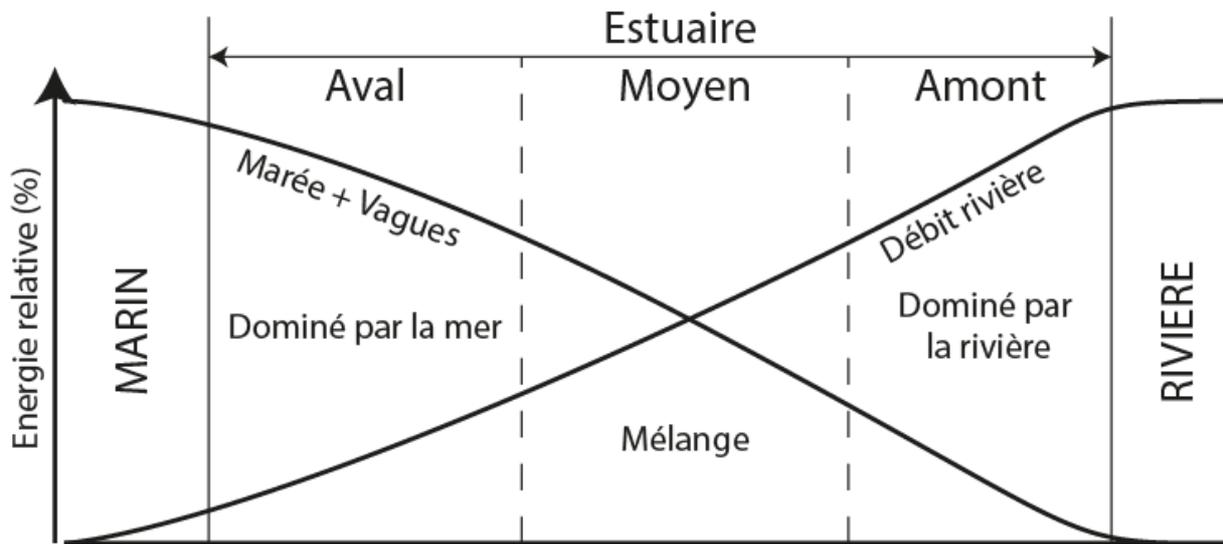


Figure 2 : Variation schématique des phénomènes physiques qui ont lieu dans les estuaires. D'après (Dalrymple et al., 1992).

Toutefois, ce modèle très schématique (Figure 2) reste loin de la réalité, notamment lorsque les vagues ou la marée dominent fortement les apports maritimes. Les estuaires sont alors subdivisés en deux catégories (Figure 1) :

- Les estuaires fortement dominés par les vagues (Figure 3) sont caractérisés par la formation d'une barrière sableuse qui va bloquer (totalement ou partiellement) les apports continentaux et former ainsi une lagune (Dalrymple et al., 1992). Dans cette lagune se développe alors un bassin de faible énergie (Dalrymple et al., 1992).

- Les estuaires fortement dominés par la marée (Figure 3) ne présentent pas de barrière sableuse, ni de bassin de faible énergie (Dalrymple et al., 1992). Ainsi, l'estuaire moyen est soumis au mélange des eaux marines et des eaux douces.

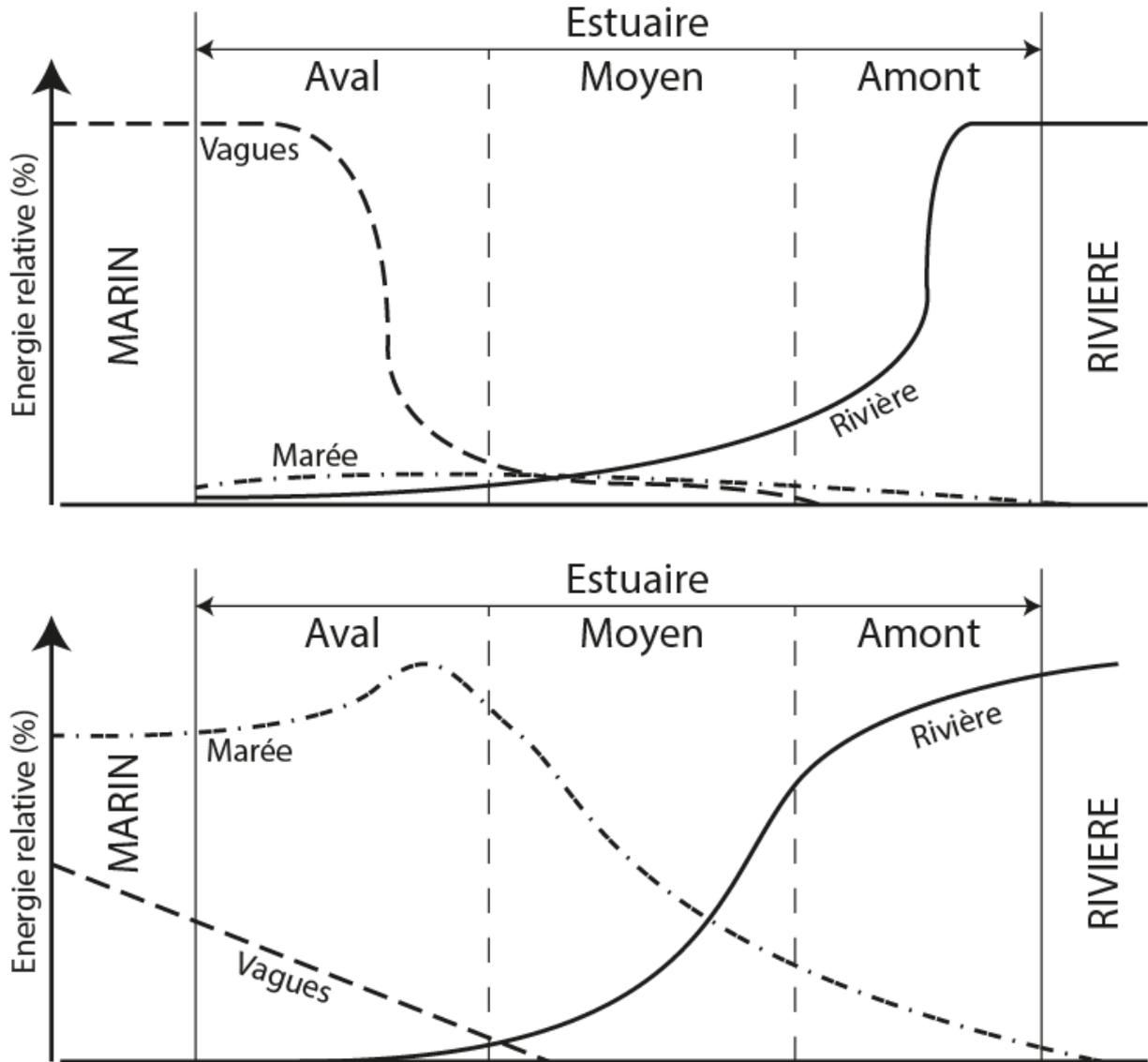


Figure 3 : Variation des processus physiques (énergie de la rivière, des vagues et de la marée) pour un estuaire dominé par les vagues (haut) et pour un estuaire dominé par la marée (bas). D'après (Dalrymple et al., 1992).

La marée induit un mélange des masses d'eau douce et salée, de densités très différentes : l'eau salée est en effet plus dense que l'eau douce, conduisant à une possible stratification dans la colonne d'eau. Il existe donc plusieurs sous-ensembles d'estuaires dominés par la marée. On distingue ainsi :

- Les estuaires fortement stratifiés, où le fleuve est puissant par rapport à la marée. L'eau douce va rester en surface et l'eau de mer en profondeur. Des échanges par diffusion peuvent s'effectuer à l'interface des deux masses d'eau. Ces estuaires sont caractérisés par un fort gradient de salinité.
- Les estuaires à « coin salé » ressemblent aux estuaires fortement stratifiés, mais le débit du fleuve y est légèrement plus faible. Ils sont caractérisés par un front halin à la sortie de l'estuaire.
- Les estuaires partiellement mélangés se caractérisent par un débit du fleuve faible par rapport aux marées. Les courants de marée vont alors conduire à un mélange partiel des masses d'eaux et ainsi réduire les gradients verticaux de salinité.
- Les estuaires bien mélangés se traduisent par un gradient uniquement horizontal de la salinité et pas de variations verticales. Ces derniers se développent lorsque l'énergie de la marée est forte devant celle du fleuve.

De plus, le type de stratifications des estuaires peut varier au cours des différentes saisons. Un estuaire peut ainsi être bien mélangé lors de périodes de vives-eaux et être stratifié lors des périodes de mortes eaux. Les différents groupes d'estuaires sont récapitulés dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Récapitulatif des propriétés hydrologiques des différents types d'estuaires. 1 = (Dalrymple et al., 1992), 2 = (Hansen and Rattray, 1966).

Débit	Marées	Vagues	Type
+++	-	+++	Dominé par les vagues ¹
+++	+	-	Fortement stratifié ²
++	+	-	A coin salé ²
+	++	-	Partiellement mélangé ²
-	+++	-	Bien mélangés ²

1.1.2 Le phénomène de marée

Dans les estuaires, le phénomène de marée est important. Ce dernier est dû à la résultante de deux forces :

- (i) Les forces d'attraction des astres, notamment le Soleil et la Lune. Le point de la Terre le plus proche de la Lune est soumis à une plus forte attraction de cette dernière comparée au point le plus éloigné.
- (ii) La force centrifuge, due à la rotation de la Terre sur elle-même.

La somme de ces forces est appelée force de marée et va générer une déformation de la surface de la Terre et notamment des océans. Cette déformation va alors se propager en fonction de la position du système Soleil-Terre-Lune et ainsi former une onde de déformation de la surface des océans : il s'agit du phénomène de marée.

L'amplitude des marées en un point donné de la surface de la Terre est variable. En effet, lorsque le Soleil, la Terre et la Lune sont alignés (phase de pleine Lune ou de nouvelle Lune), les forces d'attraction du Soleil et de la Lune vont s'additionner. Les marées résultantes vont alors être plus importantes, on parle de vives-eaux (Figure 4 A.) Lorsque le Soleil, la Terre et la Lune forment un angle de 90° (phase de quartier de Lune), les forces d'attraction du Soleil et de la Lune vont alors s'opposer, résultant en des marées de faibles amplitudes, il s'agit des périodes de mortes-eaux (Figure 4 B.).

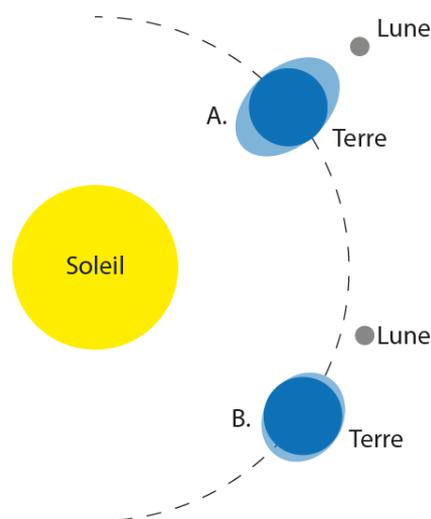


Figure 4 : Position de la Lune et du Soleil expliquant le phénomène de vives-eaux (A) et de mortes-eaux (B).

Afin de mieux quantifier les effets de marée, un coefficient de marée est habituellement calculé (Eq. 1 : C = coefficient de marée, H_{PM} = hauteur en pleine mer, H_{BM} = hauteur de la basse mer suivant la pleine mer et U = marnage moyen du site). Il varie entre 20 et 120, 20 étant la plus faible marée possible, et 120 la plus forte. Une marée moyenne a un coefficient de marée de 70, mais ce dernier atteint 45 en période de mortes-eaux et 95 lors des vives-eaux.

$$C = \frac{H_{PM} - H_{BM}}{U} \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

La marée peut par ailleurs se subdiviser en 4 grandes phases successives :

- La basse mer est le moment où le retrait de la mer est maximal. Lors de cette période, la hauteur d'eau est fixe et minimale.
- Le flot est le courant de marée qui va de la basse mer à la pleine mer (arrivée de la mer dans l'estuaire). C'est lors de cette période que la hauteur d'eau augmente (marée montante).
- La pleine mer est le moment où la pénétration de la mer est maximale. Lors de cette période, la hauteur d'eau est fixe et maximale.
- Le jusant est le courant de marée qui va de la pleine mer à la basse mer (départ de la mer dans l'estuaire). C'est lors de cette période que la hauteur d'eau diminue (marée descendante).

1.1.3 La formation du bouchon vaseux et son rôle dans les estuaires

Une des propriétés importantes des estuaires macrotidaux² est le phénomène de bouchon vaseux. Il se produit suite à l'interaction des eaux douces et des eaux marines, lors du flot et du jusant (moment où la vitesse des courants de marée est la plus importante ; Avoine et al., 1985). La superposition de phénomènes de floculation (causée par l'interaction des eaux douces et marines) et de re-suspension de sédiments (causée par le mélange turbulent des masses d'eau et la vitesse de l'eau au fond de la colonne d'eau) provoque la formation d'une zone de turbidité très importante, correspondant au bouchon vaseux (Avoine et al., 1985;

² Milieu subissant d'importantes marées (en général > 5m)

Brenon and Le Hir, 1999 ; Figure 5). Toutefois, la position et la charge en matière en suspension du bouchon vaseux vont dépendre du débit de la rivière et de la force des marées : des fortes crues vont pouvoir expulser le bouchon vaseux vers l'aval, et de fortes marées vont entraîner de plus fortes teneurs en matières en suspension (Avoine et al., 1985).

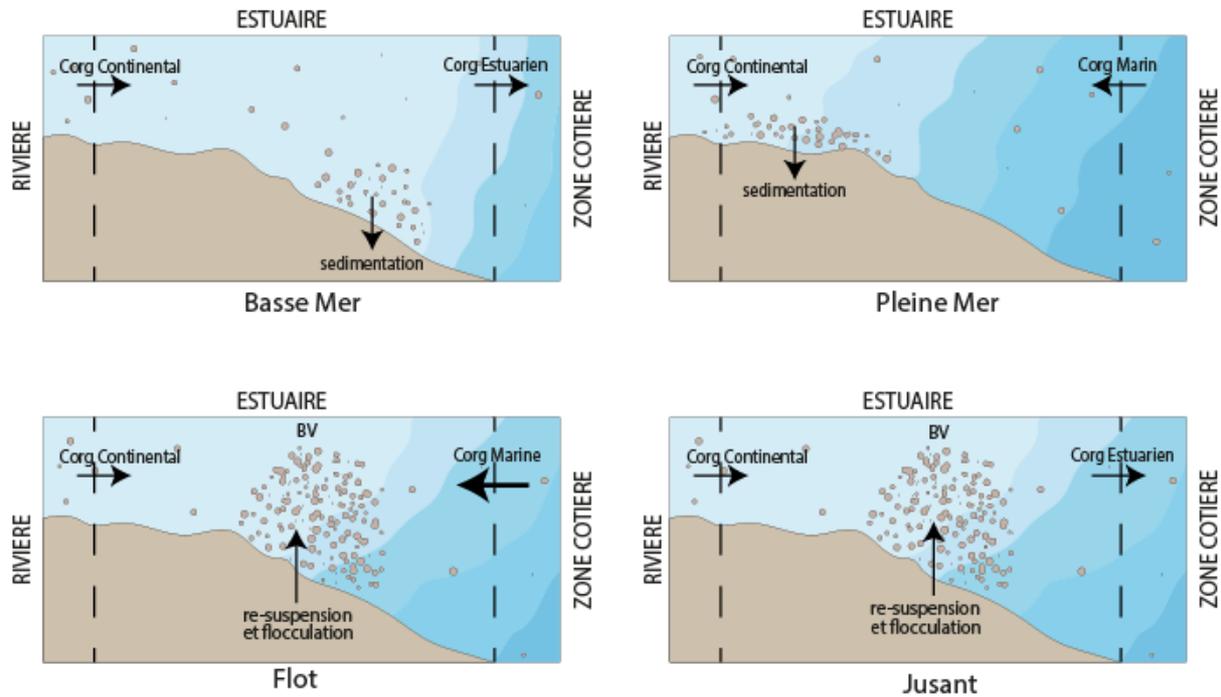


Figure 5 : Schéma de formation du bouchon vaseux, d'après Avoine et al (1985).

Le bouchon vaseux joue un rôle important d'un point de vue géochimique et biologique, notamment pour la capture et la minéralisation de l'azote et du carbone organique (Abril et al., 2000; Garnier et al., 2008). A cause de l'importante turbidité, le bouchon vaseux limite la photosynthèse (Cole et al., 1992). A l'inverse, l'activité des organismes hétérotrophes augmente (Crump et al., 1998). La forte activité bactérienne, la faible photosynthèse et la remise en suspension de boue anoxique créent alors une zone de concentration minimale en O_2 , voire d'anoxie (Morris et al., 1986). Ces variations de conditions oxiques-anoxiques peuvent influencer les propriétés biogéochimiques du milieu, notamment en ralentissant la dégradation de la MO (Abril et al., 1999). Le bouchon vaseux est un lieu important pour la minéralisation et la transformation de la matière organique (MO) provenant de la rivière (Abril et al., 1999).

1.1.4 Le rôle des estuaires dans la société et l'environnement

En plus de cette forte productivité, les estuaires sont des zones écologiquement riches, avec des espèces uniques. Elles sont également des zones importantes notamment en jouant le rôle de nurserie pour de nombreux poissons (Peterson et al., 1985).

Cette forte productivité, ainsi que l'accès au commerce maritime, fait que les estuaires ont été des zones favorables au développement des civilisations, et sont encore de nos jours des zones densément peuplées.

Toutefois, à cause de la forte densité humaine, les zones estuariennes sont soumises à une forte pression anthropique : apport de carbone, d'azote et de contaminants issus de l'agriculture et de l'industrie, perte des habitats, diminution de la diversité des espèces, modification des flux d'eau et de sédiment etc... De plus, ces zones, souvent très peuplées et qui le seront encore plus dans le futur, sont soumises à un fort risque d'inondation, qui augmentera dans le contexte du changement climatique (Neumann et al., 2015).

Les estuaires font partie des zones marines les plus productives, elles produisent et recyclent d'importantes quantités de carbone. Leur localisation à l'interface des milieux marins et continentaux leur permet de jouer un rôle important dans le cycle du carbone. Les estuaires, malgré une forte productivité, sont des sources de CO₂ vers l'atmosphère, notamment par minéralisation de la MO en CO₂. Le flux total de CO₂ dans les estuaires est peu connu, ce qui rend son intégration dans les modèles globaux du cycle du C compliquée. Toutefois, Cole et al. (2007) ont pu estimer le transfert de carbone du continent vers les océans. Ainsi, 1,9 Pg de C par an transiterait dans les eaux continentales, et parmi eux, seulement 0,9 Pg arriverait vers les océans. Ainsi, 0,75 Pg de C serait émis tous les ans par les eaux continentales, et 0,23 Pg serait stocké dans les sédiments (Figure 6). Pour les estuaires, le flux a été estimé à 0,12 Pg de Carbone vers l'atmosphère tous les ans (Cole et al., 2007).

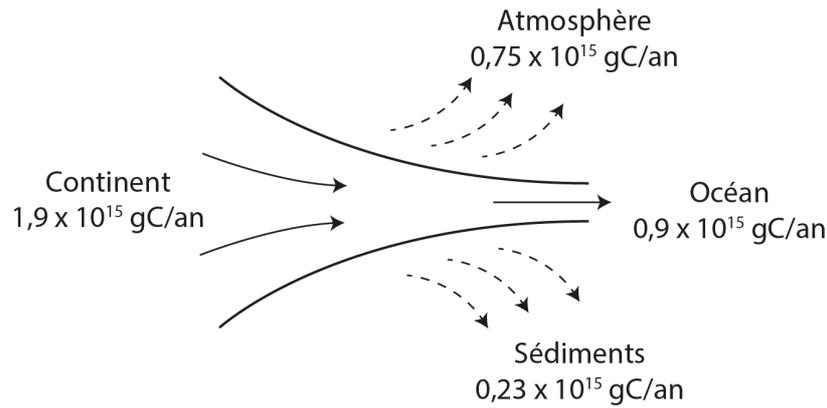


Figure 6 : Bilan de carbone dans les eaux continentales et flux vers l'atmosphère et les sédiments, d'après Cole et al. (2007).

1.2 La matière organique dans les milieux aquatiques

Les estuaires, de par leur rôle d'interface, conditionnent le transport et la dégradation des substances continentales vers le milieu marin. Parmi elles, on peut citer les métaux, les nutriments, mais aussi la matière organique (MO) ou bien les contaminants organiques. Les estuaires, de par leur nature de zone de transition, sont à l'interface des cycles biogéochimiques continentaux et marins.

La MO est un ensemble complexe et hétérogène de molécules et de macromolécules provenant à la fois des animaux, des végétaux, des microorganismes et des activités humaines, mais également les produits de dégradation de ces (macro)molécules.

La MO est transférée sous deux formes dans les estuaires et rivières : environ 60% sous forme dissoute et 40% sous forme particulaire (Spitz, 1991).

1.2.1 Les formes de la MO dans les estuaires

La MO en milieu aquatique se présente sous la forme d'un continuum de taille, allant des organismes plurimillimétriques aux molécules nanométriques (Figure 7). On peut distinguer deux types de MO aquatique en fonction de leur taille : la MO particulaire, ou MOP et la MO dissoute, ou MOD. La MOP est retenue par un filtre lors de la filtration de l'eau, contrairement à la MOD. Le seuil de coupure du filtre est variable selon les études, mais il est généralement compris entre 0,1 et 0,7 μm . La distinction entre la MOD et la MOP n'a pas de réalité géochimique, et reste uniquement opérationnelle. Ainsi, le zooplancton, le phytoplancton, les bactéries, les pollens et les débris de végétaux et des sols contribuent à la phase particulaire

(Figure 7). A l'inverse, les virus, les macromolécules et les molécules libres sont dans la phase dissoute (Figure 7). Ainsi, la MOP se compose d'un continuum de taille très large : des organismes micrométriques jusqu'aux débris pluri-centimétriques. Il en est de même pour la MOD, qui peut comprendre des macromolécules de plusieurs dizaines de milliers de daltons, jusqu'à des molécules très petites. La MOD est présente sous un continuum de taille, avec des agrégats de grandes tailles ($> 1 \text{ nm}$; MO colloïdale) et de plus petites tailles. La MO sédimentaire constitue un compartiment distinct.

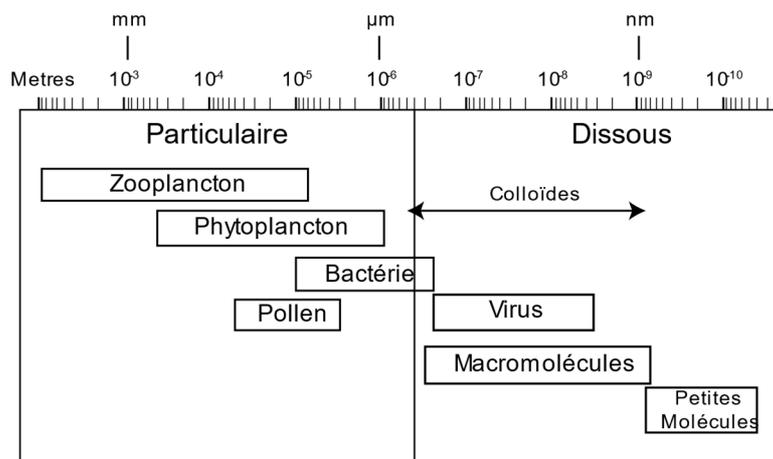


Figure 7 : Diagramme des constituants de la MO aquatique en fonction de leur taille, d'après (Hansell and Carlson, 2002).

Les différents compartiments de la MO sont en constante interaction entre eux, en particulier les phases dissoutes et particulaires (Bauer and Bianchi, 2011). Il existe 4 principaux types d'interactions MOD-MOP qui dépendent des propriétés de la MO, mais également des conditions environnementales : les phénomènes d'agrégation et de dissolution, les phénomènes d'adsorption et de désorption, les réactions photochimiques et les transformations provoquées par les organismes dans la colonne d'eau (He et al., 2016). La MO sédimentaire interagit avec les autres compartiments principalement via des processus de précipitation et de re-suspension (Figure 8).

L'agrégation de la MO permet de faciliter sa sédimentation (Azam and Malfatti, 2007) et permet une meilleure résistance à la dégradation microbienne (Gogou and Repeta, 2010). Plusieurs familles de molécules sont responsables du phénomène d'agrégation de la MOD,

notamment les « substances humiques³ », polysaccharides et protéines (He et al., 2016). Le phénomène d'agrégation se produit par superposition de plusieurs phénomènes, notamment le mouvement brownien qui est responsable des collisions des constituants de la MO et facilite la coagulation de la MOD en MOP (Stordal et al., 1996). D'autres phénomènes comme la fréquence de collisions avec des agrégats de grandes tailles ($> 1 \mu\text{m}$), du tassement différentiel, de la filtration, ou bien de la chélation avec des cations bivalents (He et al., 2016) vont entraîner une agrégation ou une dissolution de la MO (Figure 8).

L'adsorption de la MOD sur les particules en suspension est un phénomène majeur de transformation de cette dernière en MOP (Remington et al., 2007 (Figure 8). Cette sorption sur les minéraux induit une protection de la MOD, et diminue alors sa disponibilité pour les micro-organismes (Keil et al., 1994; Aufdenkampe et al., 2001). Les fonctions carboxyliques sont les fonctions chimiques les plus souvent impliquées dans l'adsorption de la MOD sur les minéraux (Tremblay and Gagné, 2009). Les composés amphiphiles (à la fois polaires et non polaires) montrent des schémas d'adsorption variés (Kleber et al., 2007). Toutefois, c'est la MOD la plus aromatique et de haut poids moléculaire (i.e. la plus hydrophobe) qui s'adsorbent préférentiellement sur les minéraux (Aufdenkampe et al., 2001) et de façon irréversible (Wershaw et al., 1995; Jagadamma et al., 2012). La désorption est le phénomène opposé à l'adsorption, et peut induire une remobilisation de la MO adsorbée sur les minéraux (Komada and Reimers, 2001).

La pénétration de la lumière dans l'eau peut également impacter les échanges MOD-MOP (Figure 8), principalement par photo-oxydation (He et al., 2016). En effet, la photo-oxydation de la MOD peut produire des molécules de plus petite taille, plus facilement adsorbables sur les surfaces minérales (Pullin et al., 2004). A l'inverse, la photo-oxydation permet d'augmenter la polarité de la MOP et d'augmenter sa solubilité dans l'eau, ce qui peut produire de la MOD (Estapa and Mayer, 2010). Toutefois, à l'inverse des deux mécanismes précédemment cités (agrégation/adsorption de la MO), la photo-oxydation de la MO est considérée comme irréversible, car considérée comme destructrice (Estapa and Mayer, 2010).

³ : La notion de substances humiques est controversée, et correspond à un extrait de MO à la soude et acidifié (Burdon, 2001).

Enfin, les processus biotiques peuvent également modifier les échanges MOP-MOD. Chaque organisme va avoir un impact différent sur les équilibres MOD-MOP (He et al., 2016). En effet, les animaux de grande taille vont pouvoir consommer à la fois de la MOD et de la MOP, alors que les organismes unicellulaires vont seulement ingérer la MO de petite taille (Wetzel, 1995; Simon et al., 2002). La composition chimique de la MO sera modifiée, avec un enrichissement en MO plus réfractaire et moins biodégradable (Mannino and Harvey, 1999). De plus, certaines bactéries peuvent également transformer la MOP en MOD (Smith et al., 1992) ou améliorer la sorption de la MOD sur les minéraux (Aufdenkampe et al., 2001). De plus, la MO peut également être adsorbée sur le matériel biologique.

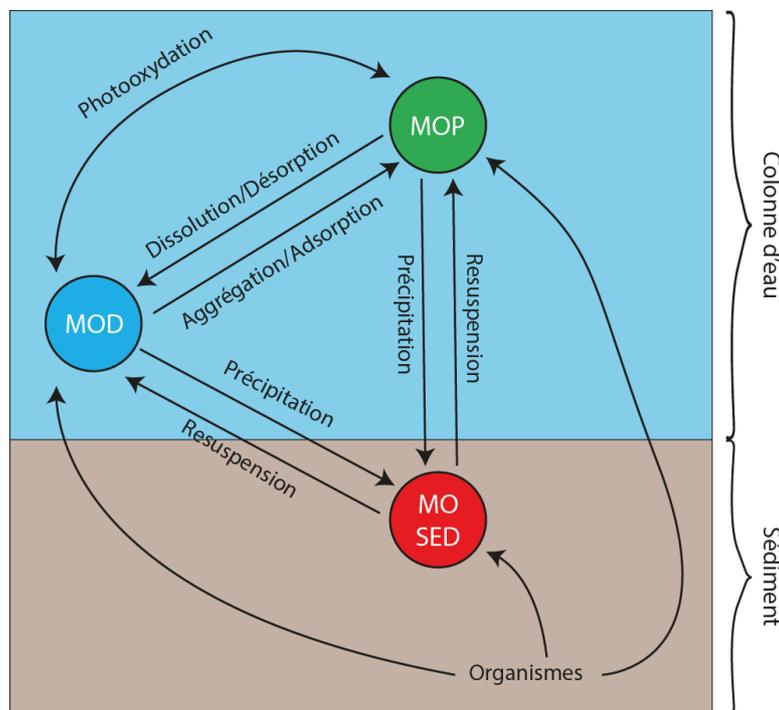


Figure 8 : Interactions et processus entre les différents compartiments de la MO dans les milieux aquatiques, d'après (He et al., 2016).

La température joue un rôle important sur les échanges MOP-MOD, notamment sur les phénomènes d'agrégation/dissolution de la MO (Kerner et al., 2003). En effet, la dissolution est plus intense lorsque la température augmente (Mayer et al., 2006). De plus, une augmentation de la température peut induire une augmentation de l'activité bactérienne, et donc de la production de MOP et MOD mais aussi la dégradation de la MOP en MOD (Thornton, 2004; Ma et al., 2014).

Les conditions d'oxydo-réduction dans la colonne d'eau jouent également un rôle important sur ces échanges, notamment en désorbant la MO des minéraux en conditions réductrices (Skoog et al., 1996), ou en augmentant les effets de la photo-oxydation en conditions oxydantes (Mayer et al., 2009). La teneur en ions, particulièrement bivalents et trivalents, peut par ailleurs influencer les phénomènes d'agrégation/dissolution et d'adsorption/désorption de la MO (He et al., 2016). Le pH joue également un rôle dans l'agrégation de la MO, notamment grâce à des liaisons hydrogènes plus nombreuses, formées entre les fonctions acides carboxyliques de la MO, lorsque le pH diminue (Alvarez-Puebla and Garrido, 2005).

1.2.2 Son rôle dans l'environnement

La MO joue de nombreux rôles dans l'environnement, notamment sur les processus biogéochimiques, sur la qualité de l'eau et sur le transfert des contaminants, organiques ou métalliques.

La MO est au cœur de cycles biogéochimiques, notamment ceux du carbone et de l'azote (Bauer and Bianchi, 2011). En effet, la MOD et la MOP sont à la base de l'alimentation des microorganismes et des organismes brouteurs, respectivement (Bauer and Bianchi, 2011; Bianchi and Bauer, 2011). La MO dans les milieux aquatiques, et notamment dans les océans, représente un stock important de carbone (~ 700 Gt de carbone seulement pour la MOD), proche du stock de carbone de l'atmosphère (750 Gt de carbone) ou de celui de la biosphère continentale (Bauer and Bianchi, 2011). Ainsi, la MO aquatique contribue de façon significative au cycle global du carbone. Les estuaires jouent un rôle important dans le cycle de carbone, notamment en transformant la MO continentale avant son exportation dans les zones côtières et océaniques (Bauer et al., 2013). Ce recyclage de la MO continentale dans les estuaires pourrait expliquer le paradoxe de la MOD océanique : très peu de MO terrigène est détectée dans les océans, alors que les rivières apportent suffisamment de MO terrigène dans les océans pour expliquer l'âge apparent ancien (4000-6000 ans) de la MOD marine (Raymond and Bauer, 2001a). Ainsi, la MO terrigène est dégradée dans les estuaires, jusqu'à ne plus être reconnaissable. Toutefois, chaque estuaire est unique et complexe, ce qui rend leur incorporation difficile dans les modèles globaux du cycle du carbone (Herrmann et al., 2015).

Les propriétés amphiphiles de la MO aquatique lui permettent de se lier à la fois à des contaminants organiques hydrophobes et à des métaux hydrophiles. La MO peut ainsi réguler

le devenir de ces xénobiotiques dans les estuaires (Santschi et al., 1997), notamment la MO colloïdale et dissoute qui peut former des complexes avec les contaminants (Santschi et al., 1997). Ces complexes ont des stabilités variables, les complexes MOD-métaux étant plus stables et résistants que ceux avec les composés organiques (Reuter and Perdue, 1977). Toutefois, tous les métaux n'ont pas le même comportement avec la MO ; ainsi, le cuivre a une forte affinité pour cette dernière, alors que le cadmium n'en a pas (Davis, 1984).

Malgré ses rôles importants sur l'environnement, la MO reste peu étudiée en milieu estuarien au niveau structural et moléculaire, surtout la MOD. Ces lacunes sont majoritairement liées au défi d'étudier la MO en milieu estuarien : sources multiples de la MO, complexité des processus biologiques, faibles concentrations en MOD (d'en moyenne 4 mg/L ; Bauer and Bianchi, 2011) associées à de fortes concentrations en sel.

1.3 Méthodes d'isolement de la MOD en milieu estuarien

Afin de pouvoir étudier les propriétés chimiques de la MOD en milieu estuarien, il est nécessaire de l'isoler. En effet, dans les milieux estuariens, la MOD est faiblement concentrée, généralement entre 1,2 et 7,8 mg/L (Bauer and Bianchi, 2011), et elle est associée à de fortes concentrations en sels, d'autant plus fortes vers l'aval. Afin d'analyser la MOD au niveau moléculaire, il est nécessaire d'en isoler des quantités suffisantes (20 à 100 mg) mais également d'éliminer les sels, qui peuvent perturber les analyses.

A ce jour, on peut classer les méthodes d'isolement en 2 grandes catégories : les extractions sur phase solide et les méthodes membranaires (ultrafiltration, osmose inverse couplée à l'électrodialyse).

1.3.1 Extractions sur phase solide

Les extractions sur phase solide (ou solid phase extraction – SPE en anglais) sont les méthodes les plus anciennes (Junk et al., 1974; Aiken et al., 1979) et les plus rapides pour isoler la MOD en milieu estuarien et marin. Dans ces méthodes, l'échantillon d'eau est déposé en tête d'une phase stationnaire, les molécules organiques ayant une affinité avec cette phase vont s'y adsorber, alors que l'eau et les sels ne sont pas retenus. Un mélange éluant est ensuite utilisé pour récupérer les molécules adsorbées (Figure 9). Il est à noter que pour maximiser

l'adsorption des molécules organiques, il est nécessaire d'acidifier les échantillons (pH 2) ce qui protone l'ensemble de la MOD et donc permet de maximiser le rendement.

Il existe différents types de SPE en fonction de la phase stationnaire utilisée. Les 3 principaux types de phases solides, détaillées ci-dessous, sont les résines XAD, les cartouches C₁₈ et les cartouches PPL. Dans toutes ces méthodes, une acidification de la MO à un pH de 2 est nécessaire afin de maximiser le rendement.

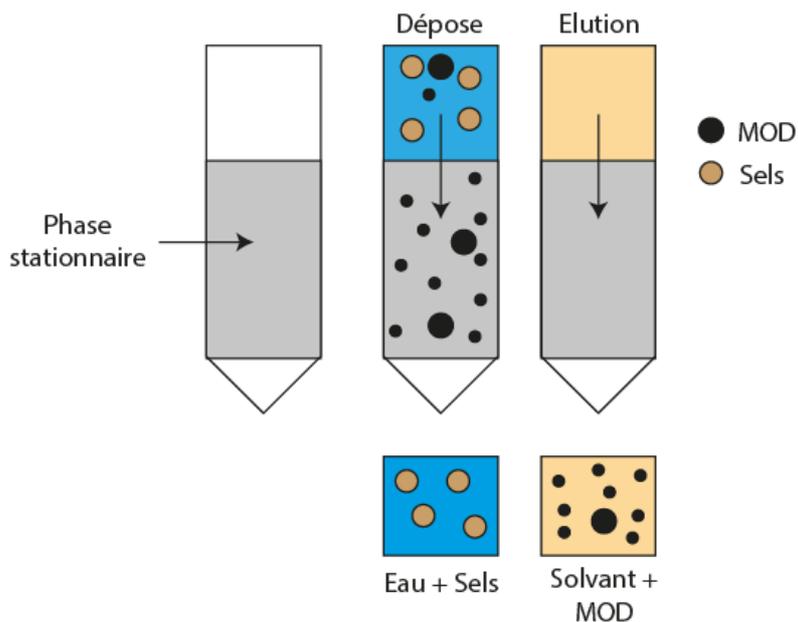


Figure 9 : Schéma du principe des extractions sur phase solide.

a. Les résines XAD

(Aiken et al., 1992) ont proposé une méthode d'isolement de la MOD en combinant les résines XAD-8 et XAD-4. Le rinçage de ces résines est très lent, d'environ une semaine. Les deux résines sont placées en séries (la résine XAD-8 en premier puis la XAD-4). Les composés acides hydrophobes sont retenus sur la résine XAD-8, alors que les composés acides hydrophiles sont retenus sur la résine XAD-4. Ces deux fractions sont ensuite récupérées à l'aide de soude à 0,1M, puis immédiatement acidifiées à pH 2 avant analyse. La majorité des molécules obtenues par cette méthode correspondent à des acides hydrophobes (récupérées sur la résine XAD-8). Cette méthode a été appliquée à de nombreux échantillons d'eau naturelle, que ce soit de rivières (Hood et al., 2005), d'estuaires (Esteves et al., 1995), ou de mer

(Meyers-Schulte and Hedges, 1986) avec des rendements faibles, généralement compris entre 30 et 40% (Druffel et al., 1992; Green et al., 2014).

L'acidification de l'échantillon nécessaire à l'isolement de la MOD modifie de manière irréversible les propriétés de cette dernière. La MOD isolée sur résines XAD n'est pas représentative⁴ de celle présente dans l'échantillon initial. En effet, elle est enrichie en molécules aromatiques (Helms et al., 2015) et possède des rapports C/N très élevés (>25) (Green et al., 2014). Malgré cela, les résines XAD sont encore utilisées pour l'étude de la MOD aquatique (Cao et al., 2018).

b. Les cartouches C18

Dans les années 2000, de nouvelles méthodes pour isoler la MOD sont apparues principalement en raison de la difficulté de se procurer des résines XAD (Dittmar et al., 2008), mais aussi au temps requis pour rincer ces dernières après utilisation (Louchouart et al., 2000). Une fois adsorbée sur la cartouche, la MOD est ensuite éluée avec du méthanol.

L'utilisation des cartouches préfabriquées C₁₈ (Mega Bond Elut ; Varian) permet d'isoler les composés hydrophobes de la MOD (Bauer and Bianchi, 2011). Cette méthode est très efficace pour isoler les dérivés de la lignine dissoute dans les rivières (où elle est la plus abondante) et les océans (présente sous forme de traces) avec des rendements avoisinant les 100%, tout en préservant ses propriétés chimiques (Louchouart et al., 2000). Toutefois, elle ne permet pas de retenir les composés azotés (notamment les amines et amides) et les tanins (Sleighter and Hatcher, 2008). Le rendement d'extraction est par conséquent limité (entre 40 et 50%), le matériel isolé présentant un rapport C/N élevé (de l'ordre de 35) pour des échantillons côtiers et d'estuaires (Dittmar et al., 2008).

c. Les cartouches PPL

Plus récemment, l'utilisation des cartouches PPL (Priority Pollutant ; Varian) a permis de maximiser les rendements d'isolement de la MOD, compris entre 55 et 70% (Dittmar et al., 2008). Elles sont composées de styrène divinyl benzène avec un diamètre de pore de 150 Å. Cette résine va permettre la rétention des composés polaires et apolaires, permettant de

⁴ C'est-à-dire que les propriétés de la MOD isolée ne sont pas identiques à celles de la MOD initiale

recupérer plus de 60% de la MOD. La MOD isolée par cette méthode a des rapports C/N beaucoup plus faibles qu'en utilisant des résines XAD ou cartouches C₁₈ (environ 20), et qui sont comparables aux valeurs observées pour la MOD avant isolement (Dittmar et al., 2008). Cette méthode à l'avantage d'être rapide, de permettre l'analyse directe de la MO isolée en sortie de cartouche et de présenter de bons rendements d'extraction.

1.3.2 L'ultrafiltration

Contrairement aux méthodes d'extraction sur phase solide, qui séparent les constituants de la MO en fonction de leurs propriétés physico-chimiques, l'ultrafiltration tangentielle est une méthode de fractionnement dépendant de la taille des molécules et qui ne nécessite aucune acidification de l'échantillon (Benner et al., 1992).

Dans un premier temps, l'échantillon d'eau est filtré pour séparer la MOP de la MOD. Puis l'échantillon de MOD est ultrafiltré en utilisant une membrane dont le seuil de coupure est en général 1 kDa (Figure 10) (Mopper et al., 1996; Benner et al., 1997). En effet, cette membrane ne retient pas les sels, et permet d'isoler un matériel très riche en MO (Benner et al., 1997). Après filtration, les échantillons isolés sont diafiltrés par ajout d'eau ultrapure pour éliminer les sels restants en ajoutant de l'eau ultrapure (Benner et al., 1997). Cette méthode permet également d'utiliser plusieurs seuils de coupures pour mieux séparer la MOD. Ainsi, il est possible de fractionner la MOD en plusieurs classes en fonction de leur taille, et donc étudier plus en détails la composition et la réactivité du continuum de taille de la MOD (Her et al., 2003; Huguet et al., 2010).

Toutefois, les molécules non retenues par la membrane sont perdues lors de l'ultrafiltration. L'échantillon isolé n'est donc plus représentatif de l'échantillon initial puisqu'il ne contient plus la MOD de faible masse moléculaire. Suite à ces pertes, les rendements de cette méthode sont plutôt faibles, de l'ordre de 20 à 40% du carbone organique en milieu marin (Benner et al., 1997) et de l'ordre de 50 à 60% de la MOD des rivières et des estuaires (Guo and Santschi, 1996; Guo and Santschi, 1997).

Le matériel isolé par ultrafiltration est enrichi en carbohydrates (Benner et al., 1992; Helms et al., 2015) et appauvri en lignine (Louchouart et al., 2000) mais également en composés de faible poids moléculaire, de composition chimique inconnue, comparé aux méthodes de SPE.

Toutefois, l'ultrafiltration permet de traiter de gros volumes d'eau, et fournit ainsi des quantités suffisantes de MOD pour une caractérisation moléculaire ultérieure.

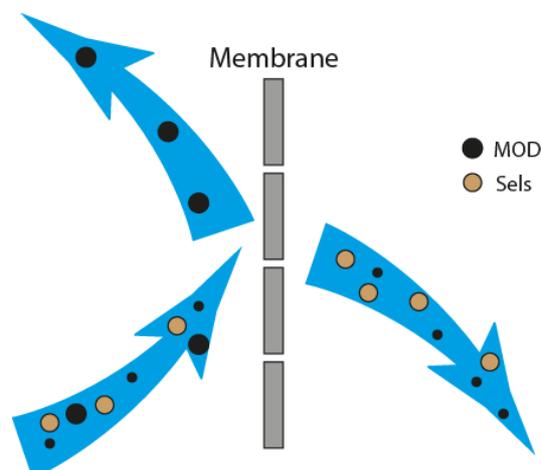


Figure 10 : Schéma du principe d'ultrafiltration tangentielle.

1.3.3 L'osmose inverse et l'électrodialyse

Depuis plus de 20 ans, l'osmose inverse est utilisée pour isoler la MOD dans les eaux douces. Cette méthode a montré d'excellents rendements, d'environ 90% (Serkiz et Perdue, 1990). Toutefois en plus d'isoler la MOD, l'osmose inverse concentre également les sels et conduit à une diminution progressive du pH. Afin de limiter l'augmentation de la concentration en sels au cours de l'osmose inverse, Serkiz et Perdue (1990) ont proposé de combiner l'osmose inverse à une membrane échangeuse de cations. Ces auteurs ont montré que l'osmose inverse était une excellente méthode pour isoler la MOD des rivières, le matériel ainsi obtenu étant plus riche en polysaccharides et en polypeptides que celui isolé par fractionnement sur résines XAD (Serkiz and Perdue, 1990).

L'osmose inverse (OI) seule ne permet pas d'isoler la MOD d'eaux salées, puisqu'elle concentre simultanément la MOD et les sels. Koprivnjak et al. (2006) ont proposé de coupler l'osmose inverse à l'électrodialyse (ED) pour dessaler les échantillons d'eau au cours de la concentration par osmose inverse et permettre ainsi d'isoler la MOD. Ce couplage a été utilisé avec succès pour concentrer la MOD d'échantillons marins, les rendements dépassant les 80 % (Koprivnjak et al., 2009; Chen et al., 2014; Helms et al., 2015). De plus, contrairement aux méthodes d'extraction sur phase solide et à l'ultrafiltration, l'osmose inverse et l'électrodialyse conduisent à des modifications qualitatives limitées de la MOD d'après les analyses de fluorescence et de spectroscopie UV-visible (Vetter et al., 2007 ; Gurtler et al.,

2008 ; Koprivnjak et al., 2009). C'est pourquoi nous avons choisi cette méthode pour isoler la MOD de la Seine. D'après la littérature, l'isolement d'un échantillon de MOD par OI/ED se décompose en 4 grandes étapes (Gurtler et al., 2008) :

- Dans un premier temps, une phase d'ED est réalisée afin de réduire la conductivité de l'échantillon à environ 50 mS/cm
- Ensuite, l'échantillon est passé en série dans les pilotes l'OI et d'ED jusqu'à un volume d'environ 10 L.
- L'échantillon est ensuite dessalé par ED pulsée par des cycles de 2 s jusqu'à atteindre une conductivité de 50 ms/cm. Puis l'échantillon est collecté et congelé avant lyophilisation et analyse.
- Les pilotes d'OI et d'ED sont ensuite rincés par de la soude à 0,01M afin de récupérer la MOD adsorbée sur les membranes. La soude est ensuite récupérée puis congelée avant analyse.

1.3.4 Synthèse et comparaison

Plusieurs études se sont intéressées à la comparaison des techniques d'isolement de la MOD et des propriétés chimiques associées afin d'en déduire une méthode permettant d'isoler une MOD la plus représentative possible de l'échantillon initial.

Dans un premier temps, Koprivnjak et al. (2009) ont utilisé la RMN du ^{13}C pour comparer l'efficacité des résines XAD, de l'ultrafiltration et de l'OI/ED pour isoler la MOD. La MOD isolée par les résines XAD est enrichie en molécules aromatiques (comme la lignine par exemple) et appauvrie en sucres par rapport à celle isolée par OI/ED. Les molécules très polaires comme les sucres ne semblent pas être retenues par la résine, et donc, la MOD se retrouve enrichie en composés plus apolaires, comme les molécules aromatiques. L'inverse est observé pour la MOD isolée par ultrafiltration : cette dernière est fortement enrichie en sucres alors qu'elle semble plus appauvrie en composés plus apolaires comme les molécules aliphatiques ou aromatiques. L'ultrafiltration enrichit donc la MOD en macromolécules très polaires comme les polysaccharides. Enfin la MOD obtenue par OI/ED semble avoir des propriétés

intermédiaires : présence de molécules polaires comme les sucres mais également de molécules plus aromatiques.

Green et al. (2014) ont comparé les propriétés de la MOD marine isolée par les résines XAD, les résines PPL et l'osmose inverse couplée à l'électrodialyse. Cette comparaison est basée sur des analyses élémentaires et des indices économiques (prix par g de MO etc...) et non sur la structure de la MOD comme la comparaison précédente. Les résines XAD sont les moins efficaces pour isoler une fraction représentative de la MOD marine. Elles ont cependant été initialement développées pour étudier les substances humiques aquatiques. La méthode la plus rapide pour isoler la MOD est l'utilisation des résines PPL. Cependant, les rapports C/N obtenus après isolement sont plus élevés que ceux de la MOD initiale, ce qui montre la perte d'une partie des molécules azotées pendant la SPE. Seule l'OI/ED permet d'obtenir des valeurs de C/N très proches de celle de l'eau initiale, malgré une pureté plus faible (c'est-à-dire que l'échantillon est composé de MOD et de minéraux) et un temps d'isolement beaucoup plus long.

Pour conclure, aucune méthode ne semble encore parfaite pour isoler la MOD dans les estuaires. La MOD isolée par OI/ED semble être plus représentative de la MOD initiale qu'avec les autres méthodes. L'utilisation des cartouches PPL semble également être un bon compromis pour isoler la MOD, même si cette dernière semble moins représentative. Elle a l'avantage d'être plus rapide que l'OI/ED, et permet donc de pouvoir traiter un nombre important d'échantillons.

1.4 Caractérisation globale de la MO estuarienne

Il existe de nombreuses méthodes pour caractériser la MO dans les estuaires, qu'elle soit sous forme dissoute, particulaire ou sédimentaire. Cette partie s'intéressera donc à ces diverses méthodes, ainsi qu'à leurs applications dans les estuaires.

1.4.1 Caractérisation de la MOD chromophorique

a. Généralités

L'isolement de la MOD avant son analyse peut induire des biais en modifiant ses propriétés. Toutefois, les propriétés optiques de la MOD peuvent facilement être déterminées sans étape

d'isolement et leur suivi permet d'obtenir des informations quant à la composition de la MOD (Coble, 1996). Deux méthodes sont très largement utilisées pour étudier la MOD dans les environnements aquatiques : la spectroscopie UV-visible et la spectroscopie de fluorescence tridimensionnelle (Coble, 2007). Ces deux techniques présentent l'avantage d'être non destructives et très sensibles mais ne permettent d'avoir accès qu'à une partie des constituants de la MOD : la MOD chromophorique pour la spectroscopie UV-visible et la MOD fluorescente pour la spectroscopie de fluorescence, cette dernière constituant une partie de la MOD chromophorique. La MOD chromophorique peut représenter entre 20 et 70% de la MOD totale, avec les valeurs les plus fortes dans les zones côtières, où l'apport des rivières est important (Coble, 2007). La MO chromophorique interagit avec la lumière en raison de la présence de structures aromatiques et insaturées. Elle est donc largement impactée par les processus photochimiques et est sensible à la photodégradation. Les spectroscopies UV visible et de fluorescence sont des outils puissants pour suivre les transformations de la MOD le long des estuaires, en particulier les variations des sources de MO (Coble, 1996; McKnight et al., 2001; Huguet et al., 2009b; Costa et al., 2011).

Les spectroscopies UV-visible et de fluorescence permettent de calculer de nombreux indices pour estimer les propriétés et les sources de la MOD. En spectroscopie UV-visible, quatre indices sont classiquement utilisés (Figure 11) :

- Le $SUVA_{254}$ qui correspond au rapport de l'absorbance à 254 nm divisée par la teneur en carbone organique dissous. Ce dernier augmente avec l'aromaticité de la MOD (Weishaar et al., 2003).
- Les pentes spectrales $S_{275-295}$ et $S_{350-400}$ qui correspondent aux pentes respectivement entre 275 et 295 nm et entre 350 et 400 nm.
- Le rapport S_R des deux pentes spectrales, qui diminue lorsque le poids moléculaire moyen de la MOD augmente (Helms et al., 2008).

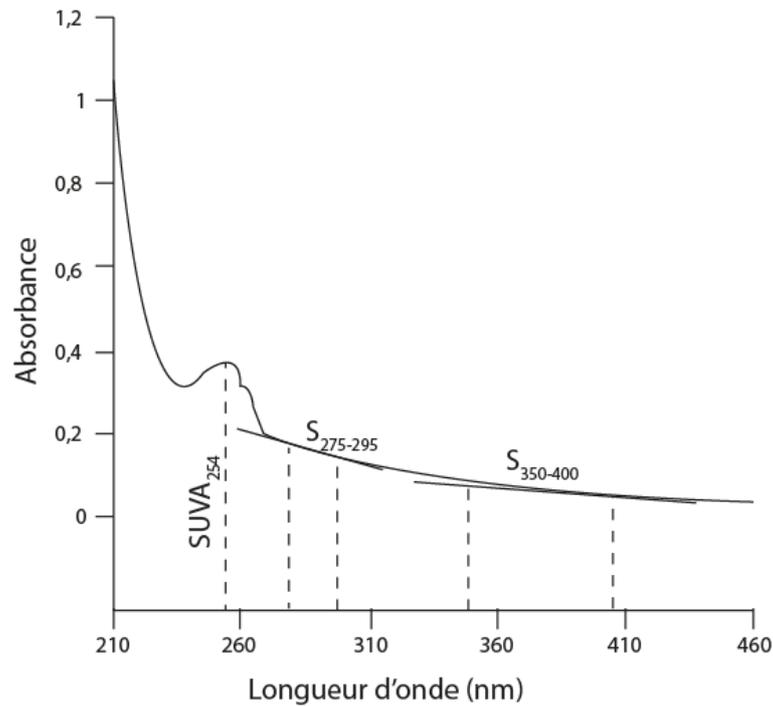


Figure 11 : Spectre UV-visible de l'extrait à l'eau du sédiment 0-1 cm prélevé à Tancarville en avril 2015 et mesure des différents indices.

La spectroscopie de fluorescence tridimensionnelle permet d'aller plus loin dans l'étude des propriétés de la MO et permet de distinguer plusieurs types de constituants de la MOD en fonction de leurs longueurs d'onde d'excitation et d'émission. 4 bandes de fluorescence sont habituellement présentes sur les spectres de la MOD (Coble, 1996 ; Parlanti et al., 2000 ; Tableau 2, Figure 12).

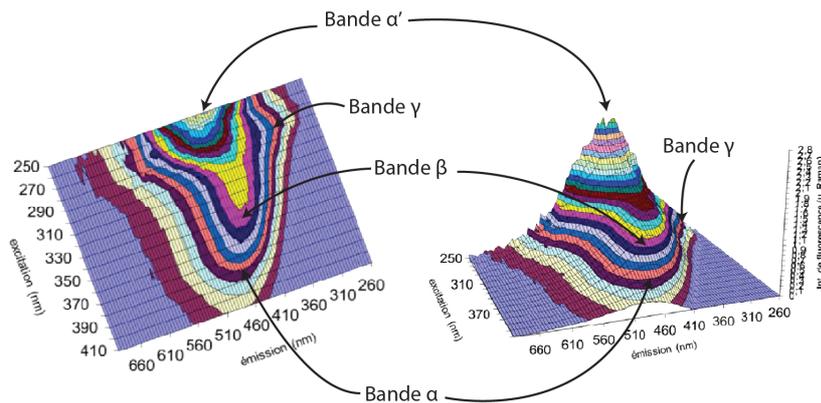


Figure 12 : Exemple d'un spectre de fluorescence 3D et sa projection dans le plan.

La bande α correspond ainsi à du matériel de type « humique⁵ » et la bande α' à du matériel « humique » plus récent. Les bandes β et γ correspondent, quant à elles, à du matériel autochtone et des composés de type protéique (seulement 3 acides aminés sont fluorescents : la tyrosine, le tryptophane et la phénylalanine), respectivement. Cette technique permet également de suivre les variations semi-quantitatives de ces différents constituants de la MOD.

Tableau 2 : Liste des bandes de fluorescence et leurs sources possibles définies par Parlanti et al., (2000) et les lettres issues de la nomenclature de Coble (1996) correspondante. ¹ = seules la tyrosine, la phénylalanine et le tryptophane fluorescent.

Bande	Lettre	Excitation max (nm)	Emission max (nm)	Type de fluorophore
α	C	330-370	420-480	Matériel de type humique
α'	A	230-260	380-480	Matériel de type humique + matériel récent
β	M	310-320	380-420	Production autochtone
γ	B	270-280	300-340	Protéines ¹

Les rapports d'intensité des différentes bandes de fluorescence permettent de suivre les variations qualitatives de la MOD en milieu aquatique. Ainsi, le rapport d'intensité des bandes α'/α permet d'estimer le caractère plus ou moins récent ou dégradé de la MOD, plus ce dernier est faible, plus la MO est dégradée (Huguet et al., 2009b). Les rapports d'intensité des bandes β/α et γ/α permettent d'estimer les proportions de MO aquatique et terrigène et d'évaluer la productivité au sein de la colonne d'eau lorsque ces deux rapports augmentent (Huguet et al., 2009b). En effet, les bande β et γ sont liées à des protéines et de la production de MOD récente (Parlanti et al., 2000).

En plus des rapports d'intensité des bandes de fluorescence, de nombreux indices peuvent également être calculés à partir des spectres de fluorescence 3D. L'indice f_{450}/f_{500} correspond au rapport de l'intensité à l'émission à 450 nm sur l'émission 500 nm pour une longueur d'onde d'excitation fixée à 370 nm (McKnight et al., 2001), des valeurs supérieures à 1,9 témoignent d'une MOD microbienne et aquatique et des valeurs inférieures à 1,3 témoignent plutôt d'une MOD terrigène (McKnight et al., 2001). Cet indice est basé sur le décalage des longueurs d'onde d'émission de fluorescence lorsque l'aromaticité de la MOD

⁵ La notion de substances humiques est controversée, est correspond à un extrait de MO à la soude et acidifié.

augmente (Senesi, 1990). Toutefois, cet indice semble peu varier dans les estuaires, probablement en raison de la floculation de la MOD lors de l'augmentation de la salinité qui peut induire un décalage des longueurs d'onde d'émission vers des longueurs d'onde plus longues (Jaffé et al., 2004; Huguet et al., 2009b).

Deux autres indices permettent également de suivre les sources et la composition de la MOD dans les estuaires : l'indice d'humification (HIX) et de production biologique (BIX). Le HIX est défini comme étant le rapport de l'aire des émissions entre 435-480 nm sur celui de l'aire entre 300-345 nm pour une excitation de 250 nm (Ohno, 2002). Le BIX est défini comme étant le rapport de l'intensité à l'émission 380 nm sur l'émission 430 nm pour une excitation de 250 nm (Huguet et al., 2009b). Ces deux indices permettent d'obtenir des informations quant au degré de dégradation de la MOD mais également de la contribution en MOD aquatique (Tableau 3).

Tableau 3 : Gamme des valeurs du HIX, BIX et f450/f500 et propriétés possibles de la MOD associée, d'après (Vacher, 2004; Huguet et al., 2009b) et (McKnight et al., 2001).

HIX	Propriétés de la MOD
> 16	MOD dégradée/terrigène
6-10	Apport faible de MOD autochtone
4-6	Apport important de MOD autochtone
< 4	Origine aquatique ou bactérienne
BIX	Propriétés de la MOD
0,6-0,7	MOD autochtone faible
0,7-0,8	MOD autochtone intermédiaire
0,8-1	MOD fortement autochtone
>1	Origine aquatique ou bactérienne
f450/f500	Propriétés de la MOD
>1,9	MOD microbienne et aquatique
< 1,3	MOD terrigène

Enfin, de nouveaux outils mathématiques permettent de mieux contraindre les sources de la MOD chromophorique en milieu estuarien et marin : les analyses par facteurs parallèles (PARAFAC en anglais). Cette méthode permet de décomposer les spectres de fluorescence en plusieurs composantes, qui peuvent être identifiées à l'aide d'une base de données communautaire (<https://openfluor.lablicate.com>) et dont l'évolution peut être suivie le long des estuaires (Stedmon and Markager, 2005). Cette analyse permet de distinguer de nouvelles

sources de la MOD dans les environnements comme les sources anthropiques, ou bien différentes sources de MOD terrigène, ce qui est plus difficile sans cette déconvolution.

b. Application aux estuaires

La MOD chromophorique se comporte de façon non conservative dans de nombreux estuaires (Costa et al., 2011; Yang et al., 2013), c'est-à-dire qu'elle ne subit pas une simple dilution lors du mélange des masses d'eaux douces et marines mais qu'il existe des sources et des puits de MOD chromophorique tout le long des estuaires. Elle est également plus concentrée dans les estuaires que dans les océans (Catalá et al., 2013). La MOD chromophorique estuarienne peut provenir de nombreuses sources : terrigène (Coble et al., 1998; Gardner et al., 2005), phytoplanctonique (Romera-Castillo et al., 2010), bactérienne (Nelson et al., 2004; Ortega-Retuerta et al., 2009; Romera-Castillo et al., 2011), zooplanctonique (Steinberg et al., 2004), des herbes marines (Stabenau et al., 2004; Barrón and Duarte, 2009), des sédiments (Burdige et al., 2004; Tremblay et al., 2007), des vasières (Tzortziou et al., 2008; Clark et al., 2008; Bianchi et al., 2011) et même des stations d'épurations (Baker, 2001). Sa concentration diminue généralement avec la salinité (Zhu et al., 2017a), mais pas toujours de façon linéaire (Huguet et al., 2009b). Les sources de la MOD chromophorique peuvent changer en fonction des saisons, notamment dans les zones tropicale avec un fort contraste saisonnier : en périodes de fortes précipitations, la MOD chromophorique est généralement enrichie en MO terrigène, provenant d'une érosion plus importante du bassin versant, alors qu'en période de faibles précipitations, la MOD chromophorique se trouve enrichie en protéines, témoignant d'une activité biologique plus importante et/ou d'un apport de MO issu de l'érosion des sols plus faible (Costa et al., 2011). Toutefois, la question du caractère général d'une telle variabilité dans les estuaires tempérée est à poser.

Le long des estuaires, le S_R de la MOD chromophorique augmente avec la salinité, ce qui suggère que la taille de cette dernière diminue (Helms et al., 2008; Zhu et al., 2017b). L'augmentation du S_R résulte notamment de la photodégradation de la MOD terrigène, qui est très photodégradable (Hernes and Benner, 2003). L'analyse de la MOD fluorescente dans les estuaires a montré que cette dernière est généralement enrichie en matériel de type humique en amont, associé aux fluorophores α et α' (Vacher, 2004; Baker and Spencer, 2004; Huguet et al., 2009b; Li et al., 2015). Ces derniers sont également plus abondants en hiver,

lorsque l'apport en MO érodée des sols est plus important, et la production primaire la plus faible (Vacher, 2004). La MOD fluorescente liée à la MO autochtone et protéique (bandes β et γ) est plus abondante en aval, témoignant d'une augmentation en apports de MO aquatique marine dans la zone aval des estuaires (Huguet et al., 2009b).

La composition de la MOD chromophorique varie également en fonction de sa taille. En effet, dans certains cas, la MOD chromophorique de haut poids moléculaire est enrichie en molécules aromatiques dégradées alors que la MOD chromophorique de faible poids moléculaire est enrichie en MO autochtone et fraîche (Boehme and Wells, 2006; Huguet et al., 2010). Toutefois, ces conclusions pourraient varier suivant les estuaires, au vu de la grande complexité de ces derniers.

1.4.2 Analyses élémentaires du carbone et de l'azote

En biogéochimie, le rapport C/N est très largement utilisé pour caractériser la MO dans de nombreux environnements : les sols (McGill and Cole, 1981), les rivières (Lara et al., 1998), les lacs (Meyers, 1994; Kaushal and Binford, 1999), les estuaires (Thornton and McManus, 1994; Andrews et al., 1998), et l'océan (Meyers, 1994). En milieu estuarien, il peut permettre de tracer les différentes sources possibles de la MO, i.e. terrigène vs. aquatique. En effet, les végétaux terrestres sont principalement composés de lignine et de cellulose, macromolécules pauvres en azote et présentant des rapports C/N élevés, généralement entre 20 et 500 (Hedges et al., 1997). Inversement, le plancton et les bactéries produisent des composés enrichis en azote, avec des rapport C/N plus faibles, respectivement d'environ 7 et 4 (Hedges et al., 1997).

Cependant, l'utilisation du rapport C/N comme traceur de source peut être biaisée par la dégradation de la MO. En effet, lors de la dégradation microbienne, la MO terrigène a tendance à s'enrichir en azote suite à l'incorporation de la biomasse bactérienne, conduisant à une diminution du rapport C/N (Hedges and Oades, 1997). A l'inverse, la dégradation de la biomasse planctonique s'accompagne d'une augmentation du rapport C/N par minéralisation préférentielle de l'azote par rapport au carbone (Hedges and Oades, 1997). Ainsi, les rapports C/N de la MO terrigène et aquatique vont converger lors de leur dégradation, rendant difficile leur interprétation pour estimer les sources de la MO en milieu estuarien (Thornton and McManus, 1994). De plus, Thornton and McManus (1994) ont montré un lien entre la

granulométrie des matières en suspensions (MES) et le rapport C/N de la MOP, indiquant qu'en plus des sources et de l'état de dégradation de la MOP, la granulométrie de la MOP peut également jouer un rôle : les rapports C/N sont plus importants pour les MES les plus grossières. En effet, les MES plus grossières sont plus accessibles pour les bactéries (Bordovskiy, 1965) ce qui conduit à une dégradation plus importante de la MOP, et donc, à une hausse du rapport C/N.

Les valeurs de C/N de la MOD océanique sont généralement comprises entre 13 et 14, et augmentent jusqu'à 17 dans les zones côtières (Loh and Bauer, 2000). Le rapport C/N observé dans les océans montre des valeurs plus importantes dans la MOD que dans la MOP, qui présente des valeurs comprises entre 6 et 10 (Loh and Bauer, 2000; Sannigrahi et al., 2005). Ces plus faibles valeurs du C/N dans la MOP sont aussi observées dans les estuaires (McCallister et al., 2006). Cette différence est due au continuum de réactivité de la MO qui est fonction de sa taille : la MO de grande taille est enrichie en molécules azotées de haut poids moléculaire à l'inverse de la MO de plus petite taille qui est enrichie en petite molécules appauvrie en azote issus de la dégradation des molécules de plus grande taille (Amon and Benner, 1994; Amon and Benner, 1996; Walker and McCarthy, 2012). Ces résultats sont opposés à ceux obtenus sur la MOD chromophorique pour laquelle la fraction de haut poids moléculaire est plus dégradée (Boehme and Wells, 2006; Huguet et al., 2010). Ceci pourrait être dû au fait que la MOD de haut poids moléculaire labile ne contribue que faiblement à la MOD chromophorique, principalement constituée de MO dégradée et hautement aromatique. Ainsi, la MOD chromophorique de haut poids moléculaire serait plus dégradée que la MO prise dans son ensemble.

1.4.3 La composition en isotope stable du carbone

Le carbone possède deux isotopes stables. Le plus abondant est le carbone 12 (^{12}C), qui représente 98,9 % du carbone total. Le carbone 13 (^{13}C) est lui, beaucoup moins abondant (1,1%). Afin d'exprimer la proportion de ^{13}C dans l'environnement, la notation δ est utilisée, elle permet de quantifier l'écart entre le rapport $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ d'un échantillon par rapport à un standard international : le Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB ; Eq. 2)

$$\delta^{13}\text{C} (\text{‰}) = \left(\frac{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}} \right)_{\text{echantillon}}}{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}} \right)_{\text{VPDB}}} - 1 \right) \times 1000 \quad (\text{Eq. 2})$$

L'isotopie du C est un bon outil pour suivre les transformations et les sources de la MO en milieu estuarien (Raymond and Bauer, 2001b). En effet, (Shultz and Calder, 1976) ont utilisé un modèle de mélange binaire pour calculer la proportion de MO provenant du milieu continental dans des estuaires du Golfe de Mexique en utilisant le même principe que vu en partie 1.4.2 pour le C/N (Eq. 3 ; f_T = fraction de MO terrigène, f_M = fraction de MO marine, $\delta^{13}\text{C}_T$ = $\delta^{13}\text{C}$ de la MO terrigène et $\delta^{13}\text{C}_M$ = $\delta^{13}\text{C}$ de la MO marine).

$$\delta^{13}\text{C} = f_T \times \delta^{13}\text{C}_T + f_M \times \delta^{13}\text{C}_M \quad (\text{Eq. 3})$$

En milieu continental, la MO présente des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ comprises entre -30 et -25 ‰, principalement dues au fractionnement isotopique induit par la photosynthèse (Bauer, 2002). En milieu marin, la MO est enrichie en $\delta^{13}\text{C}$ par rapport au milieu continental, avec des valeurs comprises entre -23 et -18 ‰ (Dittmar and Stubbins, 2014). Le $\delta^{13}\text{C}$ de la MO rejetée par les stations d'épuration est proche de celle de la MO continentale, d'environ -26 ‰ (Burnett and Schaeffer, 1980). Il est également possible de tracer finement les source de la MO (e.g. le phytoplancton) à l'aide du $\delta^{13}\text{C}$ (Savoye et al., 2012).

Dans de nombreux estuaires ou système côtiers, une augmentation du $\delta^{13}\text{C}$ de la MO est observée dans la phase dissoute, particulaire et sédimentaire par rapport au milieu continental (Thornton and McManus, 1994; Middelburg and Herman, 2007; Yu et al., 2010; Seidel et al., 2015). Cette augmentation du $\delta^{13}\text{C}$ de la MO le long des estuaires est la conséquence de trois facteurs : le mélange avec de la MO marine, enrichie en ^{13}C (Cloern et al., 2002), la dégradation de la lignine, appauvrie en ^{13}C et également la dégradation

microbienne de la MO, qui induit un fractionnement isotopique et enrichit la MO en ^{13}C (Macko and Estep, 1984).

Toutefois, l'augmentation du $\delta^{13}\text{C}$ n'est pas toujours linéaire avec la salinité, et son évolution de l'amont à l'aval dépend de l'estuaire considéré, comme observé dans la phase particulière de 9 estuaires européens (Middelburg and Herman, 2007). Ces tendances spécifiques sont liées aux différences morphologiques de chaque estuaire, qui jouent sur la marée et le temps de résidence de la MOP.

1.4.4 La composition en isotope stable de l'azote

L'azote possède deux isotopes stables : l'azote 14 majoritaire (99,6%) et l'azote 15 (0,36%). Comme le ^{13}C , la notation δ est utilisée pour mesurer l'abondance relative en ^{15}N par rapport au ^{14}N par rapport à un standard : l'air (Eq. 4).

$$\delta^{15}\text{N} (\text{‰}) = \left(\frac{\left(\frac{^{15}\text{N}}{^{14}\text{N}} \right)_{\text{echantillon}}}{\left(\frac{^{15}\text{N}}{^{14}\text{N}} \right)_{\text{air}}} - 1 \right) \times 1000 \quad (\text{Eq. 4})$$

L'isotopie de l'azote est un outil complémentaire de l'isotopie du carbone pour tracer les sources de la MO dans les environnements aquatiques (Peters et al., 1978). La MO terrigène est appauvrie en ^{15}N ($\delta^{15}\text{N} \approx 1.5 \text{‰}$) et la MO marine est enrichie en ^{15}N ($\delta^{15}\text{N} \approx 8 \text{‰}$; Mariotti et al., 1984). De plus, la MO issue des phytoplanctons montre des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ nettement supérieures à celle de la MO terrigène et marine ($> 15 \text{‰}$; Mariotti et al., 1984). Le $\delta^{15}\text{N}$ des organismes estuariens soumis à une pollution par des eaux usées montre aussi de fortes valeurs (>10 ; Hadwen and Arthington, 2007). Le $\delta^{15}\text{N}$ augmente également le long de la chaîne alimentaire (Miyake and Wada, 1967). Toutefois, dans les estuaires, les variations du $\delta^{15}\text{N}$ peuvent refléter les transformations de la MO plutôt que le mélange de la MO terrigène avec la MO aquatique (Owens, 1985) aussi bien que le mélange de la MO de la rivière avec la MO marine (Middelburg and Nieuwenhuize, 1998).

Lors de la dégradation de la MO, l'azote est soumis à un fractionnement isotopique. En effet, la dégradation de la MO entraîne un enrichissement de cette dernière en ^{15}N , et donc une augmentation du $\delta^{15}\text{N}$ (Owens, 1988). Ainsi, une MO très dégradée va contenir peu d'azote, mais avec un $\delta^{15}\text{N}$ élevé (Thornton and McManus, 1994).

L'analyse conjointe du $\delta^{13}\text{C}$ et du $\delta^{15}\text{N}$ permet d'obtenir des informations plus complètes sur les sources de la MO (e.g Owens, 1985; Lorente et al., 2014).

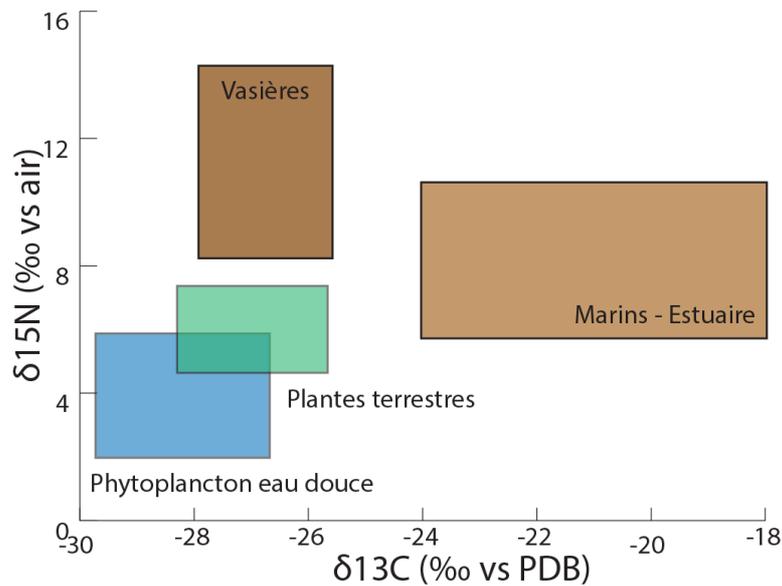
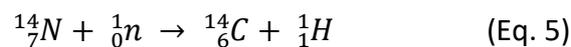


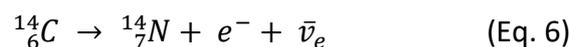
Figure 13 : Exemple d'une combinaison du $\delta^{13}\text{C}$ et du $\delta^{15}\text{N}$ pour tracer les sources de la MO dans les environnement, d'après Lorente et al. (2014)

1.4.5 La datation par le radiocarbone

Le carbone possède plusieurs radioisotopes, ou radiocarbone, allant de la masse 8 à 22. Parmi eux, le plus stable est le carbone 14 (ou ^{14}C) qui a une période de demi-vie de 5730 ans. Il est produit dans la haute atmosphère, sous l'effet des radiations du soleil, par adsorption d'un neutron par un atome d'azote, comme décrit dans l'équation 5.



Le ^{14}C est radioactif, c'est-à-dire qu'il se désintègre spontanément. Sa radioactivité est de type β^- c'est-à-dire qu'il émet un électron et un antineutrino électronique, sa désintégration conduisant à la formation d'un atome d'azote (Eq. 6).



La notation $\Delta^{14}\text{C}$ (‰) permet de mesurer l'activité relative en ^{14}C dans les échantillons. Le $\Delta^{14}\text{C}$ est calculé à partir de la fraction moderne de Carbone (f_M) d'après l'équation 7 (McNichol and Aluwihare, 2007), où y correspond à l'année de prélèvement :

$$\Delta^{14}\text{C} = \left(f_M \times e^{-\frac{1}{8267} \times (1950-y)} - 1 \right) \times 1000 \quad (\text{Eq. 7})$$

Grâce à ses propriétés radioactives, le ^{14}C est utilisé pour dater les restes organiques, datant d'au moins 50 000 ans. Les premières datations utilisaient l'hypothèse que l'activité en ^{14}C initial était constante et égale à celle mesurée de nos jours dans l'atmosphère. Cependant, cette activité est variable au cours du temps, et nécessite donc une calibration des âges obtenu par le ^{14}C (Reimer et al., 2013). De plus, les activités humaines, notamment les essais nucléaires, ont également fortement modifié la composition isotopique de l'atmosphère, en augmentant de façon considérable l'activité en ^{14}C (Figure 14). Une datation postérieure à ces évènements est possible en utilisant de nouvelles calibrations, dites post-bombe (Hua et al., 2013).

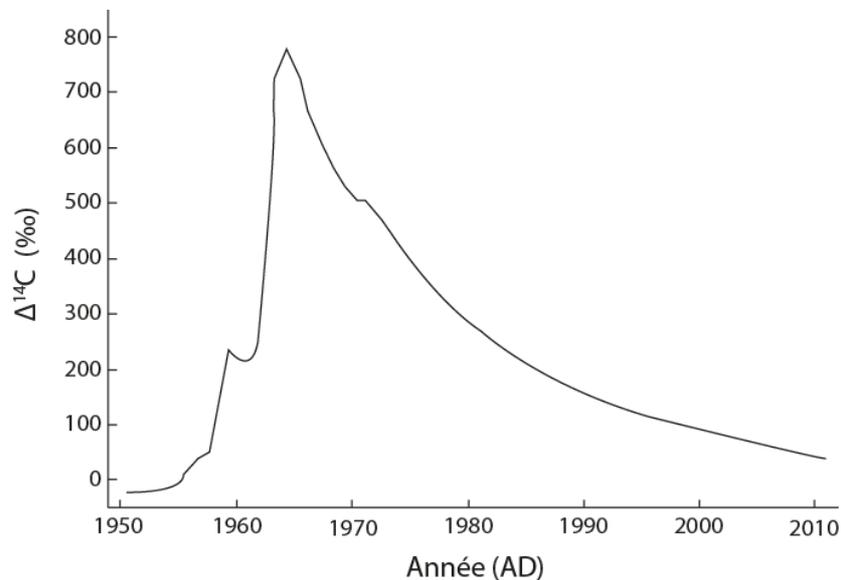


Figure 14 : Variation du $\Delta^{14}\text{C}$ entre 1950 et 2010 dans l'hémisphère Nord. D'après Hua et al. (2013).

L'utilisation du radiocarbone est souvent couplée à celle du carbone 13 afin de mieux déterminer les sources et la dynamique de la MO en milieu estuarien. Dans les rivières, le signal isotopique en ^{14}C ($\Delta^{14}\text{C}$) est en général très appauvri par rapport à l'atmosphère (Figure 15), suggérant que la MOP est vieille de plusieurs centaines ou milliers d'années et qu'elle provient des sols, de la MO sédimentaire fossile et/ou des hydrocarbures (Raymond and Bauer, 2001b). De plus, l'âge observé de la MOP dépend de la morphologie du cours d'eau. Ainsi, dans les cours d'eau montagneux, la part de MOP provenant des roches et des sols anciens est plus importante en raison d'une érosion plus forte, conduisant à un âge plus grand

de la MOP (Raymond and Bauer, 2001b). A l'inverse, la MOP des cours d'eau drainant des terrains plats est plus récente, en lien avec une plus faible érosion des sols (Raymond and Bauer, 2001b).

Contrairement à la MOP, la MOD est en général enrichie en ^{14}C dans les estuaires et les rivières (Figure 15). Ceci est dû à une plus forte contribution de MOD fraîchement produite et une plus faible proportion de MO ancienne issue des sols et roches (Meybeck, 1993). Dans les estuaires, le $\Delta^{14}\text{C}$ de la MOD varie entre -81 et 51‰, celui de la MOD de haut poids moléculaire est plus variable allant de -205 à 434‰, enfin, celui de la MOP varie généralement entre -190 et 156‰ (Canuel and Hardison, 2016).

Dans les zones côtières et dans les océans, à l'inverse des rivières et des estuaires, la MOP est en général enrichie en ^{14}C par rapport à la MOD (Druffel et al., 1992). En effet, la MOP est principalement produite par le plancton et montre un âge récent. A l'inverse, la MOD est constituée d'une fraction récente produite *in situ* et rapidement biodégradée, et d'une fraction très ancienne, non dégradée qui vieillit l'âge apparent de la MOD. Au final, dans les estuaires, l'âge global de la MOD augmente avec la salinité (Raymond and Bauer, 2001b).

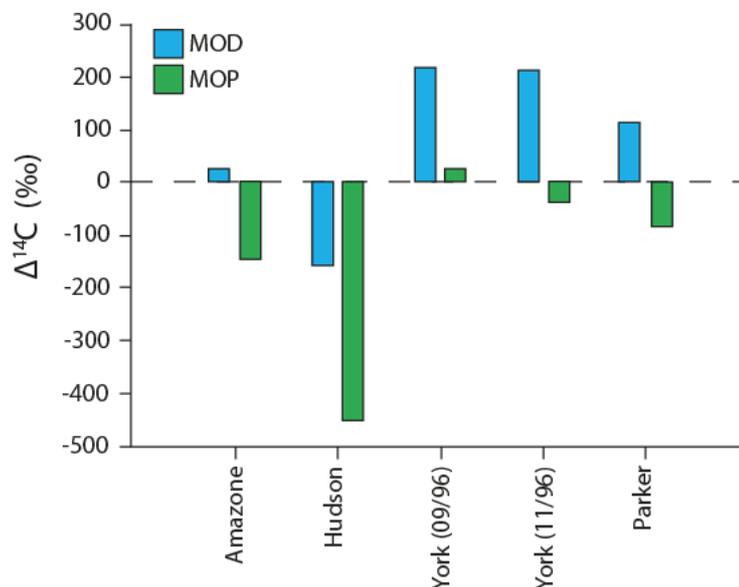


Figure 15 : Comparaison du $\Delta^{14}\text{C}$ de la MOD et de la MOP dans différents estuaires, d'après Raymond et Bauer (2001a).

En milieu estuarien, la MO sédimentaire agit comme un compartiment de stockage de MOD et MOP ancienne, jusqu'à la remise en suspension de ce matériel dans la colonne

d'eau (suite par exemple à de fortes marées) avant d'être transportée *in fine* dans l'océan (Ruzecki, 1981; Schubel and Pritchard, 1986).

La combinaison du $\delta^{13}\text{C}$ et du $\Delta^{14}\text{C}$ permet au final d'avoir une idée plus précise des sources de la MO en milieu estuarien. En effet, les signatures en ^{13}C de la MO terrigène et aquatique peuvent être identiques (Raymond and Bauer, 2001b). L'utilisation couplée des deux isotopes du C aide à mieux discriminer les sources de la MO estuarienne (Figure 16).

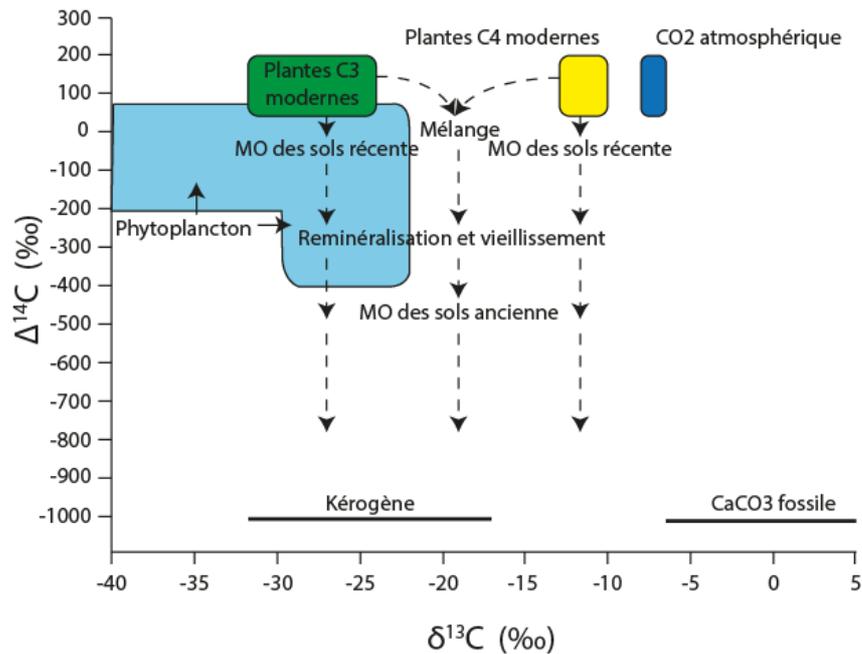


Figure 16 : Les différentes sources de C et leur évolution au cours du temps. D'après Marwick et al. (2015).

1.4.6 La résonance magnétique nucléaire

Comprendre en détail la dynamique de la MO en milieu estuarien nécessite une caractérisation précise de cette dernière, à l'échelle structurale et moléculaire. Cette caractérisation fine permet de déterminer la nature des principaux groupements chimiques (par exemple les CH_3 , les OCH_3 , les acides etc...) qui composent la MO et qui influencent directement les interactions entre MO et contaminants organiques et inorganiques (Chiou et al., 1987; Chefetz et al., 2000; Shiller et al., 2006; Abdulla et al., 2009). Les propriétés de la MO sont également étroitement liées à la biodisponibilité de cette dernière pour les organismes vivants (Bauer and Bianchi, 2011).

La détermination des principaux groupements chimiques qui constituent la MO s'effectue classiquement en utilisant deux techniques : la spectroscopie infrarouge avec transformée de Fourier (FTIR) et/ou la résonance magnétique nucléaire (RMN). La RMN est plus fréquemment utilisée que la FTIR pour caractériser la MO naturelle car elle est moins impactée par la présence de minéraux : la RMN ne sonde qu'un élément chimique, alors que la FTIR va identifier l'ensemble des différentes liaisons y compris celles des minéraux. Seule la RMN sera discutée dans la suite de ce paragraphe et plus particulièrement la RMN en phase solide, utilisée dans le cadre de ce travail. La RMN utilise les propriétés du champ magnétique autour des noyaux des atomes, et plus précisément des noyaux de spin non nul (^1H , ^{13}C etc...) et permet d'identifier l'environnement chimique autour des différents atomes de la ou des molécules étudiées. Pour l'étude de la MO naturelle, la RMN du ^{13}C est la plus courante mais, l'utilisation de la RMN du ^1H , ^{15}N et du ^{31}P est également possible (Mao et al., 2017).

Les analyses RMN nécessitent des quantités de matériel organique comprises entre 10 et 100 mg. En milieu estuarien, elles ont principalement été réalisées sur la MOD (Koprivnjak et al., 2009; Abdulla et al., 2010b; Helms et al., 2015; Cao et al., 2016; Cao et al., 2018). La RMN est bien plus utilisée sur les sols (Kögel-Knabner, 1997; Zhou et al., 2014), voire même sur des MOP de rivière (Templier et al., 2005). A notre connaissance, aucune caractérisation de la MOP ou de la MO sédimentaire estuarienne par RMN du ^{13}C n'a été conduite à ce jour. Toutefois, la MOP et la MO sédimentaire marine et lacustre ont été caractérisées par RMN (Zang and Hatcher, 2002; Sannigrahi et al., 2005; Dickens et al., 2006).

La RMN du ^{13}C permet de déterminer les fonctions chimiques carbonées présentes dans un échantillon de MO, en fonction de leur déplacement chimique (Figure 17), mais ces attributions ne sont pas toujours univoques.

Afin d'identifier plus en détail les fonctions chimiques, il est possible d'utiliser des techniques de RMN avancées (traitement du signal, déphasage dipolaire, anisotropie du déplacement chimique, RMN du $^{13}\text{C}(^{14}\text{N})$ SPIDER pour saturation-pulse induced dipolar exchange with recoupling), ou bien d'utiliser de la RMN bi- ou tri-dimensionnelle (Mao et al., 2017).

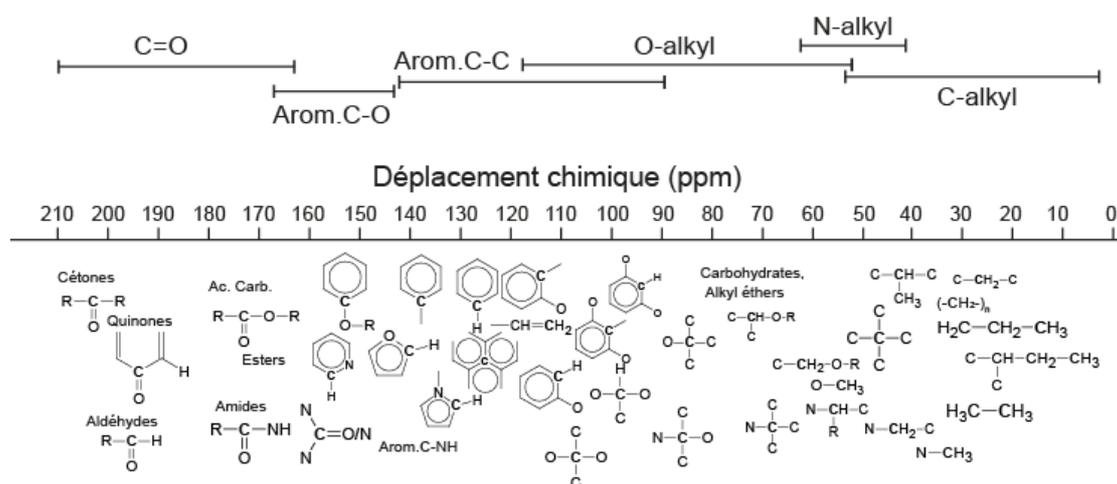


Figure 17 : Déplacements chimiques de différents groupements fonctionnels de la MO par RMN du ^{13}C . D'après Mao et al. (2017).

La RMN du ^{15}N est moins utilisée pour caractériser la MO naturelle, notamment à cause d'un problème de sensibilité (le ^{15}N est 3 fois moins sensible que le ^{13}C), mais également de la faible abondance relative du ^{15}N par rapport au ^{14}N (0.3 %). Toutefois, une nouvelle méthode de RMN à récemment été mise au point : la polarisation nucléaire dynamique (DNP) qui permet d'augmenter significativement le signal RMN obtenu (Märker et al., 2015).

Abdulla et al. (2010) ont utilisé la FTIR et la RMN du ^{13}C pour suivre l'évolution de la structure chimique de la MOD dans la baie de Chesapeake. Ils ont pu mettre en évidence que, vers l'aval, la MOD s'enrichissait en carbohydrates et s'appauvissait en molécules aromatiques. Le couplage de ces deux phénomènes aurait pour origine la photodégradation de la lignine dans la colonne d'eau. En effet, la photodégradation est le phénomène principal de dégradation de la lignine dans les systèmes aquatiques (Hernes and Benner, 2003). Cette perte de lignine conduirait à une diminution de la proportion relative de C aromatiques dans les échantillons et parallèlement à une augmentation de la proportion de carbohydrates aidé par le fait que ces derniers sont très résistants à la photodégradation (Dalzell et al., 2009).

1.5 Composition moléculaire de la MO

La MO naturelle se compose de milliers de molécules, qui peuvent être classées dans différentes catégories : les molécules hydrosolubles, les lipides ou bien les macromolécules. Dans cette partie, seules les molécules étudiées dans ce manuscrit seront détaillées.

1.5.1 La MO hydrosoluble

La MO hydrosoluble se compose de molécules très polaires, notamment de carbohydrates et de protéines.

a. Les carbohydrates

Les carbohydrates sont les biomolécules les plus abondantes sur la planète, présentes à la fois chez les plantes, les animaux et les micro-organismes (Aspinall, 1983). Ces molécules jouent un rôle majeur dans la structure, le stockage de l'énergie et le métabolisme des organismes (Aspinall, 1970). Ils se composent d'une succession de monomères appelés oses ou monosaccharides. Ils sont composés d'une ou plusieurs fonctions carbonyles, d'au minimum deux fonctions alcool et d'une chaîne carbonée. Ils sont constitués de 3 à 9 atomes de C, les carbohydrates à 5 ou 6 atomes de carbone (pentoses et hexoses) étant les plus fréquents. Des exemples de structure chimique de sucres sont présentés en Figure 18. Les sucres contiennent également un carbone particulier : le carbone anomérique. Il s'agit d'un carbone asymétrique formé lors de la cyclisation du sucre : le carbone 1 dans le cas des aldoses et le carbone 2 dans le cas des cétooses. La stéréochimie de ce carbone est précisée par une lettre grecque (α ou β).

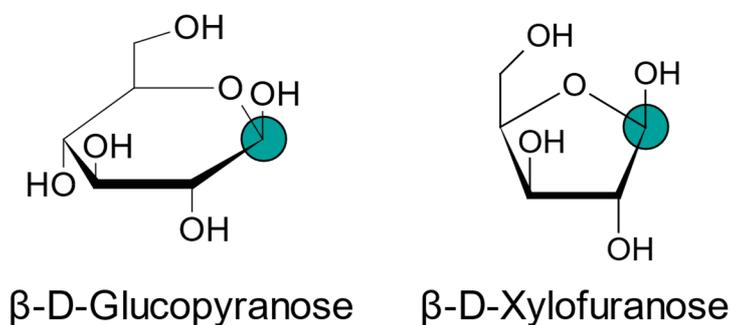


Figure 18 : Exemple de structures de monosaccharide (glucose et xylose) sous forme cyclique (pyrane pour le glucose et furane pour le xylose). Les cercles représentent la position du carbone anomérique, ici en isomérisation β .

Les carbohydrates sont souvent les composés les plus abondants dans la MOD, mais dont la proportion peut être très variable : entre 0 et 90% du COD (Bauer and Bianchi, 2011) sous forme simple ou bien de polymères. Les formes simples sont beaucoup plus réactives, alors que les polymères sont plus stables dans l'environnement, expliquant pourquoi les formes de haut poids moléculaire sont les plus abondantes (Bauer and Bianchi, 2011). La distribution des sucres est différente suivant la taille de la MOD : la MOD de haut poids moléculaire est enrichie en sucres aminés, méthylés et en désoxyoses ; à l'inverse, la MOD de faible poids moléculaire est plus riche en hexoses (Minor et al., 2002). Par ailleurs, les sucres modifiés (méthylés, azotés, etc...) sont bien plus abondants dans la MOD de haut poids moléculaire, et pourraient structurer spatialement la MOD (Nebbioso and Piccolo, 2013). De plus, des fortes concentrations en acyl hétéropolysaccharides (biopolymère de carbohydrates, d'acétate et de lipides) ont été détectées dans les estuaires. Ces molécules sont probablement issues de la dégradation de la biomasse phytoplanctonique d'eau douce (Aluwihare et al., 2002; Aluwihare et al., 2002). Ainsi, le traçage de cette famille de molécules permettrait de suivre l'apport en MO aquatique dégradée provenant de la rivière dans les estuaires (Bauer and Bianchi, 2011).

Les teneurs en carbohydrates sont généralement mesurées par dosage colorimétrique. La méthode la plus ancienne est la méthode dite de Dubois (Dubois et al., 1956). Cette méthode se décompose en 2 étapes de traitement et une étape d'analyse (Figure 19) : (1) une déshydratation des sucres et hydrolyse des polysaccharides par H_2SO_4 concentré (2) une condensation des monomères déshydratés avec du phénol qui forme un adduit orangé qui absorbe la lumière à 490 nm, (3) la mesure de l'absorbance à cette longueur d'onde qui est directement liée à la concentration totale en sucres dans la solution. Cette méthode à l'avantage d'être rapide, simple et précise. Toutefois, elle est sensible à la présence de sels et sa reproductibilité a été discutée (Panagiotopoulos and Sempéré, 2005).

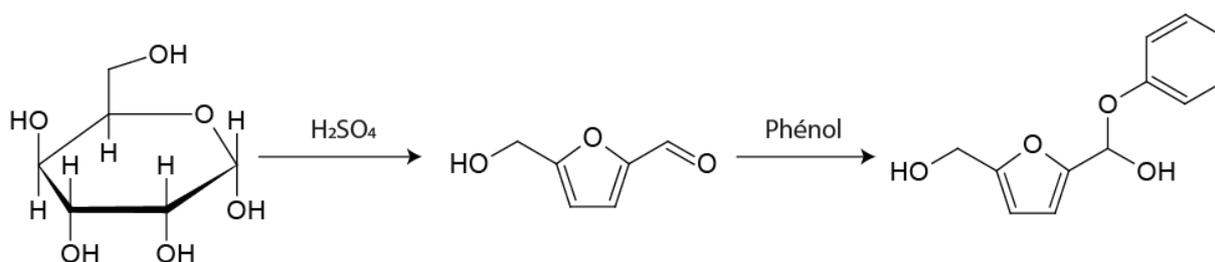


Figure 19 : Réaction chimique de la méthode Dubois.

Il existe d'autres méthodes pour doser les sucres en solution qui ne sont pas sensibles à la présence de sels comme par exemple :

- La méthode MBTH (pour 3-Méthyl-2-Benzo Thiazoline Hydrazone hydrochloride) qui se décompose en 4 phases : (1) une réduction des sucres avec KOH, (2) un ajout de HIO₄ pour transformer les sucres en formaldéhyde, (3) un ajout de MBTH qui va former un complexe bleu avec le formaldéhyde et (4) une mesure de l'absorbance à 635 nm. Il est également possible d'ajouter une étape d'hydrolyse acide afin de caractériser les polysaccharides. Cette technique a une meilleure précision que la méthode de Dubois, mais elle est plus laborieuse (Panagiotopoulos and Sempéré, 2005).
- La méthode TPTZ (pour 2,4,6-TriPyridyl-s-TriaZine) qui se décompose en 3 étapes : (1) une oxydation des sucres par du K₃[Fe(CN)₆] en milieu alcalin, (2) le Fe²⁺ résultant de la réaction réagit avec le TPTZ pour produire un complexe violet et (3) une mesure de l'absorbance à 595 nm. Cette méthode a l'avantage de coupler la simplicité de la méthode Dubois avec la détection de la méthode MBTH (Panagiotopoulos and Sempéré, 2005). Toutefois, le composé formé est très sensible à la lumière, et l'ensemble des opérations doivent être dans le noir. A cause de cette sensibilité, l'analyse doit être répétée au moins 2 à 3 fois par échantillon.

Il est également possible de caractériser les carbohydrates par thermochimiolyse. La thermochimiolyse avec du TMAH (hydroxyde de tétraméthylammonium) est un outil puissant pour caractériser les macromolécules constitutives de la MO. Cette technique combine une hydrolyse basique assistée thermiquement avec une méthylation *in situ* des molécules (Challinor, 1995). La détection des carbohydrates en thermochimiolyse est compliquée. Toutefois, en présence de TMAH, les carbohydrates vont former des acides déoxyaldoniques (Fabbri and Helleur, 1999; Moldoveanu, 2010; Estournel-Pelardy et al., 2011) qui sont méthylés *in situ* (Figure 20).

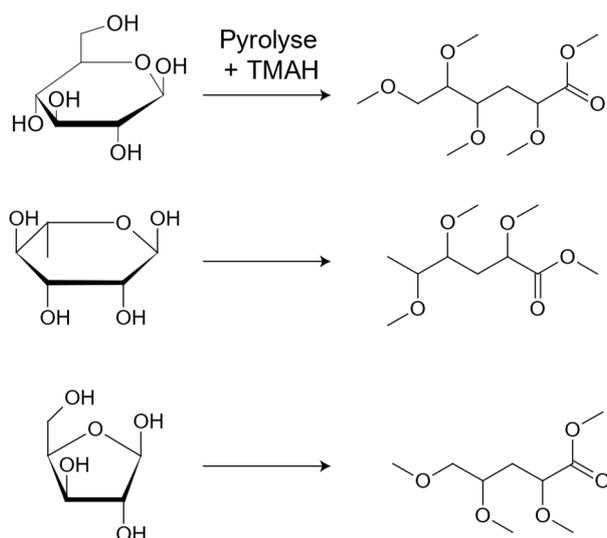


Figure 20 : Transformation des sucres en acides aldoniques lors de la thermochemiolyse. En haut, réaction pour les hexoses, au milieu pour les déoxyhexoses et en bas pour les pentoses.

Au total, 10 acides aldoniques sont produits lors de la thermochemiolyse des sucres, à la fois des pentoses (qui forment alors des acides pentanoïques avec trois groupements méthoxyles), des déoxyhexoses (qui forment des acides hexanoïques avec trois groupements méthoxyles) et des hexoses (qui forment des acides hexanoïques avec quatre groupements méthoxyles). Les acides aldoniques se caractérisent par un pic de base à 129 (Figure 21).

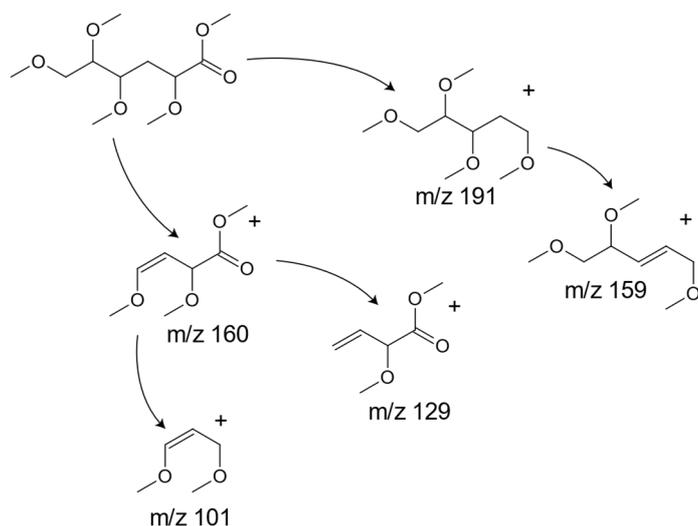


Figure 21 : Fragmentation des acides aldoniques et formation de l'ion en 129 (pic de base), d'après Fabbri and Helleur (1999)

D'autres molécules sont également produites lors de la pyrolyse-TMAH des carbohydrates, notamment le 1,2,4-trimethoxybenzène et le 1,2-dimethoxybenzène (Fabbri and Helleur, 1999) mais ils ne sont pas univoques.

b. Les protéines

Les protéines sont également des macromolécules très abondantes chez les organismes. Elles représentent environ 50% de la MO naturelle dans les océans (Romankevich, 1984) et 85% de l'azote organique (Billen, 1984). Elles jouent de nombreux rôles dans les organismes : catalyse de réactions chimiques (enzymes), transport d'éléments chimiques (hémoglobine), rôle structural (collagène) ou bien immunitaire (anticorps). Ces dernières se composent d'un long enchaînement d'acides aminés, correspondant à de petites unités structurales azotées (N/C entre 0,11 et 0,50) qui peuvent être classées en plusieurs catégories en fonction de la nature de leur chaîne latérale :

- Les acides aminés aliphatiques avec la Glycine (Gly), l'Alanine (Ala), la Valine (Val), la Leucine (Leu) et l'Isoleucine (Ile).
- Les acides aminés hydroxylés et soufrés : la Sérine (Ser), la Cystéine (Cys), la Thréonine (Thr) et la Méthionine (Met).
- Les acides aminés cycliques avec la Proline (Pro).
- Les acides aminés aromatiques avec la Phénylalanine (Phe), la Tyrosine (Tyr) et le Tryptophane (Trp).
- Les acides aminés basiques avec l'Histidine (His), la Lysine (Lys) et l'Arginine (Arg).
- Les acides aminés acides avec l'Acide Aspartique (Asp), l'Acide Glutamique (Glu), l'Asparagine (Asn) et la Glutamine (Gln).

Les acides aminés libres sont beaucoup plus réactifs que les formes protéines, expliquant la prédominance des polypeptides au sein de la MO. La MOP est généralement plus riche en protéines (17 à 38% de la MOP) et plus pauvre en carbohydrates que la MOD (Mannino and Harvey, 2000a). La MOP diffère également par le type d'acides aminés présent. En effet, la MOP est enrichie en acide aminés aromatiques, notamment en phénylalanine mais également en leucine et en isoleucine (Mannino and Harvey, 2000a), qui sont des acides aminés facilement biodégradables (Dauwe and Middelburg, 1998) et plus hydrophobes. A l'inverse, la MOP est appauvrie en acide aspartique et glutamique (Mannino and Harvey, 2000a) qui sont

eux plus polaires. Les acides aminés neutres restent les plus abondants (Mannino and Harvey, 2000a), comme pour la MOD. Toutefois ces résultats sont à nuancer puisqu'ils n'ont été acquis que sur l'estuaire du Delaware (Etats-Unis).

Les protéines sont également des composés ubiquistes dans la MO naturelle. La méthode la plus utilisée pour mesurer leur concentration est la méthode de Lowry (Lowry et al., 1951). Cette méthode se décompose également en 3 étapes : (1) hydrolyse des protéines par de la soude, du Na_2CO_3 , du sulfate de cuivre et du tartrate de Na et de K à chaud, (2) ajout de réactif de Folin qui induit une coloration bleue et (3) mesure de l'absorbance à 650 nm.

Les produits de thermochimiolyse des protéines sont plus connus que ceux des sucres. La pyrolyse des protéines libère des acides aminés, qui se transforment selon des mécanismes différents lors de la thermochimiolyse. En effet, certains vont seulement se méthylner, d'autres plutôt former des dimères ou se cycliser (Gallois et al., 2007).

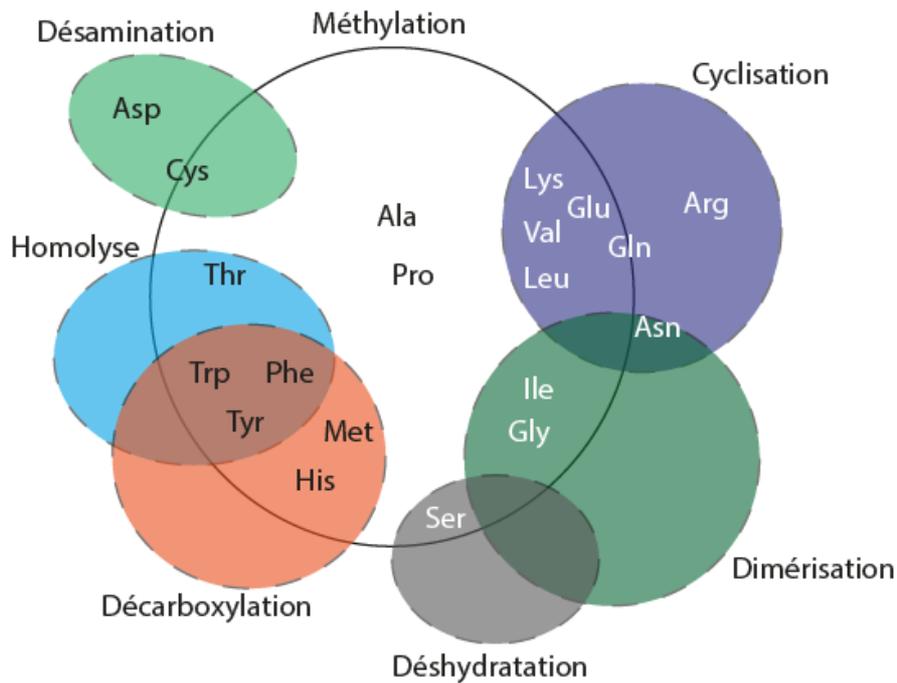


Figure 22 : Transformation des différents acides aminés par thermochimiolyse. D'après Gallois et al. (2007).

1.5.2 Les lipides

Les lipides sont des molécules solubles dans les solvants organiques. Une partie de ces lipides peut être utilisée en tant que biomarqueurs. Ces derniers permettent de tracer l'origine, mais également l'état de dégradation de la MO. Ce sont des molécules de polarité variable, de petite à moyenne taille, spécifiques d'un organisme ou groupes d'organismes. En milieu estuarien, ils sont principalement utilisés pour tracer les sources de la MO sédimentaire (Jaffé et al., 2001; Hu et al., 2006; Strong et al., 2012; Lattaud et al., 2017) et de la MOP (Canuel, 2001; He et al., 2014; Lattaud et al., 2017). Les biomarqueurs peuvent être classés par famille en fonction de leur structure chimique.

a. Les lipides aliphatiques

Les *n*-alcanes sont des molécules aliphatiques saturées de formule brute C_nH_{2n+2} . Ces composés sont très abondants dans les environnements naturels (Eglinton and Eglinton, 2008). La longueur de leur chaîne carbonée varie en fonction de leur organisme producteur. Ainsi, les *n*-alcanes à chaînes courtes (moins de 19 atomes de C) sont principalement d'origine planctonique ou microbienne (Cranwell, 1982) alors que les homologues à longues chaînes impaires (de 27 à 31 atomes de C) sont produits par les végétaux terrestres (Eglinton and Hamilton, 1967). Enfin, les composés impairs à longueurs de chaînes intermédiaires (de 21 à 25 atomes de carbone) sont plutôt produits par les végétaux submergés (Ficken et al., 2000; Jaffé et al., 2001). Il est cependant à noter que certaines algues peuvent synthétiser des *n*-alcanes à longues chaînes, sans prédominances pour les chaînes impaires (Volkman et al., 1998). Toutefois, la dégradation des *n*-alcanes courts est plus facile que celle des homologues à longues chaînes (Cranwell, 1982), pouvant ainsi favoriser la préservation des *n*-alcanes issus des végétaux terrestres. Différents indices utilisant les abondances relatives des *n*-alcanes existent, et permettent de tracer à la fois les sources et le degré de dégradation de la MO.

Les *n*-alcools ou *n*-alcan-1-ols sont composés d'une chaîne carbonée, et d'une fonction alcool (-OH) en bout de chaîne. Leur formule brute est $C_nH_{2n-2}O$.

Tout comme les *n*-alcanes, leur longueur de chaîne peut varier en fonction des organismes producteurs. Ainsi, les végétaux terrestres produisent plutôt des *n*-alcools pairs à longues chaînes (22 à 28 atomes de carbone) alors que les composés à chaînes courtes sont produits

par les organismes aquatiques (Eglinton and Hamilton, 1967; Cranwell, 1982). Cependant, une production de *n*-alcools longs par des organismes aquatiques a également été observée (Robinson et al., 1984; Volkman et al., 1999). Il est également important de préciser que les *n*-alcools à courtes chaînes se dégradent préférentiellement comparés aux homologues à plus longue chaîne (Robinson et al., 1984)

Les acides gras sont constitués d'une chaîne aliphatique et d'une fonction acide carboxylique (COOH) en position terminale.

Tout comme les *n*-alcanes et les *n*-alcools, les composés à chaînes courtes (< 20) sont généralement produits par les algues et les bactéries (Meyers, 2003), alors que les homologues à chaînes longues (> 20) sont synthétisés par les végétaux terrestres mais également par les herbes marines (Jaffé et al. 2001). Il faut noter que les acides gras en C₁₆ et C₁₈ sont ubiquistes et présents dans tous les organismes (Volkman et al., 1998). Certains acides gras sont plus spécifiques, notamment les acides gras *iso* et *anteiso* en C₁₅ et C₁₇ qui sont produits par les bactéries (Volkman et al., 1980 ; Perry et al., 1979). Les acides gras monoinsaturés en position 9 en C₁₆ et C₁₈ sont eux plutôt produits par le phytoplancton, le zooplancton et les bactéries (Chuecas and Riley, 1969; Budge and Parrish, 1998) mais sont dégradés préférentiellement par rapport aux acides gras saturés (Meyers 2003).

Enfin, une famille particulière d'acides gras contenant plusieurs insaturations (PUFAs pour Poly Unsaturated Fatty Acids en anglais) est produite spécifiquement par les organismes aquatiques (Kawamura and Ishiwatari, 1981).

Plusieurs indices peuvent être calculés à partir des biomarqueurs à chaînes aliphatiques (*n*-alcanes, alcools et acides gras).

La longueur de chaîne moyenne des *n*-alcanes (ACL en anglais) peut être calculée (Eq. 8) ; il s'agit de la moyenne pondérée des longueurs de chaînes par les aires de chacune des molécules. Puisque les chaînes longues sont produites par les végétaux terrestres, les chaînes courtes par les micro-organismes et les chaînes intermédiaires par les macrophytes, la longueur de chaîne moyenne permet ainsi d'observer la variation des sources des *n*-alcanes dans le milieu environnemental.

$$ACL = \frac{\sum_i nbC_i \times Aire_{Ci}}{\sum_i Aire_{Ci}} \quad (\text{Eq. 8})$$

Le rapport des homologues impairs à longues chaînes vs. les composés à courtes chaînes est défini comme l'indice TAR (Terrestrial to Aquatic Ratio) (Silliman and Schelske, 2003). Il permet d'estimer la proportion relative des molécules d'origine terrigène vs. ceux d'origine aquatique.

De la même manière, (Ficken et al., 2000) ont défini un indice, le P_{aq} , comme le rapport des n -alcanes à 23 et 25 C sur la somme des n -alcanes impairs de 23 à 31 C. Il permet d'estimer la quantité de n -alcanes issus des végétaux immergés et/ou des macrophytes par rapport à la quantité de composés provenant des végétaux supérieurs.

En plus de la longueur de chaîne, la biosynthèse des n -alcanes chez les végétaux terrestres conduit préférentiellement à la production de composés à chaînes impaires (Eglinton and Hamilton, 1967). A l'inverse, les organismes marins et les bactéries produisent des n -alcanes plus courts et sans prédominance pour les chaînes impaires (Clark and Blumer, 1967; Han and Calvin, 1969). Les n -alcanes pairs peuvent également être formés lors de la dégradation des n -alcanes impairs. Sur cette base, Bray et Evans (1961) ont proposé un indice, le Carbon Preference Index (CPI), correspondant au rapport de la somme des alcanes à chaînes impaires sur la somme des n -alcanes à chaînes paires (Eq. 9).

$$CPI_{15-35} = \frac{1}{2} \times \frac{\sum Impairs C_{15-33} + \sum Impairs C_{17-35}}{\sum Pairs C_{16-34}} \quad (\text{Eq. 9})$$

Des valeurs élevées du CPI ($\gg 1$) témoignent d'une prédominance des n -alcanes à chaînes impaires produits par des végétaux supérieurs et de leur bonne préservation dans l'environnement. Des valeurs faibles (< 1) du CPI témoignent d'un apport de MO aquatique et/ou bactérienne (Cranwell, 1982) ou bien d'une contamination aux hydrocarbures pétroliers et/ou d'une MO plus dégradée (Bray and Evans, 1961).

L'opposé est observé pour les alcools et les acides gras. En effet, ce sont les homologues pairs qui dominent chez les organismes vivants (Eglinton and Eglinton, 2008). Ainsi, le CPI des alcools et des acides gras correspond à la somme des homologues à chaînes paires sur ceux à chaînes impaires.

b. Les stérols et stanols

Les stérols et stanols sont des molécules composées d'un noyau stérane, d'une fonction alcool (OH) sur le carbone 3 et d'une chaîne carbonée sur le carbone 17 (Figure 23).

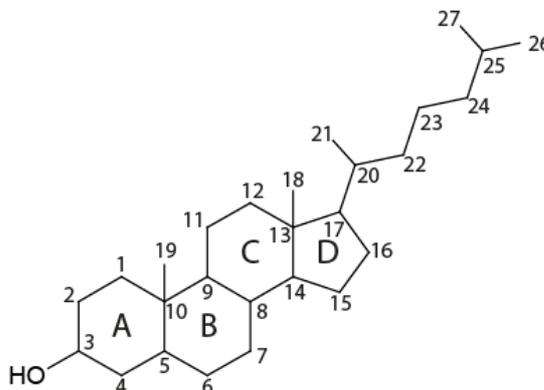


Figure 23 : Structure et numérotation des stérols et stanols

Les stérols sont des molécules ubiquistes chez les animaux, les plantes et les champignons. Ils jouent un rôle important dans la structure de la membrane des cellules (Nes, 1974), mais également en tant que précurseurs de certaines vitamines liposolubles comme la vitamine D (Boland, 1986) et hormones stéroïdiennes (Matyash et al., 2004). On peut distinguer les stérols, qui sont insaturés (généralement en position 5 et/ou 22), des stanols, saturés. Les stérols et stanols peuvent varier par leur nombre d'atomes de carbone (généralement entre 27 et 30) mais également leur stéréoisomérisation, notamment du groupement hydroxyle du carbone 3 et de l'hydrogène du carbone 5. Ainsi, les stérols synthétisés par les organismes ont une isomérisation β en position 3 (fonction chimique au-dessus du plan de la molécule) et une isomérisation α sur le carbone 5 (hydrogène en dessous du plan de la molécule).

Dans l'environnement, les 5α -stérols sont réduits en 5α -stanols (par perte de l'insaturation) par les microorganismes, alors que lors de la digestion, les microorganismes des intestins réduisent les 5α -stérols en 5β -stanols (Bull et al., 2002). Enfin, l'intense dégradation microbienne des 5β -stan- 3β -ols dans l'environnement produit des 5β -stan- 3α -ols (Bull et al., 2002). Ainsi, les organismes omnivores et carnivores qui ingèrent du cholestérol produisent du coprostanol dans leurs intestins, et les organismes herbivores qui ingèrent des phytostérols (notamment des éthylcholestérols) produisent de l'éthylcoprostanol dans leurs intestins.

De nombreux stérols et stanols sont présents en milieu estuarien, les principaux composés et leurs sources étant listés dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Structure, nom d'usage, nom complet et source des différents stérols en milieu estuarien. 1 : Volkman (1986), 2 : Volkman et al. (1998), 3 : Jaffé et al. (2001), 4 : Philips and Badylak (1996), 5 : Volkman et al. (1993), 6 : Leeming et al. (1994), 7 : Bull et al. (2002), 8 : Murtaugh et Bunch (1967).

Structure	Nom	Nom complet	Source
C27 Δ^0	5 α -cholestanol	5 α -cholestanol	Dégradation du cholestérol ⁸
C27 Δ^0	Coprostanol	5 β -cholestan-3 β -ol	Fécal humain ⁶
C27 Δ^0	Epicoprostanol	5 β -cholestan-3 α -ol	Fécal humain ⁷
C27 Δ^5	Cholestérol	cholest-5-en-3 β -ol	Ubiquiste/zooplancton ¹
C28 Δ^0	Campestanol	24-methyl-5 α -cholestanol	Dégradation des stérols C28 ⁸
C28 Δ^5	Campestérol	24-methylcholesta-5-en-3 β -ol	Végétaux supérieurs ¹
C28 Δ^{22}		24-methylcholesta-22-en-3 β -ol	Diatomées ²
C28 $\Delta^{5,22}$	Brassicastérol	24-methylcholesta-5,22-dien-3 β -ol	Diatomées, algues ²
C28 $\Delta^{5,24(28)}$		24-methylcholesta-5,24(28)-dien-3 β -ol	Diatomées ^{1,2}
C29 Δ^0	Stigmastanol	24-ethylcholestanol	Dégradation des stérols C ₂₉ ⁸
C29 Δ^5	Sitostérol	24-éthylcholest-5-en-3 β -ol	Végétaux supérieurs ¹ /herbes marines ³
C29 $\Delta^{5,22}$	Stigmastérol	24-ethylcholest-5,22-dien-3 β -ol	Végétaux supérieurs ¹
C30 Δ^0		4 α ,23,24-trimethyl-5 α (H)-cholestan-3 β -ol	Diatomées ^{1,5}
C30 Δ^{22E}	Dinostérol	4 α ,23,24-trimethyl-5 α (H)-cholest-22(E)-en-3 β -ol	Dinoflagellées ^{1,4} /Diatomées ⁵
C30 Δ^{22E}		4 α -methyl-24-ethyl-5 α (H)-cholest-22(E)-en-3 β -ol	Diatomées ¹

De nombreux rapports sont également calculés à partir des stérols. Ils permettent de mieux définir les sources et l'état de dégradation de la MO.

Par analogie aux molécules aliphatiques, il est possible de calculer un TAR à partir des stérols. Il s'agit du rapport des phytostérols (notamment le campestérol, le stigmastérol et sitostérol) sur les stérols aquatiques (cholestérol, brassicastérol, dinostérol etc...). La liste détaillée des stérols et de leurs sources est fournie dans le paragraphe 1.2.3.

Le rapport des stérols sur les 5 α -stanols diminue également lors de la dégradation microbienne des stérols en 5 α -stanols (Ogura and Hanya, 1973; Gaskell and Eglinton, 1976).

Enfin, de nombreux rapports de stérols et stanols permettent d'estimer les sources et la quantité de MO fécale dans l'environnement (Derrien et al., 2017). Pour les milieux anthropisés, un rapport de stanols a été utilisé pour estimer l'apport de MO fécale humaine dans les environnements basé sur la dégradation du cholestérol en coprostanol dans les intestins humains (Bull et al., 2002). Lorsque ce rapport est supérieur à 0,7, il est considéré que le milieu subit une contamination fécale.

$$R = \frac{\text{Coprostanol} + \text{Epicoprostanol}}{\text{Coprostanol} + \text{Epicoprostanol} + 5\alpha\text{-Cholestanol}} \quad (\text{Eq. 10})$$

c. Les alkyl tetraéthers de glycérol

Les alkyl tetraéthers de glycérol (ou GDGT en anglais) sont des molécules synthétisées par les organismes procaryotes. Ces lipides sont présents dans les membranes plasmiques des archées et de certaines bactéries encore non identifiées à ce jour (Schouten et al., 2013). Les tetraéthers sont constitués de deux chaînes alkyles liés à deux groupements glycérol par des liaisons éther. Les chaînes alkyles peuvent être acycliques ou contenir un ou plusieurs cycles pentanes. Les tetraéthers d'origine archéenne se différencient des composés d'origine bactérienne par la nature de leurs chaînes carbonées, isopréniques pour les archées et ramifiées pour les bactéries (Schouten et al., 2013). Ces derniers sont analysés en chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse (HPLC/MS).

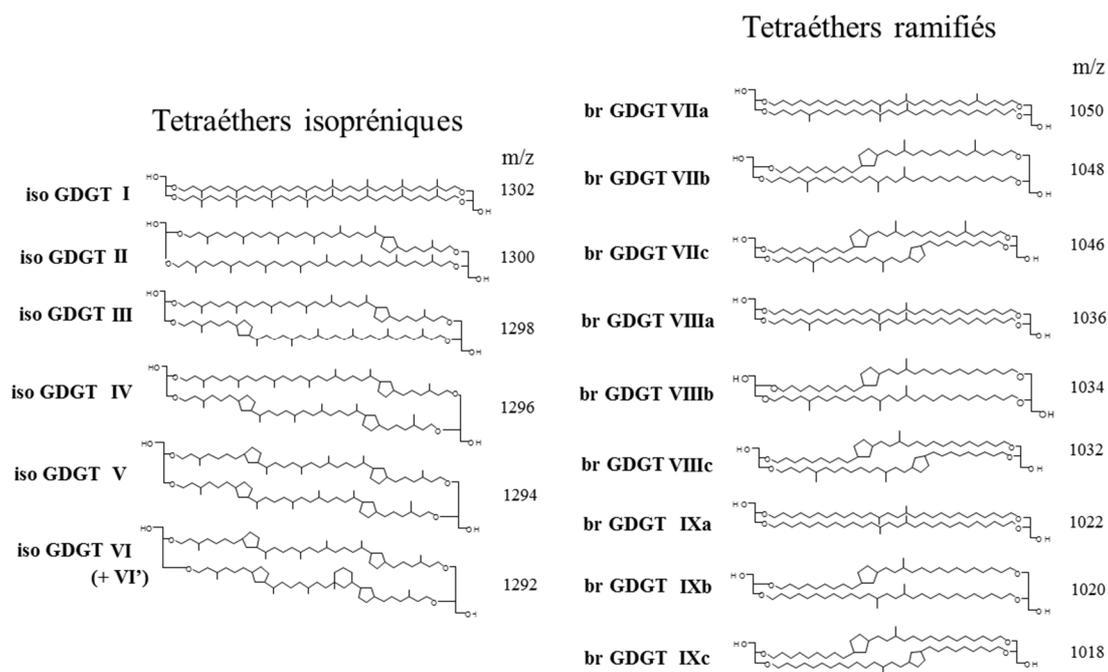


Figure 24 : Structure et masse des tetraéthers d'origine archéenne (chaînes isopréniques) et bactérienne (chaînes ramifiées).

Comme indiqué au-dessus, les microorganismes sont capables de modifier la structure de leurs lipides membranaires en réponse à des changements des conditions environnementales. En milieu aquatique, il a ainsi été démontré que l'abondance relative des différents tetraéthers d'archées était corrélé avec la température à la surface de l'eau (Schouten et al., 2002). De même, dans les milieux continentaux (sols et lacs), le degré de méthylation et de cyclisation des tetraéthers bactériens est corrélé à la température de l'air et au pH (e.g. Weijers et al., 2007 ; Russel et al., 2018). Les tetraéthers sont largement utilisés dans le cadre de reconstructions paléoclimatiques en milieux océaniques et continentaux (Schouten et al., 2013 et références incluses).

En milieu aquatique, les tetraéthers en milieu estuarien peuvent également servir à estimer l'apport de MO terrigène via l'utilisation de l'indice BIT (Branched and Isoprenoid Tetraethers ; Hopmans et al., 2004). Cet indice est défini comme le rapport des tetraéthers ramifiés bactériens, supposés comme provenant majoritairement des sols, et du crenarcheol, un tetraéther archéen considéré comme étant principalement produit en milieu aquatique (Eq. 11 ; Hopmans et al., 2004). Dans les sols ce rapport est supérieur à 0,9, alors qu'en milieu marin, il est proche de 0. Une augmentation du BIT serait liée à des apports terrigènes plus importants en milieu aquatique. Cependant, cet indice doit être interprété avec précaution,

car contrairement à l'hypothèse émise initialement, les tétraéthers bactériens peuvent être produits de manière abondante en milieu aquatique. Il en est de même pour les tétraéthers archéens dans les sols.

$$BIT = \frac{IXa+VIIIa+VIIa}{IXa+VIIIa+VIIa+VI} \quad (\text{Eq. 11})$$

Comme précisé ci-dessus, Le BIT permet de mesurer l'abondance des tétraéthers bactériens par rapport au crenarchaeol. La valeur de cet indice est d'environ 1 en amont des estuaires, puis diminue progressivement avec la salinité pour atteindre 0,5 (Strong et al., 2012; Wu et al., 2014). Toutefois, le crenarchaeol, lipide produit spécifiquement par les Thaumarchées, peut également refléter un apport de MO anthropique dans les sédiments estuariens. Ceci serait lié à une augmentation de l'activité des Thaumarchées (archées oxydatrices de l'ammonium) suite à un apport important composés azotés rejetés dans le milieu aquatique par les stations d'épuration (Lopes dos Santos and Vane, 2016).

Au final, l'utilisation de plusieurs familles de biomarqueurs lipidiques permet d'obtenir des informations complémentaires sur les sources de la MO dans les estuaires.

1.5.3 Les macromolécules

La MO est également composée de macromolécules produites par les organismes vivants.

a. La lignine

La lignine fait partie des macromolécules les plus abondantes sur Terre. Elles sont localisées dans la paroi des cellules des végétaux terrestres. La structure de cette macromolécule n'est pas unique, et peut varier d'une espèce à l'autre (Clifford et al., 1995). Elle n'est pas encore connue entièrement, à cause de sa très grande complexité et de sa variabilité de composition. Les structures de lignine connues sont le résultat de modèles statistiques. Adler (1977) a proposé un modèle pour la lignine des tissus des végétaux (Figure 25).

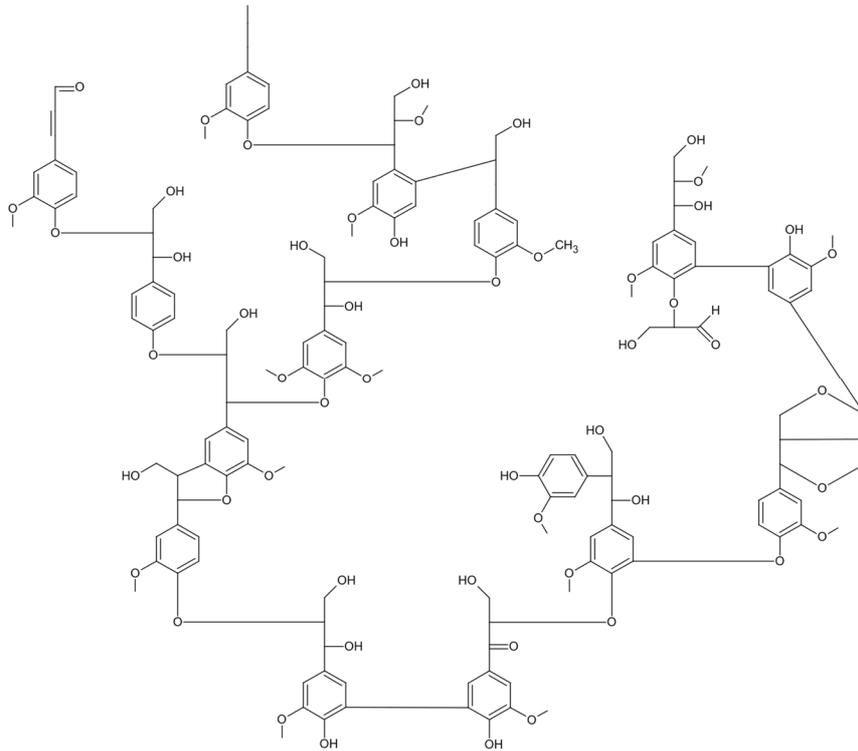


Figure 25 : Structure chimique de la lignine, d'après Adler (1977).

Elle se compose d'unités methoxyphénol reliées entre elles par des liaisons éther (C-O-C), qui rendent la lignine très résistante à la dégradation. Elle est formée à partir de 3 précurseurs, l'alcool p-coumaryl, l'alcool coniferyl et l'alcool sinapyl, à la base des 3 unités principales qui structurent la lignine : les unités P ou p-hydroxyphenyl, les unités G ou guaiacyl et les unités S ou syringyl (Figure 26). Bien que la lignine soit très résistante à la dégradation, certains micro-organismes sont capables de la dégrader, notamment les champignons du genre *Basidiomycotina*, *Ascomycotina*, ou *Deuteromycotina* ou certaines bactéries (*Actinomycetes* et *Myxobacteria*), de façon plus limitée (Tuomela et al., 2000).

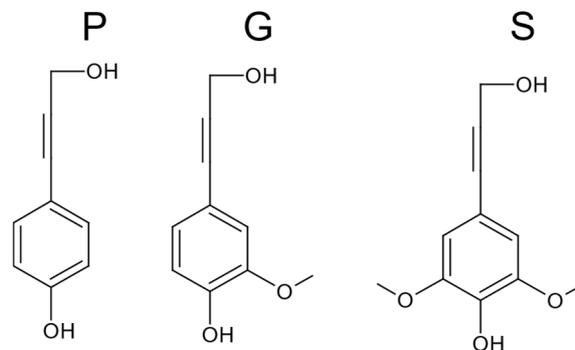


Figure 26 : De gauche à droite, structure des unités P (alcool p-coumaryl), G (alcool coniferyl) et S (alcool synapyl).

La lignine est peu abondante dans la MOD (< 5% ; (Harvey and Mannino, 2001). Sa concentration est cependant plus importante dans les zones amont et dans le bouchon vaseux, en lien avec la remise en suspension des sédiments dans l'estuaire du Delaware (Harvey and Mannino, 2001). Il a pu être montré que le transfert de la lignine des sols jusque dans la phase dissoute des rivières implique une dégradation de ce biopolymère, conduisant à la libération d'unités plus oxydées et donc plus hydrophiles et de plus petite taille (Huang et al., 1998). Dans l'estuaire du Ems-Dollart (Pays-Bas et Allemagne), la MOD est ainsi enrichie en formes acides de la lignine par rapport aux formes aldéhydes. Cette plus forte dégradation de la lignine dans la phase dissoute et sa plus grande affinité avec les phases solides explique les faibles concentrations de ce polymère dans la phase dissoute, à l'inverse de la phase particulaire et dans le sédiment (Canuel and Hardison, 2016).

L'abondance relative des unités P, G et S varie en fonction des sources de la lignine. Ainsi, le bois dur et les bois tendre des gymnospermes sont principalement dominés par les unités G et P alors que le bois dur des angiospermes est lui dominé par les unités G et S, les tissus des angiospermes contenant quant à eux les trois unités (Hedges and Ertel, 1982).

Chaque unité diffère également par sa résistance à la dégradation. Les unités S sont ainsi plus dégradables que les unités G qui sont elles-mêmes plus dégradables que les unités P (Huang et al., 1998). Lors de la dégradation de la lignine, les unités sont oxydées et la chaîne latérale raccourcie (Huang et al., 1998). Les unités se transforment en aldéhydes puis acides carboxyliques. Ainsi, l'unité G s'oxyde en vanilline puis acide vanillique. Afin d'estimer le degré de dégradation de la lignine, un rapport acide sur aldéhyde des unités G (Ad/Al) a été proposé par (Hedges et al., 1988). Ce rapport augmente avec la dégradation de la lignine. Les mesures du rapport Ad/Al de la MOD et de la MOP de nombreuses rivières aux Etats-Unis a permis de montrer des valeurs plus fortes pour la MOD (Onstad et al., 2000). La lignine semble donc être bien plus dégradée dans la phase dissoute que dans la phase particulaire. La lignine de la MOD des rivières présente également un rapport Ad/Al supérieur à celui des sols adjacents, ce qui témoigne d'une oxydation de la lignine afin de la solubiliser (Huang et al., 1998).

La lignine se dose après dépolymérisation oxydative sous forme de LDP (pour lignin-derived phenol). Pour cela, la lignine est oxydée par CuO à haute température (170°C), puis le résidu est extrait à l'acétate d'éthyle. Les monomères ainsi obtenus sont ensuite silylés et analysés

par chromatographie gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (Hedges and Ertel, 1982; Benner and Opsahl, 2001).

Lors de la thermochimiolysse, la lignine forme de nombreux produits dont la structure diffère selon le type de monomère : 4-méthoxybenzènes pour les unités P, 1,2-diméthoxybenzènes pour les unités G et 1,2,3-triméthoxybenzènes pour les unités S (Figure 26).

b. La cutine

La cutine est un biopolyester d'hydroxyacides (Figure 27). Elle sert à la protection des parties aériennes des végétaux supérieurs (Kolattukudy, 1980; Kolattukudy, 1984). Ses monomères sont des hydroxyacides à chaînes aliphatiques à 16 et 18 atomes de carbone, principalement l'acide 10,16-dihydroxy palmitique (Kolattukudy, 1981), et des hydroxyacides avec les groupes OH en milieu de chaîne (Espelie et al., 1979; Espelie et al., 1980). La nature des liaisons entre monomères (esters au lieu d'éthers) rend ce biopolymère plus sensible à la dégradation que la lignine (Opsahl and Benner, 1995).

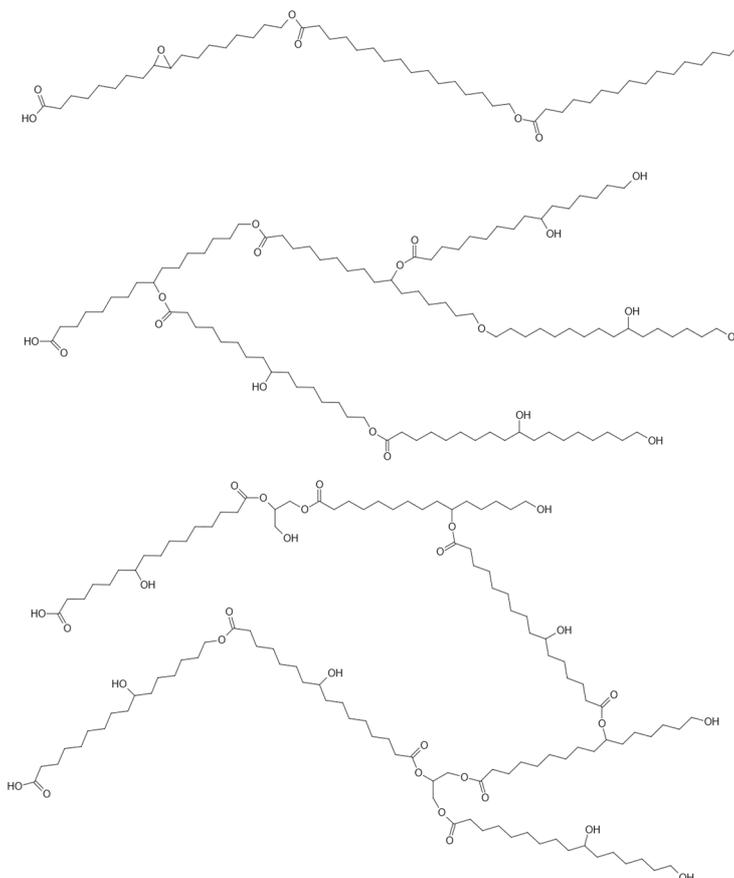


Figure 27 : Structures possibles de la cutine, d'après Fich et al. (2016).

Les produits de thermochemiolyse de la cutine sont des composés aliphatiques à longueur de chaîne moyenne (16 et 18 atomes de carbone), notamment l'acide gras en C₁₆, mais également des di- et trihydroxyacides en C₁₆ et C₁₈ (del Río and Hatcher, 1998).

c. La subérine

La subérine est également un biopolyester de monomères aliphatiques mais les chaînes sont plus longues que celles de la cutine (C₁₆ à C₂₄). Elle se compose de ω -hydroxyacides et de α,ω -diacides et contient aussi des molécules aromatiques (Figure 28). Ce biopolymère sert notamment à la protection des parties souterraines des végétaux (Kolattukudy, 1978), mais est également présente dans l'écorce des arbres.

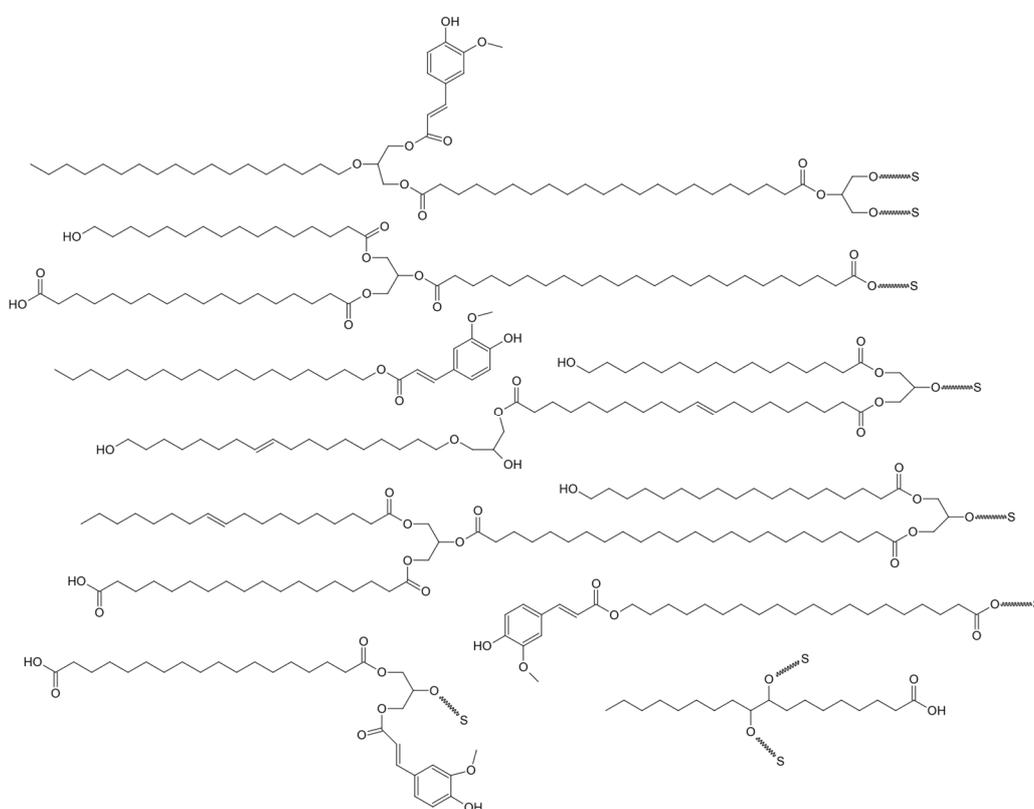


Figure 28 : Structure chimique de la subérine, d'après Bernards (2002). Les liaisons S montrent des liaisons avec d'autres unités de la lignine.

Lors de la thermochemiolyse, la subérine libère des acides gras, des ω -hydroxyacides et des α,ω -diacides à longues chaînes, notamment à 22 et 24 carbones (del Río and Hatcher, 1998).

d. Les substances humiques

Les substances humiques sont des macromolécules présumées de la MO des sols et des systèmes aquatiques. Ces dernières seraient produites lors de la dégradation de la MO par un processus d'humification de cette dernière, c'est-à-dire une condensation des petites molécules en une structure macromoléculaire. Les substances humiques sont le résultat d'une extraction de la MO :

- Dans un premier temps, l'échantillon est extrait à la soude (pH > 13). Le résidu d'extraction est appelé l'humine.
- L'extrait est ensuite acidifié, un précipité va alors se produire : ce sont les substances humiques. La fraction toujours soluble est composée d'acides fulviques.

Cependant, ce protocole d'extraction modifie fortement les propriétés de la MO (e.g. enrichissement en composés aromatiques) et ne semble donc ne pas correspondre à une réalité géochimique (Lehmann and Kleber, 2015). De plus, le processus d'humification est remis en cause, notamment par un continuum de dégradation : lors de la dégradation de la MO, la taille des molécules et des macromolécules va diminuer jusqu'à la formation de CO₂, sans recomplexation en substances humiques (Lehmann and Kleber, 2015).

1.6 Synthèse sur la dynamique de la MO dans les estuaires

1.6.1 Les sources de la MO en milieu estuarien

Les propriétés de la MO (composition, dégradabilité) en milieu aquatique dépendent des organismes qui la produisent. En milieu estuarien, la MO peut avoir de multiples sources : érosion de sols, production *in situ* dans la rivière/l'estuaire/la zone côtière, apports marins et anthropiques. Contraindre l'origine de la MO en milieu estuarien est complexe (Bauer and Bianchi, 2011).

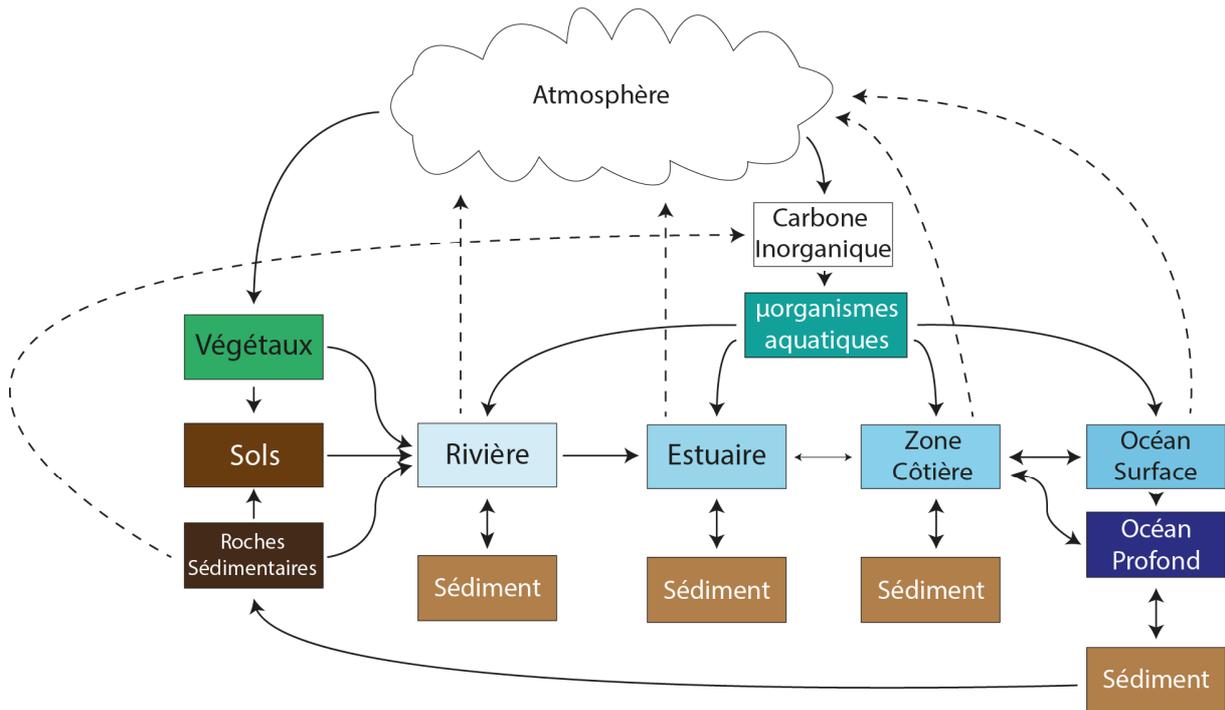


Figure 29 : Cycle simplifié du carbone, du milieu continental vers le milieu océanique et sources possibles de la MO en milieu estuarien. D'après Bauer and Bianchi (2011).

Dans les estuaires, la MO peut provenir de trois grands réservoirs : la rivière, l'estuaire lui-même et la zone côtière (Figure 29).

Dans les rivières, la MOD et la MOP proviennent majoritairement des sols et de la végétation (Bauer and Bianchi, 2011; Bianchi and Bauer, 2011). Toutefois, la MO des rivières n'est pas uniquement composée de MO terrigène provenant des sols, elle est également composée de matériel provenant d'algues d'eau douce, notamment des diatomées (Bianchi et al., 2004; Bianchi and Bauer, 2011).

La MO produite au sein même de l'estuaire (et non apportée par la mer ou la rivière) provient des organismes aquatiques comme les algues (et notamment le phytoplancton) et les plantes vasculaires de l'estuaire (Bauer and Bianchi, 2011).

Enfin, la dernière source naturelle de MO dans les estuaires est la MO de la zone côtière qui pénètre périodiquement dans l'estuaire lors des cycles de marée. Cette dernière n'est pas purement océanique, mais correspond à un mélange de MO océanique provenant des courants profonds, de matériel récent produit en surface des océans, de production primaire

de la zone côtière, mais également de MO provenant de la rivière et de l'estuaire qui est arrivée dans la zone côtière (Bauer and Bianchi, 2011).

La source anthropique doit également être considérée, la MO pouvant provenir de stations d'épuration, du trafic maritime et fluvial, mais également de l'atmosphère et du ruissellement dans les zones urbaines.

Au sein de ce manuscrit, 3 grandes sources de la MO seront traitées :

- La MO terrigène, produite dans les sols et par les végétaux terrestres
- La MO aquatique produite *in situ* dans la colonne d'eau
- La MO anthropique, issue des activités humaines

1.6.2 Transformation de la MO dans les estuaires

Plusieurs facteurs favorisent la dégradation de la MO dans les estuaires :

- La forte production primaire, fournissant de la MO labile aux organismes hétérotrophes, ou l'apport de MO labile et de nutriments depuis la zone côtière.
- Une colonne d'eau peu profonde, laissant passer la lumière et permettant la mise en place de réactions photochimiques.
- Un apport de nutriments et de MOD depuis le continent, favorisant une productivité plus importante.

Toutefois, la transformation de la MO a lieu préférentiellement dans certaines zones des estuaires. Le bouchon vaseux est ainsi généralement le siège d'une intense transformation de la MO (Abril et al. 1999), liée à la quantité importante de particules en suspension dans l'eau. La dégradation de la MO est en effet favorisée par l'augmentation de la surface spécifique des particules au contact de l'eau dans le bouchon vaseux (Canuel and Hardison, 2016). De plus, les oscillations des cycles dépôt et re-suspensions associés à des variations des conditions oxygènes et anoxiques peut entraîner des changements des équilibres MOD-MOP et ainsi en modifier la composition et sa dégradabilité (Keil et al., 1997; Hedges and Keil, 1999; Abril et al., 2000; Komada and Reimers, 2001).

La suite de ce paragraphe s'intéressera aux divers processus altérants et transformant la MO dans les estuaires : la dégradation microbienne, la photochimie ainsi que les processus d'échanges abiotiques entre les différentes formes de la MO (ce dernier point est abordé en détails dans le paragraphe 1.2.1).

a. La dégradation microbienne

Les microorganismes sont essentiels à la dégradation de la MO dans les estuaires (Bauer and Bianchi, 2011). La diversité microbienne y est élevée (Valencia et al., 2003) et varie en fonction de la salinité (Yokokawa et al., 2004). La nature et l'activité des microorganismes dépendent de la qualité et de la quantité de MOD (Kirchman et al., 2004). Les microorganismes dégradent préférentiellement la MO riche en composés labiles (i.e. sucres et protéines) par rapport à celle enrichie en lignine, plus récalcitrante (Prahl et al. 1992). La MOD et la MOP se dégradent suivant deux boucles de dégradation distinctes : la MOD rentre dans la chaîne alimentaire des microorganismes, alors que la MOP fait partie intégrante de la chaîne alimentaire des herbivores et des brouteurs (Bauer and Bianchi, 2011).

La MOD peut être divisée en deux sous-ensembles basé sur les seuils de coupures des membranes utilisées en ultrafiltration : l'un correspondant aux composés de faible poids moléculaire (< 1 kDa) et l'autre correspondant aux composés de relativement plus haut poids moléculaire (> 1 kDa). Chacun de ces sous-ensembles est composé d'une fraction labile et d'une fraction réfractaire. La MOD de plus grande taille est souvent plus biodisponible, alors que la MOD de petite taille est plus réfractaire, probablement en raison d'un recyclage plus important (Amon et Benner, 1996a et 1996b). Cependant, en milieu estuarien, la MOD est enrichie en composés lignocellulosiques provenant de la rivière en comparaison avec la MOD marine. La MOD de haut poids moléculaire est par conséquent plus âgée et plus réfractaire que la MOD des autres écosystèmes aquatiques (Guo et Santschi, 2000). La proportion de MOD labile dans les estuaires est à l'inverse limitée (de l'ordre de 30%) et l'utilisation de la MOD par les bactéries est plus faible que dans les lacs et les océans (de Giorgio et Davis 2003). Même si les estuaires constituent des sources de CO₂ atmosphérique, ils présentent également une très forte productivité primaire, la plus forte des environnements aquatiques d'eau douce et salée (Smith et Hollibaugh 1993), inférieure toutefois à l'activité hétérotrophe et donc suffisante pour nourrir les microorganismes.

On distingue 3 étapes dans la dégradation de la MOP (Figure 30) : la lixiviation puis la décomposition et enfin la dégradation de la MOP réfractaire (Bianchi and Bauer, 2011). La lixiviation de la MOP va entraîner la formation de MOD labile de faible poids moléculaire (carbohydrates, acides aminés et lipides), entrant ensuite dans la boucle de dégradation microbienne (Dustan et al., 1992 ; Harvey et al., 1995). Ensuite, la MOP va être décomposée par colonisation des microorganismes qui vont dégrader les composés organiques, principalement labiles, et enrichir la MOP en composés plus réfractaires (Darnel 1967 ; Tenore et al., 1982). Toutefois, les bactéries attachées aux particules sont plus actives (Griffith et al., 1994) que celles qui sont libres, et elles permettent une dégradation plus importante de la MOP réfractaire (Bianchi and Bauer, 2011). Enfin, la dégradation de la MOP se poursuit par des protozoaires (Caron 1987, Biddanda et Pomeroy 1988) qui modifient les propriétés de la MOP, mais également les communautés microbiennes qui y sont associées. Certaines espèces d'invertébrés sont également capables de digérer la MOP réfractaire issue des plantes (Slim et al., 1997).

b. La photochimie

Dans les eaux estuariennes, les processus photochimiques jouent un rôle majeur, notamment en raison de la bonne pénétration de la lumière, et du temps de résidence élevé (jusqu'à plusieurs dizaines de jours) de l'eau et par conséquent, de la MO. Trois processus de photodégradation majeurs ont lieu dans les estuaires : la photodégradation abiotique de la MOD en CO_2 et en CO, la photo-dissolution de la MOP en MOD et enfin, la photodégradation de la MOD en MOD de faible poids moléculaire, labile et dégradée par les microorganismes.

Parmi les constituants de la MO, les molécules aromatiques sont les plus photodégradables. Ces dernières sont plus abondantes dans la MO terrigène. Leurs produits de dégradation sont plus labiles que les molécules sources, ce qui va induire une augmentation de leur potentiel de dégradation par les microorganismes (Zhu et al., 2017b; Zhu et al., 2017a).

Au final, les réactions photochimiques altèrent la composition et la structure de la MOD de 3 façons :

- En initiant des réactions redox qui augmentent le degré d'oxydation de la MOD

- En brisant les macromolécules en molécules de plus petite taille
- En initiant des réactions de polymérisation

Les modifications structurales de la MO varient en fonction de la zone de l'estuaire considérée. Ainsi, dans les zones amont, où la MO dérive principalement des sols, la photodégradation de la MO terrigène domine, libérant un substrat plus biodégradable par les bactéries. A l'inverse, dans la partie aval des estuaires, la polymérisation de la MOD algale combinée à une oxydation très importante de la MOD terrestre, produisent une MOD plus réfractaire.

La photodégradation peut également induire une augmentation de la production primaire par destruction des molécules photosensibles en molécules plus labiles (Stedmon et al., 2007).

La MOD peut être transformée en carbone inorganique par voie photochimique, mais également en MOD de faible poids moléculaire, riche en fonctions carbonyles (comme des aldéhydes ou des cétones) et acides. Cette dernière constitue un bon substrat pour les bactéries et augmente le recyclage de la MOD dans les estuaires (Moran et al., 2000). (Moran et al., 2000) ont mesuré une perte de plus de 30% du COD, de plus de 50% de la MOD chromophorique et de 55% de la MOD fluorescente après une longue irradiation d'échantillons estuariens. Ces auteurs ont noté une perte plus importante de la MOD chromophorique réagissant au rayonnement UV que celle réagissant à la lumière visible avec une perte proportionnelle à la durée d'exposition. Les analyses en fluorescence tridimensionnelle ont montré que la MOD terrigène était la plus sujette à la photodégradation (Moran et al., 2000).

L'ensemble des processus transformant la MO dans les estuaires est schématisé dans la Figure 30.

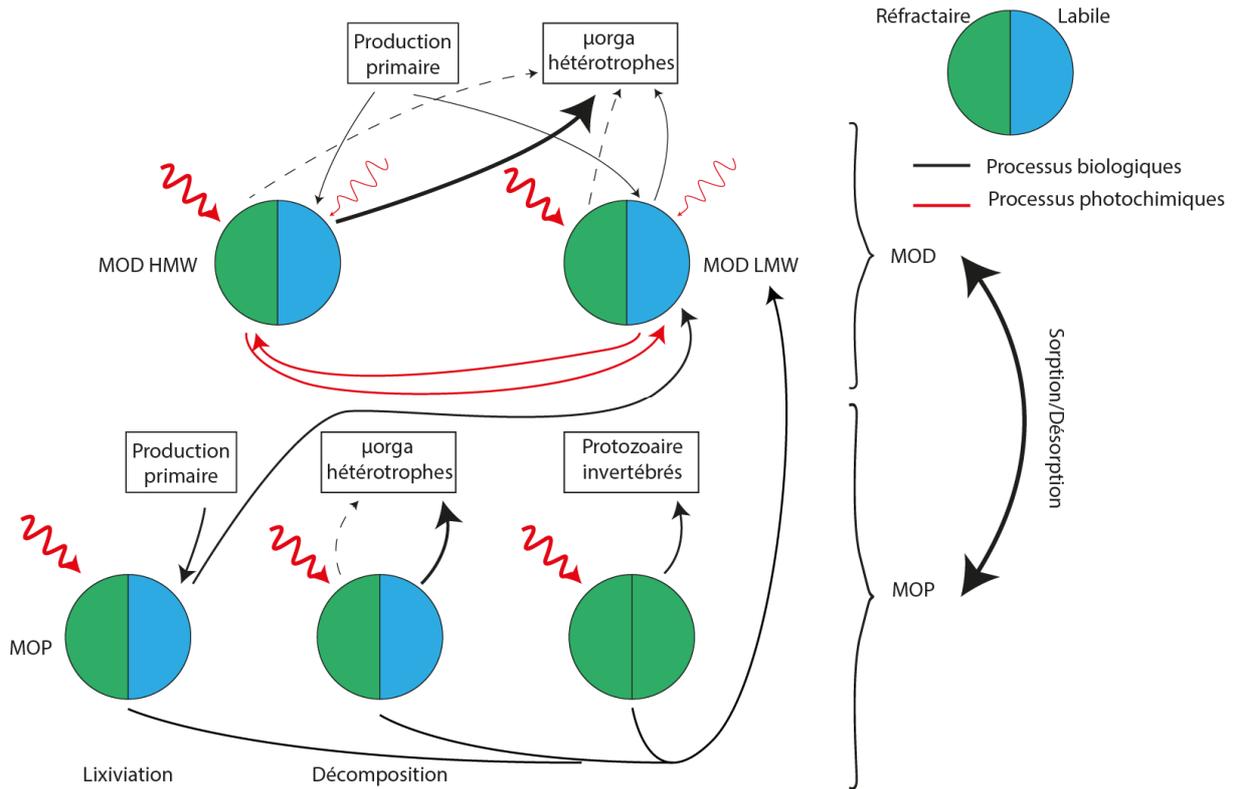


Figure 30 : Schéma des différents processus de dégradation de la MOD et de la MOP dans l'estuaire. Les proportions de MO réfractaire et labile ne reflètent pas la réalité.

1.7 Le site d'étude : la Seine

1.7.1 Le bassin versant de la Seine

La Seine est un des principaux fleuves français – le 2^{ème} plus long de France métropolitaine derrière la Loire. Elle parcourt un trajet d'environ 777 km depuis sa source, dans le village de Source-Seine sur le Plateau de Langres (Côte d'Or) jusqu'à son embouchure dans la Manche, au Havre (Seine Maritime ; Figure 31). La Seine s'écoule suivant une orientation générale Nord-Ouest. Les principaux affluents de la Seine sont l'Oise, la Marne, l'Yonne et l'Eure. Son bassin versant – le 4^{ème} plus grand de France – a une superficie d'environ 78600 km², soit 12% de la surface totale du pays. Son débit est relativement faible, d'environ 436 m³/s avec des périodes de crues en hiver (débit moyen entre 700 et 800 m³/s) et des périodes d'étiage en été (débits moyens de 250 m³/s).



Figure 31 : Carte du bassin versant de la Seine, ses affluents et villes principales.

Le bassin versant de la Seine occupe une grande partie du bassin parisien. Il se compose majoritairement de terrains sédimentaires du mésozoïque avec les formations crayeuses du Crétacé supérieur (100 – 66 Ma), les sables argileux du Crétacé inférieur (145 – 100 Ma) ainsi que les calcaires du Jurassique, notamment ceux du Kimméridgien (157 – 152 Ma), de l’Oxfordien (163 – 157 Ma) et du Dogger (175 – 161 Ma). Ces formations mésozoïques sont en partie recouvertes en leur centre par des formations du Cénozoïque, notamment de l’Oligocène (34 – 23 Ma) et de l’Eocène (56 – 34 Ma). Le socle de ces couches sédimentaires affleure peu dans le bassin de la Seine, mis à part dans le Morvan (région Bourgogne Franche Comté), le Cotentin (Normandie) et le sud de Bessin (Calvados ; Figure 32).

Le bassin de la Seine compte 6 principales nappes d’eau souterraine superposées : (1) les nappes alluviales du Quaternaire, (2) la nappe de la Beauce dans les couches de l’Oligocène,

(3) la nappe de l'Eocène moyen, (4) la nappe de l'Eocène inférieur, (5) la nappe de la craie, et (6) la nappe de l'Albien (source DRIEE Île de France).

Le bassin de la Seine présente 3 climats différents : océanique, océanique dégradé et semi-continental. Il pleut en moyenne 720 mm tous les ans sur l'ensemble du bassin, mais les précipitations sont variables, entre 550 mm/an sur la Beauce et 1400 mm/an sur les bordures Est et Ouest du bassin versant. Les températures minimales moyennes sont généralement comprises entre 3 et 5°C et les températures maximales moyennes sont comprises entre 18 et 21°C. Les températures moyennes annuelles varient entre 10 et 12,5°C, avec des écarts saisonniers plus marqués au Nord et à l'Est du bassin versant, et des écarts plus faibles autour de la Manche (source : infoclimat.fr)

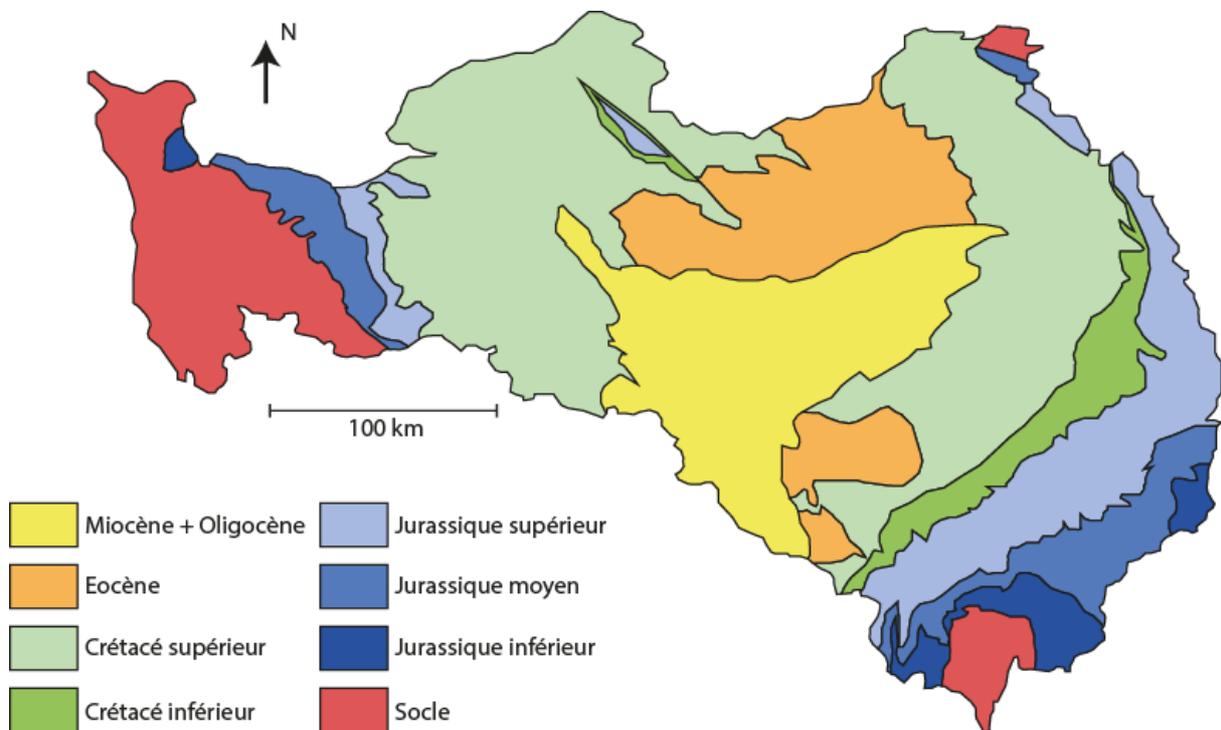


Figure 32 : Carte géologique simplifiée du bassin versant de la Seine-Normandie, source BRGM.

1.7.2 La Seine et son estuaire

Le bassin de la Seine concentre également de nombreuses activités. En effet, les 2/3 de sa superficie sont agricoles, ce qui induit un fort apport en nitrates dans le fleuve, avec des quantités supérieures à 25 mg /L (Viennot et al., 2009). La Seine traverse également de nombreuses agglomérations, dont Troyes, Paris, Rouen et Le Havre. Ces dernières font du bassin versant de la Seine le plus peuplé de France avec 18,3 Mhab (soit environ 30% de la

population française) dont 11,8 Mhab en Ile-de-France. 2000 km² sont recouverts par des tissus urbains continus. Ces nombreuses villes vont conduire à des rejets importants des stations d'épuration – au nombre de 2500 sur le bassin – dans la Seine. La densité de population élevée du bassin de la Seine, les fortes activités agricoles et industrielles (respectivement 30 et 40% des activités totales pays) et le trafic fluvial soutenu (50% du trafic français) font de la Seine un des fleuves les plus pollués de France, avec notamment des concentrations élevées en polluants organiques et en nutriments. Néanmoins, ces teneurs en nutriments et en métaux tendent à diminuer ces dernières années (Billen et al., 2007; GIP Seine-Aval, 2008a; GIP Seine-Aval, 2008e; GIP Seine-Aval, 2008d; GIP Seine-Aval, 2008c; Thevenot et al., 2009; GIP Seine-Aval, 2014).

L'estuaire de Seine a une longueur de 160 km et débute au barrage de Poses qui bloque la marée, à environ 200 km de Paris (Figure 33). C'est un estuaire macrotidal qui peut se découper en 3 grandes zones en fonction de la salinité : la zone amont ou fluviale entre Poses et Vieux-Port, où l'eau est douce (milieu limnique : salinité < 0,5) ; l'estuaire moyen entre Vieux-Port en Honfleur qui est la zone de mélange des eaux douces et de l'eau de mer ; et l'estuaire aval ou marin, de Honfleur à la baie de Seine où les eaux sont salées (milieu majoritairement euhalin, salinité > 30). Lors des marées, un volume très important d'eau de mer rentre dans l'estuaire, estimé entre 100 et 150 Mm³ d'eau salé suivant le coefficient de marée (Le Hir et al., 2001). Cet important battement des eaux induit un temps de renouvellement des eaux douces amont important, notamment en période d'étiage. Ainsi, lors des périodes d'étiage, les eaux douces mettent environ 25 jours à rejoindre la baie de Seine, tandis que, lors des périodes de crues, seuls 3 jours sont nécessaires à l'eau pour arriver dans la mer (Lemoine, 2015).

Dans l'estuaire moyen, la salinité est très variable suivant la position dans l'estuaire et la position dans le cycle de marée, passant d'une salinité limnique (salinité < 0,5) à oligohaline (salinité 0,5-5), puis mésohaline (salinité 5-18), et polyhaline (salinité 18-30) voire même euhaline (salinité > 30). C'est également dans cette zone que se trouve le bouchon vaseux de l'estuaire de Seine, notamment entre Tancarville et Fatouville, voire jusqu'à Honfleur.

Le bouchon vaseux de l'estuaire de Seine a une masse de matières en suspension estimée entre 200 000 et 350 000 t (Verney et al., 2012; Artelia, 2014). Sa position est localisée au niveau de Honfleur en période de basse mer, et entre Fatouville et Tancarville en période de pleine mer. Cette position est également fonction du débit. En effet, plus le débit de la Seine est important, plus le bouchon vaseux est expulsé vers l'aval, voire même dans la baie de Seine en cas de crue majeure (Lemoine, 2015). Depuis 50 ans et les grands aménagements effectués sur l'estuaire de Seine, la concentration totale en MES dans l'estuaire de Seine tend à diminuer, avec un bouchon vaseux plus en aval (Lemoine, 2015).

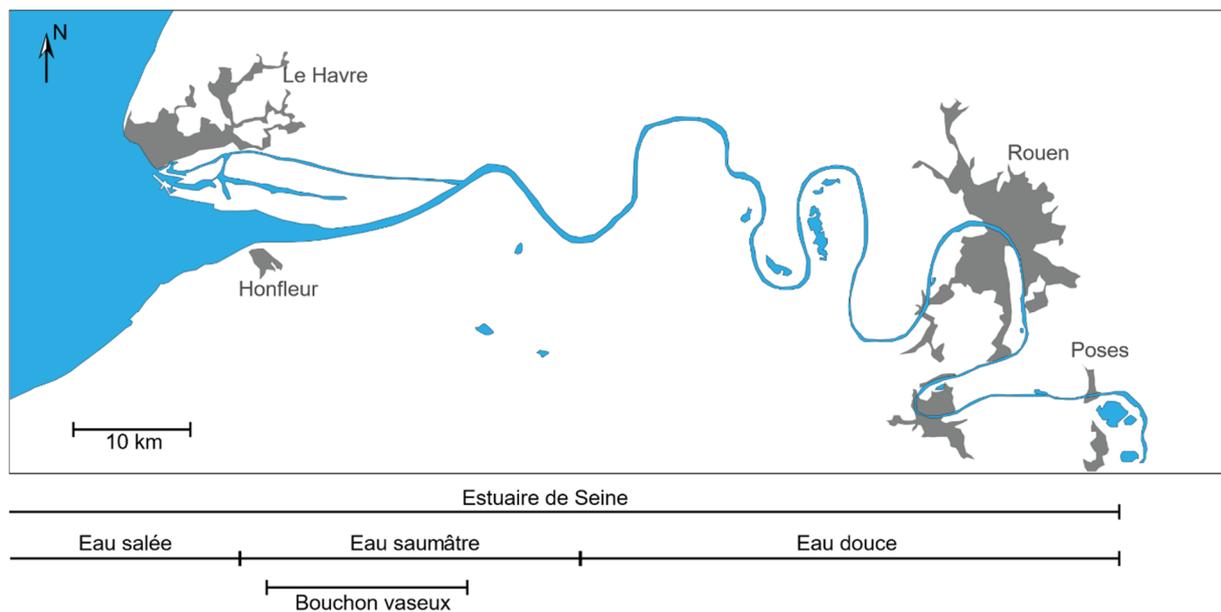


Figure 33 : Carte de l'estuaire de Seine, et localisation des différentes sous-parties. Les zones grises représentent les aires urbaines.

La zone amont de l'estuaire peut se subdiviser en deux sous-zones : avant et après Rouen. Ainsi, de Poses à Rouen le marnage est faible (2,5 m maximum en vives-eaux), la profondeur d'eau est garantie à 4 m pour permettre la navigation des bateaux. Les trois quarts des berges de cette zone sont toujours naturelles, et beaucoup de vasières et marais sont observés. Cette sous-zone a principalement un usage récréatif. A l'inverse, de Rouen à Vieux-Port le marnage est plus important (5,5 m maximum à Vieux-Port), le chenal est plus profond et soumis à un dragage régulier pour permettre le trafic portuaire. Enfin, cette zone est plus industrialisée et les habitats écologiques sont morcelés (GIP Seine-Aval, 2011b).

L'estuaire moyen se caractérise par un marnage beaucoup plus important (7,2 m à Honfleur), mais également par un évasement de plus en plus large de l'estuaire vers l'aval. Cette zone se

caractérise également par un nombre important de vasières et de zones intertidales (GIP Seine-Aval, 2011b).

L'estuaire aval se caractérise par un fonctionnement dominé par la mer, bien que l'impact de la Seine amont soit toujours présent. Le marnage est encore plus élevé que dans les autres parties de l'estuaire, jusqu'à 8 m au Havre (GIP Seine-Aval, 2011b).

La morphologie de l'estuaire de Seine a fortement évolué au cours des derniers siècles. Ainsi, en 1750, l'estuaire était bien plus évasé, et contenait de nombreux îles et bancs de sable, notamment dans la partie aval (GIP Seine-Aval, 2011a). De nos jours, l'estuaire est très chenalisé afin de permettre le passage de nombreux bateaux. De plus, 60% de la surface en eau et 80% des îles ont disparu de l'estuaire de Seine depuis 1750 (Foussard et al., 2010).

1.7.3 La flore de l'estuaire de Seine

La végétation le long de l'estuaire de Seine peut être classée en 4 grands systèmes écologiques (GIP Seine-Aval, 2016) :

- Le système hygrophile (qui préfère les zones humides) des eaux douces est présent entre Poses et Vieux-Port. Il se caractérise par une végétation relictuelle, appauvrie et nitrophile.
- Le système estuarien des eaux saumâtres qui est présent dans l'embouchure et dont la répartition des espèces est fonction de la salinité avec de nombreuses espèces halophiles.
- Le système alluvial minéral est présent tout le long du lit majeur de la Seine. Il se compose principalement de marais alimentés par la nappe.
- Le système alluvial tourbeux se caractérise par la présence de tourbières, notamment dans les bras ou les méandres morts de la Seine.

L'estuaire de Seine se caractérise aussi par de nombreux blooms phytoplanctoniques, notamment pendant l'été (GIP Seine-Aval, 2008b). Le nombre de ces blooms augmente depuis la fin des années 1990. Ils sont fortement dominés par les diatomées et dans une moindre mesure, par des dinoflagellés. Au total, 40 taxons de diatomées et 13 de dinoflagellés ont été

déTECTÉS dans l'estuaire de Seine. De plus, la production primaire phytoplanctonique est de plus en plus importante l'été et vers l'aval (Claquin et al., 2018).

1.7.4 La contamination chimique dans l'estuaire de Seine

La forte contamination anthropique dans la Seine peut transiter dans l'estuaire mais aussi jusqu'à l'océan.

L'apport en nutriments a fortement augmenté à partir des années 1950 jusqu'aux années 1990, où l'apport en phosphore a fortement diminué (de 310 kg/km²/an en 1990 à environ 50 kg/km²/an de nos jours) et a permis de diminuer significativement le risque d'eutrophisation dans l'estuaire de Seine (Billen et al., 2007; Garnier et al., 2018). Cependant, les teneurs en azote dans l'estuaire restent toujours élevées. Les flux d'azote et de silice sont proches, avec des valeurs moyennes comprises entre 1000 et 1500 kg/km²/an, même si des maxima supérieurs à 2000 kg/km²/an ont été observés certaines années (Billen et al., 2007; Garnier et al., 2018). Les flux de phosphore sont quant à eux plus faibles d'un ordre de grandeur (Billen et al., 2007; Garnier et al., 2018).

Les composés pharmaceutiques présents dans l'estuaire de Seine proviennent majoritairement de l'amont (15 kg/j à Poses) alors que les stations d'épuration internes à l'estuaire n'en rejettent que quelques centaines de grammes tous les jours. La concentration totale en composés pharmaceutiques reste faible dans l'estuaire de Seine (< 1 µg/L) et est maximale en amont de Rouen, puis diminue le long de l'estuaire par dégradation et dilution avec les eaux marines (Budzinski et al., 2012).

Tout comme la contamination pharmaceutique, les contaminations métalliques, en HAP et pesticides proviennent principalement de l'amont. Toutefois, l'apport en HAP intra-estuarien reste non négligeable, principalement par ruissellement dans les zones urbaines qui sont soumises aux retombées atmosphériques de HAP causées principalement par le chauffage et les véhicules (GIP Seine-Aval, 2008e; GIP Seine-Aval, 2008c; GIP Seine-Aval, 2008d).

1.7.5 La MO de l'estuaire de Seine

La MO de l'estuaire n'a été que peu caractérisée à ce jour, et ce principalement au niveau global. Il a été montré que le rapport C/N de la MOP est compris entre 6 et 10, ce qui semble témoigner d'une source majoritairement autochtone de la MOP (Savoie et al., 2003). La teneur en MOP (4-5%) de l'estuaire de Seine est bien plus importante que celle des autres estuaires (Garnier et al., 2008). La quasi-totalité de la MOD qui transite dans l'estuaire de Seine jusqu'à l'océan est sous forme réfractaire (i.e. non biodégradable) à l'inverse de la MOP qui est composée d'un mélange de MO réfractaire et de MO biodégradable (Garnier et al., 2008). Enfin, l'analyse de la MOD fluorescente le long de l'estuaire de Seine a montré : (i) une dilution de la MOD fluorescente vers l'aval ; (ii) une proportion plus importante de MOD aquatique à l'aval ; (iii) une forte variabilité saisonnière avec une MOD plus terrigène en hiver (Vacher, 2004).

1.7.6 Les programmes de recherches sur la Seine

La Seine est très étudiée au sein de grands programmes de recherche français : le programme interdisciplinaire de recherche sur l'environnement (PIREN) Seine qui étudie la Seine amont (coordinateur : Nicolas Flipo), le groupement d'intérêt public (GIP) Seine-Aval (directrice : Karine Gonçalves) qui se focalise sur la partie estuarienne et l'observatoire OPUR (coordinateur : Ghassan Chebbo) qui s'intéresse au transfert des polluants dans les zones urbaines, notamment dans l'agglomération parisienne. Ces trois structures sont regroupées dans la zone atelier (ZA) Seine. Le PIREN Seine a été initié en 1989 et ses travaux portent sur de nombreuses thématiques de recherche (comme le fonctionnement hydrologique, la contamination chimique, l'écotoxicologie, ou la biodiversité). La 7^{ème} phase de recherche est en cours (jusqu'à 2020). Le GIP Seine aval a été créé en 2003 et s'intéresse de façon globale au fonctionnement environnemental et écologique de l'estuaire de Seine. Ce programme en est actuellement à sa 6^{ème} phase (2017-2020). L'observatoire OPUR a été fondé en 1994. Il en est actuellement à sa 4^{ème} phase de recherche (2012-2018).

1.8 Conclusions

L'étude des sources et de la composition de la MO estuarienne est particulièrement complexe. Cependant, les avancées technologiques et le développement de nouveaux outils permettent maintenant de caractériser cette dernière au niveau moléculaire et ainsi de mieux

comprendre l'ensemble des processus contrôlant les propriétés de la MO en milieu estuarien. Peu de données sur la MO estuarienne au niveau moléculaire sont disponibles à ce jour. Les données existantes proviennent majoritairement des estuaires nord-américains, notamment celui du Delaware, la baie de Chesapeake et la baie de San Francisco.

Peu d'études suivent en parallèle les propriétés de la MOD, de la MOP et de la MO sédimentaire, malgré les interactions permanentes qui existent entre ces différents pools de MO. La plupart des travaux effectués jusqu'à présent ne s'intéresse qu'à un seul compartiment.

Dans cette étude, nous proposons d'étudier la dynamique de la MO dans l'estuaire de Seine, un estuaire fortement anthropisé pour lequel les données disponibles sur la qualité et quantité de MO restent limitées. Une caractérisation complète de la MO sous ses différentes formes (MOP/MOD/sédiment) et aux échelles globales et moléculaires a été réalisée pour répondre aux objectifs suivants:

- Comment varient les propriétés de la MOD pendant son isolement par osmose inverse et électrodialyse ?
- Quelle est la composition de la MO dans l'estuaire de Seine ? Quelles sont ses sources ?
- Comment varient les propriétés de la MO le long de l'estuaire ? Et au cours du temps ?
- La composition de la MO varie-t-elle en fonction du compartiment considéré (MOD/MOP/sédiment) ?

Ces travaux sont complétés par l'analyse de la MO de sédiments déposés lors des crues majeures de la Seine afin de mesurer l'impact de l'agglomération parisienne sur la qualité de la MO transportée lors des crues.

CHAPITRE 2 : MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1 Sites de prélèvements

2.1.1 Dans la zone amont

Dans un premier temps, afin de permettre l'optimisation de la méthode de concentration et de dessalement des échantillons par osmose inverse et électrodialyse (OI/ED), un échantillon de 40 L a été prélevé à Herblay (40 km en aval de Paris) en novembre 2014 puis filtré sur filtres en fibre de verre à 0,7 µm pour séparer la MOD de la MOP.

Par la suite, afin de déterminer les propriétés de la MOD et de la MOP dans la partie amont de la Seine, trois prélèvements d'eau (environ 60 L) ont été réalisés le 20 septembre 2016 et le 21 novembre 2017 dans trois rivières au Sud-Ouest de Paris, dans le bassin versant de l'Orge (Figure 34), l'une des zones d'étude du programme PIREN Seine depuis de nombreuses années. Le premier point est localisé à Viry-Châtillon, sur l'Orge (latitude 48,672859°N, longitude 2,358446°E), le deuxième au Moulin de l'Ecurie, proche de Souzy-la-Briche, sur la Renarde (latitude 48,538082°N, longitude 2,160570°E) et enfin, un troisième à Longvilliers sur la Rémarde (latitude 48,575609°N, longitude 1,981861°E ; Figure 34). Ces prélèvements ont été filtrés à 0,7 µm, concentrés et dessalés par OI/ED, comme décrit ci-dessous (2.2). Ces derniers se situent dans un gradient d'anthropisation, avec deux sites en campagne (Longvilliers et Souzy-la-Briche) et un site urbain à Viry-Châtillon.

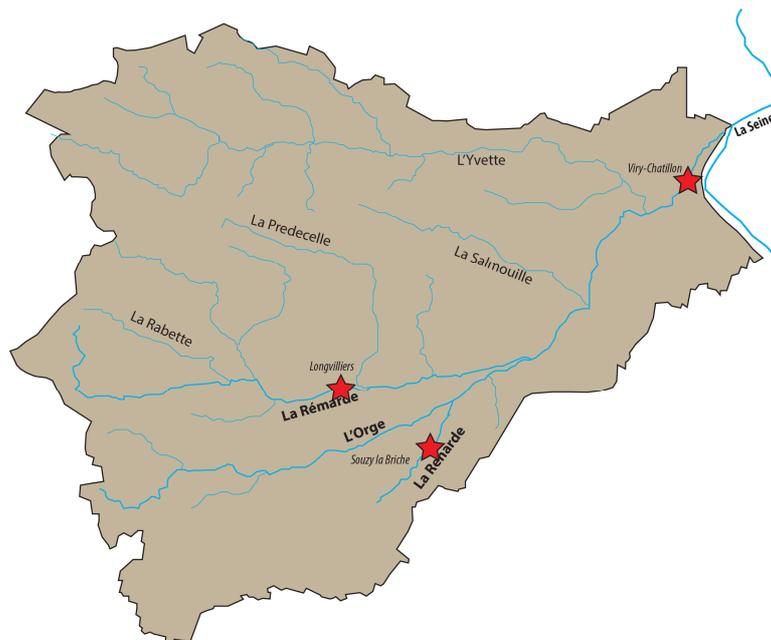


Figure 34 : Localisation des prélèvements dans le bassin de l'Orge.

Des échantillons ont également été prélevés le long de l'axe principal de la Seine (Figure 35), en amont (Marnay) et à l'aval de l'agglomération parisienne (Triel et Bougival). Ces dernières permettent de mesurer l'impact de l'agglomération parisienne sur les propriétés de la MO le long de la Seine. Quatre campagnes ont eu lieu sur cet axe (2 prélèvements de petits volumes d'eau (1 L) en octobre et décembre 2016, et 2 prélèvements de gros volumes (40 L) en novembre 2016 et en juin 2017) filtrés à 0,7 μm pour séparer la MOD de la MOP en vue de leur caractérisation. De plus, de gros volumes d'eau (40 L) ont également été prélevés au niveau de ces trois points lors de la crue de la Seine en janvier 2018.

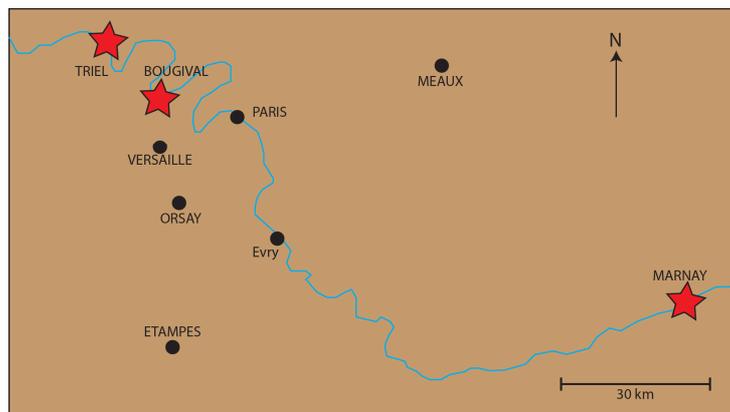


Figure 35 : Localisation des prélèvements d'eau le long de l'axe Seine.

La Seine a également connu en deux ans deux crues majeures (juin 2016 et janvier 2018). Lors de ces crues, de fortes quantités de matières en suspension vont transiter dans la rivière et sédimenter sur les berges : ce sont des laisses de crues. Ces dernières ont été prélevées le long de la Seine lors des deux crues afin de caractériser la MO sédimentaire remobilisée par ces événements climatiques extrêmes (Figure 36). Ces derniers ont été congelés puis lyophilisés avant analyses.

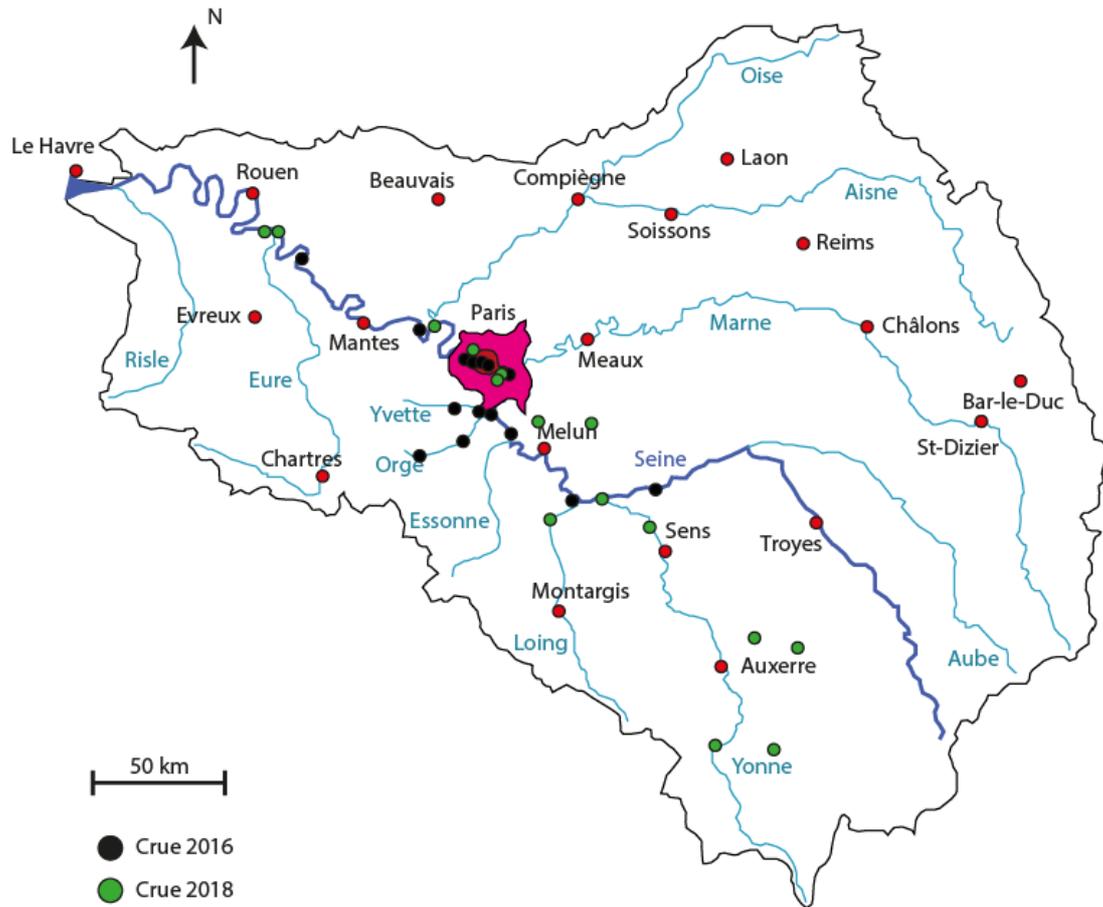


Figure 36 : Localisation de prélèvement des laisses de crue déposées en mai/juin 2016 (points noirs) et en janvier/février 2018 (points vert).

2.1.2 Dans l'estuaire de Seine

Au total, 5 campagnes d'échantillonnage ont eu lieu dans l'estuaire de Seine : les campagnes SYNAPSES (21 au 24 janvier et 17 au 20 juillet 2015) et DYNAMOSEINE (26 au 29 avril et 26 au 29 septembre 2015, 23 au 26 avril 2016). Les campagnes DYNAMOSEINE sont directement rattachées au projet Seine-Aval MOSAIC (cf. introduction). L'ensemble des campagnes a eu lieu à bord du navire CNRS-INSU Côtes de la Manche. 7 sites d'échantillonnage (variables en fonction des campagnes) ont été choisis afin de couvrir l'ensemble de l'estuaire (Figure 37) : en amont, dans le bouchon vaseux (zone la plus turbide de l'estuaire) et en aval de ce dernier afin d'étudier les variations spatio-temporelles des propriétés de la MO dans l'estuaire de Seine. Le maximum de turbidité observé lors d'un cycle de marée a été ciblé lors des prélèvements de la zone du bouchon vaseux (Tancarville et Fatouville), et durant la pleine mer (c'est-à-dire la salinité maximale) pour les prélèvements aval (Honfleur et La Carosse).

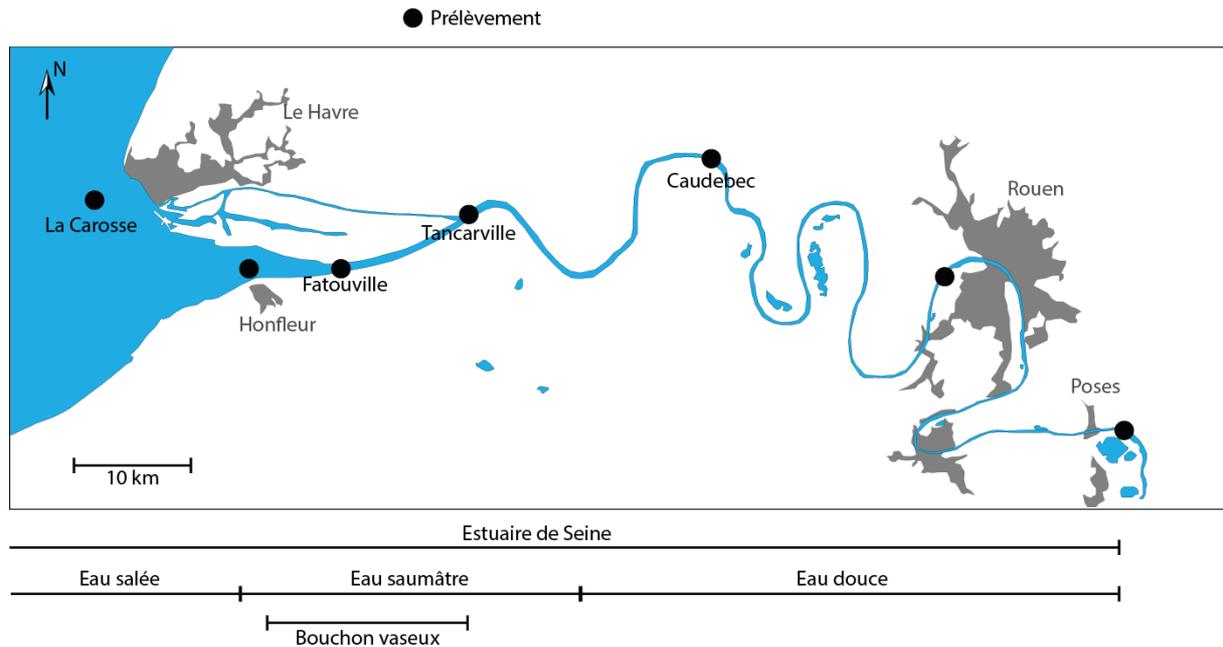


Figure 37 : Carte de l'estuaire de Seine et localisation des prélèvements. Les zones grises représentent les aires urbaines.

Les différentes campagnes ont été réalisées sous conditions hydrologiques et climatiques contrastées : périodes de crue et d'étiages, vives-eaux et mortes-eaux, été et hiver afin d'étudier les variations temporelles de la MO dans l'estuaire de Seine (Figure 38, Tableau 5).

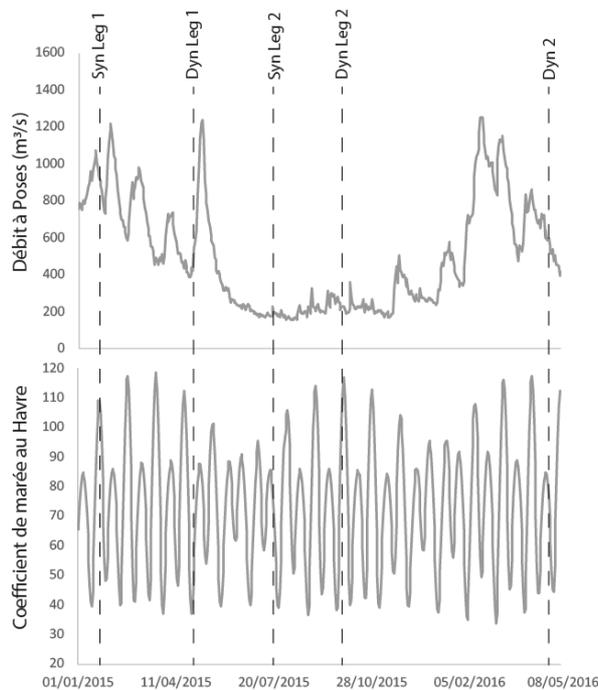


Figure 38 : Variations des débits mesurés à Poses et des coefficients de marée entre janvier 2015 et avril 2016. Données du GIP Seine-Aval et de marée.info pour la période Janvier 2015-Avril 2016. Syn = Synapses, Dyn = Dynamoseine.

Au total, 3 types de prélèvements ont été réalisés :

- D'abord, de gros volumes d'eau (environ 100 L) ont été prélevés à mi-profondeur (entre 4 et 9 m) à l'aide d'une pompe (Spido Ecc Ori 300) puis stockés dans des bidons Nalgen de 20 L avant filtration immédiate sur des filtres en fibre de verre GF/F Whatman de 0,7 μm (préalablement pyrolysés à 400°C pendant 24h). Cette filtration a permis la séparation de la MOD et de la MOP (restée sur les filtres). Les échantillons de MOD sont également stockés dans des bidons Nalgen de 20 L à 4°C avant concentration et dessalement par osmose inverse et électrodialyse, et les échantillons de MOP sont stockés à -20°C dans des boîtes de pétri, avant lyophilisation.
- Des prélèvements de petits volumes d'eau (environ 100 mL) ont également été effectués toutes les heures durant un demi-cycle (6-8 heures) ou un cycle de marée complet (12 heures) à trois profondeurs (surface, mi-fond et fond de la colonne d'eau) à l'aide d'une bouteille Niskin de 30L. Ces petits volumes ont eux aussi été filtrés à 0,7 μm avec des filtres en fibre de verre avant analyse par spectroscopie de fluorescence tridimensionnelle et mesure de leur teneur en carbone organique dissous (ces deux types d'analyses sont réalisées au sein du laboratoire EPOC-LPTC, Université de Bordeaux). Ces résultats, toujours en cours d'interprétation, ne seront pas présentés dans ce manuscrit.
- Enfin, des sédiments ont été prélevés à la benne Shipek ou à l'aide d'un carottier Uvitec. Les carottes de sédiments (10 cm de profondeur) ont été ensuite découpées en tranches d'1 cm avant d'être congelées à -20 °C puis lyophilisées. La granulométrie des sédiments a été obtenue par granulométrie laser à l'Université de Lille sur un Malvern 2000. Cette méthode permet de mesurer le rayon des particules mises en suspension dans de l'eau. Elle utilise les principes de la diffraction de la lumière et une approximation sphérique des particules afin d'en mesurer leur diamètre.

Les différents types de prélèvements effectués par campagne ainsi que les différentes propriétés de la colonne d'eau mesurées sont synthétisées dans le Tableau 5.

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

Tableau 5 : Liste d'échantillons collectés le long de l'estuaire de Seine : date, localisation, zone d'échantillonnage (BV = bouchon vaseux), coordonnées GPS (en WGS84), et propriétés de surface de la colonne d'eau. * = l'échantillonnage n'a pas été effectué à bord du navire, + = échantillon de MOD prelevé mais dont l'isolement n'a pas été fini à ce jour.

Date	Localisation	Zone	Longitude (°)	Latitude (°)	Ech.	Salinité	Turbidité	T (°C)
Janvier 2015	Tancarville	BV	0,46985	49,474083	MOD MOP	0,4	83,5	6,4
	Caudebec	Amont	0,755883	49,518967	MOD MOP	0,3	2,8	15,9
Avril 2015	Tancarville	BV	0,469967	49,474133	MOD MOP	0,6	76,8	15,2
	Fatouville	BV	0,323083	49,4368	SED MOD MOP	17,7	7,6	13,3
	Honfleur	Aval	0,232933	49,431	MOD MOP	19,9	13,5	13
	Fatouville	BV	0,3222	49,436617	MOD MOP	2,7	246,3	22
Juillet 2015	La Carosse	Aval	0,031917	49,483117	MOD MOP	32,3	7,9	18,3
	Caudebec	Amont	0,754783	49,51935	MOD ⁺ MOP	0,3	39,4	16,9
Septembre 2015	Tancarville	MTZ	0,458583	49,4691	MOD ⁺ MOP	0,6	113,5	16,7
	Fatouville	MTZ	0,3261	49,436067	SED MOD ⁺ MOP	12,6	77,9	16,5
	Honfleur	Down	0,23305	49,4307	MOD ⁺ MOP	20,9	63,2	16,5
	Poses*	Up	1,238379	49,309846	MOD MOP	~0	NA	NA
Avril 2016	Rouen	Up	1,028533	49,431883	MOD ⁺ MOP	0,3	306,7	13
	Caudebec	Up	1,042433	49,436133	SED MOD MOP	0,3	193,1	13,7
	Tancarville	MTZ	0,4283	49,458233	SED MOD ⁺	0,4	184,7	11,5
	Fatouville	MTZ	0,32465	49,436933	MOP	5,7	336,6	12,6
	La Carosse	Down	0,028333	49,48315	SED MOD ⁺ MOP	32,2	1,8	10,2
					SED			

2.2 Isolement de la MOD

Avant de pouvoir caractériser la MOD, il est nécessaire de l'isoler. En effet, dans les milieux estuariens, la concentration en MOD est faible (en général entre 0,5 et 5 mg/L) et est associée à de fortes teneurs en sel (jusqu'à 35 g/L dans les zones les plus aval). Ainsi, avant de pouvoir l'isoler, il est nécessaire de concentrer la MOD, et d'enlever les sels.

2.2.1 L'osmose inverse

La première étape pour isoler la MOD est l'osmose inverse. C'est un procédé membranaire permettant de concentrer un échantillon, seules les molécules d'eau pouvant traverser la membrane. Cette méthode est basée sur le principe de l'osmose (Figure 39). Lorsque deux solutions, une diluée et une concentrée, sont séparées par une membrane semi-perméable, les molécules d'eau vont migrer de la solution diluée vers la concentrée jusqu'à équilibre des concentrations. On parle alors d'équilibre osmotique. Une pression osmotique π est associée à cet état d'équilibre et correspond à la différence de hauteur entre les deux solutions. Si une pression supérieure à la pression osmotique est appliquée sur la solution concentrée, les molécules d'eau vont migrer de la solution concentrée à la solution diluée : c'est l'osmose inverse.

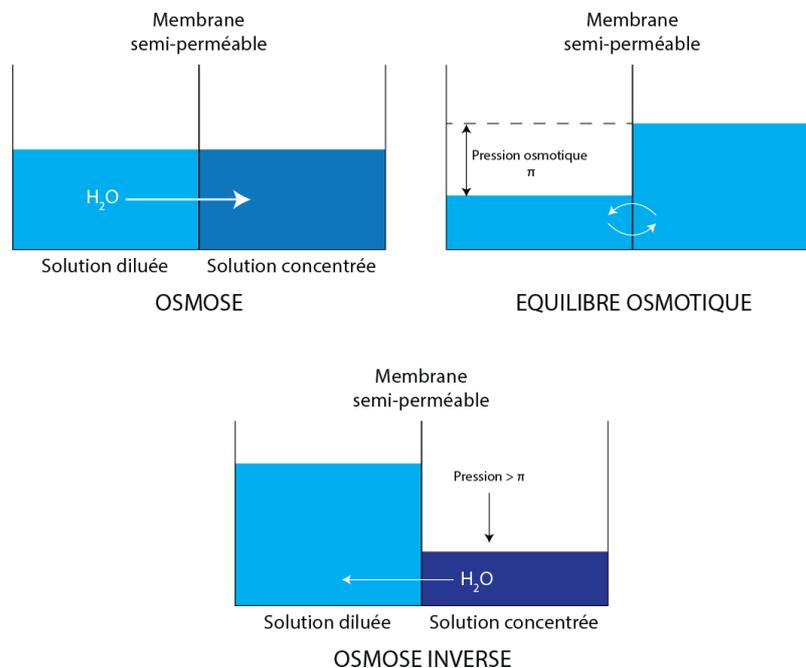


Figure 39 : Principe de l'osmose, de l'équilibre osmotique et de l'osmose inverse.

La concentration des échantillons d'eau par osmose inverse a été effectuée au sein de l'UMR EPOC-LPTC. Le pilote d'OI utilisé (marque TIA) est composé d'une cuve de 40 L et équipé d'une membrane d'osmose inverse pour eau de mer de 101,6 cm de long, 6,1 cm de diamètre et de 2,8 m² de surface spécifique (FilmTec SW30-2540, The Dow Chemical Company, Midland, MI). La membrane est stockée dans une solution de Na₂S₂O₅ à 3 g/L. Avant de concentrer un échantillon, le système d'OI est soumis à plusieurs rinçages successifs à une pression de 5 bars avec de l'eau tiède, de la soude (1 M), de l'acide nitrique (2 g/L) et de l'eau ultrapure (Milli-Q, Millipore). Après le rinçage, un test de la propreté du pilote est réalisé par spectroscopie de fluorescence tridimensionnelle à 270 et 313 nm. Si l'intensité de fluorescence est stable, et du même ordre de grandeur que les précédents rinçages et que celle de l'eau ultrapure, alors la membrane est considérée comme propre, sinon, les rinçages sont recommencés à partir de l'étape de rinçage à la soude. Au total, la concentration seule d'un échantillon prend environ une journée, toutefois, les différents rinçages rallongent la durée à environ une semaine par échantillon.

L'échantillon d'eau à concentrer est ensuite placé dans la cuve, puis envoyé sous pression dans la membrane d'osmose inverse qui va retenir à la fois la MOD et les sels présents dans l'échantillon. La solution retenue par la membrane (le rétentat) va alors retourner dans la cuve (Figure 40) puis ensuite être à nouveau filtrée par osmose inverse. La pression appliquée (de 5 à 15 bar) augmente avec la salinité de l'échantillon.

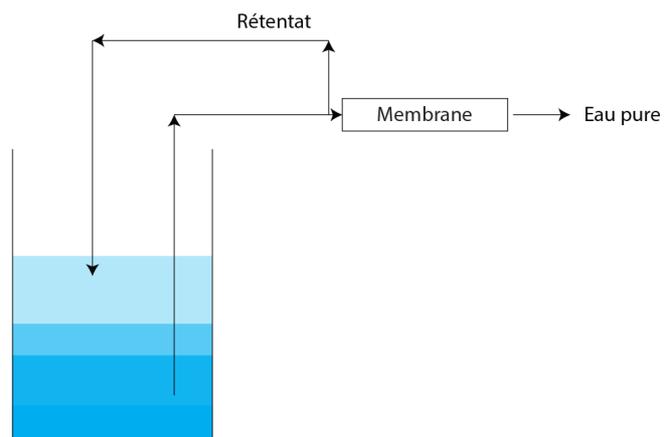


Figure 40 : Photo et schéma du pilote d'osmose inverse (EPOC-LPTC, Université de Bordeaux).

L'étape d'OI est arrêtée lorsque le volume résiduel d'échantillon est d'environ 6 L (soit un facteur de concentration d'environ 17 pour un volume initial de 100 L d'eau), et ce afin d'éviter une co-précipitation des sels et de MOD.

2.2.2 L'électrodialyse

L'échantillon concentré est ensuite dessalé par électrodialyse (ED), procédé membranaire qui consiste à faire migrer les ions à travers une série de membranes échangeuses d'ions sous l'effet d'un champ électrique. Le pilote utilisé au sein du laboratoire EPOC-LPTC (EUR2B-10 P, EURO DIA ; Figure 41) se compose d'une alternance de 10 membranes échangeuses d'anions (MEA) et de cations (MEC) de type Neosepta (Tokuyama Corp.). La surface des membranes est de 0,2 m². La cathode utilisée est en acier inoxydable, et l'anode en platine. Le pilote d'ED est équipé de 3 réservoirs indépendants, pour le diluat, le concentrat (réservoirs externes de 20L) et les électrodes (réservoir interne de 3L). Le diluat correspond au réservoir de l'échantillon, où la concentration en ions va progressivement diminuer au cours de l'analyse. A l'inverse, le concentrat est le réservoir où les sels de l'échantillon de MOD sont s'accumuler. Le réservoir des électrodes quant à lui sert à alimenter les électrodes et les membranes. Avant de dessaler un échantillon, le pilote est rincé successivement avec des solutions à 4 g/L de HCl et de NaOH. Puis, le pilote est rincé avec de l'eau ultrapure (Elix, Millipore) jusqu'à que les conductivités du diluat et de concentrat soient identiques à celle de l'eau ultrapure (Figure 41). La propreté du pilote est également testée par spectroscopie de fluorescence.

Avant le dessalement d'un échantillon, le compartiment électrodes est rempli d'une solution de NaCl à 9 g/L, le compartiment concentrat d'une solution de NaCl à 10 g/L et le compartiment diluat de l'échantillon.

L'ED a été réalisée à tension constante (14,6-14,9 V) et dure environ une journée, toutefois, comme l'OI, les différentes étapes de rinçage augmentent le temps de traitement d'un échantillon à environ une semaine.

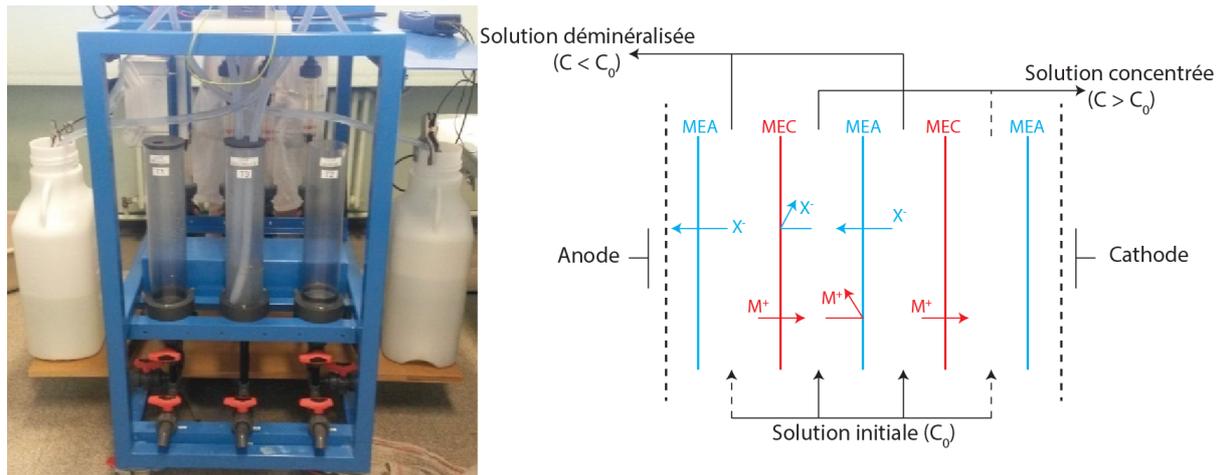


Figure 41 : Photo et schéma du pilote d'électrodialyse utilisé au sein de l'UMR EPOC-LPTC.

L'OI/ED a été effectuée jusqu'à atteindre un volume final de 4-6 L et une conductivité inférieure à 0,5 mS/cm. Pour les échantillons peu salés ($S < 5$), une seule étape d'OI et d'ED est nécessaire contre deux pour les échantillons plus salés.

Après le traitement par OI/ED, l'échantillon est concentré à l'évaporateur rotatif à 35 °C et 20 mbar jusqu'à atteindre un volume résiduel d'environ 150 mL. Il est ensuite congelé à -20 °C puis lyophilisé.

2.3 Analyses globales de la MO

2.3.1 Teneur en carbone organique dissous (COD)

La détermination des teneurs en carbone organique dissous (COD) a été réalisée par oxydation thermique à 680 °C à l'aide d'analyseurs Shimadzu TOC-V CSN (UMR EPOC-LPTC) et TOC-L CSH/CSN (UMR METIS) avec un catalyseur en platine. Une acidification (HCl 2M) avec 1,5% du volume prélevé (1 mL) est réalisée suivie d'une purge de 6 min afin d'enlever les carbonates en solution. Ensuite, 150 µL de l'échantillon sont injectés pour l'analyse. Avant toute mesure, des gammes d'étalonnage de phtalate de potassium ($C_6H_4(COOK)(COOH)$) ont été utilisées, de 0,2 à 10 mg/L, ce qui correspond à la gamme de valeurs dans les estuaires. Pour chaque échantillon, le résultat donné est la moyenne d'au moins trois mesures satisfaisantes en termes d'écart type ($< 0,1$) et de coefficient de variation ($< 2\%$). De plus, au moins deux échantillons de référence certifiés (SUPER 05 : échantillon d'eau du lac supérieur ; ANALAB, Environment Canada) sont testés, en début et fin de chaque séquence d'analyse d'échantillons, afin de valider les résultats.

Ces analyses ont été réalisées (i) sur l'ensemble des échantillons prélevés lors des cycles de marées et (ii) sur les aliquotes prélevés avant et après l'isolement de la MOD par OI/ED, afin d'en calculer le rendement.

2.3.2 Spectroscopie UV-visible

La spectroscopie UV-visible permet de caractériser la MOD. Les spectres UV-visible ont été acquis à l'aide de deux appareils : l'un situé au sein de l'UMR EPOC-LPTC (Jasco V-560) pour l'analyse de la qualité de la MOD chromophorique des échantillons des cycles de marée et l'autre au sein de l'UMR METIS (Uvikon XS) pour le dosage des sucres et protéines. La méthodologie pour le dosage des sucres et des protéines sera présentée dans le paragraphe 2.4.3.

Concernant le spectrophotomètre Jasco V-560, les spectres sont acquis entre 210 et 700 nm à une vitesse de 200 nm/min. L'échantillon est placé dans une cuve en quartz (Hellma) de 1 cm de chemin optique. Le spectre d'un blanc (eau ultrapure) est soustrait de l'échantillon.

Plusieurs indices ont été calculés à partir des spectres UV : le $SUVA_{254}$ (rapport de l'absorbance à 254 nm sur la concentration en COD), la pente entre 275 et 295 nm ($S_{275-295}$), la pente entre 350 et 400 nm ($S_{350-400}$) et le rapport des deux pentes (S_R). L'analyse de triplicats a permis de mettre en évidence de fortes incertitudes sur ces différents indices : environ 5% pour le $S_{275-295}$ et d'environ 10% pour le $S_{350-400}$ et pour le S_R . L'ensemble de ces indices est présenté dans le chapitre 1 (1.4.1).

2.3.3 La fluorescence tridimensionnelle

La spectroscopie de fluorescence tridimensionnelle permet d'obtenir des informations semi-quantitatives sur la MOD fluorescente et présente l'avantage d'être une méthode rapide, sensible, et non perturbée par les sels, permettant l'étude directe de la MOD en milieu estuarien.

Un spectre de fluorescence 3D correspond à l'enregistrement successif de spectres d'émission de la MOD chromophorique en balayant les longueurs d'ondes d'excitation (Figure 42).

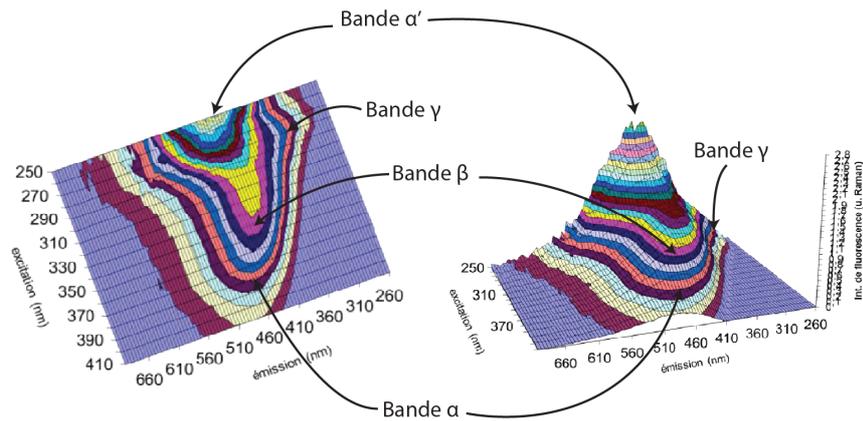


Figure 42 : Spectre de fluorescence 3D de l'échantillon d'Herblay (Novembre 2014) et sa projection dans le plan.

Plusieurs bandes peuvent être détectées sur les spectres de fluorescence 3D (Parlanti et al., 2000). Ces bandes ont été attribuées à différents types de constituants de la MOD (voir chapitre 1). Pour les échantillons de la Seine, les bandes suivantes ont été identifiées :

- La bande α , avec une excitation maximale entre 330 et 350 nm ainsi qu'une émission maximale entre 420 et 480 nm. Cette dernière correspond à de la MOD de type humique.
- La bande α' , avec une excitation maximale entre 250 et 260 nm ainsi qu'une émission maximale entre 380 et 480 nm. Cette dernière correspond à de la MOD de type humique et récente.
- La bande β , avec une excitation maximale entre 310 et 320 nm ainsi qu'une émission maximale entre 380 et 420 nm. Cette dernière correspond à de la MOD autochtone.
- La bande γ , avec une excitation maximale entre 270 et 280 nm ainsi qu'une émission maximale entre 300 et 320 nm. Cette dernière correspond à de la MOD de type protéique.

Lors de ma thèse, les petits volumes prélevés lors des cycles de marées ont été analysés par fluorescence 3D, toutefois, ces résultats ne seront pas présentés dans ce manuscrit. Cette technique a également été utilisée pour suivre l'évolution d'un point de vue qualitatif et semi-quantitatif de la MOD fluorescente lors des concentrations et dessalements par OI/ED.

Les analyses de fluorescence 3D ont été réalisées au sein de l'UMR EPOC-LPTC à l'aide d'un spectrofluorimètre FL3-22 Horiba Spex Jobin-Yvon. Lors de l'acquisition des spectres, un balayage des longueurs d'onde d'excitation tous les 10 nm entre 250 et 410 nm est effectué. Au total, 17 spectres d'émissions (entre 260 et 700 nm) sont enregistrés. L'échantillon est placé dans une cuve en quartz de chemin optique 1 cm. Afin d'éliminer les bandes de diffusion Raman et Rayleigh, un spectre d'eau ultrapure a été soustrait à chaque échantillon. Afin d'éviter un effet de filtre interne (à trop fortes concentrations, l'intensité de fluorescence n'a plus une relation linéaire avec la concentration), l'échantillon est dilué par de l'eau ultrapure si son absorbance à 250 nm (mesurée préalablement comme indiqué ci-dessus) est supérieure à 0,1.

Au total, 6 indices ont pu être calculés à partir des spectres de fluorescence 3D : les rapports α'/α , β/α , γ/α ainsi que le HIX, le BIX et le f_{400}/f_{500} . Ces derniers ont été définis dans le chapitre 1 (1.4.1).

L'ensemble des spectres de fluorescence ont aussi été traités par une méthode de décomposition statistique (PARAFAC). Cette dernière permet de décomposer l'ensemble des spectres de fluorescence en composantes principales, dont la source peut être identifiée à l'aide de la littérature.

La mesure de triplicats a permis de mettre en évidence de faibles incertitudes, inférieures à 3% pour l'ensemble des indices et mesures.

2.3.4 Analyses élémentaires et isotopiques

L'ensemble des échantillons (MOD après lyophilisation, MOP, sédiments) ont été analysés pour leur teneur en carbone et azote et pour leur composition isotopique en ^{13}C et ^{15}N . Les échantillons de MOP et de sédiments ont été au préalable décarbonatés afin d'analyser uniquement la phase organique. Ainsi, environ 0,80 g de sédiment et 0,20 g de MES ont été décarbonatés avec 10 mL d'HCL 3M pendant 1h30 sous agitation. Ensuite, les échantillons sont mis à centrifuger pendant 5 min à 3500 tr/min et le surnageant est enlevé. Ensuite, les échantillons sont rincés 3 fois avec de l'eau ultrapure, et de nouveau centrifugés. Après les 3 rinçages, les échantillons sont congelés puis lyophilisés.

Les analyses élémentaires et isotopiques sont destructives mais elles ne nécessitent que de petites quantités d'échantillon (environ 12 mg pour les sédiments, 4 mg pour les MES et 2 mg pour les MOD). Les échantillons sont placés dans des nacelles en étain puis pliés sous forme de petites boules.

Une calibration est réalisée avant analyses à l'aide d'une gamme étalon de tyrosine (allant de 0,05 mg à 0,5 mg).

Les analyses ont été effectuées sur la plateforme Alysés à Bondy sur un spectromètre de masse isotopique Thermo Fisher Scientific Delta V Advantage. La machine est composée d'un passeur automatique, d'un four, d'une colonne, d'un détecteur infra-rouge et d'un spectromètre de masse à rapport isotopique. Le passeur automatique permet d'analyser une grande série d'échantillons. Une fois dans la machine, l'échantillon est amené dans un réacteur (par gravité) localisé dans un four. L'échantillon va alors être pyrolysé et produire du CO₂, du N₂, de l'H₂O et de l'O₂. Les gaz traversent ensuite une colonne où l'eau est piégée, puis ils sont ensuite séparés dans une colonne (pour éviter les co-élutions) et envoyés dans un détecteur infra-rouge qui détecte le CO₂ et le N₂ permettant ensuite de déduire la teneur en C et N des échantillons. Une autre partie de l'échantillon est envoyée dans un spectromètre de masse qui ionise les gaz puis les sépare en fonction de leur masse sous l'effet d'un champ magnétique. Au total, 6 masses sont analysées :

- m/z = 28 pour le ¹⁴N₂
- m/z = 29 pour le ¹⁵N¹⁴N
- m/z = 30 pour le ¹⁵N₂
- m/z = 44 pour le ¹²C¹⁶O₂
- m/z = 45 pour le ¹³C¹⁶O₂ + ¹²C¹⁶O¹⁷O
- m/z = 46 pour le ¹³C¹⁶O¹⁷O + ¹²C¹⁶O¹⁸O + ¹²C¹⁷O₂

Les teneurs isotopiques en ¹³C (δ¹³C) et ¹⁵N (δ¹⁵N) peuvent ensuite être déterminées et correspondent à la différence du rapport isotopique ¹³C/¹²C ou ¹⁵N/¹⁴N par rapport à un standard (PDB pour le δ¹³C et l'air pour le δ¹⁵N).

2.3.5 Mesure du radiocarbone

Les analyses de radiocarbone ont été réalisées sur les MOP et sédiments décarbonatés (0-1 cm, 5-6 cm et 9-10 cm) et directement sur les échantillons de MOD concentrés et dessalés par OI/ED qui ne contiennent pas de carbonates. L'ensemble des échantillons ont été analysés sur la plateforme nationale de datation (ARTEMIS) par un spectromètre de masse par accélérateur. Environ 1 mg de carbone est nécessaire pour effectuer l'analyse.

Les activités en ^{14}C sont exprimées en fraction de carbone moderne (f_M) et sont ensuite converties dans la notation $\Delta^{14}\text{C}$. L'année de prélèvement a été fixée à 2015 pour l'ensemble des échantillons, une variation d'un an n'entraînant pas de modification notable du $\Delta^{14}\text{C}$ (entre 0,1 et 0,2 ‰).

Les teneurs en ^{14}C ont ensuite été calibrées en utilisant la courbe IntCal13 pour les échantillons antérieurs à 1950 et en utilisant la courbe PostBomb NH1 pour les échantillons postérieurs à 1950.

2.4 Analyses structurales et moléculaires de la MO

2.4.1 Résonance magnétique nucléaire

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est une méthode permettant de déterminer la structure de la MO (voir 1.4.6).

a. La RMN du ^{13}C à l'état solide

La RMN du ^{13}C à l'état solide est utilisée dans le cadre de ma thèse pour déterminer les principaux groupements fonctionnels liés aux atomes de carbone. La RMN du solide a été choisie car nos échantillons sont en phase solide. Cela évite d'extraire et/ou dissoudre la MO pour l'analyser en RMN liquide et permet également d'analyser la MO insoluble. Il faut noter que le ^{13}C est présent en faible proportion (1,1%) par rapport au ^{12}C mais ce dernier a un spin nul. La RMN du ^{13}C en polarisation directe, c'est-à-dire en mesurant directement l'aimantation des ^{13}C , est alors très lente (environ une semaine) mais a l'avantage d'être quantitative. A l'inverse, pour accélérer la détection du ^{13}C , une séquence dite de polarisation croisée, permet de transférer la polarisation des ^1H vers les ^{13}C . Le paramètre clé de cette séquence est le temps de contact (de l'ordre de la ms) pendant lequel a lieu ce transfert d'aimantation.

L'acquisition du signal se fait durant le retour à l'équilibre de l'aimantation des ^1H , c'est pour cela qu'il y a un délai de répétition entre les séquences (de l'ordre de la seconde). Cette méthode est beaucoup plus rapide (analyse des échantillons de MOD en une journée environ, deux jours pour les MOP et les MO sédimentaires) mais n'est plus quantitative.

Pour réduire les effets des interactions dipolaires dans l'échantillon solide, ce dernier est soumis à une rotation autour d'un axe d'un angle θ , appelé angle « magique », par rapport au champ magnétique ($3\cos^2 \theta - 1 = 0$). La vitesse de rotation doit être supérieure à la fréquence des interactions, classiquement de plusieurs kHz. Cette rotation génère des bandes de rotation dans les spectres. Ce sont des harmoniques du signal de l'échantillon distantes du rapport de la fréquence de champ de l'appareil sur la vitesse de rotation. On parle alors de RMN du ^{13}C en polarisation croisée avec rotation à l'angle magique.

Cette méthode a été appliquée sur les MOD, MOP et sédiments de l'estuaire de Seine (0-1 cm et 9-10 cm de profondeur). Le spectromètre RMN utilisé est un Brüker Avance 500 (fréquence du champ 500 MHz pour ^1H et 125 MHz pour ^{13}C) appartenant à la plateforme RMN de Sorbonne Université. L'échantillon (une trentaine de mg) est tassé dans un rotor de 4 mm de diamètre en zircon puis est placé dans l'appareil.

Un temps de contact de 1 ms a été choisi avec un délai de répétition de 1 s ainsi qu'une vitesse de rotation de 14 kHz.

Le spectre RMN obtenu après déconvolution sur le logiciel Dmfit (Figure 43 ; Massiot et al., 2002) permet d'identifier les principaux groupements fonctionnels liés aux atomes de C (cf. chapitre 1).

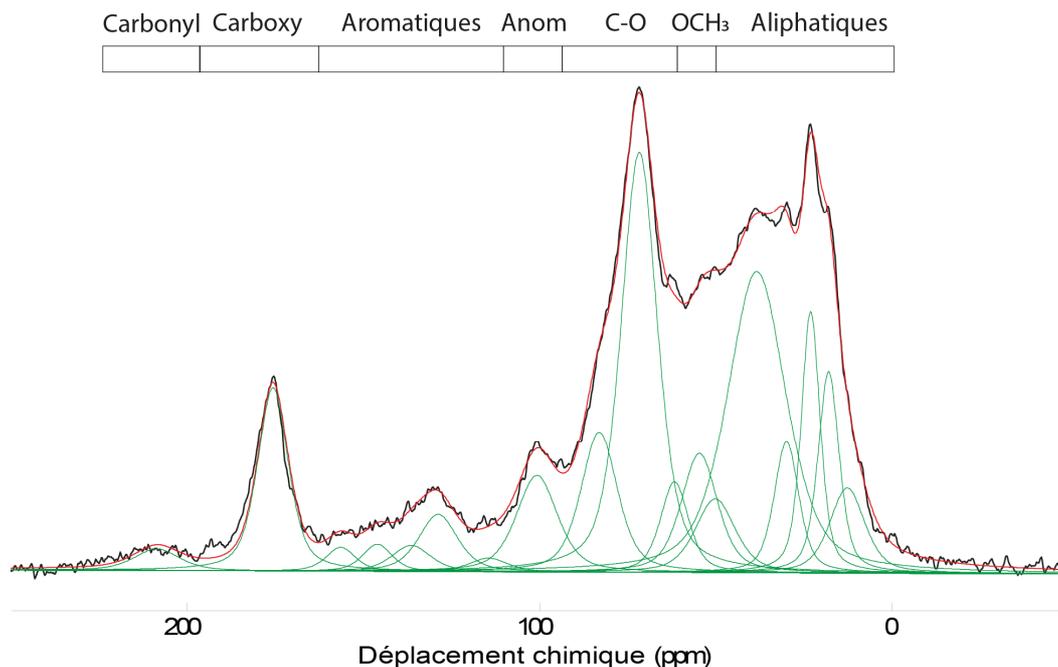


Figure 43 : Spectre RMN de l'échantillon de MOD prélevée à Tancarville en avril 2015 (en noir), le résultat de la déconvolution (en rouge) et les différentes composantes (en vert). Anom = anomériques, carboxy = carboxyliques.

Le modèle de mélange moléculaire

Le modèle de mélange moléculaire (MMM) développé par Baldock et al. (2004) a été appliqué à l'ensemble des échantillons. Ce modèle décompose les spectres RMN ¹³C en 6 principaux groupes, basés sur 5 types de macromolécules - les carbohydrates, protéines, lignine, lipides et charbon. Les groupements de type carbonyle ont été ajoutés à ce modèle. Deux calibrations de ce modèle existent : une pour les sols et l'autre pour les échantillons marins. La cellulose a été utilisée pour calibrer les carbohydrates dans les deux modèles. Pour les protéines, un mélange d'acides aminés des sols a été utilisé dans le modèle pour les sols, alors qu'un mélange d'acides aminés de phytoplanctons a été utilisé pour le modèle marin. Pour la lignine, un mélange de lignine d'angiospermes et de gymnospermes a été utilisé (50/50) pour les deux modèles. Pour les lipides, de la cutine a été utilisée pour le modèle des sols, et de l'acide oléique pour la calibration marine. Enfin, pour les charbons, du bois de pin chauffé à 300°C a été utilisé dans les deux modèles. La calibration marine, plus proche de nos échantillons, a été choisie. Ainsi, chaque région du spectre RMN est multipliée par un coefficient afin de déterminer les proportions relatives des différentes macromolécules.

Les proportions de chacune des macromolécules sont calculées par somme des zones du spectres RMN pondérées par des coefficients définis par Baldock et al. (2004) propres à chaque macromolécule.

b. La RMN du ^{15}N en polarisation nucléaire dynamique

La résonance magnétique nucléaire par polarisation nucléaire dynamique est une méthode de RMN destructive, mais dont la sensibilité est grandement accrue par rapport à la polarisation croisée. Les échantillons sont irradiés par des micro-ondes à haute fréquence qui vont transmettre la polarisation des électrons aux noyaux voisins. Les échantillons sont au préalable imprégnés avec une solution du biradical AMUPol dans du mélange $\text{D}_8\text{-glycerol}/\text{D}_2\text{O}$ (60:40).

Deux noyaux ont été choisis pour étudier la MO de l'estuaire de Seine : le ^{13}C et le ^{15}N . Au total, 8 échantillons ont été analysés : il s'agit du transect MOD et MOP de la campagne d'avril 2015 (cf. Tableau 1).

Ces résultats récemment acquis et toujours en cours d'interprétation ne seront pas présentés dans ce manuscrit.

2.4.2 Extraction de la MO hydrophile et des lipides

Deux types d'extraction ont été réalisées sur les MOP et les sédiments. D'une part, les molécules hydrosolubles (carbohydrates et protéines plus particulièrement) ont été extraites à l'eau. D'autre part, les lipides ont été extraits à l'aide de solvants organiques.

a. Extraction à l'eau

L'extraction à l'eau a été réalisée uniquement sur les sédiments. 4 g de sédiment ont été mis dans 100 mL d'eau ultrapure. Le mélange ainsi obtenu a été agité pendant une après-midi et une nuit. Après centrifugation, le surnageant est transféré dans un erlenmeyer. Le sédiment est ensuite remis sous agitation avec 100 mL d'eau pendant une matinée. Après centrifugation, le surnageant est combiné avec celui obtenu précédemment. L'extrait est ensuite filtré sur filtres GF/F à $0,7\ \mu\text{m}$ puis concentré à l'évaporateur rotatif, avant d'être congelé à $-20\ ^\circ\text{C}$ puis lyophilisé avant analyse des sucres et des protéines.

b. Extraction et séparation des lipides

L'extraction des lipides a quant à elle été réalisée avec un mélange de dichlorométhane (DCM) et de méthanol (MeOH) 5:1 (v:v). 30 mL de ce mélange ont été ajoutés à 1 g de sédiment. Le tout a ensuite été placé aux ultrasons pendant 10 min. Après centrifugation, le surnageant est placé dans un ballon. Ces étapes sont répétées 3 fois, puis l'extrait est séché à l'évaporateur rotatif, avant d'être transféré dans un flacon de 4 mL et séché sous azote. L'extrait ainsi obtenu est conservé à 4 °C dans 1 mL du mélange DCM:MeOH 5:1.

L'extraction des lipides des laisses de crues de juin 2016 et de janvier 2018 a été réalisée par extraction accélérée par solvant (ASE en anglais). L'ASE permet d'extraire les lipides d'un échantillon de façon automatique, à l'aide d'un solvant chaud et sous pression. L'appareil utilisé est un ASE 100 – Dionex. L'extraction a été réalisée avec un mélange de DCM:MeOH 9:1 avec une pression de 100 bar et à une température de 100°C. Au total, trois cycles d'extractions de 5 min sont réalisés. Au total, environ 2 g de sédiment sont extraits. Ils sont ensuite concentrés à l'évaporateur rotatif puis transférés dans des flacons comme précédemment.

Les lipides sont ensuite séparés en 3 fractions sur colonne de silice préalablement séchée à l'étuve pendant 1 nuit à 150 °C. 70% de l'extrait est utilisé pour cette séparation. La première fraction, éluée avec 30 mL d'heptane, contient les composés les plus apolaires (e.g. *n*-alcanes). La seconde fraction (30 mL de DCM:heptane 5:1, v:v) permet de récupérer les molécules de polarité intermédiaire (e.g. cétones). Enfin, la dernière fraction (30 mL de DCM:MeOH 1:1, v:v) contient les molécules les plus polaires (e.g. tétraéthers de glycérol).

2.4.3 Analyse des sucres et protéines

L'analyse des sucres obtenus après extraction à l'eau a été réalisée par attaque chimique et dosage colorimétrique (Dubois et al., 1956). Cette méthode consiste en une attaque acide (H₂SO₄) qui hydrolyse les polysaccharides en monomères. Ensuite, l'ajout d'une solution de phénol va induire une coloration rougeâtre de l'échantillon. L'intensité de la couleur est alors mesurée par spectroscopie d'absorbance à 490 nm avec un spectrophotomètre Uvikon XS (2.3.2).

L'analyse des protéines obtenues après extraction à l'eau a également été réalisée par attaque chimique et dosage colorimétrique (Lowry et al., 1951). Après hydrolyse basique des protéines avec du NaOH, une réaction colorimétrique est réalisée avec du sulfate de cuivre, du tartrate de Na et de K et du réactif de Folin, induisant une coloration bleue proportionnelle à la concentration en protéines. L'intensité de la couleur est alors mesurée par spectroscopie d'absorbance à 650 nm.

Avant l'analyse d'une série d'échantillons, une gamme étalon de glucose et de sérum d'albumine bovin est préparée (de 0 à 70 mg/L pour les sucres et de 0 à 400 mg/L pour les protéines) afin de pouvoir quantifier la quantité de sucres et de protéines contenue dans les échantillons.

2.4.4 L'analyse des lipides

L'analyse des lipides contenus dans les différentes fractions a été effectuée par chromatographie gazeuse (GC) couplée à un détecteur à ionisation de flamme (FID) ou à la spectrométrie de masse (MS) ainsi que par chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse (HPLC-MS).

a. La chromatographie gazeuse

Deux protocoles différents ont été utilisés pour l'analyse des fractions lipidiques, un pour les fractions apolaires (fractions 1) et l'autre pour les fractions les plus polaires (fractions 3). Les fractions de polarité intermédiaire (fraction 2), ne contenant que peu de lipides, n'ont pas été analysées.

Pour les fractions 1, l'échantillon est injecté en mode splitless à 280°C. Les molécules sont éluées par de l'hélium sur une colonne de 30 mètres (95% diméthyl/5% diphenyl polysiloxane Rxi5SilMS ; 30m x 0.25mm). Elle est située dans un four soumis à un programme de température. La température initiale est de 50°C puis elle augmente de 4°C par minute jusqu'à 320°C et est maintenue à 320°C pendant 15 minutes. Les molécules sont détectées à leur sortie de la colonne.

Pour les fractions 3, l'échantillon est au préalable dérivé afin de réduire la polarité des molécules constitutives et d'augmenter leur volatilité. Pour cela, les fractions sont séchées

puis dissoute dans 50 μL de N,O-bis(triméthylsilyl)trifluoroacétamide (BSTFA). Elles sont ensuite placées 30 min dans une étuve à 70°C pour accélérer la silylation. L'excédent de BSTFA est ensuite évaporé sous azote puis l'échantillon est repris dans 50 μL de dichlorométhane. L'échantillon est injecté en mode split 30 mL/min à 280 °C. La séparation en GC est effectuée avec la même colonne que pour les fractions 1 avec le programme de température suivant : la température initiale est de 70°C, et augmente de 1°C/min jusqu'à 130°C, puis de 4°C/min jusqu'à 320°C, température finale maintenue pendant 25 min.

Deux types de détecteurs ont été utilisés :

- Un détecteur à ionisation de flamme (FID). Une flamme ionise les molécules en sortie de colonne. L'intensité de la flamme est proportionnelle à la quantité de molécules ionisées. Ce détecteur permet de quantifier les composés présents dans l'échantillon, mais pas de les identifier. Cette méthode a été utilisée pour vérifier / ajuster la concentration en lipides dans chaque échantillon avant l'injection en spectrométrie de masse.
- Un spectromètre de masse simple quadripôle (Agilent MS 5973). Les molécules sont ionisées puis fragmentées par impact électronique à 70 eV. Un détecteur mesure ensuite les masses et les intensités de chaque fragment de la molécule compris entre un m/z de 29 et de 800. Il en résulte un spectre de masse de la molécule, sorte de « carte d'identité » qui va permettre d'identifier le composé en question.

b. Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse

La chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse (HPLC/MS en anglais) est utilisée pour analyser les tétraéthers de glycérol dans les fractions 3. Pour ce faire, 300 μL de la fraction 3 (initialement dans un mélange DCM:MeOH 5:1, v:v) ont été séchées sous flux d'azote, puis reprises dans 300 μL d'heptane. Après homogénéisation et centrifugation pendant 60 s à 7000 rpm, le surnageant est récupéré. 45 μL de ce dernier ont été analysés après ajout de 5 μL d'un standard (tétraéther synthétique en C₄₆; Figure 44) à 0,01 mg/mL.

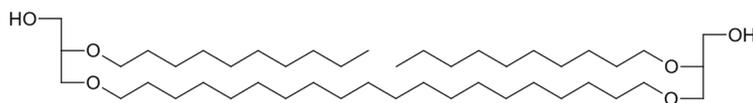


Figure 44 : Structure chimique du standard interne pour la quantification des tétraéthers.

Les analyses HPLC/MS ont été réalisées avec un appareil Shimadzu LCMS-2020. Les molécules sont séparées sur deux colonnes de silice Hypersil Gold Silica en série (150 x 2,1 mm, 1,9 μ m ; Thermo Scientific) dans un four à 40°C. Un mélange de deux solvants a été utilisé (hexane et isopropanol) pour éluer les différentes molécules à un débit de 0,2 mL/min. L'élution des molécules débute avec un mélange de 82% d'hexane et de 18% d'isopropanol pendant 25 min. Un gradient linéaire est ensuite utilisé afin d'atteindre un pourcentage de 65% d'hexane et 35% d'isopropanol en 25 min, suivi d'un autre gradient menant à un mélange de 20% d'hexane et 80% d'isopropanol en 30 min. Ces dernières conditions sont ensuite maintenues pendant 10 min avant de revenir à l'état initial en 10 min. Le volume injecté est de 30 μ L.

Les molécules sont ensuite détectées après ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI). La détection est réalisée en mode SIM (single ion monitoring) : dans lequel seules les masses sélectionnées sont analysées. Pour l'étude des tétraéthers, les masses sont : 1302, 1300, 1298, 1296, 1294 et 1292 pour les tétraéthers isopréniques (numéros I à VI) et les ions 1050, 1048, 1046, 1036, 1034, 1032, 1022, 1020 et 1018 pour les tétraéthers ramifiés (numéros VII à IX). Les structures chimiques de ces molécules sont présentées dans le paragraphe 1.5.2.

c. Quantification des lipides

Les *n*-alcane ont été semi-quantifiés (c'est-à-dire que la concentration totale n'est pas connue, mais uniquement les variations de cette dernière) à l'aide d'un standard interne, le tétracosane deutéré. Au total, 1,102 μ g de ce dernier ont été ajoutés dans chaque échantillon avant injection. La quantité en chaque *n*-alcane a ensuite été estimée à partir du rapport de l'aire du standard sur l'aire du *n*-alcane (par proportionnalité).

La quantification des alcools et stérols a été réalisée après calcul du coefficient de réponse entre le 5 α -cholestane et des molécules standards : hexadécanol et hexacosanol pour les alcools, et différents stanols et stérols (coprostanol, cholestérol, brassicastérol, campestérol, campestanol, stigmastanol, stigmastérol et sitostérol). Pour obtenir les coefficients de

réponse, les gammes étalons suivantes ont été réalisées : entre 10 et 50 µg/mL pour les stérols et stanols, et entre 20 et 100 µg/mL pour les alcools. A chaque soluton contenant les étalons ont été rajoutés 5 µg de 5α-cholestane. Les droites d'étalonnage suivantes (Figure 45) ont été obtenues en calculant le rapport de l'aire des standards sur l'aire du 5α-cholestane.

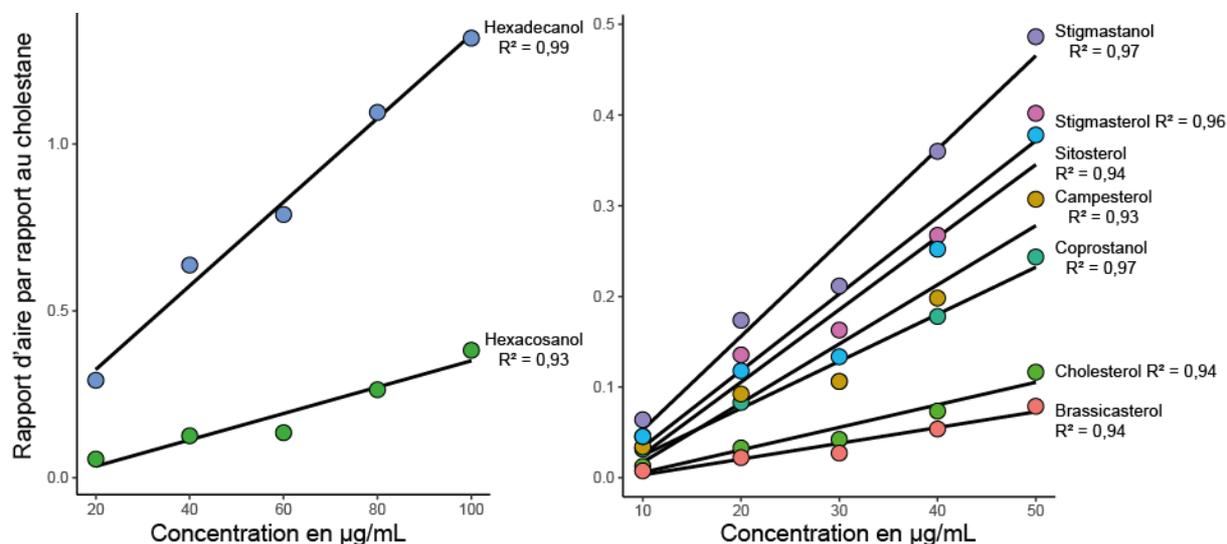


Figure 45 : Courbe d'étalonnage obtenue pour les différentes molécules : les alcools à gauche et les stérols et stanols à droite

Bien que les R^2 soient $< 0,99$, il est possible d'utiliser ces droites pour semi-quantifier les alcools, stérols et stanols, et ainsi observer leur variation entre les échantillons. Pour cela, les équations des droites sont utilisées (concentration = pente x rapport d'aire + b). Les différents paramètres de ces équations sont listés dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Pente et ordonnées à l'origine (b) pour calculer la concentration de la molécule cible en µg/mL à partir du ratio de cette dernière sur le 5α-cholestane.

	Pente	b
Hexadécanol	78.9	-5.2
Hexacosanol	234.6	14.8
Coprostanol	187.9	5.9
Cholestérol	378.1	9.0
Brassicastérol	543.4	9.3
Campesterol	142.9	8.9
Stigmastérol	113.2	7.1
Sitostérol	117.0	8.3
Stigmastanol	94.2	5.6

L'intégration des différentes molécules a été réalisée sur un fragment spécifique de chaque famille, ainsi, les *n*-alcanes ont été quantifiés sur l'ion 57 (C₄H₉), les alcools et acides gras sur l'ion 75 (Si(CH₃)₃), les stérols avec une insaturation en position 5 sur l'ion 129 (clivage au niveau du premier cycle ; Figure 46), les stanols sur l'ion 215 (clivage du groupement alcool silylé et du cycle pentane ; Figure 46) et le 5 α -cholestane sur l'ion 217.

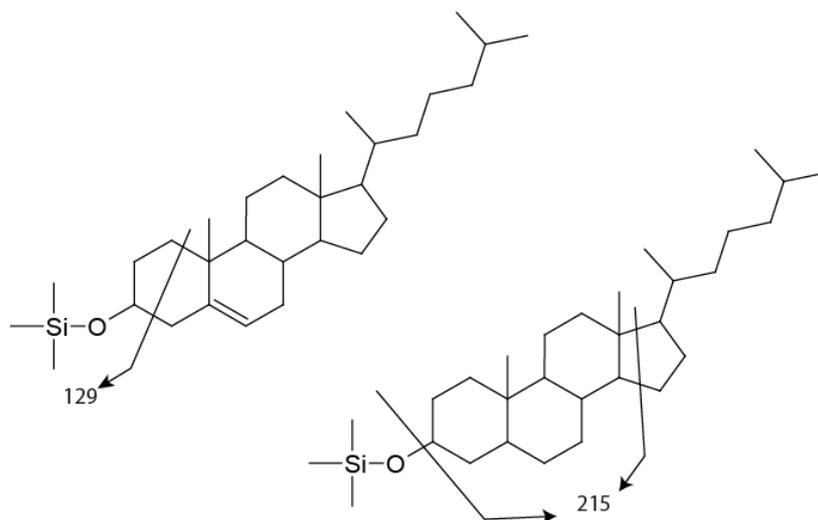


Figure 46 : Formation des ions caractéristiques des stérols et des stanols lors de leur fragmentation par spectrométrie de masse.

2.4.5 Pyrolyse couplée à la chromatographie gazeuse et à la spectrométrie de masse

Une grande partie de la MO est constituée de macromolécules, qui ne sont pas extractibles à l'aide de solvants organiques et donc non analysables par GC- ou LC-MS. Leur analyse est cependant possible par pyrolyse couplée à GC-MS. En effet, la pyrolyse casse les macromolécules en petites unités qui peuvent ensuite être analysées par GC-MS.

Pour mieux détecter les composés polaires, de l'hydroxyde de tetramethylammonium (TMAH) à 25% a été ajouté à chaque échantillon. Ce réactif est une base et un agent méthylant, il va donc faciliter les coupures lors de la pyrolyse mais aussi permettre une meilleure détection des composés polaires en méthylant les fonctions alcools, acides, amines, et donc en diminuant leur polarité.

Les analyses ont été réalisées avec un pyrolyseur à point de Curie à 650°C pendant 9,9s (marque Pilodist). La quantité d'échantillon pyrolysé dépend du compartiment : les masses sont plus faibles pour la MOD (entre 0,6 et 5,8 mg, avec une moyenne de 3 mg) que pour la

MOP (entre 3,1 et 9,5 mg, avec une moyenne de 5,6 mg) et que pour la MO sédimentaire (entre 7 et 15,8 mg, avec une moyenne de 9,6 mg). Le pyrolysats est transféré dans l'injecteur à 280°C, réglé en mode split (30 mL/min) avec un débit constant d'1 mL/min. L'échantillon est ensuite séparé sur une colonne (95% diméthyl/5% diphenyl polysiloxane Rxi5SilMS ; 30m x 0.25mm x 0.5µm) à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Trace GC ultra (Thermo Scientific).

Le programme de température du four utilisé pour la séparation des molécules est le suivant : 10 min à 50°C, puis augmentation de 2°C/min jusqu'à 320°C et enfin 30 min à 320°C.

Les produits de pyrolyse sont identifiés par spectrométrie de masse (DSQ Thermo Scientific) en impact électronique.

2.4.6 Spectrométrie de masse ultrahaute résolution

Les échantillons de MOD ont été analysés par spectrométrie de masse ultra haute résolution pour déterminer de manière fine la structure du matériel dissous. Cette méthode permet de mesurer les masses exactes des molécules composant l'échantillon. Un algorithme est ensuite utilisé pour transformer les masses des molécules en formule brute. Les analyses ont été effectuées au Helmholtz Zentrum Muenchen à Munich.

L'ensemble des résultats n'ayant pas encore été acquis, ces données ne seront pas présentées dans ce manuscrit.

2.4.7 Analyses statistiques

De nombreuses analyses statistiques ont été réalisées au cours de cette thèse. Elles peuvent être classées en 3 grandes catégories selon le nombre de variables analysées : les analyses univariées, les analyses bivariées et les analyses multivariées.

Le faible nombre d'échantillons analysés le long de l'estuaire de Seine ($n \approx 40$) ne rend pas possible l'utilisation des tests statistiques paramétriques. En effet ces derniers ne peuvent être appliqués que si la distribution des échantillons est normale mais également que les variances entre les variables sont homogènes. Dans le cas des échantillons de la Seine, seuls des tests non paramétriques ont donc été utilisés.

a. Les analyses univariées

Dans un premier temps, des moyennes et écarts types ont été calculés afin de différencier certains groupes d'échantillons. Puis, afin de tester les différences entre ces groupes d'échantillons, le test de Kruskal et Wallis couplé au test post-hoc de Dunn ont été utilisés lorsque plus de deux groupes ont été comparés (package FSA et Rcompanion). Lorsque seulement deux groupes ont été comparés, le test de Wilcoxon a été réalisé. Enfin, une classification automatique des groupes a été réalisée à l'aide d'un script avec un seuil de valeur p de 0,05. Ainsi, des groupes différents sont nommés par des lettres différentes (par exemple, « a », « b » et « c »), et des groupes de composition intermédiaire sont nommés avec deux lettres : par exemple, le groupe « ab » a des valeurs intermédiaires entre le groupe « a » et le groupe « b ».

b. Les analyses bivariées

Afin de mesurer la puissance, la robustesse et la significativité des corrélations, les tests statistiques ont été réalisés à l'aide du langage de programme R (3.4.3) sous l'environnement de programmation RStudio. Le test de corrélation non paramétrique choisi est celui de Spearman qui permet de calculer le coefficient de corrélation ρ ainsi que la significativité de la corrélation (valeur p). Ainsi une corrélation est significative lorsque la valeur p est inférieure à 0,05. Comme ce test statistique n'utilise pas les valeurs des variables, mais leurs rangs, il permet alors de tester les corrélations linéaires et non-linéaires, il est également moins perturbé par les valeurs aberrantes.

c. Analyses multivariées

Au total, deux grands types d'analyses multivariées ont pu être utilisés:

- Les analyses en composantes principales (ACP) ont été réalisés sous R avec le package FactoMineR et factoextra. Le nombre de dimensions à utiliser a été choisi en utilisant le critère des valeurs propres ou critère de Kaiser (Kaiser, 1960). Ce dernier permet de retenir et d'interpréter toutes les dimensions avec des valeurs propres supérieures à 1. En effet, l'objectif d'une ACP est de réduire le nombre de dimension au maximum. Ce critère est souvent le meilleur, notamment lorsque le nombre de variable est faibles

(c'est-à-dire inférieur à 30) et le nombre d'échantillon grand (supérieur à 60-70). Le script pour réaliser les ACP est donné en annexe 4.

- Une classification ascendante hiérarchique suivie d'un regroupement a également été réalisée par la méthode de Ward. Ce dernier, en faisant une analogie avec les classifications phylogénétiques permet de déterminer les échantillons les plus proches et de les grouper entre eux sous forme d'un dendrogramme. La méthode de Ward repose sur une minimisation de l'augmentation de l'inertie intra-classe (c'est-à-dire la moyenne des distances des points au centre de gravité du groupe au carré) et une maximisation de l'augmentation de l'inertie extra-classe. La classification hiérarchique a été réalisée sur l'ACP (HCPC en anglais pour Hierarchical Classification on Principal Components). Le script R pour réaliser les classifications est donné en annexe 4.

2.5 Synthèse des techniques d'analyse

Les différentes techniques d'analyse sont listées dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Liste, objectifs et compartiments étudiés des différentes techniques d'analyse utilisées dans ce manuscrit. 1 = toutes profondeurs, 2 = uniquement 0-1 cm, 5-6 cm et 9-10 cm, 3 = uniquement 0-1 cm et 9-10 cm.

Méthodes	Objectifs	Compartiments
Analyse de COD	Quantité de carbone organique dissous	MOD
Analyse élémentaire et isotopique	Quantité et sources de la MO	MOD, MOP et MO Sed ¹
Datation ¹⁴ C	Age et sources de la MO	MOD, MOP et MO Sed ²
FT-ICR-MS	Sources et composition moléculaire de la MOD	MOD
GC-FID et GC-MS	Sources et dégradation de la MO	MOP et MO Sed ¹
HPLC-MS	Sources de la MO et composition lipidique	MOP et MO Sed ¹
py-GC-MS	Sources et macromolécules de la MO	MOD, MOP et MO Sed ³
RMN ¹³ C	Fonctions chimiques carbonées de la MO	MOD, MOP et MO Sed ³
RMN ¹⁵ N	Fonctions chimiques azotées de la MO	MOD et MOP
Fluorescence 3D	Sources, dégradation et composition de la MOD	MOD
Spectroscopie UV-visible	Taille et aromaticité de la MOD	MOD
Dosages sucres et protéines	Teneurs en MO labile	MOD et MO Sed ¹

**CHAPITRE 3 : DYNAMIQUE DE LA MATIERE ORGANIQUE
DANS L'ESTUAIRE DE SEINE : APPROCHE GLOBALE ET
STRUCTURALE**

3.1 Introduction

Ce chapitre correspond à un article soumis dans *Marine Chemistry*, intitulé "Dynamics of organic matter in the Seine Estuary (France): bulk and structural approaches".

Estuaries are transitional zones between oceans and continents, with specific physico-chemical, biological and hydrological properties due to mixing of fresh and marine waters. These key ecosystems are characterized by unique and dynamic biodiversity and productivity. They are also the place of numerous economical activities (industry, harbors) and are under high anthropogenic pressure. Human activities have especially transformed the morphology of many estuaries, e.g. by reducing the area of wetlands or the number of islands (Lesourd et al., 2016).

Each estuary is unique and has its own functioning, driven by specific and complex processes, difficult to integrate into global models (Herrmann et al., 2015). They especially transfer material from the continent to the oceans, including nutrients and organic matter (OM) but they also play a important role on the CO₂ fluxes to the atmosphere (Canuel and Hardison, 2016). OM composition is permanently changing, following the variations of environmental parameters, such as salinity, light penetration, tidal range and is also dependent on its residence time in the estuary (Middelburg and Herman, 2007). Estuaries are highly reactive zones for the OM and are the place of numerous transformations and mixing of continental and marine OM (Bauer et al., 2013), which are not yet well understood. In estuaries, OM can originate from rivers, coastal ocean or be produced within the estuary itself. It can be derived from aquatic organisms or terrigenous sources. Each of these sources has a different composition, and thus a different behavior in aquatic systems.

Three OM compartments can be distinguished in these environments. In the water column, dissolved organic matter (DOM) and particulate organic matter (POM) are commonly separated by filtration, and sediment OM represents the third compartment. The different compartments interact with one another; for instance, the degradation of fresh POM can produce DOM, or the sorption of DOM on suspended solid material yields POM (Keil et al., 1997). Resuspension of sediment OM can also lead to POM and indirectly to DOM formation, but DOM and POM can also settle to form sediment OM (He et al., 2016).

In addition to the estuarine complexity associated with variable physicochemical conditions, the diversity of the OM sources in these environments makes the characterization of OM especially challenging. The DOC concentration in estuarine environment ranges from 0.4 to 16 mg/L, with a mean value of 4 mg/L ((Bauer and Bianchi, 2011)) and references within). It decreases toward the ocean with concomitant increasing salinity, making the characterization of the DOM more difficult (Mopper et al., 2007). DOM isolation is thus a prerequisite for molecular characterization, and it can be achieved through several techniques.

The fastest method is solid phase extraction (SPE) using a combination of XAD-8 (styrene-divinyl benzene resin) and XAD-4 (acrylic ester resin; (Aiken et al., 1992) or of the more recent prefabricated cartridges (mostly C18 and PPL; (Dittmar et al., 2008). Whatever the phase used, acidification of the samples is required, altering the DOM chemical structure. As a result, SPE-DOM is not representative of the initial DOM and has been shown to be enriched in aromatics moieties (Helms et al., 2015). Tangential-flow ultrafiltration (UF) has also been developed to isolate high molecular weight DOM (Benner et al., 1997). It allows removing salts while collecting DOM, but low molecular weight compounds (<1 nm) are lost with salts, implying that UF-DOM is not representative of the initial DOM and has been shown to be enriched in carbohydrates (Helms et al., 2015). When applied to estuarine environments, the two aforementioned methods are associated with large variations in OM recovery, commonly decreasing towards the ocean likely due to salinity increase (Louchouart et al., 2000).

More recently, reverse osmosis coupled with electrodialysis (RO/ED), initially developed for freshwater DOM isolation (Serkiz and Perdue, 1990), was adapted to that of marine DOM (Koprivnjak et al., 2006; Vetter et al., 2007; Gurtler et al., 2008; Koprivnjak et al., 2009). RO removes water molecules, leading to the concentration of both DOM and salts. The ED step further removes salts from estuarine and marine samples. This method does not require any pretreatment of the sample and shows high recovery rates of marine DOM, (70-75%; Green et al., 2014). It has been shown that RO/ED has a limited impact on DOM properties on UV spectroscopy, 3D fluorescence and elemental analyses (Helms et al., 2015, 2013; Koprivnjak et al., 2009). As far as we know, this method has not yet been applied to estuarine environments.

Due to the aforementioned limitations, only a few studies were interested in the dynamics of OM, and more specifically of DOM, in estuarine systems at the structural or molecular level (Abdulla et al., 2010a, 2010b; Cao et al., 2018, 2016; Seidel et al., 2015; van Heemst et al., 2000), most of them characterizing the OM at a bulk level, with elemental and isotopic techniques (Cloern et al., 2002; Guo and Santschi, 1997; Raymond and Bauer, 2001; Thornton and McManus, 1994). Nevertheless, OM transformation in the estuarine aquatic and sediment compartments involves processes taking place at the molecular level. Additionally, simultaneous characterization of estuarine DOM, POM and sediment OM was only rarely carried out despite the constant interactions and exchanges between these three OM pools.

The Seine Estuary is the third largest estuary in France after the Gironde and Loire along the French Atlantic coast. Its watershed represents 12% of the France area (78 600 km²) in which 30% of the French population, 40% of the industry and 25% of the agriculture are concentrated. This ecosystem is a typical example of a macrotidal estuary subjected to high anthropogenic pressure. Only limited information is available on OM dynamics in the Seine Estuary, most of it being derived from bulk elemental and isotopic analyses (Garnier et al., 2008; Savoye et al., 2003).

The aim of this study was to constrain the sources and fate of the OM in the Seine Estuary. The spatiotemporal dynamics of the OM along the estuary was investigated by comparing the bulk and structural features of the different pools of OM (DOM, POM and sediment OM). The effect of the RO/ED isolation of DOM was assessed using spectroscopic techniques. Characterization of the different OM pools was performed by combining elemental, isotopic and chemical structure analyses.

3.2 Results

3.2.1 Isolation of the DOM

Recovery yield of RO/ED based on DOC measurements ranged from 26 % to 87 %, with a mean yield of 59%. Highest yields were obtained for low salinity samples (Poses, Rouen, Caudebec and Tancarville) and the lowest for the marine sample (La Carosse; Table 1).

Table 1 : DOC recovery after concentration and desalting of water samples by RO/ED. *DOC is not available for this sample and was set to the concentration observed in the upstream part of the estuary (Rouen).

Sample Location	Campaign	Initial volume (L)	Final volume (L)	Initial DOC (mg/L)	Final DOC (mg/L)	Yield (%)	Salinity
Tancarville	January 2015	102	6.8	2.5	32.5	87	0.4
Caudebec		106	5.9	3.3	42.5	73	0.3
Tancarville	April 2015	41.5	3.2	1.7	16.5	72	0.6
Fatouville		102	6.3	1.8	15.1	51	17.7
Honfleur		101.5	4.8	2.2	20.8	44	19.9
Fatouville	July 2015	102.3	5.3	1.7	23.3	69	2.7
La Carosse		102	3.5	1.3	9.5	26	32.3
Poses	April 2016	103.5	3.3	2.5*	37	47	0
Caudebec		105.8	6	2.1	21.4	58	0.3

The DOM quality was compared before and after RO/ED isolation using UV-vis and EEM spectroscopy. For most samples, the $S_{275-295}$, $S_{350-400}$ and E2/E3 slightly increased after RO/ED processes, with a mean variation of 25%, 29% and 17% respectively, whereas no trend was observed for the S_R , with a mean variation of 19% (Table 2).

Table 2 : Values of UV-visible indices before and after the RO/ED isolation of DOM.

Location	Date	Initial				Final			
		$S_{275-295}$	$S_{350-400}$	E2/E3	S_R	$S_{275-295}$	$S_{350-400}$	E2/E3	S_R
Tancarville	January 2015	0.013	0.019	5.3	0.71	0.016	0.029	6.3	0.57
Caudebec		0.013	0.019	6	0.72	0.019	0.032	7	0.6
Tancarville	April 2015	0.013	0.021	5.1	0.62	0.019	0.033	6.2	0.58
Fatouville		0.014	0.018	6.3	0.79	0.016	0.016	5	1.01
Honfleur		0.014	0.018	6.3	0.82	0.018	0.02	6.2	0.9
Fatouville	July 2015	0.016	0.032	5.4	0.49	0.019	0.025	6.1	0.76
La Carosse		0.02	0.026	6	1.09	0.02	0.028	6.3	0.71
Poses	April 2016	0.014	0.017	4.6	0.84	0.017	0.02	6.2	0.83
Caudebec		0.014	0.018	5.8	0.8	0.018	0.021	7.1	0.84

The 3D fluorescence spectra were dominated by the α' and β bands, followed by the α and γ bands (Table 3; Figure 47).

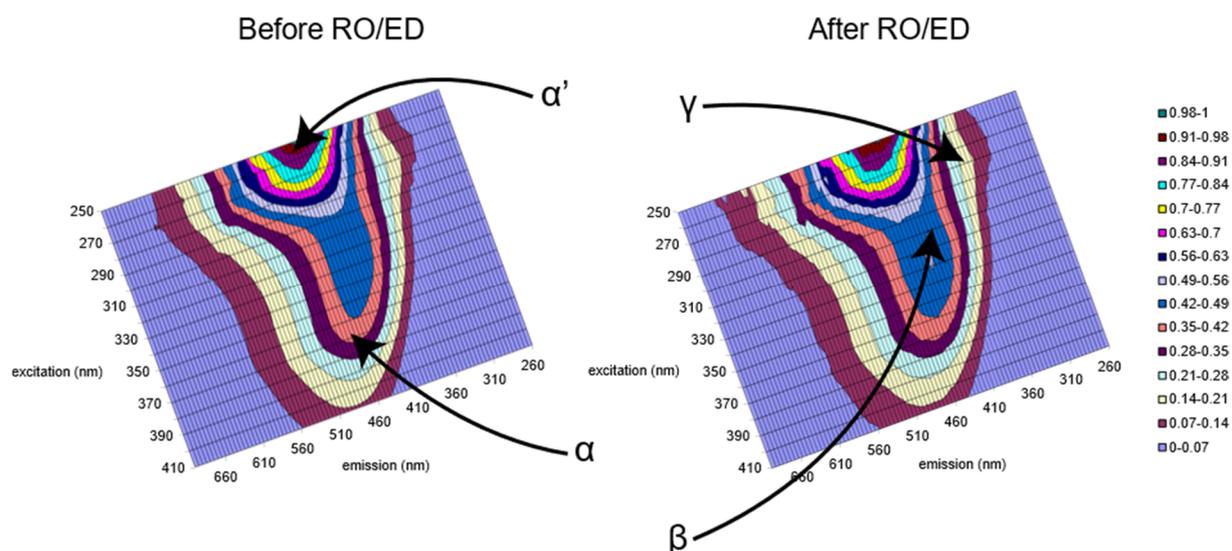


Figure 47 : 3D fluorescence spectra of DOM samples from Tancarville (January 2015) before (left panel) and after (right panel) RO/ED process. Spectra are presented in the same scale with a normalized fluorescence unit (between 0 = minimal measured fluorescence, and 1 = maximal measured fluorescence).

Only limited variations (< 15%) in the relative abundance of the α , α' and β bands were observed after RO/ED, while the less intense γ band shows higher variability, between 15 and 45% (Table 3; Figure 47). The highest variations in the relative abundance of the different fluorescence bands were observed for the marine sample from La Carosse.

Table 3 : Relative abundance of the four main fluorescence bands (%) before and after the isolation of DOM by RO/ED.

Location	Date	Initial				Final			
		α (%)	α' (%)	β (%)	γ (%)	α (%)	α' (%)	β (%)	γ (%)
Tancarville	January 2015	21.3	51.4	22.0	5.3	19.3	52.1	22.4	6.2
Caudebec	April 2015	14.6	48.3	23.3	13.9	15.4	48	25	11.6
Tancarville		16	47.8	23.1	13.2	16.5	50.1	23	10.4
Fatouville		14.4	49.7	22.9	13	16.4	51.2	22.3	10.1
Honfleur		15.1	48.1	23.5	13.3	15.6	55.5	21.2	7.7
Fatouville	July 2015	16.6	49.3	23.4	10.7	19	49	24.1	7.9
La Carosse		13.2	41.1	19.6	26	18	44.8	22.9	14.3
Poses	April 2016	19.5	46.3	24.3	9.9	18.8	49	24.3	7.9
Caudebec		17.3	47.8	24.2	10.7	18.4	48.1	25.6	7.9

3.2.2 Elemental and isotopic composition

In DOM, total organic carbon (TOC) ranged from 6.7 to 20.7% (mean 11.5%) and total nitrogen (TN) from 0.53 to 1.59% (mean 1%; annex 3). POM and sediment OM exhibited significantly

lower TOC and TN values than the concentrated DOM samples (Figure 48). TOC ranged from 1.2 to 7.7 % (mean 3.4%) and from 0.03 to 7.1% (mean 2.6%) in POM and sediment OM, respectively. Similarly, TN ranged from 0.16 to 0.69% (mean 0.4%) and from 0.005 to 0.84% (mean 0.3%) in POM and sediment OM, respectively. The C/N atomic ratio of DOM was significantly higher than that of POM and sediment OM (Wilcoxon test, $p < 0.05$ for both). It ranged from 12.1 to 15.8 in DOM, from 8.2 to 13 in POM and from 7 to 12.8 in sediment (Figure 49).

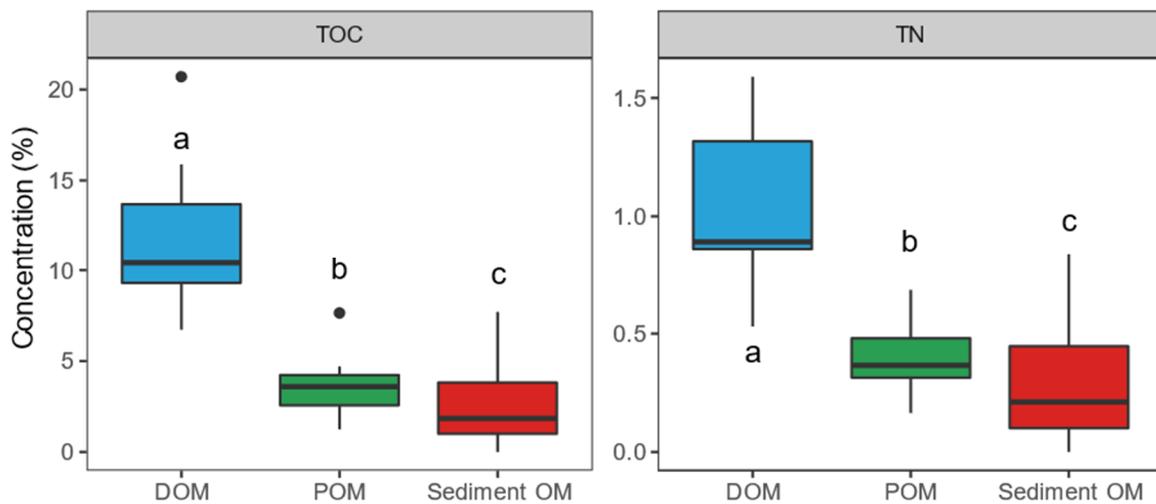


Figure 48 : Distribution of total organic carbon (TOC) and total nitrogen (TN) in the different compartments (DOM, POM and sediment OM). Letters correspond to groups calculated with Dunn's Test (threshold of 0.1).

For the three OM compartments, the $\delta^{13}\text{C}$ increased downward the estuary (Figure 49; annex 3) without significant differences between the considered compartments, ranging from -28.5 to -23.2‰ in DOM, from -29.9 to -22.5‰ in POM and from -29.6 to -24.2‰ in sediment.

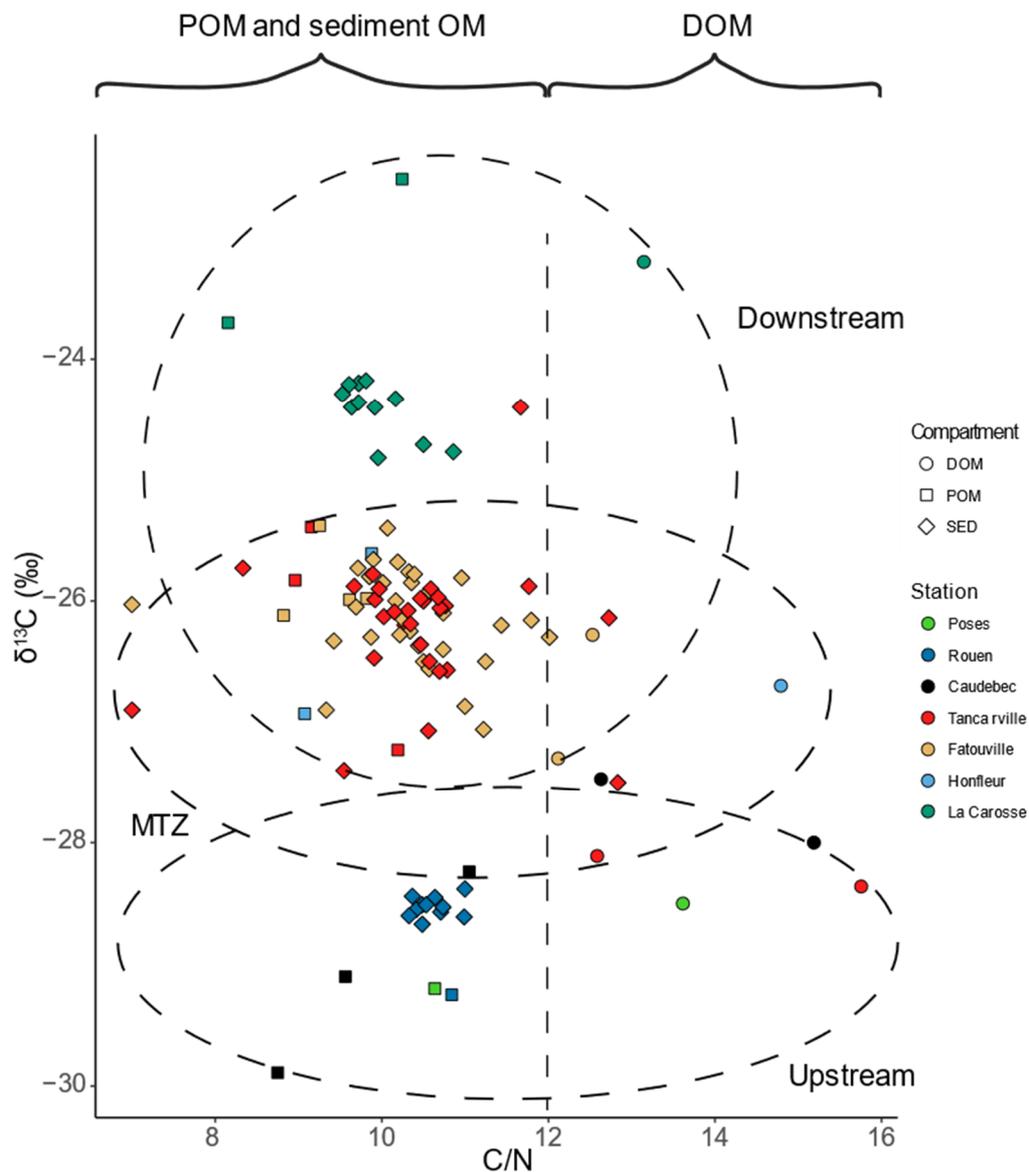


Figure 49 : $\delta^{13}\text{C}$ vs. C/N diagram for all samples (DOM, POM and SED OM). Circles, squares and diamonds represent DOM, POM and sediment OM, respectively. The color corresponds to the location of the sampling site.

3.2.3 Radiocarbon composition

The proportion of radiocarbon in the different samples is expressed as $\Delta^{14}\text{C}$. Positive values of the $\Delta^{14}\text{C}$ indicate a recent sample, *i.e.* post 1950, and cannot be correlated with the age, due to the morphology of the post bomb curve (Hua et al., 2013), an increase in positive $\Delta^{14}\text{C}$ values reflecting either an increase or a decrease in the age of the sample. However, samples with negative $\Delta^{14}\text{C}$ are samples older than 1950. The $\Delta^{14}\text{C}$ determined in the different compartments ranged from -88 to 123 ‰ (mean 27‰) for DOM, from 55 to 1015 ‰ (mean

273‰) for POM and from -110 to 123‰ (mean -20‰) for sediment OM (Figure 50; annex 3). Most POM samples showed higher values than DOM and sediment OM (Figure 50).

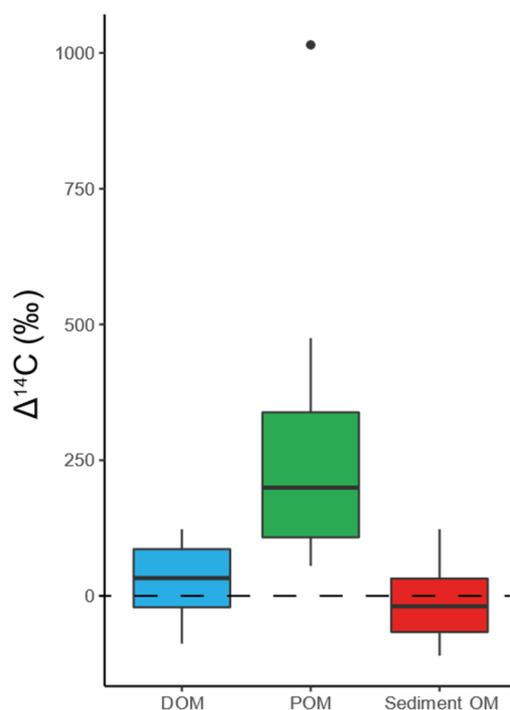


Figure 50 : $\Delta^{14}\text{C}$ of DOM, POM and sediment OM along the Seine Estuary. The dashed line represents the 0 value, data above this point are post 1950 (post bomb) and those below are ante 1950.

3.2.4 Functional groups

^{13}C NMR spectra were recorded to identify the main functional groups in the OM samples (Figure 51). DOM samples were dominated by a broad peak between 0 and 60 ppm, maximizing at 23 and 40 ppm, corresponding to aliphatic C, with a shoulder at 55 ppm corresponding to methoxy C and/or C located α to amino acid groups (Figure 51a). For POM and sediment samples, this aliphatic peak ranged between 0 and 50 ppm, maximizing at 30 ppm, with a much better resolved peak at 55 ppm (Figure 51b and c). All samples showed an intense well-resolved peak at 72 ppm with a shoulder at 104 ppm, assigned to O-alkyl C and anomeric C from carbohydrates, respectively. A broad signal between 110 and 160 ppm encompassed aromatic and phenolic C and, finally, a well-resolved peak of carboxylic C resonated at 175 ppm. Between 200 and 210 ppm, a small signal attests to the presence of carbonyl C.

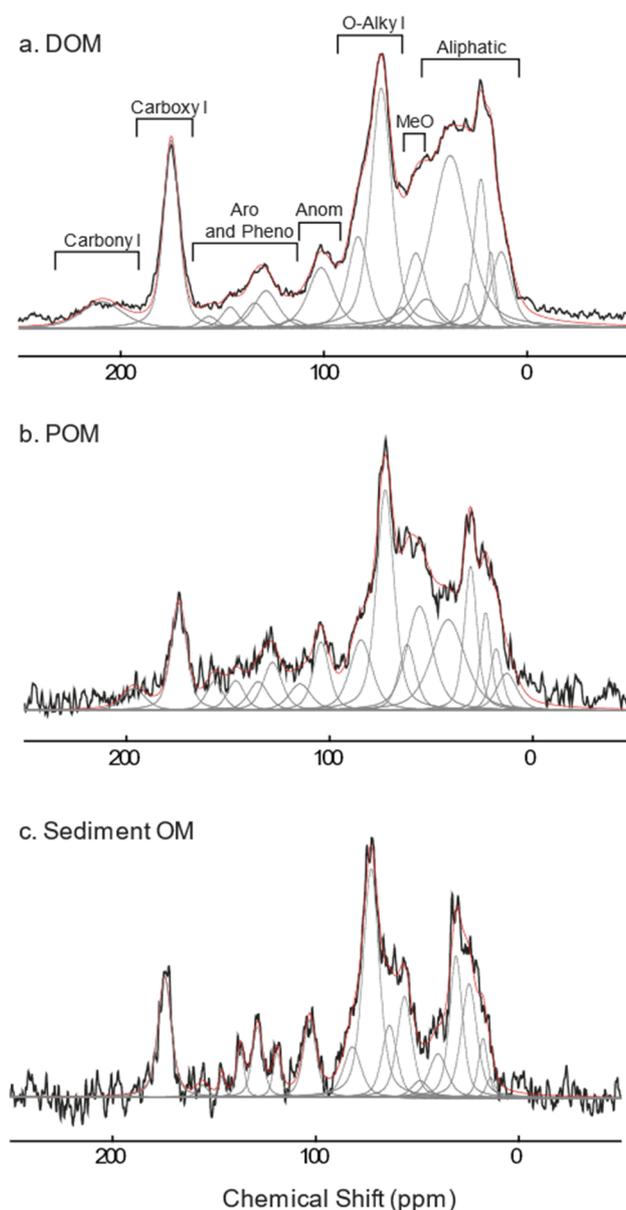


Figure 51 : ^{13}C NMR spectra of samples collected in April 2016: (a) DOM from Poses, (b) POM from Rouen and (c) surficial sediment (0-1 cm depth) from Rouen. Raw spectra are presented in black, deconvolution peaks in grey and the result of the deconvolution modeling is shown in red.

An easier comparison between the spectra can be achieved through their decomposition and integration. 18 peaks were required to obtain a good fit (Figure 51; annex 3). The functional groups were assigned as described by Mao et al. (2017). They were further grouped into 8 types of C, namely aliphatic C, methoxy C (although amino acids C may also contribute to this peak), O-alkyl C, anomeric C, aromatic C, phenolic C, carboxylic C and carbonyl C and the corresponding integrated peak areas were summed (Figure 52). Although these are not absolute values as they are obtained from one spectrum with a given contact time and thus

do not take into account potential differences in relaxation times between the different types of C, they can be used for comparison purposes.

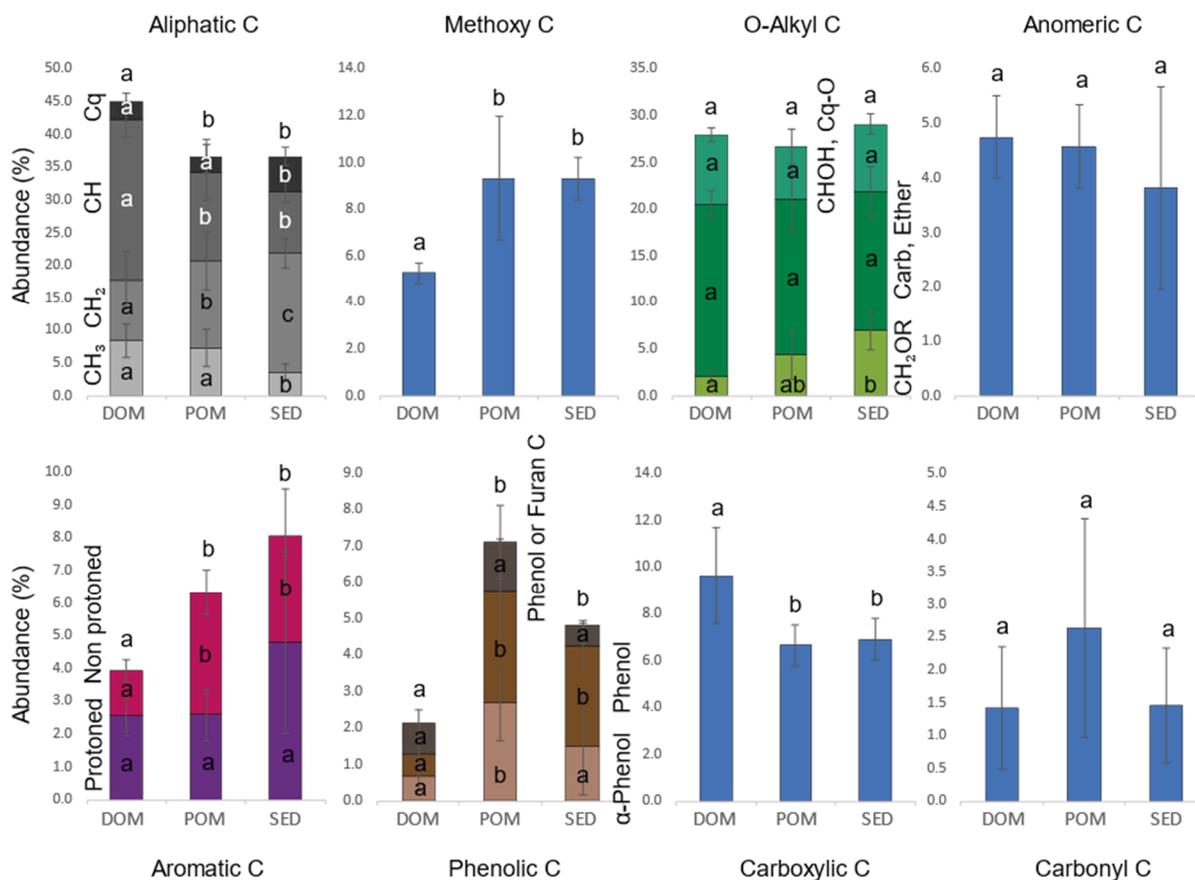


Figure 52 : Average distribution of the carbon functional groups based on integration of ^{13}C NMR spectra for DOM, POM and sedimentary OM. Letters correspond to groups calculated with Dunn's Test (threshold of 0.1).

Only slight statistical differences were observed between POM and sediment OM (Figure 52). The relative abundance of aliphatic C (0-50 ppm) is lower in POM and sediment OM than in DOM (Figure 52), mainly due to the decrease in the CH peak (38-42 ppm), suggesting the presence of more substituted and branched moieties in DOM. In contrast, the higher abundance of CH_2 groups (22-25 ppm and 30 ppm) in POM and sediment OM suggest that these two OM pools contain (macro)molecules with longer alkyl chains than DOM. POM and sediment OM are also enriched in methoxy C (54-55 ppm), in aromatic C (mostly due to the increase in the non-protonated aromatic C at 133 ppm) and in phenolic C (154-157 ppm) whereas they are depleted in carboxylic C (174-176 ppm) compared to DOM (Figure 52). This likely reflects a higher contribution of lignin moieties in POM and sediment OM than in DOM. The relative proportion of O-alkyl C (62-84 ppm) to anomeric C (102-104 ppm) does not show

any significant difference between the three compartments, although the contribution of the CH₂OR peak (62 ppm) increased from DOM to POM and sediment OM at the expense of the other O-alkyl C peaks.

3.3 Discussion

3.3.1 Validation of the RO/ED protocol to isolate DOM

After freeze drying, DOM samples isolated by RO/ED contained between 7 and 20% OC (Figure 48; annex 3). These values are consistent with those previously reported in literature for marine DOM isolated by RO/ED (7 to 22% of OC; (Green et al., 2014; Helms et al., 2015). Although efficient in removing salts, RO/ED does not eliminate all minerals, especially Si(OH)₄ and B(OH)₃ as previously observed for marine samples (Helms et al., 2015). However, RO/ED results in a large increase in carbon concentrations, 7 to 14 times higher than in the starting samples based on DOC analyses (Table 1), thus allowing the study of DOM chemical structure. The recovery yield is variable but is generally equal or higher than 50 % (Table 1). The highest yields are associated with upstream samples (up to 87 %). Conversely, the lowest yield (26 %) is observed for the most marine sample (La Carosse; Table 3). Due to its higher initial salt concentration, a longer ED step was necessary to reach the required conductivity (< 500 μS/cm) compared to the freshwater samples. This longer ED may have induced the loss of a larger part of the small negatively charged organic moieties (Huguet et al., 2009a). Moreover, for La Carosse, a stronger loss of sample occurred during the desalination due to membranes' wear.

In addition to quantitative DOC measurements, the UV-visible properties of DOM before and after the concentration and desalting steps were compared to examine the potential qualitative changes or losses of DOM induced by RO/ED. The variations in the different parameters derived from UV-visible analyses (S₂₇₅₋₂₉₅, S₃₅₀₋₄₀₀, E2/E3 and S_R) for the Seine Estuary samples were limited, ranging between ca. 15 % and 30 % (Table 2). Such variations are consistent with those previously observed for marine DOM samples isolated by RO/ED (31% for the S₂₇₅₋₂₉₅, 26% for the S₃₅₀₋₄₀₀ and 38% for the S_R; (Helms et al., 2013; Helms et al., 2015). This suggests that the RO/ED process does not lead to major qualitative changes of estuarine CDOM.

(Zsolnay, 2003) has reported that, during concentration by RO, small hydrophobic molecules could aggregate, resulting in an apparent increase in the proportion of high molecular weight molecules. Such an effect should systematically lead to a decrease of the S_R after RO/ED, as this ratio is negatively correlated with the average molecular weight of DOM (Helms et al., 2008). This trend was not apparent in the present study, the S_R increasing or decreasing after RO/ED depending on the sample considered (Table 2).

3D fluorescence measurements were performed in addition to UV-visible analyses to refine qualitative DOM characterization. Limited differences in the relative abundances of the different fluorescence bands (Table 3) were observed between the initial DOM sample and the RO/ED-DOM. A decrease in the relative abundance of the γ band was generally observed after RO/ED, consistent with the loss of protein material observed by (Helms et al., 2013) when isolating marine DOM samples by RO/ED. For the low salinity samples ($S < 5$, with highest DOC yield; Table 3), the fluorescence spectrum of the RO/ED-DOM was very close to that of the initial DOM (Figure 47).

The variations in intensity between 3D fluorescence spectra (%var) were calculated using Eq. 11, where u is the initial spectrum, v the final one, and i represent the fluorescence intensity at x excitation and y emission:

$$\%var_{(u,v)} = \frac{1}{N} \times \sum_{i=1}^N \frac{|v_{i(x,y)} - u_{i(x,y)}|}{u_{i(x,y)}} \times 100 \quad (\text{Eq. 11})$$

Before calculation, all spectra were normalized: the minimal value was set to 0, the maximal was set to 1, and all other values were calculated using linear regression between 0 and 1. This normalization allows qualitative comparison of the spectra, as they have the same range of values. Data points with normalized intensity lower than 0.1, corresponding to noisy signal, were excluded from the calculation. The total number of data points (N) was determined after having applied this threshold.

The total variation of fluorescent DOM before and after RO/ED was limited, ranging between 3.9 and 22.2% (mean 13.2 %; annex 3). The highest differences in fluorescent DOM properties induced by the RO/ED process were observed for the marine sample from La Carosse and were mainly related to the partial loss of protein-like material (γ band) during RO/ED as previously

discussed. Nevertheless, the present results show that DOM isolated by RO/ED shares at least 75% of its fluorescence properties with initial DOM, whatever the sample.

Altogether, both UV-visible and fluorescence analyses showed that DOM isolated by RO/ED is roughly representative of the OM initially present in the water sample, independently of the salinity, in line with previous results obtained for marine environments (Helms et al., 2013; Helms et al., 2015). Therefore, RO/ED presents the double advantage of isolating DOM from estuarine samples in rather high yield with a limited alteration of its quality. This ensures the good reliability of the bulk and structural characterization of estuarine DOM and will allow a confident comparison of DOM, POM and sediment OM characteristics for samples from the Seine Estuary.

3.3.2 Characteristics and sources of OM in the different pools

Elemental analyses of the Seine Estuary samples allowed the calculation of the C/N ratio, which is classically used as a proxy for the sources – terrigenous origin, i.e. OM derived from plants/produced in soils vs. aquatic origin, i.e. OM produced *in situ* in the estuary – and degradation degree of OM in aquatic environments. An increase in the C/N ratio reflects a more degraded OM (Rice and Tenore, 1981) and/or a higher contribution of terrigenous material, the C/N ratio of plant-derived OM being higher than 20 (Hedges et al., 1997). In contrast, algae and bacteria are enriched in N (Talbot and Johannessen, 1992), leading to C/N ratios below 10 (Meyers, 1994).

The overall low C/N ratios of DOM, POM and sedimentary OM in the Seine Estuary (< 16; Figure 49) suggest that OM is mostly derived from aquatic sources. Among the different pools, highest C/N ratios were observed in DOM (12-16) compared to POM and sediment OM (<12, Figure 49). This could be explained by (i) a preferential enrichment of DOM in terrigenous material and/or (ii) increased contributions of OM with a degraded signature in the dissolved pools than in the particulate and sedimentary ones.

Terrigenous inputs were evidenced by ¹³C NMR spectroscopy especially in POM and sediment OM. POM and sediment OM were indeed enriched in aromatic, phenolic and methoxy C (Figure 52), *i.e.* in lignin moieties compared to DOM. The application of the molecular mixing model (Baldock et al., 2004; cf. section 2.8.) to the NMR data from the Seine Estuary further

confirms that the proportion of lignin and char, and thus of terrigenous OM, is higher in POM and sediment OM than in DOM (Figure 53; annex 3). In parallel, DOM was shown to be enriched in proteins and carbohydrates, i.e. fresh OM with respect to POM and sediment OM (Figure 53). The enrichment in proteins may appear at variance with the trend derived from the C/N ratio, indicating a depletion of DOM vs. POM and sediment OM in N-moieties (Figure 49). This is likely due to fact that N mainly occurs in heterocycles in POM and sediment OM, in agreement with the higher aromaticity of OM in these two pools compared to DOM (Figure 52).

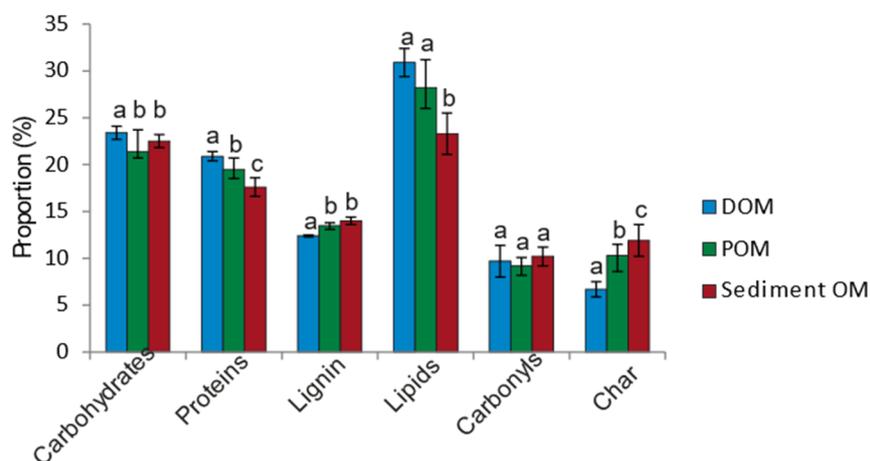


Figure 53 : Relative abundance of the molecular components of DOM, POM and sediment OM derived from the molecular mixing model proposed by Baldock et al. (2014). For each compartment, results correspond to the mean value \pm standard deviation. Letters are attributed based on the results of Dunn's test (threshold of 0.1)

Considering proteins as a proxy for aquatic OM and lignin for terrigenous one, the protein to lignin ratio (P/L) derived from the molecular mixing model reveals that the relative proportion of aquatic material is highest in DOM, whereas sediments are the most enriched in terrigenous OM, POM being intermediate between these two end members (Figure 54). The difference in C/N ratio between the three OM pools should rather be explained by a higher degradation of DOM. This is further supported by the higher carboxylic C content shown by NMR in DOM, in agreement with the oxidative degradation of OM (Kögel-Knabner, 1997). The lower degradation of labile moieties (e.g. proteins or carbohydrates) in POM than in DOM could be due to the protection of these moieties onto solid phase, thus allowing a better preservation of the labile organic matter (Keil et al., 1994). As observed in the Seine Estuary, the particulate pool of Chesapeake Bay (Loh et al., 2006) and Galveston Bay (Guo and Santschi, 1997) was suggested to have a lower degree of recycling than the dissolved one. A difference in C/N ratio

between DOM and POM has also been observed for ultrafiltered DOM (UDOM, 1-100 nm) and POM (UPOM) from North Pacific, suggesting that the higher C/N value of DOM may be associated with molecules smaller than 100 nm (Sannigrahi et al., 2005). The differences due to the rapid decomposition observed between the different OM pools in estuaries can be generalized to marine environments, as DOM from eastern North Pacific and Southern Oceans was reported to have a higher C/N ratio than POM and sediment (Loh and Bauer, 2000).

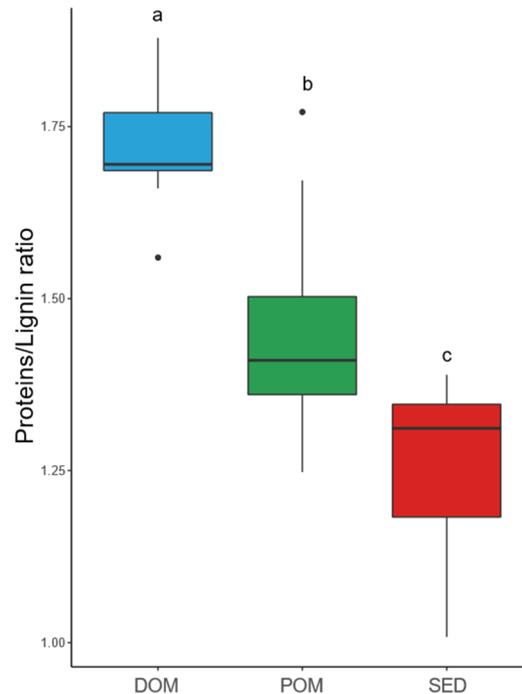


Figure 54 : Protein/Lignin ratio inferred from the ^{13}C NMR molecular mixing model developed by Baldock et al. (2014) for DOM, POM and sediment OM. Letters are attributed based on the results of Dunn's test (threshold of 0.1)

Bulk DOM $\Delta^{14}\text{C}$ signatures of the Seine Estuary samples were also determined to gain further insights into OM cycling and sources. As noted by Bauer and Bianchi (2011), detailed investigation of $\Delta^{14}\text{C}$ (as well as $\delta^{13}\text{C}$) in the dissolved organic pool of estuaries was rarely achieved, and most results were obtained for North American estuaries. DOM was generally observed to be ^{14}C -enriched (and thus younger) compared to POM in river and estuarine ecosystems, which was suggested to be due to a predominant contribution from recently produced ^{14}C -enriched soil and litterfall OM in the dissolved pool, in contrast with POM mainly deriving from materials persisting in the river or watershed for much longer time than DOM (Bianchi and Bauer, 2011 and references therein). In contrast with most of the systems, in the upstream part and MTZ (except at Fatouville July 2015) of the Seine Estuary, both DOM and

POM were of recent age (annex 3). This is likely due to the fact that these two OM pools are predominantly of aquatic origin all along the estuary, as previously discussed, and share the same contemporary carbon sources. Then, in the downstream part of the estuary (Fatouville, Honfleur and La Carosse; annex 3), DOM shows an opposite trend and is depleted in ^{14}C compared to DOM and POM samples collected upstream, which reflects the transition from riverine-dominated to marine-dominated area of the estuary. Indeed, in oceanic and coastal settings, the average age of POM, mainly derived from contemporary-aged phytoplankton, is younger than co-occurring DOM due to the preferential removal of ^{14}C -enriched young material and preferential preservation of older ^{14}C -depleted DOC along estuaries (Raymond and Bauer, 2001).

Although no major difference could be evidenced between POM and sediment OM from elemental analysis, and only limited difference from ^{13}C NMR, these two compartments are discriminated by ^{14}C age. All POM samples are indeed recent (*i. e.* post 1950), whereas the age of sediment OM samples encompasses post and ante 1950 dates (Figure 50). Several concomitant processes can be put forward to account for this difference, as partly hypothesized in the deep ocean (Wang et al., 1996): (i) rapid decomposition of aquatic, labile organic matter in the water column and/or in the sediment; (ii) preferential deposition and incorporation of "older" terrigenous OM in the sediment; (iii) bioturbation and sediment resuspension, diluting the "recent" $\Delta^{14}\text{C}$ -enriched signal of surficial sediment with "older" carbon depleted in ^{14}C from deeper sediment. The first and second hypotheses are supported by the higher values of the P/L ratio in POM than in sediment, implying that the proportion of labile vs. terrigenous OM is higher in the particulate pool than in sediment. Conversely, Seidel et al. (2015) have suggested that the depletion in terrigenous OM observed in estuarine water columns could be due to its sorption onto sinking particles, enriching the sediment in terrigenous OM. The third hypothesis – sediment resuspension – should also be taken into account to explain the differences in $\Delta^{14}\text{C}$ of POM and sediment OM, as in the MTZ the $\Delta^{14}\text{C}$ of sediment OM (0-1 cm, 5-6 cm and 9-10 cm) was observed to be correlated with the hydrodynamic conditions in the Seine Estuary (Figure 55a.). It can be suggested that strong tides lead to the resuspension of fresh and young ^{14}C -enriched sediment, leaving at the surface deeper and older ^{14}C -depleted sediment OM. In contrast, low tidal flows allow the deposition of young ^{14}C -enriched, autochthonous OM at the surface of the sediment (Dyer, 1995). This

interpretation is further supported by the significant decrease in the P/L ratio, and thus in the proportion of aquatic OM in MTZ sediment with increasing tidal coefficients (Figure 55b.). This bioturbation/resuspension hypothesis is also emphasized by the non-linear decrease of the $\Delta^{14}\text{C}$ in the sediment OM with depth (annex 3).

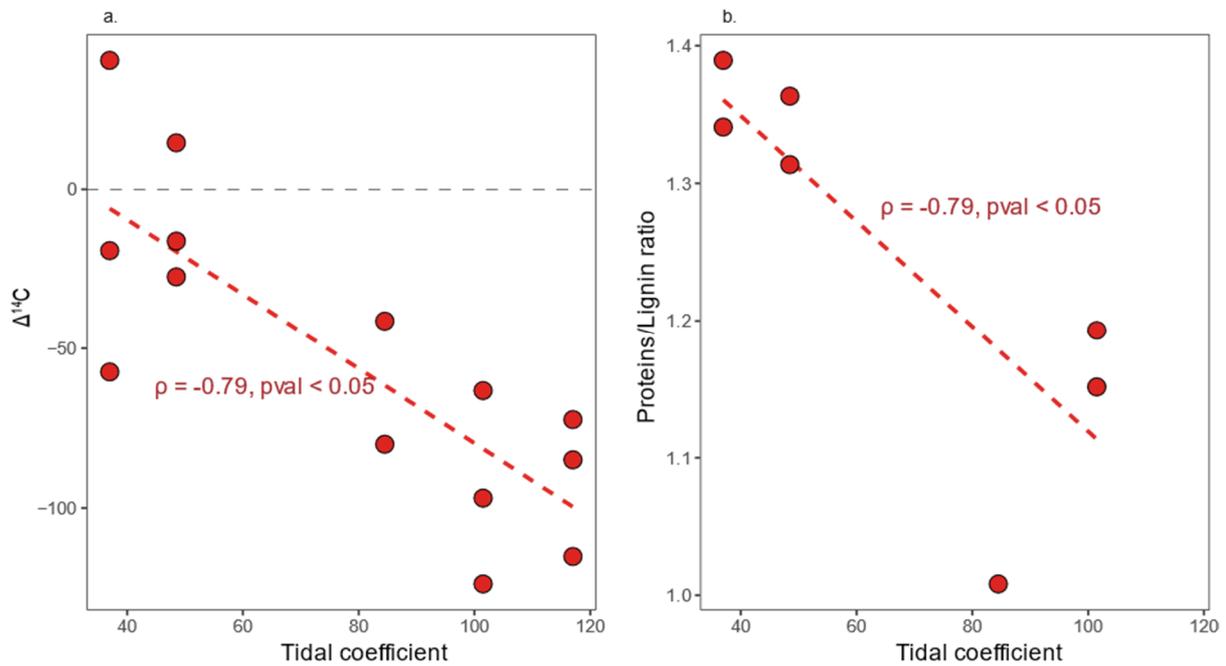


Figure 55 : Correlation between (a) the $\Delta^{14}\text{C}$ of sediment OM (0-1 cm, 5-6 cm and 9-10 cm) in the MTZ and (b) the Protein/Lignin ratio with the tide coefficient for 0-1 and 9-10 cm sediment OM.

In the MTZ, the P/L ratio of POM was also significantly correlated with surface water temperature ($\rho = 0.70, p < 0.05$; Figure 56). This increase in the proportion of aquatic OM with temperature likely reflects the fact that the biological productivity in the water column and/or phytoplanktonic bloom is related to temperature (Garnier et al., 1995). The massive input of phytoplanktonic OM will increase the production of labile OM (*i.e.* proteins and carbohydrates) (Goldman et al., 1992), resulting in the dilution of terrestrial OM (*i.e.* lignin).

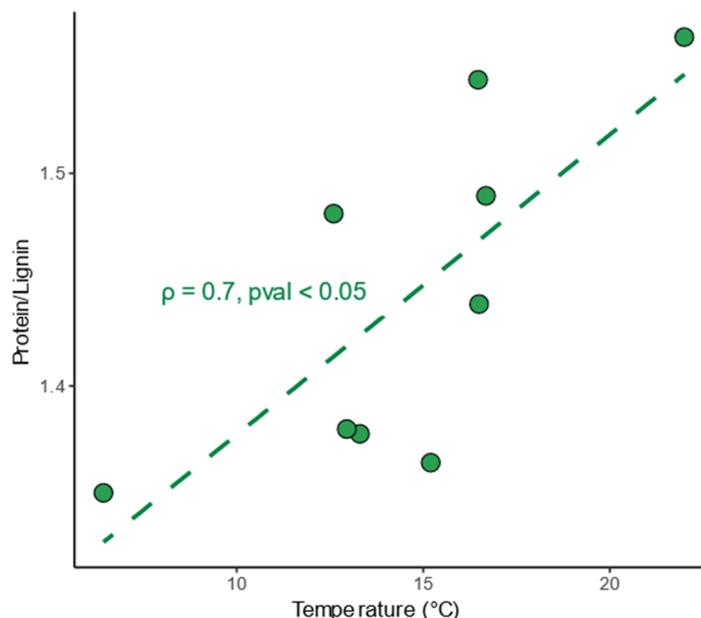


Figure 56 : Correlation between the Protein/Lignin ratio of POM samples and surface water temperature measured during sampling in the MTZ.

3.3.3 Spatial variations

$\delta^{13}\text{C}$ is a useful tracer for DOC in riverine and estuarine systems (Raymond and Bauer, 2001). As the riverine OM (terrigenous OM and freshwater phytoplankton OM) is generally depleted in ^{13}C with respect to marine OM (Cloern et al., 2002), the isotopic composition of OM is commonly used to discriminate riverine versus marine sources in estuarine and coastal environments (Canuel and Hardison, 2016). Whatever the considered OM compartment, the $\delta^{13}\text{C}$ increases downward the Seine Estuary, reflecting mixing between riverine and marine OM (Figure 49).

A broader range of $\delta^{13}\text{C}$ values is observed in the downstream zone than in the other two parts of the estuary, likely reflecting the large environmental differences between Honfleur (end limit of the MTZ and beginning of the downstream zone) and La Carosse (in the Seine Bay). Honfleur shows similar elemental and isotopic composition with the MTZ samples, whereas La Carosse is enriched in $\delta^{13}\text{C}$, in agreement with a more marine environment.

The downward increase in $\delta^{13}\text{C}$ has been observed along numerous estuaries (e.g. Tay, Pearl River, Mackenzie, Eble, Ems, Rhin) for POM and sediment OM (Thornton and McManus, 1994; Middelburg and Herman, 2007; Emmerton et al., 2008; Yu et al., 2010), and was also reported for DOM in the Amazon estuary (Seidel et al., 2015). Nevertheless, the detailed spatial

evolution of the isotopic composition of POM was shown to be estuary-dependent based on the study of 9 European estuaries of the Atlantic Coast (Middelburg and Herman, 2007). The variation of the $\delta^{13}\text{C}$ of POM in the Seine Estuary (Figure 57a.) exhibits strong similarities with the Rhine Estuary: a high variation of $\delta^{13}\text{C}$ (from -30 to -26 ‰) for salinity < 1, constant $\delta^{13}\text{C}$ (ca. -26 ‰) for salinity between 1 and 20, and an increase of $\delta^{13}\text{C}$ (reaching up to -20 ‰) downstream. These similar trends likely reflect the close properties of the Rhine and Seine estuaries, with high tides, low suspended particulate matter contents and low residence times of water due to construction works and landscape (Middelburg and Herman, 2007).

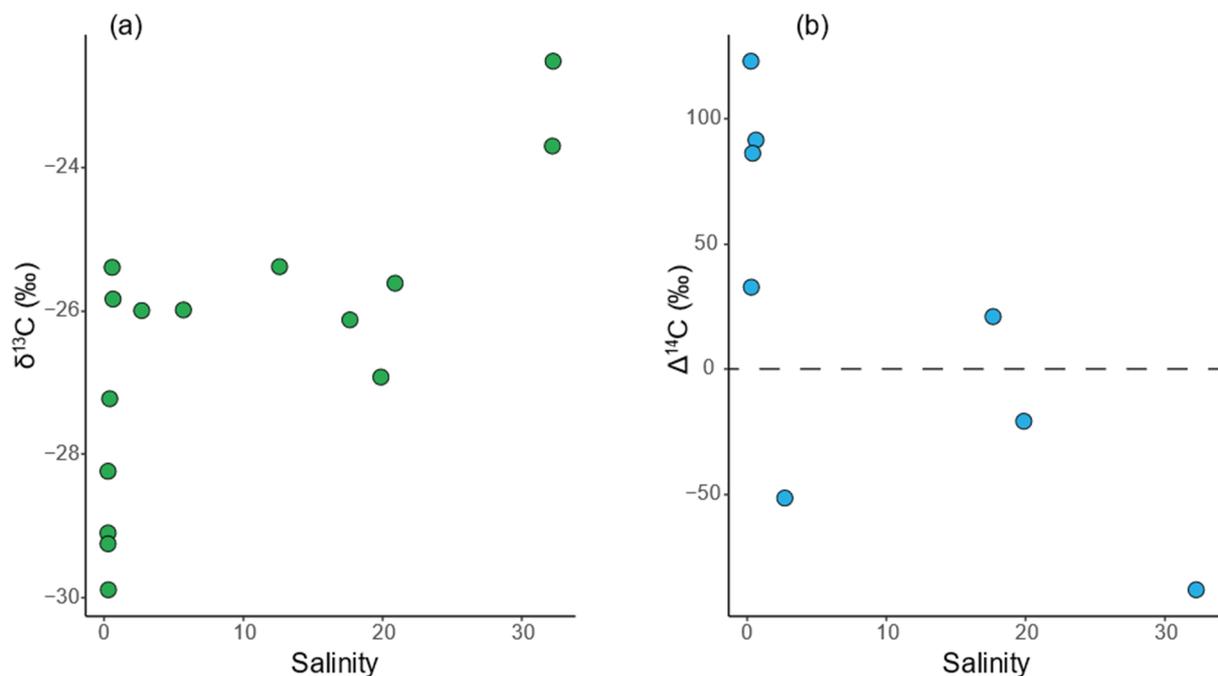


Figure 57 : (a) Evolution of the $\delta^{13}\text{C}$ of POM with salinity and of (b) the $\Delta^{14}\text{C}$ of DOM with salinity. A two-end member conservative mixing model (Shultz and Calder, 1976) was applied to investigate in more detail the relative abundance of the riverine and marine OM sources along the Seine Estuary. Eq. 12, where $\delta^{13}\text{C}$ is the isotopic composition of the sample, $\delta^{13}\text{C}_m$ is the end member value of the marine OM and $\delta^{13}\text{C}_r$ is the end member value of the riverine OM, was used to calculate the fraction of riverine OM F_r :

$$F_r = \frac{\delta^{13}\text{C} - \delta^{13}\text{C}_m}{\delta^{13}\text{C}_r - \delta^{13}\text{C}_m} \quad (\text{Eq. 12})$$

The $\delta^{13}\text{C}_r$ was set to -30‰ which is the value of $\delta^{13}\text{C}$ observed in the most upstream sample (Poses). This value is consistent with those observed in other estuaries (Middelburg and

Herman, 2007). As no open marine sample was analyzed in the present study, a value of -21‰ was used for the marine end member $\delta^{13}\text{C}_m$, based on $\delta^{13}\text{C}$ measurements in open marine environment (Wada et al., 1987; Yu et al., 2010).

As expected, in the upstream zone, OM is mostly derived from riverine source (F_r 0.72 to 0.99), with DOM showing the lowest F_r values (between 0.72 and 0.83) and POM the highest ones (from 0.80 to 0.99; Figure 58). This reflects the different isotopic compositions of the different sources of OM in DOM and POM compartments. The relative abundance of riverine vs. marine OM logically decreases in the MTZ, with almost equal contributions of these two sources in the particulate and sediment pools (mean F_r values of 0.53 and 0.57, respectively) and higher riverine contribution in the dissolved compartment at the upstream limit of the MTZ (Tancarville, mean F_r of 0.8 for DOM; Figure 58). This may reflect the rapid degradation of the labile marine DOM in the MTZ, due to the high bacterial activity encountered in this zone (Garnier et al., 2008), and resulting in an increase in the proportion of riverine OM. This degradation of labile OM should be less important within POM due to the protection effect provided by the solid phase (Keil et al., 1994). Additionally, the higher reactivity of DOM compared to POM and sedimentary OM, inferred from the C/N and P/L ratios (cf. discussion above), explains the lower F_r observed for DOM in the MTZ zone.

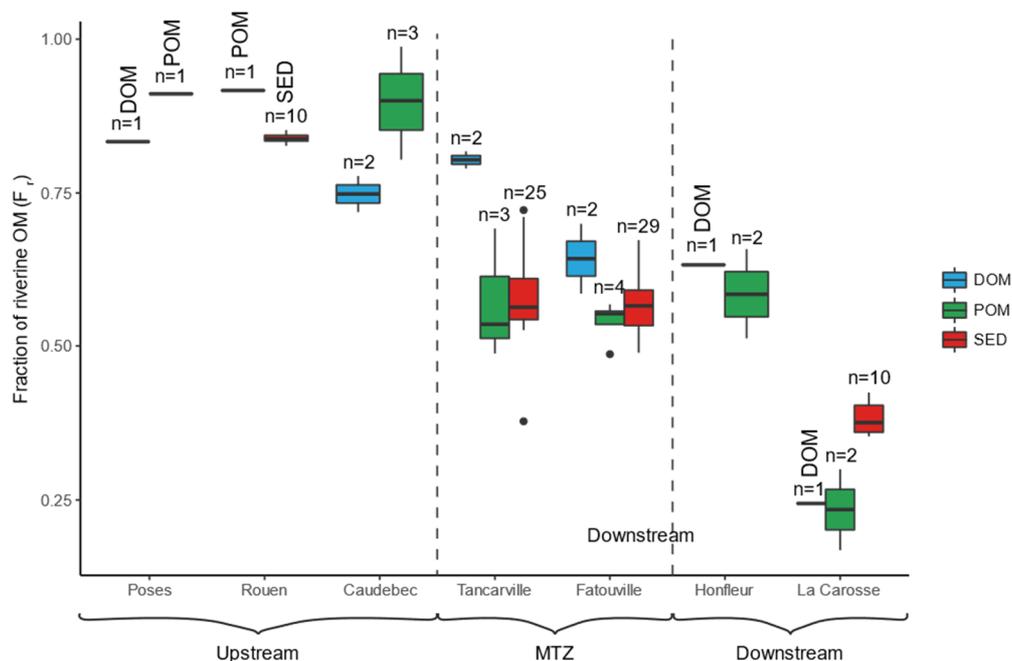


Figure 58 : Fraction of riverine OM (F_r) in the 3 zones of the Seine estuary (upstream, MTZ and downstream) for the 3 OM compartments (DOM, POM and sediment OM).

At the beginning of the downstream zone (around Honfleur), OM still results from the mixing between riverine and marine OM (Fig. 10). Nevertheless, in the most downstream sample (La Carosse), OM is mainly derived from marine source, even though a slightly higher contribution of riverine OM (ca. 35 to 40%) is observed in sediment than in POM and DOM. This is due to the partial degradation of labile marine OM in the water column before its deposition onto sediment, consistent with the lower values of the P/L ratio in sediment than in POM and DOM (Figure 54).

The interpretation of the $\delta^{13}\text{C}$ values of DOM in estuaries may be hampered by the complexity of these ecosystems and the diversity of the DOM sources. Therefore, simultaneous investigation of $\Delta^{14}\text{C}$ and $\delta^{13}\text{C}$ can provide further insights into estuarine carbon cycling (Canuel and Hardison, 2016). Similarly to $\delta^{13}\text{C}$, a significant decrease in $\Delta^{14}\text{C}$ of DOM was observed downward estuaries (e.g. Hudson River, York and Parker Estuaries in North America; Raymond and Bauer, 2001), which may be explained either by the removal of $\Delta^{14}\text{C}$ -enriched upstream DOC along estuaries and/or by the input of $\Delta^{14}\text{C}$ -depleted marine DOC. A similar pattern was observed in the Seine Estuary, with a significant decrease in $\Delta^{14}\text{C}$ -DOC from upstream (between 16.9 ‰ and 105.3 ‰ in Poses and Caudebec) to downstream (-36.1 ‰ and -102.2 ‰ in Honfleur and La Carosse, respectively; Figure 57b. and annex 3).

As previously discussed, the P/L ratio derived from ^{13}C NMR data is a promising tool to assess the relative abundance of terrigenous vs. aquatic OM along estuaries. This ratio was observed to be significantly positively correlated with $\delta^{13}\text{C}$ in POM ($\rho = 0.80$, $p < 0.05$; Figure 59) indicating that the variations in $\delta^{13}\text{C}$ along the Seine Estuary are linearly related to an increase in the relative abundance of aquatic OM and/or preferential degradation of terrigenous OM and are reflected in a change into the macromolecular composition of OM, as detected by ^{13}C NMR. In contrast, in the sediment pool, no relationship between $\delta^{13}\text{C}$ and P/L was observed (Figure 59), implying that the molecular composition of sedimentary OM is not only related to the mixing of riverine and marine OM, but also depends on additional processes (i.e. inputs or removals of OM), such as the resuspension of the sediment into POM or the production/transformation of OM within the sediment. Nevertheless, care should be taken when interpreting the sedimentary data, as no NMR spectra could be recorded in the downstream zone due to a too low signal to noise ratio.

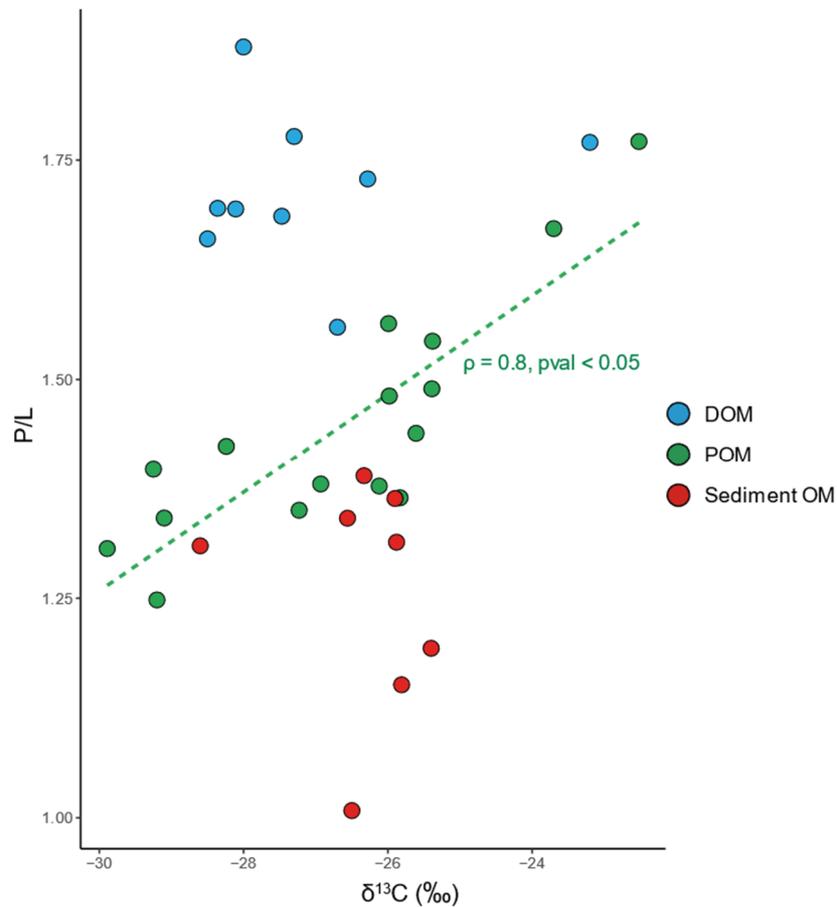


Figure 59 : Relationship between $\delta^{13}\text{C}$ of DOM, POM and sediment OM and the Protein/Lignin ratio.

3.3.4 Combined effect of spatial and temporal variations

To disentangle the effects of spatial and temporal variations on DOM, POM and sedimentary OM characteristics, a principal component analysis (PCA) was performed with the C/N, $\delta^{13}\text{C}$, $\Delta^{14}\text{C}$, and ^{13}C NMR-derived molecular mixing model data for all OM pools (Figure 60). The first three dimensions explain 79.2% of the variance. The first dimension is positively linked to the lignin (23.7% of the dimension) and char (22.8% of the dimension) content and negatively to protein (17.8% of the dimension), lipid (16% of the dimension) content and C/N (12.9% of the dimension). The second dimension is negatively linked to carbohydrate content (26.1% of the dimension) and positively to $\delta^{13}\text{C}$ (18.7% of the dimension), lipid content (14.2% of the dimension), $\Delta^{14}\text{C}$ (13.9% of the dimension) and protein content (12.4% of the dimension).

The PCA highlights the differences in chemical composition between DOM on the one hand and POM and sediment OM on the other hand. Indeed, a higher C/N ratio, carbohydrate, lipid and protein content as well as a lower char and lignin content was observed in DOM than in

the other two compartments (Figure 60). This is consistent with the more labile and hydrophilic nature of DOM.

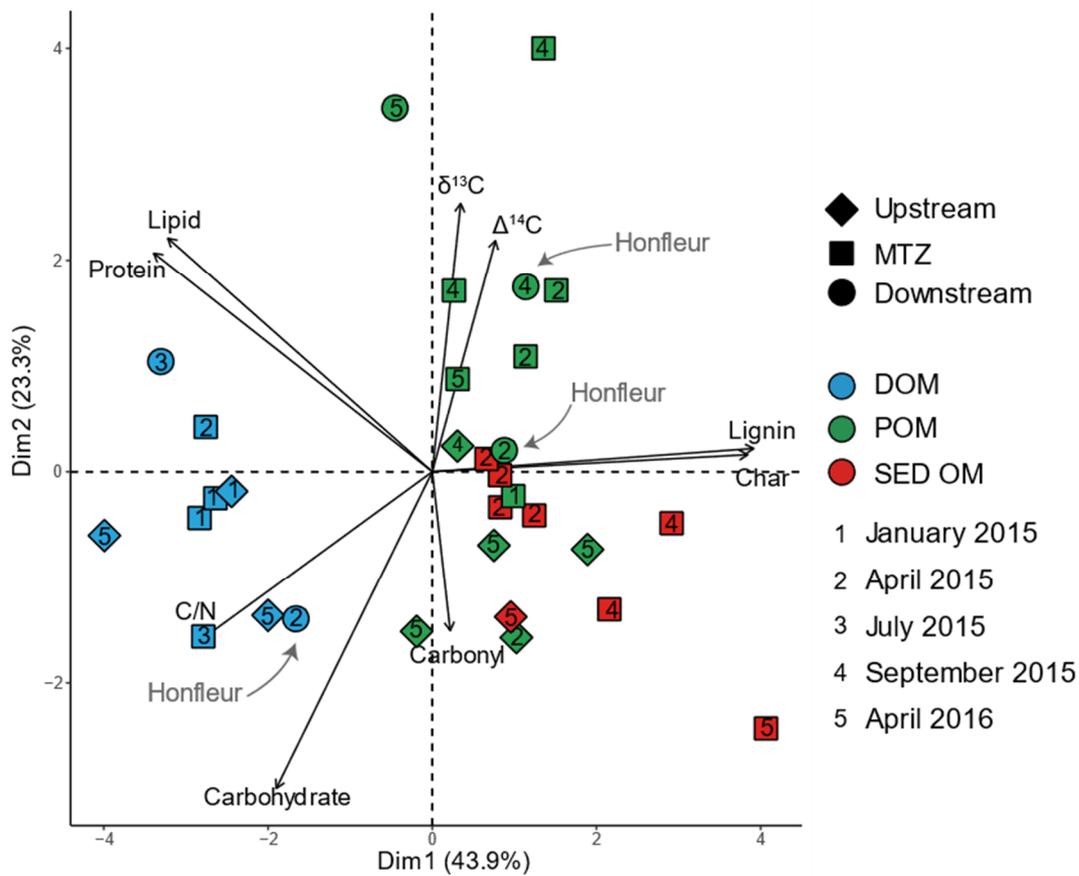


Figure 60 : Dimension 1 (43.9% of the variance) and 2 (23.3% of the variance) of the PCA based on C/N, $\delta^{13}\text{C}$, $\Delta^{14}\text{C}$, and NMR-derived molecular mixing model data for DOM, POM and sediment OM (0-1 and 9-10 cm) collected along the Seine Estuary. Diamond symbols correspond to samples collected upstream, squares to those collected in the MTZ and circles to those collected downstream. The digits represent the different sampling campaigns.

The PCA also shows that bulk and structural characteristics of upstream POM are close to those of upstream/MTZ sediment OM in the estuary, implying a limited degradation of POM during the sedimentation or within the sediment. In contrast, in the MTZ and in the downstream zone, the difference between POM and sediment OM is much higher, implying that POM is transformed during the sedimentation processes or rapidly within the sediment. Despite their location at the beginning of the downstream zone, Honfleur samples share several similarities with those from the MTZ, in contrast with the samples from La Carosse in the bay of Seine.

For POM and to a lesser extent DOM, the PCA also emphasizes the spatial variation of OM properties, as most samples are aligned following the $\delta^{13}\text{C}$ composition. This shows that within a compartment, the main driver of the OM composition is the mixing of freshwater (riverine OM) and seawater (marine OM). In contrast, no seasonal effect can be evidenced on DOM, POM and sedimentary OM composition. Altogether, the PCA shows that in the Seine Estuary OM quality mainly depends on its compartment (DOM/POM/sediment) and to a lesser extent on the sampling zone (upstream/MTZ/downstream).

3.4 Conclusion

The source and fate of DOM, POM and sedimentary OM in the Seine Estuary were investigated using bulk and structural analytical techniques. Such a study required beforehand the isolation of sufficient amounts of DOM, which was performed using RO/ED. The latter was shown for the first time to be an efficient method to isolate estuarine DOM, with only limited qualitative modifications of DOM properties according to spectroscopic analyses.

The coupling of elemental, isotopic and ^{13}C NMR analyses allowed a better understanding of the complex dynamics of DOM, POM and sediment OM in the Seine estuary. Whatever the compartment, OM was mostly of recent aquatic origin. Nevertheless, each OM pool had its own properties and dynamics, the sediment and POM being enriched in terrigenous material in comparison with DOM, whereas DOM is enriched in degraded aquatic material. This difference could be due to the higher affinity of labile polar moieties for water, whereas hydrophobic terrigenous OM may have higher affinity for the solid phase. The current multi-compartment study was required to disentangle the processes and transformations of OM from land to ocean, as each of these exhibit specific properties. The radiocarbon analysis allows the recognition of 2 zones within the estuary: a river-dominated zone with recent DOM and POM and a marine-dominated one with old DOM and recent POM. Moreover, the dynamics of sediment OM seems to be linked to the hydrodynamic conditions within the estuary, with its remobilization into POM during strong tide, and the deposit of aquatic-enriched OM during weak tide. The Protein/Lignin ratio calculated from the ^{13}C NMR-based molecular mixing model especially appeared as a promising proxy to discriminate the sources of estuarine OM, in combination with classical elemental and isotopic analyses. In addition to the compartment of OM, the main factor driving the OM composition along the Seine Estuary

was shown to be the mixing of fresh and marine waters. The approach proposed for the OM characterization of the Seine Estuary could be applied to other estuaries, especially European ones, which were much less investigated than those from North America.

CHAPITRE 4 : LES BIOMARQUEURS LIPIDIQUES DANS LES SEDIMENTS DE L'ESTUAIRE DE SEINE

4.1 Introduction

Les analyses globales et structurales de la MO ont permis de montrer de grandes différences de composition chimique entre les compartiments de l'estuaire de Seine : les sédiments et la MOP sont enrichis en MO terrigène à l'inverse de la MOD. Il a également été possible d'estimer l'abondance relative de la MO terrigène et aquatique le long de l'estuaire de Seine. Une augmentation de la proportion de MO aquatique à l'aval de l'estuaire a été observée.

Toutefois, ces résultats sont basés uniquement sur la composition moyenne des milliers de molécules qui composent la MO. Il apparaît essentiel de déterminer les caractéristiques de ce matériel complexe au niveau moléculaire, afin d'obtenir des informations plus précises sur l'origine et le devenir de la MO dans l'estuaire de Seine. L'analyse au niveau moléculaire de la MO de l'estuaire de Seine permettra en particulier de préciser la composition chimique de la MO terrigène et aquatique et de déterminer quels types d'organismes ont produit la MO (végétaux supérieurs, microorganismes, phytoplancton etc...).

De plus, les interactions entre la MO et les contaminants ont lieu à l'échelle moléculaire. La MO influence le devenir et la biodisponibilité des contaminants en milieu estuarien. Une caractérisation fine de la MO est indispensable pour mieux comprendre et prédire le comportement des polluants (organiques ou inorganiques) dans l'estuaire de Seine, et leur transfert du milieu continental en milieu océanique.

Afin de mieux contraindre les sources de la MO dans l'estuaire de Seine, les constituants lipidiques de la MO ont été analysés dans 7 carottes de sédiments prélevées au cours de 3 campagnes d'échantillonnage menées sur 4 sites couvrant l'amont (Rouen), le bouchon vaseux (Fatouville et Tancarville) et l'aval (La Carosse). Cette étude a été complétée de manière préliminaire par l'analyse de deux échantillons de MOP (Rouen avril 2016 et La Carosse juillet 2015). Les lipides représentent par définition l'ensemble des molécules extractibles à l'aide de solvants organiques. L'analyse des lipides de la MOD n'a pas été réalisée, vu les teneurs plus faibles classiquement observées dans la phase dissoute (2-3% de la MOD ; Mannino and Harvey, 1999).

Au total, 5 familles de lipides ont été analysées : les *n*-alcane, les alcools, les acides gras, les stérols/stanols et les tétraéthers de glycérol. Ces molécules sont comprises dans les fractions

apolaire (*n*-alcanes) et polaire (alcools, acides gras et stérols/stanols). La fraction de polarité intermédiaire n'a pas été analysée car elle ne comporte que peu de molécules d'intérêts. Ces différentes familles de lipides permettent d'obtenir des informations complémentaires sur les sources et la dégradation de la MO (1.5.2).

4.2 Résultats et discussion

4.2.1 Propriétés physico-chimiques des sédiments

Les biomarqueurs moléculaires de 7 carottes de sédiment de 10 cm coupées en tranche d'1cm ont été étudiée (Tableau 8).

Tableau 8 : Nombre d'échantillons analyses par carotte de sédiment dans l'estuaire de Seine.

Site	Campagne	Nombre d'échantillons analysés
Tancarville	Avril 2015	9
Fatouville	Avril 2015	6
Tancarville	Septembre 2015	6
Fatouville	Septembre 2015	6
Rouen	Avril 2016	9
Fatouville	Avril 2016	6
La Carosse	Avril 2016	8

Dans les milieux naturels, la nature et la taille des minéraux jouent un rôle important sur la quantité et la préservation de la MO. En effet, les minéraux argileux et de petite taille (avec une grande surface spécifique) permettent généralement une meilleure préservation de la MO (Hedges and Keil, 1999).

Deux familles de sédiments se distinguent à partir de la distribution granulométrique : une fine et une grossière. Un exemple des distributions granulométriques de ces deux familles est présenté en Figure 61. Les sédiments les plus fins ont des textures majoritairement limoneuses (taille des grains médians aux alentours de 10 μm , cas de Fatouville 0-1 cm, avril 2015) alors que les sédiments grossiers ont des textures sableuses (tailles des grains aux alentours de 100 μm , cas de Fatouville 8-9 cm, septembre 2015). De plus, les sédiments sont pauvres en argiles granulométriques < 2 μm (< 0,7% du total). Au final, les sédiments sont un mélange de limons (2 μm – 20 μm) et de sables (20 μm – 2 mm), ce qui confirme les précédentes mesures granulométriques sur l'estuaire de Seine (Lesourd et al., 2016).

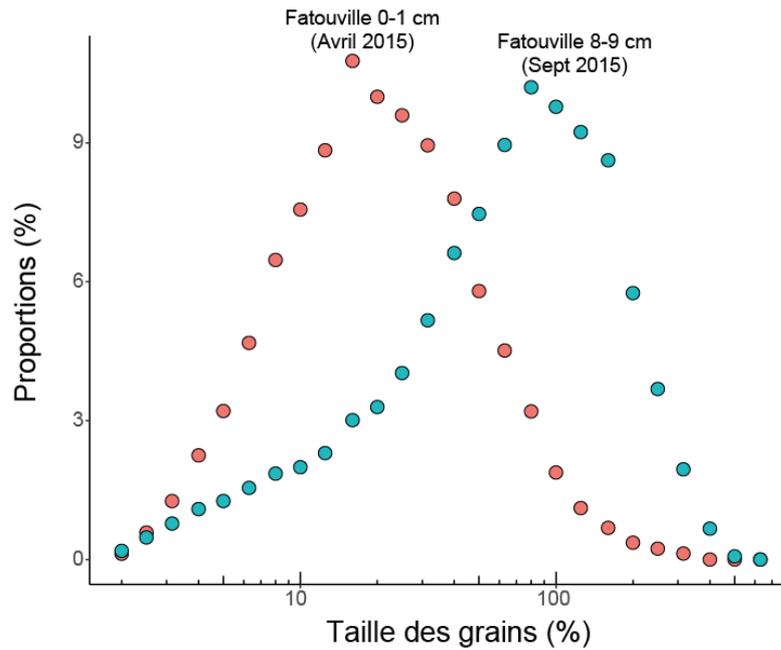


Figure 61 : Exemple de deux cas extrêmes de mesure granulométrique de sédiments de l'estuaire de Seine.

Mis à part les sédiments dont la distribution est grossière (Figure 61), la granulométrie des sédiments est similaire dans la majorité des carottes de sédiment. Toutefois, les carottes prélevées à Tancarville en septembre 2015 et à Fatouville en septembre 2015 et avril 2016 présentent des niveaux plus sableux (Figure 62).

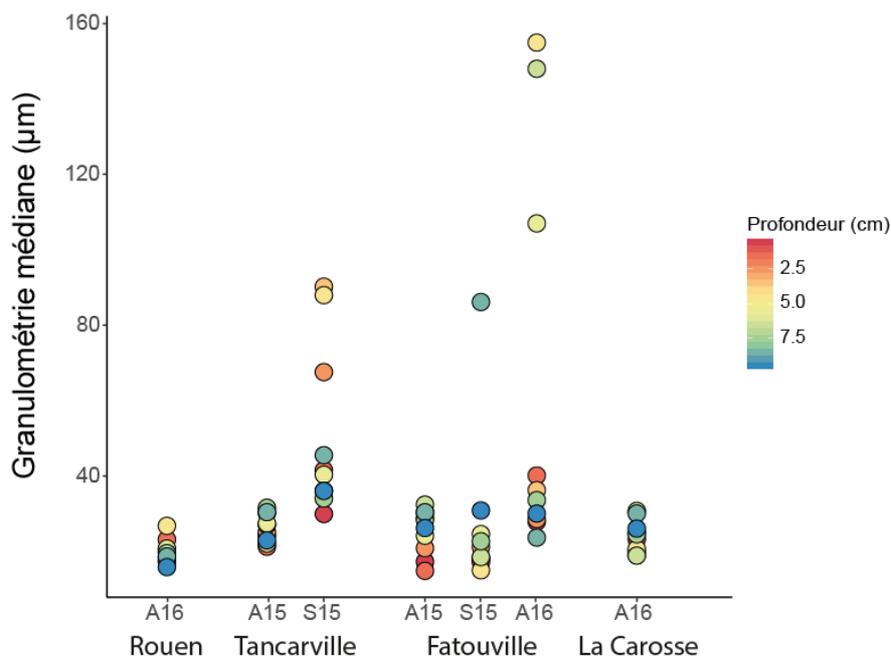


Figure 62 : Evolution de la granulométrie médiane des sédiments en fonction de la profondeur dans l'ensemble des carottes de sédiment prélevées dans l'estuaire de Seine.

La teneur en carbone organique (Corg) varie en fonction de la granulométrie des sédiments de l'estuaire de Seine (Figure 63). Les sédiments fins (entre 25 et 50 μm) ont des teneurs en carbone très variables, allant de 1 à 8%. A l'inverse, les sédiments grossiers ($> 50 \mu\text{m}$) ont des teneurs en carbone similaires, inférieures à 0,5%.

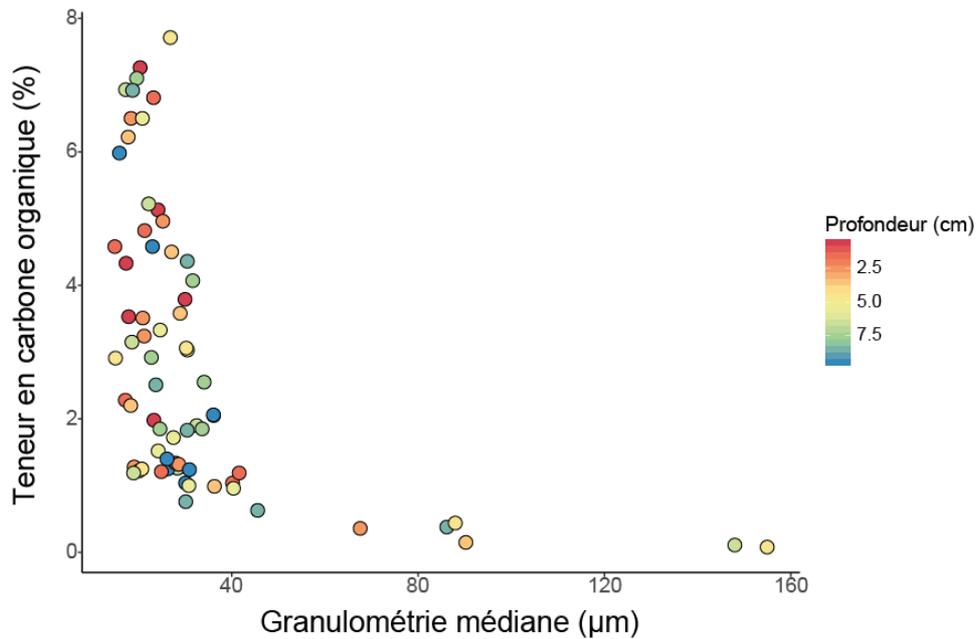


Figure 63 : Lien entre le Corg et la granulométrie médiane dans l'ensemble des sédiments de l'estuaire de Seine à toutes les profondeurs.

D'après les datations ^{14}C (3.2.3), la MO est en général plus récente en surface (0-1 cm) qu'en profondeur (9-10 cm) dans les carottes de sédiments excepté pour la carotte de Fatouville prélevée en avril 2016 où l'inverse est observé et pour celle de Rouen où l'âge de la MO est récent sur toutes les profondeurs (Tableau 9). Ceci peut témoigner soit (i) d'un dépôt de MO récente en surface des sédiments qui va se dégrader au cours du temps ou (ii) d'une production de MO récente directement dans les sédiments de surface. L'âge du sédiment dans la tranche intermédiaire est, selon la carotte, plus vieux ou plus récent qu'en profondeur (Tableau 9) ce qui peut être lié à des phénomènes de resuspension des sédiments ou bien de bioturbation.

Tableau 9 : Age de la MO exprimé en AD obtenus par datation au ¹⁴C pour les sédiments 0-1 cm, 5-6 cm et 9-10 cm dans l'estuaire de Seine. R = Rouen, T = Tancarville, F = Fatouville, LC = La Carosse. A15 = Avril 2015, S15 = Septembre 2015 et A16 = Avril 2016.

	FA15	TA15	FS15	TS15	RA16	FA16	LCA16
0-1 cm	> 1950	> 1950	1436 ± 18	1371 ± 21	> 1950	1335 ± 36	> 1950
5-6 cm	1868 ± 58	1755 ± 30	1254 ± 30	1412 ± 20	> 1950	NA	1241 ± 35
9-10 cm	1467 ± 31	1893 ± 26	1018 ± 31	1099 ± 64	> 1950	1644 ± 21	1846 ± 46

De plus, la teneur en oxygène dans le premier cm des carottes a été mesurée. Cette analyse a montré que seulement les premiers millimètres sont oxygénés, le reste de la carotte étant anoxique (Huguet et al., 2018). Cela va alors influencer les processus biogéochimiques dans les sédiments, notamment en changeant les conditions redox mais également le cortège microbien.

La concentration totale en lipides a été calculée à partir des extrait lipidiques et normalisée par rapport à la teneur en carbone organique. Une tendance à l'augmentation de la concentration est observée vers l'aval, notamment sur le site de La Carosse (Figure 64). Les fortes teneurs en lipides dans les algues (Sargent and Falk-Petersen, 1988) pourrait expliquer les plus grandes concentrations en lipides sur le site de La Carosse. Un tel enrichissement en lipide a été observé dans les MOP de l'estuaire du Delaware (Harvey and Mannino, 2001)

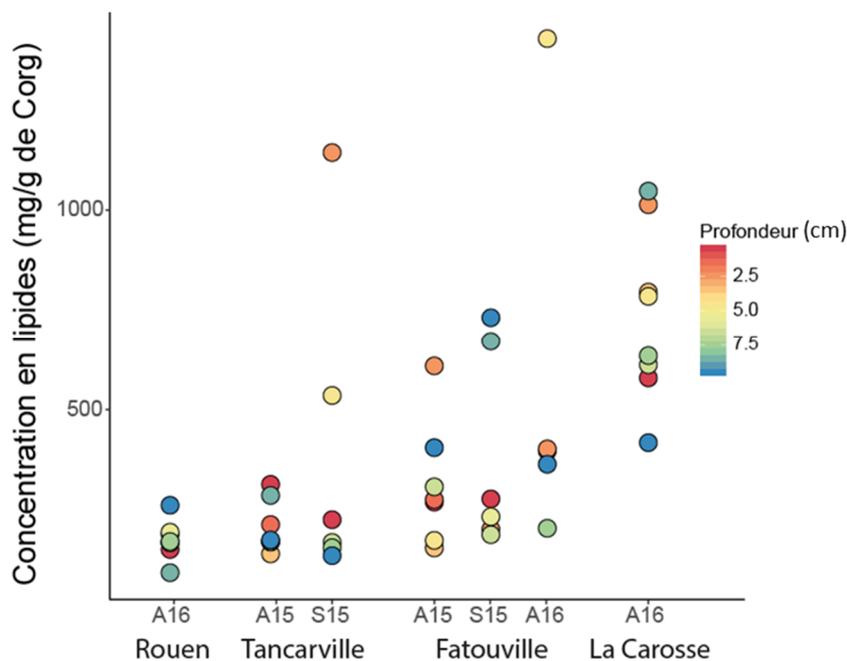


Figure 64 : Evolution de la concentration en lipides exprimée en mg par g de carbone organique dans les sédiments de l'estuaire de Seine.

Sur ces carottes de sédiment, l'évolution de plusieurs familles de molécules ont été analysés : les molécules aliphatiques (*n*-alcanes, alcools, acides gras) les stérols et stanols ainsi que les tétraéthers de glycérol. Ces biomarqueurs vont permettre de caractériser les sources de la MO, mais également d'analyser la dynamique de la MO sédimentaire dans l'estuaire de Seine.

4.2.2 Les molécules aliphatiques

L'analyse des fractions apolaire en GC-MS a montré qu'elles étaient dominées par une série de *n*-alcanes (Figure 65). Comme mentionné en 1.5.2, les alcanes font partie des lipides les plus communs produits par les plantes terrestres, aquatiques et par les planctons (Eglinton and Hamilton, 1967; Gelpi et al., 1970; Ficken et al., 2000). Leur longueur de chaîne diffère en fonction des organismes producteurs, permettant d'utiliser leur distribution pour distinguer les différentes sources de la MO. Des *n*-alcanes avec une longueur de chaîne comprise entre 16 et 38 atomes de carbones ont été détectés dans l'ensemble des sédiments de l'estuaire de Seine.

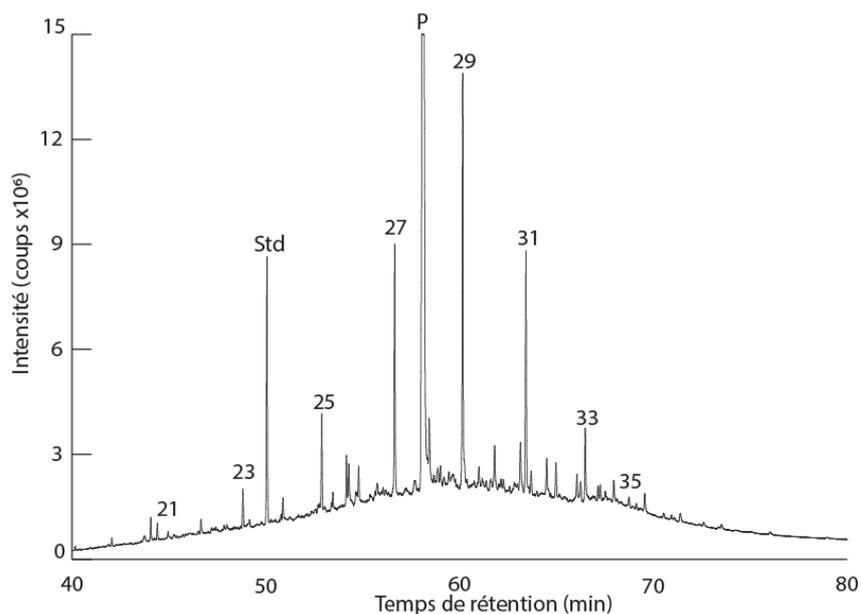


Figure 65 : Chromatogramme de la fraction apolaire de l'échantillon prélevé à Rouen (0-1cm) en avril 2016. Les nombres représentent la longueur de chaîne des *n*-alcanes, Std représente le standard (tétracosane deutéré) et P un polluant (Erucylamide).

La quantité totale de *n*-alcanes exprimée en $\mu\text{g/g}$ de sédiment sec diminue tout le long de l'estuaire, avec des concentrations de l'ordre de 25 $\mu\text{g/g}$ de sédiment à Rouen, et des concentrations inférieures à 5 $\mu\text{g/g}$ de sédiment à La Carosse (Figure 66). Ces concentrations sont similaires à celles observées dans de nombreux estuaires (Jaffé et al., 2001; Xu et al.,

2006; Ahad et al., 2011; Ankit et al., 2017). Cette diminution pourrait être due à la dégradation de ces biomarqueurs le long de l'estuaire, mais aussi à leur dilution lors de leur transfert vers le milieu océanique. Aucune variabilité verticale ou saisonnière de la concentration en *n*-alcanes n'est observée dans les sédiments de l'estuaire de Seine (Figure 66).

La quantité de *n*-alcanes exprimée en $\mu\text{g/g}$ de sédiment est fortement corrélée à la teneur en carbone organique ($\rho = 0,87$, $p_{\text{val}} < 0,01$). Afin de tenir compte de la différence de teneur en C_{org} entre les sédiments, il est donc nécessaire de normaliser les concentrations en *n*-alcanes par rapport à celles en C_{org} .

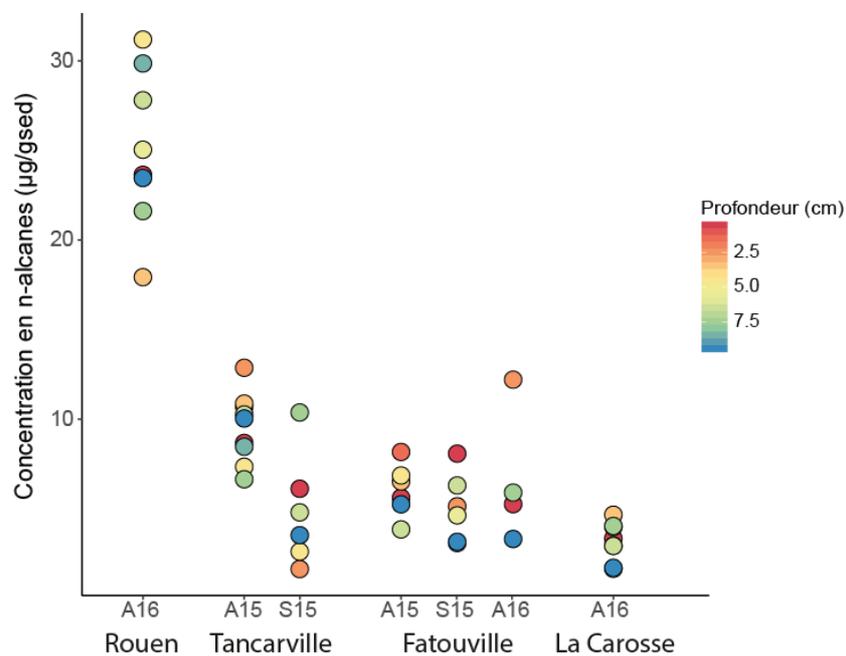


Figure 66 : Evolution de la quantité de *n*-alcanes dans les sédiments dans les différentes carottes, en fonction de la profondeur. A15 = Avril 2015, S15 = Septembre 2015 et A16 = Avril 2016.

Les concentrations totales en *n*-alcanes normalisées par rapport à la teneur en carbone organique sont comprises pour la plupart des échantillons entre 150 et 400 $\mu\text{g/gC}_{\text{org}}$ (Figure 67). Toutefois, 3 échantillons présentent des teneurs en *n*-alcanes bien plus importantes ($> 800 \mu\text{g/gC}_{\text{org}}$) atteignant 925 $\mu\text{g/gC}_{\text{org}}$ (Figure 67). Deux de ces échantillons ont été prélevés à Fatouville en avril 2016 et ils sont localisés avant et après un niveau plus sableux. Le dernier échantillon est localisé dans un niveau plus sableux de la carotte de Fatouville prélevée en septembre 2015. Nous avons donc cherché à voir si un lien existait entre la granulométrie des sédiments et leur concentration en *n*-alcanes d'autant plus qu'une telle relation entre granulométrie et concentration en *n*-alcanes normalisée au carbone organique a été

rapportée dans des MOP de rivière jaune (Zhang et al., 2009). Quand on considère l'ensemble des sédiments analysés, la corrélation entre granulométrie et concentration en *n*-alcanes est faible pour l'ensemble des sédiments ($p = 0,14$, $p = 0,35$) et les observations précédentes ne peuvent pas être généralisées à l'ensemble des échantillons. Cependant, il faut noter que les sédiments les plus grossiers sont les plus pauvres en Corg (< 0,5% ; Figure 63) et que les fortes teneurs en alcanes peuvent être liées à la combinaison d'un effet mathématique couplé à une incertitude plus importante sur les mesures lorsque les valeurs de Corg sont faibles. En effet, une faible variation de la concentration en Corg lorsqu'elle est faible peut entraîner une forte variation de la concentration des *n*-alcanes normalisée (forme hyperbolique de la relation entre les deux).

Aucune tendance des concentrations en *n*-alcanes n'a été observée ni avec la saison, ni avec la profondeur, ni avec la position dans l'estuaire (Figure 67).

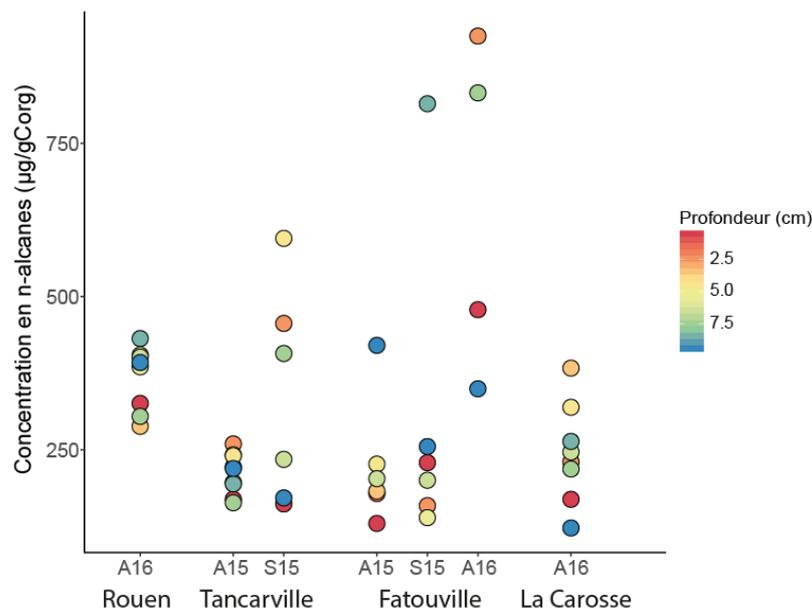


Figure 67 : Evolution de la concentration en *n*-alcanes (exprimée en $\mu\text{g/gCorg}$) le long de l'estuaire de Seine pour les différentes carottes de sédiment.

L'analyse statistique des distributions des *n*-alcanes par classification ascendante hiérarchique a permis d'identifier 5 grandes distributions de ces composés :

- La distribution A est la plus abondante (16 échantillons). C'est une distribution unimodale dominée par l'homologue en C_{29} , avec une forte prédominance des composés à chaînes impaires (Figure 68). Cette distribution de *n*-alcanes est typique

de celle des cires épicuticulaire des végétaux terrestres (Eglinton and Hamilton, 1967) et est retrouvée classiquement dans les estuaires (Jaffé et al., 2001; Xu et al., 2006).

- La distribution C (12 échantillons). C'est une distribution unimodale dominée par l'homologue en C₂₉ avec une forte prédominance pour les composés à chaînes impaires. Cette distribution ne diffère que légèrement de la distribution A avec toutefois des proportions en *n*-alcanes à chaînes courtes et intermédiaires plus importantes. Cette distribution pourrait témoigner d'une production des *n*-alcanes principalement par des végétaux terrestres, avec une faible contribution de ces composés issus des microorganismes et/ou algues.
- La distribution E (9 échantillons). C'est une distribution unimodale dominée par l'homologue en C₂₆. Si l'on excepte ce composé, la distribution est dominée par les homologues à chaînes impaires (Figure 68). Cette distribution se caractérise également par une quasi-absence des composés à très longues chaînes (> C₃₁). Cette distribution particulière semble indiquer une source différente des *n*-alcanes dans ces échantillons. L'origine du *n*-alcane en C₂₆ est cependant encore inconnue à ce jour.
- La distribution B (8 échantillons) est proche de la distribution A dont elle diffère essentiellement par une plus forte abondance du *n*-alcane en C₂₇ (Figure 68).
- La distribution D est très particulière est n'est présente que dans un seul échantillon (Tancarville 4-5 cm Sept 2015). C'est une distribution trimodale basée sur les homologues en C₁₉, C₂₉ et C₃₅ (Figure 68). Cette dernière pourrait résulter d'un mélange de *n*-alcanes produits par des végétaux terrestres, par des algues et par une source biosynthétisant des homologues à très longues chaînes sans prédominance paire/impair. Cette source pourrait être un végétal terrestre ou aquatique spécifique.

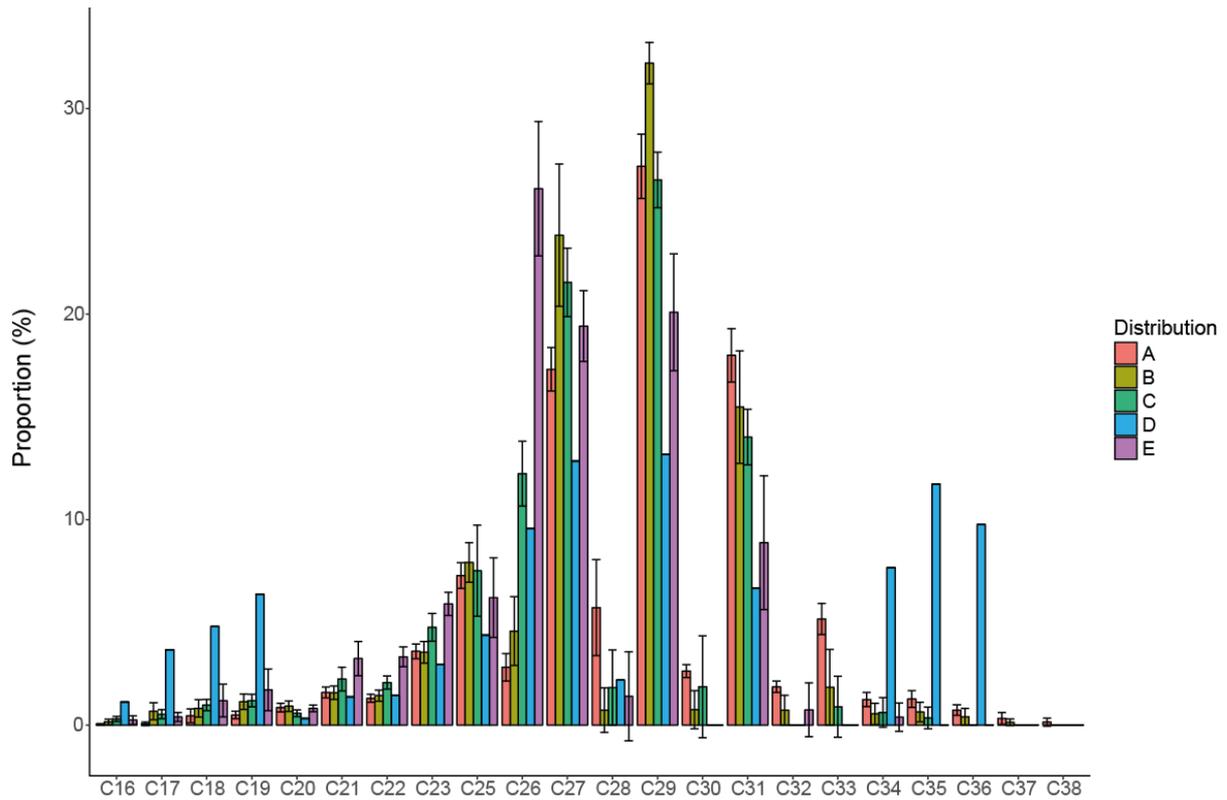


Figure 68 : Proportions moyennes et écarts types des 5 distributions de *n*-alcanes observées dans les sédiments de l'estuaire de Seine.

Au final, les *n*-alcanes à longues chaînes issus des végétaux terrestres dominent l'ensemble des distributions.

Les fractions polaires présentent une plus grande diversité moléculaire que les fractions apolaires. Parmi les composés aliphatiques, les alcools et les acides gras prédominent (Figure 69).

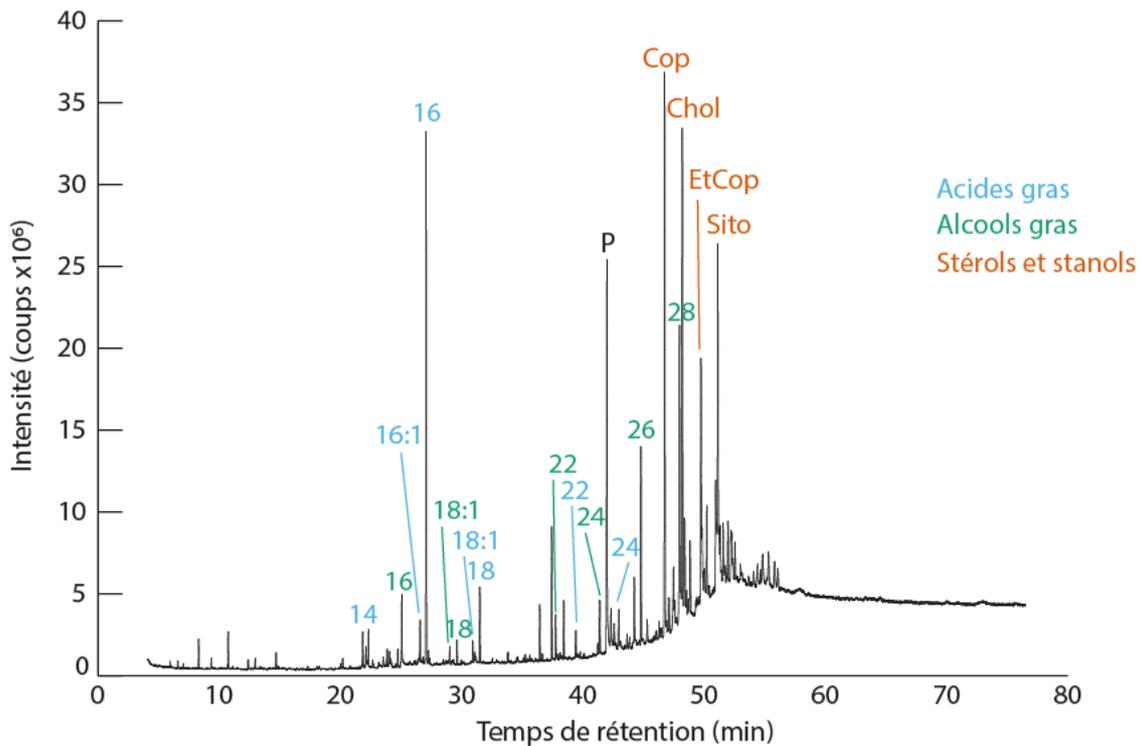


Figure 69 : Chromatogramme de la fraction polaire du sédiment de surface (0-1 cm) prélevé à Rouen en avril 2016. Les nombres en bleu représentent la longueur de chaîne des acides gras, ceux en vert celle des alcools et ceux en orange les stérols et stanols. Cop = Coprostanol, Chol = Cholestérol, EtCop = éthylCoprostanol, Sito = Sitostérol et P = polluant (Erucylamide).

Tout comme les *n*-alcanes, la longueur de chaînes des *n*-alcools varie en fonction de la source des composés. Des alcools linéaires avec des longueurs de chaîne comprises entre 14 et 30 carbones ont été détectés dans l'ensemble des échantillons de l'estuaire de Seine. Après analyse statistique, 3 types de distributions ont été distingués :

- La distribution A (27 échantillons) est bimodale, avec un maximum en C₂₆ et un deuxième mode moins abondant en C₂₂. Cette distribution reflète une production des alcools par des végétaux terrestres (Cranwell, 1981). L'alcool C₂₂ témoigne de la décomposition de la MO par des microorganismes dans les sédiments (Cranwell, 1981), et a été également observé dans des sédiments côtiers (Jaffé et al., 2001).
- La distribution B (16 échantillons) est dominée par l'homologue en C₂₈ témoignant d'une source majoritairement terrigène de la MO. Toutefois, la présence d'alcools en C₁₆ et C₁₈ en proportion plus importante que dans la distribution A pourrait suggérer d'un apport d'alcools provenant d'algues (Cranwell, 1982).

- La distribution C (7 échantillons) est proche de la distribution B, avec toutefois une plus forte abondance des alcools en C₁₆ ce qui témoigne d'un apport d'alcools produits par les algues et une forte diminution du C₂₆.

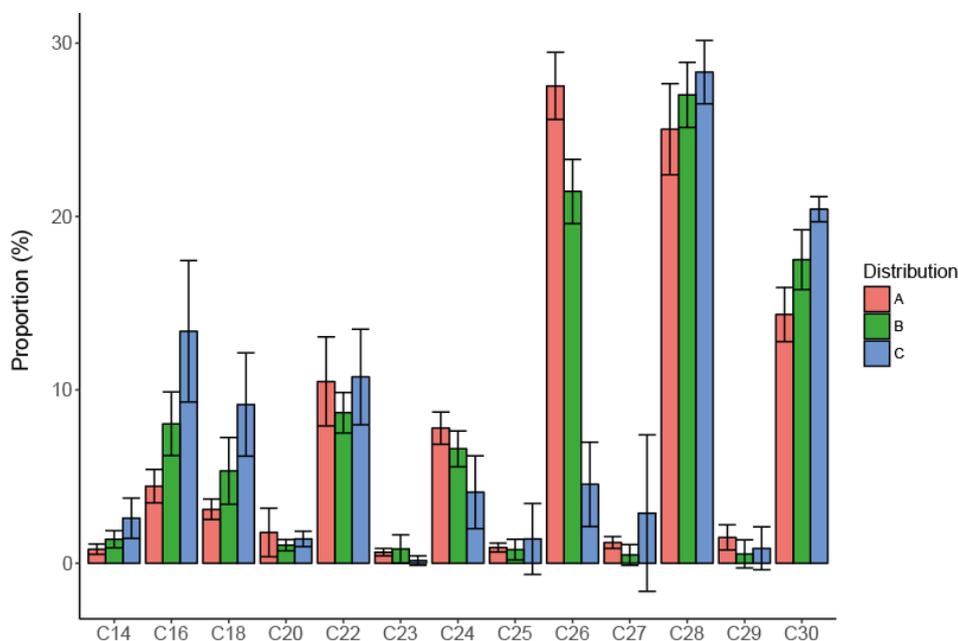


Figure 70 : Proportions moyennes et écarts types des 3 distributions d'alcools observées dans les sédiments de l'estuaire de Seine.

Outre les alcools, une série de 18 acides gras (ou AG) a été identifiée dans la fraction polaire de l'ensemble des échantillons de l'estuaire de Seine. Les acides gras ont des longueurs de chaîne comprises entre 12 et 24 carbones, plus courtes que celles des *n*-alcanes et des alcools. Les AG sont donc principalement issus des algues et/ou bactéries (Meyers, 2003). Les homologues à 15 et 17 C possèdent également des isomères ramifiés en position *iso* (groupement méthyle sur l'avant dernier carbone) et en position *anteiso* (groupement méthyle sur l'antépénultième carbone). Ces composés témoignent de la présence d'une activité bactérienne dans les sédiments (Volkman et al., 1998). Enfin, 5 AG insaturés ont pu être détectés, 3 en C₁₆ et 2 en C₁₈. L'analyse statistique a permis de distinguer 3 grandes distributions :

- Les distributions A (23 échantillons) et B (25 échantillons) sont très proches. Elles sont dominées par le C₁₆ et le C₁₈ avec peu de longues chaînes. La distribution B diffère de la A par des proportions en acide gras en C₁₈ légèrement plus importantes. L'absence

de chaînes longues dans ces distributions suggère une source des acides gras plutôt microbienne et/ou algale.

- La distribution C (2 échantillons, ne correspondant pas à l'échantillon qui a la distribution D des *n*-alcanes) est radicalement différente des deux autres. Elle est dominée par l'homologue en C₁₈, alors que celui en C₁₆ est présent en très faible quantité.

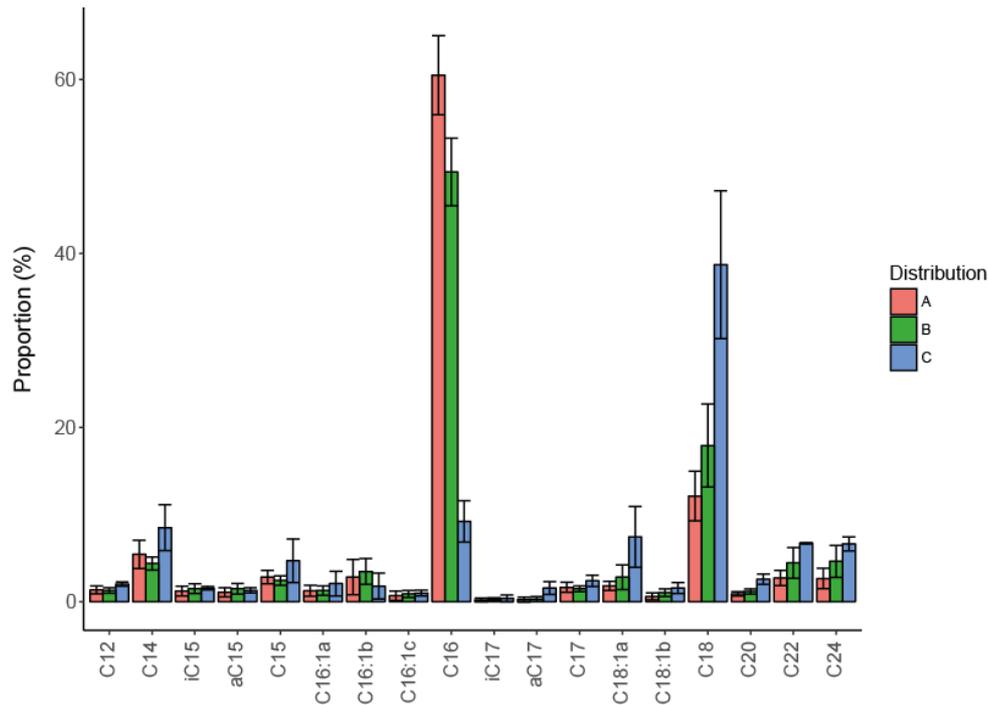


Figure 71 : Proportions moyennes et écarts types des 3 distributions d'alcools observées dans les sédiments de l'estuaire de Seine.

Dans la plupart des échantillons, la distribution des AG est donc fortement dominée par l'homologue saturé en C₁₆, très abondant car présent dans tous les organismes (Volkman et al., 1998). L'absence d'acides gras à longues chaînes (>C₂₆) témoigne d'un apport majoritaire d'acides gras provenant d'algues ou de bactéries (Meyers, 2003).

Ainsi, l'analyse des distributions des molécules aliphatiques témoignent de sources diverses de la MO dans les sédiments de l'estuaire de Seine. Chaque biomarqueur est le reflet de différentes sources : les *n*-alcanes semblent provenir en majorité des végétaux terrestres, les acides gras des algues et les alcools d'un mélange des deux.

L'analyse multivariée des distributions des *n*-alcane, acides gras et alcools a été réalisée par une analyse des composantes multiples (ACM). Cette dernière ne montre pas de lien entre les différentes distributions des molécules aliphatiques. Ainsi, les abondances relatives des différentes familles de molécules aliphatiques semblent indépendantes les unes des autres et semblent donc provenir d'une source différente.

Pour permettre une meilleure interprétation des sources et du devenir des molécules aliphatiques le long de l'estuaire de Seine et pour mettre en évidence d'éventuelles variations spatiale ou temporelle, différents indices ont été calculés à partir de leur distribution (voir 1.5.2) : la longueur de chaîne moyenne (ACL), la proportion de molécules terrigènes et aquatiques (TAR), l'indice de proportion des plantes submergées (Paq, seulement sur les *n*-alcane) et l'indice de préservation des molécules aliphatiques (CPI).

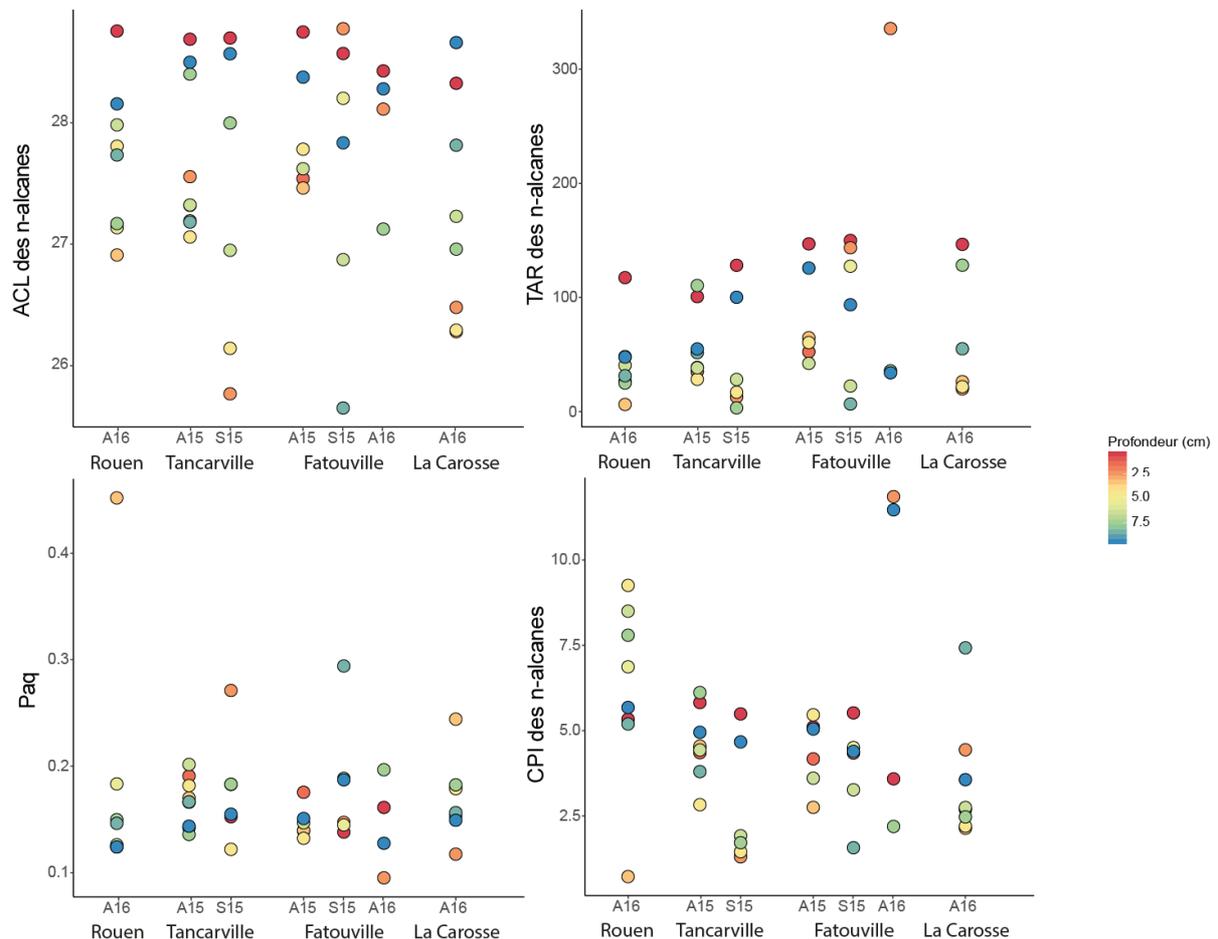


Figure 72 : Variation de l'ACL, du TAR, de la CPI du Paq des *n*-alcane en fonction de la profondeur et de la position dans l'estuaire de Seine.

L'ACL et le TAR des *n*-alcanes sont élevés, respectivement > 26 et > 3 et le Paq est faible (< 0,2 ; Figure 72). L'ensemble de ces indices confirment la source terrigène des *n*-alcanes. Pour les acides gras, l'ACL et le TAR sont faibles (respectivement < 18 et < 1,5 ; Figure 74) ce qui confirme également leur origine algale. Pour les alcools, l'ACL est également forte (> 24,5) ce qui témoigne d'une prédominance pour les alcools produits par les végétaux terrestres (Figure 73). L'ACL des alcools est légèrement corrélé à l'ACL des *n*-alcanes ($\rho = 0,39$, $p < 0,01$) ce qui témoigne d'un comportement proche de ces deux familles de molécules aliphatiques. Toutefois, le TAR des alcools est plus faible que celui des *n*-alcanes (entre 2 et 6 ; Figure 73) ce qui pourrait témoigner d'une origine plus mixte des alcools.

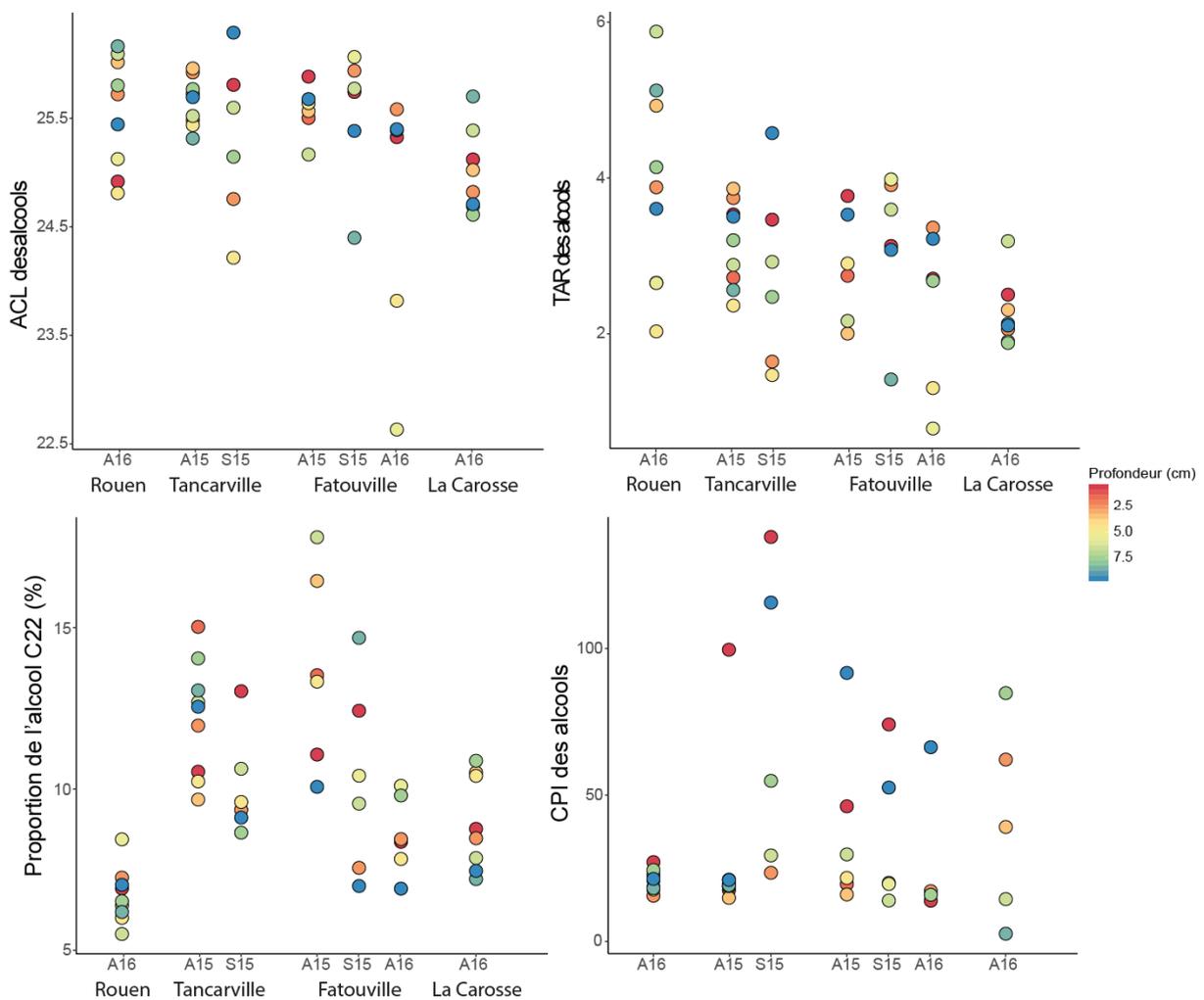


Figure 73 : Variation de l'ACL, du TAR, de la CPI des alcools et de la proportion en alcools C₂₂ en fonction de la profondeur et de la position dans l'estuaire de Seine.

Les valeurs les plus faibles de l'ACL des *n*-alcanes sont obtenues pour les échantillons les plus superficiels (0-1 cm) et les plus profonds (9-10 cm ; Figure 72). Les valeurs plus faibles de l'ACL

des *n*-alcanes sont principalement liées à la quantité importante de l'homologue en C₂₆ ($\rho = -0,89$, $pval < 0,01$) dont la source précise n'est pas encore connue dans l'estuaire de Seine (cf. discussion ci-dessus). L'ACL des *n*-alcanes montre également de fortes variations au sein même d'une carotte, montrant une rapide variation des sources des *n*-alcanes au cours du temps ou des phénomènes de dégradation/bioturbations pouvant mélanger le sédiment (Figure 72). De plus, les valeurs les plus faibles du TAR des acides gras sont généralement observées en surface, témoignant d'une proportion plus importante d'acides gras d'origine aquatique en surface des sédiments (Figure 74). Ces derniers seraient alors dégradés préférentiellement le long des carottes, conduisant à une augmentation du TAR.

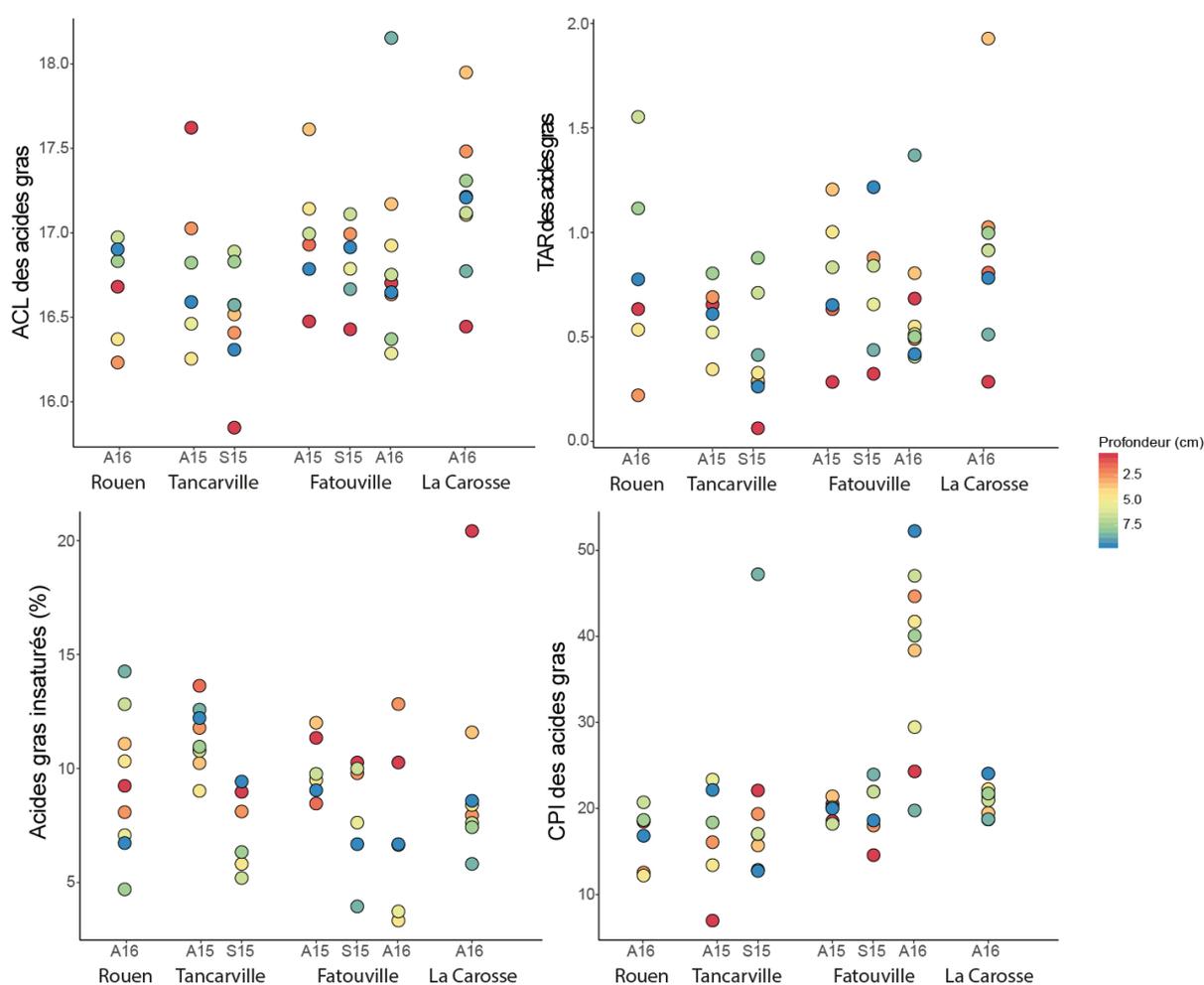


Figure 74 : Variation de l'ACL, du TAR, de la CPI des acides gras et de la proportion en acides gras insaturés en fonction de la profondeur et de la position dans l'estuaire de Seine.

Dans la carotte de Rouen, la majorité des échantillons présente des valeurs de CPI des *n*-alcanes supérieurs à 5 (Figure 72). Les fortes valeurs de CPI, de l'ACL et du TAR confirment donc l'origine peu dégradée des *n*-alcanes terrigènes à Rouen. Dans les autres sites, le CPI a

des valeurs plus faibles, en général < 5 , ainsi, les *n*-alcane sont plus dégradés ou bien issus d'une contamination des échantillons avec des hydrocarbures ou de la MO bactérienne (Figure 72).

Pour résumer, la dynamique des molécules aliphatiques dans les sédiments de l'estuaire de Seine est complexe de par leurs origines différentes. Ceci est en accord avec la littérature. En effet, les cires épicuticulaires des végétaux terrestres sont enrichies en *n*-alcane et appauvries en alcools et en acides gras (Hadley, 1981) à l'inverse des microalgues, où les acides gras sont largement dominants par rapport aux *n*-alcane (Volkman et al., 1989). Toutefois, il semblerait que les acides gras déposée en surface des sédiments soient plus labiles, et plus aquatiques, et que ces derniers soient rapidement dégradés en profondeur. Les acides gras étant principalement produit en majorité par des algues (Volkman et al., 1989), ils résultent donc d'un apport plus important de MO aquatique en surface des sédiments, notamment vers l'aval. Ces résultats devront toutefois être confirmés après quantification de la masse totale des acides gras dans les sédiments.

Il semble nécessaire d'utiliser d'autres biomarqueurs comme les stérols et les stanols, dont les sources sont mieux définies, pour mieux préciser la dynamique de la MO dans l'estuaire de Seine.

4.2.3 Les stérols et stanols

Les stérols et stanols ont été analysés dans l'ensemble des sédiments (Figure 69), mais également dans deux échantillons de MOP prélevés à Rouen en avril 2016 et à La Carosse en juillet 2015. Le nombre d'atomes de carbone des stérols est compris entre C_{27} et C_{30} dans la MOP et C_{27} et C_{29} dans le sédiment. La distribution des stérols dans les sédiments des 4 sites est présentée en Figure 75. Dans l'ensemble des échantillons, le sitostérol et le cholestérol sont très abondants (Figure 75). Il en est de même pour le coprostanol à Rouen (Figure 75). Au total, 6 stanols (coprostanol, epicoprostanol, cholestanol, ethyl-coprostanol, campestanol, sitostanol) et 9 stérols (Cholesta-dien-ol, cholestérol, methyl-cholestérol, brassicatérol, 24-methylcholesta-5,24(28)-dien-3 β -ol, campestérol, stigmastérol, sitostérol, dinostérol) ont été identifiés dans les sédiments de la Seine.

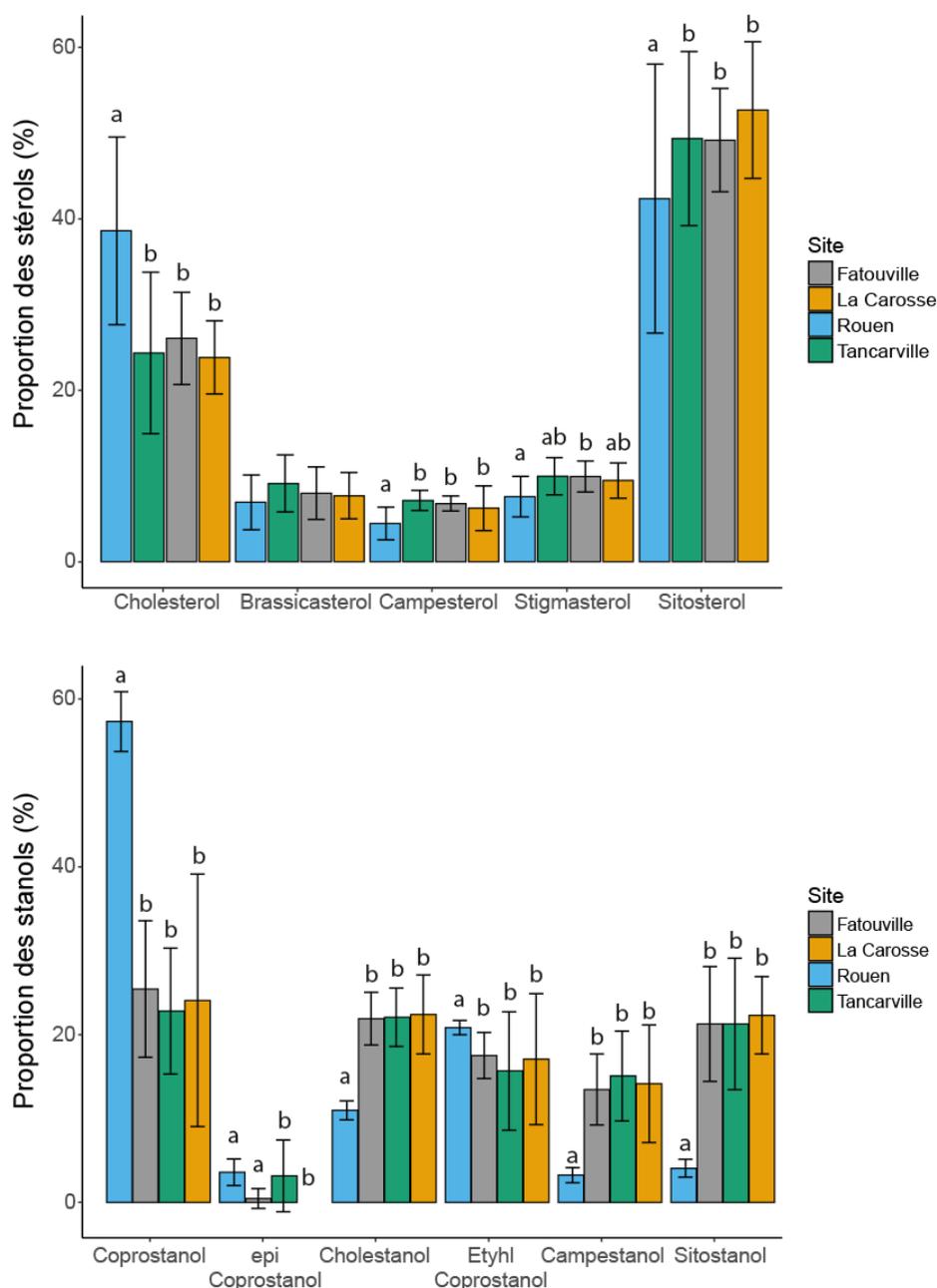


Figure 75 : Distribution moyenne et écart type des stérols (haut) et des stanols (bas) dans l'ensemble des carottes pour chaque site de prélèvement. Les données présentées sont la moyenne des différentes carottes et profondeurs.

Les résultats liés aux stérols puis aux stanols seront abordés successivement. Les stérols ont de nombreuses sources possibles. Les stérols en C₂₇ sont particulièrement abondants au sein du zooplancton (Volkman, 1986) et témoigneraient donc de la présence de ce type d'organismes dans l'estuaire de Seine, en accord avec les études qui y ont été menées précédemment (Dauvin and Desroy, 2005; Devreker et al., 2008). Les stérols en C₂₉ sont issus des végétaux supérieurs (Volkman, 1986). Le sitostérol est en particulier l'un des stérols les

plus abondants dans le MO sédimentaire et confirme les apports terrigènes importants dans l'estuaire de Seine également observés à partir de l'analyse des *n*-alcane et alcools. Enfin, la présence de stérols en C₂₈ confirme qu'une portion de la MO est produite par du phytoplancton (Xu et al., 2006). Le brassicastérol et le 24-methylcholesta-5,24(28)-dien-3β-ol témoignent eux d'une source algale de la MO, notamment les diatomées (Volkman, 1986; Volkman et al., 1998). Ces dernières sont très abondantes dans l'estuaire de Seine (Garnier et al., 1995), expliquant la présence de ce stérol dans les sédiments. Enfin, la présence de dinostérol suggère qu'une partie de la MO est produite par des dinoflagellés (Volkman, 1986; Volkman et al., 1993; Philips and Badylak, 1996), qui ont également été détectées dans l'estuaire de Seine, mais dans une quantité moindre que les diatomées (Cugier et al., 2005).

La proportion du stérol C₂₇ (cholestérol) est plus élevée dans la carotte de Rouen que dans les autres. Ainsi, en amont, les stérols semblent majoritairement d'origine zooplanctonique et/ou phytoplanctonique (Volkman, 1986), le cholestérol pouvant cependant également témoigner d'apports de MO issue des stations d'épuration (Stackelberg et al., 2004). Toutefois, l'utilisation seule du cholestérol ne permet pas d'en déterminer son origine. A l'inverse, l'abondance relative des stérols en C₂₉, issus des végétaux terrestres, est plus élevée à l'aval qu'à l'amont. Ceci témoigne d'apports majoritaires en stérols d'origine terrigène à l'aval, même si le sitostérol peut également être produit par des algues marines (Jaffé et al., 2001; Derrien et al., 2017).

Les stérols en C₂₇ ont tendance à être plus abondants en surface des carottes, à l'inverse des stérols en C₂₉, témoignant d'un enrichissement progressif en stérols issus des végétaux supérieurs avec la profondeur (Figure 76), tout comme le suggéraient les acides gras. Un enrichissement en stérols en C₂₉ avec la profondeur a déjà été observé dans des carottes sédimentaires lacustres (Gaskell and Eglinton, 1976). Ce résultat est en accord avec les observations effectuées à partir des autres biomarqueurs lipidiques aliphatiques, i.e. un enrichissement en MO aquatique en surface du sédiment, et en MO terrigène en profondeur (4.2.2).

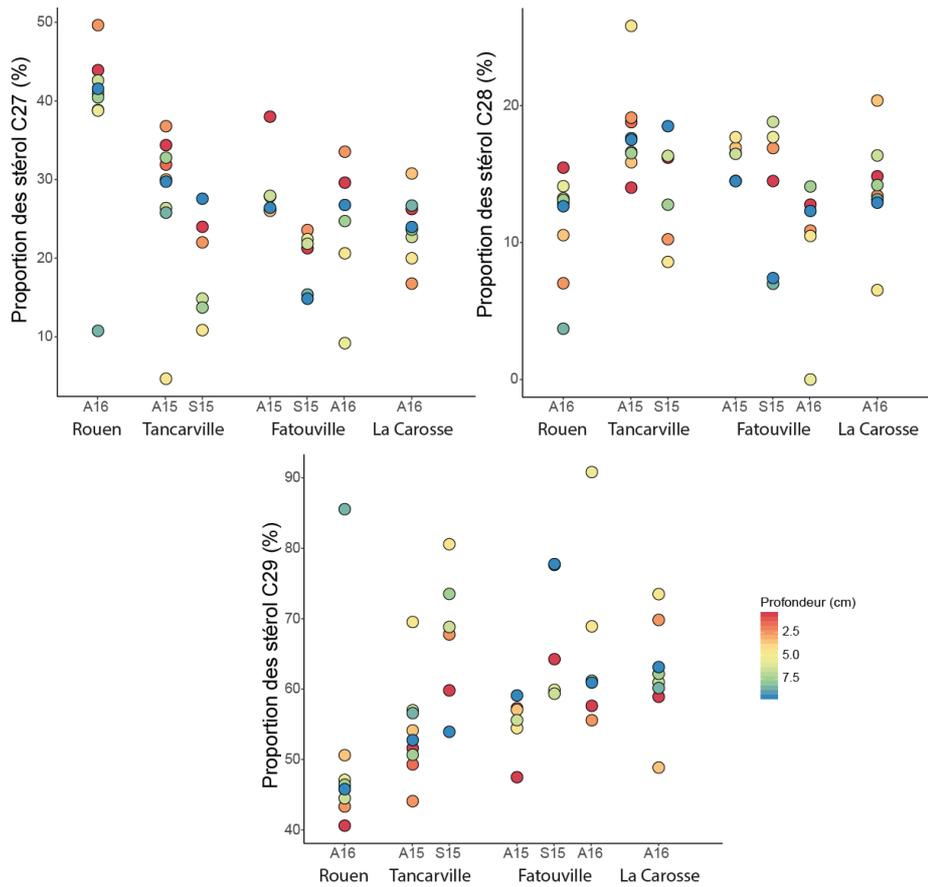


Figure 76 : Evolution des proportions en stérols C₂₇, C₂₈ et C₂₉ exprimé en % du total des stérols le long de l'estuaire pour les différentes carottes de sédiment.

Afin de mieux différencier les sources des stérols et notamment l'origine potentielle du cholestérol, il est nécessaire de s'intéresser aux produits de dégradation de ces derniers : les stanols. L'isomérisation de ces derniers permet de différencier des processus de dégradation différents, et donc de mieux distinguer les sources possibles des stérols. Les 5 α -stanols sont en effet produits par dégradation microbienne des 5 α -stérols correspondants (Murtaugh and Bunch, 1967) alors que les 5 β -stanols sont produits lors de la digestion dans les organismes (Leeming et al., 1994). Les structures chimiques des stérols sont présentées dans le chapitre 1 (page 59). Ainsi, le 5 β -cholestan-3 β -ol ou coprostanol est produit principalement dans les intestins humains (Bull et al., 2002) et est rejeté dans l'environnement par les stations d'épuration (Stackelberg et al., 2004; Derrien et al., 2017). A l'inverse, le 24-éthyl-5 β -cholestan-3 β -ol, ou éthylcoprostanol, est plutôt produit dans les intestins d'animaux herbivores (Derrien et al., 2017).

Dans les carottes de sédiments de l'estuaire de Seine, les 5 β -stanols dominent à Rouen, alors que les 5 α -stanols prédominent dans les autres carottes (Figure 77). Ainsi, à Rouen, une part plus importante des stanols est issue de MO fécale, et provient en particulier des stations d'épuration comme révélé par la présence de coprostanol et d'épicoprostanol (Bull et al., 2002; Vane et al., 2010). Ce fort apport en MO fécale à Rouen pourrait également expliquer les teneurs élevées en cholestérol observées sur ce site. A l'inverse, dans les autres carottes, les stanols proviennent majoritairement de la dégradation des stérols par des microorganismes, probablement au sein des sédiments (Figure 77). De plus, les proportions en 5 α -stanols sont plus faibles dans les sédiments du bouchon vaseux prélevés en avril 2015 et 2016 (Figure 77). Ainsi, les stanols en avril dérivent plus de MO fécale, alors qu'en septembre, ces derniers sont issus de la dégradation microbienne. C'est également dans les sédiments de septembre que la MO est la plus ancienne (voir 4.2.1).

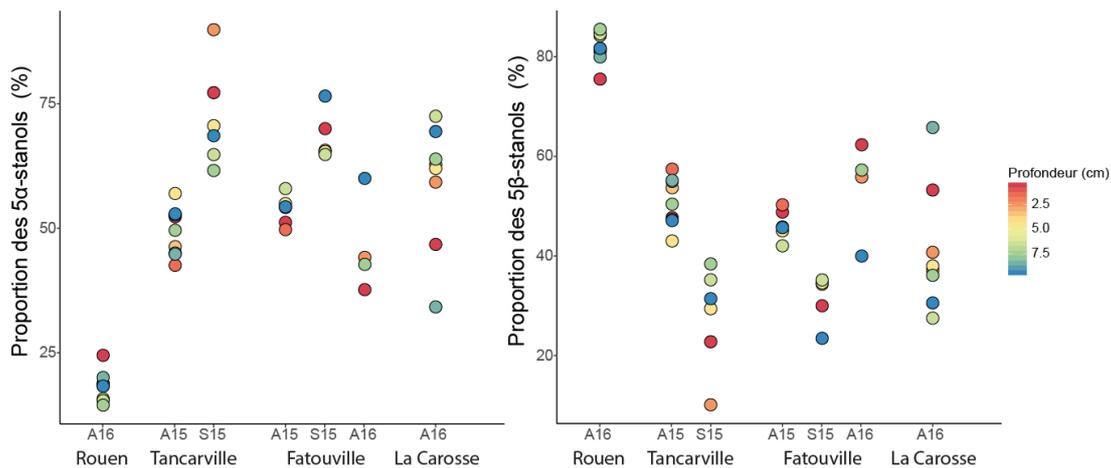


Figure 77 : Evolution des proportions en 5 α -stanols et 5 β -stanols exprimées en % du total des stanols dans l'ensemble des carottes de l'estuaire de Seine.

Au final, l'analyse conjointe des stérols et des stanols permet de distinguer à la fois les sources anthropique, algale, zooplanctonique et terrigène de la MO.

Afin d'aller plus loin dans l'étude de la distribution des stérols et stanols dans les différents échantillons, plusieurs rapports ont été calculés :

- D'une part, le rapport stérol/5 α -stano (pour les homologues en C₂₇, C₂₈ et C₂₉) qui diminue avec la dégradation des stérols par hydrogénation (Gaskell and Eglinton, 1976). Aucune différence significative de ce rapport n'a été observée le long de l'estuaire, et ce quelle que soit la longueur de chaîne des composés, ce qui montre une

production et une dégradation constante de ces derniers le long de l'estuaire de Seine (Figure 78). Toutefois, tous les rapports montrent des valeurs plus fortes dans les sédiments de surface (Figure 78). Ainsi, la dégradation microbienne des stérols semble avoir lieu au sein des carottes, lors de l'enfouissement des sédiments. De telles observations ont également été effectuées dans des sédiments lacustres (Ogura and Hanya, 1973; Gaskell and Eglinton, 1976).

- D'autre part, un rapport de contamination fécale humaine calculé en utilisant le rapport de la somme du coprostanol et de l'épicoprostanol sur la somme du coprostanol, de l'épicoprostanol et du cholestanol (Bull et al., 2002). Des valeurs de ce rapport supérieures à 0,7 témoignent d'un sédiment contaminé par des matières fécales humaines alors que des valeurs inférieures à 0,3 montrent un sédiment non contaminé (Bull et al., 2002). Ce rapport montre un sédiment très contaminé à Rouen, la contamination fécale diminuant ensuite à l'aval de l'estuaire. Il est probable que la présence de Paris et/ou de la station d'épuration de Rouen entraînent un panache de stérols fécaux qui vont se dégrader et se diluer dans l'estuaire.

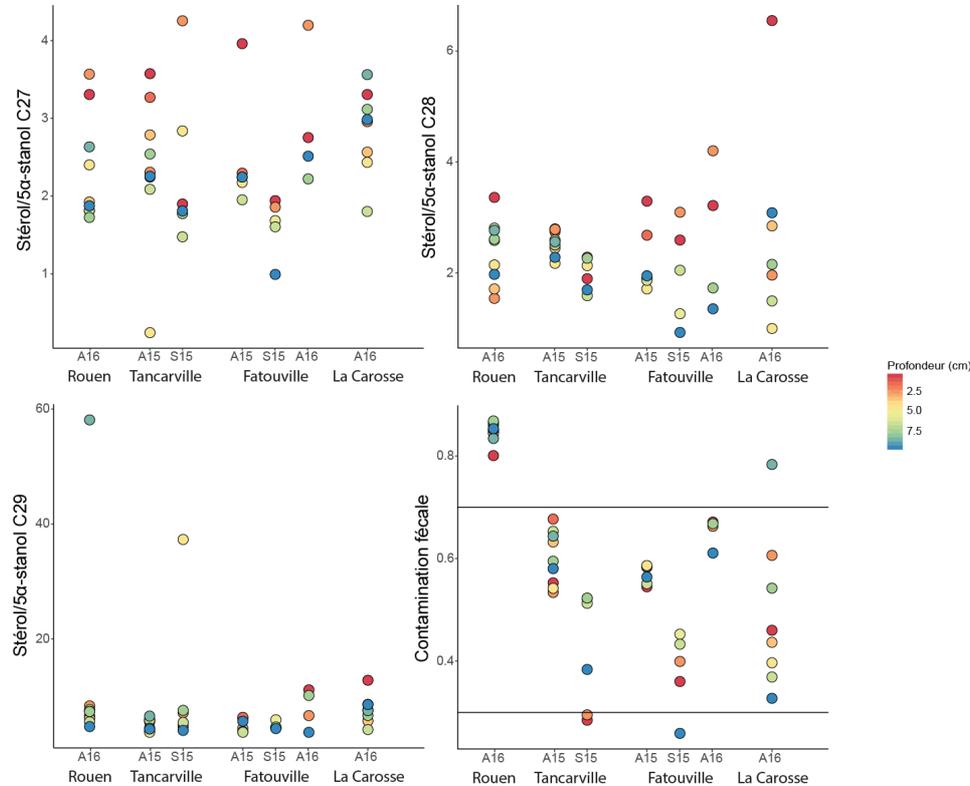


Figure 78 : Evolution le long de l'estuaire de Seine des rapports de dégradation microbienne des stérols et de la contamination fécale.

L'analyse qualitative de deux échantillons contrastés de MOP (Rouen à l'amont, prélevé en avril 2016 ; La Carosse à l'aval, prélevé en juillet 2015) a permis d'identifier de nouveaux stérols dans ces derniers. En effet, dans la MOP de La Carosse de juillet 2015, deux nouveaux stérols apparaissent : le 24-methylcholesta-5,24(28)-dien-3 β -ol et le dinostérol. Ces derniers sont produits respectivement des diatomées (Volkman, 1986; Volkman et al., 1998) et par les dinoflagellés. Ces deux stérols sont absents de la MOP prélevée à Rouen en avril 2016, montrant une contribution plus importante en MO issue du phytoplancton dans la MOP à l'aval de l'estuaire. Ce résultat est en accord avec les analyses de biomasses phytoplanctoniques dans l'estuaire de Seine, où un fort déficit de productivité primaire a été observé dans la zone amont de l'estuaire (étude en cours par Micky Tackx et Sami Souissi dans le cadre d'un projet du GIP Seine Aval). De plus, une analyse de la variabilité saisonnière des stérols et stanols pourrait être réalisée après une analyse des lipides de l'ensemble des MOP.

Une comparaison de l'abondance des stérols et stanols dans les sédiments et la MOP a également pu être initiée (Figure 79). Toutefois ces résultats sont encore préliminaires et doivent donc être interprétés avec précaution. Ainsi, à Rouen, les distributions des stanols et stérols dans la MOP et le sédiment sont similaires avec toutefois un enrichissement du sédiment en coprostanol et sitostérol, montrant une proportion de MO fécale et terrigène légèrement plus forte dans le sédiment que dans la colonne d'eau. Par contre, à La Carosse, la distribution des stérols et stanols est radicalement différente. Ainsi, le sédiment est dominé par le sitostérol, et donc par la MO terrigène, alors que la MOP est dominée par des stérols issus de la MO aquatique. Il y a donc un enrichissement plus important en MO terrigène dans les sédiments vers l'aval. Ainsi, dans la zone amont de l'estuaire, le sédiment semble plutôt représentatif de la colonne d'eau contrairement à la zone plus marine qui contient une MO plus terrigène que la colonne d'eau. Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus suite aux analyses globale et structurale de la MO présentées dans le chapitre précédent. Une telle différence entre MOP et MO sédimentaire a également été récemment démontrée dans l'estuaire de la rivière des Perles, avec un enrichissement en MO terrigène dans les sédiments (Guo et al., 2019). Ce découplage pourrait s'expliquer en partie par la dégradation de la MO aquatique, en général plus labile que la MO terrigène. Si ces hypothèses sont confirmées après analyse et quantification des stérols et stanols de la MOP, ceci pourrait confirmer l'intérêt

d'une analyse conjointe de la MOP et de la MO sédimentaire afin de mieux comprendre la dynamique de la MO dans les estuaires.

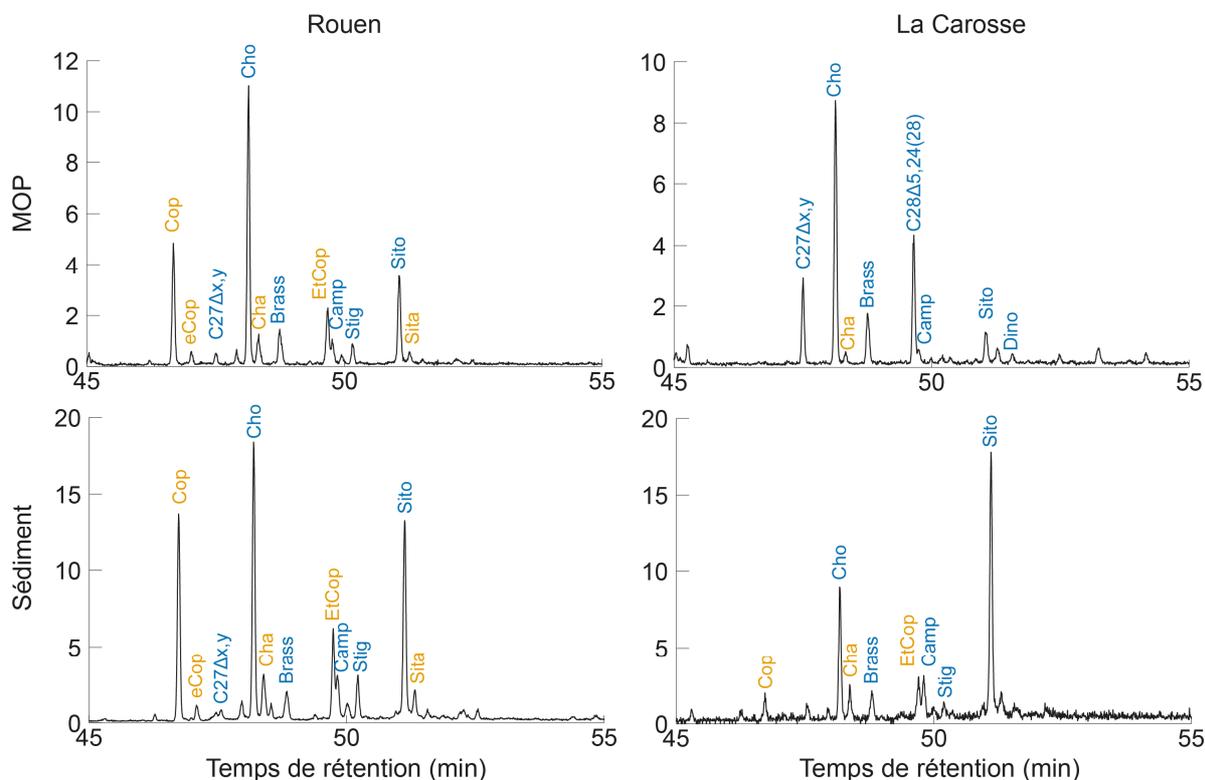


Figure 79 : Chromatogrammes des échantillons de MOP de Rouen (avril 2016) et de La Carosse (juillet 2015) et des sédiments de Rouen (0-1 cm ; avril 2016) et de La Carosse (0-1 cm ; avril 2016) après extraction des ions 129 et 215. Les stérols sont en bleu et les stanols en orange. Cop = coprostanol, eCop = epi-coprostanol, Cho = cholestérol, Cha = cholestanol, Brass = brassicastérol, EtCop = éthyl-coprostanol, Camp = campestérol, Stig = stigmastérol, Sito = sitostérol, Sita = sitostanol, Dino = dinostérol.

4.2.4 Les tétraéthers de glycérol

Afin de tracer les contributions relatives des archées et des bactéries dans la MO des sédiments de l'estuaire de Seine, une analyse des tétraéthers de glycérol a été menée.

Les tétraéthers de glycérol d'origine archéenne (6 composés ; I à VI, les structures sont présentées dans le chapitre 1 page 62) et bactérienne (VII à IX, les structures sont présentées dans le chapitre 1 page 62) ont été identifiés dans la fraction polaire de l'ensemble des échantillons de sédiment. La quantité totale en tétraéthers isopréniques est comprise entre 9,5 et 166,6 $\mu\text{g/gC}_{\text{Org}}$, avec une tendance globale à l'augmentation de Rouen vers La Carosse (Figure 80). Une tendance comparable (augmentation de la concentration en tétraéthers isopréniques de l'amont vers l'aval) a été observée dans les sédiments de l'estuaire des Perles

et de la rivière Jaune, causée par une production de MO par des Thaumarchées marine dans le milieu (Zhu et al., 2011; Wu et al., 2014). La quantité de tétraéthers ramifiés varie quant à elle 17,6 et 287,5 $\mu\text{g/gC}_{\text{Org}}$ et avec une tendance globale à la diminution le long de l'estuaire, si l'on excepte la carotte de sédiment prélevée à Fatouville en septembre 2015 (Figure 80). Aucune tendance des concentrations en tétraéthers avec la profondeur n'est observée dans l'ensemble des carottes (Figure 80).

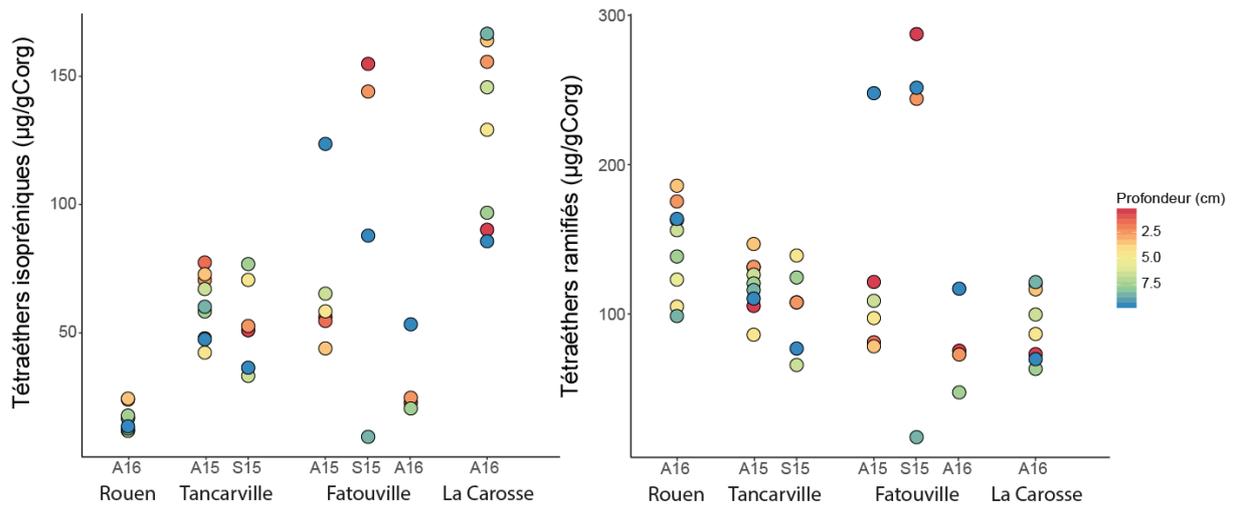


Figure 80 : Variation de la quantité en tétraéthers isopréniques et de tétraéthers ramifiés dans l'ensemble des carottes de sédiment de l'estuaire de Seine.

Le rapport des tétraéthers bactériens sur les tétraéthers archéens a été calculé, afin d'estimer les variations de contributions relatives de ces deux domaines de microorganismes (Figure 81). Ce dernier montre des valeurs très élevées à Rouen ce qui suggère que les tétraéthers bactériens y sont prédominants. Ce rapport diminue rapidement dans le bouchon vaseux puis à l'embouchure de l'estuaire, où les tétraéthers archéens deviennent prédominants. Ce changement de communautés microbiennes dans les sédiments de l'estuaire a également été observé en mesurant les quantités d'ARNr 16S bactériens et archéens. Ces analyses, réalisée sur trois sédiments de surface en avril 2016, montre une augmentation de la biomasse archéenne par rapport à la biomasse bactérienne à l'aval de l'estuaire (Huguet et al., 2018).

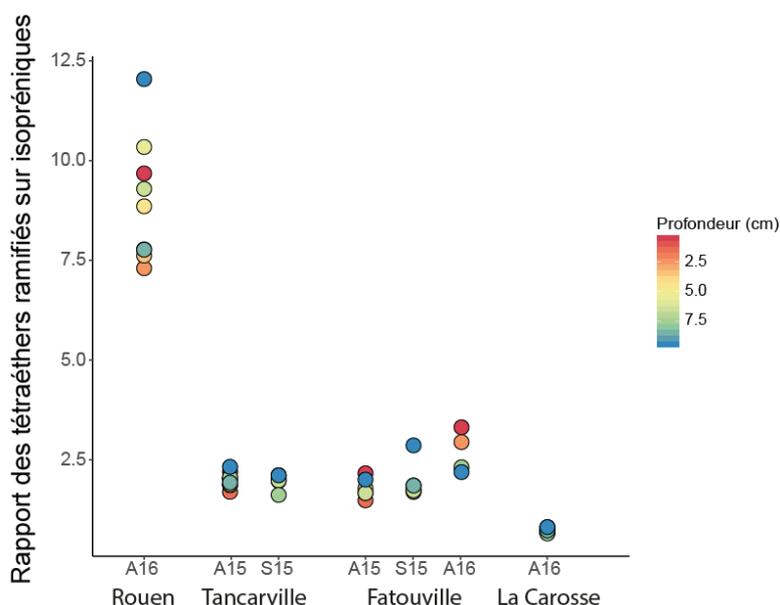


Figure 81 : Evolution du rapport des tétraéthers ramifiés produits par les bactéries sur les tétraéthers isoprénique, produits par les archées le long de l'estuaire de Seine pour différentes profondeurs.

La distribution des tétraéthers bactériens dans l'ensemble des échantillons varie peu (Figure 82). Les tétraéthers bactériens prédominants sont les composés acycliques VII, VIII et IX, comme observé classiquement dans la littérature (Loomis et al., 2011). Deux types d'isomères des tétraéthers bactériens sont actuellement connus : les 5-méthyl et les 6-méthyl. Pour préciser l'isomérisation, une apostrophe est rajoutée (e.g. VIIa'). Dans l'ensemble des sédiments, les isomères 6-méthyl dominent (Figure 82). Cette tendance est observée généralement dans les milieux aquatiques (De Jonge et al., 2015). A l'inverse, la distribution des tétraéthers archéens diffère en fonction des sites : à Rouen, seul le tétraéther I domine, alors que dans les autres carottes, les composés I et VI dominent (Figure 82). Ce changement de distribution a également été observé dans l'estuaire du Yangtze (Chine), le composé I étant prédominant dans la rivière, et le tétraéther VI devenant plus abondant en aval (Zhu et al., 2011). Il reflète un changement de diversité archéenne le long de l'estuaire. En effet, le composé VI (crenarchaeol) est spécifique d'une espèce d'archées, les Thaumarchées. Le composé I est lui prédominant chez les archées méthanogènes. Sur cette base, le rapport des tétraéthers I/VI a été proposé pour déterminer les communautés archéennes prédominantes dans les échantillons naturels (Blaga et al., 2009). En effet, les archées méthanogènes biosynthétisent les tétraéthers I à V, les Thaumarchées produisant en plus le composé VI (Schouten et al., 2002). Les valeurs du rapport I/VI > 2 témoignent d'une prédominance des archées méthanogènes dans les sédiments (Blaga et al., 2009). Dans la carotte de Rouen, ce rapport

est en moyenne de $4,2 \pm 0,2$ montrant que les tétraéthers isopréniques y sont majoritairement issus d'archées méthanogènes. A l'inverse, le rapport I/VI est de $1,0 \pm 0,1$ au niveau des autres sites, indiquant que les Thaumarchées sont les archées prédominantes à l'aval de l'estuaire. Une prédominance d'archées méthanogènes dans les sédiments de rivières ainsi que leur disparition en aval, dans la zone côtière a également été observé dans l'estuaire du Yangtze (Zhu et al., 2011).

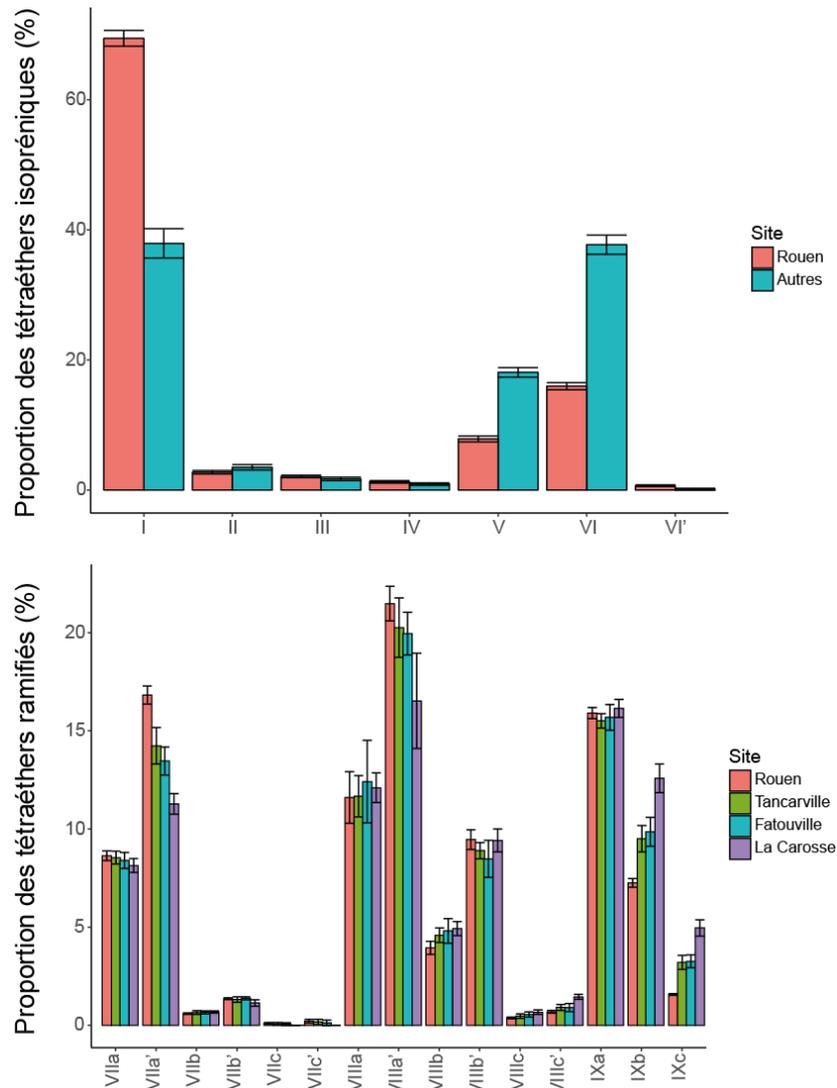


Figure 82 : Exemple des deux types de distribution des tétraéthers isopréniques observés dans les sédiments de l'estuaire de Seine (haut) et exemple de la distribution des tétraéthers ramifiés (bas).

Enfin, l'indice BIT a été calculé pour l'ensemble des sédiments (voir 1.5.2). Cet indice permet d'estimer la proportion de MO issue des sols par rapport à celle produite dans la colonne d'eau en prenant l'hypothèse que les tétraéthers bactériens sont produits exclusivement dans les sols et que le crenarchaeol n'est produit que dans la colonne d'eau (Hopmans et al., 2004).

Des valeurs proches de 1 témoignent d'un apport important de MO des sols alors que des valeurs de 0 témoignent d'une MO purement aquatique (Hopmans et al., 2004). Le BIT diminue progressivement le long de l'estuaire (Figure 83) avec des valeurs proches de 1 à Rouen et des valeurs autour de 0,5 à La Carosse. Ceci suggère qu'en amont de l'estuaire de Seine, la MO sédimentaire provient majoritairement des sols, alors que dans la zone aval, il s'agit plutôt d'un mélange de MO des sols et aquatique. Une telle diminution du BIT est classique dans les milieux côtiers (Strong et al., 2012; De Jonge et al., 2015). Toutefois le BIT doit être interprété avec précaution : il est possible d'avoir une production *in situ* de tétraéthers bactériens dans la colonne d'eau (Liu et al., 2014) et des apports de tétraéthers archéens provenant des sols. L'indice BIT est également très fortement corrélé au $\delta^{13}\text{C}$ de la MO sédimentaire ($\rho = -0,84$, $p < 0,01$) témoignant du mélange des masses d'eaux continentales et marines.

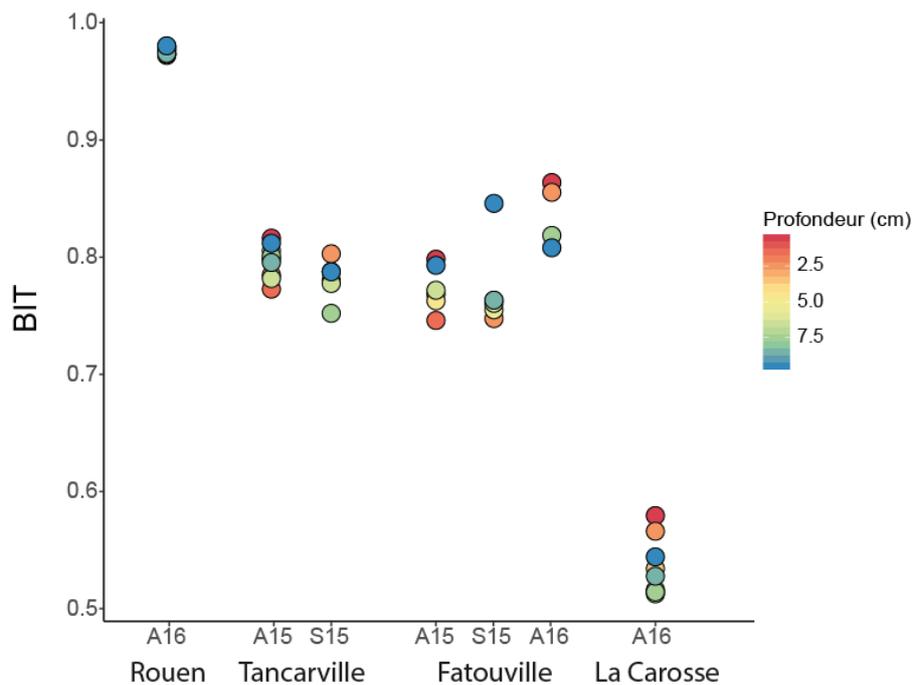


Figure 83 : Evolution de l'indice BIT pour toutes les profondeurs dans l'ensemble des carottes de sédiment de l'estuaire de Seine.

4.3 Conclusions

Les biomarqueurs lipidiques ont permis d'aborder l'étude de la dynamique de la MO dans l'estuaire de Seine au niveau moléculaire. Plusieurs sources naturelles de MO ont pu être identifiées dans les sédiments : les végétaux terrestres, les algues (dont une partie de la MO est produite par des diatomées et des dinoflagellés) et les microorganismes. Une contribution des macrophytes à la MO est également à prendre en compte, bien que la distinction avec la MO des végétaux terrestres soit difficile. La contribution en MO provenant des végétaux terrestres semble importante tout le long de l'estuaire de Seine ce qui témoigne d'une exportation de cette dernière jusqu'en baie de Seine. La proportion en MO aquatique produite par des algues est plus importante dans les sédiments de surface de La Carosse (avril 2016 ; Figure 84). Enfin, des changements des communautés microbiennes ont pu être détectés à l'aide des biomarqueurs : les tétraéthers archéens deviennent de plus en plus abondants vers l'aval par rapport aux tétraéthers bactériens. En parallèle, un changement des communautés archéennes le long de l'estuaire de Seine a été mis en évidence : des archées méthanogènes abondantes en amont, et des Thaumarchées plus abondantes en aval. De plus, une source anthropique de la MO a pu être détectée : il s'agit de la MO émise par les stations d'épurations. Cette dernière n'avait pas pu être détectée par les analyses plus globales à cause de la superposition de leurs signaux avec les sources naturelles. Ainsi, les analyses moléculaires semblent nécessaires afin de bien déterminer les sources anthropiques de la MO.

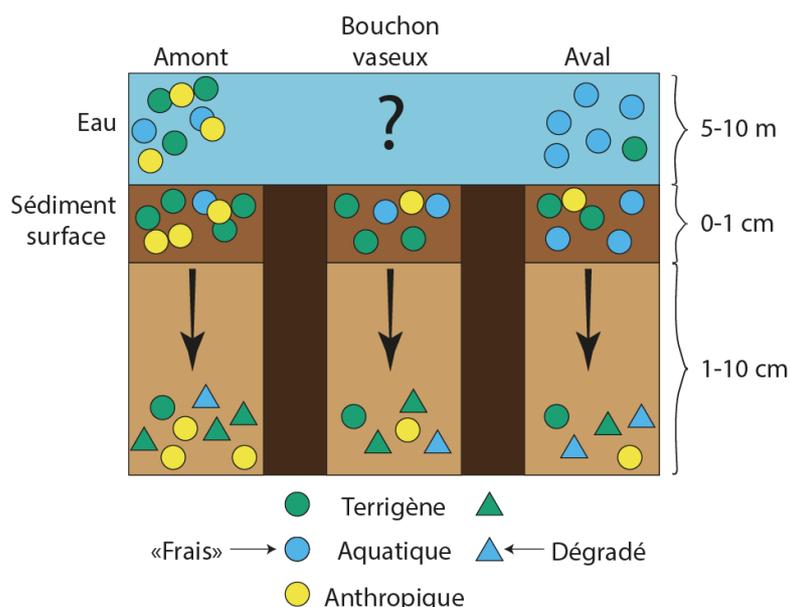


Figure 84 : Schéma de la dynamique de la MO dans les sédiments de l'estuaire de Seine.

La composition de la MO varie avec la profondeur dans l'ensemble des carottes avec une MO qui semble dérivée d'un matériel plus algairé en aval et en surface des sédiments (Figure 84). Le long des carottes, la MO se dégrade, probablement en raison du changement des conditions environnementales (les sédiments sont anoxiques passés les 2 à 3 premiers millimètres ; Huguet et al., 2018). Cette dégradation semble également plus intense pour la MO aquatique que pour la MO terrigène, enrichissant rapidement les sédiments en MO terrigène avec la profondeur.

Le long de l'estuaire, les sédiments de surface s'enrichissent en MO aquatique, notamment à l'aval. A l'inverse, la MO terrigène, bien que moins importante à l'aval, reste néanmoins une part importante de la MO de l'estuaire de Seine. Enfin, la part de MO anthropique est importante à Rouen et diminue rapidement vers l'aval (Figure 84).

L'analyse préliminaire des stérols contenus dans la MOP a permis de révéler de très grandes différences de composition avec le sédiment. En effet, la MOP est enrichie en MO aquatique dans les deux sites étudiés, particulièrement à La Carosse (Figure 84). Ainsi, la MOP contiendrait un matériel plus labile que le sédiment de surface et encore plus que le sédiment profond. Toutefois, ces interprétations seront à confirmer lors de l'analyse des lipides de l'ensemble des échantillons de MOP.

CHAPITRE 5 : LA COMPOSITION (MACRO)MOLECULAIRE DE LA MO DANS L'ESTUAIRE DE SEINE

5.1 Introduction

L'analyse des lipides a permis de montrer une forte diversité dans la composition et les sources de la MO sédimentaire de l'estuaire de Seine. En effet, les sédiments prélevés à l'amont sont enrichis en lipides issus des végétaux terrestres et enregistrent l'impact des stations d'épuration alors qu'en aval, les sédiments sont composés d'un mélange de MO issue des végétaux terrestres et de MO aquatique produite en partie par des diatomées. De plus, l'initiation de la comparaison de la composition lipidique entre la MOP et la MO sédimentaire a révélé de grandes différences entre l'amont et l'aval de la Seine. Toutefois, les lipides ne représentent qu'une petite partie des constituants de la MO naturelle allant de quelques % à une dizaine de % en fonction du compartiment considéré (Harvey and Mannino, 2001). En effet, cette dernière est également constituée de macromolécules, non extractibles aux solvants organiques, ou bien de molécules trop polaires pour être analysées directement en GC/MS (comme des sucres par exemple).

La pyrolyse couplée à la GC/MS permet de caractériser une plus grande partie de la MO naturelle, en fragmentant notamment les macromolécules. De plus, la détection des molécules polaires est rendue possible par l'ajout d'hydroxyde de tetraméthylammonium (TMAH). En effet, comme décrit en 1.5, en plus d'aider à fragmenter les macromolécules, cet agent diminue la polarité des molécules grâce à leur méthylation : c'est le principe de la thermochimiolyse.

Cette méthode a été largement utilisée pour caractériser la MO dans les sols (Derenne and Quénéa, 2015), les sédiments (Pulchan et al., 2003), la MOP (da Cunha et al., 2000; Templier et al., 2005) et même les météorites (Remusat et al., 2005). Toutefois, il n'existe à ce jour que très peu d'études utilisant la thermochimiolyse pour caractériser la MO des estuaires (Heemst et al., 2000; Mannino and Harvey, 2000b). Ce chapitre s'intéressera donc à l'application de cette méthode pour analyser la MO de l'estuaire de la Seine dans l'ensemble de ses compartiments – dissous, particulaire et sédimentaire – avec pour objectif de répondre à la question suivante : quelle est la dynamique, l'origine et l'état de dégradation des (macro)molécules constitutives de la MO dans l'ensemble des compartiments le long de l'estuaire de Seine ?

Pour cela, 8 échantillons de MOD, 16 de MOP et 14 de sédiments (0-1 cm et 9-10 cm) prélevés à l'amont (Poses, Rouen, Caudebec), dans le BV (Tancarville, Fatouville, Honfleur) et à l'aval (Honfleur, La Carosse) lors de 5 campagnes ont été analysés

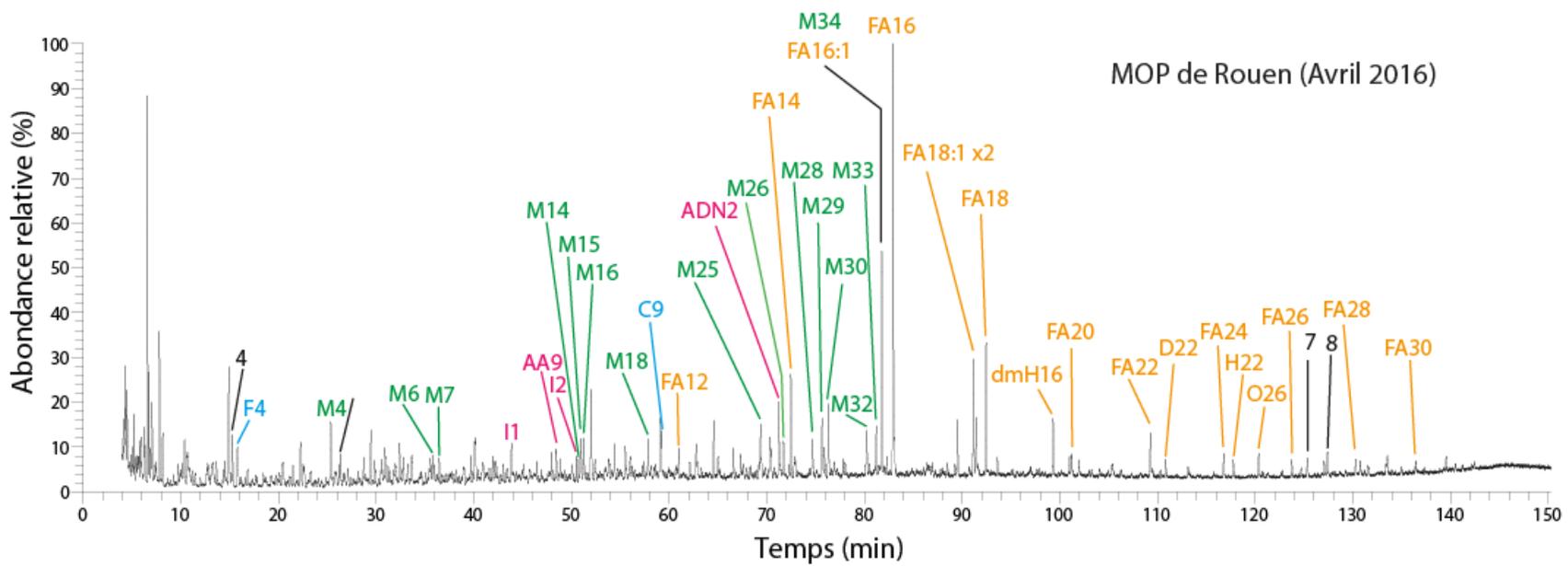
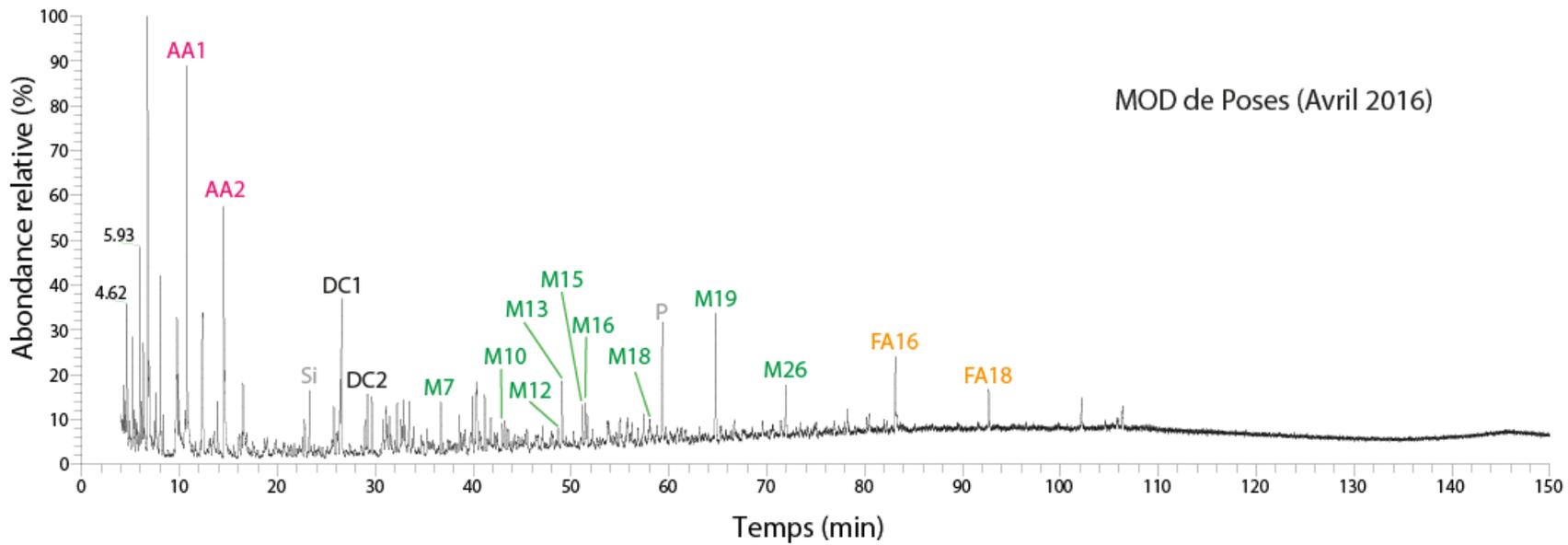
5.2 Résultats et discussions

5.2.1 Pyrochromatogrammes et origine des molécules

L'analyse des pyrochromatogrammes obtenus par thermochimie montre de fortes différences entre les échantillons, notamment entre le compartiment dissous d'une part et le sédiment et la MO d'autre part. En effet, le rapport signal sur bruit des pyrochromatogrammes correspondant aux échantillons de MOD est plus faible que celui des MOP et sédiments (Figure 85). Ainsi, la majorité des constituants de la MOD seraient mal voire non détectés par pyrolyse TMAH en accord avec la forte abondance des carbohydrates dans la MOD (Bauer and Bianchi, 2011) et comme vu par RMN (3.3.2). En effet, les sucres libres, très polaires, sont retenus sur la colonne de chromatographie et le rendement de pyrolyse des polysaccharides est faible (Gauthier et al., 2002).

Les pyrochromatogrammes de la MOD sont dominés par des méthoxybenzènes et des acides aminés, et ceux des sédiments et de la MOP par des acides gras et des méthoxybenzènes (Figure 85). Ces résultats sont en accord avec ceux de la littérature, la pyrolyse en présence de TMAH de MOP et de sédiments conduisant préférentiellement à la détection de méthoxybenzènes et d'acides gras (Pulchan et al., 1997; Mannino and Harvey, 2000b; Pulchan et al., 2003; Templier et al., 2005). En ce qui concerne la thermochimie de MOD, (Heemst et al., 2000) ont montré que les pyrochromatogrammes étaient dominés par des méthoxybenzènes et par des acides aminés (Mannino and Harvey, 2000a). Ils n'ont pas détecté d'acides aminés mais la MOD avait été isolée par ultrafiltration, connue pour ne pas retenir les molécules de faible masse.

Chapitre 5 : La composition (macro)moléculaire de la MO dans l'estuaire de Seine



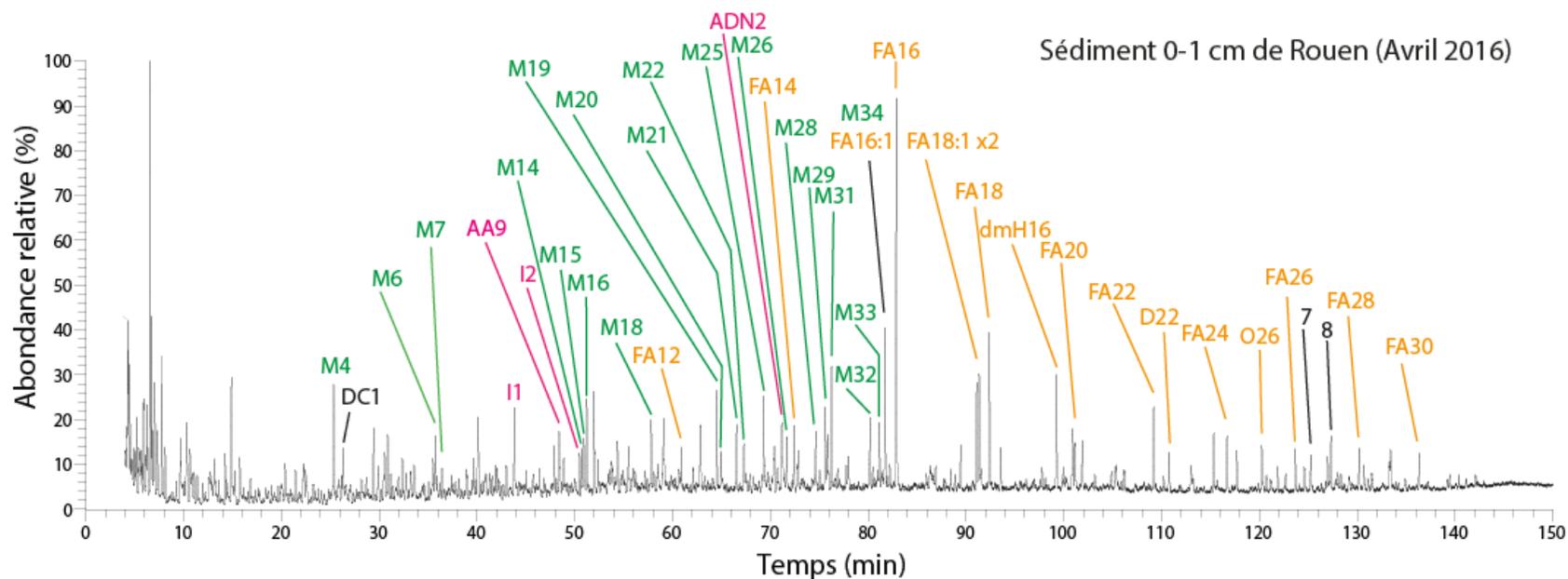


Figure 85 : Pyrochromatogrammes de la MOD de Poses (avril 2016), de la MOP de Rouen (avril 2016) et du sédiment 0-1 cm de Rouen (avril 2016). Les codes des différents composés sont présentés dans le Tableau 12. Les molécules azotées sont présentées en violet, les méthoxybenzènes en vert, les composés aliphatiques en orange, les dérivés de sucres en bleu et les autres molécules en noir.

La thermochimiolyse a été réalisée sur des échantillons non extraits au préalable aux solvants organiques, c'est-à-dire que les molécules observées sont le cumul de celles produites par thermochimiolyse et par thermovaporisation. Au total, 149 molécules (listées dans le Tableau 12, page 199) ont été détectées et quantifiées dans chaque échantillon. Ces molécules se répartissent en 13 grandes familles : les acides gras, les méthoxybenzènes, les acides aldoniques, les indoles, les pyrroles, les alcools, les diacides courts (C_4), les diacides longs (C_{16} , C_{18} et C_{22}), les hydroxyacides, les acides aminés, les dérivés de l'ADN, les composés de types furanes et d'autres composés n'appartenant pas aux familles précédentes (i.e. stérols, stanols etc...). Les proportions relatives de ces différentes familles de composés sont présentées en Figure 86. Les produits de pyrolyse principaux sont donc les acides gras, les méthoxybenzènes et les acides aminés. La pyrolyse des MOD produit davantage d'acides aminés mais moins d'acides gras que la MOP et le sédiment, ce dernier compartiment libérant le plus de méthoxybenzènes (Figure 86).

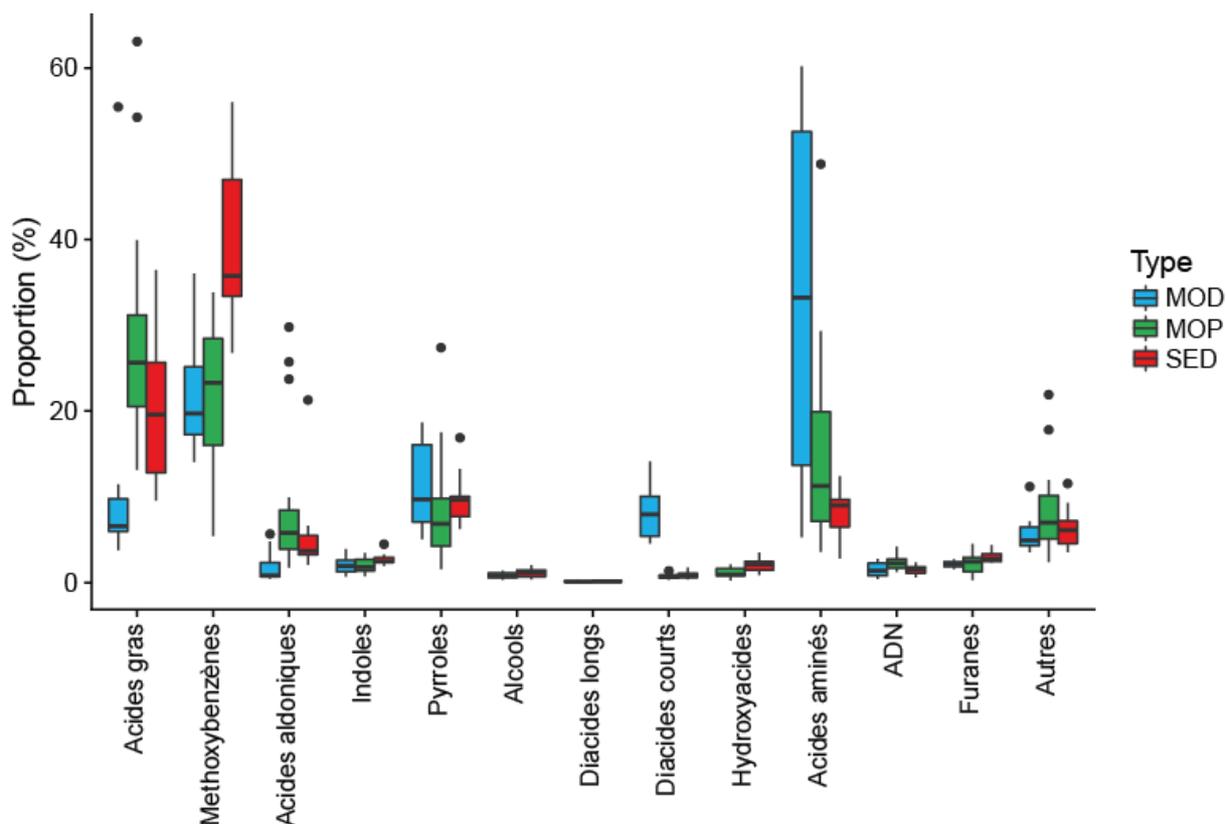


Figure 86 : Distribution des différentes familles de produits de pyrolyses des échantillons de l'estuaire de Seine.

En moyenne, sur les 149 molécules ciblées, 75 n'ont pas été identifiées dans les échantillons de MOD, contre 36 dans les MOP et 25 dans les sédiments, en lien avec les compositions

différentes de la MOD d'une part et de la MOP/du sédiment d'autre part. Il est important de préciser que les abondances obtenues ne sont pas quantitatives, mais semi-quantitatives. En effet, les coefficients de réponses des molécules sont très différents ainsi que les rendements de pyrolyse des macromolécules sources.

Les paragraphes suivants traiteront des différentes familles de molécules identifiées sur les pyrochromatogrammes.

a. Les méthoxybenzènes

La plupart des méthoxybenzènes proviennent de la pyrolyse de la lignine (Templier et al., 2005), notamment les méthoxy-benzènes, les 1,2-diméthoxy-benzènes et les 1,2,3-triméthoxy-benzènes. Ces derniers proviennent respectivement de la pyrolyse des unités hydroxyphényles (ou P), des unités guaiacyles (ou G) et des unités syringyles (ou S ; Clifford et al., 1995). Toutefois, les composés les plus petits (i.e. sans chaînes latérales) sont ubiquistes, et peuvent être produits lors de la pyrolyse de la lignine (Saiz-Jimenez and De Leeuw, 1986), de macromolécules algaires (Peulvé et al., 1996), mais également de carbohydrates (Pastorova et al., 1994; Fabbri and Helleur, 1999). De plus, le 1,2,4-triméthoxy-benzène est lui produit lors de la pyrolyse de sucres simples et de polysaccharides (Fabbri and Helleur, 1999). La formation de 1,3,5-triméthoxybenzène a été décrite lors de la thermochimieololyse de tannins (Nierop et al., 2005).

Au total, 33 méthoxybenzènes ont pu être quantifiés dans l'ensemble des échantillons avec de ions moléculaires entre 108 et 270 Da. Les proportions relatives de ces molécules sont présentées en Figure 87. La MOD est enrichie en composés de plus petite taille (i.e. sans chaîne latérale) et sous forme acide (M13, M19 et M26 ; Figure 87). A l'inverse, la MOP et le sédiment sont enrichis en méthoxybenzènes à chaînes latérales plus longues (Figure 87). Peu de différences de distribution des méthoxybenzènes sont observables entre la MOP et le sédiment, mais on note une plus forte abondance relative en méthoxybenzènes dans le sédiment que dans la MOP (Figure 87).

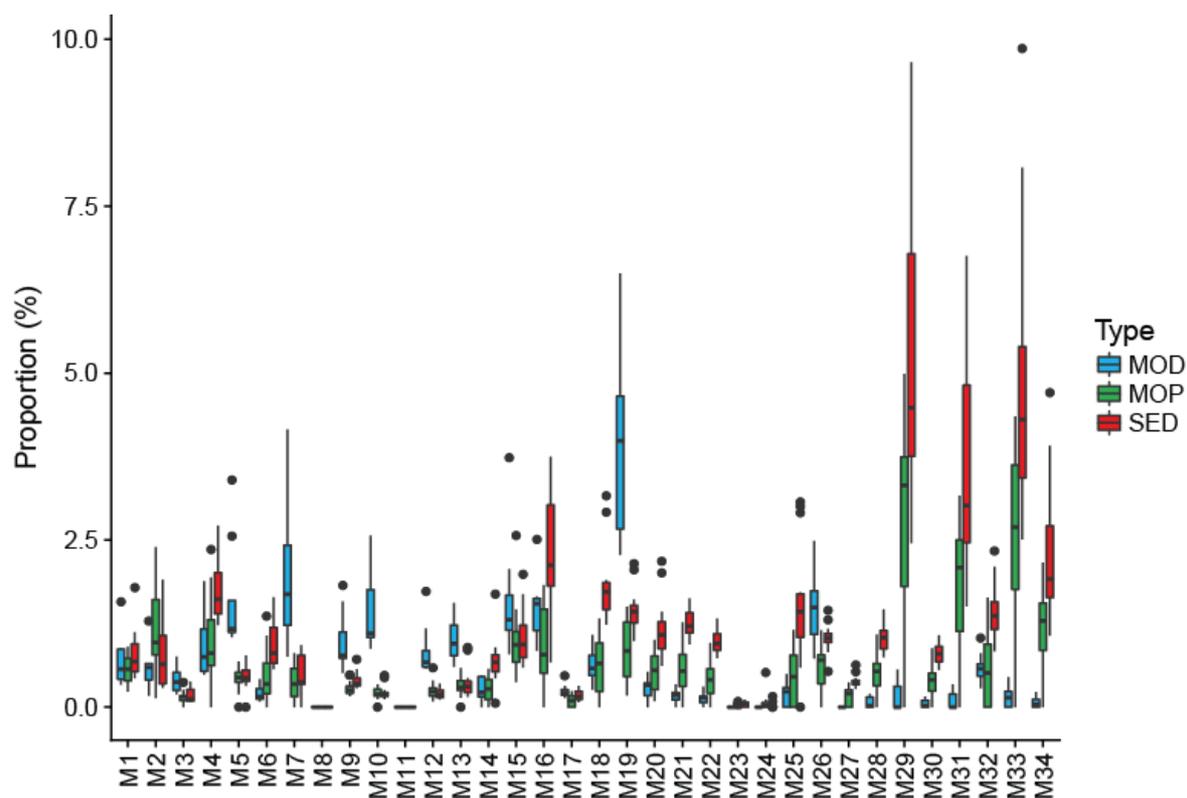


Figure 87 : Distribution des méthoxybenzènes dans l'ensemble des échantillons en fonction du compartiment. Les noms des molécules sont donnés dans le Tableau 12.

b. Les acides gras

Les acides gras constituent la deuxième famille de molécules la plus abondante dans les pyrochromatogrammes. 27 d'entre eux ont été identifiés, avec une longueur de chaîne comprise entre 6 et 32 carbones. En plus, des acides gras à chaînes normales, des isomères *iso* et *anteiso* ont été observés pour les homologues en C₁₄, C₁₅, C₁₆ et le C₁₇. De plus, des homologues insaturés (un C_{16:1} et deux C_{18:1}) ont été détectés. Parmi tous les acides gras, l'homologue C₁₆ domine largement : il représente entre 14 et 62% du total des acides gras quantifiés. Dans la MOD, les acides gras sont dominés principalement par les composés en C₁₆ et C₁₈ (Figure 88). Dans la MOP, les homologues en C₁₄ et C_{16:1} font également partie des composés les plus abondants. Les sédiments ont une distribution en acides gras proche de celle observée pour la MOP, avec toutefois la présence d'acides gras à courtes chaînes (C₈ et C₁₀) ainsi que d'acides gras insaturés en quantité plus élevée dans le sédiment que dans la MOP. Cette différence peut s'expliquer par une dégradation plus importante des acides gras insaturés dans les sédiments que dans la MOP, comme observé via l'analyse des lipides dans le chapitre 4 (4.2.2).

Comme les échantillons n'ont pas été délipidés au préalable, les acides gras observés sur les pyrochromatogrammes peuvent provenir soit (i) de la thermovaporisation des acides gras libres ou bien (ii) de la pyrolyse de macromolécules. Les acides gras sont des produits ubiquistes en pyrolyse (Pulchan et al., 1997; Templier et al., 2005), cependant certains composés sont des marqueurs de source. Plusieurs acides gras peuvent avoir des sources spécifiques : l'acide gras en C₁₄ est souvent utilisé comme un traceur de la MO aquatique, notamment du phytoplancton (Canuel et al., 1997). Les acides gras *iso* et *anteiso* en C₁₅ et C₁₇ sont eux produits par les bactéries (Perry et al., 1979; Volkman et al., 1980). Des acides gras absent lors des analyses des lipides après extractions ont pu être identifiés : il s'agit des acides gras courts (< 12 carbones) et des long (> 24 carbones ; voir 4.2.2). L'apparition de ces derniers sur les pyrochromatogrammes montre qu'ils sont produits par pyrolyse d'une macromolécule végétale : la subérine (del Río and Hatcher, 1998) ou bien de cire épicuticulaire de végétaux supérieurs (Eglinton and Hamilton, 1967). Les acides gras à courtes chaînes C₈ et C₁₀ pourraient eux provenir de la matrice macromoléculaire (Mannino and Harvey, 2000b).

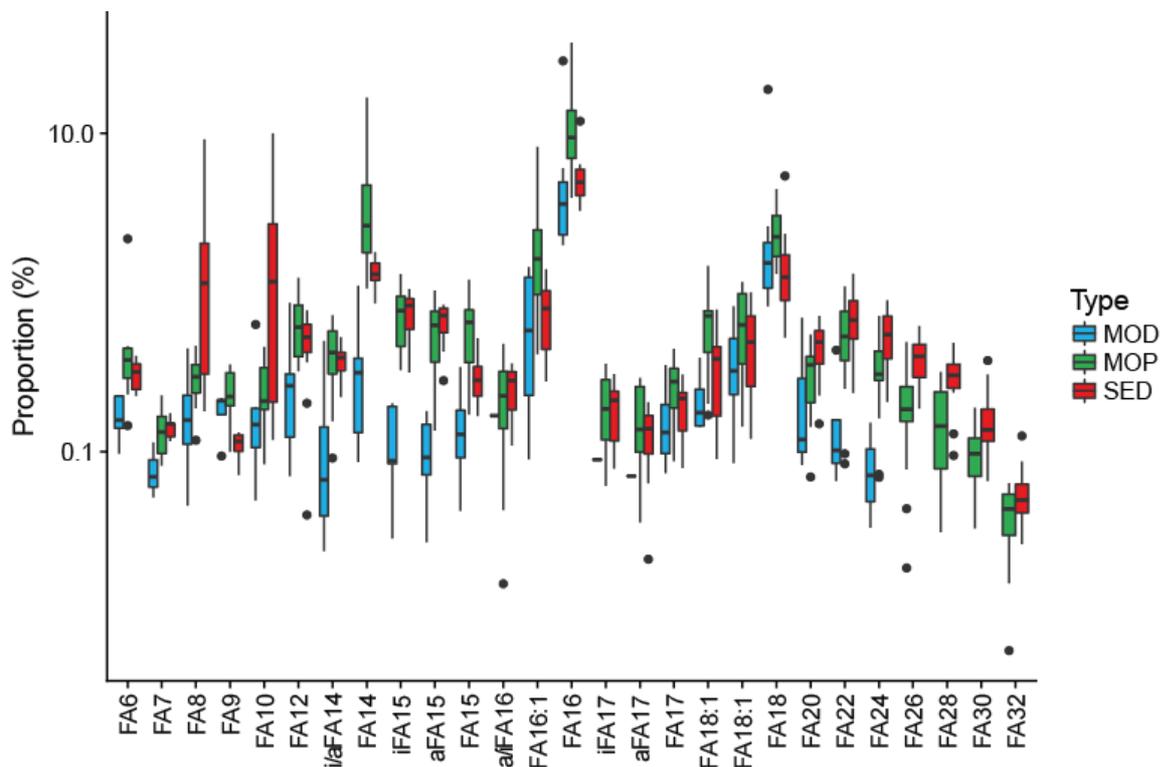


Figure 88 : Distribution des acides gras dans l'ensemble des échantillons en fonction du compartiment. L'échelle des proportions est logarithmique pour permettre l'observation des acides gras autre que le C₁₆ et le C₁₈ qui sont bien moins abondants. Les noms des molécules sont donnés dans le Tableau 12, FA = acide gras.

c. Les autres molécules aliphatiques

D'autres molécules aliphatiques à longue chaîne ont été identifiées : des diacides avec des longueurs de chaîne comprises entre C₁₆ et C₂₂, des hydroxyacides (C₁₆ à C₂₂) et des alcools (C₁₈ à C₃₀). Cette famille est dominée par les hydroxyacides, principalement l'acide 10,16-diméthoxy-hexadecanoïque et l'acide triméthoxy-octadecanoïque (Figure 89), marqueurs de cutine, alors que les composés plus longs sont marqueurs de subérine (del Río and Hatcher, 1998).

Par ailleurs, à l'inverse de la MOP et du sédiment, aucun alcool, hydroxyacide ou diacide à longue chaîne n'ont été détectés dans la phase dissoute (Figure 89). A notre connaissance, ces derniers n'ont pas été identifiés dans la thermochimioolyse de MOD (Heemst et al., 2000; Mannino and Harvey, 2000b; Templier et al., 2005). Tout comme les acides gras à longues chaînes, les alcools, les diacides et les ω -hydroxyacides à longues chaînes sont issus de la pyrolyse de subérine. L'acide 10,16-diméthoxy-hexadecanoïque et l'acide triméthoxy-octadecanoïque ainsi que les ω -hydroxyacides C₁₆ et C₁₈ proviennent eux de la cutine (del Río and Hatcher, 1998). La cutine et la subérine sont des biopolyesters d'origine végétale qui ont en commun plusieurs monomères (voir 1.5.3). Il est possible de suivre distinctement l'évolution de l'abondance de ces deux macromolécules en milieu environnemental en utilisant les ω -hydroxyacides C₁₆ et C₁₈ pour la cutine et les diacides longs pour la subérine (Mendez-Millan et al., 2011).

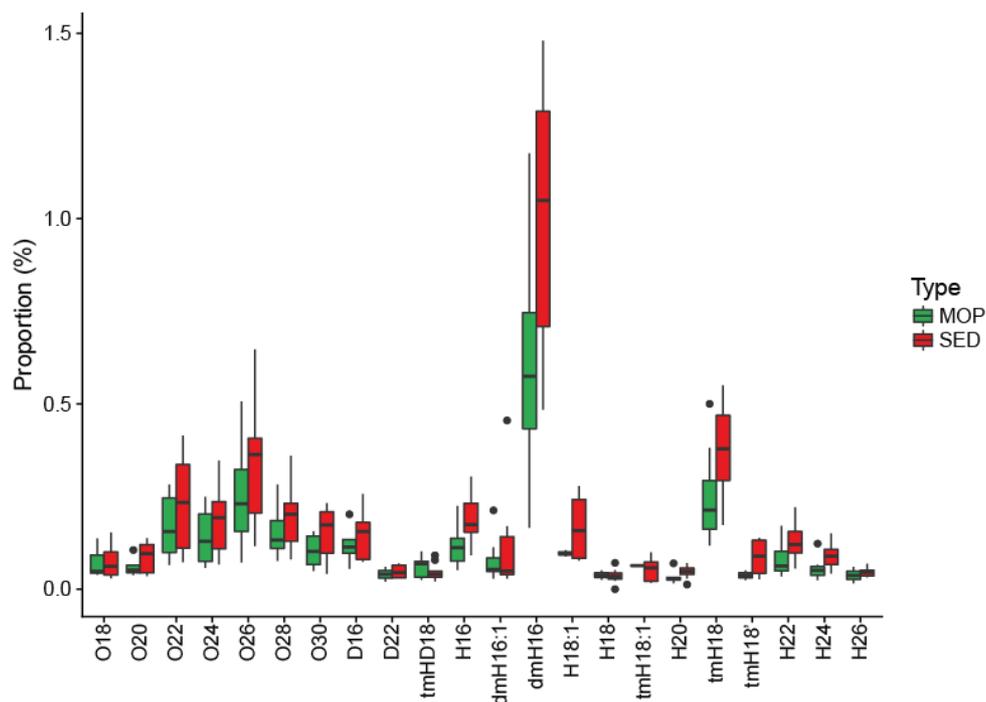


Figure 89 : Distribution des molécules aliphatiques autres que les acides gras dans l'ensemble des échantillons en fonction du compartiment. Les noms des molécules sont donnés dans le Tableau 12. O = alcools, D = diacides, H = hydroxyacides

Dans la MOD, deux diacides à courte chaîne (C₄ et C₄ méthylé) ont été identifiés - l'acide butanedioïque et l'acide méthyl-butanedioïque - et représentent entre 4,5 et 14% du total des molécules quantifiées (Figure 86). Contrairement à la MOD, ces composés ne sont présents qu'en faible quantité relative dans la MOP et le sédiment (Figure 86). Ces composés sont couramment observés dans les pyrolyses de MO aquatique (Mannino and Harvey, 2000a; (Templier et al., 2005) et une origine protéique est souvent considérée, d'autant plus lorsqu'ils sont associés à la 2,5 pyrrolidinedione, comme montré par thermochimiolysse de l'acide aspartique (Gallois et al., 2007)

d. Les composés azotés

Quatre grandes familles de composés azotés sont présentes dans les échantillons : les acides aminés, les indoles, les pyrroles et les bases de l'ADN (voir annexe 2 pour les structures chimiques). Ce sont les acides aminés qui dominent les composés azotés, suivit des pyrroles puis des indoles et des bases d'ADN (Figure 90).

11 acides aminés ont pu être identifiés, sous la forme de leurs dérivés méthylés en raison de l'ajout de TMAH, dans l'ensemble des pyrochromatogrammes : les 5 acides aminés

aliphatiques (glycine, alanine, valine, la leucine et isoleucine), un acide aminé cyclique (proline), deux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) et trois acides aminés avec des fonctions carboxyliques/amines supplémentaires (acide aspartique, acide glutamique et glutamine). Seuls les dérivés méthylés sont observés, mais pas leurs produits de cyclisation classique : la diketopiperazine (DKP (Gallois et al., 2007)). Les indoles, et notamment le méthyl indole, diméthyl indole et triméthyl indole dérivent du tryptophane (Gallois et al., 2007). Les pyrrolidinone et les pyrole-dione dérivent de la cyclisation de l'asparagine (Gallois et al., 2007). Le méthyl pyrrole peut également provenir de la cyclisation de la sérine, mais n'est produit qu'en faible quantité lors de la thermochimiolysse (Gallois et al., 2007). Ainsi, les pyrroles et les autres indoles pourraient également provenir de la pyrolyse de composés azotés non identifiés comme des pigments par exemple (Chiavari et al., 1998; Prati et al., 2004).

La proportion des acides aminés (glycine jusqu'à phénylalanine) décroît lorsque la longueur de chaîne de ces derniers et/ou leur degré d'aromaticité augmente (Figure 90). La MOP et la MO sédimentaire sont enrichis en acides aminés plus hydrophobes (i.e. avec des chaînes aliphatiques plus longues ou aromatiques) alors que la MOD est enrichie en acides aminés de petite taille comme la glycine et l'alanine et en indoles (Figure 90). L'enrichissement de la MOP par rapport à la MOD en acides aminés aromatiques a déjà été montré dans l'estuaire du Delaware, concomitamment avec un appauvrissement en acide aspartique (Mannino and Harvey, 2000a ; Figure 90).

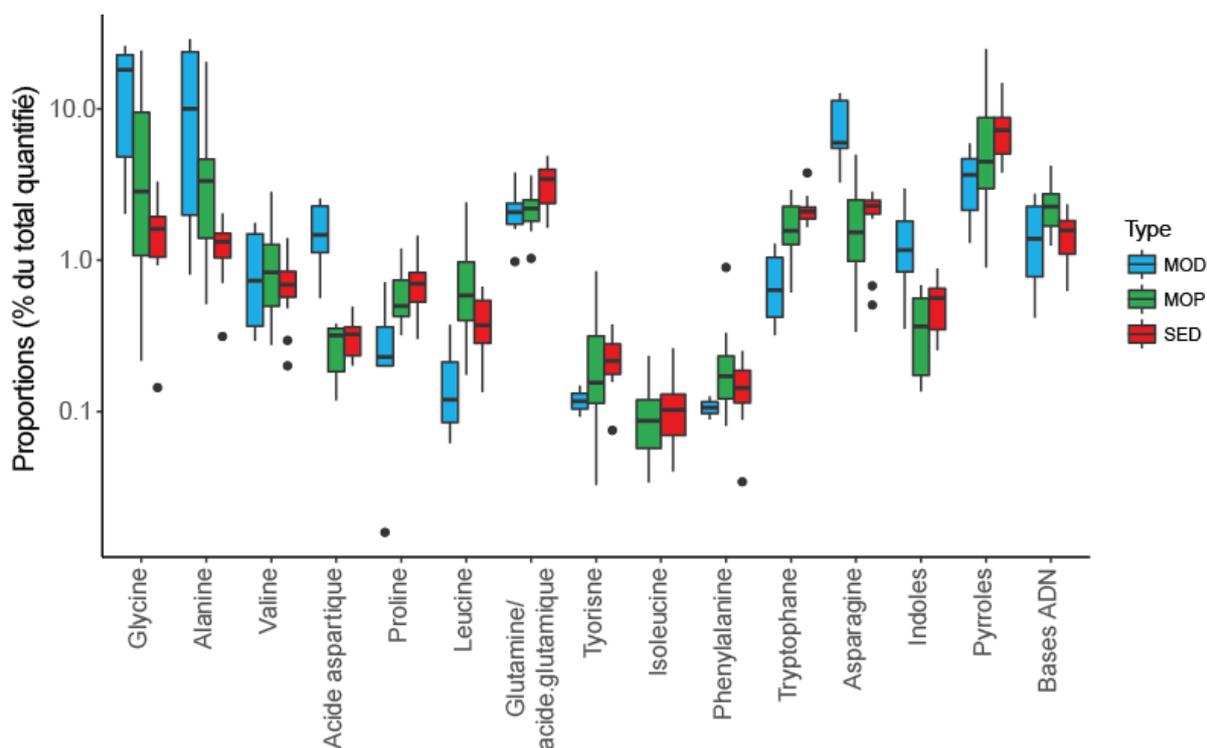


Figure 90 : Distribution des composé azotés dans l'ensemble des échantillons en fonction du compartiment. L'échelle des proportions est logarithmique pour permettre une meilleure comparaison de l'ensemble des données.

e. Les acides aldoniques et les furanes

Une série de 10 acides aldoniques a pu être identifiée grâce à un même pic de base (l'ion 129, schéma de fragmentation en 1.5.1) : deux composés en C₅ avec trois groupements méthoxy, quatre molécules en C₆ avec trois groupements méthoxy et quatre composés en C₆ avec quatre groupements méthoxy (structures chimiques en annexe 2). Ces derniers sont produits lors de la thermochoimiolyse de sucres simples ou de sucres terminaux de polysaccharides (Fabri and Helleur, 1999; Estournel-Pelardy et al., 2011). Les composés en C₅ dérivent du xylose et de l'arabinose (pentoses), ceux en C₆ avec trois groupements méthoxy dérivent de fucose et du rhamnose (désoxyhexoses), et ceux à quatre méthoxy dérivent du glucose, mannose et galactose (hexoses). Les pentoses dérivent plutôt des plantes (Oades, 1984), les désohexoses des microorganismes (Oades, 1984) et les hexoses sont ubiquistes (Hauser et al., 1988). Les proportions en produits de pyrolyse du rhamnose, fucose et galactose sont proches dans les MOD, MOP et MO sédimentaire (Figure 91). A l'inverse, les proportions en pentoses et en glucose/mannose sont plus importantes dans le sédiment et dans la MOP (Figure 91).

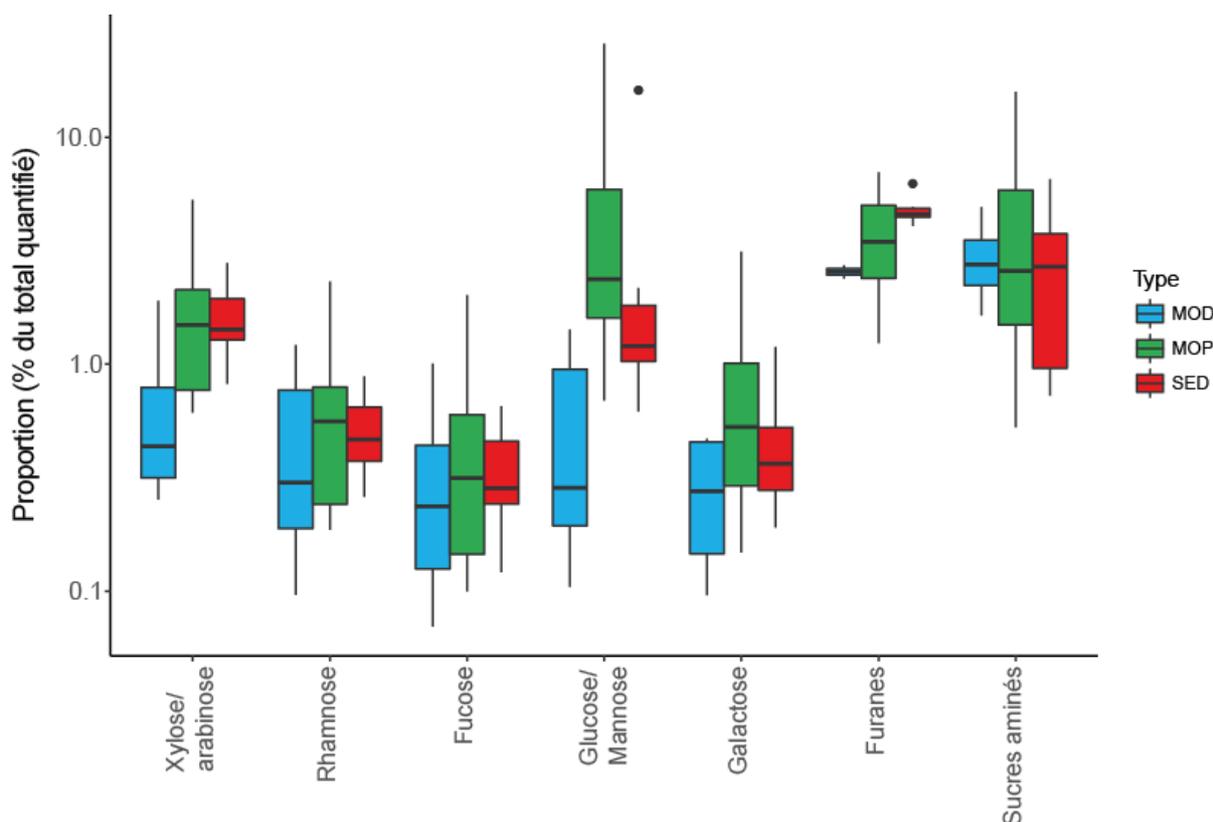


Figure 91 : Distribution des produits de pyrolyse des carbohydrates dans l'ensemble des échantillons en fonction du compartiment. L'échelle des proportions est logarithmique pour permettre une meilleure comparaison de l'ensemble des données.

Les furanes dérivent également de la pyrolyse de carbohydrates, et sont fréquemment trouvés après la pyrolyse de la MO des sols (Fabbri et al., 1996; Dijkstra et al., 1998). Les furanes sont généralement présents dans des proportions similaires à celles des acides aldoniques (Figure 91). La MOD est appauvrie en furanes par rapport à la MOP et au sédiment (Figure 91).

Enfin, l'acétamide est produit lors de la pyrolyse des sucres aminés (da Cunha et al., 2000). Ces derniers sont présents en proportions comparables dans la MOD, la MOP et la MO sédimentaire (Figure 91).

Pour finir, un acide aldonique particulier n'a été détecté que dans les MOP marines : l'acide Tri-O-méthyl-3-deoxy-2-méthoxyméthyl-D-erythro-pentonique. Ce dernier correspond à la pyrolyse de carbohydrates liés en position 1,4, comme la cellulose (Fabbri and Helleur, 1999) mais sa très faible abondance n'a pas permis sa quantification.

f. Les autres molécules

D'autres molécules ont également été quantifiées : phytol, glycérol, butanetriol, acide déhydroabiétique, deux stanols (coprostanol et cholestanol), deux stérols (cholestérol et sitostérol) et 8 triterpènes pentacycliques (structures chimiques en annexe 2). Le phytol, les stérols et stanols ainsi que des triterpènes pentacycliques avaient également été identifiés dans les lipides des sédiments. Mis à part le glycérol et le butanetriol, l'ensemble de ces molécules sont absentes de la MOD, et présentes en faible proportion dans la MOP et le sédiment (< 5% du total des molécules quantifiées en moyenne) sans différences entre les deux compartiments (Figure 92).

L'acide déhydroabiétique provient des végétaux terrestres et plus particulièrement des résines (Tavendale et al., 1997) et le coprostanol de la MO fécale (Leeming et al., 1996). Les triterpènes pentacycliques peuvent être produits par les végétaux terrestres (Mahato and Sen, 1997) et certaines bactéries (Rohmer et al., 1984) et ils ne sont présents que dans les échantillons en amont de l'estuaire de Seine.

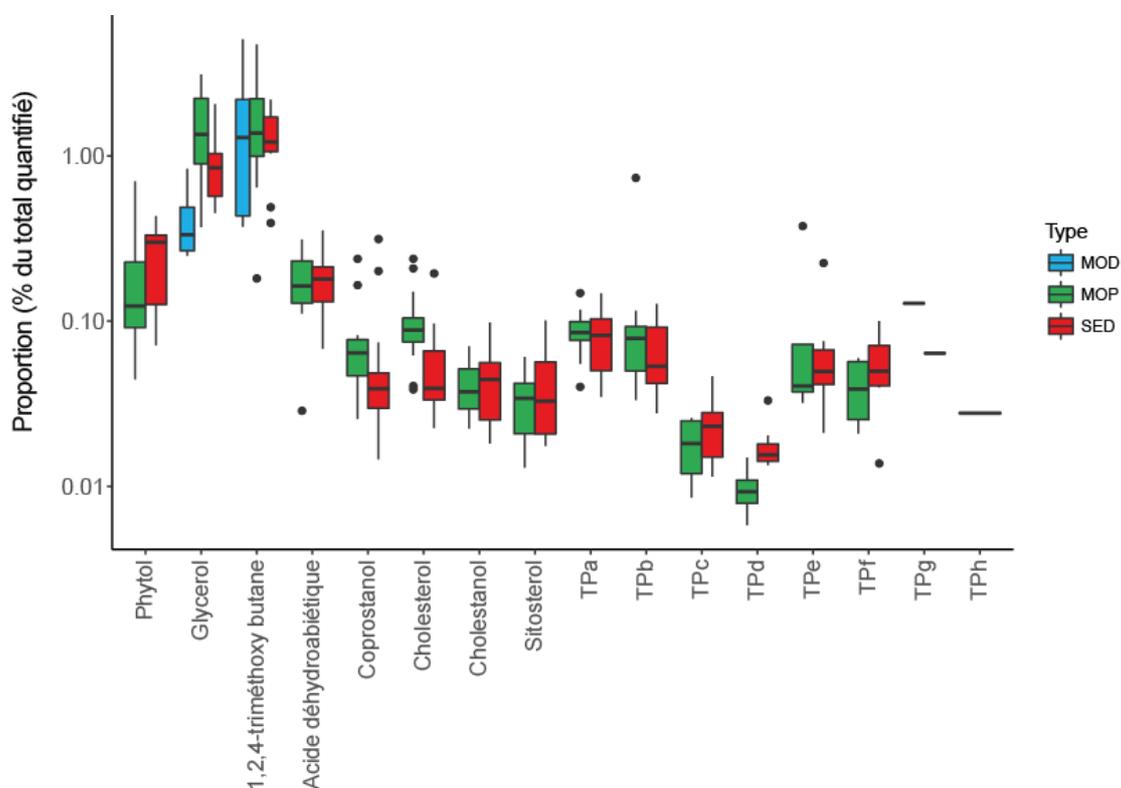


Figure 92 : Distribution des produits de pyrolyse autres dans l'ensemble des échantillons en fonction du compartiment. L'échelle des proportions est logarithmique pour permettre une meilleure comparaison de l'ensemble des données. TP = triterpène pentacycliques.

La thermochimioolyse a produit une grande diversité de composés dont les sources sont diverses : MO terrigène, Mo aquatique, bactérienne etc... Ces différents traceurs seront utilisés par la suite pour suivre les variations spatiales des sources de la MO dans les trois compartiments.

5.2.2 La MO terrigène

La thermochimioolyse a permis d'identifier plusieurs composés dérivés de macromolécules issues de végétaux terrestres : la lignine, la cutine et la subérine. De plus, elle a également produit par thermovaporisation un biomarqueur de végétaux terrestres : l'acide déhydroabiétique.

a. La lignine

Il est possible d'estimer les variations relatives de la teneur en lignine (pour la structure chimique voir 1.5.3) des échantillons en quantifiant ses différents produits de pyrolyse, présentés dans le Tableau 12, page 214. Seules les molécules dérivées de manière univoque de la lignine sont considérées dans ces calculs.

Les sédiments sont enrichis en lignine par rapport aux échantillons de MOD et de MOP (Figure 93 gauche). Cette différence témoigne d'une composition de la MO très différente entre les compartiments, avec dans la colonne d'eau, une MO pauvre en lignine, à l'inverse du sédiment. Malgré une différence non significative de la teneur en lignine entre la MOD et la MOP, la MOP a tendance à être enrichie en cette macromolécule par rapport à la MOD. Ceci confirme les résultats obtenus à partir de la RMN (3.3.2).

L'enrichissement en lignine dans le sédiment pourrait s'expliquer par une dégradation plus marquée des composés labiles de la MO avant/suite au dépôt sédimentaire, ce qui entraînerait une augmentation relative de la proportion en lignine, plus récalcitrante (Bugg et al., 2011). Alternativement, de par son hydrophobicité, la lignine se trouvera, dans la colonne d'eau, préférentiellement adsorbée sur des particules qui vont ensuite sédimenter plutôt que dans la phase dissoute.

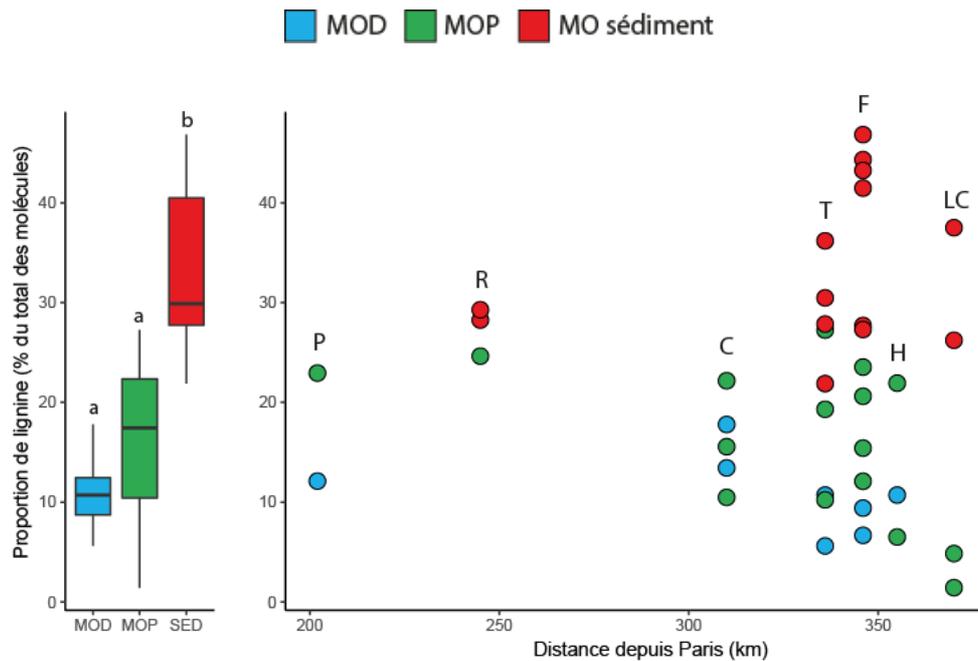


Figure 93 : Comparaison de la proportion de lignine dans la MOD, la MOP et le sédiment (gauche) et variation de la teneur en lignine le long de l'estuaire de Seine (droite). La MOD est en bleu, la MOP en vert et le sédiment en rouge. P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.

Le long de l'estuaire de Seine, la quantité relative de lignine dans la MOD varie peu (Figure 93 droite). Pour les sédiments, les teneurs en lignine varient fortement selon la profondeur et la saison en particulier à Tancarville et Fatouville. De même, dans la MOP, la teneur en lignine est très variable le long des carottes et diminue fortement à l'embouchure de l'estuaire, i.e. La Carosse (Figure 93). Les marqueurs de la lignine représentent en effet environ 25% du pyrolysats de la MOP en amont contre seulement 5% à l'aval. Cette différence pourrait s'expliquer par trois processus :

- (i) La dégradation de la lignine, notamment dans la zone aval, probablement par photo-oxydation.
- (ii) Un mélange de MOP riche en lignine provenant de l'amont avec du matériel d'origine marine où la lignine est absente ou présente à l'état de trace et fortement dégradée (Onstad et al., 2000).
- (iii) Un transfert de la lignine de la MOP vers le sédiment

Pour essayer de répondre à ces hypothèses, la composition moléculaire des produits de pyrolyse de la lignine sera utilisée. La lignine est composée de plusieurs unités (P, G et S) dont l'abondance relative diffère suivant les espèces (Huang et al., 1998) ou même les parties de la plante (Nierop and Filley, 2007). La dégradabilité de ces unités est également différente (dégradabilité des unités $S > G > P$; Huang et al., 1998), pouvant alors altérer l'identification des sources de la lignine. Ainsi, lors de la dégradation de la lignine, la proportion en unités S va diminuer plus rapidement que la proportion des unités G, conduisant à une diminution du rapport S/G. Le rapport S/G de la lignine, calculé à partir de 8 produits de pyrolyse de la lignine (M21, M22, M29 et M31 pour les unités G et M28, M30, M33 et M34 pour les unités S ; voir Tableau 12 page 199) comme décrit par (Kuroda et al., 2002) sont comparables dans la MOP et le sédiment, ce qui témoigne d'une composition similaire de la lignine dans ces deux compartiments (Figure 94). Ce rapport est en revanche plus faible dans la MOD que dans les deux autres compartiments (Figure 94), suggérant la présence d'une lignine plus dégradée dans la phase dissoute par rapport aux compartiments particulaires et sédimentaires.

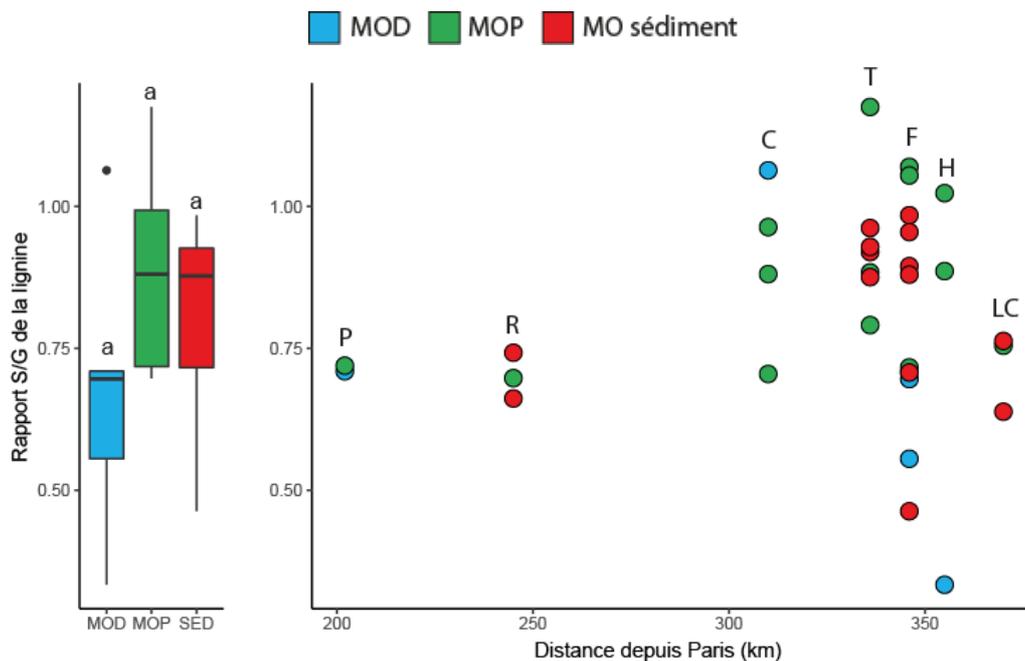


Figure 94 : Comparaison du rapport S/G de la lignine dans les trois compartiments de la MO de l'estuaire de Seine (gauche) et variation de ce dernier le long de l'estuaire de Seine (droite). P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.

Un autre rapport permet de comparer l'état de dégradation de la lignine dans les différents compartiments de la MO, le rapport Ad/Al des unités G, comme décrit en 1.5.3 (Hedges et al., 1988; Hatcher et al., 1995). En effet, les fonctions aldéhydes des unités G s'oxydent en acides

carboxyliques. Le rapport Ad/Al de ces unités est élevé dans la MOD ($> 4,8$; Figure 95) montrant que la lignine y est très dégradée et soutenant plutôt l'hypothèse de la dégradation pour expliquer la plus faible teneur en lignine dans la MOD. De très fortes valeurs de ce rapport (entre 8 et 14) ont également été observées par thermochimiolysse de la MOD de l'estuaire de l'Ems Dollar localisé entre les Pays-Bas et l'Allemagne, de la rivière Suwanee (Floride) et de la baie de Galveston (Heemst et al., 2000). Cela peut s'expliquer par le fait que la lignine est une macromolécule insoluble dans l'eau. Elle doit donc être sous forme oxydée pour être soluble dans la phase dissoute. Huang et al. (1998) ont également observé des valeurs du rapport Ad/Al plus faibles dans des sols que dans la MOD des rivières autour des sols, avec une lignine plus dégradée dans la phase dissoute et des rapports Ad/Al proches de ceux observés dans l'estuaire de Seine.

A l'inverse de la MOD, la lignine présente des rapports Ad/Al faibles dans le sédiment (entre 0,6 et 1), suggérant que la lignine est mieux préservée dans le sédiment que dans la phase dissoute (Figure 95). Dans la MOP, les valeurs observées sont intermédiaires entre la MOD et le sédiment, et augmentent vers l'aval (amont : $1,1 \pm 0,1$, bouchon vaseux + Honfleur : $1,8 \pm 0,8$, aval : $2,2 \pm 0,4$; Figure 95). Toutefois, il n'y a pas assez de point (notamment en aval $N=2$), pour tester la significativité d'une telle différence. Une très forte variabilité du rapport Ad/Al est observé à Honfleur (Figure 95) avec des valeurs très forte en avril 2015 lorsque le bouchon vaseux n'était pas présent et des valeurs très faibles en septembre 2015 lors des grandes marées avec un bouchon vaseux très développé. Cette faible dégradation de la lignine à Honfleur en septembre 2015 pourrait être causée par une remise en suspension de lignine peu dégradée des sédiments. Toutefois, l'augmentation générale dans la MOP du rapport Ad/Al de la lignine vers l'aval suggère que, dans la phase particulaire, la lignine se dégrade le long de l'estuaire.

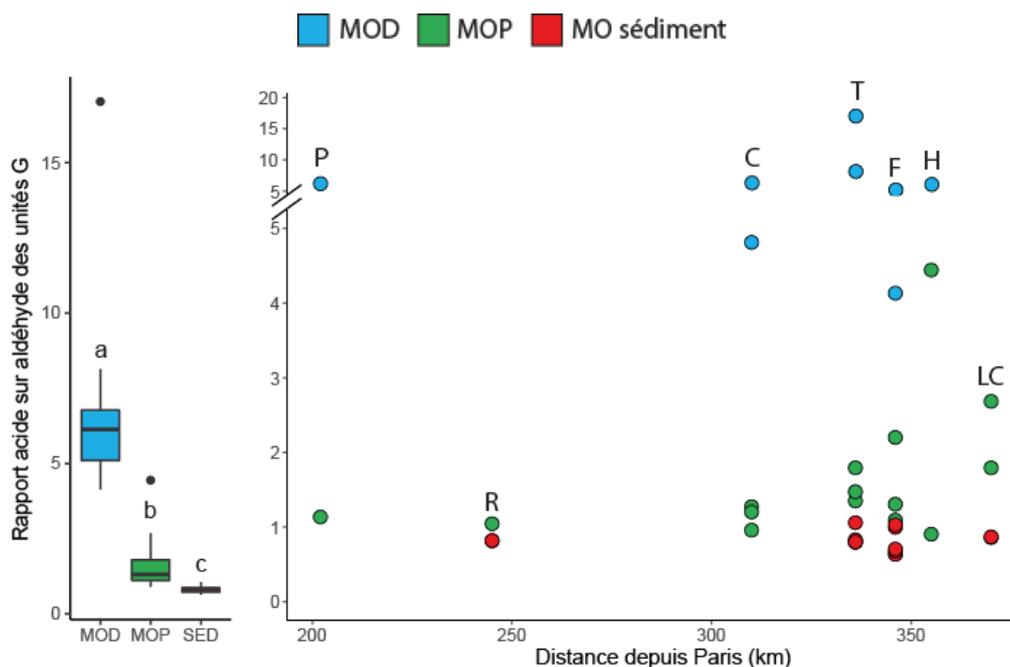


Figure 95 : Comparaison du rapport acide/aldéhyde des unités G de la lignine dans les trois compartiments de la MO de l'estuaire de Seine (gauche) et variation de ce dernier le long de l'estuaire de Seine (droite). P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.

b. La cutine

Les molécules utilisées pour suivre les variations relatives de la proportion en cutine dans les échantillons de l'estuaire sont listées dans le Tableau 12, page 199. Les marqueurs de la cutine sont absents de la MOD (Figure 96 gauche), ce qui est probablement dû au fait que cette macromolécule n'est pas soluble dans l'eau (Pallardy, 2008). L'abondance en cutine (normalisée par rapport à l'ensemble des molécules quantifiées) est plus importante dans le sédiment que dans la MOP, montrant encore une fois un enrichissement des sédiments en macromolécules issues des végétaux terrestres (Figure 96 gauche) comme démontré pour la lignine. Dans la MOP et dans les sédiments, les teneurs en cutine diminuent progressivement le long de l'estuaire à partir de Rouen (Figure 12 droite) et montrent ainsi un schéma de dégradation/dilution différent de la lignine, notamment dans le sédiment, où la proportion de lignine restait constante le long de l'estuaire de Seine (Figure 93). Ainsi, la cutine semble être plus rapidement dégradée que la lignine. La lignine est en effet le constituant des végétaux le moins réactif (Hedges, 1992).

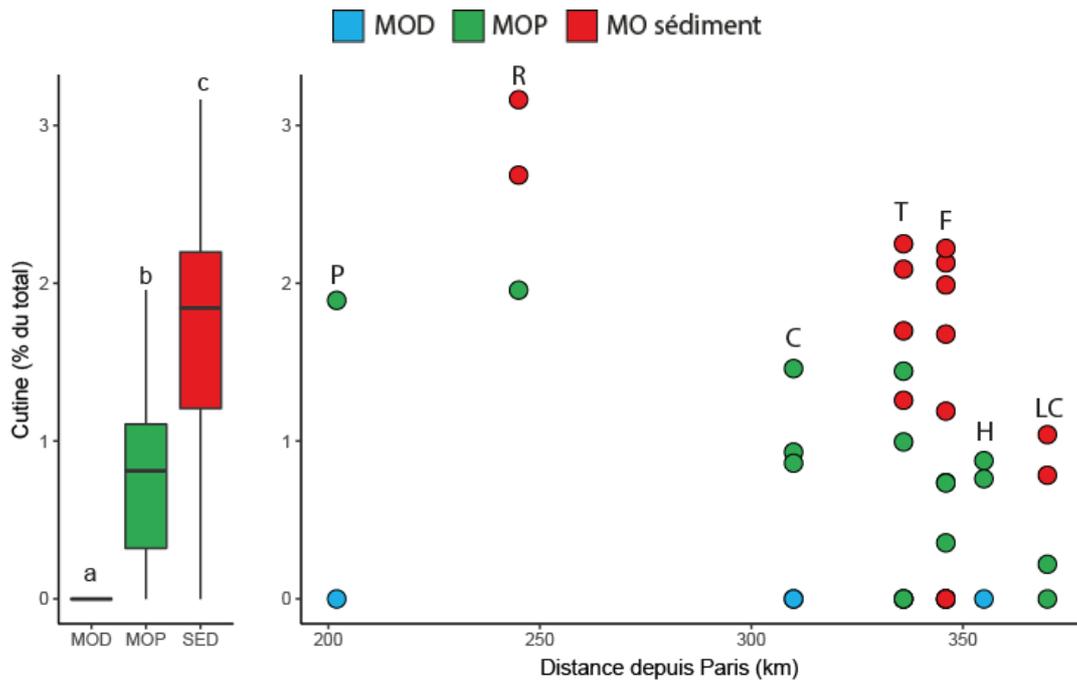


Figure 96 : Comparaison de la proportion de cutine entre la MOD, la MOP et le sédiment (gauche) et variation de la teneur en cutine le long de l'estuaire de Seine (droite). La MOD est en bleu, la MOP en vert et le sédiment en rouge. P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.

Afin d'estimer la variation relative de la proportion de la cutine par rapport à la lignine le long de l'estuaire, le rapport de l'abondance des marqueurs de ces deux macromolécules a été calculé. Ce dernier est comparable dans la MOP et le sédiment (Figure 97 gauche). Ce rapport diminue vers l'aval, ce qui montre que la lignine devient de plus en plus abondante par rapport à la cutine le long de l'estuaire de Seine (Figure 97 droite). Ainsi, aussi bien dans la MOP que dans le sédiment, la composition de la MO d'origine terrigène n'est pas constante le long de l'estuaire. Un enrichissement de la MO terrigène en lignine est observé en aval, la lignine étant supposée plus résistante à la dégradation que la cutine (Hedges, 1992; Opsahl and Benner, 1995).

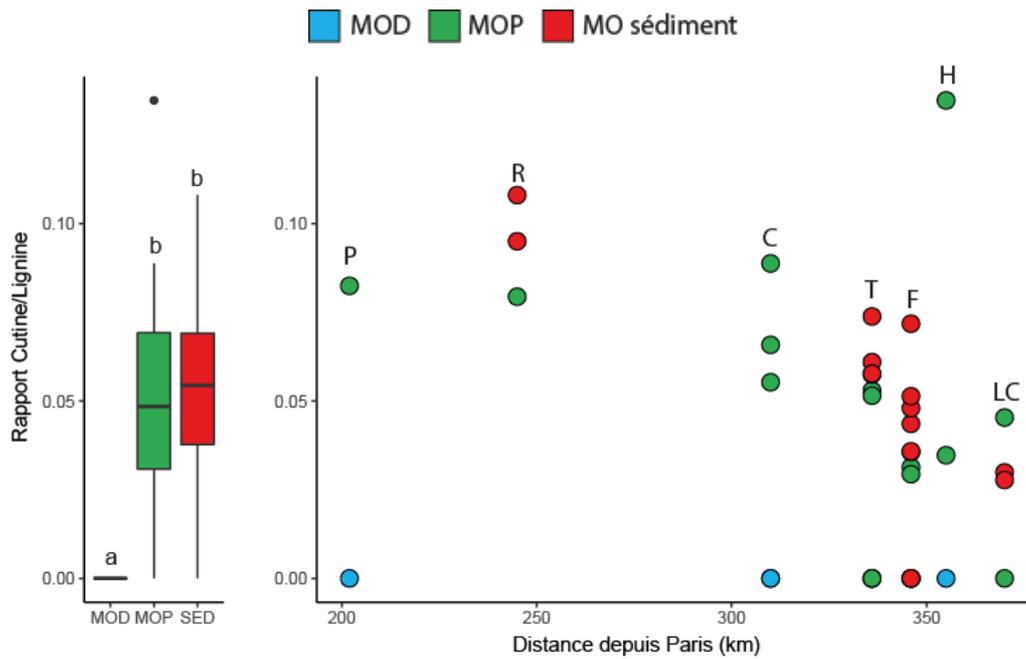


Figure 97 : Comparaison du rapport cutine/lignine dans les trois compartiments de la MO de l'estuaire de Seine (gauche) et variation de ce dernier le long de l'estuaire de Seine (droite). P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.

c. La subérine

La subérine est une macromolécule servant à protéger les parties souterraines des végétaux. Cette dernière se compose de molécules aliphatiques à longues chaînes (C_{22} et plus) et de cycles aromatiques (voir 1.5.3). Les molécules utilisées pour quantifier la subérine sont listées dans le Tableau 12, page 199. Comme la cutine, la subérine est quasi-absente des échantillons de MOD, et est présente en plus forte concentration dans le sédiment que la MOP (Figure 98 gauche). Dans le compartiment particulaire, la concentration en subérine montre une tendance proche de celle observée pour la lignine (Figure 9) et la cutine (Figure 13), avec une diminution le long de l'estuaire, et de fortes variations dans la zone du bouchon vaseux (Figure 98 droite). Pour le sédiment, la subérine montre également une diminution le long de l'estuaire, plus particulièrement dans la zone aval (Figure 98 droite).

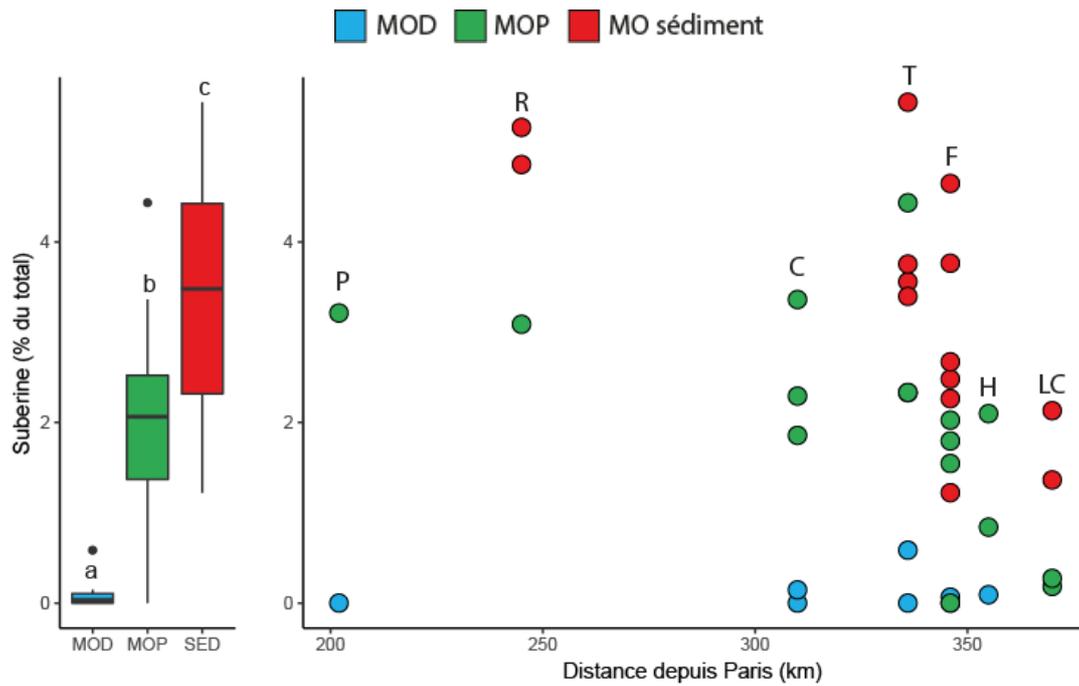


Figure 98 : Comparaison de la proportion de subérine entre la MOD, la MOP et le sédiment (gauche) et variation de la teneur en subérine le long de l'estuaire de Seine (droite). La MOD est en bleu, la MOP en vert et le sédiment en rouge. P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.

Le rapport subérine/lignine montre les mêmes tendances que celui de la cutine/lignine entre les 3 compartiments mais ne montre pas de tendance spatiale particulière dans le compartiment particulaire (Figure 99). A l'inverse, dans le sédiment, le rapport subérine/lignine tend à diminuer le long de l'estuaire (Figure 99). L'ensemble des résultats obtenus suggère que la MO sédimentaire terrigène s'enrichit en lignine vers l'aval, et s'appauvrit en subérine et en cutine.

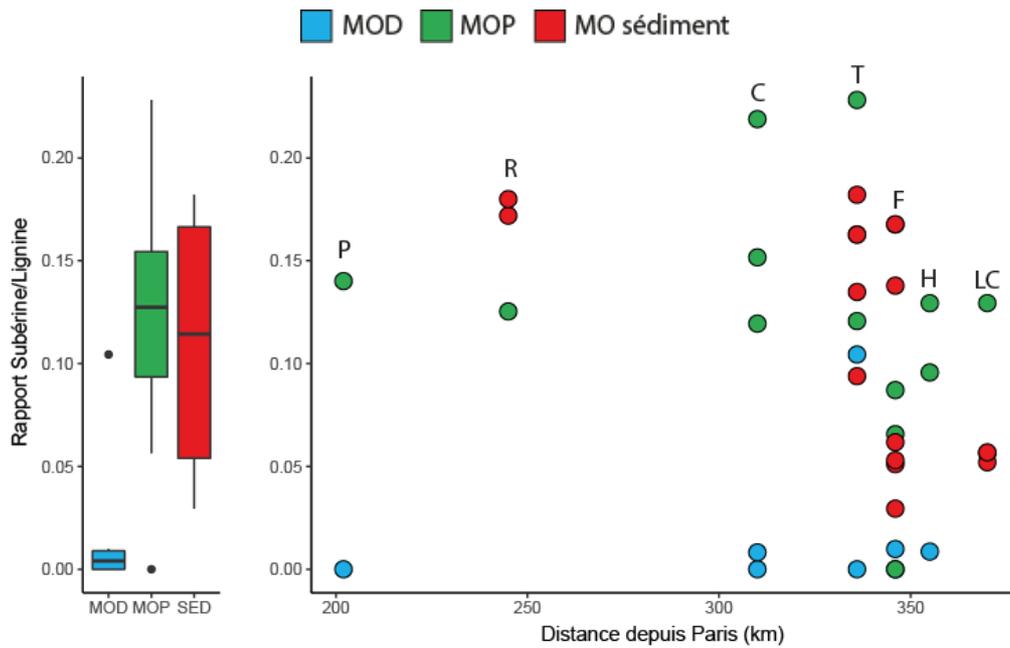


Figure 99 : Comparaison du rapport subérine/lignine dans les trois compartiments de la MO de l'estuaire de Seine (gauche) et variation de ce dernier le long de l'estuaire de Seine (droite). P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.

Un autre traceur de la MO terrigène, l'acide déhydroabiétique, confirme les observations ci-dessus puisque (1) il montre des proportions similaires dans la MOP et le sédiment, et est absent de la MOD (Figure 100) et (2) il est présent en proportion plus faible à La Carosse que dans le reste de l'estuaire, aussi bien dans le sédiment que dans la MOP (Figure 100).

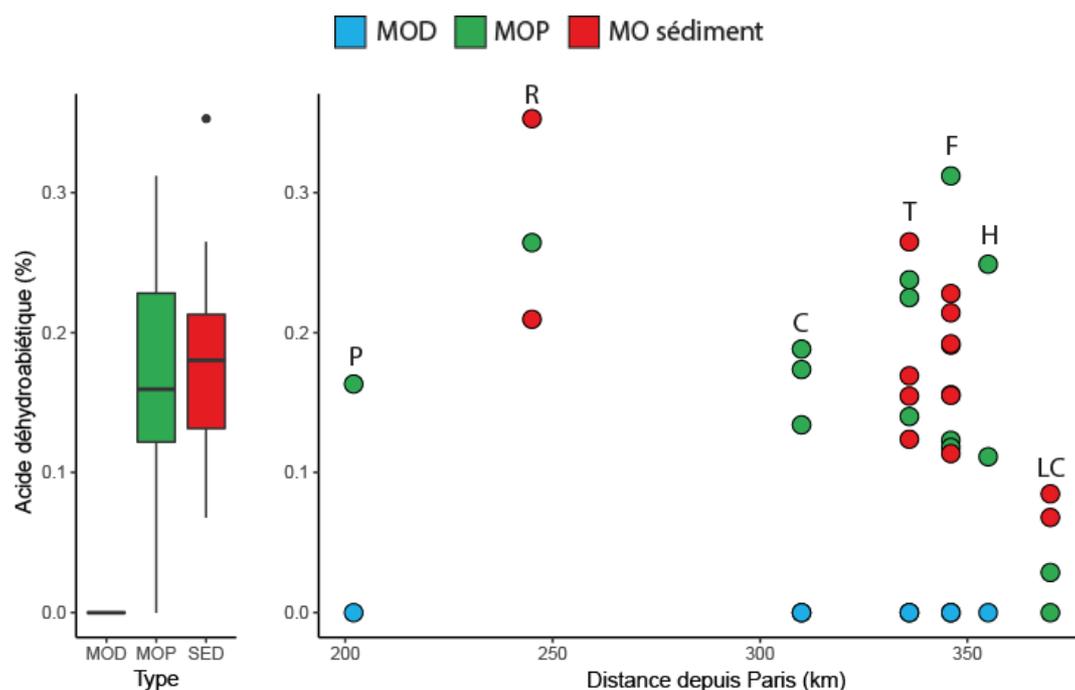


Figure 100 : Comparaison de la proportion d'acide déhydroabiétique dans les trois compartiments de la MO de l'estuaire de Seine (gauche) et variation de ce dernier le long de l'estuaire de Seine (droite). P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.

5.2.3 La MO bactérienne

Pour suivre la contribution de la MO bactérienne aux différents compartiments de la MO le long de l'estuaire, nous nous sommes intéressés à deux types de marqueurs, des acides gras et des sucres.

Les acides gras *iso* et *anteiso* reflètent l'origine bactérienne de la MO, notamment les homologues en C₁₅ et C₁₇. Ces composés sont abondants dans les pyrolysats de la MOP et des sédiments (entre 1 et 3% de l'ensemble des molécules quantifiées) mais presque absents de la MOD (Figure 101). Ces acides sont donc de bons traceurs de la biomasse bactérienne dans la MOP et dans le sédiment, mais pas dans le compartiment dissous. En effet, il est généralement admis que la MOD est soumise à une dégradation microbienne beaucoup plus intense mais également qu'elle est composée d'une bien plus faible portion de lipides (Bauer and Bianchi, 2011).

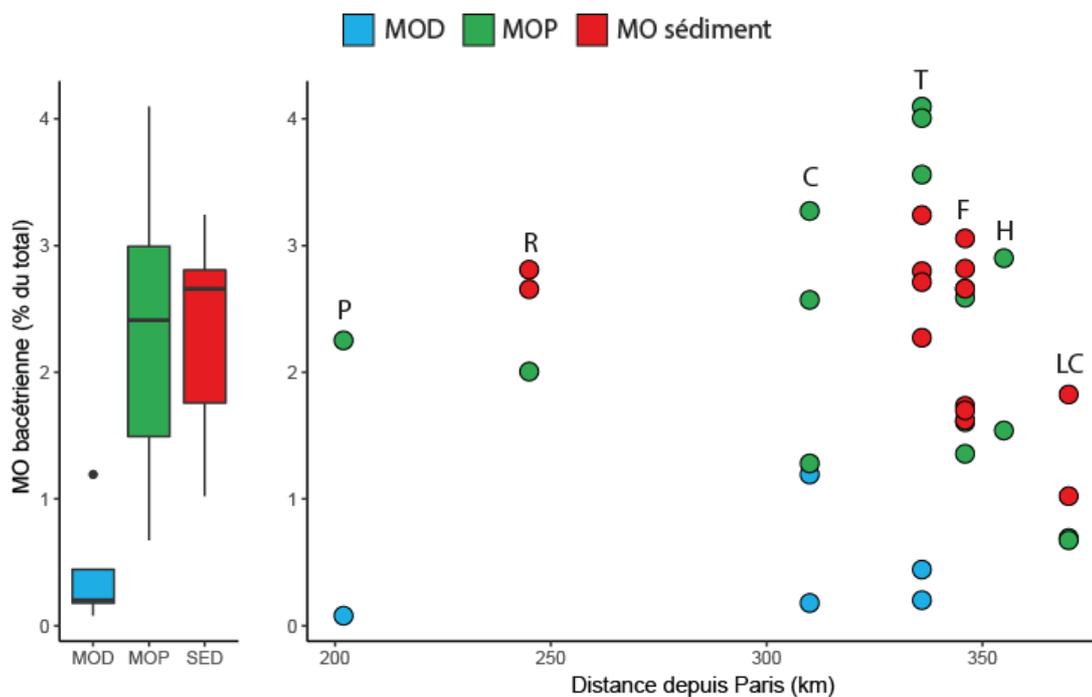


Figure 101 : Comparaison de la proportion de MO bactérienne basée sur l'abondance des AG *iso* et *anteiso* C₁₄, C₁₅, C₁₆ et C₁₇ entre la MOD, la MOP et le sédiment (gauche) et variation le long de l'estuaire de Seine (droite). La MOD est en bleu, la MOP en vert et le sédiment en rouge. P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.

La proportion en acides gras *iso/anteiso* en C₁₅ et C₁₇ est plus élevée à Tancarville et Fatouville qu'à l'aval, aussi bien dans la phase particulaire que le sédiment. Une telle tendance des acides gras *iso* et *anteiso* avait également été observé à partir des biomarqueurs lipidiques (cf. 4.2.2). Ceci est vraisemblablement lié à l'intense activité bactérienne qui a lieu dans le bouchon vaseux de l'estuaire de Seine (Servais and Garnier, 2006). Par ailleurs, dans la zone amont, les teneurs en acides gras *iso/anteiso* en C₁₅ et C₁₇ sont également fortes (Figure 101). Ces composés pourraient être également produits par des bactéries dans la zone amont, ou bien provenir des sols.

Certains sucres peuvent également avoir une origine bactérienne : les sucres aminés et les désoxyoses (Minor et al., 2001; Minor et al., 2002). La proportion des acides aldoniques dérivant des désoxyoses est d'ailleurs fortement corrélée à la proportion des sucres aminés reflétée par l'acétamide ($p = 0,63$ $p < 0,01$). Ainsi, les sucres aminés et désoxyoses semblent être produits par les mêmes organismes, i.e. des bactéries de la colonne d'eau. Nous avons donc considéré comme marqueurs de sucres bactériens la somme de ces composés. Leur abondance relative est similaire dans la MOD, la MOP et la MO sédimentaire, ce qui suggère

que l'activité bactérienne est comparable dans les 3 compartiments (Figure 102). Les variations spatiales des proportions en sucres bactériens dans la MOD et la MO sédimentaire sont limitées, contrairement à la MOP, avec une augmentation de la teneur en sucres bactériens dans le bouchon vaseux, et notamment à Fatouville (Figure 102). Ces observations sont en accord avec les résultats obtenus à partir des acides gras, qui suggéraient également une plus forte activité bactérienne dans le bouchon vaseux. Les bactéries en eaux salées sont capables de fortement dégrader la MO terrigène (Kisand et al., 2013), ce qui pourrait expliquer la forte dégradation de la MO terrigène observée en aval de la zone du bouchon vaseux de l'estuaire de Seine (Figure 93, Figure 95).

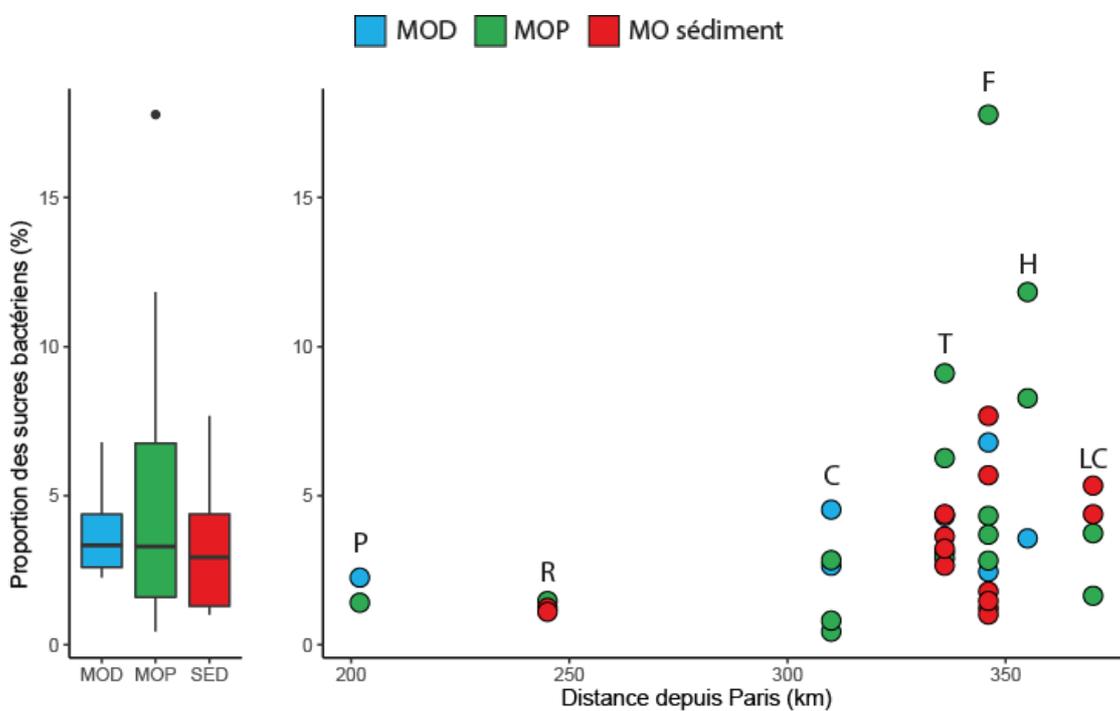


Figure 102 : Comparaison de la proportion de sucres bactériens entre la MOD, la MOP et le sédiment (gauche) et variation de la teneur en sucres bactériens le long de l'estuaire de Seine (droite). La MOD est en bleu, la MOP en vert et le sédiment en rouge. P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.

Dans la MOP et les sédiments, les proportions d'acides gras *iso* et *anteiso* et de sucres bactériens ne montrent pas de corrélation ($\rho = 0,21$, $p = 0,27$). La forte corrélation ($\rho = 0,64$ et $p < 0,01$) entre la subérine et les acides gras *iso* et *anteiso* pourrait suggérer une origine commune de ces deux traceurs : les sols. A l'inverse les sucres microbiens seraient plutôt produits au sein de la colonne d'eau (da Cunha et al., 2000).

5.2.4 La MO aquatique

La thermochemiolyse est un outil puissant pour caractériser la MO terrigène et microbienne. Nous allons maintenant nous intéresser à une nouvelle source de MO : la MO aquatique produite *in situ* par le phytoplancton dans l'estuaire de Seine. Pour cela, nous allons étudier les acides gras.

La MO aquatique est généralement enrichie en MO labile comme des sucres ou des protéines (Meon and Kirchman, 2001). Toutefois, les sucres et protéines sont des molécules ubiquistes et peuvent avoir une origine terrestre. Dans le chapitre 4, nous avons vu que l'acide gras C₁₄ peut être utilisé comme marqueur du phytoplancton (4.2.2). Ce dernier pourrait également être utilisé à partir des thermochemiolyse pour suivre ce type de MO. Il faut noter qu'il n'est pas possible de suivre l'évolution de la MOD aquatique avec ce lipide, logiquement peu abondant dans la phase dissoute (Figure 103). La proportion de MO aquatique semble plus importante dans la MOP que dans la MO sédimentaire et dans la phase particulaire augmente de l'amont vers l'aval de l'estuaire (Figure 103). Cela confirme les résultats obtenus dans les chapitres 3 et 4, i.e. une diminution de la proportion de MOP terrigène le long de l'estuaire.

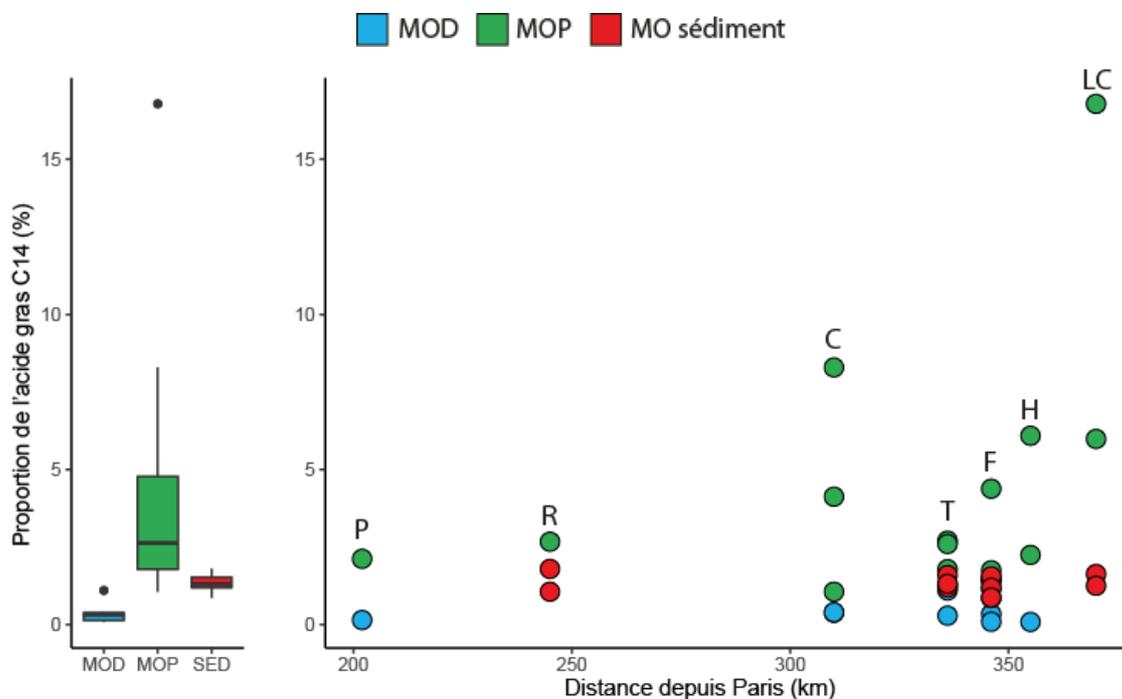


Figure 103 : Comparaison de la proportion de l'acide gras en C₁₄ dans la MOD, la MOP et le sédiment (gauche) et variation de la teneur en acides gras C₁₄ le long de l'estuaire de Seine (droite). La MOD est en bleu, la MOP en vert et le sédiment en rouge. P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.

5.2.5 La MO anthropique

Dans les précédentes parties, nous nous sommes intéressés aux différentes sources naturelles de la MO dans l'estuaire de Seine (terrignène, bactérienne et aquatique). Toutefois, l'estuaire de Seine est également soumis à d'importants rejets de stations d'épurations qui vont pouvoir apporter de nouvelles molécules dans l'estuaire.

Le coprostanol a été identifié dans les produits de pyrolyse des MOP et des sédiments, mais pas dans les MOD. Ce dernier est produit par thermovaporisation des molécules adsorbées sur la phase solide. Classiquement, le coprostanol est analysé après extraction des lipides de la matrice sédimentaire, comme vu dans le chapitre 4. Ce composé est utilisé pour estimer la pollution fécale humaine via, entre autres, le calcul du rapport coprostanol/cholestanol (voir 1.5.2 et 4.2.3). Toutefois, à notre connaissance, ce rapport n'a jamais été déterminé à partir de pyrochromatogrammes. Il est donc nécessaire dans un premier temps de vérifier s'il est possible d'utiliser de manière fiable le rapport coprostanol/cholestanol calculé après pyrolyse. Pour cela, le rapport coprostanol/cholestanol estimé après analyse directe des lipides des sédiments a été comparé à celui obtenu par pyrolyse des mêmes échantillons. Les deux rapports obtenus sont très fortement corrélés, avec une relation linéaire proche de la droite 1:1 (Figure 104). Cela montre qu'il est possible d'utiliser le rapport coprostanol/cholestérol déterminé par pyrolyse afin d'estimer la contamination fécale dans l'ensemble des échantillons de l'estuaire de Seine, notamment ceux pour lesquels les lipides n'ont pas été analysés.

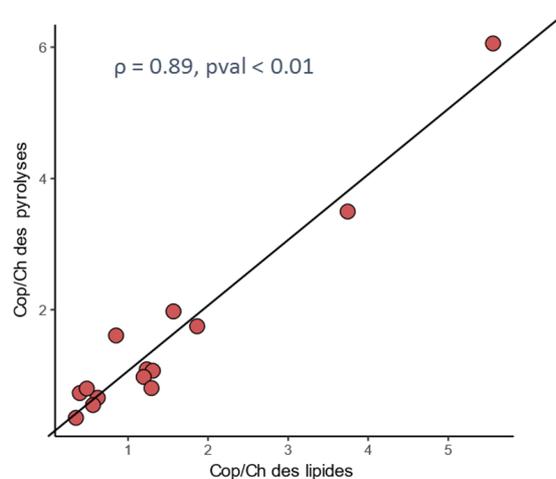


Figure 104 : Comparaison du rapport coprostanol/cholestanol mesuré après extraction des lipides et après pyrolyse.

Le rapport coprostanol/cholestanol a donc été calculé pour l'ensemble des échantillons de sédiment et de MOP de l'estuaire, ces deux composés étant absents de la phase dissoute. Le rapport coprostanol/cholestanol diminue régulièrement le long de l'estuaire de Seine, aussi bien pour la MOP que pour le sédiment (Figure 105). Cela peut refléter une dilution du coprostanol lors du mélange des masses d'eau douce et marine et/ou une dégradation du cholestérol en cholestanol le long de l'estuaire de Seine. Cette tendance est similaire à celle observée lors de l'analyse des lipides extraits des sédiments (voir 4.2.3). Le rapport de contamination fécale montre la valeur la plus élevée au début de l'estuaire (Poses) ce qui suggère que l'origine de la contamination fécale est située plus en amont de l'estuaire, i.e. dans l'agglomération parisienne (ce point sera discuté dans le chapitre suivant). La station d'épuration de Rouen semble elle avoir un impact limité sur la contamination fécale de la MOP et des sédiments dans l'estuaire de Seine. Des résultats similaires avaient déjà été observés pour la contamination en composés pharmaceutiques dans l'estuaire de Seine, qui proviennent majoritairement de l'agglomération parisienne (Tamtam et al., 2008).

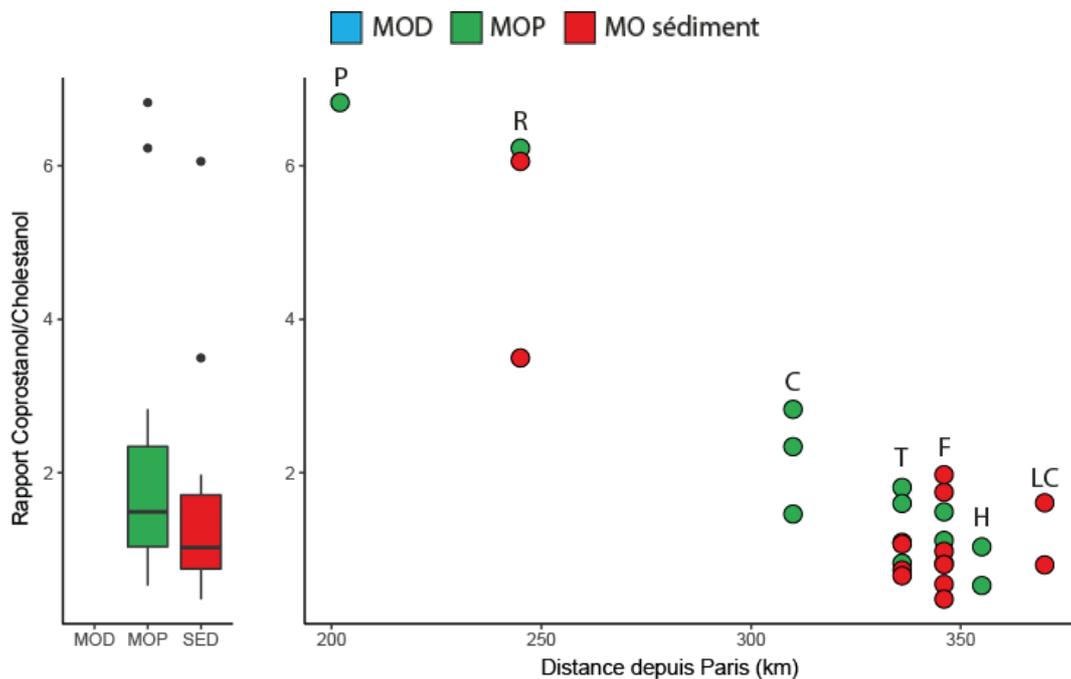


Figure 105 : Comparaison du rapport coprostanol/cholestanol entre la MOP et le sédiment (gauche) et variation du rapport coprostanol/cholestanol le long de l'estuaire de Seine (droite). La MOD est en bleu, la MOP en vert et le sédiment en rouge. P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.

5.2.6 Cas des carbohydrates et des composés azotés

Alors qu'il est possible d'attribuer une origine -terrigène, bactérienne ou aquatique- quasi univoque à de nombreux composés comme décrit ci-dessus, d'autres composés comme certains carbohydrates et les composés azotés sont présents chez tous les organismes et il est plus difficile d'en déterminer la source.

a. L'origine des carbohydrates

Plusieurs rapports peuvent être utilisés pour préciser l'origine des sucres, comme le rapport galactose + mannose sur arabinose + xylose qui est faible ($< 0,5$) lorsque les sucres proviennent de végétaux terrestres et augmente (> 2) lorsqu'ils sont d'origine bactérienne (Oades, 1984) ou bien le rapport des hexoses sur les pentoses, qui diminue lors de la dégradation des sucres dans les sols (da Cunha et al., 2002).

Le rapport proposé par Oades (1984) a été appliqué aux échantillons de l'estuaire de Seine. Toutefois, comme le mannose co-élue avec le glucose, il n'a pas été pris en compte dans le calcul, conduisant à une sous-estimation du rapport. Ce rapport est faible dans la MOD et le sédiment (Figure 106). Ainsi, dans ces deux compartiments, les acides aldoniques semblent plutôt provenir de la pyrolyse de sucres produits par des végétaux terrestres alors que dans la MOP, ces derniers semblent avoir une origine plus microbienne. Dans la MOP, le rapport est variable, avec une forte variabilité saisonnière observée à Caudebec, mais également des valeurs plus fortes dans le bouchon vaseux et en aval (Figure 106). Ainsi, en amont de l'estuaire (Poses, Rouen et parfois Caudebec), les acides aldoniques proviennent de sucres terrigènes, alors que la proportion de sucres d'origine microbienne augmente vers l'aval.

Le rapport hexoses/pentoses des échantillons de l'estuaire de Seine est fortement corrélé au rapport du galactose/arabinose + xylose ($p = 0,72$ $p < 0,01$) et conforte donc l'idée d'un changement de source des sucres dans la MOP dans l'estuaire. Toutefois l'origine des sucres microbiens produits à l'aval n'est pas univoque, puisqu'ils peuvent provenir du phytoplancton comme des bactéries.

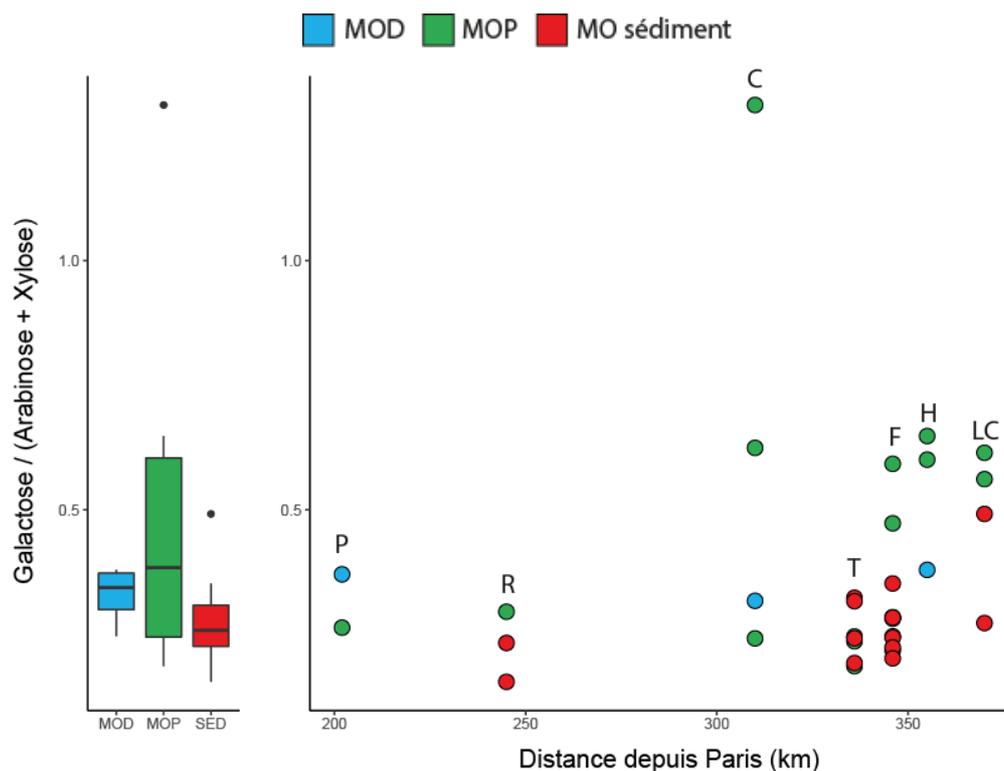


Figure 106 : Comparaison du rapport galactose/arabinose+xylose entre la MOP et le sédiment (gauche) et variation du rapport galactose/arabinose+xylose le long de l'estuaire de Seine (droite). La MOD est en bleu, la MOP en vert et le sédiment en rouge. P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.

Deux produits de pyrolyses des carbohydrates ont été identifiés dans les échantillons de l'estuaire de Seine : les acides aldoniques et les furanes. Ci-dessus, nous avons démontré l'origine mixte (terrigène et microbienne/aquatique) des acides aldoniques. Nous allons maintenant nous intéresser à l'origine des furanes.

Les abondances relatives de ces deux familles ne montrent aucune corrélation ce qui semble indiquer des sucres précurseurs différents. Le rapport furanes/furanes + acides aldoniques permet de tracer l'évolution relative de deux sources le long de l'estuaire de Seine. Il n'a pu être calculé que pour deux échantillons de MOD et ne sera discuté que pour les compartiments particuliers et sédimentaires. Le long de l'estuaire de Seine le rapport furanes/furanes + acide aldonique diminue progressivement vers l'aval pour les MOP et la MO sédimentaire (Figure 107). Ainsi, les précurseurs des furanes sont moins abondants vers l'aval, à l'inverse des précurseurs des acides aldoniques. Le rapport furanes/furanes + acide aldonique est anticorrélé au rapport galactose/arabinose + xylose ($\rho = -0,59$ et $p < 0,05$) ainsi qu'au rapport hexoses/pentose ($\rho = -0,57$ et $p < 0,05$) calculés précédemment. Ainsi, plus la

proportion de furanes est importante par rapport aux acides aldoniques, plus ces derniers sont issus des végétaux terrestres. Ces observations suggèrent ainsi une origine plutôt terrigène des précurseurs des furanes.

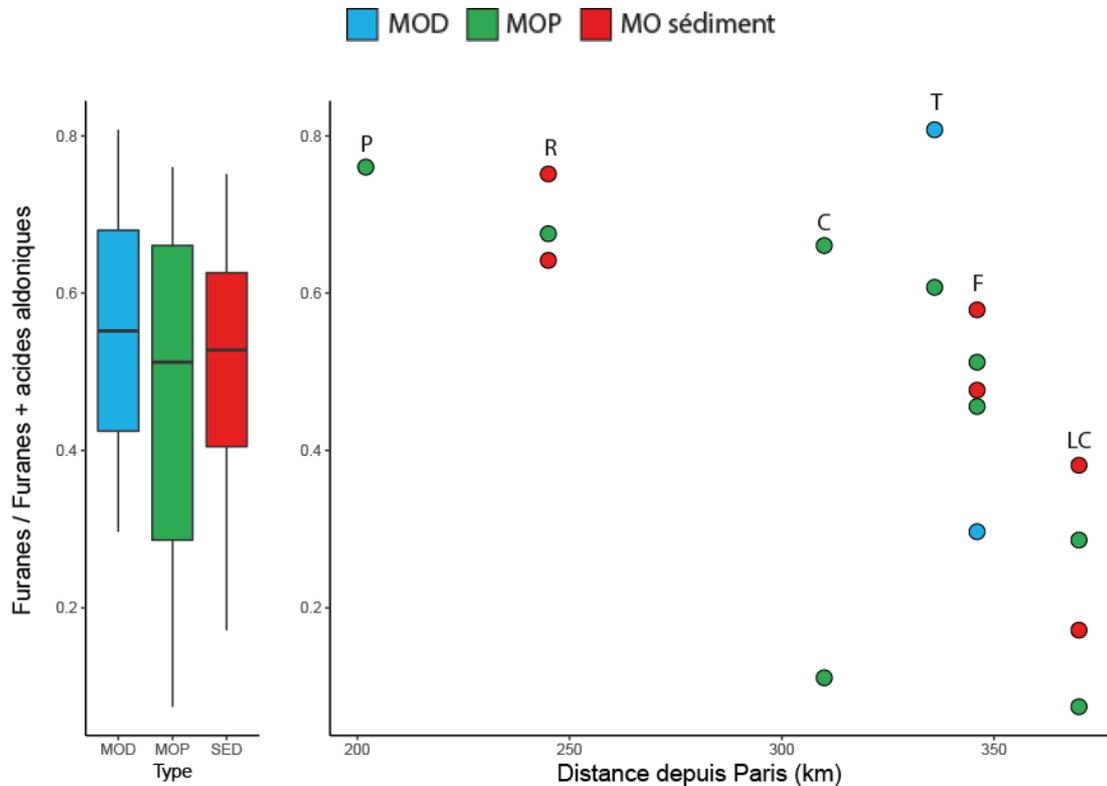


Figure 107 : Comparaison du rapport furanes/furanes + acides aldoniques entre la MOP et le sédiment (gauche) et variation du rapport furanes/furanes + acides aldoniques le long de l'estuaire de Seine (droite). La MOD est en bleu, la MOP en vert et le sédiment en rouge. P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse

b. L'origine des protéines

L'identification des sources des protéines est complexe, puisque les végétaux terrestres, les macrophytes, le zooplancton, le phytoplancton, les bactéries et les champignons ont une composition en acides aminés très proche (Cowie and Hedges, 1992). Toutefois, de fortes concentrations en acides aminés dans les eaux sont associées à une plus forte activité bactérienne (Lee, 1993).

Les composés azotés sont abondants dans l'ensemble des échantillons (entre 13 et 70% du total des molécules quantifiées, et en moyenne de 30%). Leur concentration est plus élevée dans la MOD que dans la MOP et dans le sédiment (Figure 108). Ceci pourrait témoigner d'une activité biologique plus importante dans la phase dissoute. Les teneurs en composés azotés

montrent peu de variations dans les sédiments (Figure 108), ce qui pourrait être lié à une bonne préservation des composés azotés dans le sédiment, ou bien à un équilibre entre apports et dégradation en ces molécules. Pour la MOP, les teneurs en composés azotés montrent une forte variabilité saisonnière à Caudebec et dans le bouchon vaseux (Figure 108), ce qui pourrait témoigner d'une plus forte activité biologique. Toutefois, les concentrations en composés azotés ne sont corrélés ni avec celles en lipides bactériens ($\rho = -0,20$ et $p = 0,26$), ni avec celles en sucres bactériens ($\rho = 0,18$ et $p = 0,29$). Cela indique que l'origine des composés azotés est complexe et qu'ils proviennent probablement de plusieurs sources y compris des sources terrigènes. En effet, les pyrroles peuvent également provenir de la pyrolyse de la chlorophylle (Ishiwatari et al., 1991).

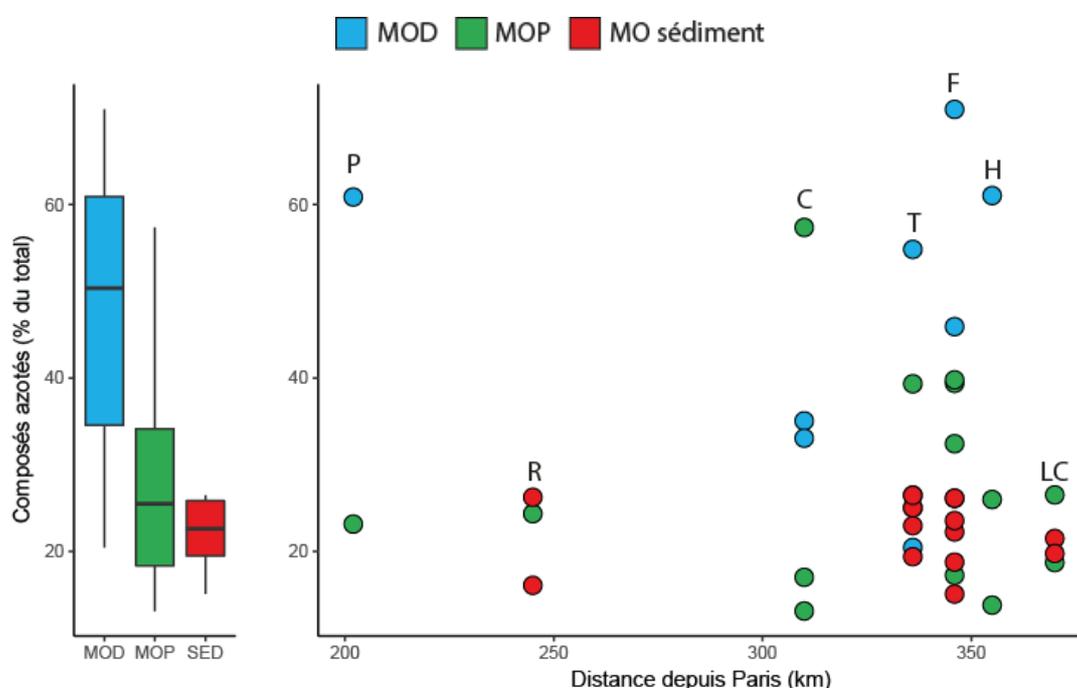


Figure 108 : Comparaison de la proportion en composés azotés entre la MOD, la MOP et le sédiment (gauche) et variation de la teneur en composés azotés le long de l'estuaire de Seine (droite). La MOD est en bleu, la MOP en vert et le sédiment en rouge. P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.

Afin d'essayer de préciser les sources des composés azotés, une analyse des corrélations entre chaque composé individuel et différentes familles de molécules étudiées précédemment a été réalisée (sucres bactériens : 5.2.3, lipides bactériens : 5.2.3, MO terrigène : 5.2.2, MO aquatique : 5.2.4 et MO fécale : 5.2.5; Tableau 1). Chaque composé azoté montre des comportements différents en fonction du groupe de MO considéré ce qui confirme l'origine multiple des composés azotés (Tableau 10).

Tableau 10 : Tableau des coefficient de corrélation (ρ) entre les familles de composés azotés et les groupes de MO observés dans l'estuaire de Seine. Les cases noires montrent des corrélations non significative ($p > 0,05$).

	Sucres bactériens	Lipides bactériens	MO terrigène	MO aquatique	MO fécale
Glycine		-0.73	-0.50	-0.54	
Alanine		-0.53	-0.55		
Valine	0.39		-0.32		-0.49
Acide Aspartique		-0.5		-0.85	
Proline	0.49	0.51	0.33	0.35	-0.79
Leucine	0.40			0.61	
Glutamine et acide glutamique			0.4		
Tyrosine	0.49				-0.49
Isoleucine	0.47				-0.66
Phénylalanine	0.55				
Tryptophane		0.74	0.71		
Asparagine				-0.64	0.47
Indoles				-0.65	
Pyrroles		0.66	0.58		-0.45
Base ADN				0.49	0.71

5.2.7 Comparaison de la composition macromoléculaire obtenue par thermochimiolyse et par RMN

L'utilisation d'un modèle de mélange moléculaire sur les spectres RMN des échantillons de l'estuaire de Seine (cf. chapitre 3) a permis de calculer les proportions en différentes macromolécules constitutives de la MO : les carbohydrates, les protéines, la lignine, les lipides, les charbons en y ajoutant les fonctions carbonyles. La thermochimiolyse a également permis de distinguer plusieurs constituants principaux de la MO de l'estuaire de Seine. Les deux techniques de caractérisation de la MO ont été comparées par corrélations (Tableau 11).

Ainsi, la quantité en lignine obtenue par thermochimiolyse est corrélée aux teneurs en lignine et en charbon estimée par la RMN (Tableau 11). La proportion en charbon est calculé à partir des carbones aromatiques (Baldock et al., 2004) qui sont également présent en abondance dans la lignine. Des produits de pyrolyses des charbons (e.g. toluène et quelques HAP ont été identifié dans les produits de pyrolyses, mais non quantifiés). Cela démontre bien la complémentarité des deux méthodes, et valide ainsi les deux approches utilisées. D'autres produits de pyrolyses sont également fortement corrélés à la lignine et aux charbons calculés en RMN : il s'agit de la cutine, de la subérine, des lipides bactériens et des furanes (Tableau

11). Cela confirme donc les hypothèses sur une origine principalement terrigène de ces derniers. A l'inverse, la proportion de produits de pyrolyses des acides aminés est également corrélée à la quantité de protéines calculées à partir de la RMN (Tableau 11), ce qui valide de nouveau les deux approches. Toutefois, aucune corrélation forte n'est observée entre les produits de pyrolyses des sucres, et les carbohydrates totaux estimés à partir de la RMN (Tableau 11), reflétant les limites de la thermochemiolyse pour caractériser les carbohydrates (Gauthier et al., 2002).

Tableau 11 : Tableau des coefficients de corrélation (ρ) entre les familles de molécules calculées à partir des spectres RMN (colonnes) et les familles de molécules observés en thermochemiolyse (lignes) dans l'estuaire de Seine. Les cases noires montrent des corrélations non significative ($p > 0,05$).

		RMN					
		Carbohydrates	Protéines	Lignine	Lipides	Carbonyles	Charbon
Pyrolyse	Lignine		-0.65	0.65	-0.62		0.67
	Cutine	0.45	-0.58	0.44	-0.54		0.46
	Subérine		-0.6	0.6	-0.54		0.66
	Lipides bact		-0.51	0.54	-0.49		0.59
	Sucres bact						
	Furanes			0.6			0.69
	Aldonique	-0.43					
	Acides aminés		0.51	-0.53	0.44		-0.54
	Coprostanol						
	ADN					-0.46	

De plus, le modèle de mélange moléculaire avait pu mettre en évidence un appauvrissement de la MOP en lignine vers l'aval, associé à une augmentation de la teneur en protéines, indiquée par le rapport protéines/lignine (P/L) (voir 3.3.2, Figure 54), ce même rapport a été calculé sur les thermochemiolyse en divisant la teneur en acides aminés par celle des dérivés de la lignine. Les rapports P/L calculés à partir de la RMN et de la pyrolyse montrent une bonne corrélation ($\rho = 0,62$ et $p = 0,01$; Figure 109). Ainsi, les analyses par thermochemiolyse semblent permettre d'avoir accès aux propriétés de l'ensemble de la MOP.

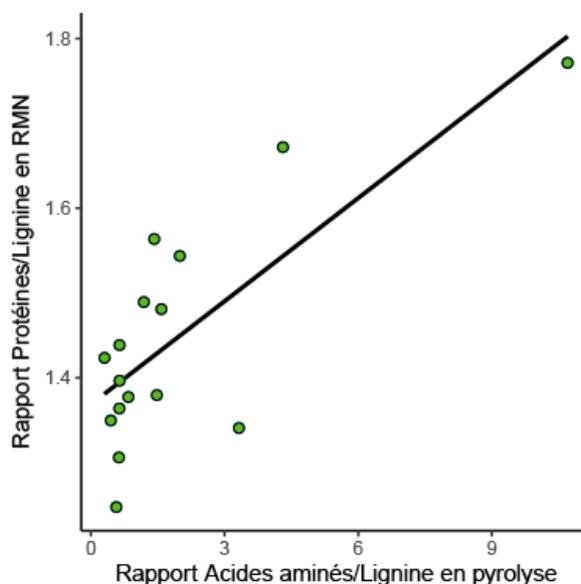


Figure 109 : Relation entre le rapport acides aminés/lignine calculés sur les pyrolyses et le rapport protéines/lignine calculés à partir des spectres RMN.

5.2.8 Comparaison de la composition macromoléculaire entre le sédiment et la MOP

La thermochimiolyse a permis de mettre en évidence des caractéristiques entre la MOP et le sédiment. Afin d'interpréter plus finement les variations de composition de la MO entre la colonne d'eau et le sédiment, un nouvel indice a été calculé : le ΔMOP (Eq. 13).

$$\Delta MOP_x = \frac{x_{MOP} - x_{SED\ surface}}{x_{SED\ surface}} \quad (\text{Eq. 13})$$

Cet indice reflète les différences de teneur de chaque composé (noté x) quantifié par pyrolyse entre la MOP et le sédiment de surface. Pour harmoniser les valeurs de cet indice et ainsi avoir des gammes de variations proches pour l'ensemble des macromolécules, les valeurs obtenues sont normalisées par rapport à la teneur du composé x dans le sédiment de surface. Les sédiments résultent du dépôt des matières en suspension. Si aucun processus de production ou de dégradation de la MO n'a lieu dans le sédiment, alors, le ΔMOP sera faible ou nul. A l'inverse, si une partie de la MO se dégrade dans le sédiment le ΔMOP va être positif alors qu'un ΔMOP négatif témoigne de molécules plus abondantes dans le sédiment.

Le ΔMOP a été calculé pour 7 groupes de produits de pyrolyses (Figure 110) :

- Les sucres bactériens qui sont la somme des sucres aminés et des désoxyoses. Ces derniers sont présents dans des proportions similaires dans la MOP et la MO sédimentaire à l'amont et l'aval, et sont les plus abondants dans la phase particulaire du bouchon vaseux (Figure 110). Ainsi, les MOP du bouchon vaseux enregistrent une très forte activité microbienne liée à la production de sucres dans la colonne d'eau.
- Les lipides bactériens qui sont la somme des acides gras *iso* et *anteiso* C₁₅ et C₁₇. Ces derniers sont présents dans des proportions similaires entre la MOP et le sédiment (Figure 110). Cela témoigne donc d'un apport et d'une production de lipides bactériens similaire dans la colonne d'eau et dans le sédiment.
- La MO terrigène qui est la somme de la lignine, de la cutine, de la subérine et des furanes. Les MOP sont toujours appauvries en MO terrigène par rapport au sédiment, d'autant plus à l'aval (Figure 110). Cela témoigne d'un appauvrissement progressif des MOP en MO terrigène vers l'aval, alors que cette dernière est plus stable dans le sédiment.
- La MO aquatique qui n'est reflétée que par l'acide gras C₁₄. Il est observé un enrichissement des MOP en MO aquatique, de plus en plus marqué vers l'aval (Figure 110). Ces observations sur la MO terrigène et aquatique confirment également les résultats préliminaires obtenus suite à l'analyse des biomarqueurs lipidiques sur les MOP (voir 4.2.3).
- La MO fécale qui est représentée par la quantité de coprostanol dans les produits de pyrolyses. Dans la zone amont, la MOP et le sédiment semblent avoir une quantité proche de MO fécale. Dans le bouchon vaseux, la MOP est enrichie en MO fécale par rapport au sédiment et l'inverse est observé à l'aval (Figure 110).
- La somme de la glycine et de l'alanine et les bases de l'ADN montre toutes les deux un enrichissement dans la phase particulaire comparé au sédiment (Figure 110). Ceci témoigne donc d'un enrichissement des MOP en MO plus labile (Lee, 1993; Volk et al., 1997; Dell'Anno et al., 1998), alors que le sédiment est plus riche en MO terrigène, plus réfractaire.

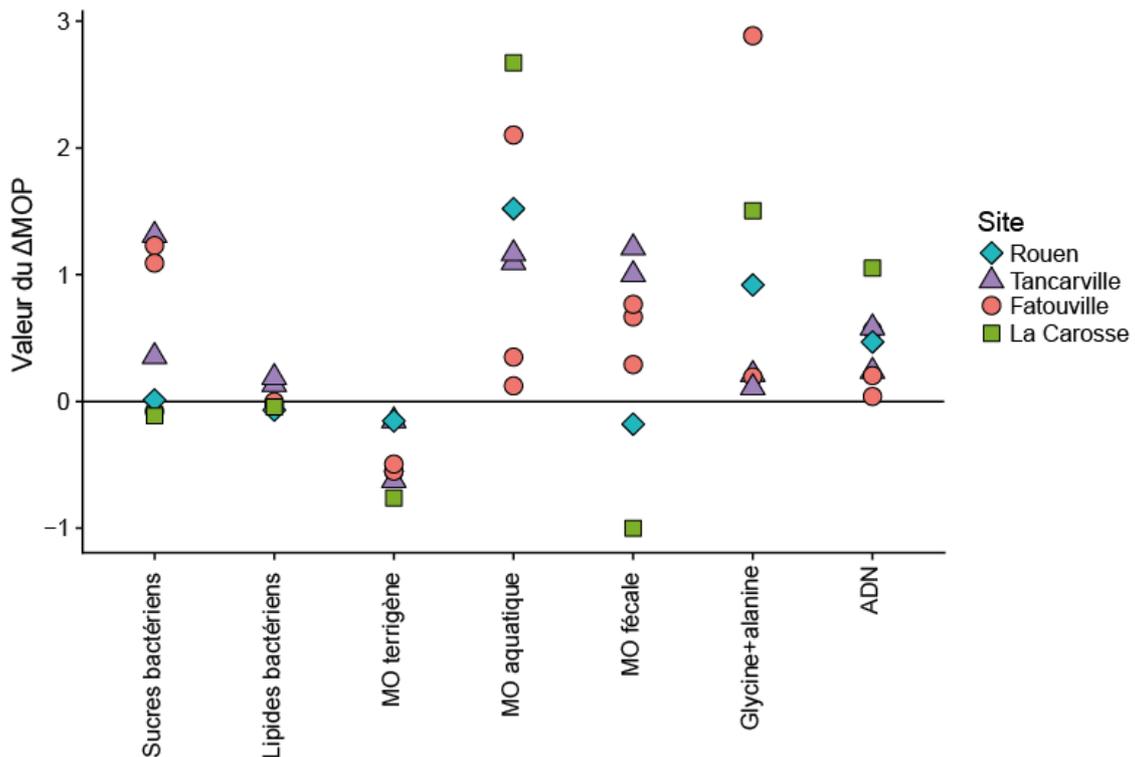


Figure 110 : Valeur du Δ MOP pour chaque site et pour chaque composant de la MO dans l'estuaire de Seine.

Ce travail montre donc qu'afin de mieux comprendre la dynamique de la MO au niveau moléculaire dans les estuaires, il est nécessaire de la caractériser à la fois dans la colonne d'eau et le sédiment, la MO sédimentaire et particulaire montrant des compositions et des dynamiques très différentes. Ces différences de composition avaient également été vues après la caractérisation de la MO de l'estuaire de Seine au niveau global et structural (chapitre 3). Ainsi, étudier seulement la MO sédimentaire dans les estuaires pourra conduire à une surestimation de la proportion des constituants terrigènes de la MO par rapport aux composés plus labiles. Cela pourrait en partie expliquer pourquoi la majorité des biomarqueurs lipidiques analysés dans les sédiments de l'estuaire de Seine témoignent d'une source principalement terrigène de la MO dans ce compartiment (cf. chapitre 4). Un tel enrichissement des MOP en MO aquatique et des sédiments en MO terrigène a été récemment démontré dans l'estuaire de la rivière des Perles (Chine ; Guo et al., 2019).

5.2.9 Variations des propriétés de la MO le long des carottes de sédiment

Après avoir comparé la MOP avec la MO des sédiments de surface, on peut s'intéresser à l'évolution de la MO au sein du sédiment. Pour cela, nous avons comparé les sédiments de surface avec ceux prélevés à 9-10 cm. Cette partie permettra également une comparaison avec l'évolution des propriétés de la MO sédimentaire obtenus à partir des biomarqueurs lipidiques (cf. chapitre 4). Toutefois ces comparaisons ne seront faites que sur 2 profondeurs, et devront donc être prise avec précautions.

Dans les sédiments de surface (0-1 cm de profondeur), les produits de pyrolyse de la lignine représentent pour la plupart des sites entre 25 et 30% de l'ensemble des composés quantifiés, excepté pour la carotte prélevée à Fatouville en avril 2016 où la quantité de lignine est très élevée en surface (44%) et celle prélevée à Tancarville avril 2015 où elle est légèrement plus faible (22%, Figure 111). La teneur en lignine augmente avec la profondeur pour la quasi-totalité des carottes, de même que l'âge de la MO sédimentaire (voir 4.2.1 pour les âges de la MO sédimentaire). Cela témoigne d'un enrichissement de la MO sédimentaire en lignine lors de son enfouissement. Deux exceptions sont cependant observées. La première est à Rouen, où l'ensemble des sédiments sont d'âge moderne (postérieur à 1950), ce qui pourrait expliquer la faible variabilité des teneurs en lignine avec la profondeur. En effet, la MO sédimentaire y est récente tout le long de la carotte, et la MO aquatique, plus labile, n'a pas encore eu le temps de s'y dégrader et par conséquent, il n'y a pas d'augmentation de la proportion en MO terrigène avec la profondeur. La deuxième exception concerne la carotte de Fatouville prélevée en avril 2016 (Figure 111). L'âge de la MO sédimentaire y est plus vieux en surface (1335 ans AD) qu'en profondeur (1644 ans AD), ce qui peut expliquer l'appauvrissement relatif en lignine en profondeur observé au niveau de ce site. En effet, l'âge de la MO sédimentaire est plutôt anticorrélé à la teneur en lignine ($\rho = -0,57$ et $p < 0,05$) et l'enrichissement en lignine entre le sédiment de surface et la profondeur est très fortement anticorrélé à la variation de l'âge de la MO sédimentaire ($\rho = -0,89$ et $p = 0,01$) ce qui témoigne d'un âge plus ancien des sédiments plus riches en lignine et d'une augmentation de l'âge de la MO sédimentaire par une augmentation de la proportion relative en lignine dans les sédiments.

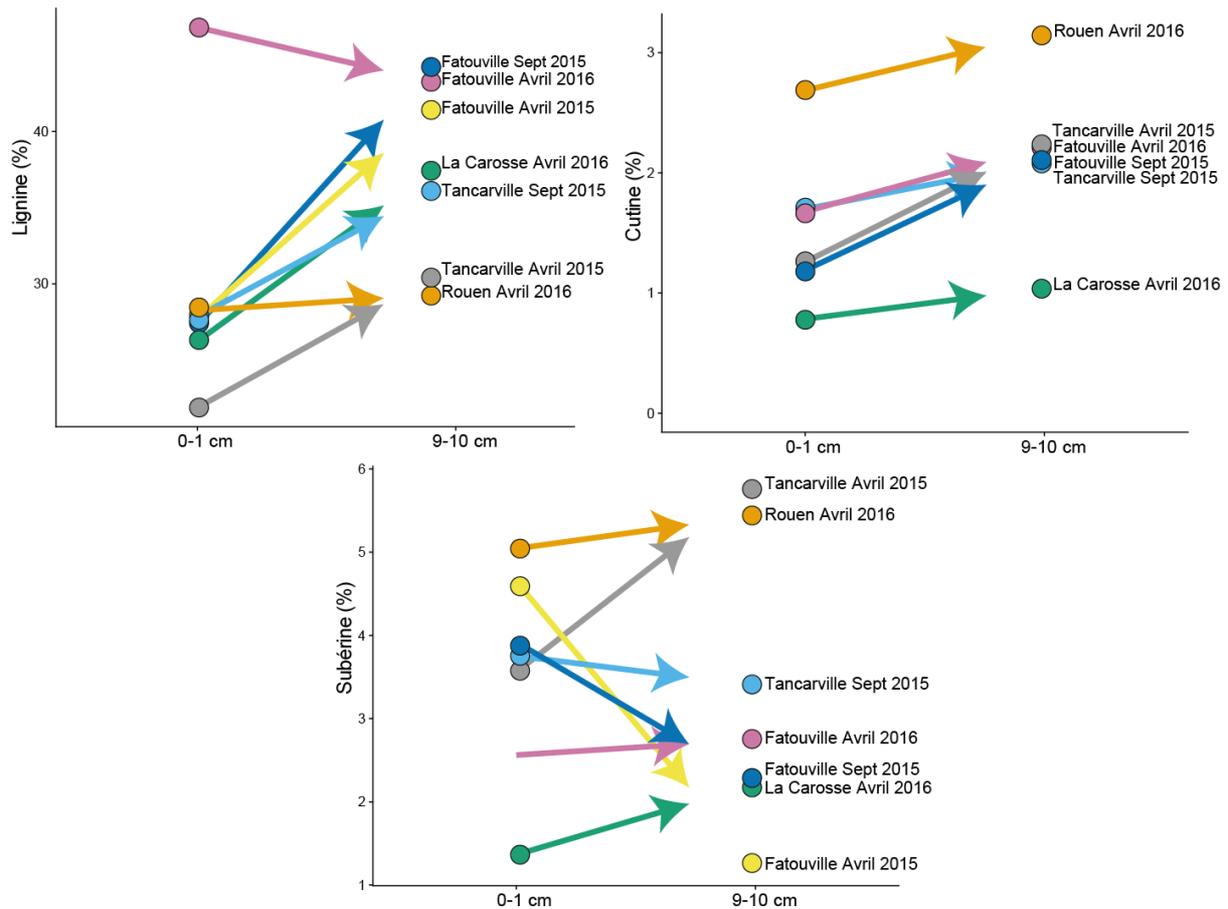


Figure 111 : Variations des teneurs en lignine, cutine et subérine entre les sédiments de surface et profonds estimées à partir de la pyrolyse. Les valeurs sont exprimées en pourcentage de l'ensemble des composés quantifiés.

Généralement, l'augmentation de la teneur en lignine dans les sédiments estuariens et côtiers est interprétée comme une augmentation du flux de MO terrigène transportée par la rivière (Hedges and Mann, 1979). Toutefois, il n'est pas exclu que l'augmentation de la proportion relative de lignine dans les sédiments soit liée à une dégradation plus intense du reste de la MO entraînant une hausse de la proportion relative en lignine dans les sédiments. C'est cette dernière hypothèse qui semble plus probable du moins dans le cas de l'estuaire de la Seine, puisque dans le chapitre 4, une dégradation de la MO aquatique avec la profondeur avait été mise en évidence (4.3). De plus, dans les sédiments, la teneur en lignine est inversement corrélée à son état de dégradation (rapport Ad/AI, $\rho = -0,85$ et $p < 0,01$). Ainsi, on observe un enrichissement préférentiel en lignine peu dégradée avec la profondeur, ce qui semble en accord avec une préservation de molécules de lignine et d'une dégradation d'une partie de la MO, plus labile. L'augmentation de la teneur en lignine avec la profondeur reflète sa bonne

préservation dans les sédiments, cette dernière pouvant rester intacte plusieurs centaines voire milliers d'années (Hedges and Mann, 1979).

Comme la lignine, l'abondance relative en cutine augmente avec la profondeur (Figure 111), et contrairement à la subérine. Les concentrations en subérine et la lignine sont pourtant corrélées dans la phase particulaire ($\rho = 0,65$, $p < 0,01$) et l'on pourrait s'attendre à la même relation dans le sédiment. Cette différence est pour le moment difficile à expliquer.

L'enrichissement en MO terrigène (lignine et cutine) avec la profondeur implique qu'une fraction plus labile de la MO (e.g. les protéines) doit se dégrader en parallèle. Les teneurs en produits de pyrolyse des acides aminés tendent à diminuer avec la profondeur, excepté pour la carotte de Fatouville prélevée en avril 2016 (Figure 112), ce qui pourrait être lié, comme pour la lignine, au fait que le sédiment de surface soit plus ancien que le sédiment profond au niveau de ce site uniquement. Pour l'ensemble des autres carottes, l'augmentation relative de la teneur en lignine avec la profondeur serait concomitante à une dégradation des protéines dans le sédiment.

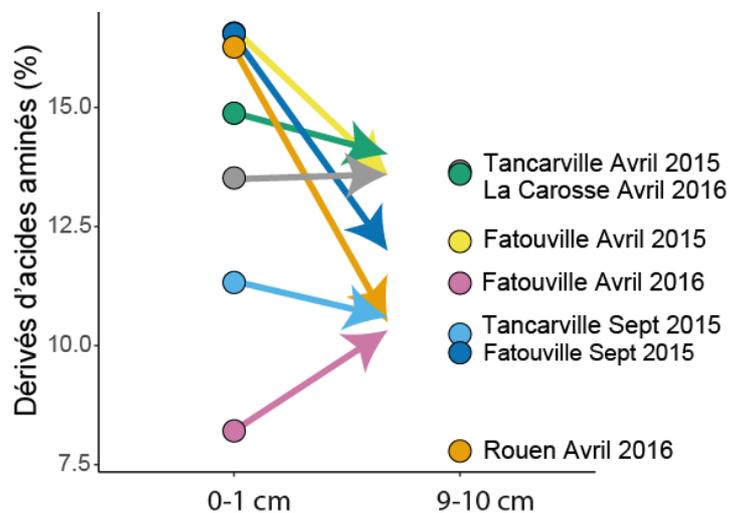


Figure 112 : Variations des teneurs en produits de pyrolyse des acides aminés entre les sédiments de surface et les plus profonds estimées à partir de la pyrolyse. Les valeurs sont exprimées en % du total quantifié.

5.3 Conclusions

L'analyse moléculaire par thermochimie de la MO de l'estuaire de Seine a permis d'obtenir des informations complémentaires sur la composition de la MO, notamment en identifiant différents constituants de la MO :

- La lignine, la cutine, la subérine, les lipides bactériens et des sucres font partie de la MO terrigène. De plus, des protéines font éventuellement partie de cette dernière.
- Les sucres bactériens (sucres aminés et désoxyhexoses) permettent de tracer l'activité microbienne *in situ*.
- Le coprostanol permet de tracer la contamination fécale humaine, et donc la MO anthropique.
- Enfin, la MO aquatique semble représentée par des lipides à courtes chaînes, et potentiellement de bases d'ADN, de dérivés d'acides aminés et de sucres.

Dans un premier temps, la pyrolyse a permis de différencier de manière plus fine par rapports aux analyses globales les différences de composition entre les trois compartiments de la MO, la MOD étant la plus labile, et la MO sédimentaire plus terrigène. La composition de la MOP est intermédiaire entre celle de la MOD et du sédiment. Toutefois, l'étude de la MOD en pyrolyse est complexe, de nombreuses molécules n'ayant pu être identifiées, probablement en raison de sa composition riche en carbohydrates, dont le rendement de pyrolyse est faible.

L'analyse moléculaire par thermochimie de la MO a également permis de préciser la dynamique de la MOP et de la MO sédimentaire dans l'estuaire de Seine, notamment sa dégradation et les interactions MOP-MO sédimentaire. Deux processus majeurs semblent contrôler la dégradation de la MO dans l'estuaire de Seine :

- La MO est réduite dans les sédiments, ces derniers étant oxiques dans les premiers mm et devenant rapidement anoxiques (Huguet et al., 2018). Ce phénomène se traduit par une diminution du rapport Ad/Al de lignine (en limitant l'oxydation de la lignine) ainsi qu'une dégradation de la MO labile plus intense (Figure 113).

- La MOP est oxydée dans la colonne d'eau. Cette oxydation est d'autant plus importante que le temps de résidence de l'eau est grand, en particulier à l'aval, où le battement de l'eau est plus fort. Ainsi, la lignine est très dégradée (oxydation des aldéhydes en acides) à l'aval. La disparition de la MO terrigène lors de son oxydation couplée à une production primaire plus importante conduit à un enrichissement de la MOP en matériel d'origine aquatique à l'aval (Figure 113).

Enfin, dans la zone du bouchon vaseux, une remise en suspension de la MO sédimentaire dans la colonne d'eau entraîne une activité microbienne plus intense (Figure 113).

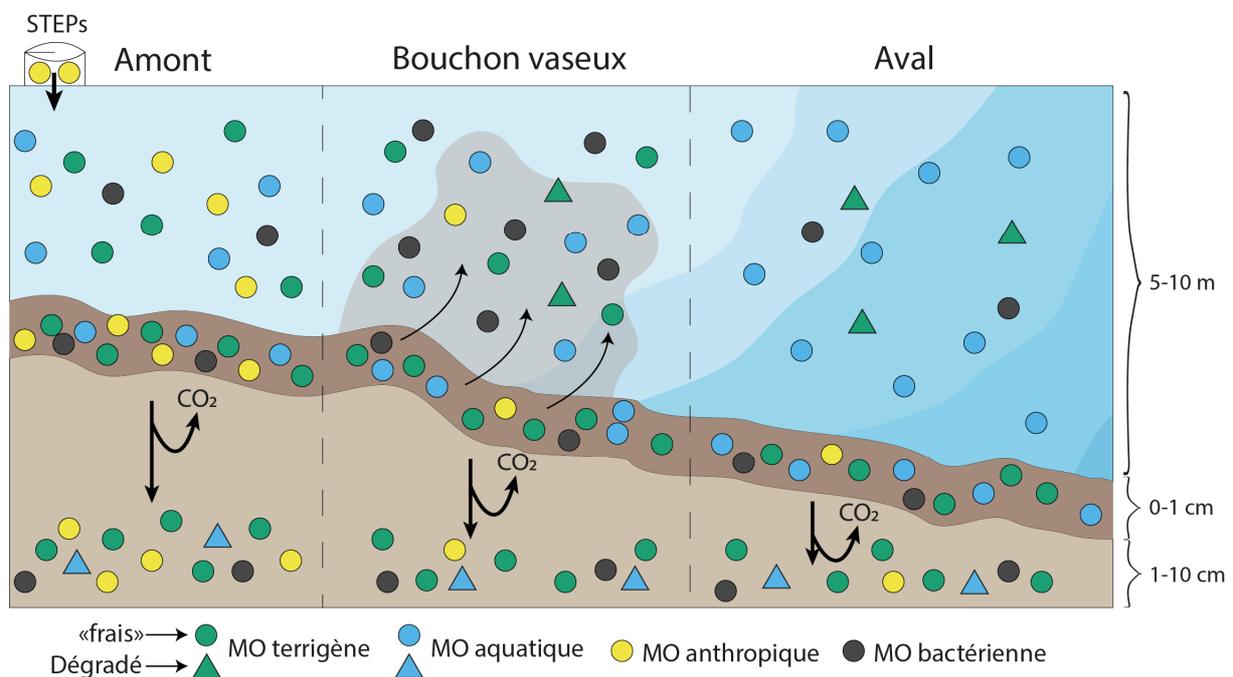


Figure 113 : Schéma de la dynamique de la MOP et de la MO sédimentaire dans l'estuaire de Seine obtenu à partir des analyses moléculaires. Les points dont l'opacité est plus faible et le contour est en pointillés représentent une MO plus dégradée.

La comparaison de la composition de la MOP et de la MO sédimentaire a pu mettre à jour de grandes différences, notamment à l'aval. En effet, en amont, la MOP et la MO sédimentaire ont des compositions très proches, avec un léger enrichissement en MO labile, potentiellement plus aquatique. A l'inverse, à l'aval, la proportion de constituants terrigènes devient nettement plus importante dans le sédiment que dans la phase particulaire. Ceci peut s'expliquer par une préservation sélective de la MO terrigène dans les sédiments. Ainsi, l'étude seule de sédiments dans la zone aval des estuaires ne semble pas représentative des

phénomènes ayant lieu dans la colonne d'eau. Une étude combinée de la MOP et de la MO sédimentaire apparaît essentielle pour comprendre la dynamique de la MO dans les estuaires.

La pyrolyse s'avère être un outil prometteur pour suivre la composition de la MOP et de la MO sédimentaire, plus particulièrement les constituants les plus hydrophobes. En effet, l'analyse de la composition chimique de la MOD, plus riche en sucres et protéines (dont les rendements de pyrolyses sont faibles et dont les produits de pyrolyses sont peu connus) est complexe. Toutefois, la thermochimiolyse nous a permis de caractériser facilement la composition (macro)moléculaire de la MOP avec seulement de petite quantité, ce qui n'est pas possible pour les lipides. De plus, la thermochimiolyse permet d'analyses des composés trop polaires pour être analysés sous forme de lipides, comme les sucres ou les protéines.

Le croisement des données de thermochimiolyse et de RMN a montré que les proportions relatives en lignine et en protéines étaient cohérentes avec les données globales. Toutefois, des progrès sont encore à réaliser pour quantifier les variations des teneurs en carbohydrates.

Enfin, afin de mieux comprendre les sources des nombreux produits de pyrolyse dans les échantillons de l'estuaire de Seine, il serait nécessaire de développer un référentiel des produits de pyrolyses de la MO du bassin de la Seine, notamment sur les différentes espèces planctoniques (zooplancton et phytoplancton) et bactérienne de l'estuaire, dont la caractérisation par thermochimiolyse est plus complexe. Elle pourrait également permettre de mieux déterminer les produits de pyrolyse de la MO terrigène en étudiant à la fois la MO des végétaux terrestres, mais également celle des sols proches de la Seine, qui vont également exporter leur MO jusqu'à l'estuaire de Seine. Il en est de même pour les organismes planctoniques marins et les rejets des stations d'épuration. Ainsi, cela permettra de mieux définir les différents « end members » de la MO dans l'estuaire de Seine : la MO terrigène provenant des végétaux terrestres et des sols, la MO estuarienne planctonique et bactérienne produite *in situ*, la MO marine et celle issue des stations d'épuration.

Tableau 12 : Liste des molécules quantifiées en thermochimie. Les m/z en gras sont les ions utilisés pour l'intégration des pics.

Code	Nom	Famille	m/z	M+	Sources
1	Acide benzoïque		105+77+136	136	?
2	N,N-diméthyl-acétamide		44+87+72	87	Carbohydate
3	Phytol		101+74	326	?
4	Glycerol		59+45+89	134	?
5	1,2,4-triméthoxy-butane		45+103	148	?
6	Acide déhydroabiétique		239+299+314	314	Végétaux
7	Coprostanol		370+215+355	402	Lipides
8	Cholesterol		368+400+353	400	Lipides
9	Cholestanol		402+215+248	402	Lipides
10	Sitosterol	Autre	398	424	Lipides
11	Triterpène pentacyclique		218	?	Lipides
12	Triterpène pentacyclique		218	?	Lipides
13	Triterpène pentacyclique		218	?	Lipides
14	Triterpène pentacyclique		218	?	Lipides
15	Triterpène pentacyclique		203	?	Lipides
16	Triterpène pentacyclique		203	?	Lipides
17	Triterpène pentacyclique		203	?	Lipides
18	Triterpène pentacyclique		203	?	Lipides
AA1	N,N-dimethyl glycine		58+117	117	Glycine
AA2	N,N-dimethyl alanine		72+131	131	Alanine
AA3	N-methyl valine		86+145	145	Valine
AA4	N,N-dimethyl valine		100+159	159	Valine
AA5	butenedioic acid		113+144	144	Ac. Aspartique
AA6	N-methyl proline		84+143	143	Proline
AA7	N-methyl leucine		100+159	159	Leucine
AA8	N,N-dimethyl leucine		114+173	173	Leucine
AA9	N-methyl-5-oxoproline	Acide aminés	98+157	157	Ac. Glutamique/ Glutamine
AA10	N,N-dimethyl glutamic acid		144+203	203	Ac. Glutamique
AA11	N,N-dimethyl-O-methyl tyrosine		116+178	237	Tyrosine
AA12	N-Methylisoleucine methyl ester		100+159	159	Isoleucine
AA13	N,N-Dimethylphenylalanine methyl ester		116+148+133	207	Phenylalanine
ADN1	Thymine		154+69+97	154	ADN
ADN2	Adenine	ADN	148+177+162	177	ADN
ADN3	Guanine		193+164+178	193	ADN
ADN4	Cytidine		101+45+115	299	ADN

Chapitre 5 : La composition (macro)moléculaire de la MO dans l'estuaire de Seine

ADN5	Adenosine		164+134+192	294	ADN
C1	Tri-O-methyl-3-deoxy-D-threo-pentonic acid, methyl ester		129+115+161	206	Xylose/ Arabinose
C2	Tri-O-methyl-3-deoxy-D-erythro-pentonic acid, methyl ester		129+115+161	206	Xylose/ Arabinose
C3	Tri-O-methyl-3,6-deoxy-L-arabino-hexonic acid, methyl ester		129+161+103	220	Rhamnose
C4	Tri-O-methyl-3,6-deoxy-L-lyxo-hexonic acid, methyl ester		129+161+103	220	Fucose
C5	Tri-O-methyl-3,6-deoxy-L-ribo-hexonic acid, methyl ester	Acide aldonique	129+161+101	220	Rhamnose
C6	Tri-O-methyl-3,6-deoxy-L-xylo-hexonic acid		129+161+101	220	Fucose
C7	Tetra-O-methyl-3-deoxy-D-arabino-hexonic acid, methyl ester		129+101+161	250	Glucose/ Mannose
C8	Tetra-O-methyl-3-deoxy-D-xylo-hexonic acid, methyl ester		129+101+161	250	Galactose
C9	Tetra-O-methyl-3-deoxy-D-ribo-hexonic acid, methyl ester		129+101+161	250	Glucose/ Mannose
C10	Tetra-O-methyl-3-deoxy-D-lyxo-hexonic acid, methyl ester		129+101+161	250	Galactose
D16	Diacide α,ω -C16:0	Diacide long	98+74	314	Cutine
D22	Diacide α,ω -C22:0		98+74	398	Subérine
DC1	Acide butanedioïque	Diacide court	115+55+59	146	?
DC2	Acide méthyl- butanedioïque		59+129+101	160	?
F1	Furfuryl		81+112+53	112	Carbohydate
F2	Cyclopentenone		82+54	82	Carbohydate
F3	Furfural		96+95	96	Carbohydate
F4	2-méthyl-cyclopentenone	Furanes	96+67+81	96	Carbohydate
F5	Furyl-ethanone		95+110	110	Carbohydate
F6	Méthyl-furaldéhyde		110+108+53	110	Carbohydate
F7	1-méthyl-cyclopentenone		96+67+81	96	Carbohydate
F8	Acide furanoïque		95+126	126	Carbohydate
FA6	Acide C6:0		74+87	130	Lipides
FA7	Acide C7:0		74+87	144	Lipides
FA8	Acide C8:0		74+87	158	Lipides
FA9	Acide C9:0		74+87	172	Lipides
FA10	Acide C10:0		74+87	186	Lipides
FA12	Acide C12:0	Acide Gras	74+87	214	Lipides
i/aFA14	iso/anteiso acide C14:0		74+87	242	Lipides
FA14	Acide C14:0		74+87	242	Lipides
iFA15	iso acide C15:0		74+87	256	Lipides
aFA15	anteiso acide C15:0		74+87	256	Lipides
FA15	Acide C15:0		74+87	256	Lipides

Chapitre 5 : La composition (macro)moléculaire de la MO dans l'estuaire de Seine

i/aFA16	iso/anteiso acide C16:0		74+87	270	Lipides
FA16:1	Acide C16:1		55+69	268	Lipides
FA16	Acide C16:0		74+87	270	Lipides
iFA17	iso acide C17:0		74+87	284	Lipides
aFA17	anteiso acide C17:0		74+87	284	Lipides
FA17	Acide C17:0		74+87	284	Lipides
FA18:1	Acide C18:1		55+69	296	Lipides
FA18:1	Acide C18:1		55+69	296	Lipides
FA18	Acide C18:0		74+87	298	Lipides
FA20	Acide C20:0		74+87	326	Lipides
FA22	Acide C22:0		74+87	354	Subérine
FA24	Acide C24:0		74+87	382	Subérine
FA26	Acide C26:0		74+87	410	Subérine
FA28	Acide C28:0		74+87	438	Subérine
FA30	Acide C30:0		74+87	466	Subérine
FA32	Acide C32:0		74+87	494	Subérine
H16	Acide ω-méthoxy-C16:0		74+45+98	300	Cutine
dmH16:1	Acide 10,16-diméthoxy-C16:1		213+169	328	Cutine
dmH16	Acide 10,16-diméthoxy-C16:0		215+159	330	Cutine
H18:1	Acide ω-méthoxy-C18:1		81+55	326	Cutine
H18	Acide ω-méthoxy-C18:0		74+87	328	Cutine
tmH18:1	Acide 9,10,18-triméthoxy-C18:1		199+135	386	Cutine
tmHD18	Diacide 9,10-diméthoxy-α,ω-C18:0	Hydroxyacide	201+137+109	402	Cutine
H20	Acide ω-méthoxy-C20:0		74+87	356	Cutine
tmH18	Acide 9,10,18-triméthoxy-C18:0		201+71+137	388	Cutine
tmH18'	Acide 9,10,18-triméthoxy-C18:0 non méthylé		173+201+137	346	Cutine
H22	Acide ω-méthoxy-C22:0		74+87	384	Subérine
H24	Acide ω-méthoxy-C24:0		74+87	412	Subérine
H26	Acide ω-méthoxy-C26:0		74+87	440	Subérine
I1	N-méthyl-indole		130+131	131	Tryptophane
I2	N-méthyl-méthyl-indole		145+144	145	Tryptophane
I3	N-méthyl-diméthyl-indole	Indole	158+144	159	Tryptophane
I4	2-méthyl-Isoindole-1,3-dione		161+104+76	161	Ncomp
I5	N-méthyl-méthoxy-indole		161+146+118	161	Ncomp
M1	Methoxybenzène		108+78+65	108	?
M2	(Methylmethoxy)benzene		91+122+108	122	?
M3	Methyl-methoxy-benzene		122+107+91	122	?
M4	Methyl-methoxy-benzene	Methoxybenzène	122+107+77	122	?
M5	1,2-dimethoxy-benzène		138+123+95	138	?
M6	1-ethenyl-4-méthoxy-benzène		134+119+91	134	Lignine
M7	1,4-dimethoxy-benzène		123+138+95	138	?
M8	3-méthoxy-benzaldéhyde		136+135+107	136	?

Chapitre 5 : La composition (macro)moléculaire de la MO dans l'estuaire de Seine

M9	1,2-diméthoxy-3-méthyl- benzène		152+137+109	152	?
M10	1,4-diméthoxy-2-méthyl- benzène		137+152	152	?
M11	4-méthoxy-benzaldéhyde		135+136+77	136	Lignine
M12	1,2,3-triméthoxy-benzène		168+153+110	168	Lignine
M13	Acide 3-méthoxy-benzoïque 4-éthényl-1,2-diméthoxy- benzène		135+166+107	166	?
M14			164+149+91	164	Lignine
M15	1,2,4-triméthoxy-benzène		168+153+125	168	Carbohydate
M16	Acide 4-méthoxy-benzoïque		135+166+77	166	Lignine
M17	1,3,5-triméthoxy-benzène		168+139+110	168	?
M18	3,4-diméthoxy-benzaldéhyde		166+165+95	166	Lignine
M19	Acide 3,4-diméthoxy-benzoïque		196+165+137	196	Lignine
M20	3,4,5-triméthoxy-benzaldéhyde		196+181+125	196	Lignine
M21	1,2-diméthoxy-4-(2- méthoxyéthényl)-benzène		194+179+151	194	Lignine
M22	1,2-diméthoxy-4-(2- méthoxyéthényl)-benzène		194+179+151	194	Lignine
M23	1,2-diméthoxy-4-(3-méthoxy-1- propényl)-benzène		208+177	208	Lignine
M24	1,2-diméthoxy-4-(3-méthoxy-1- propényl)-benzène		208+177	208	Lignine
M25	Acide 4-méthoxy-cinnamique		161+192+133	192	Lignine
M26	Acide 3,4,5-triméthoxy- benzoïque		226+211+155	226	Lignine
M27	1,2-diméthoxy-4-(3-méthoxy-1- propényl)-benzène		208+177	208	Lignine
M28	2-(3,4,5-triméthoxyohényl)-1- méthoxyéthene		209+224+181	224	Lignine
M29	1,2-diméthoxy-4-(1,2,3- triméthoxypropyl)benzène		181	270	Lignine
M30	2-(3,4,5-triméthoxyohényl)-1- méthoxyéthene		209+224+181	224	Lignine
M31	1,2-diméthoxy-4-(1,2,3- triméthoxypropyl)benzène		181	270	Lignine
M32	Acide 3,4-diméthoxy- cinnamique		222+191+207	222	Lignine
M33	1,2,3-triméthoxy-4-(1,2,3- triméthoxypropyl)benzène		211	300	Lignine
M34	1,2,3-triméthoxy-4-(1,2,3- triméthoxypropyl)benzène		211	300	Lignine
O18	Alcool C18		83+97	284	Lipides
O20	Alcool C20		83+97	312	Lipides
O22	Alcool C22	Alcool	83+97	340	Subérine
O24	Alcool C24		83+97	368	Subérine
O26	Alcool C26		83+97	396	Subérine
O28	Alcool C28		83+97	424	Subérine

Chapitre 5 : La composition (macro)moléculaire de la MO dans l'estuaire de Seine

O30	Alcool C30		83+97	452	Subérine
P1	N-méthyl-Pyrrole		81+80	81	Ncomp
P2	N-méthyl-méthyl-pyrrole		94+95	95	Ncomp
P3	N-méthyl-méthyl-pyrrole		94+95	95	Ncomp
P4	N-méthyl-diméthyl-pyrrole		108+109	109	Ncomp
P5	N-méthyl-diméthyl-pyrrole	Pyrrole	108+109	109	Ncomp
P6	N-méthyl-pyrrolidinone		99+44+98	99	Asparagine
P7	N-méthyl-Pyrrole-2,5-dione		111+54+83	111	Asparagine
P8	N,N'-diméthyl-pyrazolone		112+69	112	Ncomp
P9	N-méthyl-méthyl-pyrroledione		110+125	125	Asparagine

**CHAPITRE 6 : IMPACT DES CRUES MAJEURES DE LA
SEINE SUR LA QUALITE DE LA MO : PREMIERS
RESULTATS ET IMPLICATIONS**

6.1 Introduction

Le changement climatique actuel entraîne un bouleversement de nombreux écosystèmes. En milieu polaire, une forte augmentation des températures est attendue, avec une fonte des calottes glaciaires et l'augmentation du niveau marin à l'échelle du globe (IPCC, 2014). Dans nos latitudes, les modèles ne prévoient pas une augmentation aussi extrême des températures que dans le milieu polaire, mais plutôt une augmentation de la fréquence des événements climatiques extrêmes : canicules de plus en plus fréquentes, tempêtes, inondations, crues majeures etc... (IPCC, 2014). Ces événements peuvent influencer la qualité de l'eau. En effet, le changement brutal de l'hydrodynamisme des cours d'eau pourrait avoir un effet important sur le cycle du carbone, notamment par une plus faible dégradation de la MO terrigène transportée par les rivières dans les océans (Bauer et al., 2013).

Ces deux dernières années, la Seine a connue deux crues majeures, en juin 2016 et en janvier 2018. Lors de ces événements extrêmes, une quantité importante de matériel du bassin versant est érodée et transférée du milieu continental jusqu'à l'océan. Il est donc nécessaire de comprendre quel est l'impact de ces crues sur la qualité de l'eau. Ces résultats permettront d'aider les agences de l'eau à mieux gérer ces événements extrêmes, mais également de comprendre leur impact sur la qualité et la quantité de MO tout au long du bassin de la Seine.

Ce chapitre cherchera à répondre aux questions suivantes :

- Quelles sont les sources et les caractéristiques de la MO de la Seine lors des périodes de crues majeures ?
- Comment les caractéristiques de la MO varient entre l'amont et l'aval de l'agglomération parisienne ?
- Quelles sont les différences des propriétés qualitatives et quantitatives de la MO entre les deux événements de crue ?

Afin de répondre à ces objectifs, des échantillons de laisses de crue ont été prélevés lors des deux crues majeures de la Seine. Ces derniers sont des sédiments fins déposés sur les berges suite au retrait des eaux et fournissent un signal intégrateur de l'ensemble de l'événement.

Les laisses de crues de janvier 2018 ont été analysées au niveau global (analyse élémentaire et isotopique), et une analyse isotopique des laisses de crues de juin 2016 sera à prévoir. Les biomarqueurs lipidiques ont été analysés dans l'ensemble des échantillons de laisses de crues. Les lipides analysés sont les mêmes que ceux présentés dans le chapitre 4 : *n*-alcane, alcools, acides gras et stérols. Ces analyses vont permettre de qualifier les différentes sources de la MO le long de la Seine lors des périodes de crues et ont fait l'objet du stage de master 2 de Suyong LEE entre mars et août 2018 dans le cadre d'un projet agence de l'eau Seine-Normandie.

Les données des laisses de crues seront comparées aux données des sédiments de l'estuaire de Seine. Toutefois, cette comparaison a des limites : pas le même type de sédiment et ces derniers n'ont pas été prélevés lors de la même période.

6.2 Présentation des échantillons

Les échantillons analysés dans ce chapitre diffèrent de ceux étudiés dans les chapitres précédents (3, 4 et 5), qui provenaient de l'estuaire de Seine.

Pour la crue de juin 2016, 27 laisses de crue ont été prélevées en amont du bassin de la Seine entre le 6 et le 28 juin. Pour la crue de janvier 2018, 18 échantillons ont été prélevés entre le 24 janvier et le 28 février. Les laisses de crue de juin 2016 sont majoritairement localisées autour de Paris, alors qu'en janvier 2018, elles sont réparties dans l'ensemble de la zone amont du bassin de la Seine (Figure 114).

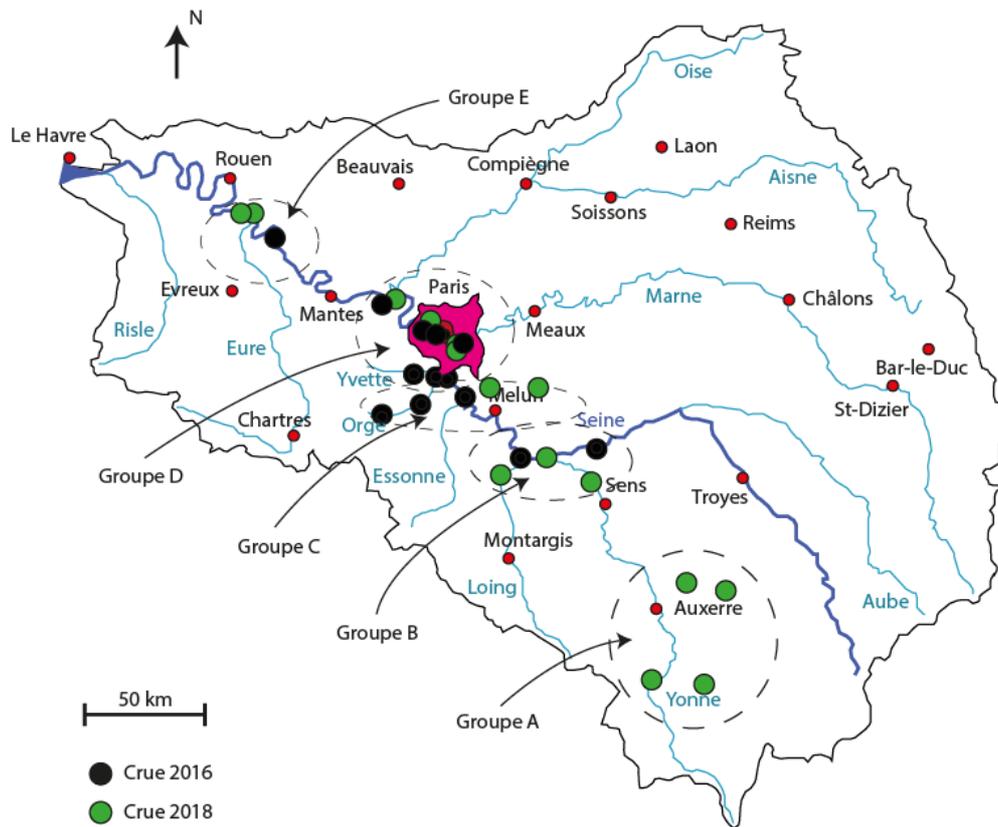


Figure 114 : Distribution spatiale des échantillons de laisse de crue de juin 2016 (points noirs) et de janvier 2018 (points vert) et groupes des échantillons (A à E) en fonction de leur distance à Paris.

6.3 Résultats et discussions

6.3.1 Sources de la MO lors des crues de la Seine

a. Au niveau global

Le couplage des analyses élémentaires et isotopiques permet d'estimer les sources possibles de la MO en amont de la Seine (cf. chapitre 3).

Le rapport C/N de la MO des laisses de crues de janvier 2018 varie entre 11,8 et 18,3 (Figure 115). Ainsi, les échantillons ont des valeurs de C/N intermédiaires entre les végétaux supérieurs (C/N > 20 ; Hedges et al., 1997) et des algues (C/N < 10 ; Meyers, 1994) et indique donc un mélange de MO terrigène et aquatique. Les échantillons avec les plus fortes valeurs de C/N sont plus riches en MO terrigène. Le $\delta^{13}\text{C}$ de la MO des laisses de crues varie peu, en général proche de -30‰, il n'y a pas donc pas de contribution de plantes en C₄ à la MO des laisses de crue (Figure 115).

Le rapport C/N des laisses de crue ($14,7 \pm 1,3$) est néanmoins plus élevé que celui observé dans les sédiments de l'estuaire de C/N ($10,3 \pm 0,6$; cf. chapitre 3) ce qui témoigne d'une proportion plus importante de MO terrigène, ou bien d'une MO plus dégradée, dans les laisses de crue que dans la MO de l'estuaire de Seine, hors période de crue.

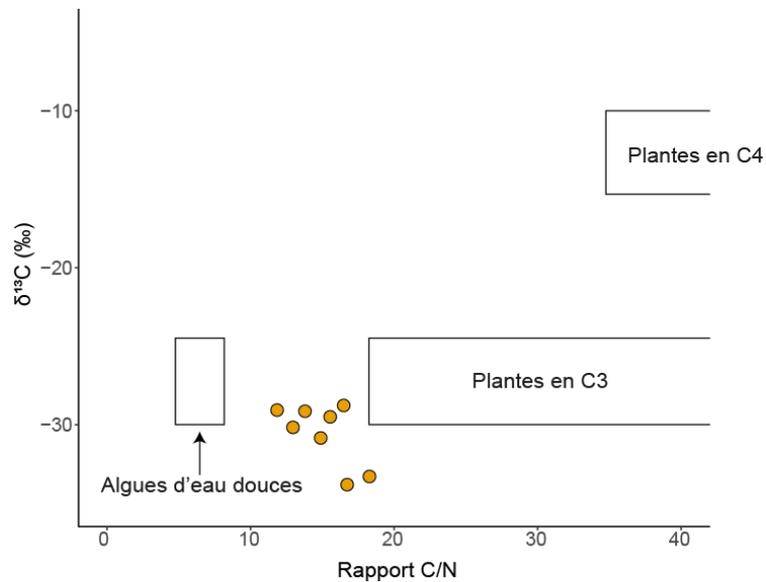


Figure 115 : Diagramme de Meyers ($\delta^{13}\text{C}$ de la MO en fonction du C/N) des laisses de crues de janvier 2018. Les rectangles représentent les gammes de valeurs des différentes sources de la MO. D'après Meyers (2003).

Afin d'aller plus loin dans l'étude des sources et la composition de la MO transportée lors des crues de la Seine, une analyse des biomarqueurs lipidiques a été réalisée (cf. chapitre 4).

b. Les lipides

i) Les lipides apolaires : les *n*-alcanes

Dans les fractions apolaires, les composés majoritaires sont les *n*-alcanes (Figure 116).

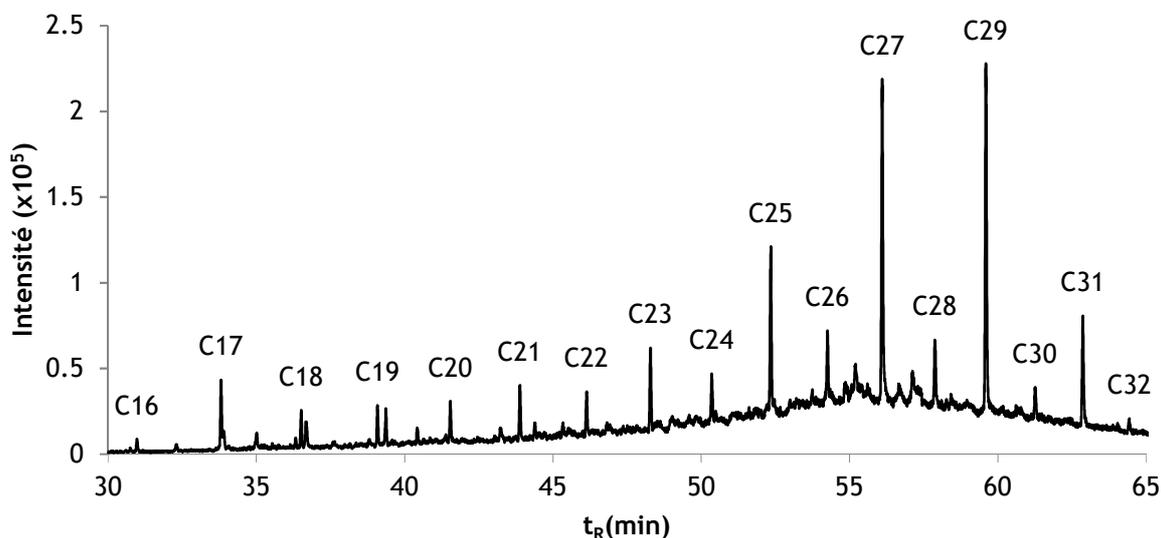


Figure 116 : Distribution des *n*-alcanes d'un échantillon prélevé à côté du barrage de Poses en juin 2016 (CS16 Bouafles), chromatogramme après extraction de l'ion $m/z = 57$

Les *n*-alcanes identifiés et quantifiés ont des longueurs de chaînes comprenant de 16 jusqu'à 33 atomes de carbone. Le *n*-alcane majoritaire dans la plupart des échantillons est l'homologue en C₂₇ (70% des échantillons), suivi du C₂₉ (27% des échantillons) et du C₂₈ (3% des échantillons). Plusieurs types de distribution des *n*-alcanes ont été observés dans les différents échantillons des laisses de crue et ont été regroupés statistiquement par classification ascendante hiérarchique (méthode de Ward, les données n'ont pas été centrées ni réduites afin de prendre en compte l'abondance relative de chaque *n*-alcane en considération ; voir **2.4.7**). Cette classification a permis de distinguer 2 grands groupes et 2 groupes ne comportant qu'un seul échantillon (échantillon prélevé à Orsay en juin 2016 et échantillon prélevé à Moret sur Loing en janvier 2018).

La distribution de « type A » est dominée par les homologues en C₂₇ et C₂₉ avec une forte prédominance des chaînes impaires ainsi qu'une proportion de *n*-alcanes à longues chaînes (>C₃₀) plus importante que la distribution de « type B » (Figure 117). La distribution de « type B » est dominée par le composé en C₂₇ avec les homologues en C₂₅, C₂₆ et C₂₉ également

abondants. Elle se caractérise également par une légère prédominance des composés à chaînes impaires (Figure 117). La distribution de « type C » est dominée par l'homologue en C₂₈, sans prédominance pour les *n*-alcane impairs (Figure 117). Enfin, la distribution « type D » est dominée par le composé C₂₉, suivi des homologues en C₂₇, C₃₁ et C₃₂.

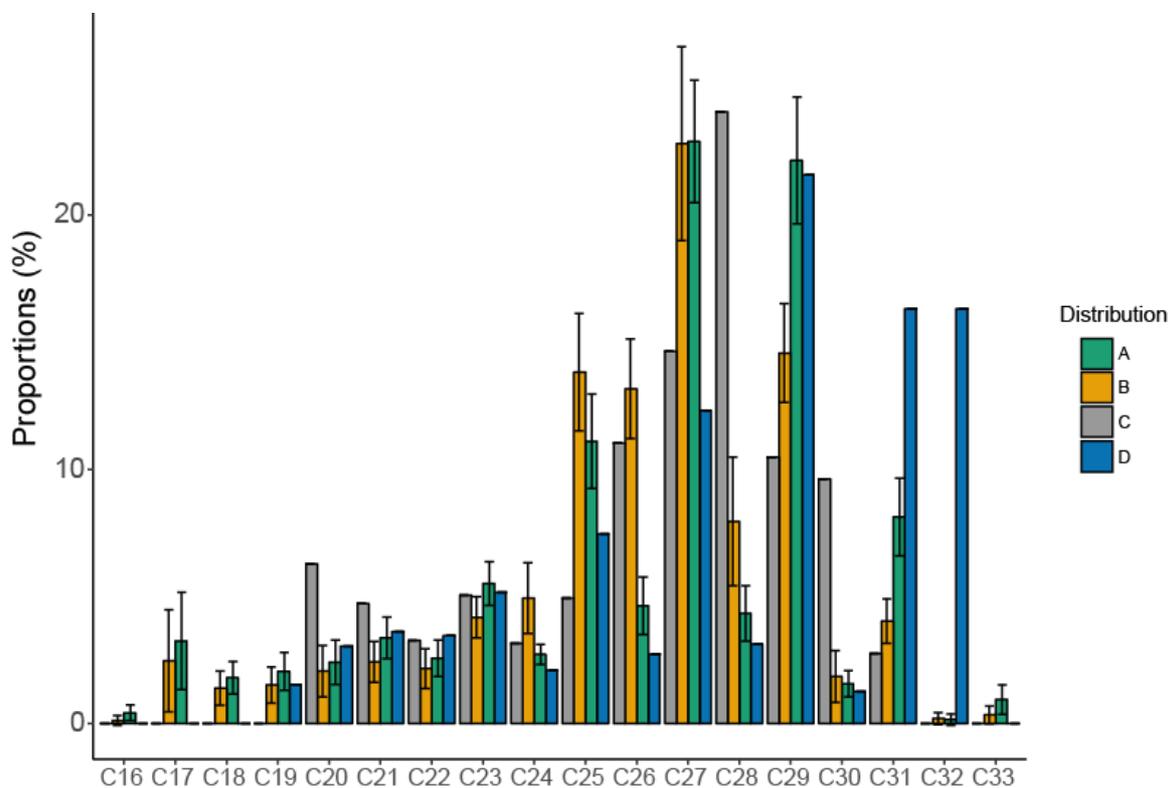


Figure 117 : Proportions moyennes des *n*-alcane (en %) et écarts types des 4 types de distributions obtenues par analyse statistique. Les distributions C et D ne concernent qu'un seul échantillon, la distribution B correspond à 15 échantillons et la distribution A à 27 échantillons.

Les différentes propriétés des distributions des *n*-alcane (gamme, maximum, ACL, CPI et TAR ; voir 1.5.2 pour la définition des paramètres) sont listées dans le Tableau 13.

Tableau 13 : Résumé des caractéristiques des 4 distributions des *n*-alcane. Les lettres a et b symbolisent les groupes de valeurs identiques ou distincts

Type	N	Gamme	Max	ACL	TAR	CPI
A	27	16-33	27/29	26,2 ± 0,5	15,7 ± 9,5	4,1 ± 0,9 ^a
B	15	16-33	27/29	26 ± 0,4	23,1 ± 19,1	2,1 ± 0,5 ^b
C	1	20-31	28	26,5	NA	0,7
D	1	19-32	29	27,8	32,8	2,1

L'ensemble des distributions sont typiques des végétaux terrestres, avec une prédominance pour les chaînes impaires longues (C_{27} et C_{29}) et témoignent donc de leur production par ces derniers (Eglinton and Hamilton, 1967). La différence majeure entre les deux types principaux (A et B) de distribution est le CPI (Tableau 13). Les valeurs plus élevées de CPI dans la distribution A que dans la distribution B suggèrent que les n -alcanes de type A sont moins dégradés que ceux de type B (Bray and Evans, 1961).

Dans la fraction la plus polaire, des séries de n -alcools, d'acides, de stérols et de stanols ont été détectés.

ii) Les lipides polaires : les alcools

La longueur de chaîne des n -alcools est comprise entre 12 et 32 atomes de carbone dans l'ensemble des échantillons de crue. Excepté un échantillon pour lequel l'homologue en C_{14} est le plus abondant (échantillon prélevé à Pont sur Yonne lors de la crue de janvier 2018), l'ensemble des échantillons est dominé par l'alcool en C_{26} . Des alcools ramifiés *iso* et *anteiso* à courtes chaînes (C_{12} à C_{15}) ont également été identifiés. Une analyse statistique similaire à celle menée sur les n -alcanes a révélé trois grands types de distributions des alcools (Figure 118).

La distribution A est la plus abondante (57% des échantillons). Elle est dominée par les alcools à longues chaînes ($> C_{24}$; Figure 118). La distribution B est moins présente (23% des échantillons) et ressemble à la distribution A, avec néanmoins une plus forte prédominance des chaînes longues par rapport aux courtes (Figure 118). Enfin, la distribution C (20% des échantillons) diffère nettement des deux autres, avec une proportion des alcools en C_{13} , C_{14} , C_{15} et C_{16} plus importante (Figure 118).

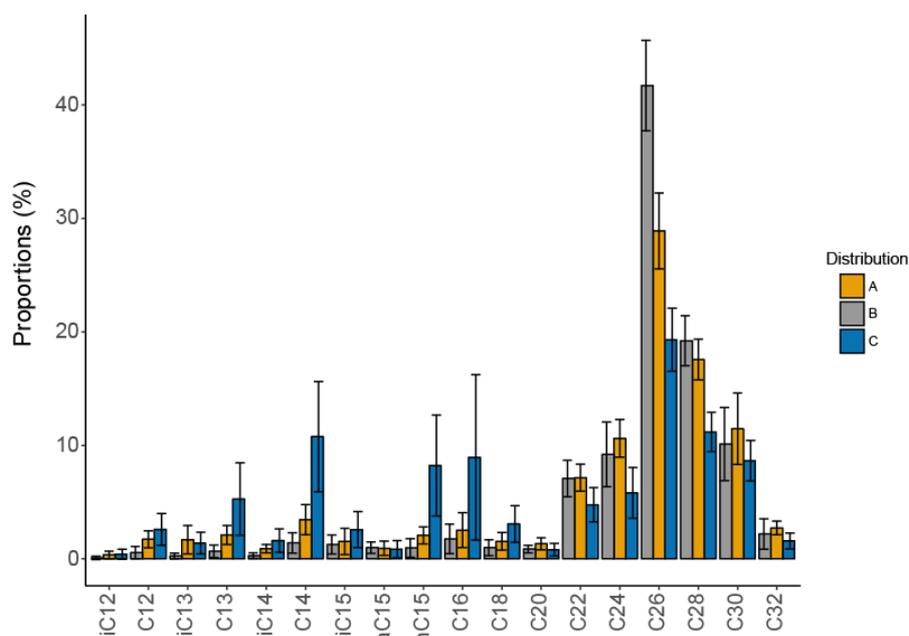


Figure 118 : Proportions moyennes des alcools (en %) et écarts types des 3 types de distributions obtenues par analyse statistique. La distribution A est composée de 25 échantillons, la distribution B est composée de 10 échantillons et la distribution C de 9 échantillons. i = iso, a = anteiso.

Les différentes propriétés des distributions des alcools (gamme, maximum, ACL, CPI et TAR) sont listées dans le Tableau 14.

Tableau 14 : Résumé des caractéristiques des 3 distributions des alcools.

Type	N	Gamme	Max	ACL	TAR	CPI
A	25	12-32	26	24,8 ± 0,7 ^a	9,9 ± 5,8 ^a	28,1 ± 13,2 ^a
B	10	12-32	26	25,7 ± 0,5 ^b	26,2 ± 13,2 ^b	51,3 ± 23,7 ^b
C	9	12-32	26/14	21,5 ± 1,1 ^c	2,2 ± 0,9 ^c	8,6 ± 4,7 ^c

Les distributions des alcools montrent des sources plus diverses que celle des *n*-alcane. En effet, bien que la gamme soit identique, chaque distribution montre des indices très différents (Tableau 14). Deux distributions extrêmes sont observées (B et C) alors que celle de type A est intermédiaire. Le distribution B est typique des végétaux terrestres, avec une forte prédominance des chaînes paires et longues (> C₂₄; (Eglinton and Hamilton, 1967). A l'inverse, la distribution C montre une plus grande prédominance des chaînes courtes (Figure 118) ainsi que des ACL, TAR et CPI plus faibles, ce qui correspond à une proportion plus importante d'alcools d'origine microbienne ou algale (Cranwell, 1982). La distribution A est dominée par les alcools issus des végétaux terrestres mais montre une proportion d'alcools algales ou microbiens plus importante que dans la distribution B, comme le révèlent les valeurs de TAR et CPI plus faibles (Tableau 14).

iii) Les lipides polaires : les acides gras

La série d'acide gras détectée dans les laisses de crue a une longueur de chaîne comprise entre 6 et 28 atomes de carbone. Le composé en C₁₆ est prédominant, excepté dans un échantillon où l'homologue en C₂₄ est le plus abondant (échantillon prélevé au pont de l'arche sur l'Eure en janvier 2018). Parmi ces composés, on identifie 5 acides gras ramifiés (*iso* ou *anteiso* C₁₄, C₁₅ et C₁₇) et 5 homologues linéaires et insaturés (C₁₆ et C₁₈).

La méthode statistique des regroupements par méthode de Ward a permis d'établir 3 groupes en fonction de leur distribution en acides gras (Figure 119) :

- Le groupe A est principalement composé des acides gras en C₁₄, C_{16:1} et C₁₆ avec très peu d'acides gras à longues chaînes.
- Le groupe B diffère de la distribution de type A par la présence en quantité plus importante d'acides gras à longues chaînes.
- Le groupe C est constitué principalement des acides gras en C₁₆ et C₁₈.

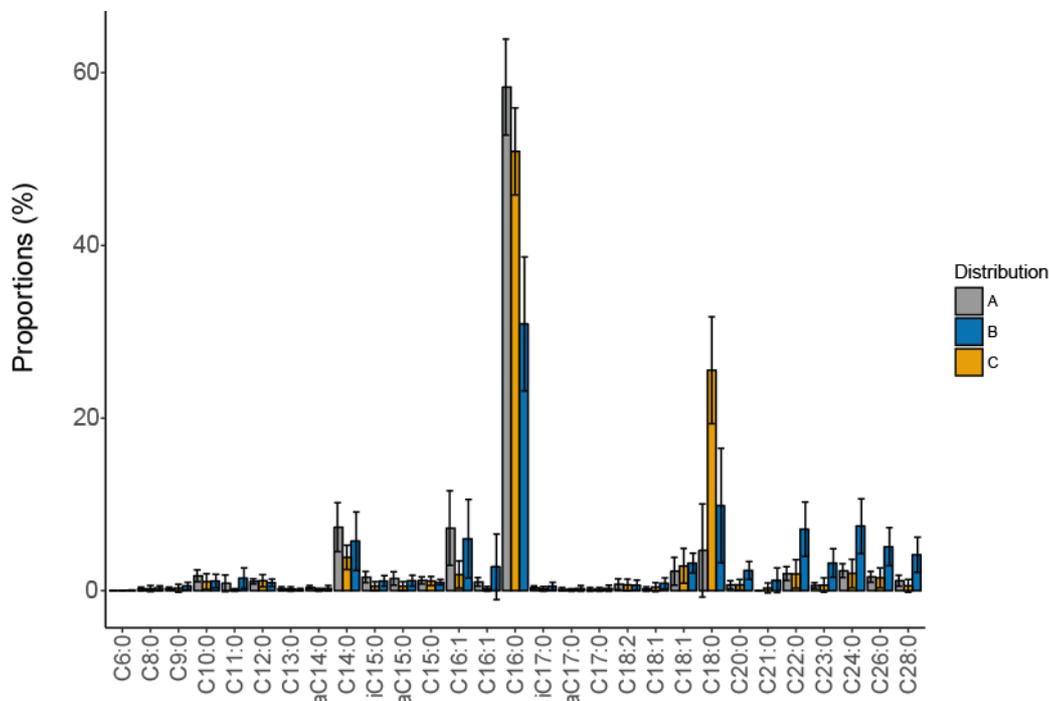


Figure 119 : Proportion moyenne des acides gras (en %) et écart types des 3 grandes distributions obtenues par analyse statistique. La distribution A est composée de 19 échantillons, la distribution B est composée de 15 échantillons et la distribution C de 10 échantillons. i = *iso*, a = *anteiso*.

Les 3 distributions des acides gras sont dominées par les chaînes courtes (Figure 119), ce qui témoigne de leur production par des algues et/ou des microorganismes (Canuel, 2001; Meyers, 2003).

Tout comme les alcools, deux des distributions d'acides gras sont extrêmes mais moins nettes que pour les alcools (A et B), la distribution C étant intermédiaire (Tableau 15). Ainsi, la distribution A est fortement dominée par les acides gras d'origine aquatique peu dégradés (TAR faible et CPI élevé) alors que la distribution B est issue d'un mélange entre des acides gras aquatiques et des acides gras de végétaux terrestres. Dans la distribution C, la proportion des acides gras aquatiques peu dégradés est plus importante que dans la distribution B, comme le montrent les valeurs de TAR et CPI respectivement plus faibles et plus élevées pour la distribution C que pour celle de type B (Tableau 3).

La proportion d'acide gras ramifiés et insaturés ne diffère pas de manière notable entre l'ensemble des distributions. Cela suggère que l'abondance relative des composés d'origine bactérienne est comparable dans l'ensemble des échantillons (Perry et al., 1979; Volkman et al., 1980) et que les acides gras γ sont peu dégradés (Meyers, 2003).

Tableau 15 : Résumé des caractéristiques des 3 distributions des acides gras.

Type	N	Gamme	Max	ACL	TAR	CPI	Ramifiés (%)	Insaturés (%)
A	19	8-28	16	16,5 ± 0,3 ^a	0,77 ± 0,42 ^a	29,8 ± 10,5 ^a	4 ± 1,6	11,5 ± 4,4
B	15	6-28	16/24	18,6 ± 1,1 ^b	3,9 ± 2,6 ^b	11,8 ± 4 ^b	3,4 ± 1,8	13,5 ± 6,9
C	10	6-28	16	16,9 ± 0,4 ^a	1,2 ± 0,8 ^{ab}	34,7 ± 20,5 ^a	3 ± 1,1	7,6 ± 3,6

Tout comme dans les échantillons de l'estuaire de Seine, les 3 familles de molécules aliphatiques montrent des sources différentes (cf. chapitre 4) : les *n*-alcanes proviennent majoritairement des végétaux terrestres, les alcools proviennent d'un mélange de végétaux terrestres et d'organismes aquatiques alors que les acides gras sont produits par des organismes aquatiques. Ceci est donc également en accord avec la littérature : les cires épicuticulaires des végétaux terrestres sont enrichies en *n*-alcanes (Hadley, 1981) alors que les acides gras sont plus abondants chez les microalgues (Volkman et al., 1989).

Les distributions des *n*-alcanes sont indépendantes de celles des alcools et des acides gras (aucune corrélation entre les TAR) alors que les distributions des alcools et des acides gras

sont liées. En effet, le TAR des alcools est fortement corrélé à celui des acides gras ($\rho = 0,7$ et $p < 0,01$). Cela témoigne donc d'une source exclusivement issue des végétaux terrestres pour les *n*-alcanes alors que les alcools et les acides gras sont issus du mélange des organismes aquatiques et des végétaux terrestres.

iv) *Les lipides polaires : les stérols et stanols*

Une série de stanols et stérols a pu être identifiée et quantifiée dans les fractions polaires des laisses de crues de juin 2016 et de janvier 2018 : trois 5 α -stanols (cholestanol, campestanol et sitostanol), un 5 β -stano (coprostanol) et 5 stérols (cholestérol, brassicastérol, campestérol, stigmastérol et sitostérol).

La distribution des stérols et stanols ne montre pas de différence nette entre les différents échantillons (Figure 120). Le sitostérol est largement prédominant dans l'ensemble des extraits lipidiques des laisses de crues, suivi par le cholestérol et le coprostanol. Les autres stérols et stanols sont présents dans des proportions relativement faibles (Figure 120). De plus, les stérols sont plus abondants que les stanols.

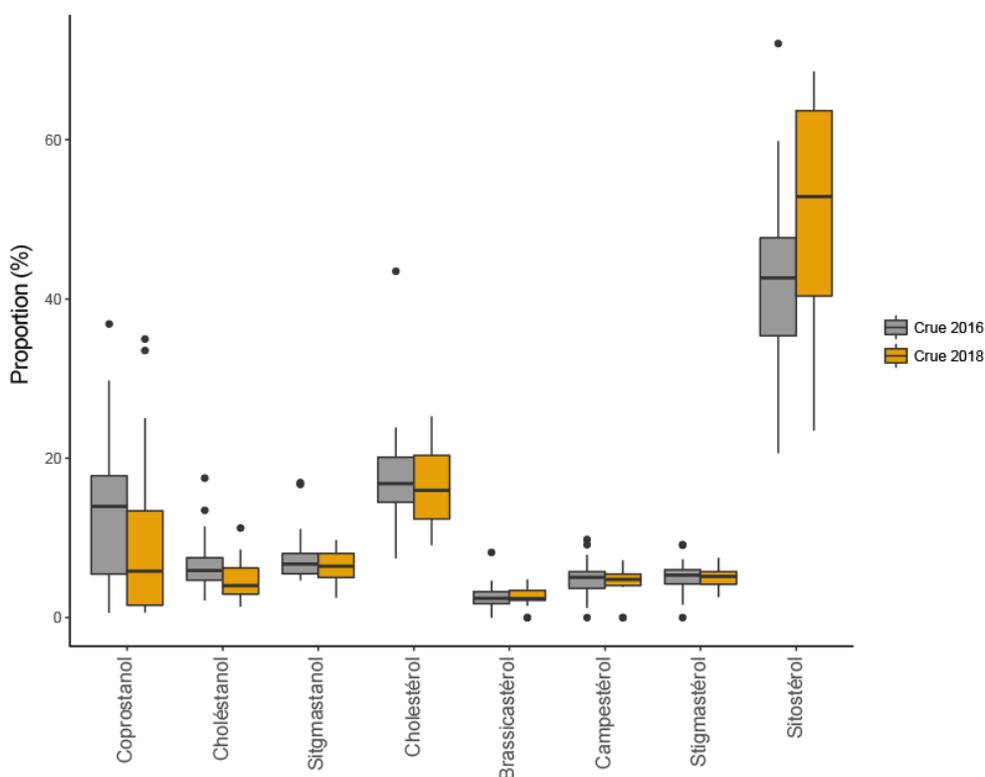


Figure 120 : Distribution des stérols et stanols dans les laisses de crues de janvier 2018 et de juin 2016.

La très forte proportion de sitostérol reflète une production principale des stérols par des végétaux terrestres (Volkman, 1986). La présence du brassicastérol indique une production de MO par des microalgues, mais toutefois peu abondante (Volkman, 1986; Volkman et al., 1998). Ainsi, comme le suggérait le rapport C/N et les distributions de *n*-alcanes et d'alcools, la MO des laisses de crues semble provenir majoritairement des végétaux terrestres, avec une part plus faible de MO aquatique. De plus, la présence de coprostanol en forte proportion (Figure 120) révèle un apport de MO fécale, probablement issue des stations d'épurations (Leeming et al., 1996; Bull et al., 2002).

6.3.2 Impact de Paris sur la qualité de la MO

Afin d'estimer l'influence de l'agglomération parisienne sur les propriétés de la MO, l'ensemble des laisses de crues a été classé en 5 groupes en fonction de leur éloignement de Paris (Tableau 16, Figure 114). Les échantillons de la crue de juin 2016 ont principalement été prélevés en région parisienne, alors que ceux de la crue de janvier 2018 sont plus répartis le long du bassin versant de la Seine. Toutefois, cette classification ne prend pas en compte les différentes occupations du sol (i.e. ville, champs, prairie, forêt etc...), ni la densité de population.

Tableau 16 : Classement des laisses de crue en fonction de leur distance par rapport à Paris et nombre d'échantillons dans ces différents groupes pour les deux crues. Les groupes A, B et C sont en amont de Paris, le groupe D correspond à une zone circulaire de 30 km autour de Paris, et le groupe E est en aval de Paris.

Groupes	Distance (km)	Crue 2016	Crue 2018
A	190-100	0	4
B	100-50	4	4
C	50-30	3	2
D	30-30	18	4
E	30-110	2	3

Très en amont et en aval de Paris, le rapport C/N de la MO montre des valeurs supérieures à 15 ce qui témoigne d'une source majoritairement terrigène de la MO (Figure 121). A l'inverse, proche de Paris (groupe C et D), les valeurs de C/N sont plus faibles en général inférieures à 15 (Figure 121), révélant un changement de source de la MO vers Paris et son agglomération, avec une MO plus riche en azote. Le rapport C/N augmente ensuite en aval de Paris (groupe E) pour retrouver des valeurs proches de celles de l'amont. Cette diminution du C/N autour

de l'agglomération parisienne pourrait être causée par un apport de MO plus importante des stations d'épuration, dont le C/N est généralement inférieur à 10 (MO riche en composés azotés ; Doublet et al., 2010). Cet apport de MO anthropique est confirmé par l'identification du coprostanol dans les laisses de crue (voir plus haut). La forte concentration des stations d'épurations autour de Paris (environ 530 ; source SIAAP : Syndicat interdépartemental pour l'assainissement de l'agglomération parisienne) notamment dans la Seine et Marne (Est de Paris : 284), dans les Yvelines (Ouest de Paris : 140), dans l'Essonne (Sud de Paris : 60) et dans le Val d'Oise (Nord de Paris : 42) pourrait partiellement expliquer la variation du rapport C/N le long de la Seine. En aval de Paris, l'apport de composés riches en azote, notamment par les stations d'épuration, disparaît rapidement. En parallèle, le $\delta^{13}\text{C}$ de la MO montre des valeurs bien plus faibles très en amont de Paris (groupe A ; Figure 121) par rapport aux autres groupes de distance (B à E). Cette différence, difficile à expliquer, pourrait être liée à un changement d'occupation des sols le long du bassin amont de la Seine ou bien à des apports en MO anthropique autour de Paris, qui sont enrichis en ^{13}C ($\delta^{13}\text{C} \approx -26/-24 \text{ ‰}$; Burnett and Schaeffer, 1980; Pernet-Coudrier, 2008).

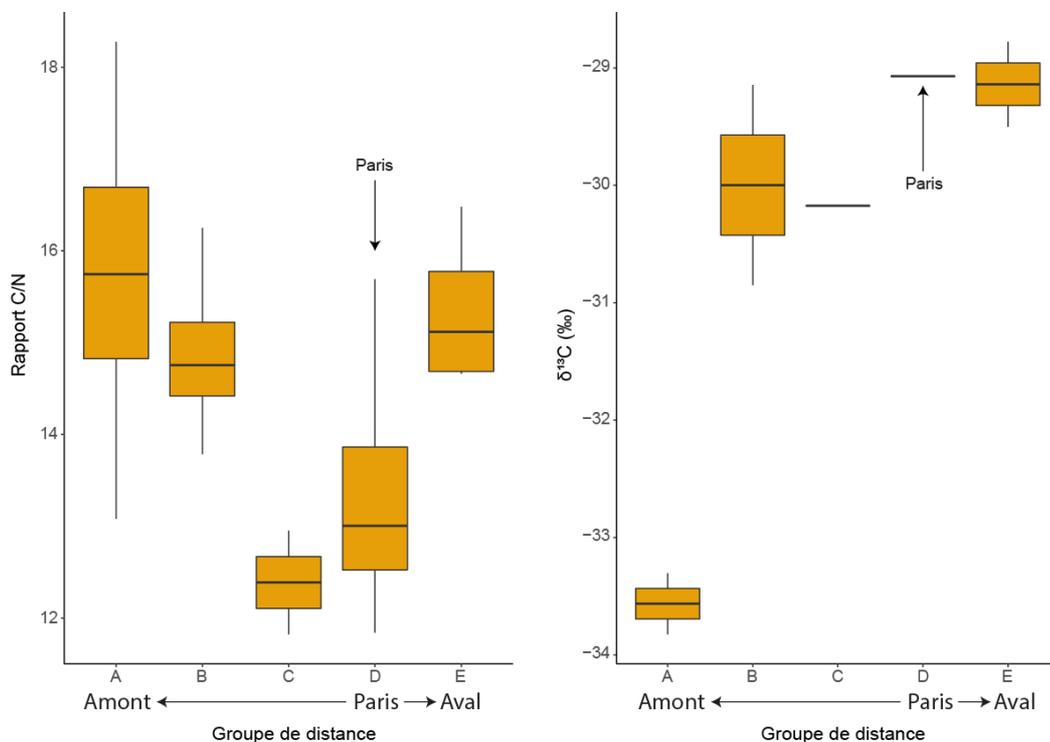


Figure 121 : Variation des paramètres globaux de la MO le long du bassin de la Seine pour la crue de janvier 2018. Aucune donnée n'est actuellement disponible pour la crue de juin 2016. Il y a moins de valeur pour le $\delta^{13}\text{C}$ à cause d'une saturation en carbone lors de l'analyse.

Une étude des variations de la composition moléculaire de la MO le long du bassin de la Seine a été effectuée en complément des analyses élémentaires et isotopiques. En début de chapitre, plusieurs distributions des molécules aliphatiques ainsi que leurs sources ont été identifiées. Ces dernières sont synthétisées dans le Tableau 17.

Tableau 17 : Synthèse des différences sources pour chacune des distributions des molécules aliphatiques.

Distribution	<i>n</i>-alcanes	Alcools	Acides gras
A	Terrigène	Terrigène + aquatique	Aquatique
B	Terrigène dégradé	Terrigène	Terrigène + aquatique
C	?	Aquatique + terrigène	Aquatique + terrigène
D	Terrigène ?		

Afin de mesurer l'impact de l'agglomération parisienne sur la distribution des lipides, un calcul des proportions des échantillons d'une classe de distance appartenant à chaque distribution a été effectué (e.g. 50% des échantillons du groupe de distance X appartiennent à la distribution Y ; Figure 122). Dans chaque classe de distance, les distributions des *n*-alcanes sont réparties plus ou moins de façon équitable entre la distribution A et B (Figure 122). Ainsi, tout le long de la Seine, les *n*-alcanes sont produits par des végétaux terrestres, et sont plus ou moins dégradés. Il ne semble pas y avoir d'influence de l'agglomération parisienne sur les distributions des *n*-alcanes. Il n'est notamment pas observé de contamination notable par des hydrocarbures qui pourrait fortement modifier la distribution des *n*-alcanes (Bray and Evans, 1961).

Très en amont de Paris, les alcools dérivent en majorité des végétaux terrestres, alors que dans les autres sites, leur origine est mixte (terrigenne et aquatique, distribution de type B ; Figure 122). Autour de Paris, la majorité des alcools ont une distribution de type A, i.e. une dominante terrigène, alors que dans les autres sites, les trois types de distributions sont répartis plus équitablement (Figure 122). Une telle variation reste encore difficile à expliquer.

Pour les acides gras, les échantillons prélevés les plus en amont sont dominés par la distribution de type B, la plus terrigène (Figure 122), et confirme les résultats obtenus à partir des alcools : très en amont du bassin, la MO semble majoritairement dériver de végétaux terrestres. Plus en aval, les acides gras sont issus d'un mélange de végétaux terrestres et

d'organismes aquatiques (Figure 122). Tout comme pour les *n*-alcanes, aucune influence de Paris n'a été détectée.

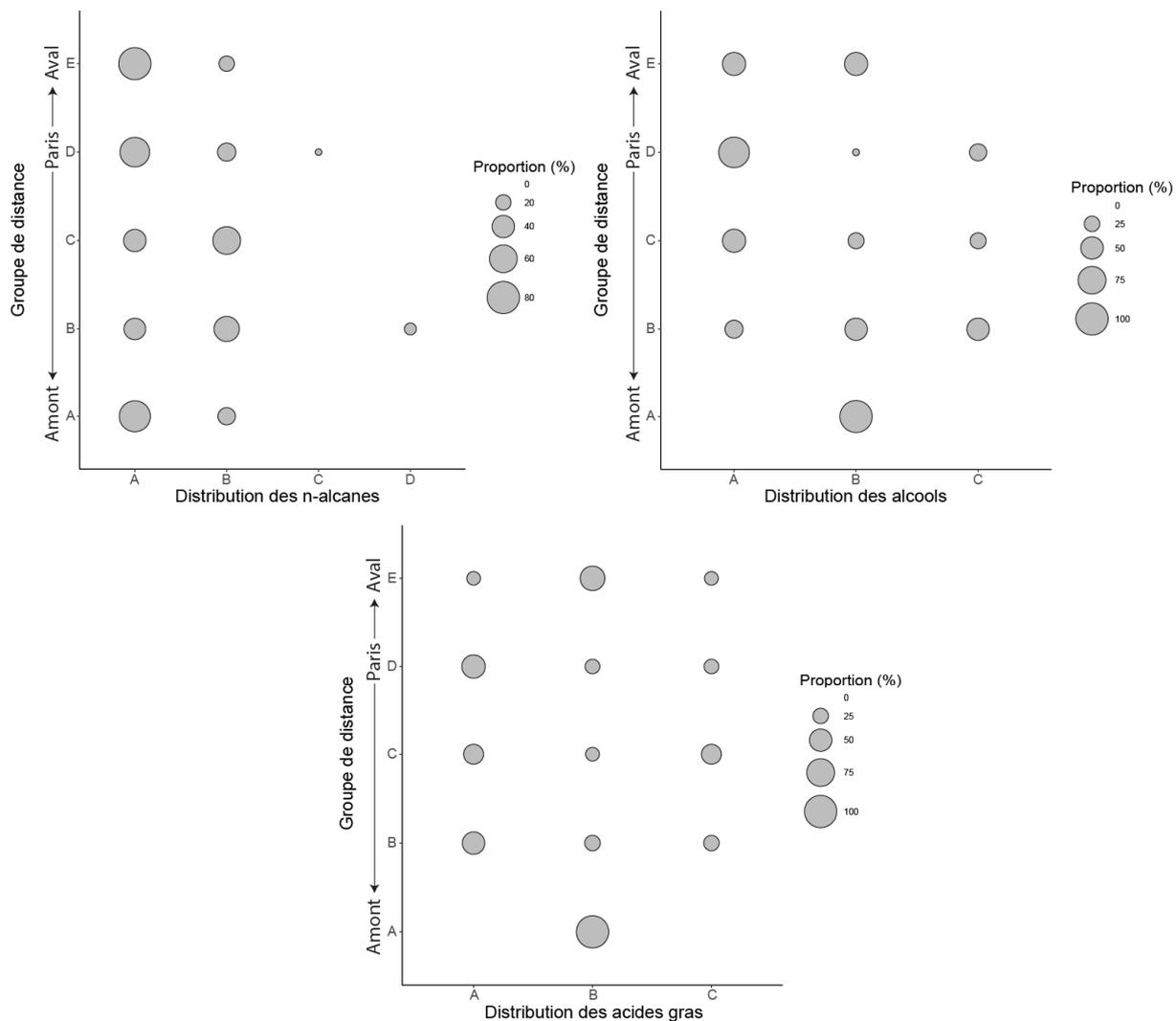


Figure 122 : Variation des proportions des échantillons appartenant à chaque groupe de distance pour chaque distribution identifiée.

Il est également possible de calculer la proportion de stérols issus des végétaux terrestres et de ceux produits dans la colonne d'eau en utilisant le rapport des phytostérols sur le brassicastérol et le cholestérol (indice TAR ; cf. chapitre 4). Le TAR des stérols montre la même tendance lors des deux campagnes : la proportion de MO d'origine terrigène (i.e. phytostérols) diminue jusqu'à Paris (Figure 123) ce qui confirme les variations observées pour les alcools et les acides gras (Figure 122). Ainsi, l'influence de Paris sur la distribution des stérols semble être la même quelle que soit la saison. La diminution de la proportion de MO terrigène

pourrait cependant être causée par une augmentation des apports de MO aquatique et/ou de MO anthropique, le cholestérol pouvant être issu de ces deux sources.

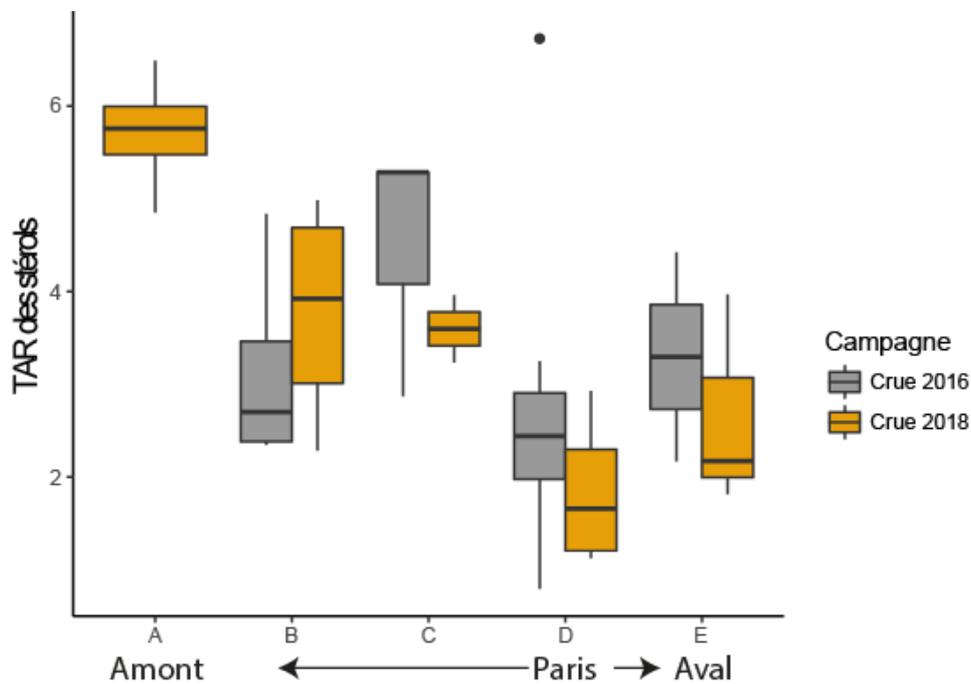


Figure 123 : Variation du TAR des stérols le long du bassin de la Seine pour les crues de juin 2016 et de janvier 2018. De fortes valeurs du TAR indiquent une source plus terrigène et des valeurs plus faibles, une source plus aquatique.

Afin d'expliquer le changement de source des stérols dans le bassin amont de la Seine, il est nécessaire de pouvoir estimer la contamination fécale des laisses de crues. Pour cela, un rapport de contamination fécale a été calculé à partir du coprostanol et du cholestanol (cf. chapitre 4).

Les laisses de crue montrent une contamination fécale faible à l'amont, puis qui augmente jusqu'à Paris (Figure 124). A l'aval de Paris, la contamination des laisses de crues diminue légèrement (Figure 124). Ceci démontre bien que l'agglomération parisienne a un impact sur la qualité de la MO le long du bassin de la Seine lors des périodes de crue. Ces résultats confirment également les premières observations réalisées sur l'eau de la Seine à Paris pendant la crue de juin 2016, où un pic d'*E. coli*, une bactérie indicatrice fécale, avait été observé. La diminution de la contamination fécale en aval de Paris pourrait être due à une dilution de la MO des stations d'épuration par de la MO naturelle, ou bien par une dégradation biotique du coprostanol en milieu oxygène (Bartlett, 1987).

Le TAR des stérols et le rapport des stérols fécaux montrent une forte corrélation ($\rho = -0,63$ et $p < 0,01$). Cela suggère que la diminution du TAR observée autour de Paris serait liée à des apports de MO issue des stations d'épuration.

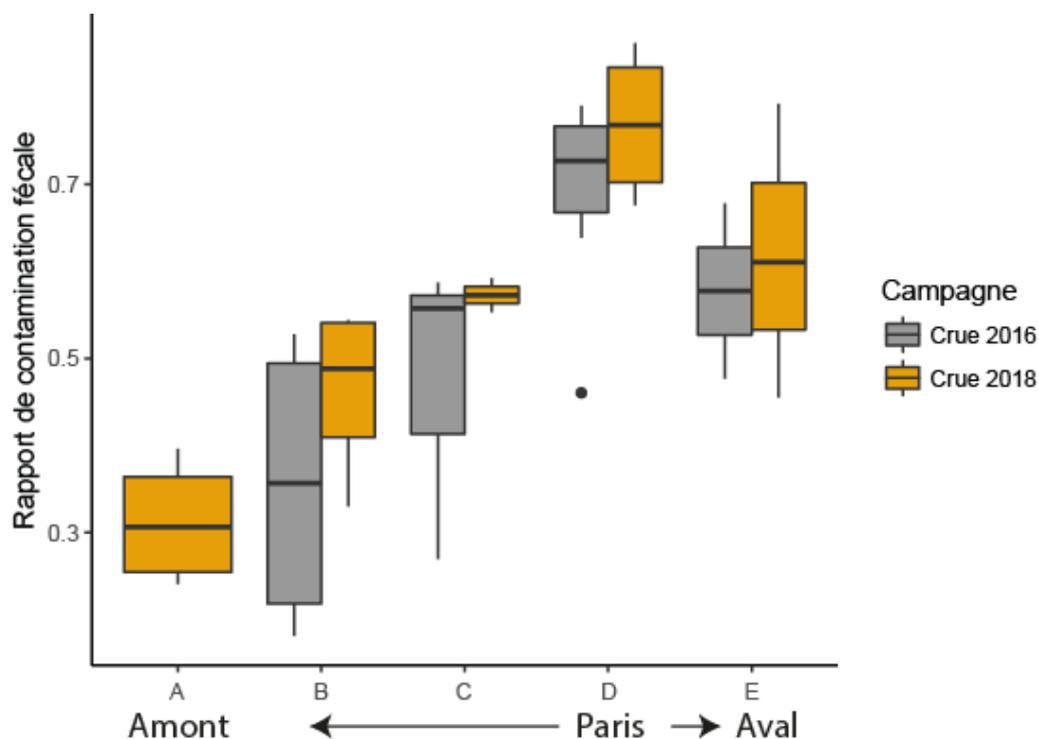


Figure 124 : Variations de la contamination fécale le long du bassin de la Seine pour les laisses de crues de juin 2016 et janvier 2018.

6.3.3 Comparaison des propriétés de la MO dans les laisses de crue de juin 2016 et janvier 2018

Les crues de la Seine qui ont eu lieu ces deux dernières années se sont déroulées à des périodes très différentes : l'une en été et l'autre en hiver. Il est donc intéressant de comparer les propriétés de la MO lors des deux crues afin de voir s'il y a une influence des saisons sur la quantité et la qualité de la MO.

La teneur en *n*-alcanes dans les laisses de crues de juin 2016 varie entre 62,7 et 474 $\mu\text{g/gCorg}$ (avec un point extrême à 859 $\mu\text{g/gCorg}$) et entre 81 et 329,5 $\mu\text{g/gCorg}$ en janvier 2018 (Figure 125). Les concentrations en *n*-alcanes sont significativement plus importantes lors de la crue de juin 2016 ($p < 0,01$). Ceci peut être dû à une végétation plus importante en été, la crue d'été emportant plus de matériel issu de ces derniers, et donc, plus de *n*-alcanes. La

distribution majoritaire en janvier 2018 est celle de type A (65% des échantillons ; origine terrigène peu dégradée ; Tableau 18) puis la B (35% ; origine terrigène dégradée). Ces deux distributions sont également présentes dans les mêmes proportions lors de la crue de juin 2016. Ainsi, malgré des différences quantitatives, les *n*-alcanes des deux crues sont issus des végétaux terrestres et sont en partie dégradés (Tableau 17).

Tableau 18 : Pourcentages des distributions des molécules aliphatiques pour les deux crues

Distribution	n-alcanes		alcools		acides gras	
	2016	2018	2016	2018	2016	2018
A	59%	65%	70%	35%	56%	24%
B	33%	35%	7%	47%	26%	47%
C	4%	0%	22%	18%	19%	29%
D	4%	0%				

La concentration en alcools dans les laisses de crues ne montre pas de différences significatives entre les deux crues ($p = 0,7$) puisqu'elle varie entre 184 et 872 $\mu\text{g/gCorg}$ (avec deux valeurs extrêmes $> 1000 \mu\text{g/gCorg}$) en juin 2016 et entre 189 et 640 $\mu\text{g/gCorg}$ en janvier 2018 (Figure 125). La concentration en alcools est significativement plus élevée que celle en *n*-alcanes ($p < 0,01$; Figure 125). En juin 2016, la distribution A des alcools domine largement (70% des échantillons ; source terrigène et aquatique ; Tableau 18) alors qu'en janvier 2018, les distributions B (source terrigène) et A sont en proportion comparable (47 et 35% respectivement ; Tableau 18), suggérant qu'à cette période, les alcools issus des végétaux terrestres soient les plus abondants (Tableau 17).

Les teneurs en acides gras sont plus élevées en juin 2016 ($p < 0,01$) dans les laisses de crues de juin 2016 où elles varient entre 1655 et 6091 $\mu\text{g/gCorg}$ (avec 6 valeurs extrêmes $> 10000 \mu\text{g/gCorg}$) contre 1063 et 8588 $\mu\text{g/gCorg}$ en janvier 2018 (avec 3 valeurs extrêmes $> 10000 \mu\text{g/gCorg}$; Figure 125). Les distributions majoritaires diffèrent entre les crues : en juin 2016, la distribution A domine (56% des échantillons ; source aquatique ; Tableau 18) alors qu'en janvier 2018 c'est la distribution B (47% des échantillons ; source terrigène + aquatique ; Tableau 18). Ainsi, comme les alcools, la proportion d'acides gras issus des organismes aquatiques est plus élevée en juin 2016 qu'en janvier 2018 ce qui pourrait s'expliquer par une production algale plus importante en juin qu'en janvier (température plus élevée et plus de lumière ; Tableau 17 ; Garnier et al., 1995).

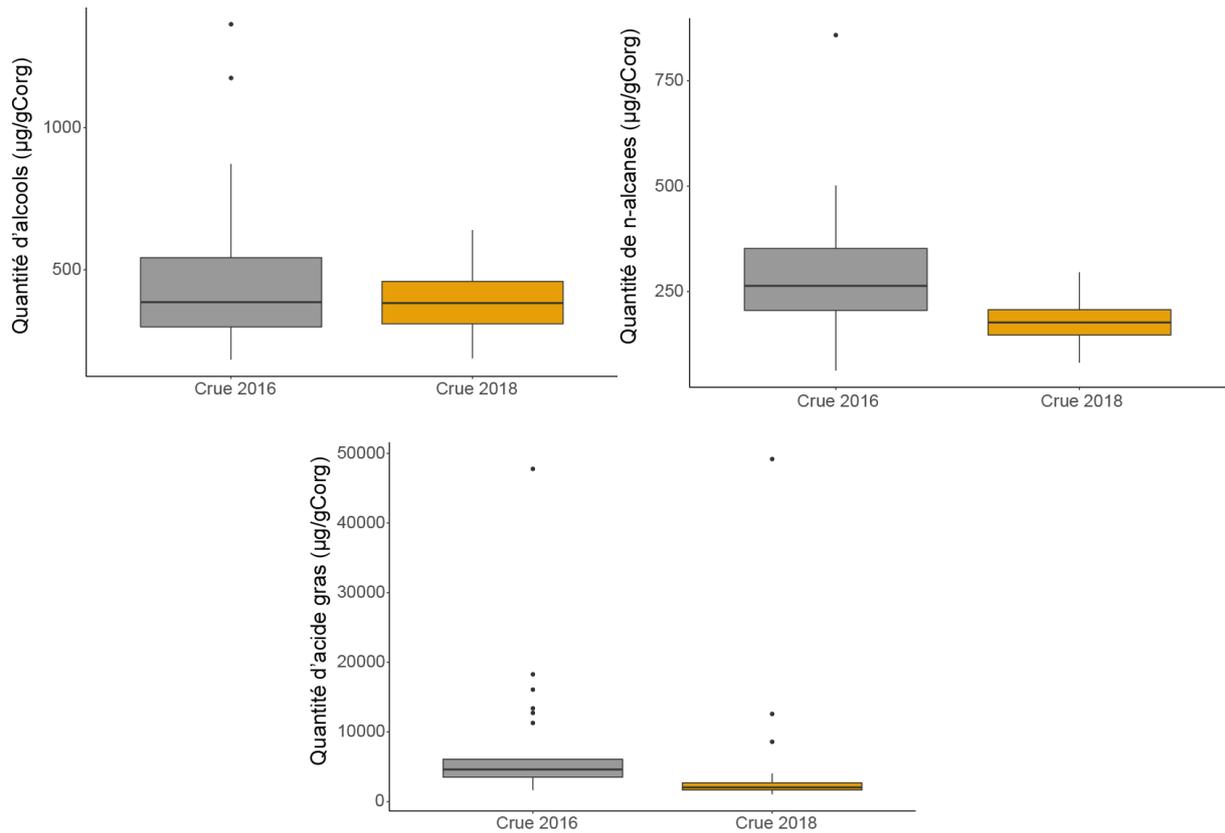


Figure 125 : Concentrations en *n*-alcane, alcools et acides gras exprimées en $\mu\text{g/gCorg}$ dans les laisses de crue de juin 2016 ($n=27$) et de janvier 2018 ($n=17$). Les concentrations des acides gras sont hors gamme d'étalonnage et sont donc semi-quantitatives.

Pour confirmer de telles hypothèses, il serait intéressant d'envisager de faire des thermochimioyse des laisses de crue afin d'estimer les variations des teneurs en MO terrigène (cf. chapitre 5).

Comme vu précédemment (Figure 120) la concentration en stérols est bien plus élevée que celle des stanols. De plus, aucune différence saisonnière n'est observée concernant les teneurs en stérols et stanols (Figure 126).

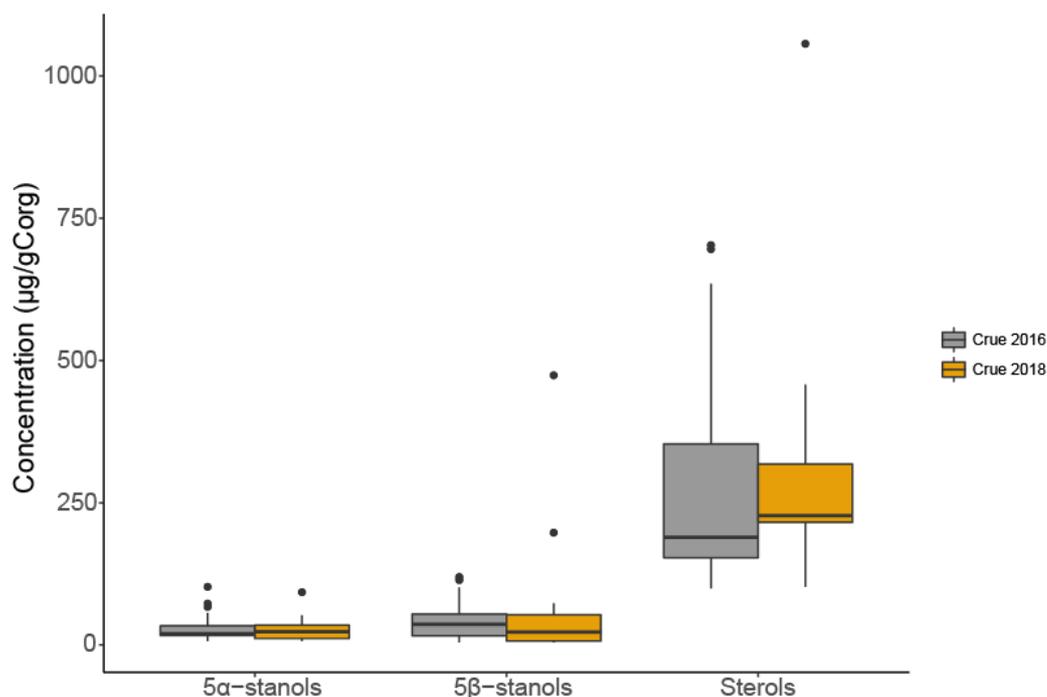


Figure 126 : Concentration des 5 α -stanols, 5 β -stanols et stérols exprimés en $\mu\text{g/gCorg}$ dans les laisses de crue de juin 2016 et de janvier 2018.

La distribution des stérols et stanols ne varie pas de manière notable entre les deux crues (Figure 120). Ces derniers sont principalement issus des végétaux terrestres comme les *n*-alcanes (Tableau 17).

Lors de la dégradation microbienne des stérols, des 5 α -stanols sont produits par hydrogénation en milieu réducteur (Murtaugh and Bunch, 1967). Afin d'estimer le degré de dégradation des stérols, le rapport des stérols sur les 5 α -stanols peut être utilisé (cf. chapitre 4). Il est plus faible pour les stérols en C₂₇ que pour ceux en C₂₉, signe d'une plus forte dégradation du cholestérol par rapport aux phytostérols (Figure 127). Ainsi, les stérols et stanols sont dominés par des phytostérols peu dégradés, ce qui suggère un apport important de MO terrigène fraîche comme le suggérerait l'analyse des distributions des *n*-alcanes (indice CPI ; Tableau 13).

La dégradation des stérols en C₂₇ ($p = 0,07$) et C₂₉ ($p < 0,05$) est légèrement plus élevée lors de la crue de janvier 2018 que lors de celle de juin 2016. Cette dégradation plus élevée des phytostérols en janvier 2018 pourrait s'expliquer par un apport plus important de MO issue directement des sols (où les phytostérols sont dégradés en sitostanol par des bactéries

anaérobies (Schubert and Kaufmann, 1965) alors qu'en été, la proportion de MO fraîche issue des végétaux terrestres est plus élevée.

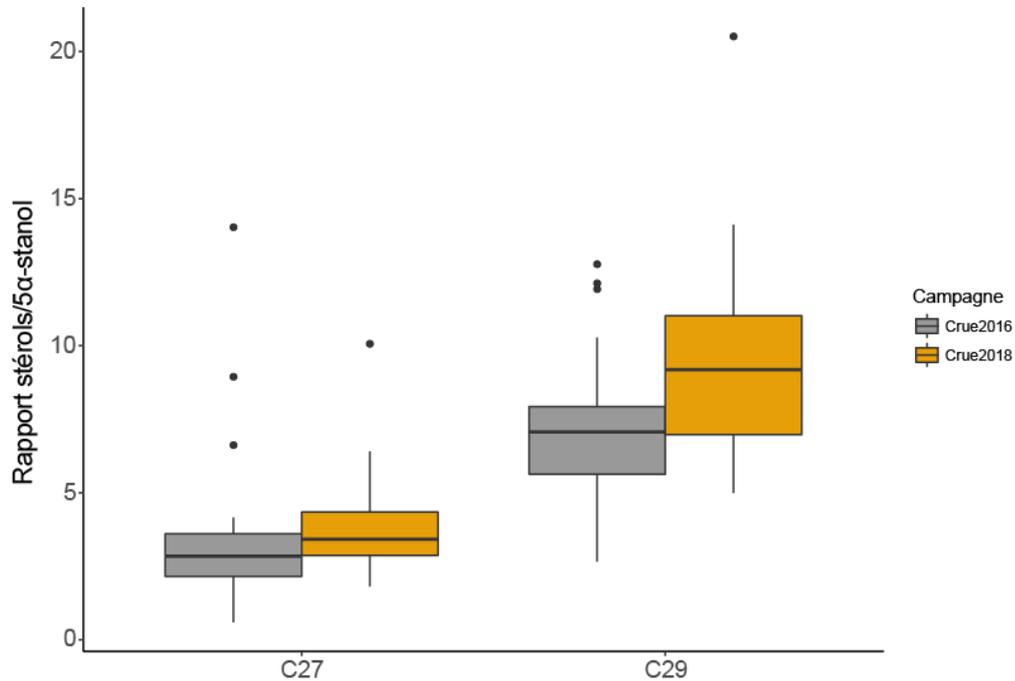


Figure 127 : Rapport stérols/5 α -stanols pour les composés en C₂₇ et les C₂₉ lors des deux crues de la Seine.

Enfin, la contamination fécale des laisses de crues est identique lors des deux crues (Figure 124). Ainsi, l'apport des MO des stations d'épuration ne semble pas dépendre de la saison considérée.

6.3.4 Comparaison des propriétés de la MO des laisses de crue et des sédiments estuariens de la Seine

Lors des périodes de crues, les rivières exportent une MO plus terrigène jusqu'à l'océan (Dalzell et al., 2005; Medeiros et al., 2012). Il est donc intéressant de comparer la qualité de la MO lors des périodes de crues à la qualité de la MO dans un régime hydrologique normal. Toutefois, les seuls échantillons à disposition sont les sédiments de l'estuaire où les lipides ont été analysés (cf. chapitre 4). Ces échantillons n'ont pas été prélevés lors des mêmes périodes, ni sur les mêmes sites. La comparaison et les interprétations possibles doivent donc être considérées avec précaution et devront être vérifiées par analyses des lipides des sédiments et/ou MOP en régime hydrologique normal en amont du bassin de la Seine.

Au niveau global, la MO des laisses de crues est très différente de celle des sédiments de l'estuaire de Seine (Figure 128). En effet, les laisses de crue ont un rapport C/N plus élevé ($p < 0,01$) et un $\delta^{13}\text{C}$ plus faible ($p < 0,01$). Ceci suppose que la MO transportée par les crues est, comme attendu, enrichie en MO issue des végétaux terrestres. Lors des crues du Danube, une augmentation du rapport C/N des MOP correspondant à une plus forte proportion de MO terrigène a également été montrée (Hein et al., 2003).

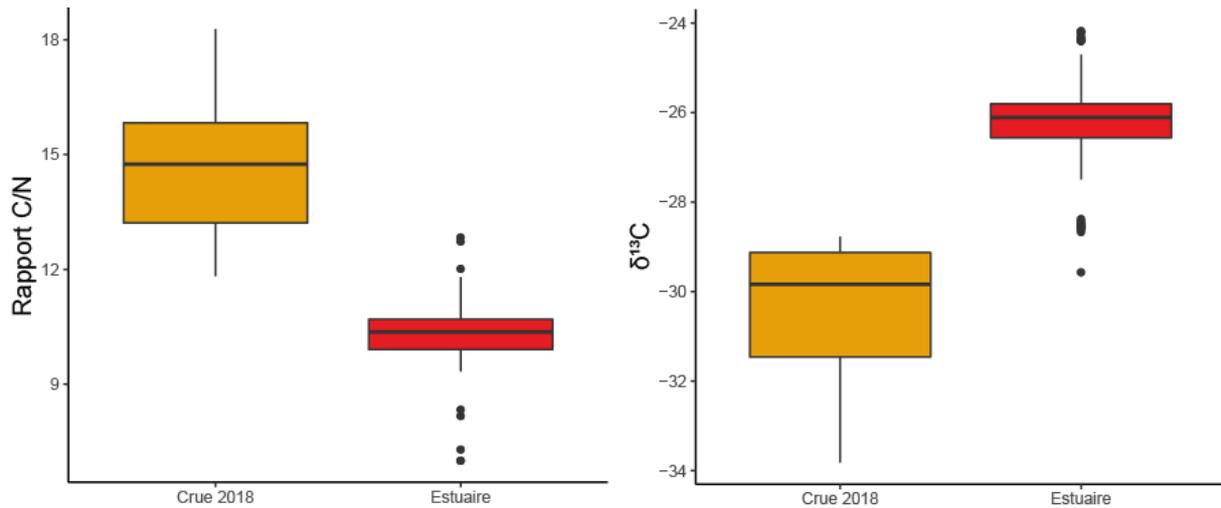


Figure 128 : Comparaison des résultats de l'analyse globale de la MO entre la crue de janvier 2018 et les sédiments de l'estuaire de Seine.

Afin de comparer plus en détails les propriétés de la MO dans les sédiments de l'estuaire de Seine avec celles des laisses de crues, les distributions des molécules aliphatiques ont été examinées dans les différents échantillons.

Les *n*-alcanes proviennent principalement des végétaux terrestres, que ce soit lors des crues de la Seine, ou bien dans les sédiments de l'estuaire (cf. chapitre 4). Toutefois, la distribution de ces composés diffère légèrement (Tableau 19). L'ACL et le TAR des laisses de crue sont plus faibles que ceux des sédiments estuariens, ce qui suggère des sources de MO différentes pour les deux types d'échantillon. Les laisses de crues sont en effet dominées par l'homologue en C_{27} , le composé en C_{29} étant le plus abondant dans les sédiments estuariens ce peut refléter une différence de végétation entre l'estuaire et le bassin de la Seine plus en amont (Tableau 19). Pour tester cette hypothèse, une analyse des lipides des végétaux pourra être menée.

Tableau 19 : Comparaison des deux distributions majoritaires des *n*-alcanes dans les laisses de crues (A et B) et dans l'ensemble des échantillons de l'estuaire de Seine.

Type	N	Gamme	Max	ACL	TAR	CPI	Crue
A	27	16-33	27/29	26,2 ± 0,5 ^a	15,7 ± 9,5 ^a	4,1 ± 0,9 ^a	2016+2018
B	15	16-33	27/29	26 ± 0,4 ^a	23,1 ± 19,1 ^a	2,1 ± 0,5 ^b	2016+2018
Estuaire	46	16-38	26/29	27,6 ± 0,7 ^b	67,4 ± 46 ^b	4,5 ± 1,8 ^a	

La distribution des alcools dans les sédiments de l'estuaire est plus proche de la distribution de type A (Tableau 20) qui domine lors de la crue estivale, témoignant d'une source proche : un mélange d'alcool terrigène et aquatique.

Tableau 20 : Comparaison des trois distributions majoritaires des alcools dans les laisses de crues (A et B) et dans l'ensemble des échantillons de l'estuaire de Seine.

Type	N	Gamme	Max	ACL	TAR	CPI	Crue
A	25	12-32	26	24,8 ± 0,7 ^a	9,9 ± 5,8 ^a	28,1 ± 13,2 ^a	2016+2018
B	10	12-32	26	25,7 ± 0,5 ^b	26,2 ± 13,2 ^b	51,3 ± 23,7 ^b	2018
C	9	12-32	26/14	21,5 ± 1,1 ^c	2,2 ± 0,9 ^c	8,6 ± 4,7 ^c	
Estuaire	50	14-30	26/28	25,4 ± 0,4 ^b	6,6 ± 2,6 ^a	35 ± 23 ^a	

La distribution des acides gras des sédiments de l'estuaire de Seine se rapproche de celle des laisses de crue type A (Tableau 17), avec toutefois une ACL plus faible, témoignant d'une part plus importante de MO aquatique dans l'estuaire de Seine (Tableau 21). Tout comme les alcools, la distribution des acides gras de l'estuaire est plus proche de la crue de 2016.

Tableau 21 : Comparaison des trois distributions majoritaires des acides gras dans les laisses de crues (A et B) et dans l'ensemble des échantillons de l'estuaire de Seine.

Type	N	Gamme	Max	ACL	TAR	CPI	Ramifiés (%)	Insaturés (%)	Crue
A	19	8-28	16	16,5 ± 0,3 ^a	0,77 ± 0,42 ^a	29,8 ± 10,5 ^a	4 ± 1,6 ^a	11,5 ± 4,4 ^a	2016
B	15	6-28	16/24	18,6 ± 1,1 ^b	3,9 ± 2,6 ^b	11,8 ± 4 ^b	3,4 ± 1,8 ^a	13,5 ± 6,9 ^a	2018
C	10	6-28	16	16,9 ± 0,4 ^{ab}	1,2 ± 0,8 ^a	34,7 ± 20,5 ^a	3 ± 1,1 ^a	7,6 ± 3,6 ^a	
Estuaire	50	12-24	16	14,9 ± 0,5 ^c	0,67 ± 0,36 ^a	22,5 ± 6,6 ^a	3,2 ± 1,2 ^a	8,5 ± 2,8 ^a	

Ainsi, la composition de la MO des crues estivales semble proche de celle des sédiments estuariens prélevés en période hydrologique normale. A l'inverse, la proportion de MO terrigène semble plus élevée lors des crues hivernales qu'en temps habituel. Ces hypothèses devront être confirmées après analyses de sédiment de la Seine en périodes « normales ».

Le rapport du brassicastérol (stérol algaire) sur le sitostérol (issu des végétaux terrestres) est similaire entre les deux crues mais légèrement plus élevé dans les sédiments de l'estuaire de Seine (Tableau 22), indiquant donc un léger enrichissement des sédiments estuariens en stérols d'origine aquatique (Tableau 22). La composition en stérols dans l'estuaire est statistiquement plus proche de la crue de juin 2016. Toutefois, la proportion de stérols algaires est plus importante dans l'estuaire.

Enfin, la contamination fécale est équivalente dans les laisses de crue et dans les sédiments estuariens (Tableau 22). Ainsi, la contamination fécale ne semble pas augmenter lors des crues de la Seine, qui semble soumise à un apport continu de substances anthropiques issues des stations d'épuration, qui persistent jusque dans la baie de Seine. Toutefois, ces interprétations sont en contradictions avec les mesures des bactéries indicatrices fécales (*E. Coli*) qui avaient montré un pic d'activité lors de crue, témoignant d'une plus forte contamination fécale. Cela soulève la question de la représentativité de la MO des laisses de crues en tant qu'intégrateur de la crue. En effet, le coprostanol peut rester en majorité dans la colonne d'eau, liés aux particules et être moins abondant dans la phase sédimentaire. De plus, il est possible que le coprostanol émis par les stations d'épuration se mélange avec de la MO issus des sols, où le cholestanol est présent. Ainsi, la contamination fécale se ferait « diluer » par un apport de MO des sols. Afin de vérifier ces hypothèses, il serait intéressant de comparer la quantité absolue en coprostanol dans l'estuaire de Seine et dans les laisses de crue.

Tableau 22 : Comparaison du rapport brassicastérol/sitostérol (Brassica/Sito), des rapports de dégradation microbienne des stérols (RC27 et RC29) et du rapport de contamination fécale (R).

Type	Brassica/Sito	RC27	RC29	R
Crue 2016	0,07 ± 0,02 ^a	3,4 ± 1,6 ^a	7,1 ± 1,9 ^{ab}	0,62 ± 0,13 ^a
Crue 2018	0,06 ± 0,02 ^a	4,0 ± 1,3 ^b	9,4 ± 2,7 ^a	0,54 ± 0,15 ^a
Estuaire	0,18 ± 0,06 ^b	2,4 ± 0,6 ^a	7,9 ± 3,9 ^b	0,58 ± 0,13 ^a

Afin de synthétiser la comparaison au niveau moléculaire des échantillons de laisses de crues et des sédiments de l'estuaire de Seine, une ACP a été réalisée à partir des données ACL, CPI et TAR des *n*-alcanes, alcools et acides gras, mais également à partir du rapport brassicastérol/sitostérol, des rapports de dégradation microbienne des stérols (RC27 et RC29) et du rapport de contamination fécale (R). Les deux premières projections dans le plan de l'ACP sont présentées en Figure 129. La projection principale montre bien la différence

observée entre les sédiments estuariens et la MO des crues : les échantillons estuariens ont des distributions en *n*-alcane différentes, mais également ont une contribution plus importante des stérols issus d'algues. La MO des crues 2016 et 2018 présentent également des caractéristiques différentes, avec une proportion de lipides d'origine terrigène (alcools, acides gras) plus élevée dans les laisses de crue de janvier 2018 que de juin 2016 probablement dû à une productivité primaire plus faible en hiver.

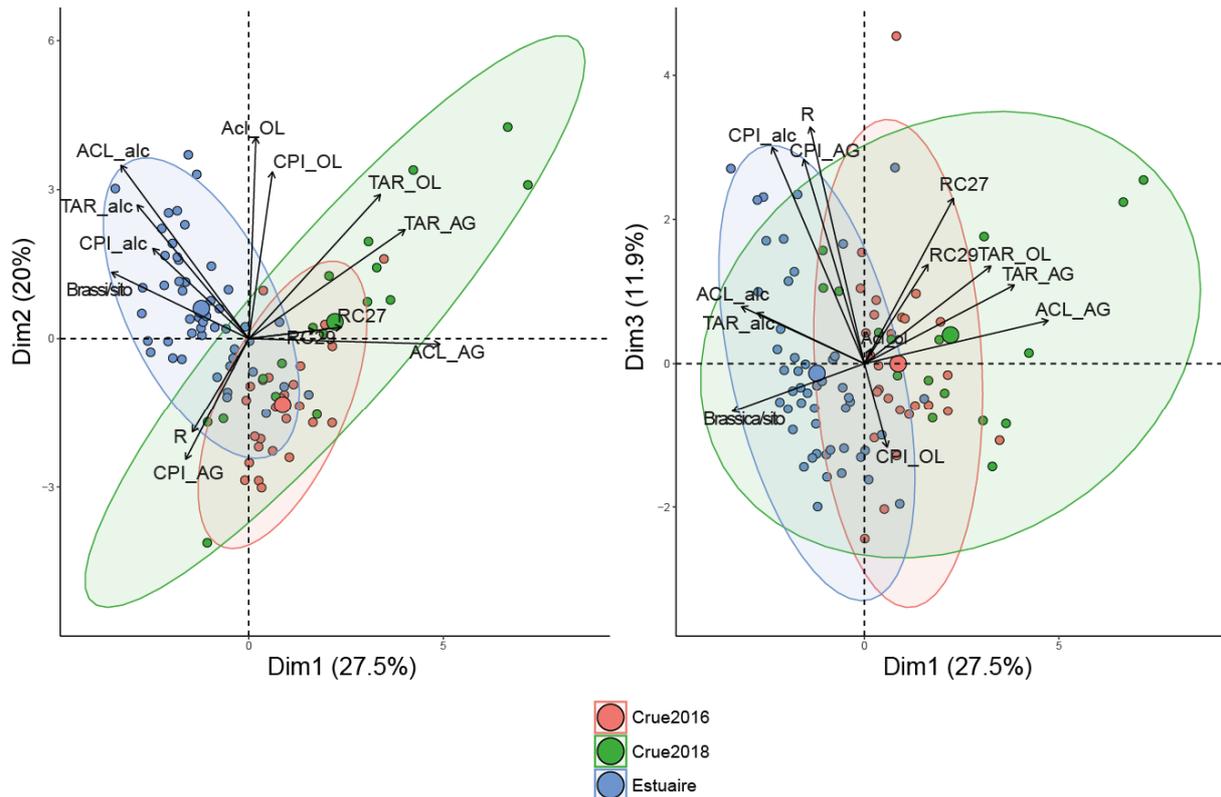


Figure 129 : Projection dans le plan des trois premières dimensions d'ACP réalisée à partir des biomarqueurs lipidiques des laisses de crues et des sédiments estuariens.

6.4 Conclusions

L'analyse de la composition de la MO des laisses de crue a montré que cette dernière se compose principalement de MO terrigène, avec une proportion faible de MO aquatique. Une partie de la MO dérive également des rejets des stations d'épurations.

L'agglomération parisienne a également un impact non négligeable sur la qualité de la MO dans la Seine. En effet, une forte contamination fécale est observée autour de la capitale. Cette contamination est vraisemblablement causée par les nombreux rejets de stations d'épuration concentrées dans cette zone. Toutefois, pour mieux suivre l'influence des stations

d'épuration parisienne sur la qualité de l'eau, une étude moléculaire de la MO contenue dans leurs rejets semble nécessaire et permettrait alors de quantifier cet impact.

L'indice BIT dérivé des tétraéthers (1.5.2) pourra être calculé dans les laisses de crue afin de suivre les apports en MO terrigènes provenant de l'érosion des sols dans le bassin amont. Toutefois, ce dernier doit être pris avec précaution puisque certains tétraéthers peuvent avoir une origine mixte sol/colonne d'eau. Les tétraéthers permettront également de suivre les communautés archéennes méthanogènes, et ainsi de voir l'impact de l'agglomération parisienne sur ces organismes.

Enfin, l'analyse de sédiments et/ou de MOP prélevés après une crue majeure dans le chenal de l'estuaire pourrait permettre de déterminer si les matières transportées dans l'eau lors des crues arrivent et sédimentent au sein de l'estuaire, dans le chenal, ou bien si la MO des crues est expulsée plus en aval de l'estuaire, à cause du très fort débit observé lors ces périodes extrêmes.

L'analyse des MOD et des MOP notamment au niveau moléculaire (lipides + thermochimie) prélevées dans le bassin de la Seine amont en période hydrologique normale (dans le cadre du programme PIREN Seine) permettra également de savoir si l'agglomération parisienne a un impact sur la qualité de MO dans la phase dissoute et particulaire, mais également si les propriétés de la MOD et de la MOP du bassin de la Seine sont proches ou non de ce qui est observé dans l'estuaire de Seine.

CONCLUSIONS GENERALES ET PERSPECTIVES

Cette thèse avait pour objectif de répondre aux questions suivantes :

- Peut-on isoler la MOD estuarienne sans en modifier ses propriétés et la caractériser à l'échelle globale et moléculaire ?
- Quelle est la composition de la MO dans l'estuaire de Seine ? Quelles sont ses sources ?
- Comment varient les propriétés de la MO le long de l'estuaire et au cours du temps ?
- La composition de la MO varie-t-elle en fonction du compartiment considéré (MOD/MOP/sédiment) ?
- Quel est l'impact de l'agglomération parisienne sur la qualité de la MO lors des crues majeures de la Seine ?

Il a été possible d'isoler la MOD estuarienne par osmose inverse et électrodialyse afin de l'analyser au niveau global et moléculaire. L'analyse spectroscopique de la MOD avant et après son isolement par osmose inverse et électrodialyse a permis de montrer que cette technique avait un impact limité sur les propriétés de la MOD fluorescente.

Le couplage d'analyses globales (i.e. élémentaires et isotopiques) et structurales (RMN du ^{13}C) a permis de mieux comprendre la dynamique de la MO dans l'estuaire de Seine dans ses trois compartiments (MOD, MOP et MO sédimentaire). Le C/N de la MO est faible (< 16) quel que soit le compartiment, la MO serait ainsi majoritairement d'origine aquatique dans l'estuaire de Seine. La MOD montre également des C/N plus importants que la MOP et la MO sédimentaire. De plus, le $\delta^{13}\text{C}$ augmente de l'amont vers l'aval, résultat du mélange de la MO de la rivière avec de la MO marine. Un nouvel indice a été proposé pour suivre l'évolution de la MO aquatique et de la MO terrigène à partir d'un modèle de mélange moléculaire basé sur les spectres RMN : le rapport protéine sur lignine (ou P/L). Ce dernier augmente vers l'aval dans la MOP, témoignant d'une proportion plus importante de MO aquatique vers l'aval. De plus, les valeurs les plus fortes du P/L sont observées dans la MOD, témoignant d'une source plus aquatique de cette dernière. Ces analyses ont montré des différences significatives de composition entre la MOD d'une part et la MOP et la MO sédimentaire d'autre part. La MOD de l'estuaire de Seine est ainsi plus riche en MO aquatique dégradée (P/L et C/N forts) que la MOD sédimentaire et particulaire (P/L et C/N plus faibles), ce qui peut s'expliquer par la plus

grande affinité de la MO terrigène, plus hydrophobe, pour les phases solides. Bien que le rapport P/L semble prometteur pour suivre les sources de la MO dans les estuaires, ce rapport doit être testé dans d'autres estuaires avant de pouvoir généraliser son application. De plus, la dynamique de la MO sédimentaire semble liée à celle des marées dans l'estuaire de Seine, avec un dépôt de MOP récente dans sédiments lors de faibles marées, et une érosion des sédiments lors des marées plus importantes, conduisant à une remise en suspension du matériel récent et laissant en surface la MO plus ancienne. Toutefois, l'approche globale et structurale a montré quelques limites, notamment de ne pas pouvoir distinguer la MO naturelle de la MO anthropique.

L'analyse des biomarqueurs lipidiques dans les sédiments a permis de mieux cerner les sources possibles de la MO dans l'estuaire de Seine, et notamment la source anthropique. Cette analyse a confirmé l'augmentation de la proportion de MO aquatique vs. terrigène le long de l'estuaire de Seine, avec un enrichissement plus prononcé à l'embouchure. Par ailleurs, la MO d'origine aquatique se dégrade préférentiellement étant plus riche en MO labile. Cette dernière est plus abondante en surface des carottes et, lors du vieillissement et de l'enfouissement de la MO, cette dernière s'enrichit en MO terrigène. Les biomarqueurs lipidiques ont permis de préciser les sources de la MO naturelle par rapport aux analyses globales et structurales. Les biomarqueurs ont permis d'identifier des sources spécifiques de la MO : les végétaux terrestres, les algues (en partie des diatomées et des dinoflagellés) et les microorganismes (dominés par des bactéries et des archées méthanogènes en amont et par des Thaumarchées en aval). Les analyses lipidiques ont par ailleurs révélé que la contamination fécale anthropique était très abondante à Rouen et diminuait progressivement le long de l'estuaire de Seine.

L'analyse en thermochimie des échantillons de l'estuaire de Seine a permis d'accéder à la composition (macro)moléculaire de la MO terrigène et de la MO bactérienne, celle de la MO aquatique restant encore mal définie, pour le moment uniquement basé sur l'acide gras C₁₄. Les constituants de la MOD sont plus hydrophiles que ceux de la MOP et la MO sédimentaire (e.g. sucres et protéines) et compliqués à identifier par pyrolyse. La MO terrigène est composée d'un mélange de macromolécules issus des végétaux terrestres, i.e. lignine, cutine et subérine mais également de sucres. Comme suggéré par les analyses globales de la MO, la

MOD est appauvrie en ces macromolécules terrigènes, et ces dernières sont très dégradées. Pour la MOP et la MO sédimentaire, la composition de la MO terrigène évolue le long de l'estuaire de Seine : la MO terrigène est de moins en moins abondante vers l'aval et la MO terrigène s'enrichit en lignine au profit de la cutine et de la subérine vers l'aval. De plus, les sédiments s'enrichissent en lignine lors de leur enfouissement, ce qui confirme les résultats obtenus à partir des lipides. Les molécules d'origine bactérienne (lipides et sucres) sont plus abondantes dans le bouchon vaseux en lien avec une plus forte activité microbienne dans ce dernier. De plus, la contamination fécale des MOP a pu être évaluée à partir des thermochimiolyses, confirmant les résultats obtenus à partir des lipides (i.e. une diminution de la contamination fécale vers l'aval).

La thermochimiolyse a également permis d'initier une comparaison précise de la composition moléculaire de la MOP et de la MO sédimentaire. La MOP est appauvrie en MO terrigène (lignine, cutine et subérine) particulièrement à l'aval de l'estuaire.

L'ensemble des analyses sur l'estuaire de Seine conduisent à proposer un schéma récapitulatif de la dynamique de la MO dans l'estuaire de Seine (Figure 130).

Conclusions générales et perspectives

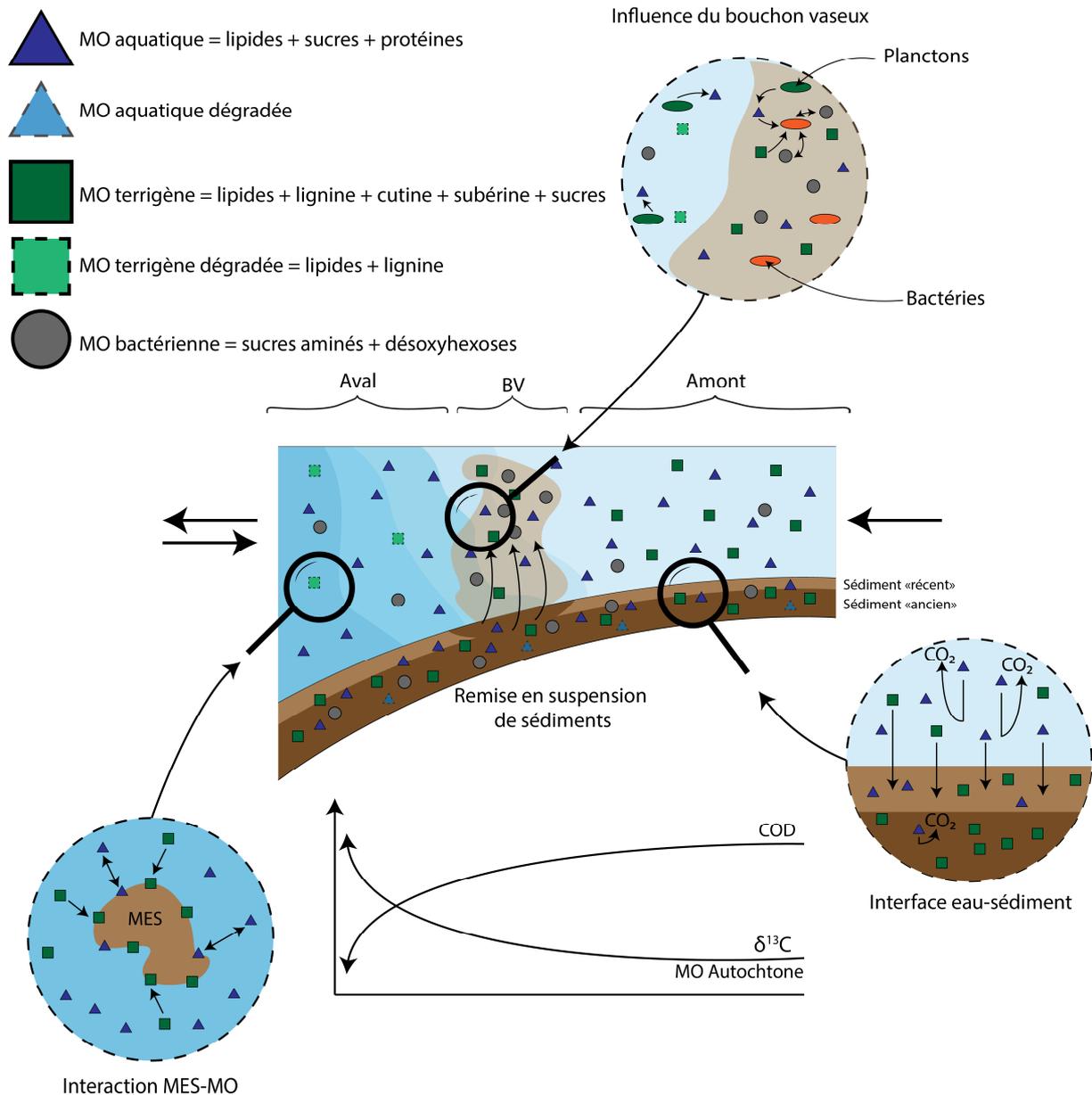


Figure 130 : Schéma de synthèse sur la dynamique de la MO et la composition des différents groupes de MO dans l'estuaire de Seine. Les molécules constitutives des différents groupes correspondent uniquement à celles analysées.

L'analyse des stérols et stanols des laisses de crue dans la zone amont du bassin de la Seine a montré que Paris et son agglomération semble être la source de la MO anthropique fécale observée tout le long de la Seine, notamment par les rejets des nombreuses stations d'épuration parisienne. Les propriétés de la MO sont également différentes entre les deux crues, avec une MO plus terrigène et fraîche en hiver, et une MO plus dégradée et aquatique en été.

Pour finir, ce travail a démontré l'intérêt de la caractérisation multi-échelles de la MO dans les estuaires et notamment de la caractérisation moléculaire de la MO. La thermochimioolyse s'est montré un très bon outil pour suivre les sources terrigènes, microbiennes et anthropiques de la MO en bon accord avec la RMN du ^{13}C . L'analyse multi-compartiments de la MO semble également nécessaire afin d'intégrer l'ensemble des processus se déroulant dans les estuaires. Toutefois, le couplage des différents compartiments est encore rare dans l'étude de la MO estuarienne, et notamment au niveau moléculaire. L'application à d'autres estuaires de l'approche mise en œuvre dans cette étude permettrait de mieux comprendre leur dynamique, notamment pour les estuaires européens qui sont encore très peu caractérisés du point de vue de la MO.

De nombreuses perspectives sont possibles pour poursuivre et améliorer ce travail.

A ce jour, 9 MOD estuariennes sur les 16 prélevées ont déjà été analysées. Les derniers échantillons sont en cours de préparation et seront analysés très prochainement comme décrit dans ce manuscrit (i.e. analyses élémentaires et isotopiques, RMN du ^{13}C et thermochimioolyse). Les datations ^{14}C de ces échantillons permettront par ailleurs de confirmer ou infirmer les hypothèses sur le vieillissement de la MOD observé vers l'aval de l'estuaire de Seine.

L'analyse des MOD de l'estuaire sera également réalisée par spectroscopie de masse ultra haute résolution (FT-ICR-MS). Ces analyses permettront de suivre avec une très bonne résolution la composition moléculaire de la MOD et ses transformations le long de l'estuaire de Seine. Lors d'une étude préliminaire, 6 échantillons de MOD ont été analysés, et l'ensemble des échantillons sera analysé prochainement. L'analyse préliminaire des résultats a montré que les MOD sont composés principalement de lipides, de lignine, de tanins et d'acides aminés et que 40% des composés sont communs à l'ensemble des échantillons. De plus, le nombre total de molécules identifiées par cette technique diminue vers l'aval, ce qui peut s'expliquer par une dilution des molécules vers l'aval ou bien d'une diminution de la diversité moléculaire en milieu marin. De telles tendances ont également été vues dans l'estuaire de l'Amazone (Seidel et al., 2015).

Des tests de RMN du ^{15}N par DNP ont été réalisés sur les MOP et les MOD de l'estuaire de Seine de la campagne d'avril 2015 et permettent d'obtenir des informations sur les fonctions azotées présentes dans les échantillons. Les premiers résultats ont montré que la quantité d'azote est insuffisante pour l'analyse des MOP avec cette technique. L'analyse préliminaire des spectres RMN des MOD a elle montré que (i) les azotes sont principalement sous forme amide et (ii) le pic des amides montre un décalage de son déplacement chimique entre les échantillons prélevés à l'amont et ceux prélevés à l'aval qui pourrait s'expliquer par un changement de l'environnement chimique des atomes d'azote vers l'aval.

L'analyse de l'ensemble des biomarqueurs lipidiques des échantillons de MOP prélevés le long de l'estuaire de Seine permettra de confirmer les résultats des thermochimioolyse montrant une composition très différente de la MOP et de la MO sédimentaire. L'utilisation des biomarqueurs permettrait une quantification de ces différences, ce que ne permet pas la thermochemiolyse. D'autres lipides, tels que les hopanes, pourraient également être utilisés pour tracer la présence de bactérie du milieu. Les résultats pourraient être comparés à ceux obtenus à partir des acides gras et sucres bactériens. Les hopanes permettent également de tracer l'origine pétrologène de la MO, notamment grâce au rapport des isomères du trisnorhopane (Tm/Ts). Ce dernier augmente lors de la maturation thermique (e.i. lors de la diagenèse) de la MO (Seifert and Moldowan, 1978). L'identification des différents triterpènes pentacycliques permettrait aussi de préciser la source terrigène de la MO : herbacés, graminées, angiospermes, gymnospermes etc... De même, une autre famille de biomarqueurs, les diols à longues chaînes, pourraient être analysés. Ces derniers permettent de tracer la MO aquatique produite en eau douce, en eau saumâtre ou en eau marine (Lattaud et al., 2017).

Pour faire le parallèle avec l'analyse des biomarqueurs lipidiques dans la phase particulaire et sédimentaire, une analyse de la composition moléculaire en sucres pourrait également préciser les sources de la MOD et notamment les sucres méthylés dont les sources bactérienne, algale ou végétale sont bien connues (Panagiotopoulos et al., 2013).

De plus, pour mieux contraindre et expliquer l'enrichissement en ^{13}C de la MO vers l'aval, une analyse de l'isotopie du carbone sur les fractions lipidiques et résiduelles (i.e. après extraction des lipides) serait intéressante (Figure 131). En effet, ceci permettrait de mettre en évidence les familles moléculaires responsables du changement de la composition isotopique globale.

Il pourrait s'agir d'une production de nouvelles molécules enrichies en ^{13}C , ou bien d'une dégradation de molécules appauvries en ^{13}C . Dans un premier temps, une extraction à l'eau suivi d'une extraction aux solvants pourrait être réalisé afin d'isoler la MO hydrosoluble, la MO liposoluble et une MO résiduelle. Une mesure de l'isotopie de carbone pourra être réalisée sur l'ensemble des extraits isolés. Toutefois, l'extrait à l'eau pouvant contenir des carbonates, il est nécessaire de le décarbonater avant analyse. De plus, une séparation des lipides en différentes classes chimiques (cf 2.4.2) permettra de mieux cibler les composés responsables du changement de l'isotopie de carbone. Une analyse du $\delta^{13}\text{C}$ de la MO résiduelle pourra également être réalisée sur le résidu d'extraction décarbonaté. Enfin, si aucun fractionnement isotopique n'est observé lors de la pyrolyse, il serait possible d'effectuer une pyrolyse « offline » (c'est-à-dire une pyrolyse de l'échantillon et une récupération du pyrolysat dans un flacon plutôt qu'une injection directe dans les machines). Le même schéma d'analyse pourra ensuite être appliqué sur les produits de pyrolyses et le résidu.

Le couplage de ces mesures isotopiques avec un bilan de masse du carbone total permettra ainsi de connaître quelles sont les familles de composés responsables du changement de la composition isotopique globale observé vers l'aval.

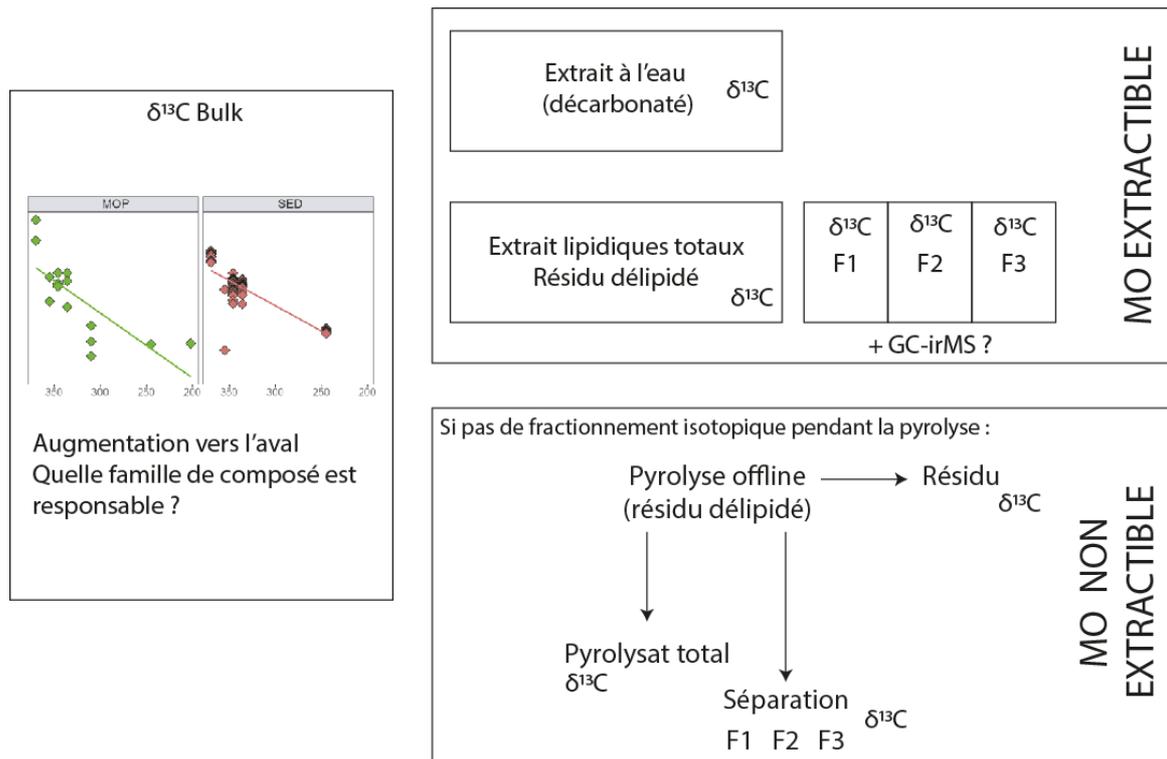


Figure 131 : Schéma expérimental proposé pour la caractérisation de l'isotopie du carbone dans les différentes fractions de la MO.

Environ 500 échantillons d'eau ont été prélevés lors de cycles de marées des différentes campagnes estuariennes (voir 2.1.2) pour l'analyse des propriétés optiques de la MOD. L'analyse des premiers résultats a montré que la MOD de l'estuaire de Seine est composée d'un mélange de MO terrigène et aquatique, et que la proportion de MOD aquatique augmente à l'aval du bouchon vaseux. De plus, les propriétés optiques de la MOD changent lors d'un cycle de marée, avec une MOD plus aquatique lors de la pleine mer, et une MOD plus terrigène lors de la basse mer. Une variabilité saisonnière a été mise en évidence, avec une MOD plus aquatique en été et plus terrigène en hiver. Une analyse PARAFAC pourra être réalisée afin de décomposer l'ensemble des composantes des spectres de fluorescence et ainsi tracer leur dynamique spatio-temporelle dans l'estuaire de Seine. De plus, une partie de ces échantillons a été analysée par fractionnement flux-force afin de mesurer la masse moyenne des molécules constituant de la MOD. Ces analyses ont montré une diminution du poids moléculaire moyen vers l'aval de l'estuaire de Seine.

L'important nombre d'échantillons de MOD pourra également permettre un croisement statistique des propriétés et sources cette dernière avec les paramètres environnementaux (i.e. salinité, température, turbidité...). Ces relations pourraient ensuite être utilisées pour

estimer les propriétés de la MOD en mesurant uniquement ces paramètres, disponibles en permanence via les stations du GIP Seine aval (réseau SYNAPSES). Plusieurs méthodes statistiques pourront être utilisées pour ce croisement. La première est plutôt classique en sciences de l'environnement, et s'agit des régressions linéaires multiples. Ces dernières permettent d'expliquer un phénomène par une équation mathématique linéaire du premier ordre. Il existe des méthodes plus récentes permettant de croiser l'ensemble des données, notamment celles d'« apprentissage profond » (deep learning). Le deep learning est une forme d'intelligence artificielle où l'ordinateur est capable d'apprendre par lui-même. Elle s'oppose à la programmation classique où l'ordinateur ne fait qu'effectuer des opérations prédéterminées. La méthode de deep learning la plus commune est le réseau de neurones artificiels. Ces derniers sont appliqués à de nombreux domaines (analyse d'image, reconnaissance faciale, intelligence artificielle, robotique) mais sont encore peu utilisés dans le domaine des géosciences. Les réseaux de neurones artificiels ont été créés par analogie aux neurones biologiques. Ces derniers transforment des données d'entrée en données de sortie en utilisant des interconnexions entre les différentes données d'entrée (Figure 132). Trois niveaux sont présents dans les réseaux de neurones : la 1^{ère} couche correspond aux données brutes d'entrée. Ces dernières sont ensuite transformées puis arrivent dans le 2nd niveau (niveau caché). Elles sont à nouveau transformées puis sont envoyées dans une fonction d'activation (qui va permettre d'introduire une non-linéarité du modèle produisant les données de sorties (Figure 132). Le modèle calcule ensuite l'erreur, puis la propage sur les autres niveaux pour affiner l'interconnexion des variables. Ainsi, en utilisant en données d'entrée les paramètres environnementaux, il serait possible d'estimer certains indices de la MOD dans l'estuaire de Seine, comme le BIX ou le HIX, ce qui permettra d'estimer les propriétés optiques de la MOD.

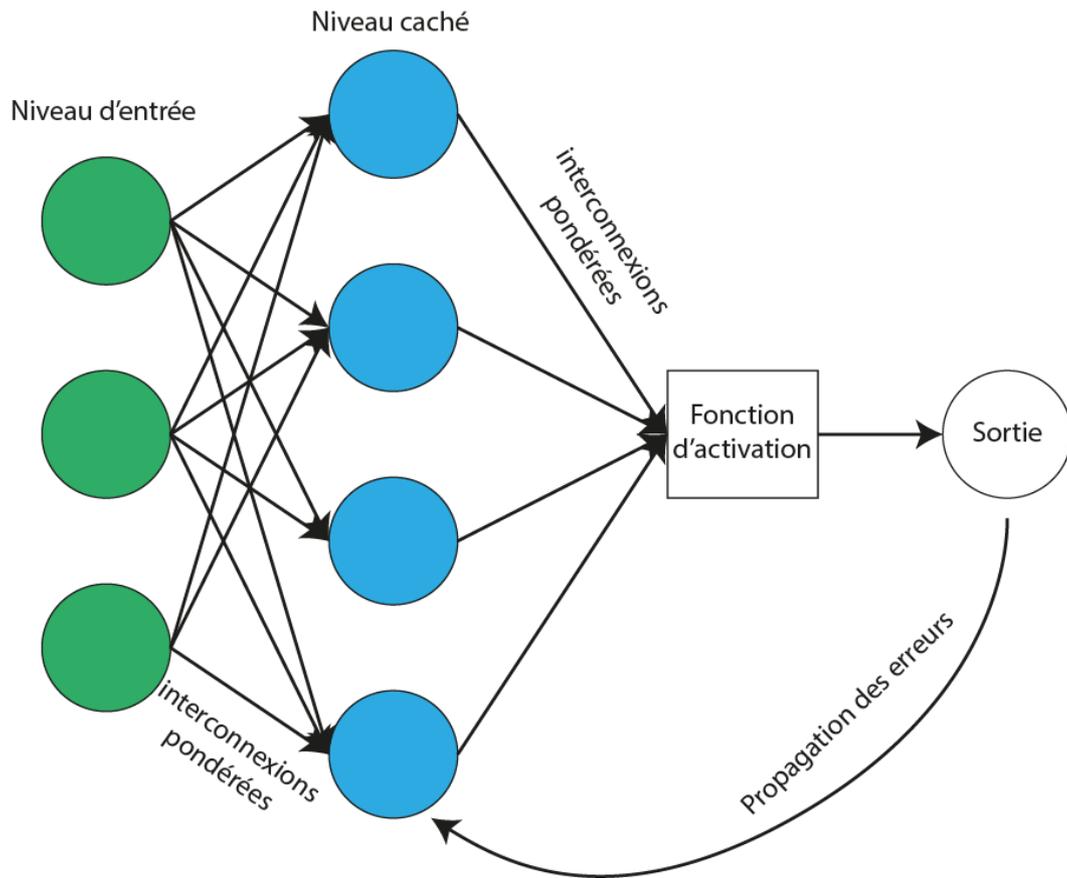


Figure 132 : Schéma simplifié d'un réseau de neurones artificiels.

Afin de mieux comprendre l'origine et le devenir de la MO dans l'estuaire de Seine, il est nécessaire d'étudier les différents processus contrôlant sa dynamique et sa composition en amont de l'estuaire. Pour cela, des prélèvements d'eau ont été réalisés dans la partie amont du bassin de la Seine et en particulier autour de l'agglomération parisienne (voir 2.1.1). Pour le moment, seuls 6 échantillons de MOP ont été analysés. La composition chimique de ces MOP est très semblable à celle des MOP provenant de l'amont de l'estuaire (i.e. Poses et Rouen).

Pour mieux comprendre l'origine des différentes (macro)molécules mais également de pouvoir quantifier les flux des différents types de MO (i.e. MO terrigènes réfractaire, MO terrigène labile, MO bactérienne, MO aquatique etc...) une stratégie d'échantillonnage légèrement différente pourrait être utilisée afin de caractériser au niveau global comme au niveau moléculaire les différentes sources possibles de la MO. Pour ce faire, différents types d'échantillons pourraient être utilisés : les sols, les végétaux terrestres, le plancton, les microorganismes aquatiques, les rejets de station d'épuration etc... A la fin de ce travail, une

large base de données des différentes sources et des molécules caractéristiques de chaque type de MO pourra être réalisé.

Une fois ce travail d'inventaire réalisé, une nouvelle campagne pourrait être effectuée dans l'estuaire de Seine, avec une stratégie d'échantillonnage équitablement répartie entre la zone de l'estuaire amont, du bouchon vaseux et de l'estuaire aval, et notamment en baie de Seine. Ceci permettra de mieux étudier les variations des propriétés de la MO dans la zone amont (les propriétés de la MOD réalisée lors d'un transect entre Caudebec et Rouen ont montré de fortes variations ; [Huguet et al., 2018](#)) mais également de caractériser plus de MO marine dans la zone côtière.

De plus, des prélèvements d'eau dans les affluents principaux de l'estuaire de Seine, notamment dans l'Eure ainsi que dans les nappes se déversant dans l'estuaire de Seine devraient être effectués afin de mieux contraindre les différents apports de MO possible à l'estuaire (amont, affluents et nappes). Associées à ces prélèvements, des mesures de biomasses microbienne et planctonique (Chlorophylle a, ADN et ARN environnemental, et quantification des organismes) pourraient être réalisées afin d'identifier les organismes qui vont produire le plus de MOD et de MOP, mais également de savoir quels organismes sont responsables de la dégradation de la MO terrigène dans l'estuaire de Seine. De plus, des analyses sur la qualité des dépôts de MO atmosphérique (par des procédés similaires aux échantillonneurs de pollen) permettraient d'intégrer une nouvelle source de la MO dans l'estuaire de Seine. Cette dernière peut aussi bien provenir des végétaux terrestres (comme les pollens) mais également de la combustion de la MO sur le bassin versant, par les voitures ou le chauffage au bois.

Si une telle stratégie permet de calculer les différents flux de carbone dans l'estuaire de Seine, il pourrait être intéressant de l'appliquer à d'autres estuaires, afin dans un premier temps de comparer leur dynamique mais également de pouvoir les intégrer dans les modèles globaux du cycle du carbone.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Abdulla H. A. N., Dias R. F. and Minor E. C. (2009) Understanding the enhanced aqueous solubility of styrene by terrestrial dissolved organic matter using stable isotope mass balance and FTIR. *Org. Geochem.* **40**, 547–552.
- Abdulla H. A. N., Minor E. C., Dias R. F. and Hatcher P. G. (2010a) Changes in the compound classes of dissolved organic matter along an estuarine transect: A study using FTIR and ¹³C NMR. *Geochim. Cosmochim. Acta* **74**, 3815–3838.
- Abdulla H. A. N., Minor E. C. and Hatcher P. G. (2010b) Using Two-Dimensional Correlations of ¹³C NMR and FTIR To Investigate Changes in the Chemical Composition of Dissolved Organic Matter along an Estuarine Transect. *Environ. Sci. Technol.* **44**, 8044–8049.
- Abril G., Etcheber H., Hir P. L., Bassoullet P., Boutier B. and Frankignoulle M. (1999) Oxic/anoxic oscillations and organic carbon mineralization in an estuarine maximum turbidity zone (The Gironde, France). *Limnol. Oceanogr.* **44**, 1304–1315.
- Abril G., Riou S. A., Etcheber H., Frankignoulle M., de Wit R. and Middelburg J. J. (2000) Transient, Tidal Time-scale, Nitrogen Transformations in an Estuarine Turbidity Maximum—Fluid Mud System (The Gironde, South-west France). *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **50**, 703–715.
- Adler E. (1977) Lignin chemistry—past, present and future. *Wood Sci. Technol.* **11**, 169–218.
- Ahad J. M. E., Ganeshram R. S., Bryant C. L., Cisneros-Dozal L. M., Ascough P. L., Fallick A. E. and Slater G. F. (2011) Sources of n-alkanes in an urbanized estuary: Insights from molecular distributions and compound-specific stable and radiocarbon isotopes. *Mar. Chem.* **126**, 239–249.
- Aiken G. R., McKnight D. M., Thorn K. A. and Thurman E. M. (1992) Isolation of hydrophilic organic acids from water using nonionic macroporous resins. *Org. Geochem.* **18**, 567–573.
- Aiken G. R., Thurman E. M., Malcolm R. L. and Walton H. F. (1979) Comparison of XAD macroporous resins for the concentration of fulvic acid from aqueous solution. *Anal. Chem.* **51**, 1799–1803.
- Aluwihare L. I., Repeta D. J. and Chen R. F. (2002) Chemical composition and cycling of dissolved organic matter in the Mid-Atlantic Bight. *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* **49**, 4421–4437.
- Alvarez-Puebla R. A. and Garrido J. J. (2005) Effect of pH on the aggregation of a gray humic acid in colloidal and solid states. *Chemosphere* **59**, 659–667.
- Amon R. M. W. and Benner R. (1996) Bacterial utilization of different size classes of dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.* **41**, 41–51.
- Amon R. M. W. and Benner R. (1994) Rapid cycling of high-molecular-weight dissolved organic matter in the ocean. *Nature* **369**, 549–552.
- Andrews J. E., Greenaway A. M. and Dennis P. F. (1998) Combined Carbon Isotope and C/N Ratios as Indicators of Source and Fate of Organic Matter in a Poorly Flushed, Tropical Estuary: Hunts Bay, Kingston Harbour, Jamaica. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **46**, 743–756.
- Ankit Y., Mishra P. K., Kumar P., Jha D. K., Kumar V. V., Ambili V. and Anoop A. (2017) Molecular distribution and carbon isotope of n-alkanes from Ashtamudi Estuary, South India: Assessment of organic matter sources and paleoclimatic implications. *Mar. Chem.*

Références bibliographiques

- ARTELIA (2014) Réhabilitation des vasières de l'estuaire de la Seine – Développement et exploitation d'un modèle hydro-sédimentaire 3D de l'estuaire. *Rapp. D'étude Pour Compte Gd. Port Marit. Havre*, 184.
- Aspinall G. O. (1983) 1 - Classification of Polysaccharides. In *The Polysaccharides* (ed. G. O. Aspinall). Academic Press. pp. 1–9.
- Aspinall G. O. (1970) Pectins, plant gums, and other plant polysaccharides. *Pigman William Ward Carbohydr Chem Biochem*.
- Aufdenkampe A. K., Hedges J. I., Richey J. E., Krusche A. V. and Llerena C. A. (2001) Sorptive fractionation of dissolved organic nitrogen and amino acids onto fine sediments within the Amazon Basin. *Limnol. Oceanogr.* **46**, 1921–1935.
- Avoine J., Dubrulle L. and Larsonneur C. (1985) La dynamique sédimentaire dans les estuaires de la Baie de Seine. Consequences sur l'environnement. In *La Baie de Seine. Colloque National du CNRS*, 24-26 avril 1985.
- Azam F. and Malfatti F. (2007) Microbial structuring of marine ecosystems. *Nat. Rev. Microbiol.* **5**, 782–791.
- Baker A. (2001) Fluorescence Excitation–Emission Matrix Characterization of Some Sewage-Impacted Rivers. *Environ. Sci. Technol.* **35**, 948–953.
- Baker A. and Spencer R. G. M. (2004) Characterization of dissolved organic matter from source to sea using fluorescence and absorbance spectroscopy. *Sci. Total Environ.* **333**, 217–232.
- Baldock J. A., Masiello C. A., Gélinas Y. and Hedges J. I. (2004a) Cycling and composition of organic matter in terrestrial and marine ecosystems. *Mar. Chem.* **92**, 39–64.
- Baldock J. A., Masiello C. A., Gélinas Y. and Hedges J. I. (2004b) Cycling and composition of organic matter in terrestrial and marine ecosystems. *Mar. Chem.* **92**, 39–64.
- Barrón C. and Duarte C. M. (2009) Dissolved organic matter release in a *Posidonia oceanica* meadow. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **374**, 75–84.
- Bartlett P. D. (1987) Degradation of coprostanol in an experimental system. *Mar. Pollut. Bull.* **18**, 27–29.
- Bauer J. E. (2002) Carbon Isotopic Composition of DOM. In *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*
- Bauer J. E. and Bianchi T. S. (2011) Dissolved Organic Carbon Cycling and Transformation. In *Treatise on Estuarine and Coastal Science* Academic Press.
- Bauer J. E., Cai W.-J., Raymond P. A., Bianchi T. S., Hopkinson C. S. and Regnier P. A. G. (2013) The changing carbon cycle of the coastal ocean. *Nature* **504**, 61–70.
- Benner R., Biddanda B., Black B. and McCarthy M. (1997) Abundance, size distribution, and stable carbon and nitrogen isotopic compositions of marine organic matter isolated by tangential-flow ultrafiltration. *Mar. Chem.* **57**, 243–263.

Références bibliographiques

- Benner R. and Opsahl S. (2001) Molecular indicators of the sources and transformations of dissolved organic matter in the Mississippi river plume. *Org. Geochem.* **32**, 597–611.
- Benner R., Pakulski J. D., McCarthy M., Hedges J. I. and Hatcher P. G. (1992) Bulk Chemical Characteristics of Dissolved Organic Matter in the Ocean. *Science* **255**, 1561–1564.
- Bernards M. A. (2002) Demystifying suberin. *Can. J. Bot.* **80**, 227–240.
- Bianchi T. S. and Bauer J. E. (2011) 5.03 - Particulate Organic Carbon Cycling and Transformation. In *Treatise on Estuarine and Coastal Science* Academic Press, Waltham. pp. 69–117.
- Bianchi T. S., Filley T., Dria K. and Hatcher P. G. (2004) Temporal variability in sources of dissolved organic carbon in the lower Mississippi river. *Geochim. Cosmochim. Acta* **68**, 959–967.
- Bianchi T. S., Wysocki L. A., Schreiner K. M., Filley T. R., Corbett D. R. and Kolker A. S. (2011) Sources of Terrestrial Organic Carbon in the Mississippi Plume Region: Evidence for the Importance of Coastal Marsh Inputs. *Aquat. Geochem.* **17**, 431–456.
- Billen G. (1984) Heterotrophic Utilization and Regeneration of Nitrogen. In *Heterotrophic Activity in the Sea* (eds. J. E. Hobbie and P. J. leB. Williams). NATO Conference Series. Springer US, Boston, MA. pp. 313–355.
- Billen G., Garnier J., Némery J., Sebilo M., Sferratore A., Barles S., Benoit P. and Benoît M. (2007) A long-term view of nutrient transfers through the Seine river continuum. *Sci. Total Environ.* **375**, 80–97.
- Blaga C. I., Reichart G.-J., Heiri O. and Sinninghe Damsté J. S. (2009) Tetraether membrane lipid distributions in water-column particulate matter and sediments: a study of 47 European lakes along a north–south transect. *J. Paleolimnol.* **41**, 523–540.
- Boehme J. and Wells M. (2006) Fluorescence variability of marine and terrestrial colloids: Examining size fractions of chromophoric dissolved organic matter in the Damariscotta River estuary. *Mar. Chem.* **101**, 95–103.
- Boland R. (1986) Role of Vitamin D in Skeletal Muscle Function. *Endocr. Rev.* **7**, 434–448.
- Bordovskiy O. K. (1965) Accumulation of organic matter in bottom sediments. *Mar. Geol.* **3**, 33–82.
- Bray E. E. and Evans E. D. (1961) Distribution of n-paraffins as a clue to recognition of source beds. *Geochim. Cosmochim. Acta* **22**, 2–15.
- Brenon I. and Le Hir P. (1999) Modelling the Turbidity Maximum in the Seine Estuary (France): Identification of Formation Processes. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **49**, 525–544.
- Budge S. M. and Parrish C. C. (1998) Lipid biogeochemistry of plankton, settling matter and sediments in Trinity Bay, Newfoundland. II. Fatty acids. *Org. Geochem.* **29**, 1547–1559.
- Budzinski H., Forget-Leray J. and Ait-Aïssa S. (2012) Projet MEDSEINE : Étude de la contamination par les médicaments de l'estuaire de la Seine. Application des capteurs passifs à un meilleur diagnostic de leur présence, flux et impact toxique. *Proj. Seine-Aval 4* **4**, 53.
- Bugg T. D. H., Ahmad M., M. Hardiman E. and Rahmanpour R. (2011) Pathways for degradation of lignin in bacteria and fungi. *Nat. Prod. Rep.* **28**, 1883–1896.

Références bibliographiques

- Bull I. D., Lockheart M. J., Elhmmali M. M., Roberts D. J. and Evershed R. P. (2002) The origin of faeces by means of biomarker detection. *Environ. Int.* **27**, 647–654.
- Burdige D. J., Kline S. W. and Chen W. (2004) Fluorescent dissolved organic matter in marine sediment pore waters. *Mar. Chem.* **89**, 289–311.
- Burdon J. (2001) Are the traditional concepts of the structures of the humic substances realistic ? *Soil Sci.* **166**, 752.
- Burford J. R. and Bremner J. M. (1975) Relationships between the denitrification capacities of soils and total, water-soluble and readily decomposable soil organic matter. *Soil Biol. Biochem.* **7**, 389–394.
- Burnett W. C. and Schaeffer O. A. (1980a) Effect of ocean dumping on $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios in marine sediments from the New York Bight. *Estuar. Coast. Mar. Sci.* **11**, 605–611.
- Burnett W. C. and Schaeffer O. A. (1980b) Effect of ocean dumping on $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios in marine sediments from the New York Bight. *Estuar. Coast. Mar. Sci.* **11**, 605–611.
- Canuel E. A. (2001) Relations between river flow, primary production and fatty acid composition of particulate organic matter in San Francisco and Chesapeake Bays: a multivariate approach. *Org. Geochem.* **32**, 563–583.
- Canuel E. A., Freeman K. H. and Wakeham S. G. (1997) Isotopic compositions of lipid biomarker compounds in estuarine plants and surface sediments. *Limnol. Oceanogr.* **42**, 1570–1583.
- Canuel E. A. and Hardison A. K. (2016) Sources, Ages, and Alteration of Organic Matter in Estuaries. *Annu. Rev. Mar. Sci.* **8**, 409–434.
- Cao X., Aiken G. R., Butler K. D., Huntington T. G., Balch W. M., Mao J. and Schmidt-Rohr K. (2018) Evidence for major input of riverine organic matter into the ocean. *Org. Geochem.* **116**, 62–76.
- Cao X., Aiken G. R., Spencer R. G. M., Butler K., Mao J. and Schmidt-Rohr K. (2016) Novel insights from NMR spectroscopy into seasonal changes in the composition of dissolved organic matter exported to the Bering Sea by the Yukon River. *Geochim. Cosmochim. Acta* **181**, 72–88.
- Catalá T. S., Mladenov N., Echevarría F. and Reche I. (2013) Positive trends between salinity and chromophoric and fluorescent dissolved organic matter in a seasonally inverse estuary. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **133**, 206–216.
- Challinor J. M. (1995) Characterisation of wood by pyrolysis derivatisation—gas chromatography/mass spectrometry. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **35**, 93–107.
- Chefetz B., Deshmukh A. P., Hatcher P. G. and Guthrie E. A. (2000) Pyrene Sorption by Natural Organic Matter. *Environ. Sci. Technol.* **34**, 2925–2930.
- Chen H., Stubbins A., Perdue E. M., Green N. W., Helms J. R., Mopper K. and Hatcher P. G. (2014) Ultrahigh resolution mass spectrometric differentiation of dissolved organic matter isolated by coupled reverse osmosis-electrodialysis from various major oceanic water masses. *Mar. Chem.* **164**, 48–59.

Références bibliographiques

- Chiavari G., Gandini N., Russo P. and Fabbri D. (1998) Characterisation of standard tempera painting layers containing proteinaceous binders by pyrolysis (/methylation)-gas chromatography-mass spectrometry. *Chromatographia* **47**, 420–426.
- Chiou C. T., Kile D. E., Brinton T. I., Malcolm R. L., Leenheer J. A. and MacCarthy P. (1987) A comparison of water solubility enhancements of organic solutes by aquatic humic materials and commercial humic acids. *Environ. Sci. Technol.* **21**, 1231–1234.
- Chuecas L. and Riley J. P. (1969) Component Fatty Acids of the Total Lipids of Some Marine Phytoplankton. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* **49**, 97–116.
- Claquin P., Morelle J., Schapira M., Orvain F. and Lopez P. (2018) *Projet PROUESSE : « Production primaire de l'estuaire de la Seine».*
- Clark C. D., Litz L. P. and Grant S. B. (2008) Saltmarshes as a source of chromophoric dissolved organic matter (CDOM) to Southern California coastal waters. *Limnol. Oceanogr.* **53**, 1923–1933.
- Clark J. R. C. and Blumer M. (1967) DISTRIBUTION OF n-PARAFFINS IN MARINE ORGANISMS AND SEDIMENT. *Limnol. Oceanogr.* **12**, 79–87.
- Clifford D. J., Carson D. M., McKinney D. E., Bortiatynski J. M. and Hatcher P. G. (1995) A new rapid technique for the characterization of lignin in vascular plants: thermochemolysis with tetramethylammonium hydroxide (TMAH). *Org. Geochem.* **23**, 169–175.
- Cloern J. E., Canuel E. A. and Harris D. (2002) Stable carbon and nitrogen isotope composition of aquatic and terrestrial plants of the San Francisco Bay estuarine system. *Limnol. Oceanogr.* **47**, 713–729.
- Coble P. G. (1996) Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Mar. Chem.* **51**, 325–346.
- Coble P. G. (2007) Marine Optical Biogeochemistry: The Chemistry of Ocean Color. *Chem. Rev.* **107**, 402–418.
- Coble P. G., Del Castillo C. E. and Avril B. (1998) Distribution and optical properties of CDOM in the Arabian Sea during the 1995 Southwest Monsoon. *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* **45**, 2195–2223.
- Cole J. J., Caraco N. F. and Peierls B. L. (1992) Can phytoplankton maintain a positive carbon balance in a turbid, freshwater, tidal estuary? *Limnol. Oceanogr.* **37**, 1608–1617.
- Cole J. J., Prairie Y. T., Caraco N. F., McDowell W. H., Tranvik L. J., Striegl R. G., Duarte C. M., Kortelainen P., Downing J. A., Middelburg J. J. and Melack J. (2007) Plumbing the Global Carbon Cycle: Integrating Inland Waters into the Terrestrial Carbon Budget. *Ecosystems* **10**, 172–185.
- Costa A. S., Passos E. de A., Garcia C. A. B. and Alves J. do P. H. (2011) Characterization of dissolved organic matter in the Piauí river estuary, Northeast Brazil. *J. Braz. Chem. Soc.* **22**, 2139–2147.
- Countway R. E., Dickhut R. M. and 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.

Références bibliographiques

- Cowie G. L. and Hedges J. I. (1992) Sources and reactivities of amino acids in a coastal marine environment. *Limnol. Oceanogr.* **37**, 703–724.
- Cranwell P. A. (1981) Diagenesis of free and bound lipids in terrestrial detritus deposited in a lacustrine sediment. *Orount Geghemlrl Vol 3 Pp 79 89 1981*, 11.
- Cranwell P. A. (1982a) Lipids of aquatic sediments and sedimenting particulates. *Prog. Lipid Res.* **21**, 271–308.
- Cranwell P. A. (1982b) Lipids of aquatic sediments and sedimenting particulates. *Prog. Lipid Res.* **21**, 271–308.
- Crump B. C., Baross J. A. and Simenstad C. A. (1998) Dominance of particle-attached bacteria in the Columbia River estuary, USA. *Aquat. Microb. Ecol.* **14**, 7–18.
- Cugier P., Billen G., Guillaud J. F., Garnier J. and Ménesguen A. (2005) Modelling the eutrophication of the Seine Bight (France) under historical, present and future riverine nutrient loading. *J. Hydrol.* **304**, 381–396.
- da Cunha L. C., Serve L. and Blazi J.-L. (2002) Neutral sugars as biomarkers in the particulate organic matter of a French Mediterranean river. *Org. Geochem.* **33**, 953–964.
- da Cunha L. C., Serve L., Gadel F. and Blazi J.-L. (2000a) Characterisation of riverine particulate organic matter by pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry. *Sci. Total Environ.* **256**, 191–204.
- da Cunha L. C., Serve L., Gadel F. and Blazi J.-L. (2000b) Characterisation of riverine particulate organic matter by pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry. *Sci. Total Environ.* **256**, 191–204.
- Dalrymple R. W., Zaitlin B. A. and Boyd R. (1992) Estuarine facies models; conceptual basis and stratigraphic implications. *J. Sediment. Res.* **62**, 1130–1146.
- Dalzell B. J., Filley T. R. and Harbor J. M. (2005) Flood pulse influences on terrestrial organic matter export from an agricultural watershed. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* **110**.
- Dalzell B. J., Minor E. C. and Mopper K. M. (2009) Photodegradation of estuarine dissolved organic matter: a multi-method assessment of DOM transformation. *Org. Geochem.* **40**, 243–257.
- Dauvin J.-C. and Desroy N. (2005) The food web in the lower part of the Seine estuary: a synthesis of existing knowledge. *Hydrobiologia* **540**, 13–27.
- Dauwe B. and Middelburg J. J. (1998) Amino acids and hexosamines as indicators of organic matter degradation state in North Sea sediments. *Limnol. Oceanogr.* **43**, 782–798.
- Davis J. A. (1984) Complexation of trace metals by adsorbed natural organic matter. *Geochim. Cosmochim. Acta* **48**, 679–691.
- De Jonge C., Stadnitskaia A., Hopmans E. C., Cherkashov G., Fedotov A., Streletskaia I. D., Vasiliev A. A. and Sinninghe Damsté J. S. (2015) Drastic changes in the distribution of branched tetraether lipids in suspended matter and sediments from the Yenisei River and Kara Sea (Siberia): Implications for the use of brGDGT-based proxies in coastal marine sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta* **165**, 200–225.

Références bibliographiques

- Dell'Anno A., Fabiano M., Duineveld G. C. A., Kok A. and Danovaro R. (1998) Nucleic Acid (DNA, RNA) Quantification and RNA/DNA Ratio Determination in Marine Sediments: Comparison of Spectrophotometric, Fluorometric, and HighPerformance Liquid Chromatography Methods and Estimation of Detrital DNA. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 3238–3245.
- Derenne S. and Quénéa K. (2015) Analytical pyrolysis as a tool to probe soil organic matter. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **111**, 108–120.
- Derrien M., Yang L. and Hur J. (2017) Lipid biomarkers and spectroscopic indices for identifying organic matter sources in aquatic environments: A review. *Water Res.* **112**, 58–71.
- Devreker D., Souissi S., Molinero J. C. and Nkubito F. (2008) Trade-offs of the copepod *Eurytemora affinis* in mega-tidal estuaries: insights from high frequency sampling in the Seine estuary. *J. Plankton Res.* **30**, 1329–1342.
- Dickens A. F., Baldock J. A., Smernik R. J., Wakeham S. G., Arnarson T. S., Gélinas Y. and Hedges J. I. (2006) Solid-state ¹³C NMR analysis of size and density fractions of marine sediments: Insight into organic carbon sources and preservation mechanisms. *Geochim. Cosmochim. Acta* **70**, 666–686.
- Dijkstra, Boon and Mourik V. (1998) Analytical pyrolysis of a soil profile under Scots pine. *Eur. J. Soil Sci.* **49**, 295–304.
- Ding Y., Teppen B. J., Boyd S. A. and Li H. (2013) Measurement of associations of pharmaceuticals with dissolved humic substances using solid phase extraction. *Chemosphere* **91**, 314–319.
- Dittmar T., Koch B., Hertkorn N. and Kattner G. (2008) A simple and efficient method for the solid-phase extraction of dissolved organic matter (SPE-DOM) from seawater. *Limnol. Oceanogr. Methods* **6**, 230–235.
- Dittmar T. and Stubbins A. (2014) Dissolved Organic Matter in Aquatic Systems. In *Treatise on Geochemistry (Second Edition)* (eds. H. D. Holland and K. K. Turekian). Elsevier, Oxford. pp. 125–156.
- 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. *Sci. Total Environ.* **407**, 471–480.
- Doublet J., Francou C., Poitrenaud M. and Houot S. (2010) Sewage sludge composting: Influence of initial mixtures on organic matter evolution and N availability in the final composts. *Waste Manag.* **30**, 1922–1930.
- Druffel E. R. M., Williams P. M., Bauer J. E. and Ertel J. R. (1992) Cycling of dissolved and particulate organic matter in the open ocean. *J. Geophys. Res. Oceans* **97**, 15639–15659.
- Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. A. and Smith F. (1956) Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Anal. Chem.* **28**, 350–356.
- Dyer K. R. (1995) Chapter 14 Sediment Transport Processes in Estuaries. In *Developments in Sedimentology* (ed. G. M. E. Perillo). Geomorphology and Sedimentology of Estuaries. Elsevier. pp. 423–449.
- Eglinton G. and Hamilton R. J. (1967a) Leaf epicuticular waxes. *Science* **156**, 1322–1335.

Références bibliographiques

- Eglinton G. and Hamilton R. J. (1967b) Leaf epicuticular waxes. *Science* **156**, 1322–1335.
- Eglinton T. I. and Eglinton G. (2008) Molecular proxies for paleoclimatology. , 16.
- Emmert C. A., Lesack L. F. W. and Vincent W. F. (2008) Nutrient and organic matter patterns across the Mackenzie River, estuary and shelf during the seasonal recession of sea-ice. *J. Mar. Syst.* **74**, 741–755.
- Espelie K. E., Davis R. W. and Kolattukudy P. E. (1980) Composition, ultrastructure and function of the cutin- and suberin-containing layers in the leaf, fruit peel, juice-sac and inner seed coat of grapefruit (*Citrus paradisi* Macfed.). *Planta* **149**, 498–511.
- Espelie K. E., Dean B. B. and Kolattukudy P. E. (1979) Composition of Lipid-derived Polymers from Different Anatomical Regions of Several Plant Species. *Plant Physiol.* **64**, 1089–1093.
- Estapa M. L. and Mayer L. M. (2010) Photooxidation of particulate organic matter, carbon/oxygen stoichiometry, and related photoreactions. *Mar. Chem.* **122**, 138–147.
- Esteves V. I., Cordeiro N. M. A. and da Costa Duarte A. (1995) Variation on the adsorption efficiency of humic substances from estuarine waters using XAD resins. *Mar. Chem.* **51**, 61–66.
- Estournel-Pelardy C., Delarue F., Grasset L., Laggoun-Défarage F. and Amblès A. (2011) Tetramethylammonium hydroxide thermochemolysis for the analysis of cellulose and free carbohydrates in a peat bog. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **92**, 401–406.
- Eyre B. D., Maher D. T. and Squire P. (2013) Quantity and quality of organic matter (detritus) drives N₂ effluxes (net denitrification) across seasons, benthic habitats, and estuaries. *Glob. Biogeochem. Cycles* **27**, 1083–1095.
- Fabbri D., Chiavari G. and Galletti G. C. (1996) Characterization of soil humin by pyrolysis(/methylation)-gas chromatography/mass spectrometry: structural relationships with humic acids. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **37**, 161–172.
- Fabbri D. and Helleur R. (1999) Characterization of the tetramethylammonium hydroxide thermochemolysis products of carbohydrates. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **49**, 277–293.
- Fich E. A., Segerson N. A. and Rose J. K. C. (2016) The Plant Polyester Cutin: Biosynthesis, Structure, and Biological Roles. *Annu. Rev. Plant Biol.* **67**, 207–233.
- Ficken K. J., Li B., Swain D. L. and Eglinton G. (2000) An n-alkane proxy for the sedimentary input of submerged/floating freshwater aquatic macrophytes. *Org. Geochem.* **31**, 745–749.
- Gallois N., Templier J. and Derenne S. (2007) Pyrolysis-gas chromatography–mass spectrometry of the 20 protein amino acids in the presence of TMAH. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **80**, 216–230.
- Gardner G. B., Chen R. F. and Berry A. (2005) High-resolution measurements of chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in the Neponset River Estuary, Boston Harbor, MA. *Mar. Chem.* **96**, 137–154.
- Garnier J., Barles S., Billen G., Bognon S., Romero E., Le Gendre R., Silvestre M., Ramarson A., Thieu V., Théry S., Castaings J. and Riou P. (2018) *Projet RESET : « Rôle de l'Estuaire de Seine dans l'Ecologie Territoriale de la Normandie : cycles des nutriments et systèmes hydro-agro-alimentaires ».*,

Références bibliographiques

- Garnier J., Billen G. and Coste M. (1995a) Seasonal succession of diatoms and Chlorophyceae in the drainage network of the Seine River: Observation and modeling. *Limnol. Oceanogr.* **40**, 750–765.
- Garnier J., Billen G. and Coste M. (1995b) Seasonal succession of diatoms and Chlorophyceae in the drainage network of the Seine River: Observation and modeling. *Limnol. Oceanogr.* **40**, 750–765.
- Garnier J., Billen G., Even S., Etcheber H. and Servais P. (2008) Organic matter dynamics and budgets in the turbidity maximum zone of the Seine Estuary (France). *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **77**, 150–162.
- Gaskell S. J. and Eglinton G. (1976) Sterols of a contemporary lacustrine sediment. *Geochim. Cosmochim. Acta* **40**, 1221–1228.
- Gauthier A., Derenne S., Dupont L., Guillon E., Largeau C., Dumonceau J. and Aplincourt M. (2002) Characterization and comparison of two ligno-cellulosic substrates by ¹³C CP/MAS NMR, XPS, conventional pyrolysis and thermochemolysis. *Anal. Bioanal. Chem.* **373**, 830–838.
- Gelpi E., Schneider H., Mann J. and Oró J. (1970) Hydrocarbons of geochemical significance in microscopic algae. *Phytochemistry* **9**, 603–612.
- GIP Seine-Aval (2008a) Apports en nutriments et potentiel d'eutrophisation. Fiche thématique du système d'observation de l'état de santé de l'estuaire de la Seine et de son évolution. , 6.
- GIP Seine-Aval (2008b) Blooms phytoplanctoniques et phycotoxicité en baie de Seine. Fiche thématique du système d'observation de l'état de santé de l'estuaire de la Seine et de son évolution. , 6.
- GIP Seine-Aval (2008c) Contamination métallique dans l'estuaire de la Seine. Fiche thématique du système d'observation de l'état de santé de l'estuaire de la Seine et de son évolution. , 6.
- GIP Seine-Aval (2008d) Contamination par les HAP dans l'estuaire de la Seine. Fiche thématique du système d'observation de l'état de santé de l'estuaire de la Seine et de son évolution. , 6.
- GIP Seine-Aval (2008e) Contamination par les pesticides dans l'estuaire de la Seine. Fiche thématique du système d'observation de l'état de santé de l'estuaire de la Seine et de son évolution. , 6.
- GIP Seine-Aval (2011a) Evolution morphologique de l'estuaire de la Seine. Fiche thématique du système d'observation de l'état de santé de l'estuaire de la Seine et de son évolution. , 6.
- GIP Seine-Aval (2016) Les végétations de l'estuaire de la Seine. Fiche thématique du système d'observation de l'état de santé de l'estuaire de la Seine et de son évolution. , 6.
- GIP Seine-Aval (2011b) L'estuaire de la Seine. Fiche thématique du système d'observation de l'état de santé de l'estuaire de la Seine et de son évolution. , 6.
- GIP Seine-Aval (2014) Substances pharmaceutiques. Fiche thématique du système d'observation de l'état de santé de l'estuaire de la Seine et de son évolution. , 6.
- Gogou A. and Repeta D. J. (2010) Particulate-dissolved transformations as a sink for semi-labile dissolved organic matter: Chemical characterization of high molecular weight dissolved and surface-active organic matter in seawater and in diatom cultures. *Mar. Chem.* **121**, 215–223.

Références bibliographiques

- Goldman J., Hansell D. and R. Dennett M. (1992) Chemical characterization of three large oceanic diatoms: Potential impact on water column chemistry. *Mar. Ecol.-Prog. Ser. - MAR ECOL-PROGR SER* **88**, 257–270.
- Green N. W., Perdue E. M., Aiken G. R., Butler K. D., Chen H., Dittmar T., Niggemann J. and Stubbins A. (2014) An intercomparison of three methods for the large-scale isolation of oceanic dissolved organic matter. *Mar. Chem.* **161**, 14–19.
- Guo L. and Santschi P. H. (1996) A critical evaluation of the cross-flow ultrafiltration technique for sampling colloidal organic carbon in seawater. *Mar. Chem.* **55**, 113–127.
- Guo L. and Santschi P. H. (1997) Isotopic and elemental characterization of colloidal organic matter from the Chesapeake Bay and Galveston Bay. *Mar. Chem.* **59**, 1–15.
- Guo W., Jia G., Ye F., Xiao H. and Zhang Z. (2019) Lipid biomarkers in suspended particulate matter and surface sediments in the Pearl River Estuary, a subtropical estuary in southern China. *Sci. Total Environ.* **646**, 416–426.
- Gurtler B. K., Vetter T. A., Perdue E. M., Ingall E., Koprivnjak J.-F. and Pfromm P. H. (2008) Combining reverse osmosis and pulsed electrical current electrodialysis for improved recovery of dissolved organic matter from seawater. *J. Membr. Sci.* **323**, 328–336.
- Hadley N. F. (1981) Cuticular Lipids of Terrestrial Plants and Arthropods: A Comparison of Their Structure, Composition, and Waterproofing Function. *Biol. Rev.* **56**, 23–47.
- Hadwen W. L. and Arthington A. H. (2007) Food webs of two intermittently open estuaries receiving 15N-enriched sewage effluent. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **71**, 347–358.
- Han J. and Calvin M. (1969) Hydrocarbon distribution of algae and bacteria, and microbiological activity in sediments. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **64**, 436–443.
- Hansell D. A. and Carlson C. A. (2002) *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter.*, Academic Press.
- Hansen D. V. and Rattray M. (1966) New Dimensions in Estuary Classification. *Limnol. Oceanogr.* **11**, 319–326.
- Hardison A. K., Algar C. K., Giblin A. E. and 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.
- Harvey H. R. and Mannino A. (2001a) The chemical composition and cycling of particulate and macromolecular dissolved organic matter in temperate estuaries as revealed by molecular organic tracers. *Org. Geochem.* **32**, 527–542.
- Harvey H. R. and Mannino A. (2001b) The chemical composition and cycling of particulate and macromolecular dissolved organic matter in temperate estuaries as revealed by molecular organic tracers. *Org. Geochem.* **32**, 527–542.
- Hatcher P. G., Nanny M. A., Minard R. D., Dible S. D. and Carson D. M. (1995) Comparison of two thermochemolytic methods for the analysis of lignin in decomposing gymnosperm wood: the CuO oxidation method and the method of thermochemolysis with tetramethylammonium hydroxide (TMAH). *Org. Geochem.* **23**, 881–888.

Références bibliographiques

- Hauser F. M., Suzanne R. E. and Ellenberger W. P. (1988) A simple procedure for the preparation of L-hexoses. *Tetrahedron Lett.* **29**, 4939–4942.
- He D., Mead R. N., Belicka L., Pisani O. and Jaffé R. (2014) Assessing source contributions to particulate organic matter in a subtropical estuary: A biomarker approach. *Org. Geochem.* **75**, 129–139.
- He W., Chen M., Schlautman M. A. and Hur J. (2016) Dynamic exchanges between DOM and POM pools in coastal and inland aquatic ecosystems: A review. *Sci. Total Environ.* **551**, 415–428.
- Hedges J. I. (1992) Global biogeochemical cycles: progress and problems. *Mar. Chem.* **39**, 67–93.
- Hedges J. I., Blanchette R. A., Weliky K. and Devol A. H. (1988) Effects of fungal degradation on the CuO oxidation products of lignin: A controlled laboratory study. *Geochim. Cosmochim. Acta* **52**, 2717–2726.
- Hedges J. I. and Ertel J. R. (1982) Characterization of lignin by gas capillary chromatography of cupric oxide oxidation products. *Anal. Chem.* **54**, 174–178.
- Hedges J. I. and Keil R. G. (1999) Organic geochemical perspectives on estuarine processes: sorption reactions and consequences. *Mar. Chem.* **65**, 55–65.
- Hedges J. I. and Mann D. C. (1979) The lignin geochemistry of marine sediments from the southern Washington coast. *Geochim. Cosmochim. Acta* **43**, 1809–1818.
- Hedges J. I. and Oades J. M. (1997) Comparative organic geochemistries of soils and marine sediments. *Org. Geochem.* **27**, 319–361.
- Hedges J., Keil R. and Benner R. (1997) What Happens to Terrestrial Organic Matter in the Ocean? *Org. Geochem.* **27**, 195–212.
- Heemst J. D. H. van, Rio J. C. del, Hatcher P. G. and Leeuw J. W. de (2000) Characterization of Estuarine and Fluvial Dissolved Organic Matter by Thermochemolysis using Tetramethylammonium Hydroxide. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* **28**, 69–76.
- Hein T., Baranyi C., Herndl G. J., Wanek W. and Schiemer F. (2003) Allochthonous and autochthonous particulate organic matter in floodplains of the River Danube: the importance of hydrological connectivity. *Freshw. Biol.* **48**, 220–232.
- Helms J. R., Mao J., Chen H., Perdue E. M., Green N. W., Hatcher P. G., Mopper K. and Stubbins A. (2015) Spectroscopic characterization of oceanic dissolved organic matter isolated by reverse osmosis coupled with electrodialysis. *Mar. Chem.* **177**, Part 2, 278–287.
- Helms J. R., Stubbins A., Perdue E. M., Green N. W., Chen H. and Mopper K. (2013) Photochemical bleaching of oceanic dissolved organic matter and its effect on absorption spectral slope and fluorescence. *Mar. Chem.* **155**, 81–91.
- Helms J. R., Stubbins A., Ritchie J. D., Minor E. C., Kieber D. J. and 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.

Références bibliographiques

- Her N., Amy G., McKnight D., Sohn J. and Yoon Y. (2003) Characterization of DOM as a function of MW by fluorescence EEM and HPLC-SEC using UVA, DOC, and fluorescence detection. *Water Res.* **37**, 4295–4303.
- Hernes P. J. and 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. Oceans* **108**. Available at: <https://agupubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1029/2002JC001421> [Accessed June 11, 2018].
- Herrmann M., Najjar R. G., Kemp W. M., Alexander R. B., Boyer E. W., Cai W.-J., Griffith P. C., Kroeger K. D., McCallister S. L. and Smith R. A. (2015) Net ecosystem production and organic carbon balance of U.S. East Coast estuaries: A synthesis approach. *Glob. Biogeochem. Cycles* **29**, 96–111.
- Hood E., Williams M. W. and McKnight D. M. (2005) Sources of dissolved organic matter (DOM) in a Rocky Mountain stream using chemical fractionation and stable isotopes. *Biogeochemistry* **74**, 231–255.
- Hopmans E. C., Weijers J. W. H., Schefuß E., Herfort L., Sinnighe Damsté J. S. and Schouten S. (2004) A novel proxy for terrestrial organic matter in sediments based on branched and isoprenoid tetraether lipids. *Earth Planet. Sci. Lett.* **224**, 107–116.
- Hu J., Zhang H. and Peng P. (2006) Fatty acid composition of surface sediments in the subtropical Pearl River estuary and adjacent shelf, Southern China. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **66**, 346–356.
- Hua Q., Barbetti M. and Rakowski A. Z. (2013) Atmospheric Radiocarbon for the Period 1950–2010. *Radiocarbon* **55**, 2059–2072.
- Huang Y., Eglinton G., Van Der Hage E. R. E., Boon J. J., Bol R. and Ineson P. (1998) Dissolved organic matter and its parent organic matter in grass upland soil horizons studied by analytical pyrolysis techniques. *Eur. J. Soil Sci.* **49**, 1–15.
- Huguet A., Balmann H. R. and Parlanti E. (2009a) Fluorescence spectroscopy applied to the optimisation of a desalting step by electrodialysis for the characterisation of marine organic matter. *J. Membr. Sci.* **326**, 186–196.
- Huguet A., Thibault A., Roose-Amsaleg C., Parlanti E., Laverman A., Fuster L., Budzinski H. and 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 ». *Rapp. Rech. Programme Seine-Aval* **5**, 84.
- Huguet A., Vacher L., Relexans S., Saubusse S., Froidefond J. M. and Parlanti E. (2009b) Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. *Org. Geochem.* **40**, 706–719.
- Huguet A., Vacher L., Saubusse S., Etcheber H., Abril G., Relexans S., Ibalot F. and Parlanti E. (2010) New insights into the size distribution of fluorescent dissolved organic matter in estuarine waters. *Org. Geochem.* **41**, 595–610.
- IPCC (2014) *Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]*, IPCC, Geneva, Switzerland.

Références bibliographiques

- Ishiwatari M., Ishiwatari R., Sakashita H., Tatsumi T. and Tominaga H. (1991) Pyrolysis of chlorophyll a after preliminary heating at a moderate temperature: Implications for the origin of prist-1-ene on kerogen pyrolysis. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **18**, 207–218.
- Jaffé R., Boyer J. N., Lu X., Maie N., Yang C., Scully N. M. and 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., Mead R., Hernandez M. E., Peralba M. C. and DiGuida O. A. (2001) Origin and transport of sedimentary organic matter in two subtropical estuaries: a comparative, biomarker-based study. *Org. Geochem.* **32**, 507–526.
- Jagadamma S., Mayes M. A. and Phillips J. R. (2012) Selective Sorption of Dissolved Organic Carbon Compounds by Temperate Soils. *PLOS ONE* **7**, e50434.
- Junk G. A., Richard J. J., Grieser M. D., Witiak D., Witiak J. L., Arguello M. D., Vick R., Svec H. J., Fritz J. S. and Calder G. V. (1974) Use of macroreticular resins in the analysis of water for trace organic contaminants. *J. Chromatogr. A* **99**, 745–762.
- Kaiser H. F. (1960) The Application of Electronic Computers to Factor Analysis. *Educ. Psychol. Meas.* **20**, 141–151.
- Kaushal S. and Binford M. W. (1999) Relationship between C:N ratios of lake sediments, organic matter sources, and historical deforestation in Lake Pleasant, Massachusetts, USA. *J. Paleolimnol.* **22**, 439–442.
- Kawamura K. and Ishiwatari R. (1981) Polyunsaturated fatty acids in a lacustrine sediment as a possible indicator of paleoclimate. *Geochim. Cosmochim. Acta* **45**, 149–155.
- Keil R. G., Mayer L. M., Quay P. D., Richey J. E. and Hedges J. I. (1997) Loss of organic matter from riverine particles in deltas. *Geochim. Cosmochim. Acta* **61**, 1507–1511.
- Keil R. G., Montluçon D. B., Prahl F. G. and Hedges J. I. (1994) Sorptive preservation of labile organic matter in marine sediments. *Nature* **370**, 549–552.
- Kerner M., Hohenberg H., Ertl S., Reckermann M. and Spitzzy A. (2003) Self-organization of dissolved organic matter to micelle-like microparticles in river water. *Nature* **422**, 150–154.
- Kisand V., Gebhardt S., Rullkötter J. and Simon M. (2013) Significant bacterial transformation of riverine humic matter detected by pyrolysis GC–MS in serial chemostat experiments. *Mar. Chem.* **149**, 23–31.
- Kleber M., Sollins P. and Sutton R. (2007) A conceptual model of organo-mineral interactions in soils: self-assembly of organic molecular fragments into zonal structures on mineral surfaces. *Biogeochemistry* **85**, 9–24.
- Kögel-Knabner I. (1997) ¹³C and ¹⁵N NMR spectroscopy as a tool in soil organic matter studies. *Geoderma* **80**, 243–270.
- Kolattukudy P. E. (1984) Biochemistry and function of cutin and suberin. *Can. J. Bot.* **62**, 2918–2933.
- Kolattukudy P. E. (1980) Biopolyester membranes of plants: cutin and suberin. *Science* **208**, 990–1000.

Références bibliographiques

- Kolattukudy P. E. (1978) Chemistry and biochemistry of the aliphatic components of suberin. In *Biochemistry of Wounded Plant Tissues* G. de Kahl. pp. 43–84.
- Kolattukudy P. E. (1981) Structure, Biosynthesis, and Biodegradation of Cutin and Suberin. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **32**, 539–567.
- Komada T. and Reimers C. E. (2001) Resuspension-induced partitioning of organic carbon between solid and solution phases from a river–ocean transition. *Mar. Chem.* **76**, 155–174.
- Koprivnjak J.-F., Pfromm P. H., Ingall E., Vetter T. A., Schmitt-Kopplin P., Hertkorn N., Frommberger M., Knicker H. and Perdue E. M. (2009) Chemical and spectroscopic characterization of marine dissolved organic matter isolated using coupled reverse osmosis–electrodialysis. *Geochim. Cosmochim. Acta* **73**, 4215–4231.
- Kuroda K., Nishimura N., Izumi A. and Dimmel D. R. (2002) Pyrolysis of Lignin in the Presence of Tetramethylammonium Hydroxide: A Convenient Method for S/G Ratio Determination. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 1022–1027.
- Lara R. J., Rachold V., Kattner G., Hubberten H. W., Guggenberger G., Skoog A. and Thomas D. N. (1998) Dissolved organic matter and nutrients in the Lena River, Siberian Arctic: Characteristics and distribution. *Mar. Chem.* **59**, 301–309.
- Lattaud J., Kim J.-H., De Jonge C., Zell C., Sinninghe Damsté J. S. and Schouten S. (2017) The C32 alkane-1,15-diol as a tracer for riverine input in coastal seas. *Geochim. Cosmochim. Acta* **202**, 146–158.
- Le Hir P., Ficht A., Jacinto R. S., Lesueur P., Dupont J.-P., Lafite R., Brenon I., Thouvenin B. and Cugier P. (2001) Fine sediment transport and accumulations at the mouth of the Seine estuary (France). *Estuaries* **24**, 950–963.
- Lee C. (1993) Dissolved free amino acids, combined amino acids, and DNA as sources of carbon and nitrogen to marine bacteria. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **98**, 135–148.
- Leeming R., Ball A., Ashbolt N. and Nichols P. (1996) Using faecal sterols from humans and animals to distinguish faecal pollution in receiving waters. *Water Res.* **30**, 2893–2900.
- Leeming R., Nichols P. (Commonwealth S. and I. R. O., Ball A., Ashbolt N. (AWT S. and E. and Jones G. (Commonwealth S. and I. R. O. (1994) Distinguishing between human and animal sources of faecal pollution [water quality; Australia]. *Chem. Aust. Aust.*
- Lehmann J. and Kleber M. (2015) The contentious nature of soil organic matter. *Nature* **528**, 60–68.
- Lemoine J. P. (2015) Fonctionnement hydro-sédimentaire de l'estuaire de la Seine. *Fasc. Seine-Aval* **3.3**, 64.
- Lesourd S., Lesueur P., Fisson C. and Dauvin J.-C. (2016) Sediment evolution in the mouth of the Seine estuary (France): A long-term monitoring during the last 150years. *Comptes Rendus Geosci.* **348**, 442–450.
- Li J., Perdue E. M. and Gelbaum L. T. (1998) Using Cadmium-113 NMR Spectrometry To Study Metal Complexation by Natural Organic Matter. *Environ. Sci. Technol.* **32**, 483–487.

Références bibliographiques

- Li P., Chen L., Zhang W. and Huang Q. (2015) Spatiotemporal Distribution, Sources, and Photobleaching Imprint of Dissolved Organic Matter in the Yangtze Estuary and Its Adjacent Sea Using Fluorescence and Parallel Factor Analysis. *PLOS ONE* **10**, e0130852.
- Liu X.-L., Zhu C., Wakeham S. G. and Hinrichs K.-U. (2014) In situ production of branched glycerol dialkyl glycerol tetraethers in anoxic marine water columns. *Mar. Chem.* **166**, 1–8.
- Loh A. N. and Bauer J. E. (2000) Distribution, partitioning and fluxes of dissolved and particulate organic C, N and P in the eastern North Pacific and Southern Oceans. *Deep Sea Res. Part Oceanogr. Res. Pap.* **47**, 2287–2316.
- Loh A. N., Bauer J. E. and Canuel E. A. (2006) Dissolved and particulate organic matter source-age characterization in the upper and lower Chesapeake Bay: A combined isotope and biochemical approach. *Limnol. Oceanogr.* **51**, 1421–1431.
- Loomis S. E., Russell J. M. and Sinninghe Damsté J. S. (2011) Distributions of branched GDGTs in soils and lake sediments from western Uganda: Implications for a lacustrine paleothermometer. *Org. Geochem.* **42**, 739–751.
- Lopes dos Santos R. A. and Vane C. H. (2016) Signatures of tetraether lipids reveal anthropogenic overprinting of natural organic matter in sediments of the Thames Estuary, UK. *Org. Geochem.* **93**, 68–76.
- Lorente F. L., Pessenda L. C. R., Oboh-Ikuenobe F., Buso Jr. A. A., Cohen M. C. L., Meyer K. E. B., Giannini P. C. F., de Oliveira P. E., Rossetti D. de F., Borotti Filho M. A., França M. C., de Castro D. F., Bendassolli J. A. and Macario K. (2014) Palynofacies and stable C and N isotopes of Holocene sediments from Lake Macuco (Linhares, Espírito Santo, southeastern Brazil): Depositional settings and palaeoenvironmental evolution. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* **415**, 69–82.
- Louchouart P., Opsahl S. and Benner R. (2000) Isolation and Quantification of Dissolved Lignin from Natural Waters Using Solid-Phase Extraction and GC/MS. *Anal. Chem.* **72**, 2780–2787.
- Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L. and Randall R. J. (1951) Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265–275.
- Ma Z., Gray E., Thomas E., Murphy B., Zachos J. and Paytan A. (2014) Carbon sequestration during the Palaeocene–Eocene Thermal Maximum by an efficient biological pump. *Nat. Geosci.* **7**, 382–388.
- Macko S. A. and Estep M. L. F. (1984) Microbial alteration of stable nitrogen and carbon isotopic compositions of organic matter. *Org. Geochem.* **6**, 787–790.
- Mahato S. B. and Sen S. (1997) Advances in triterpenoid research, 1990–1994. *Phytochemistry* **44**, 1185–1236.
- Mannino A. and Harvey H. R. (2000a) Biochemical composition of particles and dissolved organic matter along an estuarine gradient: Sources and implications for DOM reactivity. *Limnol. Oceanogr.* **45**, 775–788.
- Mannino A. and Harvey H. R. (2000b) Biochemical composition of particles and dissolved organic matter along an estuarine gradient: Sources and implications for DOM reactivity. *Limnol. Oceanogr.* **45**, 775–788.

Références bibliographiques

- Mannino A. and Harvey H. R. (1999) Lipid composition in particulate and dissolved organic matter in the Delaware Estuary: sources and diagenetic patterns. *Geochim. Cosmochim. Acta* **63**, 2219–2235.
- Mannino A. and Harvey H. R. (2000c) Terrigenous dissolved organic matter along an estuarine gradient and its flux to the coastal ocean. *Org. Geochem.* **31**, 1611–1625.
- Mao J., Cao X., Olk D. C., Chu W. and Schmidt-Rohr K. (2017) Advanced solid-state NMR spectroscopy of natural organic matter. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **100**, 17–51.
- Mariotti A., Lancelot C. and Billen G. (1984) Natural isotopic composition of nitrogen as a tracer of origin for suspended organic matter in the Scheldt estuary. *Geochim. Cosmochim. Acta* **48**, 549–555.
- Märker K., Pingret M., Mouesca J.-M., Gasparutto D., Hediger S. and De Paëpe G. (2015) A New Tool for NMR Crystallography: Complete ¹³C/¹⁵N Assignment of Organic Molecules at Natural Isotopic Abundance Using DNP-Enhanced Solid-State NMR. *J. Am. Chem. Soc.* **137**, 13796–13799.
- Marwick T. R., Tamooch F., Teodoru C. R., Borges A. V., Darchambeau F. and Bouillon S. (2015) The age of river-transported carbon: A global perspective. *Glob. Biogeochem. Cycles* **29**, 2014GB004911.
- Massiot D., Fayon F., Capron M., King I., Le Calvé S., Alonso B., Durand J.-O., Bujoli B., Gan Z. and Hoatson G. (2002) Modelling one- and two-dimensional solid-state NMR spectra. *Magn. Reson. Chem.* **40**, 70–76.
- Matyash V., Entchev E. V., Mende F., Wilsch-Bräuninger M., Thiele C., Schmidt A. W., Knölker H.-J., Ward S. and Kurzchalia T. V. (2004) Sterol-Derived Hormone(s) Controls Entry into Diapause in *Caenorhabditis elegans* by Consecutive Activation of DAF-12 and DAF-16. *PLOS Biol.* **2**, e280.
- Mayer L. M., Schick L. L., Hardy K. R. and Estapa M. L. (2009) Photodissolution and other photochemical changes upon irradiation of algal detritus. *Limnol. Oceanogr.* **54**, 1688–1698.
- Mayer L. M., Schick L. L., Skorko K. and Boss E. (2006) Photodissolution of particulate organic matter from sediments. *Limnol. Oceanogr.* **51**, 1064–1071.
- McCallister S. L., Bauer J. E., Ducklow H. W. and Canuel E. A. (2006) Sources of estuarine dissolved and particulate organic matter: A multi-tracer approach. *Org. Geochem.* **37**, 454–468.
- McGill W. B. and Cole C. V. (1981) Comparative aspects of cycling of organic C, N, S and P through soil organic matter. *Geoderma* **26**, 267–286.
- McGuirk Flynn A. (2008) Organic Matter and Nutrient Cycling in a Coastal Plain Estuary: Carbon, Nitrogen, and Phosphorus Distributions, Budgets, and Fluxes. *J. Coast. Res.*, 76–94.
- McKnight D. M., Boyer E. W., Westerhoff P. K., Doran P. T., Kulbe T. and Andersen D. T. (2001) Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity. *Limnol. Oceanogr.* **46**, 38–48.

Références bibliographiques

- McNichol A. P. and Aluwihare L. I. (2007) The power of radiocarbon in biogeochemical studies of the marine carbon cycle: insights from studies of dissolved and particulate organic carbon (DOC and POC). *Chem. Rev.* **107**, 443–466.
- Medeiros P. M., Sikes E. L., Thomas B. and Freeman K. H. (2012) Flow discharge influences on input and transport of particulate and sedimentary organic carbon along a small temperate river. *Geochim. Cosmochim. Acta* **77**, 317–334.
- Mendez-Millan M., Dignac M.-F., Rumpel C. and Derenne S. (2011) Can cutin and suberin biomarkers be used to trace shoot and root-derived organic matter? A molecular and isotopic approach. *Biogeochemistry* **106**, 23–38.
- Meon B. and Kirchman D. L. (2001) Dynamics and molecular composition of dissolved organic material during experimental phytoplankton blooms. *Mar. Chem.* **75**, 185–199.
- Meybeck M. (1993) Riverine transport of atmospheric carbon: Sources, global typology and budget. *Water. Air. Soil Pollut.* **70**, 443–463.
- Meyers P. A. (2003) Applications of organic geochemistry to paleolimnological reconstructions: a summary of examples from the Laurentian Great Lakes. *Org. Geochem.* **34**, 261–289.
- Meyers P. A. (1994) Preservation of elemental and isotopic source identification of sedimentary organic matter. *Chem. Geol.* **114**, 289–302.
- Meyers-Schulte K. J. and Hedges J. I. (1986) Molecular evidence for a terrestrial component of organic matter dissolved in ocean water. *Nature* **321**, 61–63.
- Middelburg J. J. and Herman P. M. J. (2007) Organic matter processing in tidal estuaries. *Mar. Chem.* **106**, 127–147.
- Middelburg J. J. and Nieuwenhuize J. (1998) Carbon and nitrogen stable isotopes in suspended matter and sediments from the Schelde Estuary. *Mar. Chem.* **60**, 217–225.
- Minor E. C., Boon J. J., Harvey H. R. and Mannino A. (2001) Estuarine organic matter composition as probed by direct temperature-resolved mass spectrometry and traditional geochemical techniques. *Geochim. Cosmochim. Acta* **65**, 2819–2834.
- Minor E. C., Simjouw J.-P., Boon J. J., Kerkhoff A. E. and van der Horst J. (2002) Estuarine/marine UDOM as characterized by size-exclusion chromatography and organic mass spectrometry. *Mar. Chem.* **78**, 75–102.
- Miyake Y. and Wada E. (1967) The abundance ratio of $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ in marine environments. *Rec. Oceanogr. Works Jpn.* **9**, 37–53.
- Moldoveanu S. C. (2010) Chapter 16 Pyrolysis of Carbohydrates. In *Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry* (ed. Serban C. Moldoveanu). Pyrolysis of Organic Molecules with Applications to Health and Environmental Issues. Elsevier. pp. 419–470.
- Mopper K., Feng Z., Bentjen S. B. and Chen R. F. (1996) Effects of cross-flow filtration on the absorption and fluorescence properties of seawater. *Mar. Chem.* **55**, 53–74.

Références bibliographiques

- Moran M. A., Sheldon W. M. and Zepp R. G. (2000) Carbon loss and optical property changes during long-term photochemical and biological degradation of estuarine dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.* **45**, 1254–1264.
- Morris A. W., Bale A. J., Howland R. J. M., Millward G. E., Ackroyd D. R., Loring D. H. and Rantala R. T. T. (1986) Sediment Mobility and its Contribution to Trace Metal Cycling and Retention in a Macrotidal Estuary. *Water Sci. Technol.* **18**, 111–119.
- Murtaugh J. J. and Bunch R. L. (1967) Sterols as a measure of fecal pollution. *J. - Water Pollut. Control Fed.* **39**, 404–409.
- Nebbioso A. and Piccolo A. (2013) Molecular characterization of dissolved organic matter (DOM): a critical review. *Anal. Bioanal. Chem.* **405**, 109–124.
- Nelson N. B., Carlson C. A. and Steinberg D. K. (2004) Production of chromophoric dissolved organic matter by Sargasso Sea microbes. *Mar. Chem.* **89**, 273–287.
- Nes W. R. (1974) Role of sterols in membranes. *Lipids* **9**, 596–612.
- Neumann B., Vafeidis A. T., Zimmermann J. and Nicholls R. J. (2015) Future Coastal Population Growth and Exposure to Sea-Level Rise and Coastal Flooding - A Global Assessment. *PLOS ONE* **10**, e0118571.
- Nierop K. G. J. and Filley T. R. (2007) Assessment of lignin and (poly-)phenol transformations in oak (*Quercus robur*) dominated soils by ¹³C-TMAH thermochemolysis. *Org. Geochem.* **38**, 551–565.
- Nierop K. G. J., Preston C. M. and Kaal J. (2005) Thermally Assisted Hydrolysis and Methylation of Purified Tannins from Plants. *Anal. Chem.* **77**, 5604–5614.
- Oades J. M. (1984) Soil organic matter and structural stability: mechanisms and implications for management. *Plant Soil* **76**, 319–337.
- Ogura K. and Hanya T. (1973) The cholestanol-cholesterol ratio in a 200 m core sample of Lake Biwa. *Proc Jpn. Acad* **49**, 4.
- Ohno T. (2002) Fluorescence Inner-Filtering Correction for Determining the Humification Index of Dissolved Organic Matter. *Environ. Sci. Technol.* **36**, 742–746.
- Onstad G. D., Canfield D. E., Quay P. D. and Hedges J. I. (2000) Sources of particulate organic matter in rivers from the continental usa: lignin phenol and stable carbon isotope compositions. *Geochim. Cosmochim. Acta* **64**, 3539–3546.
- Opsahl S. and Benner R. (1995) Early diagenesis of vascular plant tissues: Lignin and cutin decomposition and biogeochemical implications. *Geochim. Cosmochim. Acta* **59**, 4889–4904.
- Ortega-Retuerta E., Frazer T. K., Duarte C. M., Ruiz-Halpern S., Tovar-Sánchez A., Arrieta J. M. and Rechea I. (2009) Biogeneration of chromophoric dissolved organic matter by bacteria and krill in the Southern Ocean. *Limnol. Oceanogr.* **54**, 1941–1950.
- Owens N. J. P. (1988) Natural Variations in ¹⁵N in the Marine Environment. In *Advances in Marine Biology* (eds. J. H. S. Blaxter and A. J. Southward). Academic Press. pp. 389–451.

Références bibliographiques

- Owens N. J. P. (1985) Variations in the natural abundance of ^{15}N in estuarine suspended particulate matter: A specific indicator of biological processing. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **20**, 505–510.
- Pallardy S. G. (2008) CHAPTER 8 - Lipids, Terpenes, and Related Substances. In *Physiology of Woody Plants (Third Edition)* (ed. S. G. Pallardy). Academic Press, San Diego. pp. 217–232.
- Panagiotopoulos C., Repeta D. J., Mathieu L., Rontani J.-F. and Sempéré R. (2013) Molecular level characterization of methyl sugars in marine high molecular weight dissolved organic matter. *Mar. Chem.* **154**, 34–45.
- Panagiotopoulos C. and Sempéré R. (2005) Analytical methods for the determination of sugars in marine samples: A historical perspective and future directions. *Limnol. Oceanogr. Methods* **3**, 419–454.
- Parlanti E., Wörz K., Geoffroy L. and Lamotte M. (2000) Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. *Org. Geochem.* **31**, 1765–1781.
- 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. phdthesis, Université de Bordeaux.
- Pastorova I., Botto R. E., Arisz P. W. and Boon J. J. (1994) Cellulose char structure: a combined analytical Py-GC-MS, FTIR, and NMR study. *Carbohydr. Res.* **262**, 27–47.
- Pernet-Coudrier B. (2008) Influence de la matière organique dissoute sur la spéciation et la biodisponibilité des métaux : cas de la Seine, un milieu sous forte pression urbaine. thesis, Paris Est.
- de Perre C., Le Ménach K., Ibalot F., Parlanti E. and 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.
- Perry G. J., Volkman J. K., Johns R. B. and Bavor H. J. (1979) Fatty acids of bacterial origin in contemporary marine sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta* **43**, 1715–1725.
- Peters K. E., Sweeney R. E. and Kaplan I. R. (1978) Correlation of carbon and nitrogen stable isotope ratios in sedimentary organic matter 1. *Limnol. Oceanogr.* **23**, 598–604.
- Peterson B. J., Howarth R. W. and Garritt R. H. (1985) Multiple Stable Isotopes Used to Trace the Flow of Organic Matter in Estuarine Food Webs. *Science* **227**, 1361–1363.
- Peulvé S., Leeuw J. W. de, Sicre M.-A., Baas M. and Saliot A. (1996) Characterization of macromolecular organic matter in sediment traps from the northwestern Mediterranean Sea. *Geochim. Cosmochim. Acta* **60**, 1239–1259.
- Phlips E. J. and Badylak S. (1996) Spatial Variability in Phytoplankton Standing Crop and Composition in a Shallow Inner-Shelf Lagoon, Florida Bay, Florida.
- Prati S., Smith S. and Chiavari G. (2004) Characterisation of Siccative Oils, Resins and Pigments in Art Works by Thermochemolysis Coupled to Thermal Desorption and Pyrolysis GC and GC-MS. *Chromatographia* **59**, 227–231.

Références bibliographiques

- Pritchard D. W. (1967) What is an estuary: Physical Viewpoint.
- Pulchan J., Abrajano T. A. and Helleur R. (1997) Characterization of tetramethylammonium hydroxide thermochemolysis products of near-shore marine sediments using gas chromatography/mass spectrometry and gas chromatography/combustion/isotope ratio mass spectrometry. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **42**, 135–150.
- Pulchan K. J., Helleur R. and Abrajano T. A. (2003) TMAH thermochemolysis characterization of marine sedimentary organic matter in a Newfoundland fjord. *Org. Geochem.* **34**, 305–317.
- Pullin M. J., Proggess C. A. and Maurice P. A. (2004) Effects of photoirradiation on the adsorption of dissolved organic matter to goethite. *Geochim. Cosmochim. Acta* **68**, 3643–3656.
- Raymond P. A. and Bauer J. E. (2001a) Riverine export of aged terrestrial organic matter to the North Atlantic Ocean. *Nature* **409**, 497–500.
- Raymond P. A. and Bauer J. E. (2001b) Use of ¹⁴C and ¹³C natural abundances for evaluating riverine, estuarine, and coastal DOC and POC sources and cycling: a review and synthesis. *Org. Geochem.* **32**, 469–485.
- Reimer P. J., Bard E., Bayliss A., Beck J. W., Blackwell P. G., Ramsey C. B., Buck C. E., Cheng H., Edwards R. L., Friedrich M., Grootes P. M., Guilderson T. P., Hafliðason H., Hajdas I., Hatté C., Heaton T. J., Hoffmann D. L., Hogg A. G., Hughen K. A., Kaiser K. F., Kromer B., Manning S. W., Niu M., Reimer R. W., Richards D. A., Scott E. M., Southon J. R., Staff R. A., Turney C. S. M. and Plicht J. van der (2013) IntCal13 and Marine13 Radiocarbon Age Calibration Curves 0–50,000 Years cal BP. *Radiocarbon* **55**, 1869–1887.
- Remington S. M., Strahm B. D., Neu V., Richey J. E. and Brandão da Cunha H. (2007) THE ROLE OF SORPTION IN CONTROL OF RIVERINE DISSOLVED ORGANIC CARBON CONCENTRATIONS BY RIPARIAN ZONE SOILS IN THE AMAZON BASIN: *Soil Sci.* **172**, 279–291.
- Remusat L., Derenne S., Robert F. and Knicker H. (2005) New pyrolytic and spectroscopic data on Orgueil and Murchison insoluble organic matter: A different origin than soluble? *Geochim. Cosmochim. Acta* **69**, 3919–3932.
- Reuter J. H. and Perdue E. M. (1977) Importance of heavy metal-organic matter interactions in natural waters. *Geochim. Cosmochim. Acta* **41**, 325–334.
- Rice D. L. and Tenore K. R. (1981) Dynamics of carbon and nitrogen during the decomposition of detritus derived from estuarine macrophytes. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **13**, 681–690.
- del Río J. C. and Hatcher P. G. (1998) Analysis of aliphatic biopolymers using thermochemolysis with tetramethylammonium hydroxide (TMAH) and gas chromatography–mass spectrometry. *Org. Geochem.* **29**, 1441–1451.
- Robinson N., Cranwell P. A., Finlay B. J. and Eglinton G. (1984) Lipids of aquatic organisms as potential contributors to lacustrine sediments. *Org. Geochem.* **6**, 143–152.
- Rohmer M., Bouvier-Nave P. and Ourisson G. (1984) Distribution of Hopanoid Triterpenes in Prokaryotes. *Microbiology* **130**, 1137–1150.
- Romankevich E. A. (1984) *Geochemistry of Organic Matter in the Ocean.*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.

Références bibliographiques

- Romera-Castillo C., Sarmiento H., Álvarez-Salgado X. A., Gasol J. M. and Marrasé C. (2011) Net Production and Consumption of Fluorescent Colored Dissolved Organic Matter by Natural Bacterial Assemblages Growing on Marine Phytoplankton Exudates. *Appl Env. Microbiol* **77**, 7490–7498.
- Romera-Castillo C., Sarmiento H., Álvarez-Salgado X. A., Gasol J. M. and Marrasé C. (2010) Production of chromophoric dissolved organic matter by marine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* **55**, 446–454.
- Ruzecki E. P. (1981) Temporal and spatial variations of the Chesapeake Bay plume. Available at: <https://ntrs.nasa.gov/search.jsp?R=19820002796> [Accessed June 11, 2018].
- Saiz-Jimenez C. and De Leeuw J. W. (1986) Lignin pyrolysis products: Their structures and their significance as biomarkers. *Org. Geochem.* **10**, 869–876.
- Sannigrahi P., Ingall E. D. and Benner R. (2005) Cycling of dissolved and particulate organic matter at station Aloha: Insights from ¹³C NMR spectroscopy coupled with elemental, isotopic and molecular analyses. *Deep Sea Res. Part Oceanogr. Res. Pap.* **52**, 1429–1444.
- Santschi P. H., Lenhart J. J. and Honeyman B. D. (1997) Heterogeneous processes affecting trace contaminant distribution in estuaries: The role of natural organic matter. *Mar. Chem.* **58**, 99–125.
- Sargent J. R. and Falk-Petersen S. (1988) The lipid biochemistry of calanoid copepods. In *Biology of Copepods* (eds. G. A. Boxshall and H. K. Schminke). Developments in Hydrobiology. Springer Netherlands. pp. 101–114.
- Savoie N., David V., Morisseau F., Etcheber H., Abril G., Billy I., Charlier K., Oggian G., Derriennic H. and Sautour B. (2012) Origin and composition of particulate organic matter in a macrotidal turbid estuary: The Gironde Estuary, France. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **108**, 16–28.
- Schouten S., Hopmans E. C., Schefuß E. and Sinninghe Damsté J. S. (2002) Distributional variations in marine crenarchaeotal membrane lipids: a new tool for reconstructing ancient sea water temperatures? *Earth Planet. Sci. Lett.* **204**, 265–274.
- Schouten S., Hopmans E. C. and Sinninghe Damsté J. S. (2013) The organic geochemistry of glycerol dialkyl glycerol tetraether lipids: A review. *Org. Geochem.* **54**, 19–61.
- Schubel J. R. and Pritchard D. W. (1986) Responses of upper Chesapeake Bay to variations in discharge of the Susquehanna River. *Estuaries* **9**, 236–249.
- Schubert K. and Kaufmann G. (1965) Bildung von sterinestern in der bakterienzelle. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Lipids Lipid Metab.* **106**, 592–597.
- Seidel M., Yager P. L., Ward N. D., Carpenter E. J., Gomes H. R., Krusche A. V., Richey J. E., Dittmar T. and Medeiros P. M. (2015) Molecular-level changes of dissolved organic matter along the Amazon River-to-ocean continuum. *Mar. Chem.* **177**, Part 2, 218–231.
- Seifert W. K. and Moldowan J. M. (1978) Applications of steranes, terpanes and monoaromatics to the maturation, migration and source of crude oils. *Geochim. Cosmochim. Acta* **42**, 77–95.

Références bibliographiques

- Senesi N. (1990) Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals: Part II. The fluorescence spectroscopy approach. *Anal. Chim. Acta* **232**, 77–106.
- Serkiz S. M. and Perdue E. M. (1990) Isolation of dissolved organic matter from the suwannee river using reverse osmosis. *Water Res.* **24**, 911–916.
- Servais P. and Garnier J. (2006) Organic carbon and bacterial heterotrophic activity in the maximum turbidity zone of the Seine estuary (France). *Aquat. Sci.* **68**, 78–85.
- Shiller A. M., Duan S., Erp P. van and Bianchi T. S. (2006) Photo-oxidation of dissolved organic matter in river water and its effect on trace element speciation. *Limnol. Oceanogr.* **51**, 1716–1728.
- Shultz D. J. and Calder J. A. (1976) Organic carbon $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ variations in estuarine sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta* **40**, 381–385.
- Silliman J. E. and Schelske C. L. (2003) Saturated hydrocarbons in the sediments of Lake Apopka, Florida. *Org. Geochem.* **34**, 253–260.
- Simon M., Grossart H.-P., Schweitzer B. and Ploug H. (2002) Microbial ecology of organic aggregates in aquatic ecosystems. *Aquat. Microb. Ecol.* **28**, 175–211.
- Skoog A., Hall P. O. J., Hulth S., Paxéus N., Van Der Loeff M. R. and Westerlund S. (1996) Early diagenetic production and sediment-water exchange of fluorescent dissolved organic matter in the coastal environment. *Geochim. Cosmochim. Acta* **60**, 3619–3629.
- Sleighter R. L. and Hatcher P. G. (2008) Molecular characterization of dissolved organic matter (DOM) along a river to ocean transect of the lower Chesapeake Bay by ultrahigh resolution electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Mar. Chem.* **110**, 140–152.
- Smith D. C., Simon M., Alldredge A. L. and Azam F. (1992) Intense hydrolytic enzyme activity on marine aggregates and implications for rapid particle dissolution. *Nature* **359**, 139–142.
- Soclo H. H., Garrigues P. and Ewald M. (2000) Origin of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Coastal Marine Sediments: Case Studies in Cotonou (Benin) and Aquitaine (France) Areas. *Mar. Pollut. Bull.* **40**, 387–396.
- SPITZY A. (1991) Dissolved and particulate organic matter in rivers. *Ocean Margin Process. Glob. Change*, 6–17.
- Stabenau E. R., Zepp R. G., Bartels E. and Zika R. G. (2004) Role of the seagrass *Thalassia testudinum* as a source of chromophoric dissolved organic matter in coastal south Florida. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **282**, 59–72.
- Stackelberg P. E., Furlong E. T., Meyer M. T., Zaugg S. D., Henderson A. K. and Reissman D. B. (2004) Persistence of pharmaceutical compounds and other organic wastewater contaminants in a conventional drinking-water-treatment plant. *Sci. Total Environ.* **329**, 99–113.
- Stedmon C. A. and Markager S. (2005) Resolving the variability in dissolved organic matter fluorescence in a temperate estuary and its catchment using PARAFAC analysis. *Limnol. Oceanogr.* **50**, 686–697.

Références bibliographiques

- Stedmon C. A., Markager S., Tranvik L., Kronberg L., Slätis T. and Martinsen W. (2007) Photochemical production of ammonium and transformation of dissolved organic matter in the Baltic Sea. *Mar. Chem.* **104**, 227–240.
- Steinberg D. K., Nelson N. B., Carlson C. A. and Prusak A. (2004) Production of chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in the open ocean by zooplankton and the colonial cyanobacterium *Trichodesmium* spp. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **267**, 45–56.
- Stordal M. C., Santschi P. H. and Gill G. A. (1996) Colloidal Pumping: Evidence for the Coagulation Process Using Natural Colloids Tagged with ²⁰³Hg. *Environ. Sci. Technol.* **30**, 3335–3340.
- Strong D. J., Flecker R., Valdes P. J., Wilkinson I. P., Rees J. G., Zong Y. Q., Lloyd J. M., Garrett E. and Pancost R. D. (2012) Organic matter distribution in the modern sediments of the Pearl River Estuary. *Org. Geochem.* **49**, 68–82.
- Talbot M. R. and Johannessen T. (1992) A high resolution palaeoclimatic record for the last 27,500 years in tropical West Africa from the carbon and nitrogen isotopic composition of lacustrine organic matter. *Earth Planet. Sci. Lett.* **110**, 23–37.
- Tamtam F., Mercier F., Le Bot B., Eurin J., Tuc Dinh Q., Clément M. and Chevreuil M. (2008) Occurrence and fate of antibiotics in the Seine River in various hydrological conditions. *Sci. Total Environ.* **393**, 84–95.
- Tavendale M. H., McFarlane P. N., Mackie K. L., Wilkins A. L. and Langdon A. G. (1997) The fate of resin acids-1. The biotransformation and degradation of deuterium labelled dehydroabietic acid in anaerobic sediments. *Chemosphere* **35**, 2137–2151.
- Templier J., Derenne S., Croué J.-P. and Largeau C. (2005) Comparative study of two fractions of riverine dissolved organic matter using various analytical pyrolytic methods and a ¹³C CP/MAS NMR approach. *Org. Geochem.* **36**, 1418–1442.
- Thevenot D., Lestel L., Tusseau-Vuillemin M.-H., Gonzales J.-L. and Meybeck M. (2009) *Les métaux dans le bassin de la Seine - Comprendre d'où proviennent et comment circulent les métaux dans un bassin versant fortement exposé aux pressions humaines.*, Agence de l'Eau Seine-Normandie.
- Thornton D. C. O. (2004) Formation of transparent exopolymeric particles (TEP) from macroalgal detritus. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **282**, 1–12.
- Thornton S. F. and McManus J. (1994) Application of Organic Carbon and Nitrogen Stable Isotope and C/N Ratios as Source Indicators of Organic Matter Provenance in Estuarine Systems: Evidence from the Tay Estuary, Scotland. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **38**, 219–233.
- Tremblay L. B., Dittmar T., Marshall A. G., Cooper W. J. and Cooper W. T. (2007) Molecular characterization of dissolved organic matter in a North Brazilian mangrove porewater and mangrove-fringed estuaries by ultrahigh resolution Fourier Transform-Ion Cyclotron Resonance mass spectrometry and excitation/emission spectroscopy. *Mar. Chem.* **105**, 15–29.
- Tremblay L. and Gagné J.-P. (2009) Organic matter distribution and reactivity in the waters of a large estuarine system. *Mar. Chem.* **116**, 1–12.

Références bibliographiques

- Tuomela M., Vikman M., Hatakka A. and Itävaara M. (2000) Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. *Bioresour. Technol.* **72**, 169–183.
- Tzortziou M., Neale P. J., Osburn C. L., Megonigal J. P., Maie N. and Jaffé R. (2008) Tidal marshes as a source of optically and chemically distinctive colored dissolved organic matter in the Chesapeake Bay. *Limnol. Oceanogr.* **53**, 148–159.
- Vacher L. (2004) *Étude par fluorescence des propriétés de la matière organique dissoute dans les systèmes estuariens : cas des estuaires de la Gironde et de la Seine.*, Bordeaux 1. Available at: <http://www.theses.fr/2004BOR12923> [Accessed March 22, 2018].
- Vane C. H., Kim A. W., McGowan S., Leng M. J., Heaton T. H. E., Kendrick C. P., Coombs P., Yang H. and Swann G. E. A. (2010) Sedimentary records of sewage pollution using faecal markers in contrasting peri-urban shallow lakes. *Sci. Total Environ.* **409**, 345–356.
- Verney R., Ducharne A. and Claquin P. (2012) Projet FLUMES : Flux de matières en estuaire de Seine. *Rapp. Sci. Seine-Aval* **4**, 114.
- Volk C. J., Volk C. B. and Kaplan L. A. (1997) Chemical composition of biodegradable dissolved organic matter in streamwater. *Limnol. Oceanogr.* **42**, 39–44.
- Volkman J. K. (1986) A review of sterol markers for marine and terrigenous organic matter. *Org. Geochem.* **9**, 83–99.
- Volkman J. K., Barrett S. M. and Blackburn S. I. (1999) Eustigmatophyte microalgae are potential sources of C₂₉ sterols, C₂₂–C₂₈ n-alcohols and C₂₈–C₃₂ n-alkyl diols in freshwater environments. *Org. Geochem.* **30**, 307–318.
- Volkman J. K., Barrett S. M., Blackburn S. I., Mansour M. P., Sikes E. L. and Gelin F. (1998) Microalgal biomarkers: A review of recent research developments. *Org. Geochem.* **29**, 1163–1179.
- Volkman J. K., Barrett S. M., Dunstan G. A. and Jeffrey S. W. (1993) Geochemical significance of the occurrence of dinosterol and other 4-methyl sterols in a marine diatom. *Org. Geochem. Vol 20 No 1 Pp 7-15*, 9.
- Volkman J. K., Jeffrey S. W., Nichols P. D., Rogers G. I. and Garland C. D. (1989) Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **128**, 219–240.
- Volkman J. K., Johns R. B., Gillan F. T. and Perry G. J. (1980) Microbial lipids of an intertidal sediment-I. Fatty acids and hydrocarbons. *Geochimica et Cosmochimica Acta Vol 44 Pp 133-143*, 11.
- Wada E., Minagawa M., Mizutani H., Tsuji T., Imaizumi R. and Karasawa K. (1987) Biogeochemical studies on the transport of organic matter along the Otsuchi River watershed, Japan. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **25**, 321–336.
- Walker B. D. and McCarthy M. D. (2012) Elemental and isotopic characterization of dissolved and particulate organic matter in a unique California upwelling system: Importance of size and composition in the export of labile material. *Limnol. Oceanogr.* **57**, 1757–1774.

Références bibliographiques

- Wang X.-C., Druffel E. R. M. and Lee C. (1996) Radiocarbon in organic compound classes in particulate organic matter and sediment in the deep northeast Pacific Ocean. *Geophys. Res. Lett.* **23**, 3583–3586.
- Weishaar J. L., Aiken G. R., Bergamaschi B. A., Fram M. S., Fujii R. and Mopper K. (2003) Evaluation of Specific Ultraviolet Absorbance as an Indicator of the Chemical Composition and Reactivity of Dissolved Organic Carbon. *Environ. Sci. Technol.* **37**, 4702–4708.
- Wershaw R. L., Leenheer J. A., Sperline R. P., Song Y., Noll L. A., Melvin R. L. and Rigatti G. P. (1995) Mechanism of formation of humus coatings on mineral surfaces 1. Evidence for multidentate binding of organic acids from compost leachate on alumina. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* **96**, 93–104.
- Wetzel R. G. (1995) Death, detritus, and energy flow in aquatic ecosystems. *Freshw. Biol.* **33**, 83–89.
- Wu W., Ruan J., Ding S., Zhao L., Xu Y., Yang H., Ding W. and Pei Y. (2014) Source and distribution of glycerol dialkyl glycerol tetraethers along lower Yellow River-estuary-coast transect. *Mar. Chem.* **158**, 17–26.
- Xu Y., Mead R. N. and Jaffé R. (2006) A molecular marker-based assessment of sedimentary organic matter sources and distributions in Florida Bay. *Hydrobiologia* **569**, 179–192.
- Yan C., Yang Y., Zhou J., Liu M., Nie M., Shi H. and Gu L. (2013) Antibiotics in the surface water of the Yangtze Estuary: Occurrence, distribution and risk assessment. *Environ. Pollut.* **175**, 22–29.
- Yang L., Guo W., Hong H. and Wang G. (2013) Non-conservative behaviors of chromophoric dissolved organic matter in a turbid estuary: Roles of multiple biogeochemical processes. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **133**, 285–292.
- Yu F., Zong Y., Lloyd J. M., Huang G., Leng M. J., Kendrick C., Lamb A. L. and Yim W. W.-S. (2010) Bulk organic $\delta^{13}\text{C}$ and C/N as indicators for sediment sources in the Pearl River delta and estuary, southern China. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **87**, 618–630.
- Zang X. and Hatcher P. G. (2002) A Py-GC-MS and NMR spectroscopy study of organic nitrogen in Mangrove Lake sediments. *Org. Geochem.* **33**, 201–211.
- Zhang L., Zhang J. and Gong M. (2009) Size distributions of hydrocarbons in suspended particles from the Yellow River. *Appl. Geochem.* **24**, 1168–1174.
- Zhao H., Zhou J. L. and 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. and Wright J. (1999) Fluxes of Organic Contaminants from the River Catchment into, through and out of the Humber Estuary, UK. *Mar. Pollut. Bull.* **37**, 330–342.
- Zhou Z., Chen N., Cao X., Chua T., Mao J., Mandel R. D., Bettis E. A. and Thompson M. L. (2014) Composition of clay-fraction organic matter in Holocene paleosols revealed by advanced solid-state NMR spectroscopy. *Geoderma* **223**, 54–61.
- Zhu C., Weijers J. W. H., Wagner T., Pan J.-M., Chen J.-F. and Pancost R. D. (2011a) Sources and distributions of tetraether lipids in surface sediments across a large river-dominated continental margin. *Org. Geochem.* **42**, 376–386.

Références bibliographiques

Zhu C., Weijers J. W. H., Wagner T., Pan J.-M., Chen J.-F. and Pancost R. D. (2011b) Sources and distributions of tetraether lipids in surface sediments across a large river-dominated continental margin. *Org. Geochem.* **42**, 376–386.

Zhu W.-Z., Yang G.-P. and Zhang H.-H. (2017a) Photochemical behavior of dissolved and colloidal organic matter in estuarine and oceanic waters. *Sci. Total Environ.* **607–608**, 214–224.

Zhu W.-Z., Zhang J. and Yang G.-P. (2017b) Mixing behavior and photobleaching of chromophoric dissolved organic matter in the Changjiang River estuary and the adjacent East China Sea. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*

Zsolnay Á. (2003) Dissolved organic matter: artefacts, definitions, and functions. *Geoderma* **113**, 187–209.

ANNEXE 1 : DYNAMIQUE CROISEE DE LA MATIERE ORGANIQUE, DES CONTAMINANTS ET DES NUTRIMENTS

Les dynamiques de la MO, des contaminants organiques et des nutriments ont été évaluées séparément dans l'estuaire de Seine lors du projet MOSAIC (Huguet et al., 2018). Il est 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. Zhou et al., 1999; McGuirk Flynn, 2008), 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).

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 (Figure 133). 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.

Annexe 1 : Dynamique croisée de la matière organique, des contaminants et des nutriments

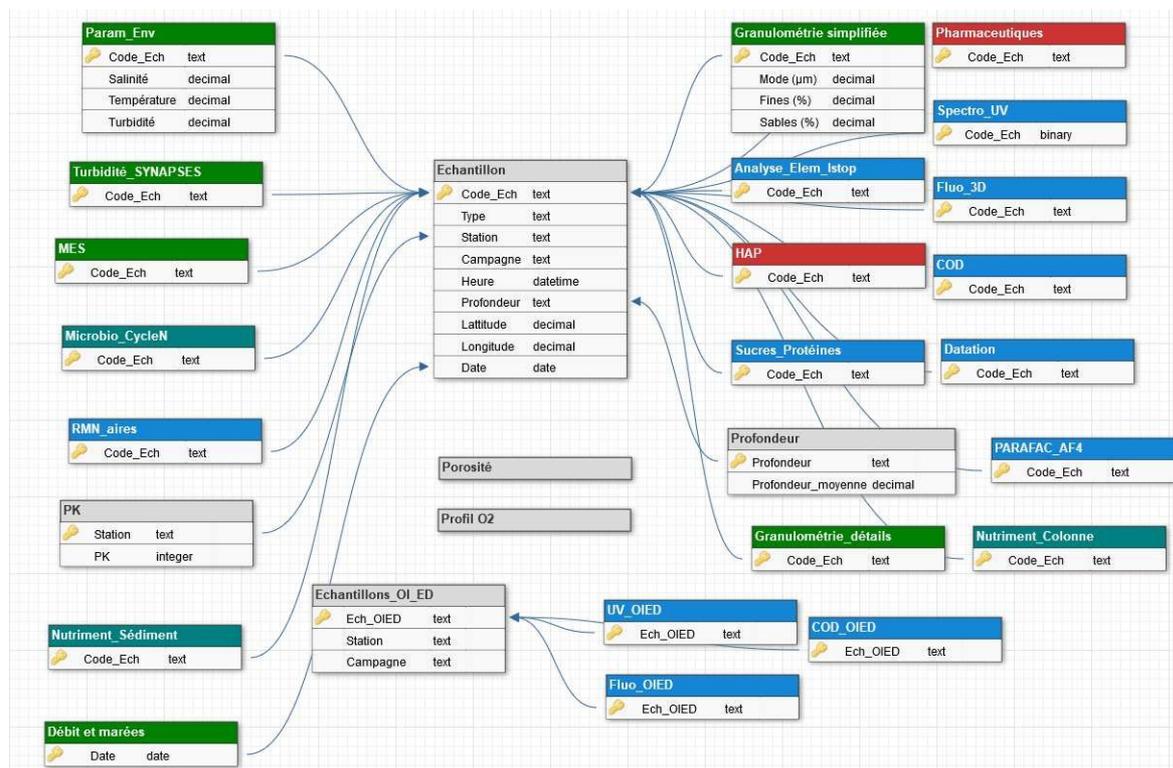


Figure 133 : Structure simplifiée de la base de données MOSAIC.

Croisement des données

6.4.1 Interactions matière organique et contaminants organiques

Nous avons dans un premier temps examiné le lien entre la dynamique de la MO et celle des contaminants organiques d'un point de vue quantitatif puis qualitatif. Cette étude a été réalisée sur la colonne d'eau (phases dissoutes et particulières) et le sédiment.

Phase dissoute

Les teneurs en COD et en contaminants organiques dans la phase dissoute diminuent de l'amont vers l'aval (i.e. lorsque la salinité augmente ; Huguet et al., 2018). Cependant, cette diminution n'est globalement pas linéaire, indiquant des apports ponctuels ou pertes de COD ou contaminants le long de l'estuaire. Par ailleurs, les variations des concentrations en COD et en contaminants varient fortement en fonction de la saison considérée. Par exemple, la teneur en COD est plus importante durant l'hiver, en lien avec un plus fort lessivage des sols et un apport en MO terrigène, comme précédemment observé lors de la phase 2 du programme Seine-Aval (Vacher, 2004).

Les teneurs en contaminants et en COD sont liées (Figure 134), avec une augmentation linéaire de la concentration totale en composés pharmaceutiques avec le COD. Une plus grande variabilité est observée pour les HAP. Néanmoins, quel que soit le type de polluant considéré la relation entre la concentration en COD et en contaminants dépend fortement de la saison, en accord avec la forte variation saisonnière des quantités de COD, de HAP et pharmaceutiques (Huguet et al., 2018). 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.

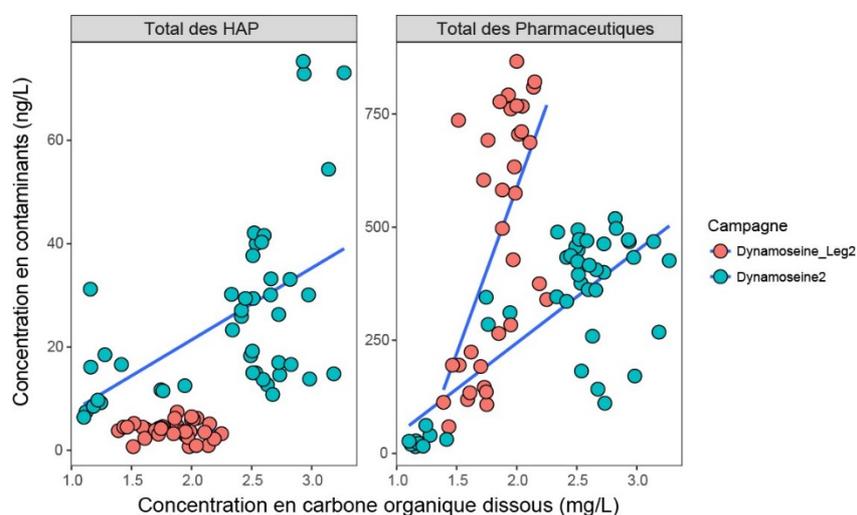


Figure 134 : Relation entre la concentration en contaminants organiques et en carbone organique lors des campagnes Dynamoseine Leg 2 (septembre 2015) et Dynamoseine 2 (avril 2016).

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, Huguet et al., 2018), et ce pour l'ensemble des campagnes (Figure 135). 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.

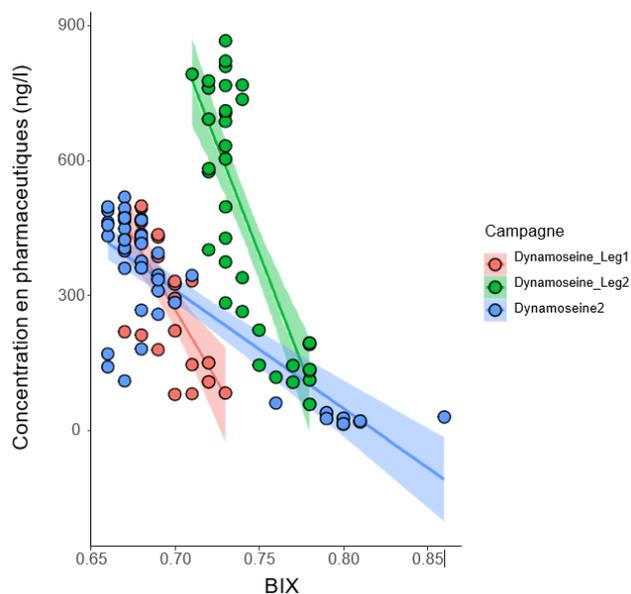


Figure 135 : Relation entre la concentration en composés pharmaceutiques et l'indice de fluorescence BIX (indice de production autochtone de la MO) pour l'ensemble des campagnes Dynamoseine.

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 (Huguet et al., 2018). 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).

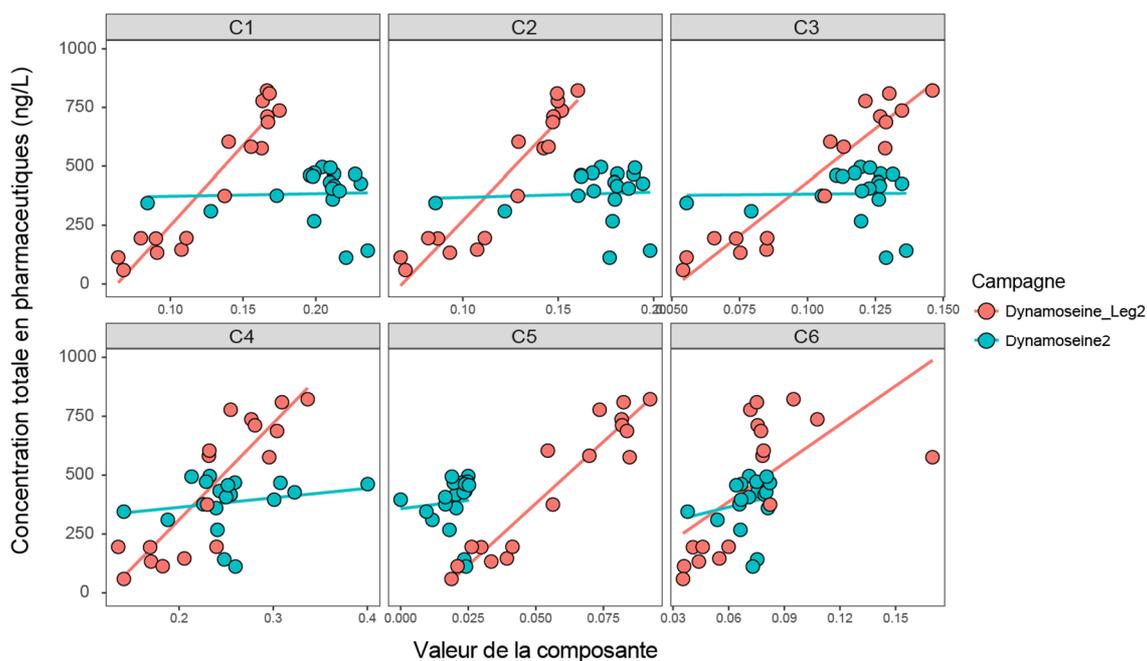


Figure 136 : Relation entre la concentration en composés pharmaceutiques et les composants (C1 à C6) déterminés par PARAFAC à partir des spectres de fluorescence de la MOD pour les échantillons des campagnes Dynamoseine leg 2 (septembre 2015) et Dynamoseine 2 (avril 2016).

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 (Figure 136). 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 23). 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 (Huguet et al., 2018).

Tableau 23 : 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.

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

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 Figure 137.

Annexe 1 : Dynamique croisée de la matière organique, des contaminants et des nutriments

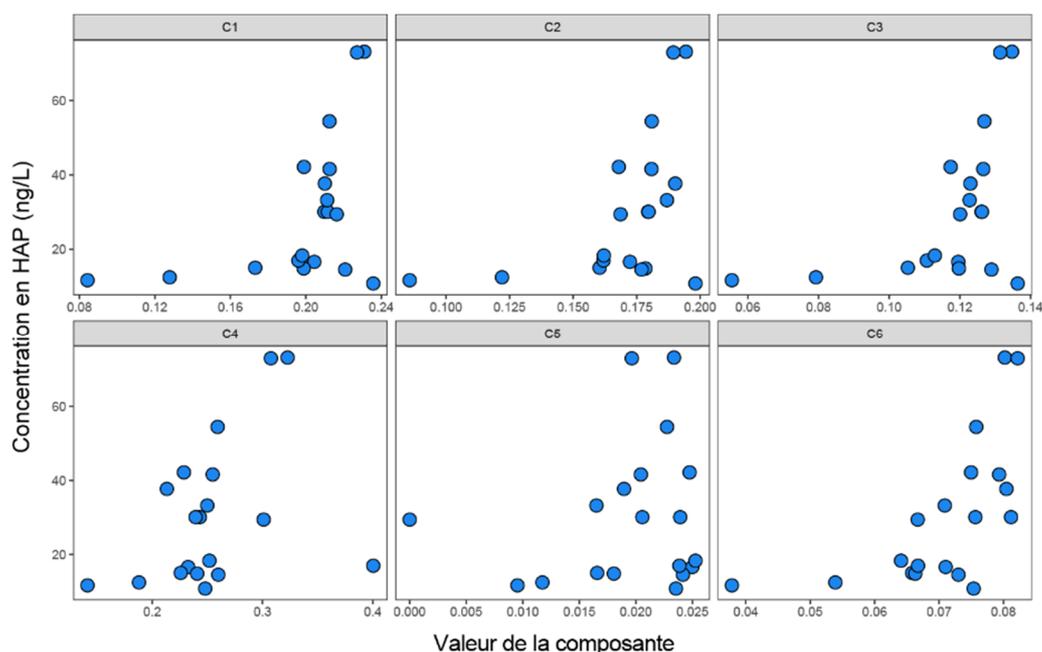


Figure 137 : Relation entre la concentration en composés pharmaceutiques et les principaux constituants des spectres de fluorescence (C1 à C6) de la MOD, pour les échantillons de la campagne Dynamoseine 2 (avril 2016).

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 24 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.

Tableau 24 : 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.

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

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 (Figure 134), on observe globalement une augmentation de la concentration en HAP avec la teneur en carbone organique (Corg) dans le matériel en suspension (Figure 138a).

Par ailleurs, la concentration en HAP normalisée par rapport à la quantité de Corg diminue de manière exponentielle avec une augmentation du $\delta^{13}\text{C}$ de la MOP (i.e. une MO plus marine ; Figure 138b). 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 $\delta^{13}\text{C}$ 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 Corg (Figure 139a). Néanmoins, lorsque la teneur totale en HAP est normalisée par rapport au Corg, l'on s'aperçoit que cette dernière augmente avec le $\delta^{13}\text{C}$ de la MO, i.e. de l'amont vers l'aval de l'estuaire de Seine (Figure 138b).

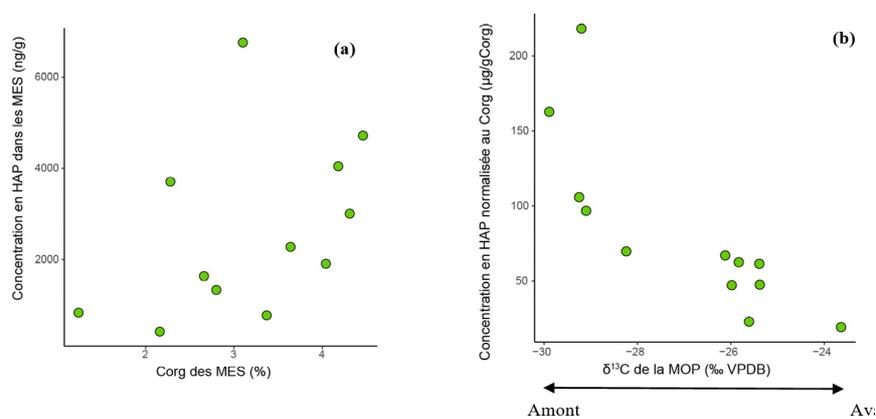


Figure 138 : (a) Relation entre la concentration en HAP et la teneur en carbone organique dans la phase particulaire pour les échantillons de la campagne Dynamoseine 2 (avril 2016). (b) Relation entre la concentration en HAP et $\delta^{13}\text{C}$ de la MOP pour les échantillons de la campagne Dynamoseine 2 (avril 2016).

La diminution de la concentration en HAP dans les phases particulaire (Figure 138) et dissoutes (Huguet et al., 2018) 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 particulaire 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).

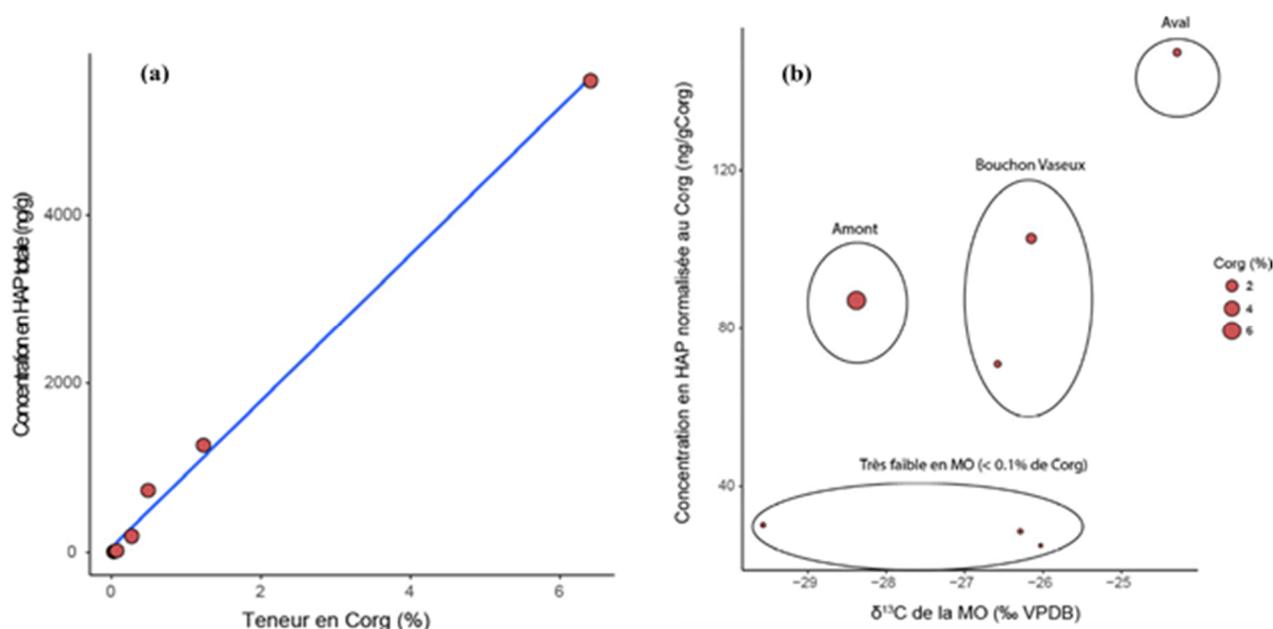


Figure 139 : (a) Relation entre la concentration en HAP et la teneur en carbone organique dans le sédiment pour les échantillons de la campagne Dynamoseine 2 (avril 2016). (b) Relation entre la concentration en HAP et $\delta^{13}\text{C}$ de la MO sédimentaire pour les échantillons de la campagne Dynamoseine 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.

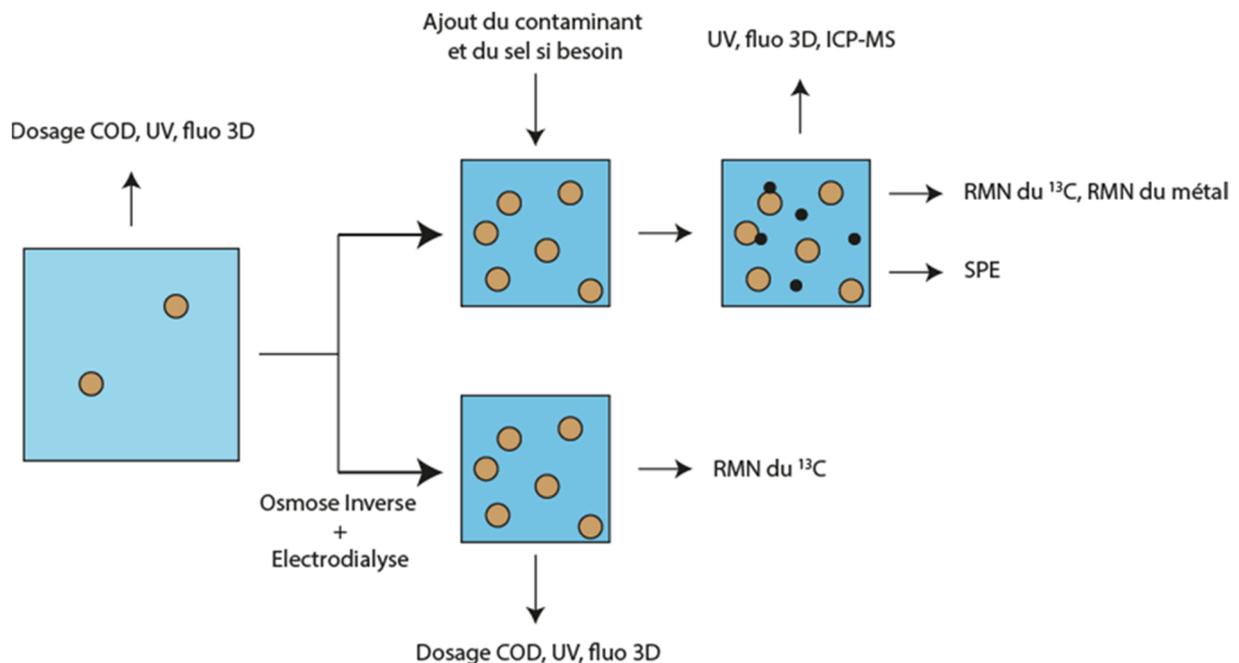


Figure 140 : Schéma expérimental proposé pour l'étude des interactions entre la MOD et les contaminants

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 140 résume les différentes manipulations et analyses qui pourraient être réalisées.

6.4.2 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. Les résultats obtenus indiquent que la plupart des nutriments 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 (Huguet et al., 2018). D'autres éléments traces (^{111}Cd , ^{118}Sn , ^{208}Pb , ^{51}V , ^{52}Cr , ^{63}Cu , ^{75}As), ainsi que les nitrites et phosphates présentent des résultats variables en fonction des sites et des campagnes (Huguet et al., 2018).

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 (Huguet et al., 2018). 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 oxygènes ; Tableau 25). 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 (relié 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 25). 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 (Huguet et al., 2018). 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.

Annexe 1 : Dynamique croisée de la matière organique, des contaminants et des nutriments

Tableau 25 : 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.

	COD	HIX	BIX	f450/f500	α/α	β/α	γ/α	SUVA	S275-290	Sr
μorganismes impliqués dans la dénitrification		↘	↗	↗		↗				
Bactéries impliquées dans la DNRA		↘	↗	↗		↗				
Bactéries					↘ log					
Archées										
Production N2O		↘	↗							
Production CO2									↗	↘
Production/Consomation NO2	↘								↗	
Production NO3										
Consomation NH4	↗									

BATCH (conditions oxygènes)

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 25). 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 26). 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).

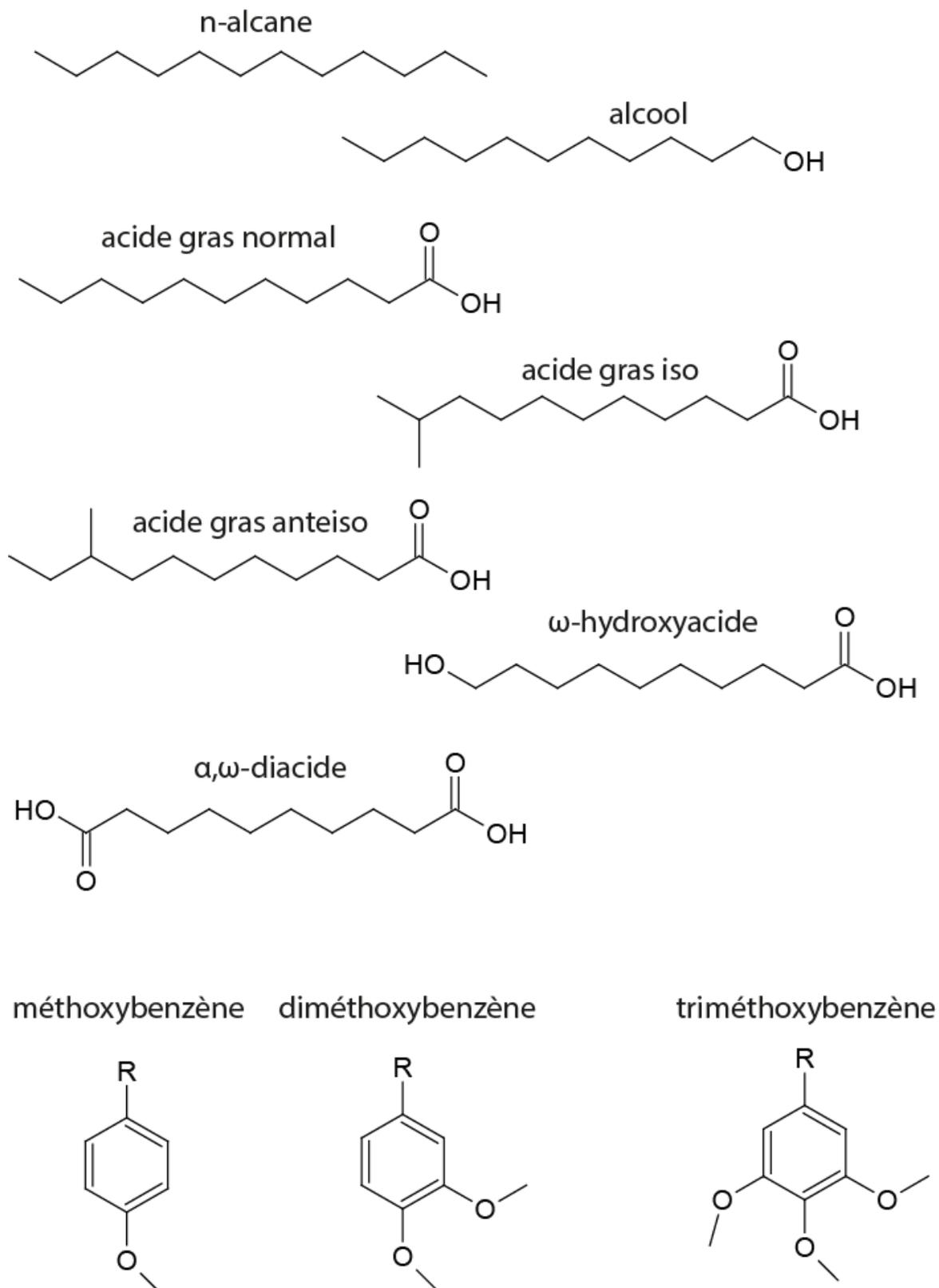
En parallèle, si l'on s'intéresse au nombre de bactéries dénitrifiantes dans le sédiment, on s'aperçoit que ce dernier diminue lorsque le rapport C/N de la MO augmente, i.e. que la MO

est plus dégradée (Tableau 26). 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 vasière Nord de l'estuaire de Seine (projet SA6 PHARE-SEE).

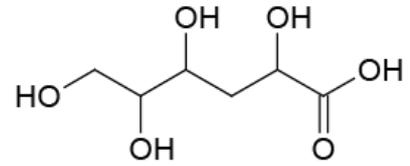
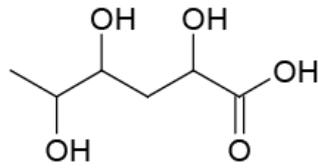
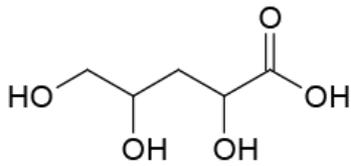
Tableau 26 : Corrélations entre la teneur en carbone organique du sédiment, les caractéristiques de la MO et les processus biogéochimiques + les microorganismes du cycle de l'azote.

	Corg (%)	TN (%)	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	C/N	Age	Granulométrie	Sucres (mg/gsed)	Protéines (mg/gsed)	Sucres (mg/gCorg)	Protéines (mg/gCorg)
μorganismes impliquées 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 oxygènes)	Production N ₂ O			↘							↘
	Production CO ₂	↗	↗	↘							↘
	Production NO ₃	↘	↘				↗				
	Consomation NH ₄	↘	↘		↘	↗	↘	↗			

ANNEXE 2 : STRUCTURES MOLECULAIRES



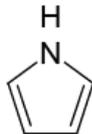
acides aldoniques



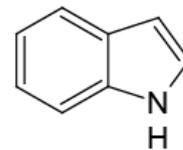
furane



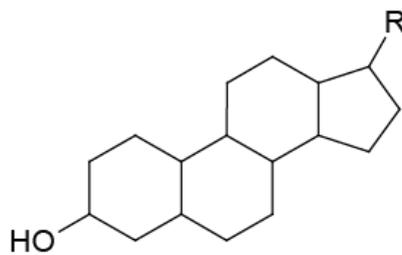
pyrrole



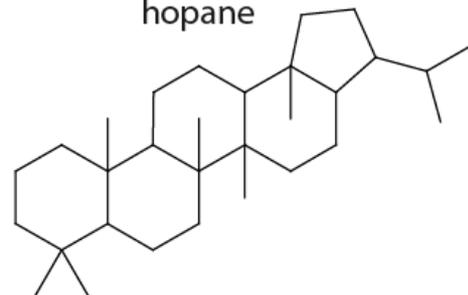
indole



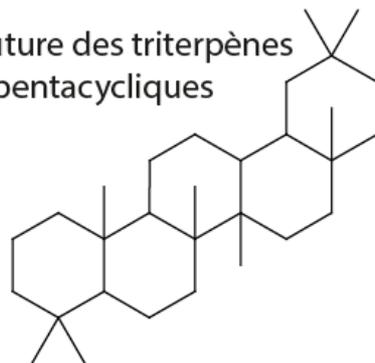
noyau des sterols et stanols



hopane



structure des triterpènes
pentacycliques



ANNEXE 3 : SUPPLEMENTARY MATERIAL DU CHAPITRE 3

Tableau 27 : Elemental and isotopic composition of DOM, POM and sediment OM samples.

Station	Campaign	Type	Depth	C(%)	N(%)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)
Tancarville	January 2015	DOM		11.71	0.87	-28.4
		POM		4.70	0.54	-27.2
Caudebec	April 2015	DOM		9.80	0.91	-27.5
		POM		2.28	0.30	-29.9
Tancarville	April 2015	DOM		9.30	0.86	-28.1
		POM		3.64	0.47	-25.8
		Sed OM	0-1 cm	5.13	0.62	-25.9
			1-2 cm	4.82	0.56	-26.1
			2-3 cm	4.96	0.57	-26.1
			3-4 cm	4.50	0.51	-26.1
			4-5 cm	3.06	0.33	-26.6
			5-6 cm	1.72	0.19	-27.1
			6-7 cm	5.22	0.61	-26.0
			7-8 cm	4.07	0.46	-26.2
			8-9 cm	4.36	0.49	-26.4
9-10 cm	4.58	0.54	-25.9			
Fatouville	April 2015	DOM		8.27	0.77	-26.3
		POM		1.24	0.16	-26.1
		Sed OM	0-1 cm	4.33	0.54	-26.3
			1-2 cm	4.58	0.55	-25.7
			2-3 cm	3.51	0.40	-26.3
			3-4 cm	3.58	0.40	-26.4
			4-5 cm	3.03	0.35	-26.3
			5-6 cm	1.52	0.18	-26.1
			6-7 cm	1.90	0.21	-26.0
			7-8 cm	1.26	0.13	-27.1
			8-9 cm	1.83	0.18	-26.2
9-10 cm	1.25	0.14	-26.6			
Honfleur	April 2015	DOM		6.72	0.53	-26.7
		POM		2.45	0.32	-26.9
Fatouville	July 2015	DOM		13.69	1.32	-27.3
		POM		4.26	0.52	-26.0
La Carosse	September 2015	DOM		15.89	1.41	-23.2
		POM		4.54	0.52	-22.5
Caudebec	September 2015	POM		4.31	0.46	-28.2
		POM		2.66	0.34	-25.4
Tancarville	September 2015	Sed OM	0-1 cm	3.79	0.45	-25.8
			1-2 cm	1.19	0.12	-25.9
			2-3 cm	0.36	0.03	-26.1

Annexe 3 : Supplementary material du chapitre 3

			3-4 cm	0.15	0.02	-25.7
			4-5 cm	0.44	0.05	-26.6
			5-6 cm	0.96	0.11	-26.0
			6-7 cm	2.05	0.22	-26.0
			7-8 cm	2.55	0.28	-26.1
			8-9 cm	0.63	0.07	-26.0
			9-10 cm	2.06	0.23	-25.9
		POM		2.80	0.35	-25.4
			0-1 cm	3.53	0.41	-25.4
			1-2 cm	2.28	0.26	-25.7
			2-3 cm	3.24	0.37	-25.9
			3-4 cm	2.20	0.25	-25.8
Fatouville	September 2015	Sed OM	4-5 cm	2.91	0.34	-25.7
			5-6 cm	3.33	0.37	-25.9
			6-7 cm	3.15	0.37	-25.9
			7-8 cm	2.92	0.33	-25.8
			8-9 cm	0.38	0.05	-25.8
			9-10 cm	1.24	0.13	-25.8
Honfleur	September 2015	POM		3.37	0.40	-25.6
Poses	April 2016	DOM		10.41	0.89	-28.5
		POM		3.10	0.34	-29.2
		POM		4.46	0.48	-29.3
			0-1 cm	7.26	0.82	-28.6
			1-2 cm	6.81	0.74	-28.5
			2-3 cm	6.50	0.72	-28.5
			3-4 cm	6.22	0.70	-28.4
Rouen	April 2016	Sed OM	4-5 cm	7.71	0.84	-28.6
			5-6 cm	6.50	0.69	-28.6
			6-7 cm	6.93	0.76	-28.5
			7-8 cm	7.10	0.79	-28.7
			8-9 cm	6.92	0.77	-28.5
			9-10 cm	5.98	0.67	-28.6
Caudebec	April 2016	DOM		20.70	1.59	-28.0
		POM		4.18	0.51	-29.1
			0-1 cm	0.03	0.01	-26.9
			1-2 cm	0.29	0.03	-26.5
Tancarville	April 2016	Sed OM	2-3 cm	0.10	0.01	-24.4
			3-4 cm	0.09	0.01	-27.4
			4-5 cm	0.11	0.01	-27.5
		POM		4.04	0.48	-26.0
			0-1 cm	1.34	0.14	-26.5
Fatouville	April 2016	Sed OM	1-2 cm	1.04	0.10	-26.3
			2-3 cm	1.32	0.14	-26.9
			3-4 cm	0.99	0.10	-26.2

Annexe 3 : Supplementary material du chapitre 3

			4-5 cm	0.08	0.01	-26.9
			6-7 cm	0.11	0.01	-26.3
			7-8 cm	1.85	0.20	-26.4
			8-9 cm	2.51	0.29	-26.0
			9-10 cm	1.04	0.11	-26.1
			<hr/>			
		POM		2.09	0.30	-23.7
			0-1 cm	1.98	0.22	-24.7
			1-2 cm	1.21	0.13	-24.8
			2-3 cm	1.28	0.15	-24.8
			3-4 cm	1.22	0.14	-24.3
La Carosse	April 2016		4-5 cm	1.25	0.15	-24.4
		Sed OM	5-6 cm	1.00	0.12	-24.2
			6-7 cm	1.19	0.14	-24.4
			7-8 cm	1.85	0.22	-24.2
			8-9 cm	0.76	0.09	-24.4
			9-10 cm	1.40	0.17	-24.2
			<hr/>			

Tableau 28 : Radiocarbon data derived from DOM, POM and sediment OM. SD: standard deviation.

Station	Campaign	Type	Depth	f_M	SD f_M	$\Delta^{14}C$ (‰)
Tancarville	January 2015	DOM		1.077743	0.0027414	86.3
		POM		1.275311	0.0030005	285.4
Caudebec	April 2015	DOM		1.0248884	0.0029471	33.0
		POM		1.147138	0.0027092	156.2
Tancarville	April 2015	DOM		1.0829536	0.0027465	91.5
		POM		1.999134	0.0037367	1014.9
			0-1 cm	1.022582	0.0026153	30.7
		Sed OM	5-6 cm	0.9802752	0.0025443	-12.0
			9-10 cm	0.9915596	0.0025549	-0.6
Fatouville	April 2015	DOM		1.0132614	0.0027727	21.3
		POM		1.390507	0.0037211	401.5
			0-1 cm	1.048569	0.0026671	56.8
		Sed OM	5-6 cm	0.9885786	0.0027406	-3.6
	9-10 cm	0.9500511	0.002551	-42.4		
Honfleur	April 2015	DOM		0.9715223	0.0027727	-20.8
		POM		1.291377	0.0030742	301.6
Fatouville	July 2015	DOM		0.9411594	0.0024961	-51.4
La Carosse	July 2015	DOM		0.9049262	0.0024365	-87.9
Caudebec	September 2015	POM		1.056314	0.0025411	64.7
			0-1 cm	1.4631018	0.0032759	474.7
		Sed OM	5-6 cm	0.9222715	0.0025172	-70.4
	9-10 cm	0.9349679	0.0025023	-57.7		
			9-10 cm	0.8917762	0.0024429	-101.2
Fatouville	September 2015	POM		1.3397563	0.0030273	350.3
			0-1 cm	0.9441372	0.0026598	-48.4
		Sed OM	5-6 cm	0.9102391	0.0025598	-82.6
			9-10 cm	0.8831411	0.0027103	-109.9
Honfleur	September 2015	POM		1.1098321	0.0027219	118.6
Poses	April 2016	DOM		1.0415263	0.0027379	49.7
		POM		1.185013	0.0027676	194.4
Rouen	April 2016	POM		1.0956921	0.0027106	104.3
			0-1 cm	1.0300498	0.0024797	38.2
		Sed OM	5-6 cm	1.0279157	0.0029315	36.0
			9-10 cm	1.1142676	0.0025811	123.1
Caudebec	April 2016	DOM		1.1141252	0.0027223	122.9
		POM		1.0468609	0.0025284	55.1
Fatouville	April 2016	POM		1.0842281	0.00256	92.8
			0-1 cm	0.9271883	0.0023737	-65.5
		Sed OM	9-10 cm	0.9662659	0.0026008	-26.1
La Carosse	April 2016	POM		1.1950484	0.0026836	204.5
			0-1 cm	1.0288188	0.0025504	36.9
		Sed OM	5-6 cm	0.9054911	0.0026582	-87.4
			9-10 cm	0.9834994	0.0024823	-8.7

Tableau 29 : Chemical shifts and corresponding functional groups detected in the NMR spectra

Chemical Shift (ppm)	Functional Group	Group	Abbreviation
12-13 ppm	CH ₃		
18 ppm	CH ₃		
22-25 ppm	CH ₂ , CH ₃	Aliphatic C	Ali
30 ppm	CH ₂		
38-42 ppm	Aliphatic CH, NCH		
50 ppm	Aliphatic non-protonated C (Cq)		
54-55 ppm	OCH ₃ , NCH	Methoxy C	MeO
62 ppm	CH ₂ OR		
72-74 ppm	Carbohydrates, Ether, CHOR	O-Alkyl C	O-Alkyl C
82-84 ppm	CHOH, Cq-O		
102-104 ppm	Anomeric C	Anomeric C	Anom C
116-118 ppm	C α to phenolic C	Phenolic C	Pheno
128 ppm	Protonated Aromatic C	Aromatic C	Aro
133 ppm	Non-Protonated Aromatic C		
146-147 ppm	Phenolic C, Furan C	Phenolic C	Pheno
154-157 ppm	Phenolic C		
174-176 ppm	Carboxylic acid, Ester, Amide	Carboxylic C	Carbox C
202-210 ppm	Carbonyl C	Carbonyl C	Carbonyl C

Tableau 30 : Variation between the fluorescence spectra before and after the RO/ED step

Station	Date	%variation
Tancarville	January 2015	3.9
Caudebec	April 2015	16.7
Tancarville	April 2015	17
Fatouville	April 2015	17.9
Honfleur	April 2015	16.6
Fatouville	July 2015	11.6
La Carosse	July 2015	22.2
Poses	April 2016	6.7
Caudebec	April 2016	6.3

Tableau 31 : Results of the mixing molecular model based on ¹³C NMR data and P/L ratio values

Station	Campaign	Type	Depth	Carbohydrate (%)	Protein (%)	Lignin (%)	Lipid (%)	Carbonyl (%)	Char (%)	P/L
Tancarville	January 2015	DOM		22.9	21.2	12.5	31.4	9.6	7.1	1.70
		POM		23.1	18.3	13.6	24.9	9.9	10.4	1.35
Caudebec	April 2015	DOM		24.8	20.9	12.4	31.2	8.5	6.3	1.69
		POM		25.1	17.6	13.5	23.5	9.1	9.7	1.31
Tancarville	April 2015	DOM		24.8	21.0	12.4	31.6	8.7	6.4	1.69
		POM		22.2	18.5	13.6	25.0	10.2	10.3	1.36
		Sed OM	0-1 cm	23.0	18.0	13.7	24.0	10.1	10.7	1.31
			9-10 cm	22.4	18.6	13.6	25.5	9.3	10.3	1.36
Fatouville	April 2015	DOM		24.6	21.3	12.3	32.1	8.2	6.0	1.73
		POM		21.6	18.8	13.7	25.9	8.9	10.1	1.38
		Sed OM	0-1 cm	22.3	18.9	13.6	25.9	9.4	10.1	1.39
			9-10 cm	22.1	18.4	13.8	25.2	8.9	10.5	1.34
Honfleur	April 2015	DOM		24.4	19.7	12.6	27.7	11.7	8.1	1.56
	April 2015	POM		23.5	18.6	13.4	25.5	9.0	9.5	1.38
Fatouville	July 2015	DOM		26.2	20.8	11.7	29.4	13.6	5.7	1.78
	July 2015	POM		18.3	21.3	13.6	32.4	7.2	9.9	1.56
La Carosse	July 2015	DOM		25.5	21.5	12.2	33.2	7.4	5.4	1.77
	July 2015	POM		24.2	21.8	12.3	34.5	7.2	6.1	1.77
Caudebec	September 2015	POM		21.3	19.6	13.8	29.5	8.8	11.5	1.42
Tancarville	September 2015	POM		15.1	21.1	14.2	33.3	8.8	13.6	1.49
Fatouville	September 2015	POM		19.7	20.4	13.2	28.8	11.3	9.6	1.54
		Sed OM	0-1 cm	23.6	16.8	14.0	21.0	11.1	12.0	1.19
			9-10 cm	20.9	17.2	14.9	22.7	9.4	14.5	1.15
Honfleur	September 2015	POM		17.8	20.1	13.9	29.7	10.7	12.7	1.44
Poses	April 2016	DOM		23.3	20.5	12.3	28.9	13.4	7.7	1.66
		POM		21.5	17.8	14.2	24.5	9.8	12.7	1.25
Rouen	April 2016	POM		26.0	18.4	13.2	25.9	8.9	8.9	1.40
		Sed OM	0-1 cm	24.0	17.9	13.7	24.7	10.1	11.0	1.31
Caudebec	April 2016	DOM		24.9	22.0	11.7	32.6	10.9	4.9	1.88
		POM		23.9	18.5	13.8	26.3	7.7	10.6	1.34
Fatouville	April 2016	POM		20.4	19.8	13.4	28.1	10.4	10.1	1.48
		Sed OM	0-1 cm	22.1	15.0	14.9	17.5	13.1	15.8	1.01
La Carosse	April 2016	POM		18.2	21.9	13.1	32.5	9.2	8.6	1.67

ANNEXE 4 : SCRIPTS R POUR LES ANALYSES STATISTIQUES

```
## test de corrélation ##
```

```
cor.test(data$X, data$Y, method = "spearman")
```

```
## test de Kruskal et Wallis + Dunn ##
```

```
library(FSA)
```

```
library(rcompanion)
```

```
kruskal.test(A ~ B, data = data) ## Test de KW
```

```
DT = dunnTest(A ~ B, data=data, method="bh") ## Test de Dunn
```

```
PT = DT$res
```

```
cldList(P.adj ~ Comparison, data = PT, threshold = 0.05) ## Calcul des lettres auto
```

```
## Analyse en composantes principales ##
```

```
library(FactoMineR)
```

```
library(factoextra)
```

```
res.pca <- PCA(data, scale.unit = TRUE, ind.sup = , quali.sup = , quanti.sup = , graph = FALSE)
```

```
get_eig(res.pca) #renvois les valeurs propres des dimensions
```

```
fviz_contrib(res.pca, choice="var", axes = 1 ) + theme_classic() # contribution des variables
```

```
lapply(dimdesc(res.pca), lapply, round, 2) #description automatique des axes
```

```
fviz_pca_biplot(axes= c(1,2), res.pca, repel = T, label="var", fill.ind = data$Color, pointshape = 21, pointsize = 3, addEllipses = TRUE) + theme_classic()
```

```
## Classification ascendante hiérarchique ##
```

```
res.hcpc <- HCPC(res.pca, method = "ward") #réalisation du dendrogramme
```

```
res.hcpc$call$nb.clust #nb de cluster optimal
```

```
res.hcpc$call$inert.gain # gain d'inertie en passant de n à n+1 cluster
```

```
res.hcpc$desc.var # description des variables du dendrogramme
```

ANNEXE 5 : DESCRIPTEURS DE LA MO

Annexe 5 : Descripteurs de la MO

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	$\delta^{13}C$	$\delta^{13}C = \left(\frac{^{13}C/^{12}C \text{ échantillon}}{^{13}C/^{12}C \text{ standard}} - 1 \right) \times 1000$	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	Signature isotopique du ^{14}C	$\Delta^{14}C$	$\Delta^{14}C = \left(f_M \times e^{-\frac{1}{8267} \times (1950 - y)} - 1 \right) \times 1000$	y représente l'année de prélèvement. Abondance relative en ^{14}C dans les échantillons. Des fortes valeurs (>0) témoignent d'une MO plus récente, à l'inverse, des faibles valeurs (<1) témoignent d'une MO plus ancienne.	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

Annexe 5 : Descripteurs de la MO

GC-MS et pyrolyse GC-MS	Longueur de chaîne moyenne	ACL	$ACL = \sum_i \frac{A_i \times nbC_i}{A_T}$	Des valeurs de l'ACL fortes indiquent une MO produite par des végétaux supérieurs, alors que des valeurs faibles témoignent d'une MO plus microbienne ou aquatique.	
	Carbon Preference Index	CPI	$CPI = \frac{\sum \text{impairs}}{\sum \text{pairs}} \quad (n\text{-alcane})$ $CPI = \frac{\sum \text{pairs}}{\sum \text{impairs}} \quad (\text{alcools et acides gras})$	Des fortes valeurs de la CPI indiquent une MO majoritairement d'origine végétale supérieure, avec une bonne préservation. Des valeurs plus faibles peuvent indiquer une dégradation de la MO, ou bien une source plus microbienne ou algale, ou bien un apport d'hydrocarbures.	Bray et Evans 1961
	Rapport terrestre sur aquatique	TAR	$TAR = \frac{\sum \text{longs}}{\sum \text{courts}}$	Le TAR augmente lorsque la proportion de MO issue des végétaux supérieurs augmente.	Silliman et Schelske 2003
	Rapport de contamination fécale humaine		$\frac{\text{Coprostanol}}{\text{Coprostanol} + 5\alpha - \text{cholestanol}}$	Estimation de la contamination fécale humaine des échantillons. Des valeurs > 0,7 témoignent d'échantillon contaminés.	Grimalt et al. 1990
	BIT index	BIT	$BIT = \frac{IXa + VIIIa + VIIa}{IXa + VIIIa + VIIa + VI}$	Quantification de l'apport de la MO des sols dans les échantillons. Des valeurs > 0,9 témoignent d'une MO des sols alors que des valeurs de 0 témoignent d'un apport exclusif de MO marine.	Hopmans et al. 2004
	Rapport acide sur aldéhyde des unités G	(Ad/Al)₆	$\frac{\text{Acide vanillique}}{\text{Vanilline}}$	Ce rapport augmente avec l'état de dégradation de la lignine	Huang et al. 1998

ANNEXE 6 : LISTE DES CONFERENCES

Oraux :

- **3^{ème} réunion des géochimistes organiciens français (FROG)**, 2016, Poitiers (France) : *Caractérisation de la matière organique en milieu estuarien, cas de la Seine*. Thibault A., Huguet A., Micheau C., Anquetil C., Parlanti E., Derenne S.
- **Journée scientifique de l'UMR METIS**, 2017, Paris (France) : *Quels facteurs contrôlent la dynamique de la matière organique dans l'estuaire de Seine ?* Thibault A., Huguet A., Parlanti E., Derenne S.
- **European Geoscience Union (EGU) General assembly 2017**, Vienne (Autriche): *Spatio-temporal variations of organic matter along the Seine estuary (France)*. Thibault A., Huguet A., Parlanti E., Derenne S.
- **28th International Meeting on Organic Geochemistry (IMOG)**, 2017, Florence (Italie): *Origin and dynamics of organic matter in the Seine Estuary (France): Insights from bulk and molecular characterizations*. Thibault A., Huguet A., Anquetil C., Parot J., Micheau C., Parlanti E., Harir M., Schmitt-Kopplin P., Derenne S.
- **4^{ème} réunion des géochimistes organiciens français (FROG)**, 2018, Lyon (France) : *Couplage de la thermochemiolyse et des biomarqueurs lipidiques pour mieux comprendre la dynamique et la transformation de la matière organique dans l'estuaire de Seine*. Thibault A., Huguet A., Anquetil C., Sourzac M., Parlanti E., Derenne S.
- **Goldschmidt 2018**, Boston (Etats-Unis) : *Nature and Dynamics of Organic Matter in the Seine Estuary (France) at the Bulk and Molecular Level*. Thibault A., Huguet A., Parlanti E., Micheau C., Sourzac M., Lanos C., Derenne S.

Posters :

- **4^{eme} journée du Réseau francophone du radiocarbone : analyses et interprétations**, 2016, Gif sur Yvette (France). *Variation spatio-temporelle de l'âge de la matière organique dans l'estuaire de Seine*. Thibault A., Huguet A., Micheau C, Parlanti E., Derenne S.
- **RESMO 2018 : la matière organique dans tout ces états**, 2018 ; Trégastel (France). *Origine et dynamique de la matière organique dans l'estuaire de Seine : approche globale et moléculaire*. Thibault A, Huguet A., Parlanti E., Anquetil C., Parot J., Micheau C., Harir M., Schmitt-Kopplin P. Derenne S.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : classification des embouchures des rivières en fonction du débit, de l'énergie de la marée et de la force des vagues, d'après (Dalrymple et al., 1992).	15
Figure 2 : Variation schématique des phénomènes physiques qui ont lieu dans les estuaires. D'après (Dalrymple et al., 1992).	16
Figure 3 : Variation des processus physiques (énergie de la rivière, des vagues et de la marée) pour un estuaire dominé par les vagues (haut) et pour un estuaire dominé par la marée (bas). D'après (Dalrymple et al., 1992).	17
Figure 4 : Position de la Lune et du Soleil expliquant le phénomène de vives-eaux (A) et de mortes-eaux (B).	19
Figure 5 : Schéma de formation du bouchon vaseux, d'après (Avoine et al., 1985).	21
Figure 6 : Bilan de carbone dans les eaux continentales et flux vers l'atmosphère et les sédiments, d'après (Cole et al., 2007).	23
Figure 7 : Diagramme des constituants de la MO aquatique en fonction de leur taille, d'après (Hansell and Carlson, 2002).	24
Figure 8 : Interactions et processus entre les différents compartiment de la MO dans les milieux aquatiques, d'après (He et al., 2016).	26
Figure 9 : Schéma du principe des extractions sur phase solide.	29
Figure 10 : Schéma du principe d'ultrafiltration tangentielle.	32
Figure 11 : Spectre UV-visible de l'extrait à l'eau du sédiment 0-1 cm prélevé à Tancarville en avril 2015 et mesure des différents indices.	36
Figure 12 : Exemple d'un spectre de fluorescence 3D et sa projection dans le plan.	36
Figure 13 : Exemple d'une combinaison du $\delta^{13}\text{C}$ et du $\delta^{15}\text{N}$ pour tracer les sources de la MO dans les environnement, d'après (Lorente et al., 2014)	44
Figure 14 : Variation du $\Delta^{14}\text{C}$ entre 1950 et 2010 dans l'hémisphère Nord. D'après (Hua et al., 2013).	45
Figure 15 : Comparaison du $\Delta^{14}\text{C}$ de la MOD et de la MOP dans différents estuaires, d'après Raymond et Bauer (2001a).	46
Figure 16 : Les différentes sources de C et leur évolution au cours du temps. D'après (Marwick et al., 2015).	47
Figure 17 : Déplacements chimiques de différents groupements fonctionnels de la MO par RMN du ^{13}C . D'après (Mao et al., 2017).	49
Figure 18 : Exemple de structures de monosaccharide (glucose et xylose) sous forme cyclique (pyrane pour le glucose et furane pour le xylose). Les cercles représentent la position du carbone anomérique, ici en isomérisation β	50
Figure 19 : Réaction chimique de la méthode Dubois.	51
Figure 20 : Transformation des sucres en acides aldoniques lors de la thermochimiolyse. En haut, réaction pour les hexoses, au milieu pour les déoxyhexoses et en bas pour les pentoses.	53
Figure 21 : Fragmentation des acides aldoniques et formation de l'ion en 129 (pic de base), d'après (Fabbri and Helleur, 1999).	53
Figure 22 : Transformation des différents acides aminés par thermochimiolyse. D'après (Gallois et al., 2007).	55

Figure 23 :Structure et numérotation des stérols et stanols	59
Figure 24 : Structure et masse des tétraéthers d'origine archéenne (chaînes isopréniques) et bactérienne (chaînes ramifiées).....	62
Figure 25 : Structure chimique de la lignine, d'après Adler (1977).....	64
Figure 26 : De gauche à droite, structure des unités P (alcool p-courmaryl), G (alcool coniferyl) et S (alcool synapyl).....	64
Figure 27 : Structures possibles de la cutine, d'après (Fich et al., 2016).	66
Figure 28 : Structure chimique de la subérine, d'après (Bernards, 2002). Les liaisons S montrent des liaisons avec d'autres unités de la lignine.....	67
Figure 29 : Cycle simplifié du carbone, du milieu continental vers le milieu océanique et sources possibles de la MO en milieu estuarien. D'après (Bauer and Bianchi, 2011).....	69
Figure 30 : Schéma des différents processus de dégradation de la MOD et de la MOP dans l'estuaire.	74
Figure 31 : Carte du bassin versant de la Seine, ses affluents et villes principales.....	75
Figure 32 : Carte géologique simplifiée du bassin versant de la Seine-Normandie, source BRGM.	76
Figure 33 : Carte de l'estuaire de Seine, et localisation des différentes sous-parties. Les zones grises représentent les aires urbaines.....	78
Figure 34 : Localisation des prélèvements dans le bassin de l'Orge.	84
Figure 35 : Localisation des prélèvements d'eau le long de l'axe Seine.	85
Figure 36 : Localisation de prélèvement des laisses de crue déposées en mai/juin 2016 (points noirs) et en janvier/février 2018 (points vert).....	86
Figure 37 : Carte de l'estuaire de Seine et localisation des prélèvements. Les zones grises représentent les aires urbaines.....	87
Figure 38 : Variations des débits mesurés à Poses et des coefficients de marée entre janvier 2015 et avril 2016. Données du GIP Seine-Aval et de marée.info pour la période Janvier 2015-Avril 2016. Syn = Synapses, Dyn = Dynamoseine.	87
Figure 39 : Principe de l'osmose, de l'équilibre osmotique et de l'osmose inverse.	90
Figure 40 : Photo et schéma du pilote d'osmose inverse (EPOC-LPTC, Université de Bordeaux).	91
Figure 41 : Photo et schéma du pilote d'électrodialyse utilisé au sein de l'UMR EPOC-LPTC.	93
Figure 42 : Spectre de fluorescence 3D de l'échantillon d'Herblay (Novembre 2014) et sa projection dans le plan.	95
Figure 43 : Spectre RMN de l'échantillon de MOD prélevée à Tancarville en avril 2015 (en noir), le résultat de la déconvolution (en rouge) et les différentes composantes (en vert). Anom = anomériques, carboxy = carboxyliques.....	100
Figure 44 : Structure chimique du standard interne pour la quantification des tétraéthers.	105
Figure 45 : Courbe d'étalonnage obtenue pour les différentes molécules : les alcools à gauche et les stérols et stanols à droite.....	106
Figure 46 : Formation des ions caractéristiques des stérols et des stanols lors de leur fragmentation par spectrométrie de masse.....	107
Figure 47 : 3D fluorescence spectra of DOM samples from Tancarville (January 2015) before (left panel) and after (right panel) RO/ED process. Spectra are presented in the same scale with a normalized fluorescence unit (between 0 = minimal measured fluorescence, and 1 = maximal measured fluorescence).....	116

Figure 48 : Distribution of total organic carbon (TOC) and total nitrogen (TN) in the different compartments (DOM, POM and sediment OM). Letters correspond to groups calculated with Dunn's Test (threshold of 0.1).	117
Figure 49 : $\delta^{13}\text{C}$ vs. C/N diagram for all samples (DOM, POM and SED OM). Circles, squares and diamonds represent DOM, POM and sediment OM, respectively. The color corresponds to the location of the sampling site.	118
Figure 50 : $\Delta^{14}\text{C}$ of DOM, POM and sediment OM along the Seine Estuary. The dashed line represents the 0 value, data above this point are post 1950 (post bomb) and those below are ante 1950.....	119
Figure 51 : ^{13}C NMR spectra of samples collected in April 2016: (a) DOM from Poses, (b) POM from Rouen and (c) surficial sediment (0-1 cm depth) from Rouen. Raw spectra are presented in black, deconvolution peaks in grey and the result of the deconvolution modeling is shown in red.....	120
Figure 52 : Average distribution of the carbon functional groups based on integration of ^{13}C NMR spectra for DOM, POM and sedimentary OM. Letters correspond to groups calculated with Dunn's Test (threshold of 0.1).	121
Figure 53 : Relative abundance of the molecular components of DOM, POM and sediment OM derived from the molecular mixing model proposed by Baldock et al. (2014). For each compartment, results correspond to the mean value \pm standard deviation. Letters are attributed based on the results of Dunn's test (threshold of 0.1)	125
Figure 54 : Protein/Lignin ratio inferred from the ^{13}C NMR molecular mixing model developed by Baldock et al. (2014) for DOM, POM and sediment OM. Letters are attributed based on the results of Dunn's test (threshold of 0.1)	126
Figure 55 : Correlation between (a) the $\Delta^{14}\text{C}$ of sediment OM (0-1 cm, 5-6 cm and 9-10 cm) in the MTZ and (b) the Protein/Lignin ratio with the tide coefficient for 0-1 and 9-10 cm sediment OM. ...	128
Figure 56 : Correlation between the Protein/Lignin ratio of POM samples and surface water temperature measured during sampling in the MTZ.	129
Figure 57 : (a) Evolution of the $\delta^{13}\text{C}$ of POM with salinity and of (b) the $\Delta^{14}\text{C}$ of DOM with salinity.	130
Figure 58 : Fraction of riverine OM (Fr) in the 3 zones of the Seine estuary (upstream, MTZ and downstream) for the 3 OM compartments (DOM, POM and sediment OM).....	131
Figure 59 : Relationship between $\delta^{13}\text{C}$ of DOM, POM and sediment OM and the Protein/Lignin ratio.	133
Figure 60 : Dimension 1 (43.9% of the variance) and 2 (23.3% of the variance) of the PCA based on C/N, $\delta^{13}\text{C}$, $\Delta^{14}\text{C}$, and NMR-derived molecular mixing model data for DOM, POM and sediment OM (0-1 and 9-10 cm) collected along the Seine Estuary. Diamond symbols correspond to samples collected upstream, squares to those collected in the MTZ and circles to those collected downstream. The digits represent the different sampling campaigns.	134
Figure 61 : Exemple de deux cas extrêmes de mesure granulométrique de sédiments de l'estuaire de Seine.	140
Figure 62 : Evolution de la granulométrie médiane des sédiments en fonction de la profondeur dans l'ensemble des carottes de sédiment prélevées dans l'estuaire de Seine.....	140
Figure 63 : Lien entre le Corg et la granulométrie médiane dans l'ensemble des sédiments de l'estuaire de Seine à toutes les profondeurs.....	141
Figure 64 : Evolution de la concentration en lipides exprimée en mg par g de carbone organique dans les sédiments de l'estuaire de Seine.	142

Figure 65 : Chromatogramme de la fraction apolaire de l'échantillon prélevé à Rouen (0-1cm) en avril 2016. Les nombres représentent la longueur de chaîne des <i>n</i> -alcanes, Std représente le standard (tétracosane deutéré) et P un polluant (Erucylamide).	143
Figure 66 : Evolution de la quantité de <i>n</i> -alcanes dans les sédiments dans les différentes carottes, en fonction de la profondeur. A15 = Avril 2015, S15 = Septembre 2015 et A16 = Avril 2016.	144
Figure 67 : Evolution de la concentration en <i>n</i> -alcanes (exprimée en µg/gCorg) le long de l'estuaire de Seine pour les différentes carottes de sédiment.	145
Figure 68 : Proportions moyennes et écarts types des 5 distributions de <i>n</i> -alcanes observées dans les sédiments de l'estuaire de Seine.	147
Figure 69 : Chromatogramme de la fraction polaire du sédiment de surface (0-1 cm) prélevé à Rouen en avril 2016. Les nombres en bleu représentent la longueur de chaîne des acides gras, ceux en vert celle des alcools et ceux en orange les stérols et stanols. Cop = Coprostanol, Chol = Cholestérol, EtCop = éthylCoprostanol, Sito = Sitostérol et P = polluant (Erucylamide).	148
Figure 70 : Proportions moyennes et écarts types des 3 distributions d'alcools observées dans les sédiments de l'estuaire de Seine.	149
Figure 71 : Proportions moyennes et écarts types des 3 distributions d'alcools observées dans les sédiments de l'estuaire de Seine.	150
Figure 72 : Variation de l'ACL, du TAR, de la CPI du Paq des <i>n</i> -alcanes en fonction de la profondeur et de la position dans l'estuaire de Seine.	151
Figure 73 : Variation de l'ACL, du TAR, de la CPI des alcools et de la proportion en alcools C ₂₂ en fonction de la profondeur et de la position dans l'estuaire de Seine.	152
Figure 74 : Variation de l'ACL, du TAR, de la CPI des acides gras et de la proportion en acides gras insaturés en fonction de la profondeur et de la position dans l'estuaire de Seine.	153
Figure 75 : Distribution moyenne et écart type des stérols (haut) et des stanols (bas) dans l'ensemble des carottes pour chaque site de prélèvement. Les données présentées sont la moyenne des différentes carottes et profondeurs.	155
Figure 76 : Evolution des proportions en stérols C ₂₇ , C ₂₈ et C ₂₉ exprimé en % du total des stérols le long de l'estuaire pour les différentes carottes de sédiment.	157
Figure 77 : Evolution des proportions en 5α-stanols et 5β-stanols exprimées en % du total des stanols dans l'ensemble des carottes de l'estuaire de Seine.	158
Figure 78 : Evolution le long de l'estuaire de Seine des rapports de dégradation microbienne des stérols et de la contamination fécale.	159
Figure 79 : Chromatogrammes des échantillons de MOP de Rouen (avril 2016) et de La Carosse (juillet 2015) et des sédiments de Rouen (0-1 cm ; avril 2016) et de La Carosse (0-1 cm ; avril 2016) après extraction des ions 129 et 215. Les stérols sont en bleu et les stanols en orange. Cop = coprostanol, eCop = epi-coprostanol, Cho = cholestérol, Cha = cholestanol, Brass = brassicastérol, EtCop = éthyl-coprostanol, Camp = campestérol, Stig = stigmastérol, Sito = sitostérol, Sita = sitostanol, Dino = dinostérol.	161
Figure 80 : Variation de la quantité en tétraéthers isopréniques et de tétraéthers ramifiés dans l'ensembles des carottes de sédiment de l'estuaire de Seine.	162
Figure 81 : Evolution du rapport des tétraéthers ramifiés produits par les bactéries sur les tétraéthers isoprénique, produits par les archées le long de l'estuaire de Seine pour différentes profondeurs.	163

Figure 82 : Exemple des deux types de distribution des tétraéthers isopréniques observés dans les sédiments de l'estuaire de Seine (haut) et exemple de la distribution des tétraéthers ramifiés (bas).	164
Figure 83 : Evolution de l'indice BIT pour toutes les profondeurs dans l'ensemble des carottes de sédiment de l'estuaire de Seine.	165
Figure 84 : Schéma de la dynamique de la MO dans les sédiments de l'estuaire de Seine.....	166
Figure 85 : Pyrochromatogrammes de la MOD de Poses (avril 2016), de la MOP de Rouen (avril 2016) et du sédiment 0-1 cm de Rouen (avril 2016). Les codes des différents composés sont présentés dans le Tableau 12. Les molécules azotées sont présentées en violet, les méthoxybenzènes en vert, les composés aliphatiques en orange, les dérivés de sucres en bleu et les autres molécules en noir.	173
Figure 86 : Distribution des différentes familles de produits de pyrolyses des échantillons de l'estuaire de Seine.	174
Figure 87 : Distribution des méthoxybenzènes dans l'ensemble des échantillons en fonction du compartiment. Les noms des molécules sont donnés dans le Tableau 12.	176
Figure 88 : Distribution des acides gras dans l'ensemble des échantillons en fonction du compartiment. L'échelle des proportions est logarithmique pour permettre l'observation des acides gras autre que le C ₁₆ et le C ₁₈ qui sont bien moins abondants. Les noms des molécules sont donnés dans le Tableau 12, FA = acide gras.....	177
Figure 89 : Distribution des molécules aliphatiques autres que les acides gras dans l'ensemble des échantillons en fonction du compartiment. Les noms des molécules sont donnés dans le Tableau 12. O = alcools, D = diacides, H = hydroxyacides.....	179
Figure 90 : Distribution des composé azotés dans l'ensemble des échantillons en fonction du compartiment. L'échelle des proportions est logarithmique pour permettre une meilleure comparaison de l'ensemble des données.	181
Figure 91 : Distribution des produits de pyrolyse des carbohydrates dans l'ensemble des échantillons en fonction du compartiment. L'échelle des proportions est logarithmique pour permettre une meilleure comparaison de l'ensemble des données.....	182
Figure 92 : Distribution des produits de pyrolyse autres dans l'ensemble des échantillons en fonction du compartiment. L'échelle des proportions est logarithmique pour permettre une meilleure comparaison de l'ensemble des données. TP = triterpène pentacycliques.....	183
Figure 93 : Comparaison de la proportion de lignine dans la MOD, la MOP et le sédiment (gauche) et variation de la teneur en lignine le long de l'estuaire de Seine (droite). La MOD est en bleu, la MOP en vert et le sédiment en rouge. P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.....	185
Figure 94 : Comparaison du rapport S/G de la lignine dans les trois compartiments de la MO de l'estuaire de Seine (gauche) et variation de ce dernier le long de l'estuaire de Seine (droite). P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.....	186
Figure 95 : Comparaison du rapport acide/aldéhyde des unités G de la lignine dans les trois compartiments de la MO de l'estuaire de Seine (gauche) et variation de ce dernier le long de l'estuaire de Seine (droite). P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.....	188
Figure 96 : Comparaison de la proportion de cutine entre la MOD, la MOP et le sédiment (gauche) et variation de la teneur en cutine le long de l'estuaire de Seine (droite). La MOD est en bleu, la MOP en	

vert et le sédiment en rouge. P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.....	189
Figure 97 : Comparaison du rapport cutine/lignine dans les trois compartiments de la MO de l'estuaire de Seine (gauche) et variation de ce dernier le long de l'estuaire de Seine (droite). P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.....	190
Figure 98 : Comparaison de la proportion de subérine entre la MOD, la MOP et le sédiment (gauche) et variation de la teneur en subérine le long de l'estuaire de Seine (droite). La MOD est en bleu, la MOP en vert et le sédiment en rouge. P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.....	191
Figure 99 : Comparaison du rapport subérine/lignine dans les trois compartiments de la MO de l'estuaire de Seine (gauche) et variation de ce dernier le long de l'estuaire de Seine (droite). P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.....	192
Figure 100 : Comparaison de la proportion d'acide déhydroabiétique dans les trois compartiments de la MO de l'estuaire de Seine (gauche) et variation de ce dernier le long de l'estuaire de Seine (droite). P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.	193
Figure 101 : Comparaison de la proportion de MO bactérienne basée sur l'abondance des AG iso et anteiso C ₁₄ , C ₁₅ , C ₁₆ et C ₁₇ entre la MOD, la MOP et le sédiment (gauche) et variation le long de l'estuaire de Seine (droite). La MOD est en bleu, la MOP en vert et le sédiment en rouge. P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.	194
Figure 102 : Comparaison de la proportion de sucres bactériens entre la MOD, la MOP et le sédiment (gauche) et variation de la teneur en sucres bactériens le long de l'estuaire de Seine (droite). La MOD est en bleu, la MOP en vert et le sédiment en rouge. P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.....	195
Figure 103 : Comparaison de la proportion de l'acide gras en C ₁₄ dans la MOD, la MOP et le sédiment (gauche) et variation de la teneur en acides gras C ₁₄ le long de l'estuaire de Seine (droite). La MOD est en bleu, la MOP en vert et le sédiment en rouge. P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.....	196
Figure 104 : Comparaison du rapport coprostanol/cholestanol mesuré après extraction des lipides et après pyrolyse.	197
Figure 105 : Comparaison du rapport coprostanol/cholestanol entre la MOP et le sédiment (gauche) et variation du rapport coprostanol/cholestanol le long de l'estuaire de Seine (droite). La MOD est en bleu, la MOP en vert et le sédiment en rouge. P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.....	198
Figure 106 : Comparaison du rapport galactose/arabinose+xylose entre la MOP et le sédiment (gauche) et variation du rapport galactose/arabinose+xylose le long de l'estuaire de Seine (droite). La MOD est en bleu, la MOP en vert et le sédiment en rouge. P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.....	200
Figure 107 : Comparaison du rapport furanes/furanes + acides aldoniques entre la MOP et le sédiment (gauche) et variation du rapport furanes/furanes + acides aldoniques le long de l'estuaire de Seine (droite). La MOD est en bleu, la MOP en vert et le sédiment en rouge. P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse	201
Figure 108 : Comparaison de la proportion en composés azotés entre la MOD, la MOP et le sédiment (gauche) et variation de la teneur en composés azotés le long de l'estuaire de Seine (droite). La MOD	

est en bleu, la MOP en vert et le sédiment en rouge. P = Poses, R = Rouen, C = Caudebec, T = Tancarville, F = Fatouville, H = Honfleur et LC = La Carosse.....	202
Figure 109 : Relation entre le rapport acides aminés/lignine calculés sur les pyrolyses et le rapport protéines/lignine calculés à partir des spectres RMN.....	205
Figure 110 : Valeur du Δ MOP pour chaque site et pour chaque composant de la MO dans l'estuaire de Seine.....	207
Figure 111 : Variations des teneurs en lignine, cutine et subérine entre les sédiments de surface et profonds estimées à partir de la pyrolyse. Les valeurs sont exprimées en pourcentage de l'ensemble des composés quantifiés.....	209
Figure 112 : Variations des teneurs en produits de pyrolyse des acides aminés entre les sédiments de surface et les plus profonds estimées à partir de la pyrolyse. Les valeurs sont exprimées en % du total quantifié.....	210
Figure 113 : Schéma de la dynamique de la MOP et de la MO sédimentaire dans l'estuaire de Seine obtenu à partir des analyses moléculaires. Les points dont l'opacité est plus faible et le contour est en pointillés représentent une MO plus dégradée.....	212
Figure 114 : Distribution spatiale des échantillons de laisse de crue de juin 2016 (points noirs) et de janvier 2018 (points vert) et groupes des échantillons (A à E) en fonction de leur distance à Paris..	222
Figure 115 : Diagramme de Meyers ($\delta^{13}\text{C}$ de la MO en fonction du C/N) des laisses de crues de janvier 2018. Les rectangles représentent les gammes de valeurs des différentes sources de la MO. D'après Meyers (2003).	223
Figure 116 : Distribution des n-alcanes d'un échantillon prélevé à côté du barrage de Poses en juin 2016 (CS16 Bouafles), chromatogramme après extraction de l'ion $m/z = 57$	224
Figure 117 : Proportions moyennes des n-alcanes (en %) et écarts types des 4 types de distributions obtenues par analyse statistique. Les distributions C et D ne concernent qu'un seul échantillon, la distribution B correspond à 15 échantillons et la distribution A à 27 échantillons.	225
Figure 118 : Proportions moyennes des alcools (en %) et écarts types des 3 types de distributions obtenues par analyse statistique. La distribution A est composée de 25 échantillons, la distribution B est composée de 10 échantillons et la distribution C de 9 échantillons. i = iso, a = anteiso.	227
Figure 119 : Proportion moyenne des acides gras (en %) et écart types des 3 grandes distributions obtenues par analyse statistique. La distribution A est composée de 19 échantillons, la distribution B est composée de 15 échantillons et la distribution C de 10 échantillons. i = iso, a = anteiso.	228
Figure 120 : Distribution des stérols et stanols dans les laisses de crues de janvier 2018 et de juin 2016.....	230
Figure 121 : Variation des paramètres globaux de la MO le long du bassin de la Seine pour la crue de janvier 2018. Aucune donnée n'est actuellement disponible pour la crue de juin 2016. Il y a moins de valeur pour le $\delta^{13}\text{C}$ à cause d'une saturation en carbone lors de l'analyse.	232
Figure 122 : Variation des proportions des échantillons appartenant à chaque groupe de distance pour chaque distribution identifiée.	234
Figure 123 : Variation du TAR des stérols le long du bassin de la Seine pour les crues de juin 2016 et de janvier 2018. De fortes valeurs du TAR indiquent une source plus terrigène et des valeurs plus faibles, une source plus aquatique.....	235
Figure 124 : Variations de la contamination fécale le long du bassin de la Seine pour les laisses de crues de juin 2016 et janvier 2018.....	236

Figure 125 : Concentrations en <i>n</i> -alcane, alcools et acides gras exprimées en $\mu\text{g/gCorg}$ dans les laisses de crue de juin 2016 (n= 27) et de janvier 2018 (n=17). Les concentrations des acides gras sont hors gamme d'étalonnage et sont donc semi-quantitatives.	238
Figure 126 : Concentration des 5 α -stanols, 5 β -stanols et stérols exprimés en $\mu\text{g/gCorg}$ dans les laisses de crue de juin 2016 et de janvier 2018.....	239
Figure 127 : Rapport stérols/5 α -stanols pour les composés en C ₂₇ et les C ₂₉ lors des deux crues de la Seine.	240
Figure 128 : Comparaison des résultats de l'analyse globale de la MO entre la crue de janvier 2018 et les sédiments de l'estuaire de Seine.	241
Figure 129 : Projection dans le plan des trois premières dimensions d'ACP réalisée à partir des biomarqueurs lipidiques des laisses de crues et des sédiments estuariens.	244
Figure 130 : Schéma de synthèse sur la dynamique de la MO et la composition des différents groupes de MO dans l'estuaire de Seine. Les molécules constitutives des différents groupes correspondent uniquement à celles analysées.....	251
Figure 131 : Schéma expérimental proposé pour la caractérisation de l'isotopie du carbone dans les différentes fractions de la MO.	255
Figure 132 : Schéma simplifié d'un réseau de neurones artificiels.....	257
Figure 133 : Structure simplifiée de la base de données MOSAIC.	287
Figure 134 : Relation entre la concentration en contaminants organiques et en carbone organique lors des campagnes Dynamoseine Leg 2 (septembre 2015) et Dynamoseine 2 (avril 2016).....	288
Figure 135 : 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.....	289
Figure 136 : 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).	290
Figure 137 : 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).....	292
Figure 138 : (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 $\delta^{13}\text{C}$ de la MOP pour les échantillons de la campagne Dynamoseine 2 (avril 2016).....	294
Figure 139 : (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).....	295
Figure 140 : Schéma expérimental proposé pour l'étude des interactions entre la MOD et les contaminants.....	296

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Récapitulatif des propriétés hydrologiques des différents types d'estuaires. 1 = (Dalrymple et al., 1992), 2 = (Hansen and Rattray, 1966).....	18
Tableau 2 : Liste des bandes de fluorescence et leurs sources possibles définies par (Parlanti et al., 2000) et les lettres issues de la nomenclature de (Coble, 1996) correspondante. 1 = seulement la tyrosine, la phénylalanine et le tryptophane.	37
Tableau 3 : Gamme des valeurs du HIX, BIX et f450/f500 et propriétés possibles de la MOD associée, d'après (Vacher, 2004; Huguet et al., 2009b) et (McKnight et al., 2001).	38
Tableau 4 : Structure, nom d'usage, nom complet et source des différents stérols en milieu estuarien. 1 : (Volkman, 1986) ,2 : (Volkman et al., 1998), 3 : (Jaffé et al., 2001), 4 : (Phlips and Badylak, 1996), 5 : (Volkman et al., 1993), 6 : (Leeming et al., 1994),7 : (Bull et al., 2002), 8 : (Murtaugh and Bunch, 1967).....	60
Tableau 5 : Liste d'échantillons collectés le long de l'estuaire de Seine : date, localisation, zone d'échantillonnage (BV = bouchon vaseux), coordonnées GPS (en WGS84), et propriétés de surface de la colonne d'eau. * = l'échantillonnage n'a pas été effectué à bord du navire, + = échantillon de MOD prélevé mais dont l'isolement n'a pas été fini à ce jour.	89
Tableau 6 : Pente et ordonnées à l'origine (b) pour calculer la concentration de la molécule cible en µg/mL à partir du ratio de cette dernière sur le 5α-cholestane.	106
Tableau 7 : Liste, objectifs et compartiments étudiés des différentes techniques d'analyse utilisées dans ce manuscrit.....	110
Tableau 8 : Nombre d'échantillons analyses par carotte de sédiment dans l'estuaire de Seine.	139
Tableau 9 : Age de la MO exprimé en AD obtenus par datation au ¹⁴ C pour les sédiments 0-1 cm, 5-6 cm et 9-10 cm dans l'estuaire de Seine. R = Rouen, T = Tancarville, F = Fatouville, LC = La Carosse. A15 = Avril 2015, S15 = Septembre 2015 et A16 = Avril 2016.....	142
Tableau 10 : Tableau des coefficient de corrélation (ρ) entre les familles de composés azotés et les groupes de MO observés dans l'estuaire de Seine. Les cases noires montrent des corrélations non significative (p > 0,05).	203
Tableau 11 : Tableau des coefficients de corrélation (ρ) entre les familles de molécules calculées à partir des spectres RMN (colonnes) et les familles de molécules observés en thermochemiolyse (lignes) dans l'estuaire de Seine. Les cases noires montrent des corrélations non significative (p > 0,05).....	204
Tableau 12 : Liste des molécules quantifiées en thermochimiolyse. Les m/z en gras sont les ions utilisés pour l'intégration des pics.....	214
Tableau 13 : Résumé des caractéristiques des 4 distributions des n-alcanes.....	225
Tableau 14 : Résumé des caractéristiques des 3 distributions des alcools.....	227
Tableau 15 : Résumé des caractéristiques des 3 distributions des acides gras.	229
Tableau 16 : Classement des laisses de crue en fonction de leur distance par rapport à Paris et nombre d'échantillons dans ces différents groupes pour les deux crues. Les groupes A, B, C et D sont en amont de Paris, le groupe E correspond à une zone circulaire de 30 km autour de Paris, et les groupes F et G sont en aval de Paris.	231
Tableau 17 : Synthèse des différences sources pour chacune des distributions des molécules aliphatiques.	233

Tableau 18 : Pourcentages des distributions des molécules aliphatiques pour les deux crues	237
Tableau 19 : Comparaison des deux distributions majoritaires des <i>n</i> -alcanes dans les laisses de crues (A et B) et dans l'ensemble des échantillons de l'estuaire de Seine.....	242
Tableau 20 : Comparaison des trois distributions majoritaires des alcools dans les laisses de crues (A et B) et dans l'ensemble des échantillons de l'estuaire de Seine.	242
Tableau 21 : Comparaison des trois distributions majoritaires des acides gras dans les laisses de crues (A et B) et dans l'ensemble des échantillons de l'estuaire de Seine.....	242
Tableau 22 : Comparaison du rapport brassicastérol/sitostérol (Brassica/Sito), des rapports de dégradation microbienne des stérols (RC27 et RC29) et du rapport de contamination fécale (R). ...	243
Tableau 23 : 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.	291
Tableau 24 : 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.....	293
Tableau 25 : 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.	299
Tableau 26 : 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.	300
Tableau 27 : Elemental and isotopic composition of DOM, POM and sediment OM samples.....	303
Tableau 28 : Radiocarbon data derived from DOM, POM and sediment OM. SD: standard deviation.	306
Tableau 29 : Chemical shifts and corresponding functional groups detected in the NMR spectra....	307
Tableau 30 : Variation between the fluorescence spectra before and after the RO/ED step	307
Tableau 31 : Results of the mixing molecular model based on ¹³ C NMR data and P/L ratio values .	308

Dynamique de la matière organique dans la Seine : approche globale et moléculaire

Résumé :

Les estuaires sont des écosystèmes importants pour l'environnement et l'économie et sont le lieu de nombreuse transformation de la matière organique (MO). La dynamique de la MO dans les estuaires est complexe, et est rarement étudiée à l'échelle moléculaire. L'objectif principal de cette étude est de contraindre la dynamique de la MO dans l'estuaire de Seine. Pour cela, cinq campagnes ont été réalisées dans l'ensemble de l'estuaire et ont permis l'analyse de la MO dans l'ensemble de ses compartiments (dissous – MOD, particulaire – MOP et sédimentaire). La MO a été caractérisée au niveau global (composition élémentaire et isotopique), au niveau structural (résonance magnétique nucléaire du carbone) et au niveau moléculaire (lipides et thermochimolyse). L'ensemble des techniques ont pu montrer que chaque compartiment avait des propriétés chimiques très différentes : la MOD est enrichie en MO aquatique dégradée, alors que la MOP et la MO sédimentaire sont plus terrigènes. Le bouchon vaseux semble avoir un impact majeur sur la qualité de la MO, notamment grâce à des bactéries dégradant fortement la MO terrigène dans la MOP et augmentant la proportion de MO aquatique. De plus, les sédiments de l'estuaire de Seine n'enregistrent pas la composition totale de la MOP, mais sont enrichis en MO terrigène, moins labile. Enfin, lors de l'enfouissement de la MO sédimentaire, cette dernière s'enrichit en MO terrigène.

Mots clés : Matière organique, Seine, Estuaire, Géochimie organique

Organic matter dynamics in the Seine River: global and molecular approaches

Abstract:

Estuaries are important ecosystems from environmental and economical point of views and are the place of numerous transformations of organic matter (OM). The dynamics of OM in estuarine systems is complex and was only rarely investigated at the structural or molecular level. The aim of this study was to constrain the sources and fate of the OM in the Seine Estuary. The spatiotemporal dynamics of the OM along the estuary was investigated by comparing the bulk (elemental and isotopic composition), structural (solid state ¹³C nuclear magnetic resonance) and molecular (lipids and thermochemolysis) features of the different pools of OM – dissolved OM (DOM), particulate OM (POM) and sediment OM collected during five sampling campaigns. All analyses show that each compartment has different chemical properties: DOM is enriched in degraded aquatic OM, while POM and sediment OM are enriched in terrigenous OM. The maximum turbidity zone has an impact on OM quality with a high bacterial activity leading to the degradation of terrigenous OM and a higher proportion of aquatic OM. This study shows that sediment OM does not reflect the composition of the POM in the water column and is enriched in terrigenous OM. Moreover, when the sediment is aging, the proportion of terrigenous OM is increasing.

Keywords: Organic matter, Seine, Estuary, Organic geochemistry