



HAL
open science

Composition, transfert et dynamique de la matière organique dissoute (MOD) dans les eaux fluviales et estuariennes : impact des activités agricoles

Lauriane Marie

► To cite this version:

Lauriane Marie. Composition, transfert et dynamique de la matière organique dissoute (MOD) dans les eaux fluviales et estuariennes : impact des activités agricoles. Chimie analytique. Université de Bretagne occidentale - Brest, 2016. Français. NNT : 2016BRES0101 . tel-01543508

HAL Id: tel-01543508

<https://theses.hal.science/tel-01543508v1>

Submitted on 20 Jun 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



université de bretagne
occidentale

UNIVERSITE
BRETAGNE
LOIRE

THÈSE / UNIVERSITÉ DE BRETAGNE
OCCIDENTALE

sous le sceau de l'Université Bretagne Loire

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BRETAGNE OCCIDENTALE

Mention : Chimie Marine

École Doctorale des Sciences de la Mer

présentée par

Lauriane Marie

Préparée à l'Institut Universitaire
Européen de la Mer, Laboratoire des
Sciences de l'Environnement Marin (UMR
6539)

Composition, transfert et
dynamique de la matière
organique dissoute (MOD)
dans les eaux fluviales et
estuariennes : impact des
activités agricoles

Thèse soutenue le 08 Décembre 2016

devant le jury composé de :

Gaëtane LESPES

Professeur, Université de Pau et des Pays de l'Adour / *Rapporteur*

Gabriel BILLON

Professeur, Université de Lille 1 / *Rapporteur*

Philippe GIAMARCHI

Professeur, Université de Bretagne Occidentale / *Examineur*

Ricardo RISO

Professeur, Université de Bretagne Occidentale / *Directeur de thèse*

Matthieu WAELES

Maître de Conférences, Université de Bretagne Occidentale / *Invité*

RESUME

Dans les systèmes fluviaux-estuariens soumis à de fortes pressions agricoles, la matière organique dissoute (MOD) présente une origine liée essentiellement à l'amendement des sols. Cependant, il existe un manque d'information concernant la composition, le rôle et le devenir de cette MOD. L'objectif de cette thèse est d'apporter des éléments nouveaux sur l'identification des sources et du comportement de la MOD de façon globale et sélective dans des systèmes fluviaux-estuariens soumis à des impacts agricoles. L'analyse de la MOD a été réalisée à l'aide de 2 techniques analytiques récentes et originales: (i) une méthode électrochimique (DP-CSV), pour caractériser simultanément la glutathione (GSH-like), le thioacétamide (TA-like), et les acides fulviques (FA-like), (ii) une chromatographie liquide d'exclusion stérique couplée aux détecteurs de carbone, azote et UV (LC-OCD-OND-UVD), séparant la MOD en 6 fractions de taille et de nature différentes. Par rapport au système de référence, nos résultats ont montré des teneurs en composés organiques 1,5 à 4 fois plus fortes dans les systèmes agricoles. Ces anomalies sont liées à la pression agricole et au type d'élevage. Ces travaux ont aussi montré des variations saisonnières contrôlées par différents processus: un lessivage des sols en période de fortes précipitations pour les FA-like représentant la fraction majoritaire de la MOD, une purge des horizons profonds par la remontée des nappes phréatiques pour les TA-like et un apport à la fois terrestre et aquatique pour les GSH-like. Le long du gradient salé, les GSH-like et FA-like ont un comportement conservatif alors que d'importantes pertes ont été observées pour les TA-like.

Mots clés : matière organique dissoute, rivières, estuaires, systèmes agricoles, caractérisation, électrochimie, chromatographie, origine et dynamique, variations spatiales et saisonnières.

ABSTRACT

In watersheds under strong agricultural pressure, manuring activities, particularly animal farming, are the main source of dissolved organic matter (DOM). However, the composition, the role and the fate of this DOM have been poorly studied. This study focuses on the sources, dynamics and transformation of the DOM and its constituents in riverine and estuarine systems affected by different agricultural practices. The analysis of DOM was performed using two recent and innovative analytical techniques: (i) an electrochemical method (DP-CSV), allowed us to characterize simultaneously three dissolved organic compounds: glutathione (GSH-like), thioacetamide (TA-like), and fulvic acids (FA-like), (ii) a size exclusion liquid chromatography coupled to a carbon, nitrogen and UV detector (LC-OCD-OND-UVD) allowed the DOM pool to be subdivided into 6 major sub-fractions. Relative to the pristine river, concentrations of organic compounds were found to be 1.5 to 4 times higher in impacted systems. These anomalies are related to the agricultural pressure and also to the type of livestock. Our results also showed that the seasonal variations were controlled by different processes: soil washing-out during high precipitation events for FA-like compounds which represent the major part of DOM, formation in deep horizons then rising of groundwater for TA-like compounds and a pedogenic and aquatic origin for GSH-like compounds. Along the salinity gradient, GSH-like and FA-like displayed a conservative behaviour whereas TA-like do not behave conservatively with important removals.

Keywords: dissolved organic matter, rivers, estuaries, agricultural impacts, characterization, electrochemistry, chromatography, spatial and seasonal variations, source and behaviour.

Remerciements

Ce travail de thèse a été réalisé au sein de l'équipe chimie marine, rattachée au Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin (LEMAR, UMR 6539) à l'Institut Universitaire Européen de la Mer. Cette thèse a été financée par la région Bretagne et l'Université de Bretagne Occidentale.

J'adresse tout d'abord mes remerciements à l'ensemble des membres de mon jury de thèse : Gaëtane Lespes et Gabriel Billon d'avoir accepté sans hésitation d'être rapporteurs de ce travail, ainsi que Philippe Giamarchi qui a bien voulu être examinateur.

Ce travail a été effectué sous la direction de Ricardo Riso. Je le remercie de m'avoir permis de réaliser cette thèse. Je souhaite ici lui exprimer ma plus profonde reconnaissance, pour le soutien, et l'entière confiance qu'il m'a accordés durant ces années passées.

Mes plus vifs remerciements vont également à Benoît Pernet-Coudrier et Matthieu Waeles, co-encadrants de ce travail. Je tiens à leur exprimer ma plus sincère reconnaissance pour leurs nombreux conseils toujours pertinents, pour l'aide à la rédaction des articles scientifiques et de ce manuscrit. De plus, leur patience et leur disponibilité ont été pour moi des éléments indispensables pour l'aboutissement de ce travail.

Mes remerciements vont également aux enseignants de l'IUT de Brest, Gaëtan Le Floch, Claude Le Menn, Claude Conque, Sylvie Breton et Julie Lebruchec, qui m'ont toujours aidé et manifesté beaucoup de considération.

Au cours de ces 3 années, je n'oublierai jamais Laura, ma voisine de bureau, avec laquelle j'ai partagé les bons comme les mauvais moments. Grâce à toi je garderai des souvenirs inoubliables de cette époque : aussi bien des éclats de rires, des confidences que des discussions enflammées, des doutes et surtout des incessants commérages! Merci pour ta présence, ton aide, ta sincérité et ton soutien. Merci également de m'avoir permis de développer certaines qualités (ou pas) dans l'élevage d'animaux et dans le jardinage !!

Mes remerciements s'adressent également à de nombreuses personnes qui ont contribué de manière directe ou indirecte à la réalisation de cette thèse. Je pense tout particulièrement à Peggy pour sa joie de vivre journalière, Jean-François et Stéphane pour leurs précieux conseils et leur sens de l'humour qui a toujours su me faire rire. Un grand merci à Jérémy pour sa rassurante présence et sa gracieuse aide en laboratoire.

Merci aux plongeurs de l'IUEM, Thierry, Isabelle et Erwan pour leurs aides lors des campagnes de prélèvement. Merci à Gene et Anne-Sophie pour leur gentillesse, leur joie de vivre et leur incomparable savoir-faire.

Je souhaite également remercier mes compagnons de route de ces trois dernières années, ceux qui rendent ce parcours (parfois rempli d'embûches) inoubliables. Je pense en particulier à : Marie, plus grande amie depuis mes 8 ans, merci pour ton soutien et pour ces innombrables tablettes de chocolat ! Merci à Julie mon petit poisson, Sonia et Margaux, Réjanne, Nolwenn, Nina et Laura mes deux plus fidèles amies et bien d'autres. Merci à Leslie pour les nombreux footings du midi qui m'ont permis de m'évader et de me maintenir en forme. Bon courage à toi pour la thèse qui arrive. Merci à Yohann pour sa bonne humeur et surtout pour ces talents de pâtissier ! Je tiens également à remercier chaleureusement Anne et Cédric pour leur soutien et leur encouragement.

Mille mercis bien évidemment à mes sœurs de cœur : Elise, Léopoldine et Mathilde, qui me connaissent depuis toujours, qui m'ont aidées et qui ont toujours su me donner le sourire !

Merci aussi à tous les étudiants que j'ai eu l'occasion de côtoyer et je leur souhaite bonne chance pour la suite : Jean-Philippe, Morgan, Pauline, Camille, Chloé, ...

Merci à tous les pompiers de Saint-Renan et à Seb pour toutes ces belles sorties en mer.

Un énorme merci à ma famille, la famille Vic, et mes amis qui m'ont toujours soutenu. Je tiens à remercier tout particulièrement Clément pour son aide, sa disponibilité et ses encouragements à la fin de cette thèse.

Un dernier merci, immense et affectueux, à Léo. Merci pour tout...

Enfin je voudrais dédicacer cette thèse à Benoît, disparu beaucoup trop tôt. J'ai toujours été très impressionnée par son dynamisme, son optimisme, sa connaissance et sa reconnaissance. Il était proche de tous et une part de son enthousiasme et de son humanité resteront en moi.

Cette thèse m'aura apporté beaucoup plus que de la connaissance scientifique, elle m'aura appris que la vie est fragile et que le temps est précieux.

*"Vis comme si tu devais mourir demain,
Apprends comme si tu devais vivre toujours "*

Mahatma Gandhi

Benôit,

J'aurais voulu que tu sois là, que tu partages avec moi ces derniers mois,

Mais tu es parti, tu t'es envolé, au début de cette année

J'ai écrit ces quelques lignes, un peu pour m'exprimer,

Et pour que personne n'oublie que tu as été là pour moi !

*Benoît le chimiste, Benoît le cycliste,
Benoît le chercheur, Benoît le blagueur,*

*Benoît le scientifique, Benoît le supersonique,
Benoît l'optimiste, Benoît le saxophoniste,*

*Benoît le combatif, Benoît l'hyperactif,
Benoît le fêtard, Benoît le bavard,*

*Benoît le gourmand, Benoît le bienveillant.
Parfois lunatique, parfois humoristique,*

*Tu étais un personnage unique,
A fond sur la matière organique,*

*Tes blagues du vendredi aprèm,
Tes bières fabriquées toi-même,*

*Ton énergie débordante,
Parfois même un peu fatigante,*

*Nous manque un peu plus chaque jour,
Depuis que tu nous a quitté à la fin du mois de Janvier.*

*Au labo, tu ne marchais pas, tu courais,
Trop curieux de savoir ce que la recherche allait nous dévoiler,*

*Tu arrivais tout le temps en claquant des doigts,
Comme ça on était sûr que c'était soit toi !*

*Tu avais réponse à tout,
Mais tu étais toujours derrière nous,*

*Tu savais nous guider, nous faire avancer,
Pour nous motiver, pour nous encourager,*

*Tu nous disais tout le temps de croire en soi,
De toujours persévérer et de ne jamais baisser les bras,*

*Tu savais nous épauler,
C'est pour tout cela qu'on aimait tant te taquiner !*

*Tu étais un excellent encadrant de thèse,
Un référent, un confident,*

*Tu étais mon pilier,
Quelqu'un sur qui je pouvais m'appuyer,*

*Tu as mis beaucoup d'énergie,
Pour que ce manuscrit soit écrit,*

*Tu es parti en laissant derrière toi un millier d'étincelles
Qui resteront dans chacun de nous de façon éternelles,*

*Tu serais fière de Laura et moi,
De voir ce qu'on a réussi à accomplir grâce à toi.*

*Tu m'as beaucoup appris,
Et c'est pour cela qu'aujourd'hui, je dois te dire merci.*

*Tu vas beaucoup nous manquer,
Tu vas beaucoup me manquer.*

Lauriane

SOMMAIRE

| | |
|---|-----------|
| INTRODUCTION GENERALE | 27 |
| CHAPITRE I: LA MATIERE ORGANIQUE DANS LES SYSTEMES FLUVIAUX-ESTUARIENS | 33 |
| I.1. Introduction..... | 35 |
| I.2. Les sources de la matière organique dissoute dans les systèmes fluviaux-estuariens | 36 |
| I.3. La composition de la matière organique dissoute | 37 |
| I.3.1. Composition élémentaire | 37 |
| I.3.2. Composition moléculaire | 37 |
| I.4. Niveaux de concentration de la matière organique dissoute dans les systèmes fluviaux-estuariens | 39 |
| I.5. Les implications de la MOD dans les cycles biogéochimiques | 40 |
| I.6. Les techniques de caractérisation et d'analyse de la MOD..... | 41 |
| I.7. Les systèmes estuariens | 46 |
| I.7.1. Définition d'un estuaire | 46 |
| I.7.2. Caractéristiques d'un système estuarien..... | 47 |
| I.7.3. Devenir et comportement de la matière organique dissoute dans les estuaires..... | 48 |
| I.8. Les impacts anthropiques sur la MOD dans les systèmes fluviaux-estuariens | 50 |
| I.8.1. Impacts industriels et urbains | 50 |
| I.8.2. Impacts agricoles | 51 |
| I.9. Conclusion..... | 52 |

| | |
|---|-----------|
| CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES | 53 |
| II.1. Cadre des études..... | 55 |
| II.1.1. La Penzé, le Yar et l'Aulne | 55 |
| II.1.2. La rivière de Saint Rivoal | 57 |
| II.1.3. L'estuaire de l'Aulne..... | 58 |
| II.1.4. Gestion des pratiques agricoles | 58 |
| II.1.5. Caractéristiques hydrologiques des systèmes aquatiques..... | 59 |
| II.1.6. Caractéristiques du milieu souterrain | 60 |
| II.2. Prélèvements..... | 61 |
| II.2.1. Prélèvements et traitement des échantillons dans les rivières et dans le fleuve..... | 61 |
| II.2.2. Prélèvements et traitement des échantillons dans l'estuaire de l'Aulne..... | 65 |
| II.3. Analyses des paramètres hydrologiques et biologiques..... | 67 |
| II.3.1. Paramètres hydrologiques | 67 |
| a. Température, salinité, conductivité, pH et potentiel redox..... | 67 |
| b. Matière en suspension | 67 |
| c. Eléments nutritifs | 67 |
| II.3.2. Paramètres biologiques | 68 |
| d. Chlorophylle a et phaeopigments | 68 |
| e. La matière organique particulaire (MOP) : azote et carbone (NOP, COP) | 68 |
| f. La matière organique dissoute (MOD)..... | 68 |
| II.3.3. Les métaux dissous | 69 |
| a. Nettoyage du matériel | 69 |
| b. Filtration « on-field » | 69 |
| c. Conditionnement des échantillons et mesure du volume filtré..... | 70 |
| d. Analyse des échantillons par ICP-MS..... | 70 |
| e. Analyse des échantillons par ICP-Optique..... | 71 |
| f. Préparation des gammes d'étalonnage et validation de la méthode | 71 |
| g. Analyse du rapport isotopique $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ | 72 |
| II.4. Analyse sélective de la MOD | 72 |
| II.4.1. Analyse simultanée des composés de type substances fulviques (FA-like), glutathione (GSH-like) et thioacétamide (TA-like) par électrochimie..... | 73 |
| II.4.2. Adaptation de la méthode pour l'analyse dans les eaux douces..... | 75 |
| II.4.3. Chromatographie liquide couplée aux détecteurs de carbone, azote et UV (LC-OCD-OND-UVD) | 79 |
| a. Principe de la LC-OCD-OND-UVD | 79 |
| b. Calibration de la méthode | 81 |
| II.5. Calculs de flux et analyses statistiques..... | 84 |
| a. Calculs de flux | 84 |
| b. Critères de décision pour l'attribution d'un comportement conservatif ou non conservatif dans la zone de mélange estuarienne | 85 |
| c. Analyses statistiques | 85 |

CHAPITRE III : SOURCES ET DYNAMIQUES DES COMPOSES SOUFRES REDUITS, DES SUBSTANCES HUMIQUES ET DU CARBONE ORGANIQUE DISSOUS DANS UNE RIVIERE TEMPEREE AFFECTEE PAR LES PRATIQUES AGRICOLES ...87

III.1. Contexte89

III.2. Article 189

III.1. Conclusion.....101

| | | |
|----------------------|---|------------|
| CHAPITRE IV : | ETUDE COMPAREE DES CONCENTRATIONS ET DE LA DYNAMIQUE DES COMPOSES SOUFRES REDUITS ET DES SUBSTANCES HUMIQUES DANS DES SYSTEMES FLUVIAUX IMPACTES PAR DIFFERENTES PRATIQUES AGRICOLES | 103 |
| IV.1. | Introduction..... | 105 |
| IV.2. | Occupations des sols..... | 108 |
| IV.3. | Résultats..... | 110 |
| IV.3.1. | Variations des paramètres hydrologiques, chimiques et biologiques | 110 |
| a. | Précipitation et débit fluvial | 110 |
| b. | Energie lumineuse reçue | 112 |
| c. | Teneurs en cations majeurs (Mg, K, Ca et Sr) | 113 |
| d. | Rapport isotopique $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ | 114 |
| e. | Conductivité, pH et potentiel redox | 115 |
| f. | Matière en suspension, Chlorophylle a, phaeopigments, azote et carbone organique particulaire..... | 117 |
| IV.3.2. | Niveaux de concentrations des trois familles des composés organiques étudiés (FA-like, TA-like et GSH-like) | 119 |
| IV.3.3. | Variations saisonnières des trois types de composés organiques | 122 |
| a. | Composés de type FA-like | 122 |
| b. | Composés de type TA-like..... | 124 |
| c. | Composés de type GSH-like | 126 |
| IV.4. | Discussion..... | 128 |
| IV.4.1. | Influence des activités agricoles sur la composition chimique des eaux fluviales..... | 128 |
| a. | Cations majeurs et isotopes du strontium..... | 128 |
| b. | Composés organiques dissous..... | 131 |
| IV.4.2. | Facteurs contrôlant la dynamique des composés organiques dissous..... | 133 |
| IV.5. | Conclusion..... | 137 |

CHAPITRE V : VARIATIONS SAISONNIERES ET COMPORTEMENT DES COMPOSES SOUFRES REDUITS ET DES SUBSTANCES HUMIQUES DANS UN ESTUAIRE TEMPERE MACROTIDAL (AULNE, FRANCE).....139

V.1. Contexte141

V.2. Article 2.....141

V.3. Conclusion.....157

CHAPITRE VI : SPECIATION DE LA MATIERE ORGANIQUE DISSOUTE PAR LC-OCD-OND-UV-DANS UNE RIVIERE IMPACTEE PAR LES ACTIVITES AGRICOLES...

| | |
|---|------------|
| | 159 |
| VI.1. Introduction..... | 161 |
| VI.2. Résultats et Discussions | 163 |
| VI.2.1. Paramètres hydrologiques | 163 |
| VI.2.2. Composition de la MOD et comparaison avec d'autres systèmes..... | 163 |
| VI.2.3. Variabilité saisonnières des différentes fractions de la MOD | 165 |
| a. Carbone organique dissous | 165 |
| b. Biopolymères (BP)..... | 165 |
| c. Substances Humiques (SH)..... | 168 |
| d. Building-Blocks (BB) | 171 |
| e. Molécules de bas poids moléculaire neutres (LMWN)..... | 172 |
| f. Molécules de bas poids moléculaire acides (LMWA)..... | 174 |
| VI.3. Conclusion..... | 175 |

| | |
|--|------------|
| CONCLUSION GENERALE | 177 |
| PERSPECTIVES | 183 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... | 187 |
| PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS..... | 205 |

LISTE DES FIGURES

| | |
|---|----|
| Figure I.1: Schéma d'une zone de maximum de turbidité dans un estuaire macrotidal. | 47 |
| Figure I.2: Diagramme de mélange en milieu estuarien. A) représente l'élément dont la concentration est plus importante dans les eaux fluviales et B) représente l'élément dont la concentration est plus importante dans les eaux marines. | 49 |
| Figure II.1: Carte de localisation des quatre rivières. | 55 |
| Figure II.2: Lieu de prélèvement dans la rivière de la Penzé..... | 56 |
| Figure II.3: Lieu de prélèvement dans la rivière du Yar..... | 56 |
| Figure II.4: Lieu de prélèvement dans la rivière de l'Aulne. | 57 |
| Figure II.5: Lieu de prélèvement dans la rivière de Saint Rivoal. | 57 |
| Figure II.6: Carte des 3 bassins versants sélectionnés. 1: Yar, 62 km ² ; volaille; 2: Penzé, 141 km ² ; porc et volaille; et 3: Aulne, 1 892 km ² ; porc, volaille et bovin. Banque de données de 2012: Ministère de l'agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt. | 59 |
| Figure II.7: Schéma conceptuel des aquifères de socle (d'après Wyns et al., 2004). | 60 |
| Figure II.8: Points de prélèvement dans 4 rivières de Bretagne et occupation des sols. La Penzé (48.550446°N, -3.939658°W), Saint-Rivoal (48.346281°N, -3.993609°W), le Yar (48.646902°N, -3.577563°W) et l'Aulne (48.192449°N, -3.983471°W). | 62 |
| Figure II.9: Caisse de prélèvement transportable..... | 63 |
| Figure II.10: Schéma récapitulatif de prélèvements, stockage et analyse des échantillons..... | 64 |
| Figure II.11: Points de prélèvements dans l'estuaire de l'Aulne (S=0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 28, 30, 34). | 66 |
| Figure II.12: A gauche le navire de station Hesione (INSU-CNRS-UBO). A droite, prélèvement d'un échantillon avec une bouteille Niskin. | 67 |
| Figure II.13: Comparaison des concentrations des éléments dissous selon le type de filtration effectuée : « on-field », après filtration au laboratoire (3h et 24h après prélèvement)(d'après Waeles et al., 2015). | 70 |
| Figure II.14: Niveaux de concentration attendus dans les eaux douces..... | 71 |
| Figure II.15: Voltampérogramme représentant les pics de GSH-like, de TA-like et de FA-like dans un échantillon d'eau de mer. | 74 |
| Figure II.16: Schéma du montage de la DP-CSV à goutte de mercure. | 75 |
| Figure II.17: Exemple d'une analyse dans un échantillon d'eau douce..... | 76 |
| Figure II.18: Voltampérogrammes représentant les pics de GSH-like et TA-like à différents temps de dépôt dans un échantillon d'eau douce filtrée et acidifiée (pH 2) en provenance de la rivière de la Penzé. | 77 |

| | |
|--|-----|
| Figure II.19: Analyse simultanée de GSH-like et TA-like dans un échantillon d'eau douce filtrée et acidifiée (pH 2) en provenance de la rivière de la Penzé ([GSH-like] = 23 nM ; [TA-like] 2500nM). | 78 |
| Figure II.20: Analyses successives de GSH-like et TA-like d'un échantillon d'eau douce filtrée et acidifiée (pH 2) en provenance de la rivière de l'Aulne ([GSH-like] = 35nM ; [TA-like] = 2800 nM). | 78 |
| Figure II.21: Analyse des FA-like dans un échantillon d'eau douce filtrée, acidifiée (pH 2) et diluée 100 fois en provenance de la rivière de l'Aulne ([FA-like] = 4.2 mgC.L ⁻¹). | 79 |
| Figure II.22: Schéma analytique de la LC-OCD-OND-UV (d'après Huber et al., 2011). | 80 |
| Figure II.23: Chromatogrammes obtenus après analyse d'un échantillon de la rivière de la Penzé en octobre 2014 (les trois signaux: C _{org} , N _{org} et UV ont été positionnés dans des échelles relatives différentes afin d'améliorer la lisibilité du graphe). | 82 |
| Figure II.24: Diagrammes des substances humiques: Aromaticité versus Poids moléculaire. | 84 |
| Figure IV.1: Variations des précipitations (mm) en 2014 dans les différents bassins versants étudiés (stations de Brasparts, Lannion, Pleyber-Christ et St-Ségal issues de Météo France). Les valeurs sont moyennées sur une période de 7 jours. Variations du débit (m ³ s ⁻¹) (Sations de Saint-Ségal, Tréduder, Taulé et Pont-Coblant issues de hydro-France). Chaque campagne de prélèvement est indiquée par un carré rouge. *Les débits à Saint-Rivoal et dans la Penzé ont été corrigés en tenant compte du point de prélèvement. | 111 |
| Figure IV.2 : Variations saisonnières de l'énergie lumineuse (rayonnement global quotidien en W.m ⁻²). Les valeurs sont moyennées sur une période de 7 jours à la station de Saint-Ségal (Météo France). | 112 |
| Figure IV.3: Diagrammes de distribution en quartile des teneurs en Mg, K, Ca et Sr dans la phase dissoute des rivières étudiées. | 113 |
| Figure IV.4: Diagrammes de distribution du pH (A), du potentiel redox (B, mV) et de la conductivité (C, μS.cm ⁻¹) dans les 4 rivières étudiées. | 118 |
| Figure IV.5 : Diagrammes de distribution des concentrations en (A) FA-like (mgC.L ⁻¹ , n=139), (B) TA-like (μmol.L ⁻¹ , n=128) et (C) GSH-like (nmol.L ⁻¹ , n=125) dans les 4 rivières étudiées. | 119 |
| Figure IV.6 : Variations saisonnières des concentrations des composés de type FA-like en mgC.L ⁻¹ dans les quatre systèmes étudiés en 2014. Les bandes en bleues représentent les deux périodes de l'année de plus fortes précipitations. | 123 |
| Figure IV.7 : Variations saisonnières des concentrations des composés de type TA-like en μmol.L ⁻¹ dans les quatre systèmes étudiés en 2014. Le niveau piézométrique des nappes phréatiques (m) est représenté en bleu. | 125 |
| Figure IV.8 : Variations saisonnières des concentrations des composés de type GSH-like en nmol.L ⁻¹ dans les quatre systèmes étudiés en 2014. Les bandes en vertes représentent les deux périodes de l'année ou les concentrations en Chla (μg.L ⁻¹) sont les plus élevées. | 127 |
| Figure IV.9: Concentrations en strontium dissous (μM) en fonction des concentrations en magnésium dissous (μM) dans les quatre rivières. | 129 |

| | |
|--|-----|
| Figure IV.10 : $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ en fonction du rapport Mg/Sr en phase dissoute pour les quatre rivières d'étude en 2014. Les « end-members » (Altérites, milieu fissuré, fertilisants et effluents de porcs, de volailles et de bovins) sont extraites de Négrel et Pauwels, 2004. | 130 |
| Figure IV.11: Matrice de corrélation de Pearson pour chaque rivière (A) Saint-Rivoal, (B) le Yar, (C) la Penzé et (D) l'Aulne. L'intensité de la couleur et la taille des cercles sont proportionnelles aux coefficients de corrélation. | 134 |
| Figure IV.12: Schéma synoptique de transfert des composés organiques (FA-like en noir, TA-like en gris et GSH-like en vert) vers les eaux fluviales. Les flèches pleines représentent les transferts principaux et en pointillées les secondaires. La taille des flèches est proportionnelle au flux exporté vers la rivière..... | 136 |
| Figure VI.1 : Variations des précipitations (mm) et de l'ensoleillement (W.m^{-2}) moyennées sur une période de 7 jours en 2014 dans la rivière de l'Aulne (issues de Météo France). Variations du débit ($\text{m}^3.\text{s}^{-1}$) (issues de hydro-France). Chaque campagne de prélèvement est indiquée par un carré rouge..... | 163 |
| Figure VI.2 : Variations des cinq fractions (% du COD) analysées par LC-OCD-OND-UVd dans la rivière de l'Aulne au cours de l'année 2014. Les données ont été moyennées par mois..... | 164 |
| Figure VI.3 : Evolution des concentrations en COD ($\mu\text{gC.L}^{-1}$) dans l'Aulne au cours de l'année 2014. Une courbe de lissage est représentée en rouge (régression non paramétrique de Loess) ainsi que l'intervalle de confiance représenté en gris..... | 165 |
| Figure VI.4 : Evolution des concentrations en BP (noir, $\mu\text{gC.L}^{-1}$) et en Chla (vert, $\mu\text{g.L}^{-1}$) dans l'Aulne au cours de l'année 2014. | 166 |
| Figure VI.5 : Evolution des concentrations en BP (noir, $\mu\text{gC.L}^{-1}$) et du pourcentage de polysaccharides (orange) dans la fraction des biopolymères..... | 167 |
| Figure VI.6 : Classement des substances humiques en fonction de leur molécularité et de leur aromaticité..... | 169 |
| Figure VI.7: Evolution des concentrations en SH ($\mu\text{gC.L}^{-1}$) dans l'Aulne au cours de l'année 2014. Une courbe de lissage est représentée en rouge (régression non paramétrique de Loess) ainsi que l'intervalle de confiance représenté en gris..... | 170 |
| Figure VI.8 : Evolution des concentrations en BB ($\mu\text{gC.L}^{-1}$) dans l'Aulne au cours de l'année 2014. Une courbe de lissage est représentée en rouge (régression non paramétrique de Loess) ainsi que l'intervalle de confiance représenté en gris..... | 172 |
| Figure VI.9: Evolution des concentrations en LMWN ($\mu\text{gC.L}^{-1}$) dans l'Aulne au cours de l'année 2014. Une courbe de lissage est représentée en rouge (régression non paramétrique de Loess) ainsi que l'intervalle de confiance représenté en gris..... | 173 |
| Figure VI.10: Evolution des concentrations en LMWA ($\mu\text{gC.L}^{-1}$) dans l'Aulne au cours de l'année 2014. La profondeur de la nappe phréatique (m) est représentée en bleue et la radiation solaire (W.m^{-2}) en orange. | 174 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|---|-----|
| Tableau I.1: Principales méthodes pour l'analyse directe de la MOD dans les systèmes aquatiques. | 43 |
| Tableau I.2 : Principales méthodes d'isolation, de fractionnement et de concentration de la MOD dans les systèmes aquatiques. | 44 |
| Tableau I.3 : Principales méthodes pour l'analyse indirecte de la MOD dans les systèmes aquatiques..... | 45 |
| Tableau II.1 : Caractéristiques des systèmes fluviaux étudiés. Les données sont issues de l'obervatoire de l'eau en Bretagne du réseau Ecoflux. | 59 |
| Tableau II.2: Caractéristiques des milieux souterrains sur les bassins versants étudiés..... | 61 |
| Tableau II.3 : Dates et conditions de marée lors des campagnes de prélèvement dans l'estuaire de l'Aulne. Les débits ont été pris à la station de Châteaulin. La vitesse d'écoulement et le temps de résidence de l'eau en amont de l'estuaire ont été calculés avec les hauteurs d'eau à la station de Pont-Coblant. | 66 |
| Tableau II.4: Caractéristiques de la méthode DP-CSV (d'après Pernet-Coudrier et al., 2013)..... | 75 |
| Tableau II.5: Caractéristiques des fractions quantifiées par la méthode LC-OCD-OND-UVD..... | 81 |
| Tableau IV.1: Quantification des flux potentiels de COD par les activités d'élevage sur les différents bassins versants en amont des points de prélèvement. | 109 |
| Tableau IV.2 : Débit journalier moyen (Q_j , $m^3.s^{-1}$) et pluviométrie moyenne (P_j , $mm.j^{-1}$)(Stations de Brasparts, Lannion, Pleyber-christ et Saint-Ségal) en 2014 dans les quatre rivières étudiées. Les minimums et maximums pour ces deux paramètres sont indiqués entre parenthèses. | 112 |
| Tableau IV.3: Caractéristiques statistiques et valeurs (médiane, minimum, maximum) du rapport Mg/Sr et $^{87}Sr/^{86}Sr$ | 114 |
| Tableau IV.4 : Valeurs (minimum, maximum) des différents paramètres généraux (conductivité, pH, potentiel redox, matière en suspension, chlorophylle a, ratio chlorophylla sur phaeopigments et ratio carbone organique sur azote organique particulaire) dans les quatre rivières. En rouge, les plus fortes valeurs obtenues..... | 115 |
| Tableau IV.5 : Caractéristiques statistiques et valeurs (médiane, minimum, maximum) de concentrations des composés de type FA-like ($mgC.L^{-1}$), TA-like ($\mu mol.L^{-1}$) et GSH-like ($nmol.L^{-1}$) dans les 4 systèmes fluviaux en 2014. Les plus fortes concentrations annuelles moyennes pondérées du débit (C_{dwm}) sont indiquées en rouge. Les écarts-types de chaque C_{dwm} sont également indiqués..... | 120 |
| Tableau VI.1 : Composition de la MOD (%) dans différentes études utilisant la LC-OCD. | 164 |
| Tableau VI.2 : Matrice de corrélation de Pearson sur les différents composés de la MOD ainsi que sur les paramètres hydrologiques et biologiques (q et pp = débit et précipitations moyennées sur 7 jours, t=température). Les étoiles représentent les valeurs significatives ($p<0,05$)..... | 168 |

LISTE DES ABREVIATIONS

ACP : Analyse en Composantes Principales

AF : Acides Fulviques

AH : Acides Humiques

BB : Building Blocks

BP : Biopolymères

CDOM : Colored Dissolved Organic Matter

Chla : Chlorophylle-a

COD : Carbone Organique Dissous

COP : Carbone Organique Particulaire

COT : Carbone Organique Total

DP-CSV : Differential Pulse Cathodic Stripping Voltametry

DWM : Discharge Weighted Mean concentration

FA-like : Composés de type Acide Fulvique

GSH : Glutathione

GSH-like : Composés de type Glutathione

HOC : Hydrophobic Organic Carbon

IHSS : International Substances Society

ICP-MS : Inductive Coupled Plasma-Atomic Spectrometry

LC-OCD-UVD-OND : Chromatographie Liquide d'exclusion stérique couplée aux détecteurs de Carbone, Ultra-Violet et Azote

LMWA : Low Molecular Weight organic Acids

LMWN : Low Molecular Weight organic Neutrals

MES : Matière En Suspension

MOD : Matière Organique Dissoute

MON : Matière Organique Naturelle

MOP : Matière Organique Particulaire

NOP : Azote organique Particulaire

Phaeo : Phaeopigments

RSS : Reduced Sulfur Substances

SDME : Static Mercury Drop Electrode

SH : Substances Humiques

SH-like : Composés de type Substances Humiques

SRFA : Suwannee River Fulvic Acid

SRHA : Suwannee River Humic Acid

SUVA : Specific Ultra-Violet Absorbance

TA : Thioacétamide

TA-like : Composés de type Thioacétamide

UV : Ultra-Violet

Introduction générale

Principaux vecteurs des apports de matière depuis les continents, les rivières et les fleuves constituent une source importante de matière organique dissoute (MOD) pour les océans (Raymond et Bauer, 2000 ; Seitzinger *et al.*, 2002). Les flux estimés varient entre 0,2 et 0,4 Gt C par an (Hedges *et al.*, 1997 ; Cai, 2011). Sur cette base, l'ensemble de la MOD océanique serait remplacé par de la MOD d'origine terrestre, en moins de 3000 ans (Köhler *et al.*, 2003). Cependant la MOD apportée par les rivières est susceptible d'être dégradée par des micro-organismes (Chin-Leo et Benner, 1992 ; Lorenz *et al.*, 2010) et/ou par des processus photochimiques (Kieber *et al.*, 1990 ; Miller et Moran, 1997 ; Spencer *et al.*, 2007) lors de son transit dans les zones de mélange estuariennes. L'ensemble des processus se produisant lors de ce parcours va conditionner la qualité et la quantité de MOD réellement exportée vers les océans.

Dans les eaux continentales, la MOD d'origine naturelle est constituée d'une grande variété de composés organiques de structures simples et complexes, de propriétés physico-chimiques variées, dont la concentration et l'origine restent propres à chaque environnement (Ogawa et Tanoue, 2003 ; Filella, 2009). Outre son importance dans le cycle du carbone, la MOD participe activement dans les processus biogéochimiques des eaux (Hansell et Carlson, 2002 ; Volkman, 2006). Elle représente une source de nutriments (carbone, azote, minéraux, etc.) pour les organismes (Wetzel *et al.*, 1995 ; Benner et Biddanda, 1998) mais elle est aussi connue pour ses propriétés de complexation qui en fait l'un des vecteurs principaux de nombreux métaux et polluants organiques dans l'environnement (Buffle, 1988 ; Hirose, 2007).

En plus de son origine naturelle, la MOD peut avoir une origine anthropique (Kalscheur *et al.*, 2012 ; Meng *et al.*, 2013). Elle provient alors principalement des rejets de station d'épuration (Pernet-Coudrier *et al.*, 2011b), des lixiviats de décharges (Abril *et al.*, 2002 ; Seo *et al.*, 2007) et des activités agricoles (Royer et David, 2005 ; Dalzell *et al.*, 2007 ; Graeber *et al.*, 2012 ; Waeles *et al.*, 2013). Les apports anthropiques sont susceptibles de modifier la quantité et la qualité de la matière organique (Kalscheur *et al.*, 2012) la rendant fortement réactive vis-à-vis de certains métaux, comme le mercure, le cadmium, le zinc et le cuivre (Louis *et al.*, 2009 ; Baken *et al.*, 2011 ; Muresan *et al.*, 2011 ; Waeles *et al.*, 2014) et aussi de certains polluants organiques (Kukkonen et Oikari, 1991). Du fait des origines variées et de la diversité des processus qui affectent la MOD, sa composition est donc a priori très hétérogène et extrêmement variable d'un environnement à l'autre.

De nombreuses études ont été menées sur la matière organique dans les systèmes fluviaux-estuariens caractérisés par des bassins versants de nature diverse. Certaines se sont focalisées sur la matière organique de façon globale (dissoute et particulaire), d'autres sur différents composés ou groupes de composés (spéciation). D'une manière générale, les objectifs de ces travaux visaient à

identifier la nature et les sources de la matière organique (Aminot *et al.*, 1990 ; Laureillard et Saliot, 1993 ; Harvey et Mannino, 2001 ; Mounier *et al.*, 2002 ; Garnier *et al.*, 2004 ; Mao *et al.*, 2007 ; Skoog *et al.*, 2011), à étudier le comportement de cette matière dans la zone de mélange que constituent les estuaires (Sholkovitz *et al.*, 1978 ; Mantoura et Woodward, 1983 ; Abril *et al.*, 2002 ; Markager *et al.*, 2011 ; Waeles *et al.*, 2013 ; Maie *et al.*, 2014) ainsi que son devenir dans la zone côtière (Köhler *et al.*, 2003 ; Stedmon *et al.*, 2006). Cependant la complexité et l'hétérogénéité de la matière organique d'une part, et le manque de méthodes analytiques capables de rendre compte d'une telle complexité d'autre part, rendent les études difficiles et souvent incomplètes. En effet, la recherche sur la MOD a été abordée le plus souvent avec des techniques analytiques à caractère plutôt global comme la mesure du COD. Les résultats apportés par ces techniques offrent certes l'avantage d'être représentatives de l'ensemble de la MOD dans l'échantillon mais ne donnent pas d'information sur sa composition. D'autres approches sont basées sur des techniques ciblant l'analyse de composés isolés et/ou de petites familles de composés comme la chromatographie liquide ou gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Si ces dernières offrent une caractérisation fine d'une partie de la MOD, elles ne sont pas représentatives de l'ensemble de la MOD.

Dans ce contexte, l'objectif global de cette thèse est d'apporter des éléments nouveaux sur l'identification des sources et du comportement de la MOD de façon globale et/ou sélective dans différents systèmes fluviaux soumis à des impacts agricoles différents en quantité et qualité. Il s'agit également d'étudier son devenir dans la zone du gradient salé estuarien.

Objectifs détaillés et approche scientifique

Les pratiques agricoles, en particulier celles liées aux modes de traitement du fumier et au choix des périodes d'amendement des sols, ont été proposées comme des facteurs dominants dans le contrôle des apports en MOD vers les systèmes aquatiques (Plaza *et al.*, 2004 ; Waeles *et al.*, 2013).

Lors de ce travail il s'agira plus particulièrement :

- d'examiner comment les pratiques agricoles peuvent conditionner les sources, les teneurs, le comportement et les flux de différentes familles des composés de la MOD. Pour ce faire quatre systèmes fluviaux (la Penzé, le Yar, le Saint Rivoal et l'Aulne) caractérisés par des pressions agricoles différentes en qualité et en quantité, seront étudiés sur une base annuelle. La rivière de Saint Rivoal, non soumise à des apports agricoles, sera prise comme système de référence.

- d'étudier le comportement et d'estimer les flux vers le milieu marin de certains de ces composés, dans la zone de mélange eau douce-eau salée, caractéristique des estuaires. Pour ce faire, l'estuaire de l'Aulne a été retenu comme système d'étude.

Cette étude sera soutenue par des approches analytiques originales et complémentaires. Il s'agira, d'une part, de caractériser de façon simultanée les composés de type glutathione (GSH-like), thioacétamide (TA-like) et acides fulviques (FA-like) représentatifs d'une grande partie de la MOD selon une méthode électrochimique développée récemment au laboratoire pour des eaux estuariennes et marines (Pernet-Coudrier *et al.*, 2013) et adaptée lors de ce travail à l'analyse de l'eau douce. D'autre part, la chromatographie liquide couplée aux détecteurs de carbone, azote et UV (LC-OCD-OND-UVD) sera mise en œuvre. Cette technique permet de caractériser la matière organique en la séparant en six fractions de classe de taille et de propriétés chimiques différentes (Huber et Frimmel, 1994 ; Huber *et al.*, 2011). Si cette technologie s'est avérée très performante dans le domaine du traitement de l'eau (Baghoth *et al.*, 2011), elle a été à ce jour très peu utilisée dans l'environnement naturel (Penru *et al.*, 2013 ; Chen *et al.*, 2015 ; He *et al.*, 2016). A notre connaissance, elle n'a pas non plus été mise en œuvre dans des systèmes fluviaux soumis à de forts impacts agricoles.

Ce travail est structuré en six chapitres qui sont organisés de la façon suivante :

Dans le premier chapitre, une synthèse bibliographique de l'état des connaissances sur la MOD dans les systèmes fluviaux-estuariens est réalisée.

Dans le second chapitre, le cadre et lieux d'études, la stratégie de prélèvements ainsi que les méthodes analytiques utilisées sont présentés. L'adaptation de la méthode pour l'analyse des composés de type GSH-like, TA-like et FA-like dans l'eau douce fait également l'objet de ce chapitre.

Le troisième chapitre se présente sous la forme d'une publication scientifique. Elle décrit les sources et les processus qui contrôlent le comportement de composés de type GSH-like, TA-like, des substances humiques, ainsi que du COD lors d'un cycle annuel dans la rivière de la Penzé. Nous y exposerons les variations saisonnières ainsi que les flux vers l'estuaire de la Penzé.

Le quatrième chapitre fera l'objet d'une étude comparée des concentrations et de la dynamique de composés de type GSH-like, TA-like et FA-like dans quatre systèmes fluviaux dont les bassins versants sont très proches en terme de composition lithogénique mais très contrastés en

terme d'activités agricoles. Cette étude nous permettra dans un premier temps de déterminer l'influence des différentes pratiques agricoles sur les concentrations de ces trois familles de composés organiques. Dans un second temps, notre travail tentera de mieux caractériser la dynamique et le transfert de ces trois familles de composés des bassins versants vers les eaux fluviales.

Le cinquième chapitre a pour objectif d'apporter des éléments nouveaux sur la compréhension du devenir de la MOD dans les systèmes estuariens. Pour ce faire, les variations spatiales et saisonnières des trois familles de composés précédemment citées seront examinées le long du gradient salé de l'Aulne. Les flux à l'entrée et à la sortie de l'estuaire ont été estimés et ont permis de réaliser, pour la première fois, un bilan annuel. Ces résultats seront présentés sous forme de publication scientifique.

Afin d'effectuer une étude plus fine sur la spéciation de la MOD dans les systèmes fluviaux, la chromatographie liquide (LC-OCD-OND-UVD) a été utilisée. En effet, les variations des concentrations des biopolymères (BP), des substances humiques (SH), des buildings blocks (BB), des composés de faible poids moléculaire acides (LMWA) et neutres (LMWN), sur la base d'un cycle annuel, ont été étudiés dans l'Aulne. Les résultats obtenus seront présentés dans le **sixième chapitre**.

Ce manuscrit se termine par une conclusion générale qui rappelle les principaux résultats de ce travail et les perspectives qu'ils permettent d'envisager.

Chapitre I : La matière organique dans les systèmes fluviaux-estuariens

I.1. Introduction

Le terme « matière organique naturelle » (MON) est couramment utilisé pour désigner l'ensemble de la matière organique dans un écosystème naturel, à l'exception des organismes vivants et des composés manufacturés (Filella, 2009). La MON est présente dans l'ensemble des eaux naturelles et particulièrement dans les eaux de surface. Elle possède une composition chimique très variée allant des chaînes aliphatiques aux composés aromatiques fortement colorés (Matilainen *et al.*, 2011). La présence de composés de carbone et d'azote aliphatiques, tels que les glucides, les protéines, les sucres et les acides aminés lui donnent un caractère hydrophile. En revanche, celle des structures phénoliques et de doubles liaisons conjuguées, vont accentuer le caractère hydrophobe de la matière organique. Les composés hydrophobes, décrits le plus souvent sous le nom de « substances humiques », constituent la majeure fraction de la MON ; ils représentent en moyenne plus de la moitié de cette matière organique (Świetlik *et al.*, 2004 ; Filella, 2009).

La mesure la plus globale utilisée pour quantifier la MON dans les systèmes aquatiques est celle du carbone organique total (COT). En effet, le COT est souvent synonyme de MON car les contaminants organiques anthropiques dans ces systèmes représentent généralement une fraction insignifiante du COT (Leenheer et Croue, 2003). Dans le COT, nous pouvons distinguer une phase solide appelée carbone organique particulaire (COP) et une phase liquide, le carbone organique dissous (COD). Au niveau des communautés océanographiques et limnologiques, les deux phases sont généralement différenciées par une filtration à 0,45 µm. Il est important de noter que dans la plupart des écosystèmes naturels, le COD est majoritaire par rapport au COP. En effet, il représente généralement plus de 60% du COT (Hedges *et al.*, 1997).

La présence dans le COD de composés de nature différente (i.e. hydrophiles et hydrophobes) rend cette matière très réactive. En effet, elle est impliquée dans différents processus biogéochimiques qui ont lieu dans les écosystèmes aquatiques. A titre d'exemple, si des composés hydrophiles comme les glucides et les acides aminés sont utilisés comme substrats de croissance par les communautés microbiennes, les substances humiques (hydrophobes) peuvent contrôler la disponibilité biologique des nutriments et de certains éléments métalliques par formation de complexes (McKnight, 1981 ; Anderson et Morel, 1982).

Dans la suite de ce chapitre, l'accent sera mis sur la matière organique dissoute dans les systèmes fluviaux-estuariens et ceci pour deux raisons essentielles. Elle représente tout d'abord, l'un des plus grands réservoirs de carbone sur Terre et va à ce titre jouer un rôle actif dans le cycle du carbone. Ensuite, les systèmes fluviaux-estuariens représentant l'interface entre le continent et

l'océan, la MOD va jouer un rôle majeur dans le transfert de polluants organiques et inorganiques associés aux activités anthropiques vers le milieu marin.

I.2. Les sources de la matière organique dissoute dans les systèmes fluviaux-estuariens

La MOD présente dans les systèmes fluviaux-estuariens possède des sources naturelles et des sources anthropiques.

Parmi les sources naturelles, on distingue la matière organique d'origine terrestre qui est apportée aux systèmes fluviaux-estuariens par les eaux de ruissellement. Cette matière organique a pour origine la dégradation des tissus constituant les plantes supérieures ainsi qu'une partie des microorganismes les dégradants. Il s'agit d'une matière organique caractérisée dans sa majeure partie par un matériel réfractaire de type hydrophobe. Elle est considérée comme très résistante à la dégradation microbienne, pouvant rester entre quelques mois et quelques années dans les rivières avant d'être minéralisée (Hedges *et al.*, 1997). On peut noter également la présence de matière organique d'origine souterraine qui est apportée par l'intermédiaire des nappes phréatiques (Molénat *et al.*, 2002 ; Gascuel-Oudoux *et al.*, 2010). On distingue également les sources naturelles propres à l'écosystème. Ces MOD résultent de l'activité biologique autochtone au travers des processus d'exsudation et de dégradation du phytoplancton, d'excrétion par le zooplancton et de dissolution des pelotes fécales. Ce type de matériel est généralement très labile, i.e. c'est la fraction organique biodisponible constituée de molécules simples, réactives et hydrophiles qui va être préférentiellement et rapidement utilisée, dégradée et minéralisée par l'activité hétérotrophe (Myklestad, 2000 ; Filella, 2009).

La MOD peut également avoir une origine anthropique. Elle peut provenir de différents forçages anthropiques tels que des rejets de station d'épuration (Pernet-Coudrier *et al.*, 2011b), des eaux usées (Abril *et al.*, 2002 ; Meng *et al.*, 2013) ou des lixiviats de décharges (Seo *et al.*, 2007). La MOD peut aussi avoir une origine agricole. En effet, certaines études menées dans des systèmes impactés par l'agriculture (Royer et David, 2005 ; Dalzell *et al.*, 2007 ; Kalscheur *et al.*, 2012) ont montré une nette augmentation (>50%) des apports de COD en 50 ans due à l'intensification des pratiques agricoles. Waeles *et al.*, (2013) ont également observé que les activités d'épandages étaient la principale source de COD dans le bassin versant de la Penzé (France, Bretagne) à travers l'utilisation d'engrais organiques (fumier, lisier, compost).

Au sein des systèmes estuariens, la MOD présente trois origines majeures : (i) la matière d'origine fluviale est particulièrement riche en composés réfractaires due à des apports terrigènes importants, et est également composée d'une faible fraction plus labile due aux apports algaux ; (ii) la matière d'origine marine est majoritairement composée de composés labiles provenant de l'activité photosynthétique du phytoplancton ; (iii) la matière d'origine anthropique est quant à elle liée aux activités humaines exercées sur le bassin versant.

I.3. La composition de la matière organique dissoute

Du fait des origines variées et de la diversité des processus auxquels elle participe, la MOD possède une composition propre à son environnement. Des identifications élémentaires et moléculaires sont alors nécessaires pour mieux la caractériser.

I.3.1. Composition élémentaire

La matière organique contient principalement des éléments chimiques tels que le carbone, l'oxygène, l'hydrogène, l'azote et le soufre. Le carbone forme l'ossature des molécules organiques, il est donc l'atome majoritaire de la MOD. Dans les différentes molécules, il sera principalement associé à l'oxygène et à l'hydrogène et dans une moindre mesure à l'azote et au soufre, ce qui donne de nombreuses combinaisons structurales possibles. L'analyse des rapports en éléments chimiques de la MOD permet de ressortir plusieurs caractéristiques. Par exemple, la saturation des chaînes de carbone (qui traduit un caractère aromatique) s'estime via les rapports O/C et H/C. La polarité des composés peut être évaluée par le rapport (N+O)/C ou encore H/O. Par ailleurs, dans la mesure où les fonctions chimiques sont plus réactives que le squelette de la molécule, et que la dégradation de l'azote est plus rapide que celle du carbone, les rapports C/H, C/O, C/N et C/S peuvent aider à la recherche des origines de la MOD. A titre d'exemple, le rapport C/N permet de discriminer le matériel terrigène ou détritique issu de la dégradation du matériel vivant, avec des valeurs élevées (> 12), du matériel aquatique avec des valeurs plus faibles (< 10), car les organismes marins sont enrichis en composés azotés (Thornton et McManus, 1994 ; Perdue et Koprivnjak, 2007).

I.3.2. Composition moléculaire

Au niveau de sa composition moléculaire, la MOD peut être séparée en deux familles principales ; l'une composée des molécules facilement caractérisables et l'autre, au contraire, où la caractérisation moléculaire est difficile, voire impossible (Ogawa et Tanoue, 2003).

Dans la première famille, on trouve en général des composés facilement dégradables ou assimilables appelés biopolymères, ou biomonomères, ou encore substances non-humifiées (Benner, 2002 ; Villacorte *et al.*, 2015). Ce sont des molécules de structures simples (lipides, sucres, acides aminés, protéines, polysaccharides, etc.) qui proviennent de la dégradation des organismes, des algues ou de la synthèse microbienne. Ces substances organiques sont généralement hydrophiles, labiles et relativement faciles à métaboliser et/ou dégrader par les enzymes hydrolytiques produites par les microorganismes. Ces composés « simples » sont souvent utilisés en tant que biomarqueurs (Volkman, 2006). A titre d'exemple, les biomarqueurs lipidiques tels que les acides gras, les alcools et les stérols sont de très bons indicateurs de la nature de la matière organique (Saliot *et al.*, 1988 ; Shi *et al.*, 2001). Une des principales limitations dans l'utilisation de biomarqueurs pour l'évaluation de la qualité des écosystèmes est la difficulté à distinguer une réponse adaptative naturelle d'une réponse liée au stress chimique (Forbes *et al.*, 2006).

La deuxième famille est constituée de composés difficilement identifiables caractérisés par des substances organiques hétérogènes, de structure complexe, de haut poids moléculaire et plus réfractaires à la dégradation biologique (Bianchi, 2011 ; Filella, 2014). Ces composés sont appelés substances humiques (SH) ou géopolymères. Ces molécules hydrophobes sont composées principalement de groupements phénoliques et carboxyliques (Stevenson, 1994 ; Rodríguez et Núñez, 2011). Leur origine et leur structure sont encore mal connues à ce jour. Dans les systèmes fluviaux-estuariens, les substances humiques représentent la majeure partie de la MOD ; elles représentent entre 50% et 75% du carbone organique dissous (Ertel *et al.*, 1986 ; Blasioli *et al.*, 2008 ; Tremblay et Gagné, 2009). Les SH sont opérationnellement divisées en trois groupes, selon leur solubilité en fonction du pH (Thurman et Malcolm, 1981) :

- **les humines**: insolubles quel que soit le pH
- **les acides humiques (AH)**: insolubles à pH < 2
- **les acides fulviques (AF)**: solubles quel que soit le pH

Les acides humiques et fulviques sont opérationnellement définis par extraction de l'eau naturelle sur une résine (XAD-8). Ces matières hydrophobes sont adsorbées par la résine, tandis que la fraction plus hydrophile n'est pas retenue. Ils sont ensuite élués avec une base forte (NaOH). Leur formation résulte principalement de la décomposition des plantes supérieures et des organismes morts par le processus d'humification de la MOD. Ce processus est très complexe et encore mal compris à ce jour. Selon l'hypothèse la plus couramment admise, la décomposition de ces plantes et organismes forme des biopolymères qui subissent une série de réactions et transformations physiques, chimiques, biochimiques et microbiologiques aboutissant à la formation des composés

aromatiques et aliphatiques que sont les substances humiques (Buffle, 1988 ; Stevenson, 1994). D'après les travaux de Malcom (1990), leur structure peut dépendre du type de milieu (terrestre ou aquatique) dans lequel elles ont été synthétisées. Un autre modèle présenté par Piccolo (2002), propose une structure différente des substances humiques. Ces substances humiques seraient plutôt produites par l'assemblage de petites molécules liées entre elles par des liaisons de type Van der Waals, Π - Π et CH- Π .

Si l'on sépare les constituants de la MOD selon leur hydrophobicité, la MOD présente dans les eaux douces est constituée en grande majorité ($\approx 80\%$) d'acides hydrophobes ou hydrophiles, le reste étant des molécules neutres ou basiques (Perdue et Ritchie, 2003).

I.4. Niveaux de concentration de la matière organique dissoute dans les systèmes fluviaux-estuariens

Comme expliquée précédemment, la mesure la plus globale utilisée pour quantifier la matière organique dissoute dans les systèmes aquatiques est celle du carbone organique dissous (COD). La concentration en COD dans les systèmes fluviaux-estuariens dépend à la fois de la région étudiée, de la nature du bassin versant, de la période de l'année, et des conditions hydrologiques et biologiques du milieu.

A titre d'exemple, le COD reste faible dans les rivières alpines, entre 0,2 et 1,8 mgC.L⁻¹ (Nagao *et al.*, 2003 ; Chanudet et Filella, 2007). En revanche, dans les rivières équatoriales, il fluctue entre 3 et 11 mgC.L⁻¹ (Ertel *et al.*, 1986) et peut atteindre 20 mgC.L⁻¹ dans les rivières boréales (Pettersson *et al.*, 1997). Le COD peut également varier selon le type de bassin versant en amont des systèmes fluviaux. Par exemple, dans les rivières soumises à des pressions agricoles, les concentrations en COD peuvent varier entre 1 et 15 mgC.L⁻¹ comme le montrent les études effectuées en France par Oeurng *et al.*, (2011) et aux Etats-Unis par Royer et David, (2005) et Dalzell *et al.*, (2007). De plus fortes valeurs peuvent être mesurées, jusqu'à 40 mgC.L⁻¹, dans certaines rivières urbanisées et dans les effluents de stations d'épuration (Pernet-Coudrier *et al.*, 2008 ; 2011b ; Louis *et al.*, 2014). Les zones humides (tourbières, marais, etc.) sont également des lieux où l'on trouve de très fortes concentrations en COD, pouvant atteindre 100 mgC.L⁻¹ (Hejzlar *et al.*, 1994).

De la même façon que dans les systèmes fluviaux, la concentration en COD dans les systèmes estuariens varie principalement selon la saison, le type et la taille du bassin versant. De manière générale, les concentrations en COD ne dépassent que rarement les 20 mgC.L⁻¹ comme il a été

observé dans de nombreuses études effectuées dans des estuaires d'Europe (Mantoura et Woodward, 1983 ; Aminot *et al.*, 1990 ; Álvarez-Salgado et Miller, 1999 ; Abril *et al.*, 2002; Asmala *et al.*, 2014), d'Amérique du Nord (Benner et Opsahl, 2001 ; Goni *et al.*, 2003 ; Hernes et Benner, 2003 ; McKenna, 2004 ; Tremblay et Gagné, 2009) et d'Amérique du Sud (Sholkovitz *et al.*, 1978). De plus fortes concentrations peuvent être observées dans des estuaires fortement impactés par l'agriculture (Alberts et Takács, 1999 ; Alberts *et al.*, 2004 ; Waeles *et al.*, 2013) ou dans des systèmes situés dans des zones humides comme les tourbières (Spencer *et al.*, 2007 ; Graeber *et al.*, 2012).

I.5. Les implications de la MOD dans les cycles biogéochimiques

La MOD joue un rôle essentiel dans les cycles biogéochimiques, et en particulier dans celui du carbone (Bauer *et al.*, 2013). Les systèmes fluviaux-estuariens constituent l'un des plus grands réservoirs de carbone réactif sur Terre sous forme de matière organique (Hedges *et al.*, 1997 ; Canuel *et al.*, 2012). La MOD transporte le carbone entre les différents réservoirs et intervient dans le processus de transfert entre le carbone organique et le carbone minéral, produit ultime de sa dégradation. Sa minéralisation en CO₂ par les organismes hétérotrophes constitue une source importante de matière première et d'énergie biodisponible (Sepers, 1977 ; Hansell et Carlson, 2002). Le potentiel et la vitesse de minéralisation de la MOD dépend de la disponibilité des accepteurs d'électrons présents dans l'environnement. En effet, tant qu'il y a de l'oxygène, la dégradation de la MOD est réalisée par des bactéries qui utilisent l'oxygène comme accepteur final d'électron. Une fois arrivée en milieu anoxique (dépourvu d'oxygène), l'oxydation de la matière organique fait intervenir des processus et des communautés différentes qui utilisent l'oxygène lié à d'autres éléments comme les sulfates, les nitrites ou les nitrates.

La MOD est également capable de se complexer avec de nombreux cations dont les métaux et donc d'influencer fortement et directement leur transport, leur solubilité, leur toxicité et leur biodisponibilité dans les systèmes aquatiques, par modification de leur forme chimique (Hirose, 2007). Les liaisons entre la MOD et les métaux peuvent se faire *via* différents sites de complexation. A titre d'exemple, dans la fraction hydrophobe, les SH peuvent former de fortes liaisons grâce à leurs nombreux sites phénoliques et carboxyliques (Baken *et al.*, 2011 ; Laglera *et al.*, 2011). Dans la fraction hydrophile, les groupements contenant de l'azote et du soufre sont également d'importants sites de complexation. En effet, Croué *et al.*, (2003) ont mis en évidence l'importance des structures protéiques dans la complexation de la MOD avec le cuivre. D'autres auteurs ont montré l'importance des composés soufrés, tels que les thiols, dans la complexation du

cuiivre (Leal et van den Berg, 1998 ; Laglera et van den Berg, 2003 ; Dryden *et al.*, 2007 ; Chapman *et al.*, 2009) ou du mercure (Benoit *et al.*, 2001 ; Ravichandran, 2004 ; Han *et al.*, 2006).

La MOD peut également interagir avec de nombreux contaminants organiques comme les pesticides ou les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) (Akkanen *et al.*, 2004) et ainsi jouer sur le comportement (transport, dégradation, toxicité) des contaminants dans l'environnement.

De plus, une partie de la MOD appelée matière organique dissoute colorée, ou chromophorique (CDOM), est capable d'absorber le rayonnement lumineux dans les domaines spectraux ultraviolet (UV : 200-400 nm) et visible (400-700 nm) (Bricaud *et al.*, 1981 ; Del Vecchio et Blough, 2002). La CDOM représente une fraction variable (20-80%) de la MOD, avec les contributions les plus élevées dans les zones fluviaux-estuariennes (Coble, 2007). Outre son rôle essentiel dans le cycle du carbone *via* sa transformation et sa minéralisation en CO₂ par les hétérotrophes, la CDOM influence fortement la biogéochimie, l'écologie et la physique du système aquatique par ses propriétés optiques et chimiques. Par exemple, la CDOM est le principal atténuateur du rayonnement UV solaire dont elle protège les organismes vivants des effets délétères (Ayoub *et al.*, 2008). De plus, elle contrôle en partie la disponibilité du rayonnement visible pour les espèces photosynthétiques (Siegel *et al.*, 2005).

I.6. Les techniques de caractérisation et d'analyse de la MOD

A cause de la diversité de molécules constituant la MOD, sa caractérisation chimique dans les milieux aquatiques peut être abordée selon deux approches différentes. D'une part, l'analyse directe de la MOD sans prétraitement et d'autre part l'analyse après isolement, concentration ou fractionnement.

La première approche est certainement la plus souhaitable, puisqu'elle évite toutes contaminations potentielles et artefacts liés aux différentes procédures d'extraction ou de fractionnement. Cependant, l'analyse directe des composés organiques avec de très faibles teneurs dans une matrice chimique complexe se révèle extrêmement délicate et difficile. En effet, malgré les avancées actuelles, la caractérisation directe de l'ensemble de la MOD reste difficile, de par sa complexité et son hétérogénéité. Ce premier type de méthode ne permet donc pas d'identifier de manière précise tous les constituants de la MOD. Une seconde approche consiste à l'analyse après isolement, concentration ou fractionnement préalables selon des critères physico-chimiques. Cependant, du fait de sa haute complexité, cette approche ne pourra fournir qu'une description approximative de l'intégralité de la MOD. Ces approches sont donc complémentaires et peuvent être combinées dans le but d'une meilleure caractérisation (McDonald *et al.*, 2004).

Les trois tableaux ci-dessous présentent les méthodes d'analyse directe (Tableau I.1), les méthodes de fractionnement, d'isolement et de concentration (Tableau I.2) et quelques méthodes d'analyse indirecte (Tableau I.3) de la MOD les plus répandues dans les milieux fluviaux-estuariens. Les avantages et les inconvénients de chaque méthode sont également brièvement décrits dans chaque tableau.

Tableau I.1: Principales méthodes pour l'analyse directe de la MOD dans les systèmes aquatiques.

| Analyses directes de la MOD | | | | |
|--|---|--|---|---|
| Méthodes | Informations | Avantages | Inconvénients | Références |
| Analyses élémentaires | | | | |
| Analyseur élémentaire | Composition relative en C, H, O, N, S | Information sur les ratios O/C, H/C, C/N | Ne fournit pas d'information sur la structure moléculaire | Rice et MacCarthy, 1991 Li <i>et al.</i> , 2009 |
| Analyses isotopiques | Abondance de l'isotope 13 du carbone et 14 de l'azote | Donne des indications sur les sources et les réactions dont la MOD résulte | Ne fournit pas d'information sur la structure moléculaire | Canuel <i>et al.</i> , 1995 |
| Analyses moléculaires et fonctionnelles | | | | |
| Fluorescence | Analyses des fluorophores | Sensible et rapide | Analyse qualitative Tous les composés ne sont pas détectés | Parlanti <i>et al.</i> , 2000 |
| UV-Visible | Analyses des composés fortement conjugués | Simple et rapide | Analyse qualitative Tous les composés ne sont pas détectés | Para <i>et al.</i> , 2010 |
| Voltampérométrie à redissolution cathodique (CSV) | Identification et quantification de certaines espèces chimiques présentes à l'état de trace | Pas d'extraction ou de prétraitement préalable | Ne quantifie pas l'ensemble de la MOD | Le Gall et van den Berg, 1993 Laglera et Tovar-Sanchez, 2012 Pernet-Coudrier <i>et al.</i> 2013 |
| Titrations acido-basiques | Etude de la densité en site acido-basiques | Permet de modéliser les interactions entre la MOD et le proton | Toutes les propriétés de complexation ne sont pas étudiées | Christensen <i>et al.</i> , 1998 Barak et Chen, 1992 |

Tableau I.2 : Principales méthodes d'isolation, de fractionnement et de concentration de la MOD dans les systèmes aquatiques.

| Méthodes d'extraction ou de fractionnement de la MOD | | | | |
|---|---|--|--|---|
| Méthodes | Caractéristiques | Avantages | Inconvénients | Références |
| Ultrafiltration | Séparation selon la taille | Isole et concentre Aucune modification de pH | Phénomènes d'agglomérations conduisant à une surestimation Contaminations possibles | Ogura, 1974 |
| Chromatographie liquide ou gazeuse (HPLC, CPG) | Séparation selon la nature de la phase mobile | Permet de séparer différentes familles de composés sans pré-concentration nécessaire | Il faut choisir le type de chromatographie adapté à l'échantillon Choix du détecteur et des standards délicat | Matilainen <i>et al.</i> , 2011 |
| Chromatographie d'exclusion stérique (HP-SEC) | Séparation selon la taille | Permet de séparer différentes familles de composés sans pré-concentration nécessaire | Effets de charge pendant la mesure Choix du détecteur et des standards délicat | Zhou <i>et al.</i> , 2000 Woods <i>et al.</i> , 2010 |
| Electrophorèse capillaire | Séparation selon la charge | Permet de séparer une grande quantité de biopolymères | Contamination et agglomération possible | Schmitt <i>et al.</i> , 1996 Pompe <i>et al.</i> , 1996 |
| Résine XAD | Séparation selon l'hydrophobicité | Permet de séparer différentes fractions de la MOD | Pertes et contaminations possibles Changement de pH qui peut modifier la structure de la MOD | Peuravuori <i>et al.</i> , 2002 |
| Osmose inverse (RO) | Séparation par perméation à travers des membranes | Isole et concentre Pas d'acidification préalable | Concentre également le sel | Croué, 2004 Song <i>et al.</i> , 2009 |
| Dégradation thermique (Pyrolyse) | Fragmentation des composés complexes par pyrolyse | Combinaison avec GC/MS et LC/MS Apporte des informations sur les fragments issus de la pyrolyse | Pertes d'informations sur la structure d'origine | Peuravuori <i>et al.</i> , 1999 Leenheer et Croue, 2003 Lehtonen <i>et al.</i> , 2000 |

Tableau I.3 : Principales méthodes pour l'analyse indirecte de la MOD dans les systèmes aquatiques.

| Analyses indirectes de la MOD | | | | |
|---|---|---|--|---------------------------------|
| Méthodes | Caractéristiques | Avantages | Inconvénients | Références |
| RMN (¹H, ¹³C, ¹⁵N) | Analyses des structures moléculaires | Sensible et puissant | Prétraitement de l'échantillon au préalable | Peuravuori, 2005 |
| Spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier (IRFT) | Analyse de nombreuses liaisons (C-O, C-C, C-H, C-N, O-H) et groupements fonctionnels (COOH, COOR, C=O, N-C=O, SOOH) | Grande sensibilité grâce à un grand rapport signal/bruit | Prétraitement préalable de l'échantillon Ne permet pas une caractérisation structurale fine Spectres complexes à interpréter | Matilainen <i>et al.</i> , 2011 |
| Spectroscopie de masse (SM) | Identifie et quantifie les molécules par mesure de leur masse | Fournit des informations sur les fragments qui constituent une molécule | Doit être couplée à une méthode de fractionnement pour séparer les molécules (ex : pyrolyse-CG-MS, LC-MS) | Leenheer et Croue, 2003 |

I.7. Les systèmes estuariens

I.7.1. Définition d'un estuaire

Les estuaires constituent l'interface entre les eaux continentales et océaniques. Leur caractérisation est difficile en raison de la grande variabilité de leur géomorphologie ainsi que de leur comportement hydro-sédimentaire. Différentes approches sont utilisées pour définir les estuaires (Elliott et McLusky, 2002). La définition la plus générale désigne un estuaire comme étant une entité d'eau côtière où se mélangent les eaux de mer et les eaux douces issues du drainage des sols. C'est une zone d'échanges caractérisée par une grande variabilité spatio-temporelle, une forte productivité biologique et des caractéristiques physico-chimiques contrastées (Renjith *et al.*, 2013). Afin de mieux caractériser les écosystèmes estuariens, deux classifications ont été introduites. Tout d'abord la classification géomorphologique différencie plusieurs types d'estuaires en fonction de l'importance des apports sédimentaires par les fleuves et des caractéristiques hydrodynamiques du mélange des eaux. Elle permet de distinguer deltas, estuaires intérieurs, lagunes ou encore fjords (Perillo, 1995).

En parallèle, une classification en fonction de la structure saline des estuaires existe également. En effet, le mélange entre les eaux douces et salées se fait de façon plus ou moins intense sous l'effet des marées. Il en résulte une stratification variable des eaux qui est favorisée par le débit et atténuée par la marée. On distingue ainsi trois types d'estuaires (Elliott et McLusky, 2002 ; Tagliapietra *et al.*, 2009).

(i) les estuaires très stratifiés. Ils sont caractérisés par une faible amplitude de marée et par un débit fluvial fort. Il se produit donc une forte stratification verticale, associée à la présence d'un coin salé stationnaire. L'eau douce, moins dense, circule au-dessus de l'eau salée dont elle est séparée par une halocline.

(ii) les estuaires partiellement stratifiés. Ils sont caractérisés par des courants de marée plus forts et un débit du fleuve moyen, augmentant la turbulence et favorisant le mélange vertical des eaux entraînant ainsi une stratification moins marquée.

(iii) les estuaires bien mélangés. Ils sont caractérisés par des forts courants de marée et un faible débit fluvial induisant une turbulence suffisamment importante pour permettre le mélange de l'ensemble de la colonne d'eau (pas de gradients verticaux).

I.7.2. Caractéristiques d'un système estuarien

Le comportement hydrodynamique des estuaires est contrôlé par le débit du fleuve en amont et par la marée en aval. Au niveau de la rivière, des périodes de crue (fort débit) et d'étiage (faible débit) se succèdent, rendant le facteur débit très variable. Au niveau de l'océan, l'action de la marée (pleine mer/basse mer) est variable au cours du cycle lunaire et le coefficient de marée (vives-eaux/mortes-eaux) varie fortement. Ces phénomènes favorisent le mélange des eaux selon la période de l'année. On appelle marnage la différence de niveau d'eau entre la marée haute et la marée basse. La France présente sur sa façade Ouest (Manche et Atlantique) un très grand nombre d'estuaires que l'on caractérise de macrotidaux (à forte amplitude de marée semi-diurne). Ils peuvent être bien mélangés en période d'étiage et partiellement stratifiés en période de crue. De plus, en période de vives-eaux, ces estuaires sont mieux mélangés qu'en période de mortes-eaux.

Les estuaires macrotidaux sont souvent caractérisés par la présence d'une zone de maximum de turbidité appelée « bouchon vaseux » (Bassoullet, 1979 ; Allen *et al.*, 1980 ; Abril *et al.*, 2002). Cette zone est due au blocage et à la rétention des sédiments en suspension apportés par le fleuve résultant de la rencontre des eaux douces et des eaux marines en un point nodal de densité et amplifié par l'action des courants de marée (Fig. I.1) (Brenon et Le Hir, 1999). Sa taille et sa position évoluent selon les conditions hydrologiques propres à l'estuaire : débits fluviaux et cycles de marée. En période d'étiage, ce bouchon vaseux peut se localiser dans la région de faible salinité de l'estuaire ou dans la zone appelée « freshwater reaches » ou « rivière tidale », i.e. zone d'eau douce comprise entre la limite d'intrusion saline et la limite de la marée dynamique. Lors de grandes crues le bouchon vaseux se déplace en aval ou peut être en grande partie expulsé sur le plateau continental.

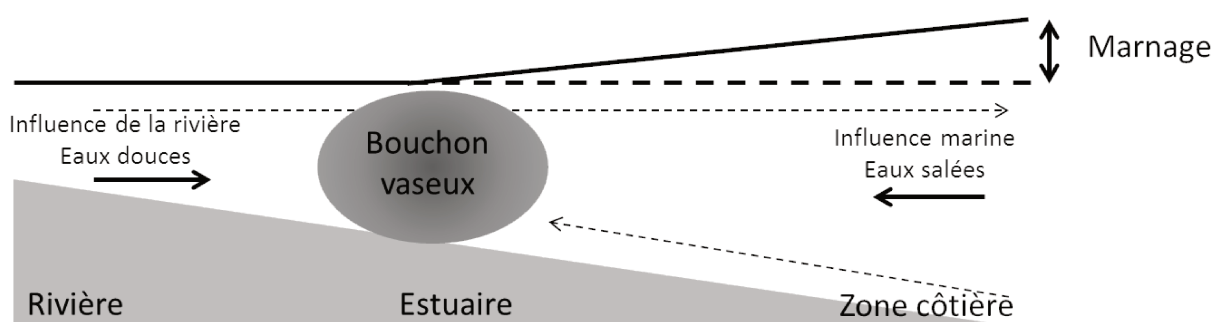


Figure I.1: Schéma d'une zone de maximum de turbidité dans un estuaire macrotidal.

Ce bouchon vaseux a une influence majeure sur la biogéochimie et la biologie de l'estuaire (Herman et Heip, 1999). Il est caractérisé par des taux de matières en suspension (MES) pouvant être supérieurs au gramme par litre (Uncles *et al.*, 2006). Ces fortes concentrations engendrent une forte turbidité et donc une faible pénétration de la lumière limitant l'activité photosynthétique et la production primaire (Middelburg et Herman, 2007). Le bouchon vaseux est également riche en matière organique et offre un environnement favorable au développement intense de l'activité bactérienne hétérotrophe qui est à l'origine d'une minéralisation importante de la MOD (Maurice, 1994 ; Servais et Garnier, 2006). Ces bactéries se fixent sur les particules pour se nourrir. Cette activité bactérienne hétérotrophe se traduit par un appauvrissement en oxygène, lié à leur respiration, pouvant engendrer des conditions anoxiques (Abril *et al.*, 1999 ; Lanoux *et al.*, 2013).

Dans les milieux estuariens, le cycle du carbone se traduit donc par une compétition entre activité autotrophe et activité hétérotrophe. En effet, les organismes autotrophes transforment le carbone minéral, i.e. le CO₂, en composé organique à travers le processus de la photosynthèse. Ce sont des réducteurs efficaces puisque les atomes de soufre, d'azote et de carbone sont réduits dans les molécules organiques. En parallèle, l'activité hétérotrophe n'a pas cette capacité, et va puiser sa source d'énergie et de matière première dans de la MOD déjà élaborée. Elle va consommer et décomposer la MOD et rejeter du carbone minéral sous forme de CO₂ par sa respiration. Il peut donc se succéder au sein même de l'estuaire des zones productrices de carbone, et des zones consommatrices.

I.7.3. Devenir et comportement de la matière organique dissoute dans les estuaires

Lors de son parcours dans les estuaires, la MOD peut être modifiée ou éliminée par des multiples processus physico-chimiques (sédimentation, coagulation, floculation, précipitation, resuspension, adsorption, ou encore agrégation), chimiques (photo-oxydation, photoblanchiment, hydrolyse, complexation, oxydation, etc.) et biologiques (assimilation, métabolisation, consommation, etc.). La MOD peut également être apportée au milieu estuarien *via* différents processus tels que des phénomènes de désorption, de défloculation, de régénération, de production autochtone ou encore de remise en suspension.

Afin de décrire de façon simple le comportement des composés dans la zone de mélange entre les eaux douces et les eaux marines, un outil essentiel est le « diagramme de mélange » (Boyle *et al.*, 1974). Ce dernier relie la concentration du composé considéré à la salinité (Fig. I.2).

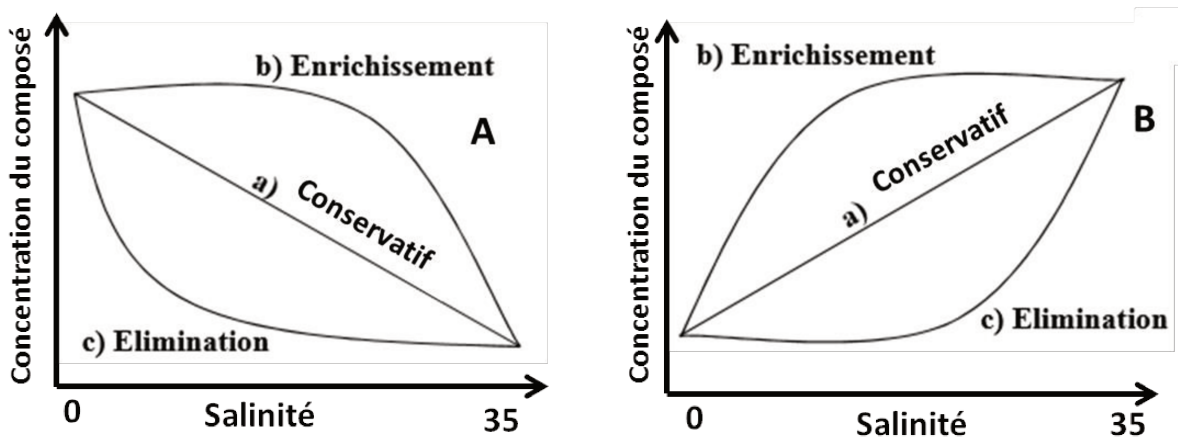


Figure I.2: Diagramme de mélange en milieu estuarien. A) représente l'élément dont la concentration est plus importante dans les eaux fluviales et B) représente l'élément dont la concentration est plus importante dans les eaux marines.

Sur la figure I.2, la droite a) représente une droite de dilution théorique du composé entre les eaux fluviales et marines. Les composés ayant ce genre de comportement sont dits « conservatifs » car seul le mélange physique des eaux douces et marines modifie les concentrations et aucun processus biogéochimique n'intervient. Dans le cas des courbes b) et c), il existe respectivement un enrichissement ou une élimination de l'élément dans la zone de mélange. Ce comportement est alors dit « non-conservatif ». Notons que ce type de diagramme ne fournit pas d'information sur les processus biogéochimiques impliqués.

Dans les estuaires, les trois types de comportements peuvent être observés (Abril *et al.*, 2002 ; Middelburg et Herman, 2007 ; Bauer et Bianchi, 2011). Certaines études ont montré un comportement conservatif du COD (Mantoura et Woodward, 1983 ; Álvarez-Salgado et Miller, 1999 ; Goni *et al.*, 2003). Ce comportement peut résulter de l'existence de sources et de puits simultanés qui se compensent et qui font que la dilution l'emporte le long du gradient salé (Moran *et al.*, 1999 ; Raymond et Bauer, 2000). Au contraire, d'autres études présentent des comportements non conservatifs du COD avec de grands écarts de la droite de dilution, qui sont reliés à différentes modifications (apports ou retraits). En effet, une diminution par consommation nette du COD a été observée par Abril *et al.* (2002) dans l'estuaire de l'Escault (Belgique). Inversement une production de COD est visible dans l'estuaire de la Gironde (France) au niveau de la zone de maximum de turbidité (Abril *et al.*, 2002). Une production autochtone de COD peut également se déclencher en période de bloom phytoplanctonique et engendrer un comportement non-conservatif le long du gradient salé (Rochelle-Newall et Fisher, 2002 ; McKenna, 2004). L'étude de Spencer *et al.* (2007) dans l'estuaire de Tyne et Tweek (UK) et celle de Benner et Opsahl (2001) dans l'estuaire du

Mississippi (USA), montrent également une grande variation du COD le long du gradient salé. En effet, ils observent aux faibles salinités une perte du COD, résultant d'une combinaison de plusieurs processus (dégradation photochimique et microbienne, adsorption dans la zone de forte turbidité, floculation, etc.) et un gain aux plus fortes salinités lié à des apports d'eaux usées ou d'une production phytoplanctonique.

I.8. Les impacts anthropiques sur la MOD dans les systèmes fluviaux-estuariens

Les systèmes fluviaux-estuariens sont le lieu de nombreux forçages anthropiques (industriels, urbains et agricoles) provenant du bassin versant. Ces activités, par des apports et des mécanismes spécifiques, vont conférer à la MOD des caractéristiques spécifiques responsables de sa réactivité. En effet, les activités humaines par le biais des eaux usées et des eaux de ruissellement, des rejets de station d'épuration, des lixiviats de décharges, des débordements d'égouts par temps de pluie ou des activités agricoles (amendements des sols), peuvent affecter la quantité et la qualité de la matière organique (Graeber *et al.*, 2012 ; Greenwood *et al.*, 2012 ; Kalscheur *et al.*, 2012).

I.8.1. Impacts industriels et urbains

Les impacts industriels et urbains vont principalement changer la composition de la MOD et donc sa réactivité. En effet, plusieurs travaux effectués dans des eaux usées, urbanisées ou industrialisées rapportent que la MOD possède certaines caractéristiques différentes de celle du milieu naturel : faible aromaticité, forte structure protéique, caractère majoritairement hydrophile, enrichissement en azote et soufre (Ma *et al.*, 2001 ; Nam et Amy, 2008 ; Pernet-Coudrier *et al.*, 2008 ; 2011b) mais également la présence systématique de composés spécifiques d'origine anthropique comme le Tryptophan-like ou la Tyrosine-like (Baker, 2001 ; Tedetti *et al.*, 2012). Cette composition particulière semble la rendre plus réactive vis-à-vis des métaux et des polluants organiques naturels (Baken *et al.*, 2011 ; Muresan *et al.*, 2011 ; Pernet-Coudrier *et al.*, 2011a ; Louis *et al.*, 2014) et plus sensible à la dégradation lumineuse et microbienne (Mostofa *et al.*, 2010 ; Meng *et al.*, 2013).

I.8.2. Impacts agricoles

Environ 40% de la surface de la Planète est utilisée pour l'agriculture (Foley *et al.*, 2005). Ces terres sont particulièrement sujettes aux activités de fertilisation du sol afin d'optimiser la production des cultures (Peña-Méndez *et al.*, 2005). L'intensification des pratiques agricoles est souvent associée à une utilisation excessive d'engrais (fumier, lisier, etc.) laquelle occasionne une augmentation de la MOD dans les sols et les eaux de surface (Ogle *et al.*, 2005 ; Wilson et Xenopoulos, 2008 ; Graeber *et al.*, 2012). C'est le cas pour la plupart des systèmes aquatiques bretons, impactés par des pratiques agricoles intensives, où les sols sont très enrichis en MOD par les pratiques d'épandage de fumier (Waeles *et al.*, 2013). Le surplus de MOD est ensuite lessivé jusqu'aux nappes et rivières pendant les périodes de fortes précipitations (Royer et David, 2005 ; Stedmon *et al.*, 2006 ; Dalzell *et al.*, 2007 ; Oeurng *et al.*, 2011).

Ces activités agricoles peuvent, en plus d'augmenter la quantité, modifier la composition moléculaire de la MOD (Baker, 2002 ; Wiegner et Seitzinger, 2004 ; Wilson et Xenopoulos, 2009 ; Naden *et al.*, 2010). En effet, la MOD provenant des systèmes agricoles peut être altérée au niveau de son poids moléculaire, sa structure et son taux d'humification (Cronan *et al.*, 1999 ; Wilson et Xenopoulos, 2009). Certaines études rapportent que l'agriculture rend la MOD plus réactive et donc plus accessible pour l'activité microbienne (Williams *et al.*, 2010 ; Petrone *et al.*, 2011 ; Graeber *et al.*, 2012 ; Juckers *et al.*, 2013 ; Heinz *et al.*, 2015). La MOD d'origine agricole peut également être caractérisée par un enrichissement en azote (Pellerin *et al.*, 2006 ; Heinz *et al.*, 2015). Ces modifications, dépendent de plusieurs facteurs, comme le type de pratiques agricoles, le temps de compostage ou encore la nature du lisier (Tiquia *et al.*, 1997 ; Hsu et Lo, 1999 ; Aoyama et Kumakura, 2001 ; Ohno *et al.*, 2007 ; Graeber *et al.*, 2012 ; Wang *et al.*, 2015). Cet apport de MOD dans les systèmes fluviaux peut être bénéfique pour la production microbienne ou le transport des métaux (Battin *et al.*, 2008 ; Graeber *et al.*, 2015). En revanche, en trop grande quantité, la MOD devient parfois nocive pour les écosystèmes aquatiques car elle peut créer des conditions eutrophiques et hypoxiques, participer au relargage de CO₂ dans l'atmosphère et par conséquent engendrer des perturbations dans la chaîne trophique (Zimmerman et Canuel, 2000 ; Battin *et al.*, 2008 ; Young *et al.*, 2008). Malgré les nombreuses perturbations apportées par l'agriculture, son impact sur le cycle des composés organiques, et donc sur le cycle global du carbone, reste encore à approfondir.

I.9. Conclusion

Comme il ressort de cet état des lieux, la MOD participe activement aux processus biogéochimiques des systèmes fluviaux-estuariens. Elle peut, tout d'abord, représenter une source de nutriments pour les organismes. Ensuite, de par ses propriétés de complexation, elle peut constituer l'un des vecteurs principaux pour de nombreux métaux et polluants organiques. Enfin, elle peut jouer un rôle protecteur des rayonnements UV vis-à-vis des organismes.

Dans les systèmes fluviaux-estuariens soumis à de fortes pressions agricoles, la MOD présente une origine essentiellement liée à l'amendement des sols. De plus, l'intensification de l'agriculture, avec notamment l'utilisation d'engrais et de fertilisants, modifie le cycle biogéochimique de la MOD, lui conférant des caractéristiques spécifiques responsables de sa réactivité et de son comportement dans les systèmes aquatiques. Cependant, malgré un nombre d'études particulièrement important et l'utilisation de nombreuses techniques d'analyse, un manque d'information persiste concernant : la composition (élémentaire, fonctionnelle, moléculaire, etc.), le rôle (complexant des métaux, substrat microbien, etc.) et le devenir (dégradation, régénération, export, etc.) de cette MOD.

La région Bretagne est connue pour ses intenses pratiques agricoles et a donc été choisie pour la mise en place de cette étude. En effet, c'est la 1^{ère} région agricole de France, la 2^{ème} région exportatrice de produits agricoles au monde et la principale puissance agricole de l'Union européenne. Elle a été classée en Europe comme une zone sensible à l'eutrophisation et a récemment été cartographiée comme l'une des régions du monde la plus menacée pour la sécurité de l'eau et de la biodiversité humaine.

Devant cet état de fait, nous avons cherché à travers ce travail à étudier plus finement la composition, la dynamique et le devenir de la MOD dans les systèmes fluviaux-estuariens à fort caractère agricole. Pour cela, l'optimisation au laboratoire d'une méthode électrochimique et d'une méthode chromatographique a été effectuée. Ces deux méthodes combinées permettent d'une part l'analyse globale de la MOD et d'autre part l'analyse sélective de différentes familles représentatives de l'ensemble de la MOD.

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Cadre des études

Afin d'identifier et de quantifier l'impact des pratiques agricoles sur la concentration et le comportement de la MOD, trois rivières (la Penzé, le Yar et l'Aulne) caractérisées par des bassins versants de taille variable et fortement impactés par des activités agricoles de nature différente (avicoles, porcins et bovins) ont été sélectionnées. Une quatrième rivière (le Saint Rivoal) non impactée par des pratiques agricoles, servira de référence (Fig. II.1). Enfin, l'estuaire de l'Aulne a été choisi pour étudier le devenir de différentes familles de la matière organique dissoute, dans le continuum eau douce-eau de mer.

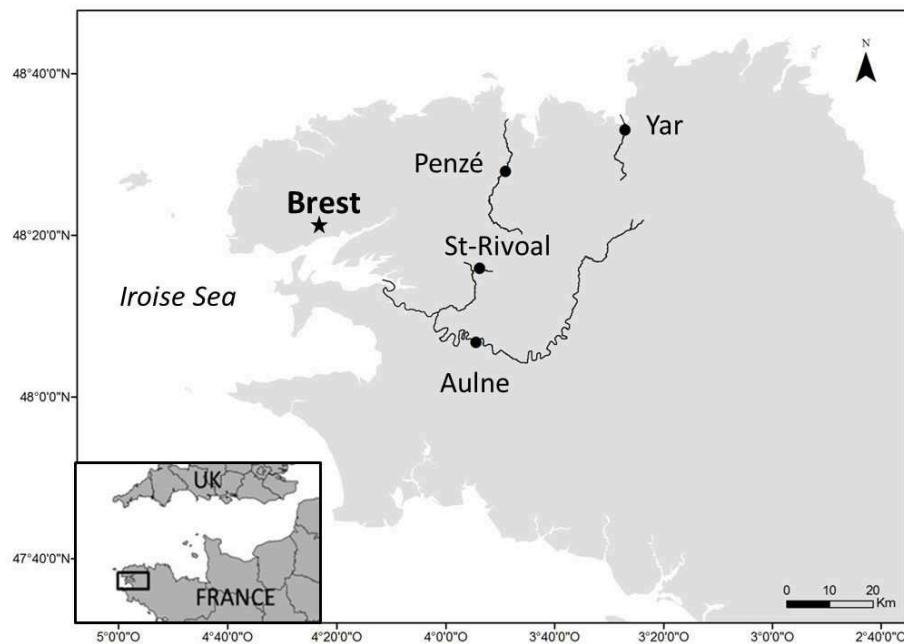


Figure II.1: Carte de localisation des quatre rivières.

II.1.1. La Penzé, le Yar et l'Aulne

La Penzé (Fig. II.2, Finistère, Bretagne) est une rivière de 28 km de long dont les eaux se jettent dans la Baie de Morlaix. Cette rivière possède trois affluents majeurs : le Coat Toulzac'h, l'Eon et la Traon Gall. En 2014, son débit a varié entre 0,3 et 35 m³.s⁻¹ avec un débit annuel moyen de 4,5 m³ s⁻¹. Le bassin versant drainé par cette rivière a une surface de 141 km².



Figure II.2: Lieu de prélèvement dans la rivière de la Penzé.

Le Yar (Fig. II.3) fait partie de trois rivières avec le Léguer et le Douaron du Nord de la Bretagne situés à l'extrême Ouest des Côtes d'Armor, qui se jettent en baie de Lannion. Il mesure 18 km de long et possède un bassin versant de 62 km². En 2014, le débit a varié de 0,1 à 7,5 m³.s⁻¹ avec un débit moyen annuel de 1,2 m³.s⁻¹. L'activité agricole est à l'origine de l'essentiel des perturbations (dégradation de la qualité de l'eau) sur le bassin versant. A la belle saison, la baie de Lannion dans laquelle se rejette le Yar a souvent été envahie, avec plus ou moins d'intensité, par des proliférations d'algues vertes. Ce phénomène est dû, en partie, à l'eutrophisation de la rivière (Ménesguen, 2003).



Figure II.3: Lieu de prélèvement dans la rivière du Yar.

L'Aulne (Fig. II.4, Finistère, Bretagne) est un fleuve de 144 km de long qui prend sa source dans les Monts d'Arrée sur la commune de Lohuec (Côtes d'Armor) et se jette dans la rade de Brest. Celle-ci est peu industrialisée et l'activité agricole est intensive. En 2014, son débit moyen sur l'année est de l'ordre de 41 m³.s⁻¹. En période de crue (hiver), le débit peut atteindre 350 m³.s⁻¹

et en période d'étiage (été) il peut descendre jusqu'à $2 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Sur son bassin versant, d'une superficie de 1900 km^2 , 60% des sols sont principalement occupés par des activités agricoles.



Figure II.4: Lieu de prélèvement dans la rivière de l'Aulne.

II.1.2. La rivière de Saint Rivoal

Le Rivoal ou Saint-Rivoal (Fig. II.5, Finistère, Bretagne) prend sa source dans les Monts d'Arrée à Saint Rivoal, à une altitude de 236 m. La longueur de son cours d'eau est de 10,9 km. En 2014, son débit a varié entre $0,3$ et $17 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ avec un débit annuel moyen de $5,7 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Cette rivière, qui est un sous-affluent de l'Aulne, traverse une zone de forêt dans le parc naturel d'Armorique et draine un bassin versant de 139 km^2 . Il est de ce fait à l'abri des apports qui émanent des activités agricoles.



Figure II.5: Lieu de prélèvement dans la rivière de Saint Rivoal.

II.1.3. L'estuaire de l'Aulne

Depuis sa source dans les monts d'Arrée jusqu'à la rade de Brest dans laquelle il se jette, l'Aulne parcourt 140 km dans des terres agricoles. L'Aulne et ses affluents drainent un bassin versant d'environ 1900 km², ce qui en fait le troisième bassin hydrographique breton. Son cours principal a été canalisé sur 70 km pour la navigation fluviale entre Nantes et Brest et comprend une dizaine d'écluses. Cet estuaire macrotidal, dont le gradient salé s'étend sur 40 km de long, est typique des écosystèmes littoraux ouest-européens dont le cours inférieur est fortement influencé par les marées. Dans la rade de Brest, l'influence marine est régie d'une part par l'alternance basse mer-haute mer (période voisine de 12h25 min), et d'autre part par le cycle vives eaux-mortes eaux de 14,7 jours. Le marnage peut atteindre 8 m en période de vives eaux de coefficient 120.

L'évolution du débit est contraint par un climat océanique tempéré. On peut distinguer deux périodes : (i) une période d'étiage estival, avec de faibles débits et un temps de résidence dans l'estuaire pouvant aller jusqu'à 25 jours et (ii) une période de crues automnales et hivernales caractérisées par des débits élevés et un temps de résidence faible (≈ 3 jours) (Bassoullet, 1979). Le volume d'eau de mer introduit par la marée et le débit fluvial vont commander les différents états hydrologiques de l'écosystème estuarien (Bassoullet, 1979). Ainsi, en période d'étiage de vives eaux, l'estuaire est bien mélangé avec des isohalines proches de la verticale.

Lors de cette étude, la vitesse d'écoulement des eaux douces a varié de 0,1 m.s⁻¹ en période d'étiage, avec un temps de résidence important (>20 jours), à 1,1 m.s⁻¹ en période de crue, avec un temps de résidence moindre (<5 jours). Aucune activité de dragage a été effectuée sur l'Aulne en amont de Châteaulin mais des travaux de dévasage sur les écluses de Stéréon et de Boudrac'h ont été entrepris en juin 2014 (source : SMATAH).

II.1.4. Gestion des pratiques agricoles

Les activités sur les bassins versants du Yar, de la Penzé et de l'Aulne sont essentiellement des activités agricoles (~75%). La production agricole est principalement tournée vers des élevages avicoles, porcins, bovins et d'autre part vers les cultures (Fig. II.6). Le reste étant occupé par des forêts (~15%) et des zones urbaines (~10%). La quantification des pratiques agricoles sera détaillée dans le chapitre IV.

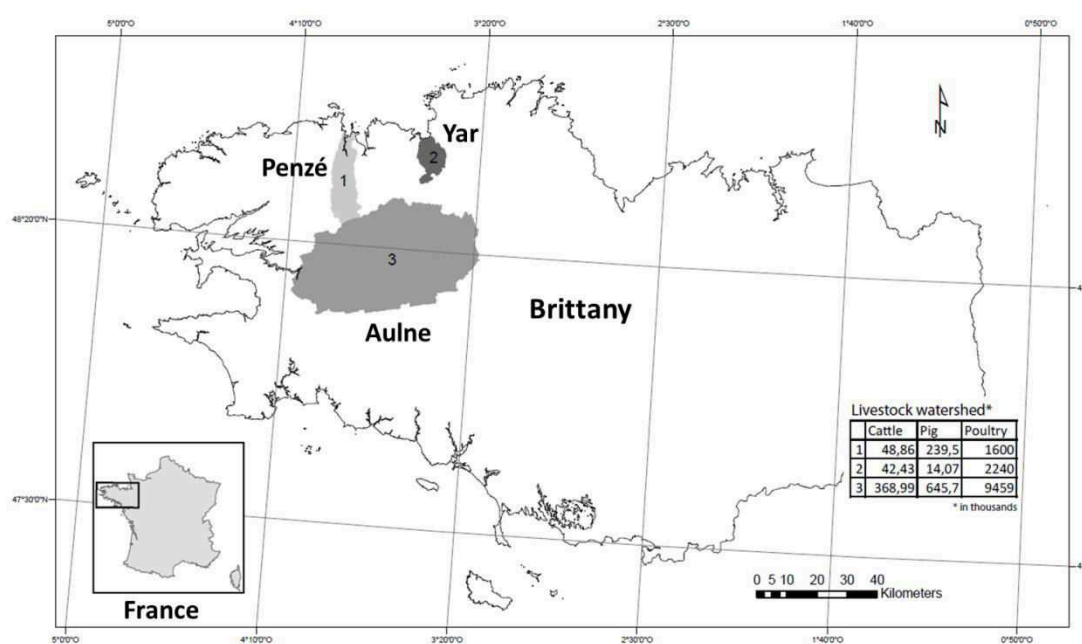


Figure II.6: Carte des 3 bassins versants sélectionnés. 1: Yar, 62 km² ; volaille; 2: Penzé, 141 km² ; porc et volaille; et 3: Aulne, 1 892 km² ; porc, volaille et bovin. Banque de données de 2012: Ministère de l'agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt.

II.1.5. Caractéristiques hydrologiques des systèmes aquatiques

La Bretagne fait l'objet d'un suivi de la qualité des cours d'eau et des nappes phréatiques via l'analyse de différents paramètres (i.e. nitrates, phosphates, silicates). Les résultats (tableau II.1) montrent des concentrations plus élevées des trois nutriments dans les eaux de la rivière de la Penzé et du Yar par rapport l'Aulne. Cependant, les teneurs en nitrates, en particulier, dans ces trois systèmes, restent élevées par rapport à ceux considérés comme non pollués (<10 mg/L) (Directive nitrate de 1980, (80/778/CE)). Les activités agricoles importantes sur les bassins versants sont certainement responsables de ces teneurs. Au niveau des nappes phréatiques, seul le Saint Rivoal, système de référence, montre des teneurs en nitrates inférieures aux autres systèmes.

Tableau II.1 : Caractéristiques des systèmes fluviaux étudiés. Les données sont issues de l'observatoire de l'eau en Bretagne du réseau Ecoflux.

| | St-Rivoal | Yar | Penzé | Aulne |
|--|-----------|-----------|----------------|--------------|
| Nitrates (mgNO ₃ ⁻ .L ⁻¹) | - | 25(18-34) | 32 (19-45) | 17(9-29) |
| Phosphates (mgPO ₄ ³⁻ .L ⁻¹) | - | - | 0,2 (0,02-0.5) | 0,03 (0-0,1) |
| Silicates (mgSiO ₂ .L ⁻¹) | - | 20(15-25) | 11(6-15) | 7(3-10) |
| Taux de nitrates (mg.L ⁻¹) dans les nappes phréatiques en 2014 | <10 | 49,2 | 40,2 | 43,4 |

II.1.6. Caractéristiques du milieu souterrain

Depuis une dizaine d'année, le Bureau de Recherche Géologiques et Minières (BRGM) a répertorié de nombreux réservoirs d'eau dans les sous-sols bretons. Ces réservoirs sont alimentés par les précipitations et sont rapidement renouvelés (Programme SILURE, BRGM, 2008). Ce milieu aquifère, plus communément appelé nappe souterraine, est composé de roches présentant des taux de fracturation et d'altération variables en fonction du milieu et de la profondeur. En Bretagne, les sous-sols sont constitués de roches anciennes dites de socle (Fig. II.7).

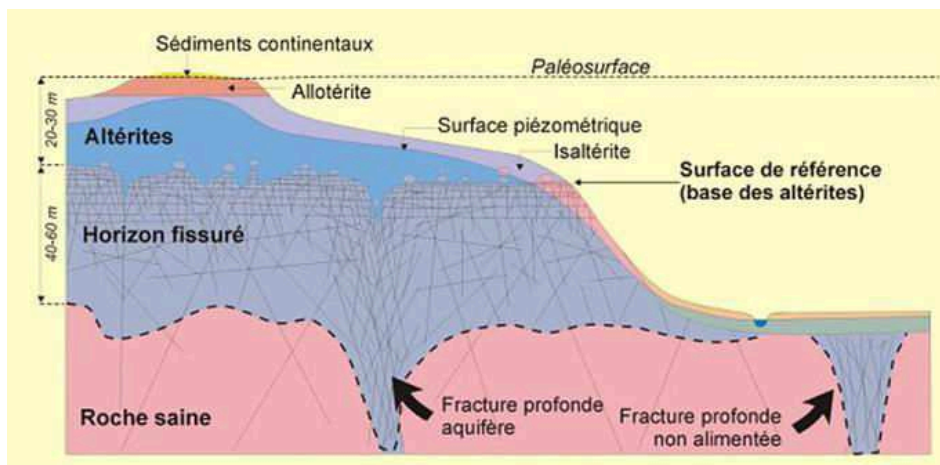


Figure II.7: Schéma conceptuel des aquifères de socle (d'après Wyns et al., 2004).

D'après Wyns et al. (2004), deux zones principales se distinguent dans le milieu d'étude. La zone des altérites, entre 20 et 30m d'épaisseur, de nature capacitive (retient l'eau), et la zone fissurée qui s'étend de 40 à 60 m de fond de nature transmissive (transmet l'eau).

Les 4 systèmes étudiés ont des formations géologiques de mêmes types de roches (principalement granite, gneiss, schistes). D'après le tableau II.2, on peut observer une contribution non négligeable des eaux souterraines à l'écoulement total. Notamment, cette contribution est plus importante dans la Penzé (59%) et moins importante dans l'Aulne (50%). La présence d'altérites dans le milieu souterrain est également plus élevée dans la Penzé que dans l'Aulne. L'inertie du milieu physique souterrain caractérise la vitesse d'une goutte d'eau circulant de la surface du sol à l'exutoire d'un bassin en passant par la nappe d'eau souterraine. On peut noter que l'inertie du milieu physique souterrain est plus forte dans le bassin du Yar que dans celui de l'Aulne.

Tableau II.2: Caractéristiques des milieux souterrains sur les bassins versants étudiés.

| | Saint-Rivoal* Aulne⁽¹⁾ | Penzé⁽²⁾ | Yar⁽³⁾ |
|---|--|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Nature | | | |
| Aquifère | 20% | 69% | 46% |
| Semi-perméable | 61% | 20% | 27% |
| Imperméable | 1% | 1% | 12% |
| Lithologies principales | Schiste, quartzites, grès, granite | Gneiss, micashiste, granite | Granite, gneiss, schistes |
| Contribution des eaux souterraines | | | |
| Écoulement total | 50% (faible) | 59% (assez bonne) | 55,5% (assez bonne) |
| Écoulement à l'étiage | 88% | 79% | 90% |
| Écoulement pendant la crue | 40% | 49-53% | 32-49% |
| Vitesse d'écoulement | peu inertiel 0-3 jours | assez inertiel 10-20 jours | Très inertiel (pas de données) |

*Saint-Rivoal étant un affluent de l'Aulne, cette rivière présente vraisemblablement des caractéristiques d'aquifères proches de celles de l'Aulne

(1), (2), (3) Données BRGM Bretagne, 2014 et SILLURES Bretagne

II.2. Prélèvements

II.2.1. Prélèvements et traitement des échantillons dans les rivières et dans le fleuve

Les échantillons analysés lors de ce travail proviennent de deux grandes campagnes de prélèvement. La première s'est déroulée du 5/01/2012 au 9/01/2013 sur la rivière de la Penzé avec une période de 8 jours (44 échantillons). Lors de la deuxième, 36 échantillons ont été prélevés sur chacun des quatre systèmes fluviaux (la Penzé, le Yar, le Saint Rivoal et l'Aulne) avec une période de 10 jours, du 07/01/2014 au 22/12/2014. La figure II.8 ci-après indique les quatre points de prélèvement. La superficie exacte des bassins versants en amont des points de prélèvement est de 58,4 km² pour le Yar, 75,8 km² pour la Penzé, 1386,9 km² pour l'Aulne et 6,2 km² pour Saint-Rivoal (source : GRASS GIS).

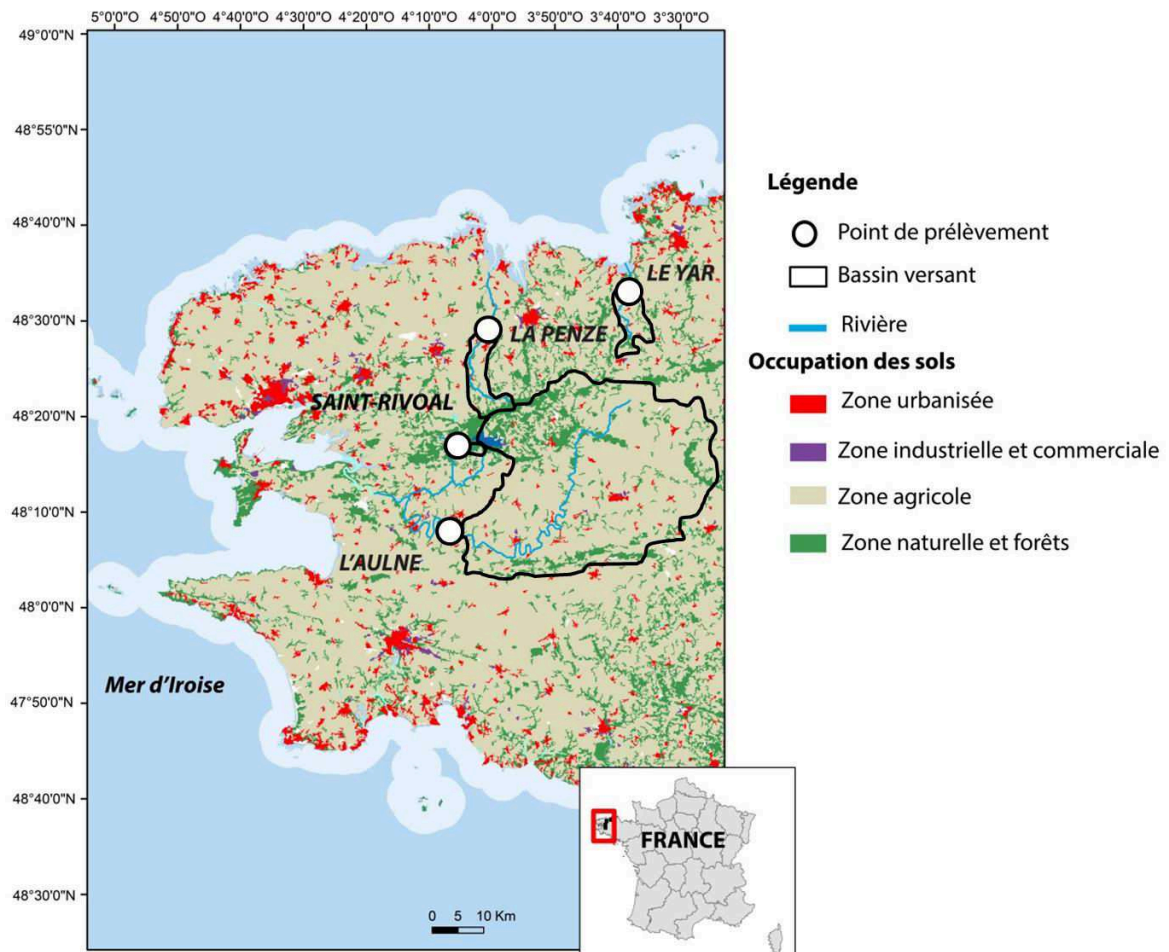


Figure II.8: Points de prélèvement dans 4 rivières de Bretagne et occupation des sols. La Penzé (48.550446°N, -3.939658°W), Saint-Rivoal (48.346281°N, -3.993609°W), le Yar (48.646902°N, -3.577563°W) et l'Aulne (48.192449°N, -3.983471°W).

Dans le but de minimiser les risques de modification des échantillons, nous avons effectué leur traitement tout de suite après prélèvement. Pour ce faire une « caisse transportable » (Fig. II.9) a été conçue contenant le matériel nécessaire à la filtration et au stockage des échantillons récupérés (acidification, congélation). On peut noter l'existence de deux circuits de filtration indépendants ; l'un pour les composés inorganiques (éléments nutritifs et métaux) et l'autre pour la matière organique globale et sélective. Les prélèvements sont effectués directement dans des ampoules à décanter en Téflon. Afin d'éviter tout risque de contamination, des gants plastique de 92cm (Polysem®) ont été utilisés.



Figure II.9: Caisse de prélèvement transportable.

Le filtre récupéré dans le circuit inorganique est utilisé pour la détermination des matières en suspension (MES) et des métaux particuliers. Dans le circuit organique, deux filtrations sont effectuées ; l'une pour l'analyse du COP et du NOP (filtre GFF grillé au préalable, 450°C – 4 h) et l'autre pour l'analyse de la chlorophylle et de la phæophytine. La figure II.10 présente de façon détaillée le traitement des échantillons effectués « on field » ainsi que les différents flacons utilisés et le système de conservation des échantillons.

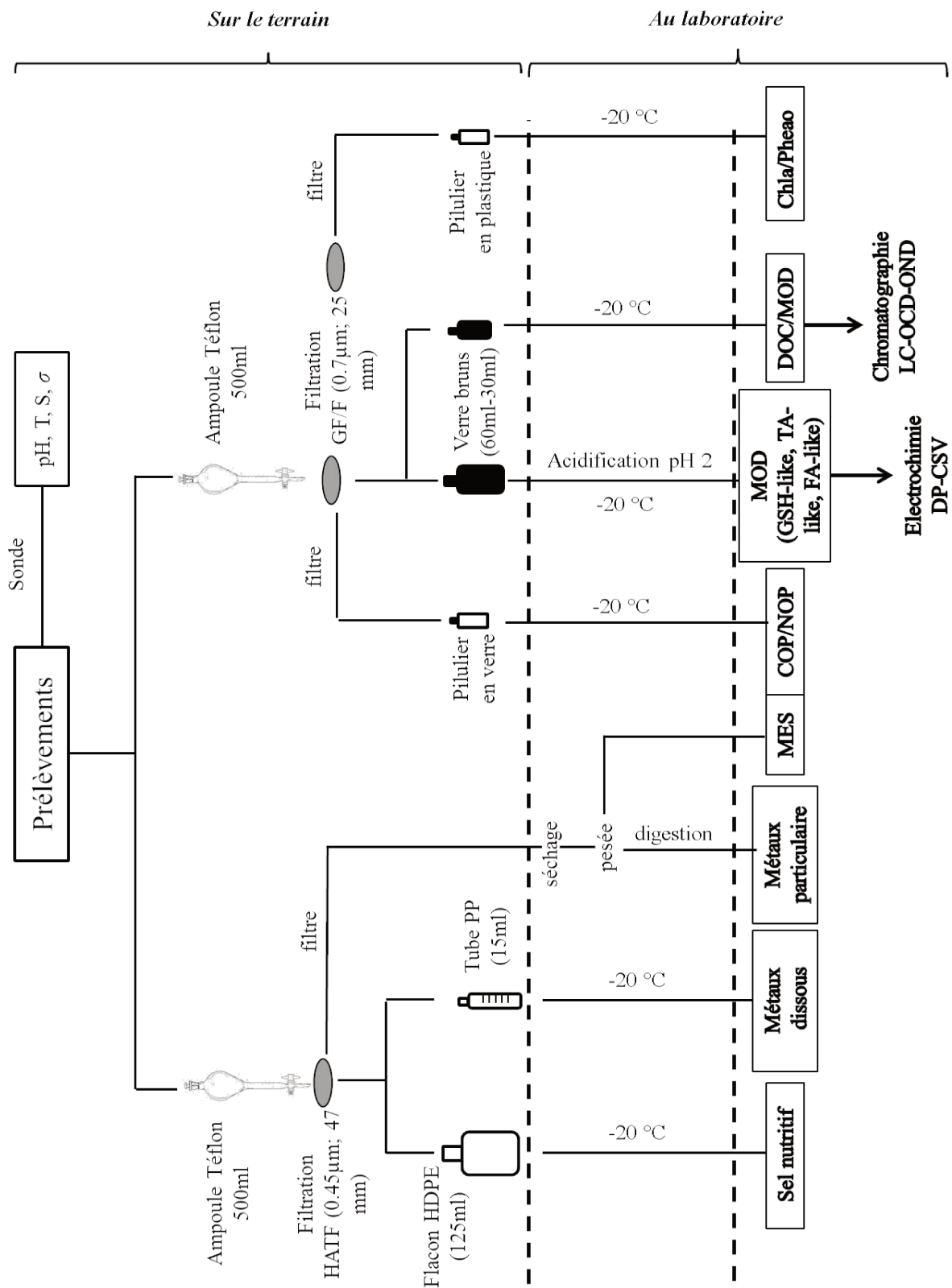


Figure II.10: Schéma récapitulatif de prélèvements, stockage et analyse des échantillons.

II.2.2. Prélèvements et traitement des échantillons dans l'estuaire de l'Aulne

Treize campagnes de prélèvement avec une fréquence mensuelle, ont été effectuées entre décembre 2013 et décembre 2014, le long du gradient salé de l'estuaire de l'Aulne, de façon à tenir compte de l'ensemble du cycle annuel (Fig. II.11). Elles ont été menées à bord du navire de station Hésione (INSU-CNRS-UBO) (Fig. II.11). Les 12 points de prélèvements ont été placés de façon à couvrir au mieux la zone du gradient salé ($S=0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 28, 30$ et 34). Ceci a été possible grâce à une mesure de la salinité préalable à chaque prise d'échantillon, effectuée à l'aide d'une sonde multi-paramètres préalablement calibrée (voir II.3.1). Le prélèvement des échantillons a été effectué à la main, en subsurface (~ 30 cm de profondeur) directement dans des flacons en verre Schott de 500 mL préalablement grillés (400°C). Afin d'éviter tout risque de contamination, des gants plastique de 92 cm (Polysem®) ont été utilisés. De façon à s'affranchir dans la mesure du possible des variations de marée et pour avoir une meilleure définition du gradient salé, les différentes campagnes de prélèvements ont été réalisées avec des coefficients variant entre 38 et 62 (mortes-eaux) et le début des prélèvements a toujours été effectué au zéro de salinité, à marée haute. Le tableau II.3 récapitule les dates et conditions de marée lors des campagnes de prélèvement. Des échantillons en profondeur (≈ 30 cm du fond) ont été également prélevés avec une bouteille Niskin (Fig. II.12) à chaque sortie aux points de salinité 3, 9 et 15 de façon à tenir compte de l'incidence potentielle du compartiment benthique. Le traitement des échantillons a été effectué immédiatement au retour au laboratoire (≈ 2 heures) selon le même protocole et le même matériel que celui utilisé lors des prélèvements dans les rivières.

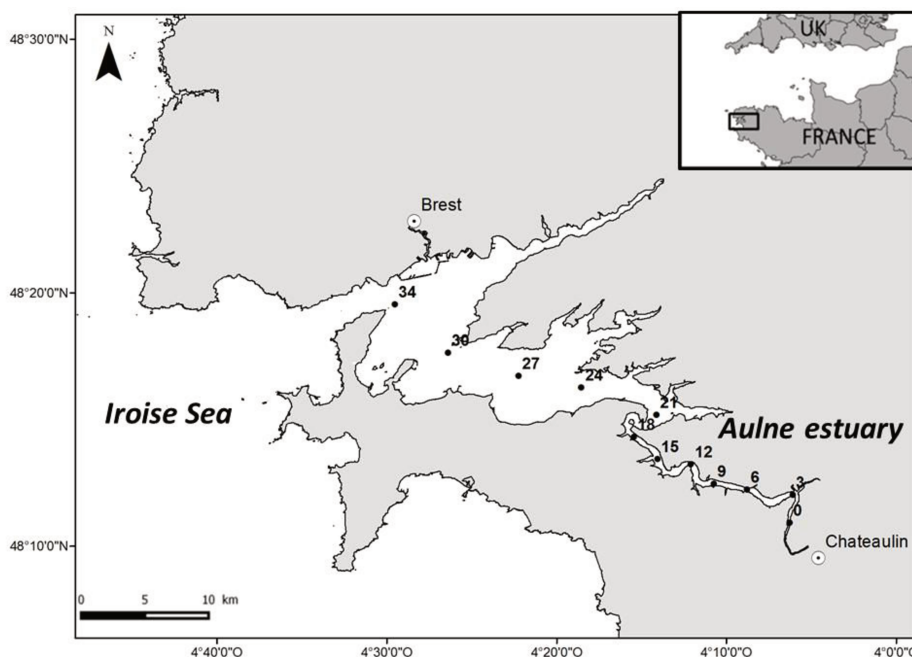


Figure II.11: Points de prélèvements dans l'estuaire de l'Aulne (S=0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 28, 30, 34).

Tableau II.3 : Dates et conditions de marée lors des campagnes de prélèvement dans l'estuaire de l'Aulne. Les débits ont été pris à la station de Châteaulin. La vitesse d'écoulement et le temps de résidence de l'eau en amont de l'estuaire ont été calculés avec les hauteurs d'eau à la station de Pont-Coblant.

| Dates de prélèvement | Débits journaliers (m ³ .s ⁻¹) | Marnage (m) | Coefficient de marée | Vitesse d'écoulement (m.s ⁻¹) |
|----------------------|---|-------------|----------------------|---|
| 12/12/2013 | 14,9 | 3,5 | 54 | 1,0 |
| 09/01/2014 | 157 | 3,3 | 50 | 1,1 |
| 10/02/2014 | 203 | 2,7 | 45 | 1,0 |
| 26/03/2014 | 42,6 | 3,3 | 55 | 0,5 |
| 23/04/2014 | 14,5 | 3,3 | 53 | 0,2 |
| 06/05/2014 | 13,4 | 2,7 | 44 | 0,1 |
| 05/06/2014 | 15,9 | 2,8 | 46 | 0,1 |
| 03/07/2014 | 6,9 | 3,8 | 62 | 0,1 |
| 22/07/2014 | 1,5 | 3,1 | 50 | 0,05 |
| 02/09/2014 | 4,7 | 3,3 | 50 | 0,04 |
| 02/10/2014 | 2,6 | 2,9 | 45 | 0,1 |
| 31/10/2014 | 6,1 | 3,3 | 52 | 0,4 |
| 15/12/2014 | 56,4 | 2,4 | 38 | 0,6 |



Figure II.12: A gauche le navire de station Hesione (INSU-CNRS-UBO). A droite, prélèvement d'un échantillon avec une bouteille Niskin.

II.3. Analyses des paramètres hydrologiques et biologiques

II.3.1. Paramètres hydrologiques

a. Température, salinité, conductivité, pH et potentiel redox

Lors de chaque prélèvement, nous avons mesuré la température, la salinité, la conductivité, le pH et le potentiel redox *in-situ* grâce à une sonde multi-paramètres préalablement calibrée (HANNA, HI 9828) avec des standards de pH (Hanna®, 4,01, 7,01, 9,18) et une solution de KCl (Hanna®, 1413 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$). Les précisions obtenues pour chacun des paramètres sont respectivement $\pm 0,15^\circ\text{C}$, $\pm 0,01$, $\pm 1\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, $\pm 0,02\text{pH}$, $\pm 1\text{mV}$.

b. Matière en suspension

Les échantillons d'eau (de 0,1 à 1 L) ont été filtrés sur des filtres de 0,45 μm (millipore®, HATF, 47 mm), préalablement lavés à l'eau acidifiée puis à l'eau milli-Q et séchés sous hotte à flux laminaire avant d'être tarés. Une fois la filtration effectuée, les filtres sont à nouveau séchés sous hotte à flux laminaire puis pesés. La différence entre la pesée et la tare permet de déterminer la masse de matière en suspension pour le volume filtré. La précision de la mesure est de $\pm 10\%$.

c. Eléments nutritifs

Des échantillons d'eau (125 mL) ont été filtrés par des filtres de 0,45 μm (millipore®, HATF, 47mm), conservés dans des flacons HDPE et stockés à -20°C jusqu'à l'analyse. Les concentrations en nitrates dans les eaux douces ont été analysées par chromatographie liquide d'exclusion de taille couplée à trois détecteurs; carbone, azote, et UV (LC-OCD-OND-UVD). Une intercalibration a été effectuée avec la méthode de référence par analyse automatique.

II.3.2. Paramètres biologiques

d. Chlorophylle a et phaeopigments

Les échantillons d'eau (entre 0,1 et 0,5 L) ont été filtrés immédiatement après prélèvement sur des filtres de 0,7 μm (Whatman GF/F, 25mm). Ces filtres ont été stockés et congelés à -20°C dans des piluliers en plastique. L'analyse est effectuée en utilisant une méthode fluorimétrique décrite par Neveux (1976). Les mesures sont réalisées avec un fluorimètre TURNER modèle III. La chlorophylle a et les phaeopigments sont extraits avec de l'acétone à 90 %. La fluorescence émise est mesurée à 670 nm suite à l'excitation des pigments chlorophylliens par un faisceau lumineux à 450 nm. La précision de la mesure est de $\pm 8\%$.

e. La matière organique particulaire (MOP) : azote et carbone (NOP, COP)

Les échantillons d'eau (entre 0,1 et 0,5 L) ont été filtrés sur de filtres de 0,7 μm (Whatman GF/F, 25mm). Ces filtres ont été, au préalable, calcinés (4h à 450°C) afin d'éliminer toute trace organique. Après filtration des échantillons, les filtres ont été conservés à -20°C , dans des piluliers en verre soigneusement lavés et également calcinés. Avant l'analyse, les filtres ont été séchés à l'étuve, décarbonatés pendant 3h à l'acide chlorhydrique fumant à 37%, puis séchés à nouveau. Les teneurs en carbone et azote organique particulaire ont été déterminées à l'aide d'un analyseur élémentaire « CHN » ThermoQuest-FlashEA. L'acétanilide a été utilisée comme étalon et une correction de « blanc » (filtre vierge traité au four) a été appliquée dans tous les cas. La précision sur la mesure est de $\pm 5\%$.

f. La matière organique dissoute (MOD)

Les échantillons d'eau ont été filtrés sur des filtres de 0,7 μm (Whatman GF/F, 25 mm) et conservés dans des flacons bruns préalablement calcinés (4h à 450°C) afin d'éliminer toute trace de matière organique. Les concentrations en Carbone Organique Dissous (COD) ont été déterminées par chromatographie liquide d'exclusion de taille (LC-OCD-OND-UVD). Cette technique représentant une partie originale du travail, elle sera détaillée dans le point II.4.2.

II.3.3. Les métaux dissous

a. Nettoyage du matériel

Pour les analyses des éléments traces, toute source de contamination doit être maîtrisée pour ne pas compromettre la qualité de la mesure. Pour ce faire, il est nécessaire de respecter certaines précautions :

- Le flaconnage utilisé pour les échantillons et étalons (tubes ELKAY, PP, 15 mL et FALCON, 50mL) est préalablement lavé à l'eau Milli-Q (qualité Élément®, R=18,2MΩ), puis lavé à l'eau acidifié (HNO₃, Suprapur®, Merck à 2-3% pendant 24h), et de nouveau rincé abondamment à l'eau milli-Q.

- Les filtres (HATF, 45 μm, 47mm) ont été soigneusement lavés et immergés dans un bain d'eau Milli-Q acidifiée (pH 2, HCl Suprapur®, Merck) pendant 3 jours, puis immergés une journée dans un bain d'eau Milli-Q et rincés à nouveau à l'eau Milli-Q.

- L'ensemble des manipulations au laboratoire ont été réalisées sous hotte à flux laminaire de classe 100.

b. Filtration « on-field »

Les échantillons d'eau sont filtrés sur des filtres de 0,45 μm (millipore®, HATF, 47mm), conservés dans des tubes en polypropylène de 15 mL et stockés à -20°C. Il est important de réaliser une filtration « on-field » car lorsque les échantillons ne sont pas filtrés directement après prélèvement, une diminution des concentrations, pendant leur stockage peu apparaître (Fig. II.13 ; Waeles *et al.*, 2015). A titre d'exemple, les concentrations en As, Mg, Na, Ca, Sr ne varient pas quel que soit le type de filtration (« on-field », 3h ou 24h après prélèvement). Cependant, pour les éléments comme le Fe, Al, Pb, Ti, on peut observer une grande différence de concentration selon le temps écoulé entre le prélèvement et la filtration. Plusieurs phénomènes peuvent être à l'origine de cette variation : adsorption sur les parois du tube, aggrégation des colloïdes, etc.

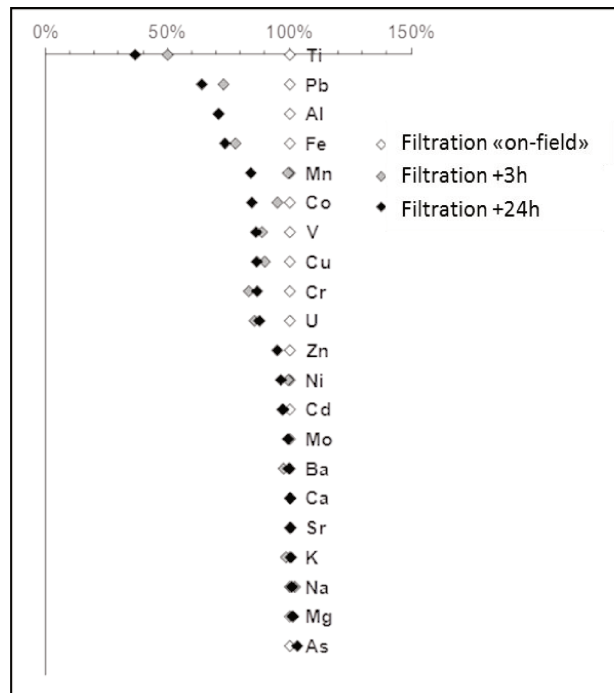


Figure II.13: Comparaison des concentrations des éléments dissous selon le type de filtration effectuée : « on-field », après filtration au laboratoire (3h et 24h après prélèvement)(d'après Waeles et al., 2015).

c. Conditionnement des échantillons et mesure du volume filtré

Avant l'analyse, les échantillons sont acidifiés à 2,5 % à l'aide d'une solution d'acide nitrique (HNO₃, 65%, Suprapur®, Merck). Cette étape permet (i) de désorber les métaux pouvant être éventuellement présents sur les parois afin de les faire passer en phase dissoute et (ii) de conditionner les échantillons pour l'analyse. Chaque tube a été pesé à sec après échantillonnage et après acidification à l'aide d'une balance de précision ($\pm 0,0001$ g, type PRESICA 40SM-200A) afin de connaître le volume d'eau filtré et le facteur de dilution.

d. Analyse des échantillons par ICP-MS

L'ICP-MS (Spectrométrie de Masse à plasma couplée à une torche à Plasma Inductif, Quad X-Series 2) est une technique de mesure par spectrométrie de masse couplée à une torche à plasma inductif. L'échantillon à analyser est pulvérisé sous forme d'aérosol dans une torche à plasma à très haute température (de 6000 à 10 000°C). Sous l'effet de la température, les éléments de l'échantillon s'ionisent et forment un plasma. Une partie de ce plasma est prélevée, accélérée, et éjectée dans un quadripôle qui constitue le filtre de masse. Le quadripôle permet, en fonction du réglage de sa fréquence, de ne transmettre que les ions correspondant au rapport masse sur charge souhaité. Avant l'analyse des échantillons, des étalonnages internes et externes doivent être réalisés. Les étalonnages internes correspondent aux réglages de l'appareil (température du plasma, stabilité du signal, etc.)

Les étalonnages externes sont réalisés à partir de gammes de standard composés des éléments à doser en concentrations connues.

e. Analyse des échantillons par ICP-Optique

L'ICP-Optique (Spectromètre d'Emission Optique couplé à une torche à Plasma Inductif, ULTIMA 2) permet l'analyse chimique quantitative d'éléments majeurs ainsi que le dosage de certains éléments traces. C'est une technique de spectrométrie optique basée sur l'ionisation de l'échantillon pour mesurer les éléments qui le composent. Les ions produits dans le plasma retournent à leur état fondamental en émettant des photons à des longueurs d'onde spécifiques selon les éléments. Le faisceau des photons produit par la désexcitation des ions est diffracté par un réseau, puis, grâce à des miroirs pivotants, une longueur d'onde spécifique peut être isolée et envoyée sur un capteur qui transforme le photon en intensité électrique.

f. Préparation des gammes d'étalonnage et validation de la méthode

Les gammes ont été réalisées dans le but de couvrir l'ensemble des concentrations attendues dans les eaux de rivières. Le choix des concentrations des standards est fondé sur une étude précédente effectuée dans notre laboratoire (Waeles *et al.*, 2015). Les niveaux de concentrations attendus sont présentés dans la figure ci-dessous.

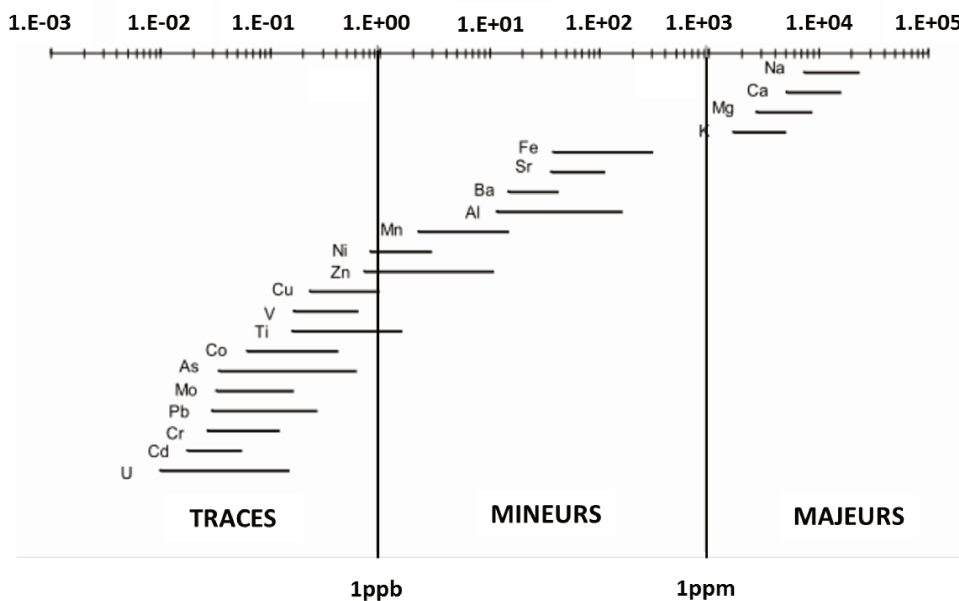


Figure II.14: Niveaux de concentration attendus dans les eaux douces.

Les standards ont été préparés à partir de solutions de référence mono-élémentaire pour les éléments les plus concentrés et multi-élémentaire pour les éléments les moins concentrés. Afin

d'éviter les sources d'incertitudes liées à la manipulation de petits volumes, un standard concentré a été réalisé dans un premier temps puis a été dilué à l'aide d'une solution d'acide nitrique à 2,5 %. Certains éléments ont une très bonne précision (>1%), comme le Mg, Ca, Sr, K, Mn et Na. Le Fe, Pb, Cu, Zn et Ni ont une précision inférieure à 3%. Les éléments tels que le Cr et le Cd ont des précisions moins bonnes, respectivement de l'ordre de 10% et 20% ; elles sont dues principalement à de plus faibles concentrations dans les échantillons, proches de la limite de détection.

g. Analyse du rapport isotopique $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$

Afin de mieux caractériser les sources des différentes familles des composés de la MOD étudiées, les rapports isotopiques du Sr ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) ont été utilisés comme traceur. L'analyse étant particulièrement longue, un certain nombre d'échantillons ont été sélectionnés puis analysés en utilisant la technique mise au point par Birck, (2001). Les modifications introduites par Négrel et Pauwels, (2004) pour les eaux de rivières ont été appliquées. 40 mL de filtrat sont pré-concentrés par évaporation à sec. Le résidu est repris avec 1mL d' HNO_3 4M qualité Quartex. Les différents éléments sont séparés du Sr par passage sur des colonnes chromatographiques remplies avec une résine Sr Spec[®] 100-150 ppm (Eliochrom[®]). Le passage d'une solution d' HNO_3 permet d'éluer l'ensemble des éléments fixés sur la résine, avant d'éluer la fraction contenant le Sr avec de l'eau Milli-Q[®] à 50°C. Après évaporation, des dépôts d'environ 500 ng pour chaque échantillon sont chargés sur des filaments de tungstène pur (99,95%) préalablement dégazés sous vide et recouverts d'1 mL d'activateur au Ta. Le résidu est repris avec quelques microlitres de HNO_3 , selon la concentration en Sr de l'échantillon de façon à ajuster le facteur de dilution. Les échantillons, les standards internationaux de références (1 μL de NIST 987, 125 ppm) et les blancs sont ensuite placés dans un Spectromètre de masse à thermo-ionisation ThermoFisher Scientific[®] Triton[®].

II.4. Analyse sélective de la MOD

Lors de ce travail, la matière organique a été évaluée de façon globale et sélective (spéciation). Concernant la spéciation de la MOD, deux approches nouvelles ont été développées. L'une consiste en la quantification des familles de composés de type glutathione (GSH-like), thioacétamide (TA-like) et des substances fulviques (FA-like) par une technique électrochimique développée récemment au laboratoire (Pernet-Coudrier *et al.*, 2013). L'autre est basée sur l'utilisation d'une technique de chromatographie liquide couplée aux détecteurs de carbone, azote et UV; la LC-OCD-OND-UVD, très peu utilisée en milieu marin (Huber, et al. 2011).

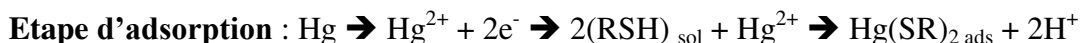
II.4.1. Analyse simultanée des composés de type substances fulviques (FA-like), glutathione (GSH-like) et thioacétamide (TA-like) par électrochimie

Différentes méthodes ont été développées pour quantifier la matière organique dissoute de type humique (AH) et/ou fulvique (AF) dans les eaux naturelles, sans avoir recours à des procédures d'extraction laborieuses. Ces méthodes exploitent principalement l'absorbance (UV-visible) ou la fluorescence caractéristique de ces substances (Mounier *et al.*, 1999 ; Mounier *et al.*, 2011 ; Tedetti *et al.*, 2012). Cependant, leur quantification à l'aide de ces techniques demeure incomplète car seule une partie de cette matière est détectée (Weishaar *et al.*, 2003). Sur la base d'une approche analytique différente, une méthode électrochimique a été développée pour quantifier les substances de type humique (AH) et/ou fulvique (AF) dans les eaux naturelles (Quentel *et al.*, 1985 ; Quentel, 1992 ; Chanudet *et al.*, 2006). Cette méthode, simple et rapide, est basée sur la redissolution cathodique (i.e. DP-CSV- *differentiel pulse cathodic stripping voltametry*) des complexes du molybdène (VI) et des acides humiques (AH) et/ou fulviques (AF), formés dans la solution et adsorbés sur l'électrode de travail (électrode à goutte de mercure), grâce à l'application d'un potentiel proche de -0,25V. Le signal mesuré en présence d'un excès de molybdène est directement relié à la quantité de ces composés dans l'échantillon.

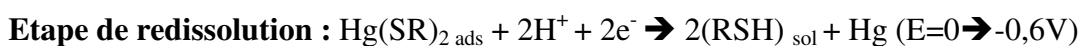
Cette méthode a été utilisée avec succès pour doser la matière organique dite « réfractaire » dans de nombreuses matrices telles que les eaux douces (Chanudet *et al.*, 2006 ; Chanudet et Filella, 2007 ; Filella *et al.*, 2013), les eaux usées (Filella *et al.*, 2009), mais également les eaux estuariennes et les eaux côtières (Waeles *et al.*, 2013).

La grande affinité des substances soufrées réduites (RSS) pour le mercure peut faciliter leur analyse en utilisant le même type de méthode. Différents travaux ont été entrepris pour l'étude des RSS dans les milieux aquatiques au pH naturel (Laglera et Tovar-Sanchez, 2012 ; Superville *et al.*, 2013 ; Murray *et al.*, 2014). Cependant la DP-CSV au pH du milieu est limitée par la coalescence des composés et par la présence des métaux qui peuvent, de par leurs propriétés complexantes, venir perturber la mesure. Cette méthode a été récemment modifiée avec succès dans notre laboratoire (Pernet-Coudrier *et al.*, 2013) afin de permettre l'analyse simultanée des composés de type FA-like ainsi que des composés de type glutathione (GSH-like) et de type thioacétamide (TA-like). L'acronyme utilisé pour nommer la famille de chacun des composés (X-like) est lié au fait que la quantification est dépendante de l'étalon utilisé. Ce choix a été effectué sur la base des recommandations de Filella (2014).

Le principe de l'analyse repose sur la formation des complexes avec le mercure (II) présent en solution (Monterroso-Marco et López-Ruiz, 2003). L'application d'un potentiel de 0,0 V par rapport à l'électrode de référence Ag/AgCl (KCl 3 M) pendant un temps donné (< 300 s) et sous agitation permet l'adsorption de complexes, ici groupés sous l'appellation « RSH », à la surface de la goutte de mercure selon :



Lors de l'étape de redissolution, l'agitation est arrêtée pour enlever toute convection en solution afin de permettre l'homogénéisation des composés déposés sur la goutte de mercure. Ensuite un balayage cathodique de potentiel en mode « différentiel – pulse » est effectué de 0,0 à -0,6 V ; il permet la redissolution des complexes déposés à l'électrode selon :



Les trois composés (GSH-like, TA-like et FA-like) peuvent être alors analysés de façon simultanée car chacun d'eux présente, dans les conditions de l'analyse, un pic à un potentiel spécifique et suffisamment séparé l'un par rapport à l'autre. La figure II.15 ci-après, présente à titre d'exemple un voltampérogramme obtenue sur un échantillon d'eau de mer filtrée et acidifiée (pH2).

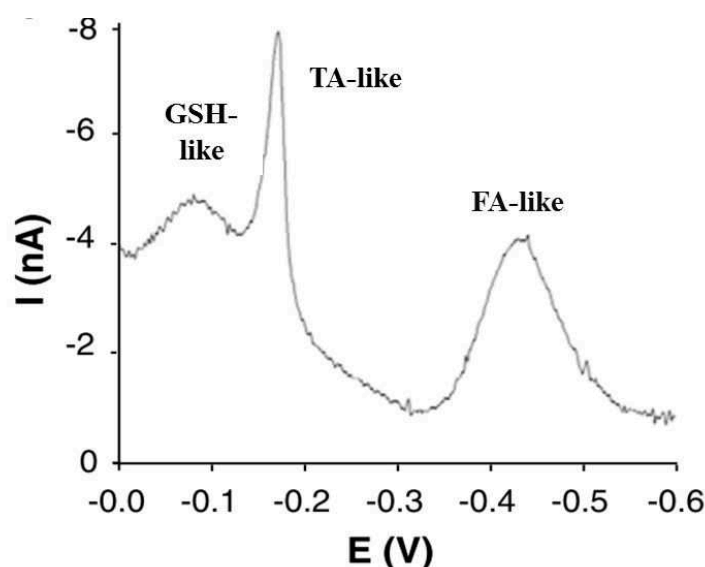


Figure II.15: Voltampérogramme représentant les pics de GSH-like, de TA-like et de FA-like dans un échantillon d'eau de mer.

Les voltampérogrammes ont été obtenus avec le montage présenté dans la figure II.16. L'électrode de travail est une électrode statique à goutte de mercure (SMDE), de type Metrohm 663 VA, avec une taille de goutte de mercure de 0,52 mm². Une électrode Ag/AgCl (3 mol.L⁻¹ KCl, Suprapur®, Merck) et une autre en Pt ont été utilisées comme électrode de référence et électrode

auxiliaire respectivement. Les mesures électrochimiques sont effectuées avec un potentiostat de type μ Autolab III contrôlé par le logiciel GPES 4,9.

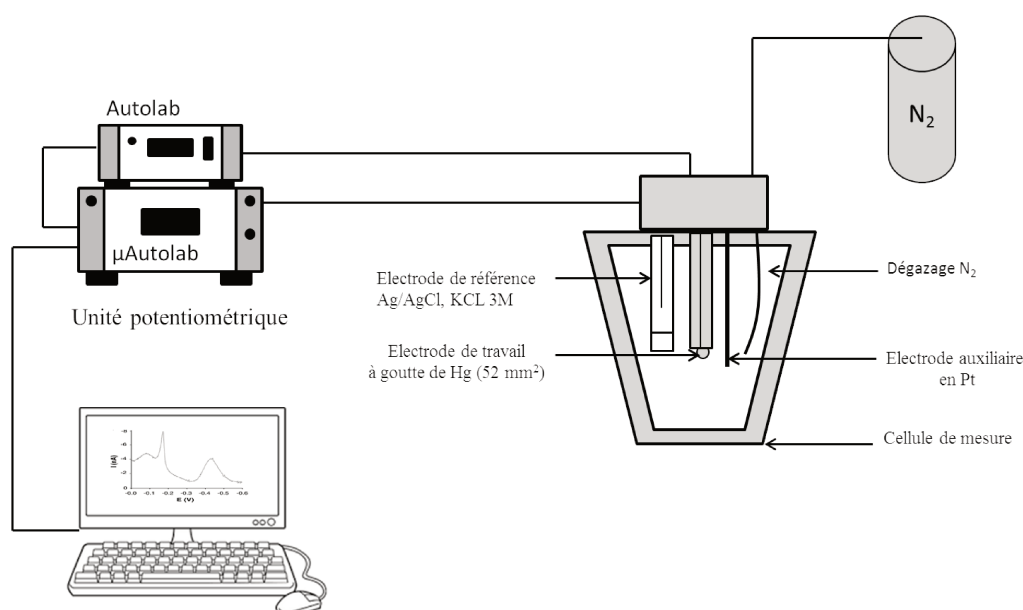


Figure II.16: Schéma du montage de la DP-CSV à goutte de mercure.

Cette méthode se révèle être simple, rapide, fiable, sans extraction préalable et surtout extrêmement sensible (tableau II.4).

Tableau II.4: Caractéristiques de la méthode DP-CSV (d'après Pernet-Coudrier *et al.*, 2013).

| Paramètre | | GSH-like | TA-like | FA-like |
|-------------------------------|-----------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| Répétabilité (n=11) | Moyenne | 0,25 nA | 1,52 nA | 1,79 nA |
| | sd | 0,008 nA | 0,049 nA | 0,048 nA |
| | %sd | 3,1 | 3,3 | 2,7 |
| Limite de détection | Td = 60s | 1 nmol.L ⁻¹ | 81 nmol.L ⁻¹ | 14 μgC.L ⁻¹ |
| | Td = 300s | 0,2 nmol.L ⁻¹ | 22 nmol.L ⁻¹ | 2 μgC.L ⁻¹ |
| Reproductibilité (n=8) | Moyenne | 5,6 nmol.L ⁻¹ | 723 nmol.L ⁻¹ | 203 μgC.L ⁻¹ |
| | sd | 0,4 nmol.L ⁻¹ | 86 nmol.L ⁻¹ | 13 μgC.L ⁻¹ |
| | %sd | 7 | 12 | 6 |

II.4.2. Adaptation de la méthode pour l'analyse dans les eaux douces

Lors de l'analyse des eaux douces avec de fortes concentrations en GSH-like, TA-like et FA-like, deux problèmes majeurs ont été observés (Fig. II.17) : a) les pics correspondants aux composés de type GSH-like et TA-like sont confondus, et b) il existe une saturation à la surface de la goutte de mercure en FA-like (>10 nA, Pernet-Coudrier *et al.*, 2013). Il faut noter que, même si la goutte de mercure est saturée par le complexe $[\text{Mo(V)-FA}]_{\text{ads}}$, les petites molécules, comme la glutathione et le thioacétamide, peuvent encore venir s'adsorber à la surface de la goutte (Pernet-Coudrier *et al.*, 2013).

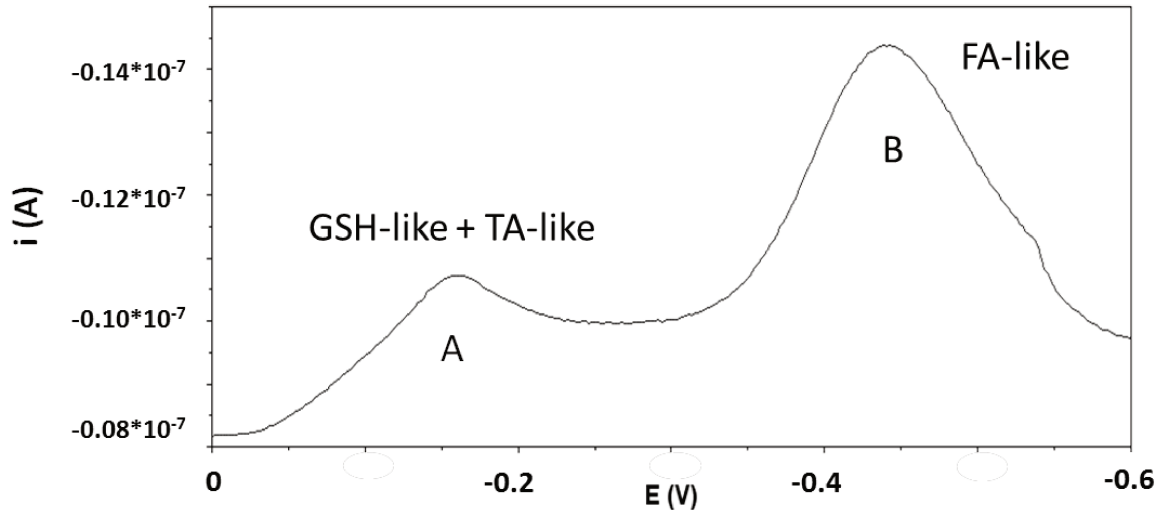


Figure II.17: Exemple d'une analyse dans un échantillon d'eau douce.

Afin de résoudre les deux problèmes simultanément sans passer par une dilution de l'échantillon, nous avons procédé à une diminution significative du temps de pré concentration (temps de dépôt) à la surface de l'électrode de travail. Cette stratégie permet de diminuer la quantité d'espèces déposées à l'électrode et donc de réduire l'importance du signal. Dans la figure II.18 nous présentons l'effet de la diminution du temps de dépôt de 60s à 10s sur les pics de GSH-like et TA-like sur un échantillon d'eau douce en provenance de la rivière de la Penzé. Nous pouvons observer qu'au fur et à mesure que le temps diminue les signaux correspondant aux deux types de composés (GSH-like et TA-like) sont de mieux en mieux séparés.

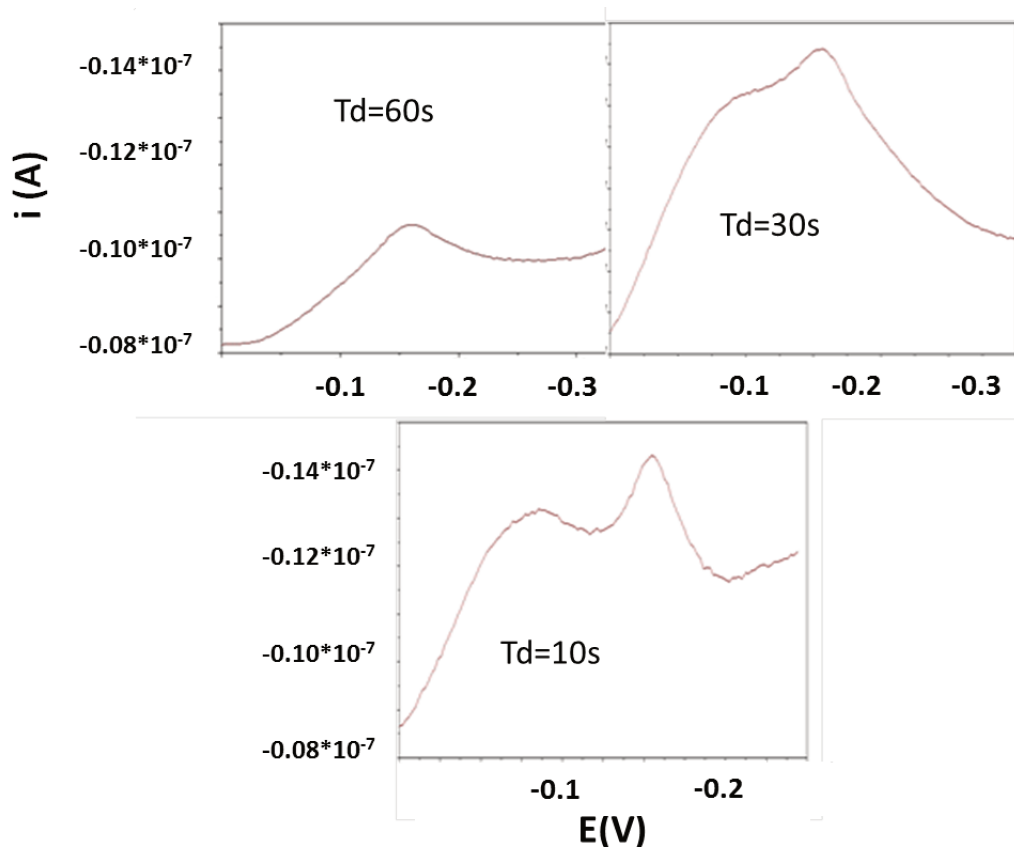


Figure II.18: Voltampérogrammes représentant les pics de GSH-like et TA-like à différents temps de dépôt dans un échantillon d'eau douce filtrée et acidifiée (pH 2) en provenance de la rivière de la Penzé.

Une fois le temps de dépôt optimisé, l'analyse est effectuée en utilisant la méthode des ajouts dosés ou d'additions standards (Fig. II.19). Pour quantifier ces composés, nous avons utilisé des standards de glutathione, de thioacétamide et d'acide fulvique. Les solutions standards mères de glutathione (3 mmol.L^{-1}) et de thioacétamide (10 mmol.L^{-1}) ont été préparées par dissolution de solides provenant de Sigma-Aldrich® avec de l'HCl (pH 2, Suprapur®, Merck®), stockées à 4°C à l'abri de la lumière et renouvelées chaque semaine. Les solutions standards de travail ($3\text{-}150 \text{ }\mu\text{mol.L}^{-1}$) ont été préparées par dilution de la solution mère dans de l'HCl (pH 2, Suprapur®, Merck®). Le solide SRFA-1S101F (IHSS) a été utilisé pour déterminer les concentrations en FA-like (composition en carbone : 55,54 wt%). La solution mère (468 mg.L^{-1}) a été préparée par dissolution du solide dans de l'eau supra pure (MQ) à pH 10 (NaOH, Traceselect®, Fluka®) et la solution de travail ($\sim 18 \text{ mg.L}^{-1}$) a été préparée en diluant la solution mère dans de l'HCl (pH 2, Suprapur®, Merck®) et renouvelée tous les mois. La solution de Mo(VI) ($10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) a été préparée dans de l'HCl ($10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$, Suprapur®, Merck) par dilution d'une solution standard ($10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ standard solution - Fluka®). Avant toute analyse, le pH a été ajusté à 1,95 par ajout de petites quantités d'une solution diluée d'HCl ($\sim 1 \text{ mol.L}^{-1}$) (Suprapur®, Merck). Afin d'éliminer toute trace d'oxygène, l'échantillon a été dégazé à l'azote pendant 10 min.

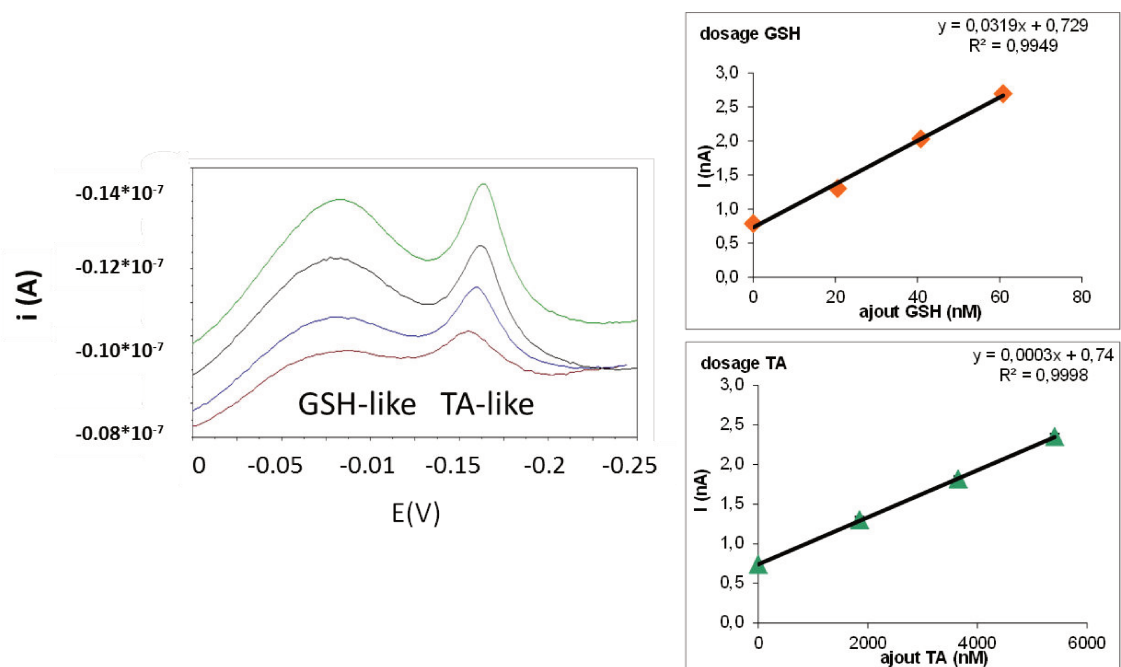


Figure II.19: Analyse simultanée de GSH-like et TA-like dans un échantillon d'eau douce filtrée et acidifiée (pH 2) en provenance de la rivière de la Penzé ($[GSH-like] = 23 \text{ nM}$; $[TA-like] = 2500 \text{ nM}$).

Dans certain cas, malgré des temps de dépôt très faibles (de l'ordre de 5 secondes), la séparation des pics des deux composés n'est pas suffisamment importante pour pouvoir faire une analyse simultanée. Il est alors envisageable, toujours sur une même prise d'essai, de faire des ajouts d'un composé d'abord, puis de l'autre, une fois l'analyse du premier terminé. La figure II.20 présente un exemple d'analyse avec des ajouts séparés dans une même prise d'essai.

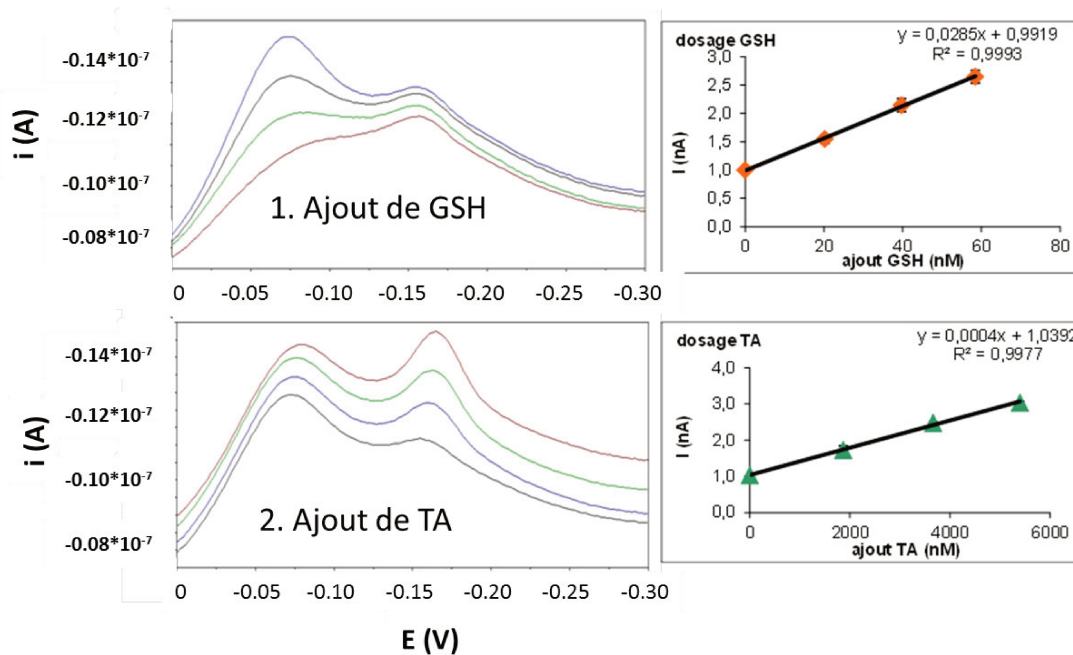


Figure II.20: Analyses successives de GSH-like et TA-like d'un échantillon d'eau douce filtrée et acidifiée (pH 2) en provenance de la rivière de l'Aulne ($[GSH-like] = 35 \text{ nM}$; $[TA-like] = 2800 \text{ nM}$).

Concernant la saturation de la surface de la goutte de mercure en FA-like, la diminution du temps de dépôt ne permet pas d'apporter une solution analytique exploitable. Dans ce cas, il est impératif de diluer l'échantillon avec de l'eau Milli-Q acidifiée (pH 2). La figure II.21 présente un exemple de dosage des FA-like dans un échantillon dilué 100 fois par la méthode des ajouts dosés. Les concentrations sont exprimées en mgC.L^{-1} afin de pouvoir comparer nos résultats avec la littérature.

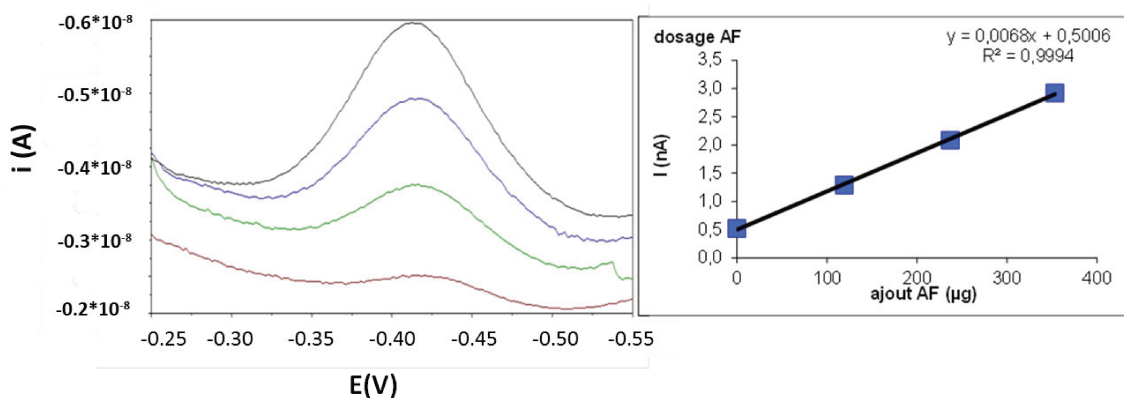


Figure II.21: Analyse des FA-like dans un échantillon d'eau douce filtrée, acidifiée (pH 2) et diluée 100 fois en provenance de la rivière de l'Aulne ($[\text{FA-like}] = 4.2 \text{ mgC.L}^{-1}$).

II.4.3. Chromatographie liquide couplée aux détecteurs de carbone, azote et UV (LC-OCD-OND-UVD)

a. Principe de la LC-OCD-OND-UVD

Malgré un nombre très important d'études effectuées sur la MOD et appuyées par de nombreuses techniques analytiques, sa composition n'est pas encore complètement élucidée. Récemment, une approche analytique fondée sur la chromatographie liquide d'exclusion de taille couplée à trois détecteurs ; carbone, azote, et UV (LC-OCD-OND-UVD) a été développée afin de déterminer l'empreinte digitale de la MOD dans le cas particulier du traitement de l'eau (Huber *et al.*, 2011). Le schéma analytique est présenté sur la figure II.22.

L'échantillon élué dans un tampon phosphate (pH=6,8), préalablement irradié afin d'éviter tout risque de contamination organique, est filtré à $0,45\mu\text{m}$ avec un filtre « on line » avant de rentrer dans le circuit analytique. 90% de l'échantillon passe ensuite dans une colonne d'exclusion stérique faite d'un gel polyméthacrylate hautement hydrophobe. Les petites molécules diffusent à l'intérieur des pores de la phase stationnaire tandis que les plus grandes continuent leur chemin. Dans notre cas particulier, deux colonnes chromatographiques d'exclusion stérique sont nécessaires. Ceci est lié à la présence d'importantes quantités de sel, notamment pour nos échantillons marins. Le 10%

restant de l'échantillon, appelé « DOC in Bypass » (Fig. II.22), ne passe pas par la colonne mais continue le circuit analytique, et permet de quantifier le COD et l'absorption UV spécifique (SUVA).

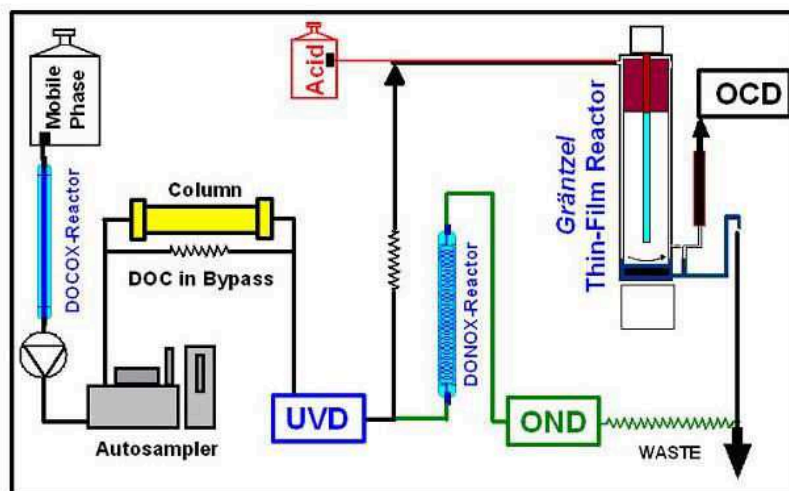


Figure II.22: Schéma analytique de la LC-OCD-OND-UVD (d'après Huber et al., 2011).

Après passage par la colonne, l'échantillon traverse un détecteur UV à 254 nm qui permet de déterminer l'absorption UV spécifique (SUVA) des différentes fractions. Cette mesure est non destructive pour la suite de l'analyse. Suivant son parcours, l'échantillon est à nouveau fractionné ; 2/3 de celui-ci s'achemine vers le détecteur de carbone et 1/3 vers le détecteur d'azote. La première partie de l'échantillon (2/3) traverse le réacteur UV de type Grantzel (Fig. II.22), qui va transformer le carbone organique en CO_2 permettant l'analyse du carbone organique dans les différentes fractions. Avant de traverser le réacteur, l'échantillon est acidifié, ceci afin de transformer les différentes formes de carbone inorganique en CO_2 et d'être éliminées avant l'analyse. La mesure de CO_2 est effectuée par un détecteur infrarouge.

La deuxième partie de l'échantillon (1/3) est irradiée afin de transformer toutes les formes d'azote en nitrates. C'est sous cette forme que sera déterminée la concentration d'azote dans les différentes fractions. Les nitrates sont ensuite analysés par le détecteur d'azote à une longueur d'onde de 220 nm.

En résumé, en plus de la mesure globale de COD, cette méthode permet aussi de séparer et de quantifier 6 fractions de la MOD de tailles et de natures différentes. Parmi ces fractions, on retrouve : les biopolymères (BP), les substances humiques (SH), les buildings blocks (BB), les molécules de petits poids moléculaires acides (LMWA) et neutres (LMWN). Une sixième fraction, la fraction hydrophobe, qui est fortement retenue sur la colonne est également quantifiée. En effet

elle est déterminée par la différence entre le COD total de l'échantillon et la somme du COD des cinq fractions hydrophiles.

Le détecteur d'azote permet également d'analyser d'autres formes azotées telles que les nitrates, l'urée et l'ammonium. Il s'agit des petites molécules qui sortiront en fin de chromatogramme.

Le tableau II.5 présente quelques caractéristiques spécifiques de chaque fraction analysée (Baghoth *et al.*, 2008 ; Huber *et al.*, 2011).

Tableau II.5: Caractéristiques des fractions quantifiées par la méthode LC-OCD-OND-UVD.

| Fraction | Poids moléculaire (Da) | Propriétés | Description |
|--|------------------------|---|---|
| Biopolymères (BP) | 1000-20 000 | Hydrophiles Peu d'absorption UV | Polysaccharides et protéines Matière organique biogénique |
| Substances humiques (SH) | 800 – 1000 | Forte absorption UV | SH Suwannee river (IHSS) |
| Building blocks (BB) | 350 – 600 | Absorption UV | Produits de dégradation de SH |
| Acides faible poids moléculaire (LMWN) | >350 | Chargés négativement | Acides organiques aliphatiques Matière organique biogénique |
| Neutres faible poids moléculaire (LMNA) | >350 | Faiblement chargés ou neutre. Hydrophiles | Alcools, aldéhydes, cétones, acides aminés. Matière organique biogénique |

b. Calibration de la méthode

Les détecteurs de carbone (OCD) et d'UV (UVD) ont été calibrés avec de l'hydrogénéphthalate de potassium ($C_8H_5KO_4$, Fluka, #60359) (Huber *et al.*, 2011). En effet, sa masse en carbone a été utilisée pour calibrer le carbone organique dissous (COD) et son coefficient d'extinction à 254 nm a été utilisé pour étalonner le détecteur d'UV. Le détecteur d'azote (OND) a été calibré avec du nitrate de potassium. La phase mobile utilisée est un tampon phosphate (pH 6,85 : 2,5 g KH_2PO_4 + 1,5 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$, Fluka, #30407 + #30412). La solution d'acidification a été préparée en ajoutant 4 mL d'acide o-phosphorique (85%, Fluka #79620) et 0,5 g de persulfate de potassium (Fluka, #60489) dans 1L d'eau déionisée. Pour calibrer les substances humiques, les poids moléculaires des standards d'acide humique (SRHA) et d'acide fulvique (SRFA) de la rivière de Suwannee (IHSS) ont été utilisés (Averett *et al.*, 1994). L'acquisition et le traitement des données

ont été réalisés avec un logiciel adapté et personnalisé (ChromCALC, DOC-LABOR, Karlsruhe, Allemagne).

Les résultats de la LC-OCD-OND-UVD s'interprètent à partir de chromatogrammes dont la morphologie évolue avec les variations des concentrations des différentes fractions séparées sur la colonne d'exclusion stérique. La figure II.23 présente les différents chromatogrammes d'un échantillon de la rivière de la Penzé prélevé en octobre 2014, en respectant le protocole établi précédemment.

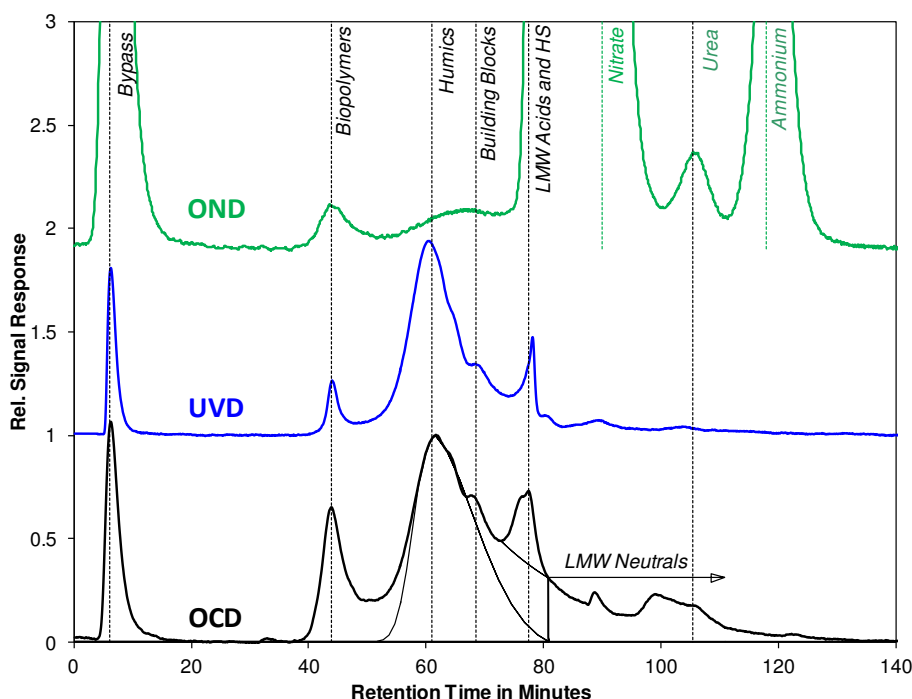


Figure II.23: Chromatogrammes obtenus après analyse d'un échantillon de la rivière de la Penzé en octobre 2014 (les trois signaux: C_{org} , N_{org} et UV ont été positionnés dans des échelles relatives différentes afin d'améliorer la lisibilité du graphe).

L'allure du chromatogramme est caractéristique des eaux de rivières ; il est tout à fait comparable à celui présenté par Huber *et al.* (2011) dans la rivière Pfinz en Allemagne. On notera cependant des différences significatives dans les concentrations de différentes formes azotées en particulier (nitrates, urée et ammonium) dans les deux systèmes.

Une fois l'étalonnage et l'intégration des pics de chaque chromatogramme effectués, le logiciel fournit les résultats sous la forme d'un tableau très complet. Dans celui-ci, toutes les informations venant de chacun des détecteurs ainsi que d'autres calculs possibles (i.e. concentration des formes hydrophobes, concentration des formes hydrophiles, rapports N/C dans certaines fractions, % des protéines dans les biopolymères, etc.) est présenté. Le tableau II.5, ci-

après, montre à titre d'exemple, les résultats des analyses concernant deux échantillons : l'un de la rivière de la Penzé et l'autre du système de référence (Saint Rivoal) pour l'ensemble des composés et des familles de composés analysés.

Tableau II.5: Informations analytiques obtenues par LC-OCD-OND-UVD des deux échantillons en octobre 2014 ; la Penzé et le système de référence le Saint Rivoal.

| Project: | DOC | | | Approx. Molecular Weights in g/mol: | | | | | | | | | | Inorg. Colloid. | SUVA (SAC/DOC) (m ⁻¹) L/(mg*m) | | | | |
|---------------------|-----------|-------|-------|-------------------------------------|------------|---------------------------------|-------------------------|-------------|------------|-----------------|-----------------------|-----------------|--------|-----------------|--|----------|-------|--|--|
| | Dissolved | HOC* | CDOC | >>20.000 | | ~1000 (see separate HS-Diagram) | | | | 300-500 | | <350 | | | | <350 | | | |
| | | | | BIO- | | Humic | | | | Building Blocks | | LMW | | | | LMW | | | |
| | | | | polymers | DON (Norg) | N/C | % Proteins in BIOpol.** | Subst. (HS) | DON (Norg) | N/C | Aromaticity (SUVA-HS) | Mol-Weight (Mn) | Blocks | | | Neutrals | Acids | | |
| ppb-C | ppb-C | ppb-C | ppb-C | ppb-N | ug/ug | % BIOpol. | ppb-C | ppb-N | ug/ug | L/(mg*m) | g/mol | ppb-C | ppb-C | ppb-C | | | | | |
| | % DOC | % DOC | % DOC | % DOC | ppb-C | ppb-N | ug/ug | % DOC | ppb-C | ppb-N | ug/ug | L/(mg*m) | g/mol | % DOC | % DOC | % DOC | | | |
| CAMELEON | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Penzé | 5435 | 1406 | 4029 | 460 | 75 | 0.16 | 49 | 1746 | 102 | 0.06 | 3.36 | 410 | 596 | 911 | 316 | 0.80 | 2.19 | | |
| Oct. 2014 | 100% | 25.9% | 74.1% | 8.5% | -- | -- | -- | 32.1% | -- | -- | -- | -- | 11.0% | 16.8% | 5.8% | -- | -- | | |
| Saint-Rivoal | 1008 | 197 | 811 | 30 | 4 | 0.12 | 36 | 484 | 21 | 0.04 | 4.33 | 466 | 138 | 159 | n.q | 0.02 | 3.34 | | |
| Oct. 2014 | 100% | 19.5% | 80.5% | 3.0% | -- | -- | -- | 48.0% | -- | -- | -- | -- | 13.7% | 15.8% | | -- | -- | | |

LMW = low-molecular weight
 DON = Dissolved organic nitrogen
 n.q. = not quantifiable (< 1ppb; signal-to-noise ratio)
 n.m. = not measured
 **:under the presumption that all org. N in the BIOpolymer fraction originates from proteins

On peut noter tout d'abord une nette différence entre la concentration en carbone organique dissous des deux systèmes. En effet les valeurs sont de 5,4 et 1,0 mgC.L⁻¹ pour la Penzé et la rivière de Saint-Rivoal respectivement. Pour ce qui est des six familles de composés caractérisées par la méthode (Tableau II.5), les résultats indiquent que le pourcentage de substances humiques est plus important (≈ 15%), dans la rivière de référence tandis que la part de biopolymères serait plus élevée (≈ 5%) dans la Penzé. En ce qui concerne le pourcentage en composés hydrophobes, il est plus important dans la Penzé (≈ 26%) que dans la rivière de référence (≈ 19%). Par ailleurs les composés acides de faible poids moléculaire représentent environ 6% dans la Penzé et ils ne sont pas détectés (< 1 ppb) dans le système de référence. Pour les autres familles, les « building blocks » et les composés neutres de faible poids moléculaire, les résultats obtenus sont sensiblement proches.

Finalement, la figure II.24 permet de classer dans un diagramme aromaticité vs poids moléculaire les substances humiques des échantillons analysés. D'une manière générale, on peut noter que les substances humiques sont riches en composés aromatiques ; elles présentent néanmoins un relativement faible poids moléculaire. Une différence significative en aromaticité et en poids moléculaire peut être observée entre les deux échantillons.

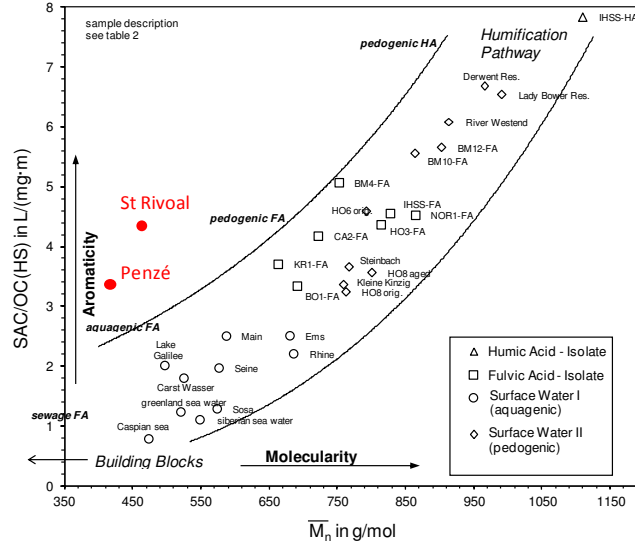


Figure II.24: Diagrammes des substances humiques: Aromaticité versus Poids moléculaire.

II.5. Calculs de flux et analyses statistiques

a. Calculs de flux

Trois types de flux annuels ont été quantifiés: les flux sortant de la rivière, les flux entrant et sortant de l'estuaire. Les flux annuels de GSH-like ($t \cdot \text{an}^{-1}$), TA-like ($t \cdot \text{an}^{-1}$) et FA-like ($tC \cdot \text{an}^{-1}$) ont été calculés en utilisant la concentration moyenne pondérée du débit annuel (DWM = Discharge Weighted Mean en $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) (Filoso *et al.*, 2003) qui est considérée comme étant l'une des méthodes les plus précises (Moatar et Meybeck, 2005).

$$DWM = \frac{\sum Ci \bar{Q}_i}{\sum \bar{Q}_i} \quad (1)$$

où C_i ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) représente la concentration mesurée (écoulement instantané i), Q_i ($\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$) est le débit moyen calculé pour la période p entourant l'échantillonnage i (de $i - p/2$ à $i + p/2$). Ensuite, le flux annuel a été évalué en utilisant la DWM ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) avec Q_j ($\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$), le débit moyen annuel.

$$F = [DWM][Q_j] \quad (2)$$

Afin d'estimer les pertes le long du gradient salé, des tangentes aux courbes $C=f(S)$ à $S=35$ ont été calculées en utilisant la méthode d'Officer (1979), et ont permis la détermination des concentrations théoriques C^0 à $S=0$. Enfin, les flux sortant de l'estuaire ont été estimés avec les équations (1) et (2).

b. Critères de décision pour l'attribution d'un comportement conservatif ou non conservatif dans la zone de mélange estuarienne

Après avoir tracé les concentrations de GSH-like, TA-like et FA-like en fonction de la salinité, le comportement conservatif ou non-conservatif le long du gradient salé a été testé en traçant un modèle linéaire ($Y = aS + b$) et un modèle polynomial du second ordre ($Y = a'S^2 + b'S + c$) pour chaque mois de l'année. Afin de déterminer lequel de ces deux modèles est le mieux approprié aux données, un test de Fisher a été réalisé (Rochelle-Newall et Fisher, 2002). F_{exp} est calculé selon la formule suivante :

$$F_{exp} = \frac{\left(\frac{SS_1 - SS_2}{p_2 - p_1}\right)}{\left(\frac{SS_2}{(n - p_2)}\right)} \quad (3)$$

Où SS_2 et SS_1 correspondent à la somme des carrés des résidus, p_2 au nombre de paramètres du modèle de second ordre, p_1 au nombre de paramètres du modèle linéaire et n au nombre de points. Si le $F_{th} < F_{exp}$ ($\alpha=0,10$), alors le modèle linéaire est mieux ajusté aux données que le modèle du second ordre (i.e. le comportement est dit conservatif). Si $F_{exp} > F_{th}$, alors le comportement est dit non-conservatif.

c. Analyses statistiques

L'analyse en composantes principales (ACP) est l'une des méthodes statistiques multivariées qui permet de mettre en évidence des similarités ou des oppositions entre variables. Elle permet également de repérer les variables les plus corrélées entre elles en réduisant la complexité des variables d'entrées à partir d'un volume d'informations important. De nouvelles variables appelées « composantes principales » sont identifiées comme représentatives de la variance du système étudié. Des matrices de corrélation de Pearson (relation linéaire) et de Spearman (relation entre le rang) ont également été réalisées en utilisant le package « Hmisc ». Dans cette étude, les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel Statistica (v. 10.0) ou avec le logiciel R (R Development Core Team, 2013).

Afin de définir la distribution de l'échantillon, i.e. la normalité, un test de Shapiro-Wilk a été utilisé. Dans le cas de ce travail, les séries d'échantillons ne respectent ni les conditions de normalité, ni celles d'homoscédasticité. Des tests non paramétriques, le test de Kruskal-Wallis quand $n > 2$ et le test de Wilcoxon quand $n = 2$ ont donc été appliqués. Ces tests permettent d'affirmer

si « n » échantillons sont significativement différents entre eux par comparaison de sommes de rang. Le calcul ne porte pas sur les valeurs numériques des mesures issues des échantillons représentatifs des populations, mais sur leurs rangs attribués suite au classement des valeurs par ordre croissant. On s'affranchit ainsi des conditions de normalité des distributions et d'homogénéité des variances indispensables à la fiabilité des tests paramétriques. Si la p-value est telle que l'on doit rejeter l'hypothèse H_0 (si $p < 0.05$), alors au moins un échantillon est différent d'un autre. Afin d'identifier quels échantillons sont responsables du rejet de H_0 , il est possible d'utiliser une procédure de comparaisons multiples. Un test Post Hoc (test de Kruskal-Mc) est alors appliqué.

**Chapitre III : Sources et dynamiques des
composés soufrés réduits, des
substances humiques et du carbone
organique dissous dans une rivière
tempérée affectée par les pratiques
agricoles**

III.1. Contexte

Une part importante de la MOD transportée depuis les continents vers les milieux aquatiques est composée de molécules stables, dites « réfractaires » : les substances humiques (SH et/ou FA-like), selon la nomenclature utilisée. Elles résultent de la transformation physique, chimique et microbiologique des résidus végétaux et animaux. Les composés soufrés réduits (Reduced Sulfur Substances, RSS), une autre fraction de la MOD, ont suscité un grand intérêt pour leur fort pouvoir complexant envers les métaux. Ils sont de ce fait, susceptibles de jouer un rôle essentiel dans la spéciation et la toxicité des métaux dans les systèmes aquatiques. Cependant, l'identification des sources et les études sur le comportement de ces familles de composées ont été peu développées en raison du manque de méthodes analytiques spécifiques.

Dans ce chapitre qui est présenté sous la forme d'un article publié en 2015 (*Marie, L ; Pernet-Coudrier, B ; Waeles, M ; Gabon, M et Riso, R. - Science of the Total Environment ; 537 : 23-32*), nous avons suivi pour la première fois, le comportement du COD, des SH et des RSS (GSH-like et TA-like) dans la rivière de la Penzé (Bretagne, France). Pour cela, les deux techniques analytiques précédemment décrites, l'une électrochimique et l'autre chromatographique, ont été utilisées. Dans le cas particulier de la chromatographie, seules les données de COD et de SH ont été utilisées.

Les objectifs étaient : (i) de déterminer la dynamique annuelle du COD, des RSS et des SH dans cette rivière tempérée et impactée par les activités agricoles, (ii) d'étudier les sources de ces composés et (iii) de quantifier leurs flux vers le milieu côtier.

III.2. Article 1



Dynamics and sources of reduced sulfur, humic substances and dissolved organic carbon in a temperate river system affected by agricultural practices



Lauriane Marie, Benoît Pernet-Coudrier*, Matthieu Waeles, Marine Gabon, Ricardo Riso

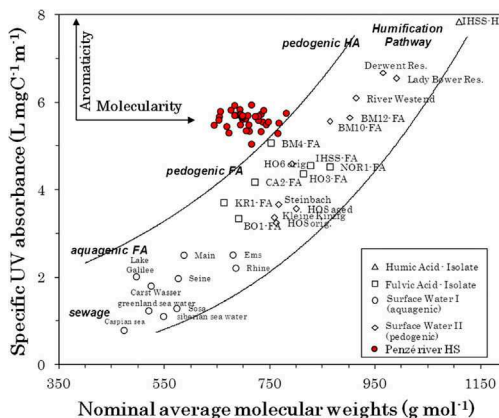
Université Européenne de Bretagne, Brest, France

Université de Bretagne Occidentale, IUEM, LEMAR, UMR-CNRS 6539, groupe Chimie Marine, place N. Copernic, 29280 Plouzané, France

HIGHLIGHTS

- Thiols and dissolved organic carbon were measured in an agricultural river over 1 year.
- Humic substances were washed out from the soil mainly during the floods.
- Thioacetamide-like compounds had a clear groundwater source.
- Glutathione had 2 sources linked to primary productivity and bacterial degradation.
- DOC flux was 280 tC/year and HS, TA and GSH account for 60, 13 and 4% of the DOC flux, respectively.

GRAPHICAL ABSTRACT



ARTICLE INFO

Article history:

Received 19 June 2015

Received in revised form 17 July 2015

Accepted 17 July 2015

Available online xxx

Editor: D. Barcelo

Keywords:

Annual flux

Dissolved organic matter

Fulvic acid

Glutathione

Origin

Thioacetamide

Thiols

ABSTRACT

Although reduced organic sulfur substances (RSS) as well as humic substances (HS) are widely suspected to play a role in, for example, metal speciation or used as a model of dissolved organic carbon (DOC) in laboratory studies, reports of their quantification in natural waters are scarce. We have examined the dynamics and sources of reduced sulfur, HS and DOC over an annual cycle in a river system affected by agricultural practices. The new differential pulse cathodic stripping voltammetry was successfully applied to measure glutathione-like compounds (GSHs), thioacetamide-like compounds (TAs) and the liquid chromatography coupled to organic detector to analyze HS and DOC at high frequency in the Penzé River (NW France). The streamflow-concentration patterns, principal components analysis and flux analysis allowed discrimination of the source of each organic compound type. Surprisingly, the two RSS and HS detected in all samples, displayed different behavior. As previously shown, manuring practice is the main source of DOC and HS in this watershed where agricultural activity is predominant. The HS were then transferred to the river systems via runoff, particularly during the spring and autumn floods, which are responsible of >60% of the annual flux. TAs had a clear groundwater source and may be formed underground, whereas GSHs displayed two sources: one aquagenic in spring and summer probably linked to the primary productivity and a second, which may be related to bacterial degradation. High sampling frequency allowed a more accurate

* Corresponding author at: Université de Bretagne Occidentale, IUEM, LEMAR, UMR-CNRS 6539, groupe Chimie Marine, place N. Copernic, 29280 Plouzané, France.
E-mail address: benoit.pernet-coudrier@univ-brest.fr (B. Pernet-Coudrier).

assessment of the flux values which were 280 tC y^{-1} for DOC representing $20 \text{ kgC ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$. HS, TAs and GSHs fluxes represented 60, 13, and 4% of the total annual DOC export, respectively.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Dissolved organic matter (DOM) is formed from the decay of intact or remnant and transformed compounds released from living and decaying biota. Because it participates in many biogeochemical processes in the environment, i.e. photochemical reactions, metal complexation, microbial growth, and nutrient and contaminant transport, DOM is an important component of marine and terrigenous aquatic ecosystems. Therefore, determining its composition and reactivity is essential for understanding environmental processes, for example metal complexation. Moreover, the riverine export of DOM through estuaries has a major impact on the biogeochemical cycles in the coastal ocean (Canuel et al., 2012; Hansell and Carlson, 2002; Volkman, 2006). Despite its importance, the composition and fate of riverine DOM have been poorly determined and remain one of the major concerns in contemporary biogeochemistry (Bianchi, 2011).

A significant proportion of riverine DOM is composed of more stable compounds produced either in the soil or in the water body. Because of their resistance to degradation, these compounds are sometimes called refractory organic matter (ROM), but they are most often referred to as humic acids (HA), fulvic acids (FA) or humic substances (HS). As mentioned recently (Filella, 2014), although HS are the most widely used type of DOM in laboratory studies, attempts to quantify them in natural waters are scarce. The only quantification method that will theoretically allow measurement of 'true' HA and FA concentrations should be based on exactly the same fractionation procedure used in defining them. However this requires large volumes of water, and is tedious and time-consuming, so is rarely used. Due to an update of an old electroanalytical method (Quentel et al., 1986), a few studies of the HS behavior in the aquatic environment have appeared (Chanudet and Filella, 2007; Filella et al., 2013; Waeles et al., 2013).

Besides, reduced sulfur substances (RSS), particularly thiols have aroused interest mainly because they are important complexing ligands for metals and therefore significantly control the speciation of many trace elements in natural waters by competing with other potential binders such as HS (Buffle, 1988). Thiols are ubiquitous at the mmol level in intracellular media and participate in a wide range of biochemical reactions due to their detoxifying effect as metal ligands and reactive oxygen species scavengers (Jacob et al., 2003). It was long assumed that the concentration of thiols would be quite low or even below detection in oxic waters as these compounds are readily oxidized (Abedinzadeh et al., 1989; Winterbourn and Metodiewa, 1999), easily metabolized by bacteria (Visscher and Taylor, 1993) and/or quickly photo-oxidized (Laglera and van den Berg, 2006; Moingt et al., 2010). It has been demonstrated, however, that thiols like glutathione may be stabilized via metal complexation or even DOM conjugation (Moingt et al., 2010; Tang et al., 2004). Most studies reporting on thiols in aquatic systems have been conducted on marine, estuarine and coastal environments, and have generally found a correlation between some thiols and indicators of phytoplankton abundance, particularly chlorophyll (Chl-*a*) concentration (Al-Farawati and van den Berg, 2001; Dupont et al., 2006; Laglera and van den Berg, 2003; Le Gall and van den Berg, 1993; Tang et al., 2000, 2004). Only three studies have reported thiols in freshwater: Connecticut lakes (Hu et al., 2006), the St Lawrence system (Moingt et al., 2010) and one focusing on sediment porewater in a wetland area (Zhang et al., 2004).

Determination of the individual components of RSS mixtures in the range pmol L^{-1} to $\mu\text{mol L}^{-1}$ may be performed using high performance liquid chromatography (HPLC) after derivatization (Dupont et al., 2006; Tang et al., 2003, 2004). However, uncertainty about the recovery rates

and the common presence of unidentified thiol peaks may pose some concern about the ability of HPLC to determine the overall concentration of RSS. The huge affinity of reduced sulfur for mercury facilitates the analysis of RSS using cathodic stripping voltammetry (CSV) with mercury electrodes. However, CSV is severely limited by coalescence at neutral pH, i.e. thiol peaks merge together at environmental pH. Recent electroanalytical improvements by way of cathodic pseudopolarography (Laglera et al., 2014; Laglera and Tovar-Sanchez, 2012), enabled the characterization and quantification of individual components of RSS mixtures at neutral pH. The duration of the analysis (several h per sample) is, however, too restrictive for environmental applications. Nevertheless it has been shown recently that acidification of the samples to pH 1.95 and addition of molybdenum (VI) allow the rapid and direct simultaneous identification and quantification of glutathione (GSH), thioacetamide (TA) and HS using differential pulse CSV (DP-CSV) (Pernet-Coudrier et al., 2013).

In this study, we investigated the behavior of DOC, HS and RSS in the Penzé River (NW France) using DP-CSV and liquid chromatography coupled to an organic carbon detector. Despite its low discharge regime, this river can be regarded as a typical temperate system affected by agricultural practices (Waeles et al., 2005, 2013). Moreover, studies on such small watersheds over a wide range of hydrologic conditions also allow understanding relative short-term components of carbon cycling (Dalzell et al., 2005). Therefore, the Penzé River had been sampled at high frequency over a 1 year period (45 sampling campaigns in 2012) in order to take into account the potential strong variability. To our knowledge, such an approach has not been undertaken before. Our objectives were to (i) determine the annual dynamics of DOC, RSS and HS in this kind of temperate river system affected by agricultural activity, (ii) to examine the sources of these compounds and (iii) to assess their flux towards the coastal area.

2. Material and methods

2.1. Study area

The Penzé River (N Brittany, France) has a drainage area of 141 km^2 and is 28 km long, with an estuary of 10 km (Fig. 1). This river system collects the water from a poorly industrialized catchment but where extensive agricultural activity has been developed for decades. Soil occupancy is mainly agricultural with arable and permanently cultivated areas representing 36% and heterogeneous agricultural areas accounting for 33%. Meadows (7%), moor and peat bogs (3%) and forests (0.7%) are the remaining non urbanized areas. Agricultural activity consists mainly of farming and vegetable cultivation. The water discharge at the village of Penzé usually fluctuates in the range $0.6\text{--}14.5 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ with an average of $2.8 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ during the 1967–2013 period. Evolution of the water discharge in the system is constrained by a temperate oceanic climate and, as a result, 60% of the annual flow generally occurs in the December–March period.

2.2. Sampling and in situ measurements

The river was sampled during one hydrological year from 05/01/2012 to 09/01/2013 with an 8 day frequency at Prat Guen ($3^{\circ}54'42.5'' \text{ W}$ – $48^{\circ}31'18.8'' \text{ N}$) 1 km from the village of Saint Thégonnec, outside the turbid area and upstream of the salty zone of the estuary (Fig. 1). Samples were collected in Teflon separatory funnels by hand from ca. 0.2 m below the surface, with the arm fully covered with a plastic glove (92 cm, Polysem®). River water samples were filtered on site immediately after sampling. Chlorophyll-*a* (Chl-*a*) was collected on $0.7 \mu\text{m}$

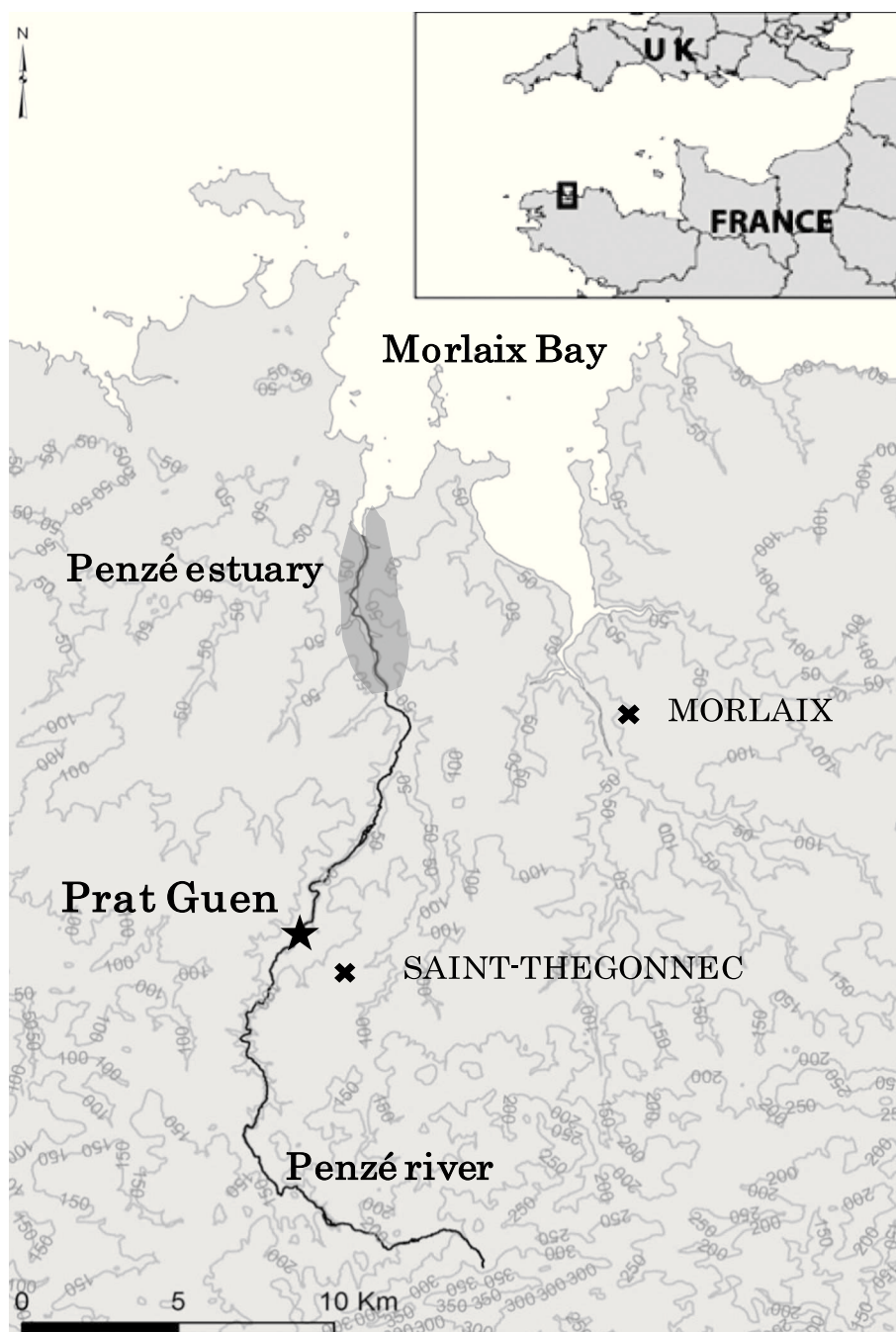


Fig. 1. Study area and sampling site.

GF/F baked filters (Ø25 mm, Whatman®) and immediately stored at -20°C . Filtered river water samples were acidified at pH 2 (HCl, 3%; Suprapur®, Merck), added to baked brown glass bottles and stored at -20°C until analysis of DOC, HS, GSHs and TAs compounds. Suspended particulate matter (SPM) was collected on 0.45 μm filters (Ø47 mm, HATF, Millipore®) and the remaining filtered water, devoted to dissolved element analysis was added to 15 ml polypropylene (PP) centrifuge tubes (Elkaylabs). Prior to use, the HATF filters and PP tubes were washed with dilute HCl and rinsed thoroughly with Milli-Q® Element water ($>18.2\text{ M}\Omega$).

2.3. Analysis, instrumentation and reagents

Water used for cleaning and preparation of reagents and working solutions was ultrapure deionized water ($>18.2\text{ M}\Omega$) from a Milli-Q

Element system (Millipore®). DP-CSV at a static mercury drop electrode, using the method developed by Pernet-Coudrier et al. (2013), was used to analyze two natural signals from DOM: GSHs and TAs compounds. Due to the strong dependence of the signal on the HS standard (Quentel and Filella, 2008), HS were not measured using DP-CSV. Signals were quantified using standard additions of GSH and TA respectively. As the signal quantification is dependent on the standard used, analytical targets were termed: “standard name”-like compounds as recommended (Filella, 2014; Filella et al., 2009; Pernet-Coudrier et al., 2013). This simple and rapid method is based on a two step procedure: (i) adsorption of the complexes formed by RSS with mercury and (ii) reduction of the absorbed complexes, giving a quantifiable current. Apparatus and electrochemical conditions are fully described in SI.1. Samples were always above the limit of detection. Repeatability, reproducibility

and limit of detection of the DP-CSV method are given in Pernet-Coudrier et al. (2013). GSH and TA stock solutions (3 mmol L⁻¹ and 10 mmol L⁻¹ respectively), were freshly prepared by dissolution of the solids (all Sigma-Aldrich®) with HCl (pH 2, Suprapur®, Merck®) and stored at 4 °C in the dark. The working solutions (3–150 μmol L⁻¹) were then prepared by dilution from these stock solutions with dilute HCl (pH 2).

Suspended particulate matter (SPM) concentration was determined using the gravimetric method, with an uncertainty <10%. Chl-*a* and Phaeo (phaeophytin) were extracted and measured using Lorenz's method (Lorenzen, 1967) with an 8% precision. NO₃⁻ was measured with segmented flow analysis, with a limit of detection of 0.3 μmol L⁻¹ and precision <1%.

Dissolved organic carbon (DOC) was analyzed by a liquid chromatography coupled to an organic carbon detector (LC-OCD, DOC-LABOR Dr. Huber, Karlsruhe, Germany). In this technique the water sample is subjected to size exclusion chromatography followed by UV absorbance (254 nm) and organic carbon detection in the column outflow fractions (Huber et al., 2011). These signals give information about DOC concentration and composition. Regarding the composition, LC-OCD allow the measurement of HS concentration and their characterization through the molar mass and the Specific UV absorbance (SUVA) which is the ratio between DOC and UVA at 254 nm showing the aromaticity. OCD and UVD calibration were based on potassium hydrogen phthalate (Huber et al., 2011). Its carbon mass was used to calibrate the OCD and its extinction coefficient at 254 nm was used to calibrate the UVD. Mobile phase was a phosphate buffer (pH 6.85: 2.5 g KH₂PO₄ + 1.5 g Na₂HPO₄·2H₂O to 1 L, Fluka, #30407 + #30412). The acidification solution was prepared by adding 4 mL of o-phosphoric acid (85%, Fluka #79620) and 0.5 g potassium peroxydisulfate (Fluka, #60489) to 1 L of deionized water. For calibration of detectors, potassium hydrogen phthalate (Fluka, # 60359) was used. For calibration of HS molecular weights Suwannee River Standard II Humic (SRHA) and Fulvic (SRFA) Acids (IHSS) were used. Nominal average molecular weights (\bar{M}_n -values) for IHSS-FA and IHSS-HA were determined to be 711 and 1066 Da based on published data (Averett et al., 1989). For data acquisition and data processing a customized software program was used (ChromCALC, DOC-LABOR, Karlsruhe, Germany).

Dissolved elements were measured with 3 different spectrometers: an ICP-MS Quad (Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry, Quad X, Series 2), an ICP AES (Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy, Ultima 2, Horiba Jobin Yvon) and a HR-ICP-MS (High Resolution Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry, Element 2, Thermo Fisher). Standards and samples were prepared in 15 mL-polypropylene tubes, pre-cleaned with 2.5% diluted nitric acid (Suprapur, Merck) then rinsed thoroughly with Milli-Q® Element water (>18.2 MΩ). The analysis of the dissolved fraction was performed after dilution of the samples in a 2.5% nitric acid solution. Standards of dissolved elements were made with a multi-elementary solution (10 mg L⁻¹) in a diluted 2.5% nitric acid solution, allowing assessment of dissolved metal concentrations in samples. Each element was measured by taking into account the limit of detection of the spectrometer and the concentration of the element. Blanks were always below the limit of detection. Mg, Ca, Sr, K and Mn were determined using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES; Ultima 2; Horiba Jobin Yvon) with a precision better than 1%. Fe, Cu and Cr were determined using a high resolution ICP mass spectrometry (HR-ICP-MS; Element 2, ThermoFisher), whereas Pb and Cd were measured with an ICP-Quadrupole-MS (ICP-Q-MS; X-series II, ThermoFisher). Precision for elements analyzed by MS was better than 3% except for Cr and Cd, which were 10 and 20%, respectively, due to the low concentrations (only 3× to 10× above detection limits).

Daily water discharges were obtained from the French water agency (website: www.hydro.eaufrance.fr). Precipitation, air temperature and solar radiation details were obtained directly from Météo France.

2.4. Flux calculation and statistical analysis

The annual flux (tC y⁻¹) of glutathione-like compounds (GSHs), thioacetamide-like compounds (TAs) and humic substances (HS) were assessed using the annual discharge weighted mean concentration (DWM) (Filoso et al., 2003) which was assessed as one of the most accurate methods (Moatar and Meybeck, 2005):

$$[\text{DWM}] = \frac{\sum C_i \bar{Q}_i}{\sum \bar{Q}_i} \quad (1)$$

where C_i (mg l⁻¹) is the observed instantaneous concentration and Q_i (m³ s⁻¹) the mean discharge calculated for the period p surrounding the sampling i (from $i - p/2$ to $i + p/2$). The annual flux (F) was assessed using the annual DWM concentration with Q_j (m³ s⁻¹) the mean annual discharge:

$$F = [\text{DWM}][Q_j]. \quad (2)$$

Principal component analysis (PCA) was applied to extract meaningful information from raw data by utilizing the existing correlations among various parameters which were monitored. In this study, multivariate PCAs were performed using Statistica for Windows (v. 10.0) software on the combined data set.

3. Results

3.1. Hydrological variation

The annual mean water discharge from the Penzé River over 2012 was 3.09 m³ s⁻¹ which was not significantly different from the average of 2.82 ± 0.68 m³ s⁻¹ calculated from 1967 to 2013. Usually, the hydrological cycle of the river has two distinct periods: November–March, characterized by relatively high discharge and April–October, which is the drier period (Fig. 2). The daily water discharge normally fluctuated between 0.66 m³ s⁻¹ and 14.5 m³ s⁻¹ (Fig. 3A). During the winter of 2012, the discharge (Q) remained ca. twice lower than usual, i.e. <6 m³ s⁻¹ due to low precipitation (Fig. 2). Unusually at the end of April, the precipitation was high, with an average of 10 mm/day over 2 weeks, resulting in a high daily discharge of up to 10 m³ s⁻¹. A classical low water period was observed in summer, followed by the onset of

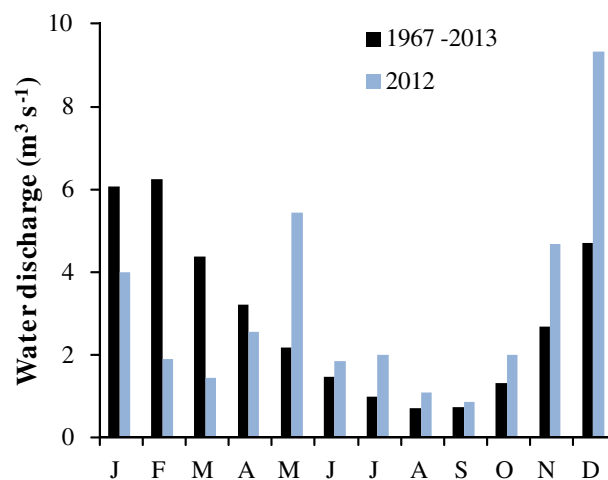


Fig. 2. Monthly water discharge from the Penzé River in 2012 and mean values from 1967–2013.

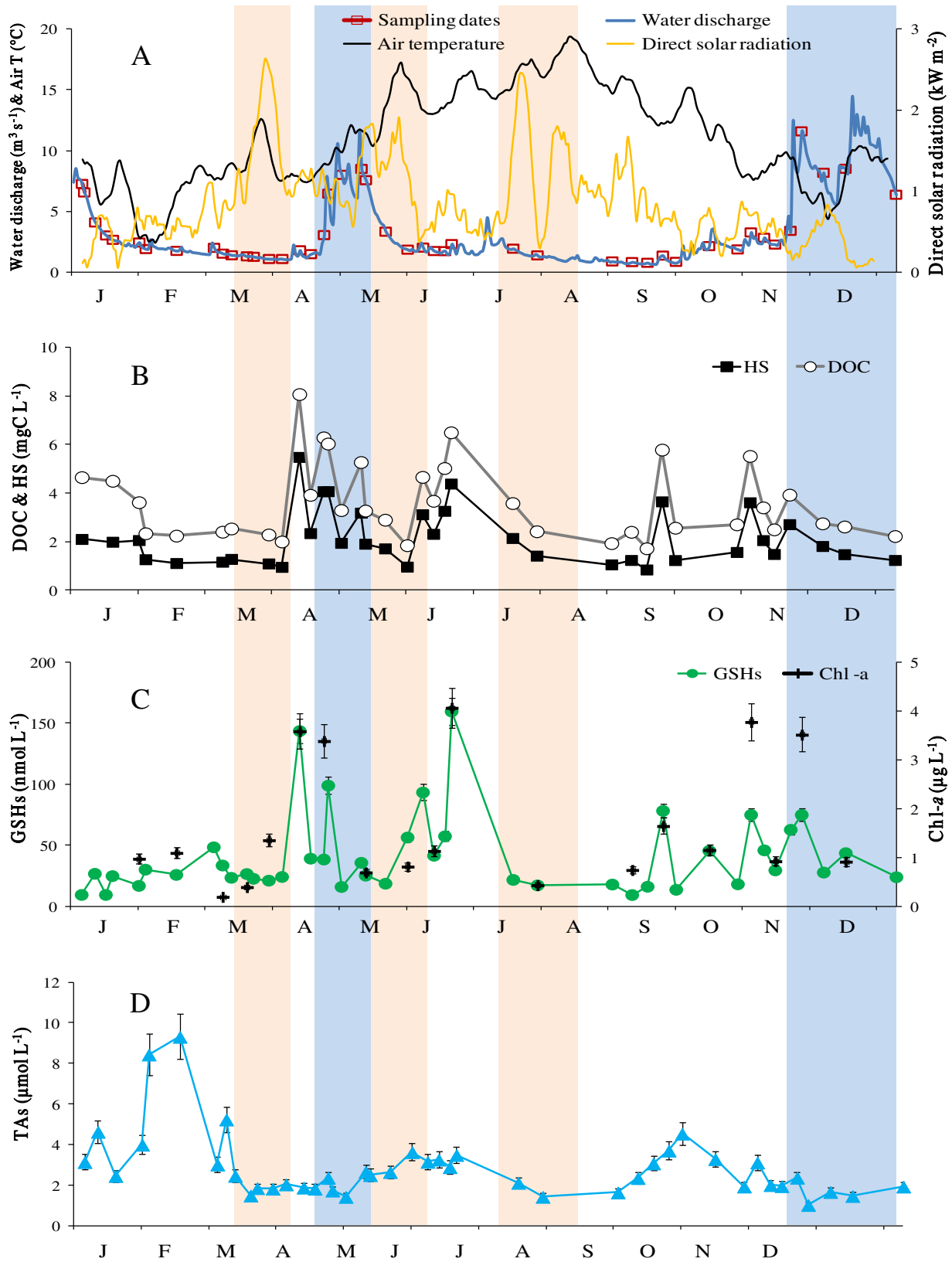


Fig. 3. Seasonal variation in the Penzé watershed in 2012: (A) Air temperature at Pleyber-Christ (Météo France), direct solar radiation at Guipavas (Météo France) and water discharge, (B) DOC and HS, (C) GSHs and Chl-*a*, (D) TAs. Air temperature and direct solar radiation curves were smoothed with a simple moving average of 9 days. Pale yellow and pale blue shaded areas represent intense solar and flood events, respectively. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

the autumn flood in October. However the flood from November to January was particularly intense, with Q being twice higher than usual. In summary, the floods in spring and in autumn were respectively later

and higher, than in the previous years. The direct solar radiation maximum occurred around March, May and July, whereas a high temperature was found over the entire summer (Fig. 3A).

3.2. Seasonal variations in DOC, HS, GSHs and TAs

Variations in DOC, HS, GSHs and TAs over 2012 are plotted in Fig. 3. DOC and HS fluctuated between 1.7 and 8.1 mgC L⁻¹ and 0.8 and 5.5 mgC L⁻¹ with an average of 3.6 and 2.1 mgC L⁻¹, respectively (Fig. 3B). HS concentrations are fully correlated to DOC ($n = 37$, $r^2 = 0.96$). GSHs concentration varied between 10 and 160 nmol L⁻¹ with an average of 41 nmol L⁻¹ (Fig. 3C). The lowest GSHs concentration (<20 nmol L⁻¹) was in winter and summer, with maximum values (>90 nmol L⁻¹) appearing essentially in spring. The two maxima in April and June were recorded after two intense direct solar radiation events in March and May (Fig. 3A). It should also be noted that the dynamic of the GSHs increased during the fall. TAs ranged between 1.0 and 9.3 μmol L⁻¹ with an average of 2.9 μmol L⁻¹ (Fig. 3D). Unlike the GSHs, the TAs displayed (i) the highest concentration (>5.0 μmol L⁻¹) during the dry period in winter (February) and (ii) the lowest values during the flood events.

4. Discussion

4.1. Comparison with other systems

Humic substances, and more particularly FA, represent a significant proportion of dissolved organic matter in freshwater. This had been demonstrated over a wide range of systems (Table 1). In agricultural streams, DOC can reach up to 16 mg L⁻¹ and HS like FA may account up to 80% (Table 1). The Penzé River fell within this range, with DOC ranging between 2 and 8 mgC L⁻¹ and HS ranging between 44 and 69% of DOC.

For GSHs and TAs, comparison with the literature is difficult, due mainly to the scarcity and the short time scale of the measurements. In the temperate urban Deûle River, Superville et al. (2013) monitored on-line the GSHs and found concentrations ranging between 1–10 nmol L⁻¹ over a week and during low water level. Other studies have been conducted in various temperate estuaries and have shown decreasing concentrations of GSHs from few hundreds at low salinity to tens of nmol L⁻¹ in marine waters, suggesting a riverine origin of GSHs (Le Gall and van den Berg, 1993; Pernet-Coudrier et al., 2013; Tang et al., 2000). In our system, GSHs concentration fluctuated between 10 and 160 nmol L⁻¹ with a baseline during low water level of around 10–20 nmol L⁻¹ in agreement with previous studies. The only study focussed on TAs, gave lower concentrations in the range of ca. 20 nmol L⁻¹ in the Deûle River (Superville et al., 2013). The activities on the watershed, i.e. urban/industrial versus agricultural, may explained the different concentration levels. Nevertheless the methods, i.e. the identification and quantification also strongly differ between the two studies: subtraction of three pseudopolarograms and external calibration (Superville et al., 2013) versus three standard additions on each sample in this study.

4.2. Streamflow-concentration patterns during flood events

To better understand the dynamics of the compounds and the factors controlling their concentration, changes in concentration during

periods of flood events (spring and autumn) were examined. The obtained hysteresis underline the importance, or not, of the hydrology and climate on the dynamics of these compounds (Nagorski et al., 2003).

HS concentrations followed clockwise hysteresis during spring and autumn floods, i.e. increased rapidly at the very early stages of the runoff and then dropped rapidly before the end of the flood (Fig. 4). This clockwise loop was also observed for SPM, Fe (Fig. 4) and other elements such as DOC, Cd, Cu, Cr, Mn and Pb (SI. 2). Clockwise hysteresis rotations for SPM and Fe have been widely reported and the pattern attributed to a physical washing out and subsequent depletion of soils and sediments in the channel and floodplain at the onset of high flow conditions (Nagorski et al., 2003; Williams, 1989). The export of OM from rivers to the coastal ocean has been related to the flood event draining soils (Hansell and Carlson, 2002). In agricultural streams, up to 80% of the annual DOC load is exported during flood events occurring during less than 20% of the year and highlighting the importance of short-duration, high-discharge events in controlling annual OC export. (Dalzell et al., 2005, 2007; Oeurng et al., 2011; Royer and David, 2005). Similarly, GSHs concentration dropped sharply after rising with Q during the autumn flood which may also suggest a terrestrial input. GSHs showed, however, cross-over patterns in spring, which may highlight other processes.

Rotating in the other direction, Mg and NO₃⁻ followed counter-clockwise hysteresis patterns, i.e. concentration dropped at the early stage of the flood and then increased before the end (Fig. 5) This rotation was also observed for other elements, such as Sr and Ca (SI. 3). This behavior has sometimes been observed and described for SPM as a lag between the flood wave and the particle flux and can be magnified according to the distance downstream and the channel irregularities that inhibit sediment movement more than water movement (Williams, 1989). Nevertheless, the patterns for these elements cannot be explained here by the SPM, since they are well known not to have a high affinity for SPM which, moreover, rotated in the contrary direction for the same flood events. In fact, Breton groundwaters react quickly to recharges and contributes to the stream flow and the flux of substances like NO₃⁻ (Gascuel-Oudoux et al., 2010). Therefore the counter clockwise rotation is explained first by dilution of the compounds by rain at the early stages of runoff and then by increasing concentration due to the groundwater contribution which is delayed vs. the flood wave. The delay in the groundwater contribution seems to be ca. 8 days in spring and ca. 12 days in autumn. Some of these elements, like Ba, Ca, Mg, K and Sr, are naturally present in groundwater since they closely reflect the water–rock interaction (Smedley, 1991) even if agricultural activity (pesticide and fertilizer amendments, irrigation, drainage) may also directly or indirectly affect their concentrations in groundwater (Böhlke, 2002; Tanji and Valoppi, 1989).

TAs display a similar pattern during the spring flood whereas in autumn the concentration seems only negatively correlated with the water discharge (Fig. 5). Some authors have shown the presence of reduced sulfur substances, like aryl thiols, disulfides, thiols, thiophenes and unidentified N,S-containing compounds, in groundwater, generated in situ in presence of OM and under anaerobic conditions (Einsiedl et al., 2008; Heinen and Lauwers, 1996; Longnecker and Kujawinski, 2011; Schäfer et al., 2005). Despite TAs has never been measured in groundwater, the presence of RSS in groundwater might suggest that the TAs may be transferred to rivers mainly from groundwater. The spring patterns may be explained first by the rain dilution and then the delayed high contribution of shallow groundwater which was TAs enriched via in situ generation during the winter. In autumn, in contrast to Mg and NO₃⁻, the TAs pattern differed and seems to be only affected by the rain dilution. First, the C–Q loops for Mg and NO₃⁻ are narrower in autumn underlining a lower contribution of groundwater, which is also highlighted by the longer delay (8 days against 12 days). This feature can be explained by a lower level of shallow groundwater (water table depth ranging between 3 and 4 m in dry period compared to ca.

Table 1
Levels of DOC and HSs in different river systems (n.m. not measured).

| River system | DOC (mg L ⁻¹) | HS (%) | References |
|--------------------|---------------------------|--------|--|
| Boreal rivers | 1–20 | ca. 80 | Pettersson et al. (1997) |
| Equatorial rivers | 3–11 | ca. 60 | Ertel et al. (1986) |
| Alpine rivers | 0.2–1.8 | 20–80 | Chanudet and Filella (2007) |
| Agricultural river | 1–16 | n.m. | Aminot et al. (1990); Dalzell et al. (2007); Oeurng et al. (2011); Royer and David (2005) |
| | 2–8 | 44–69 | This study |

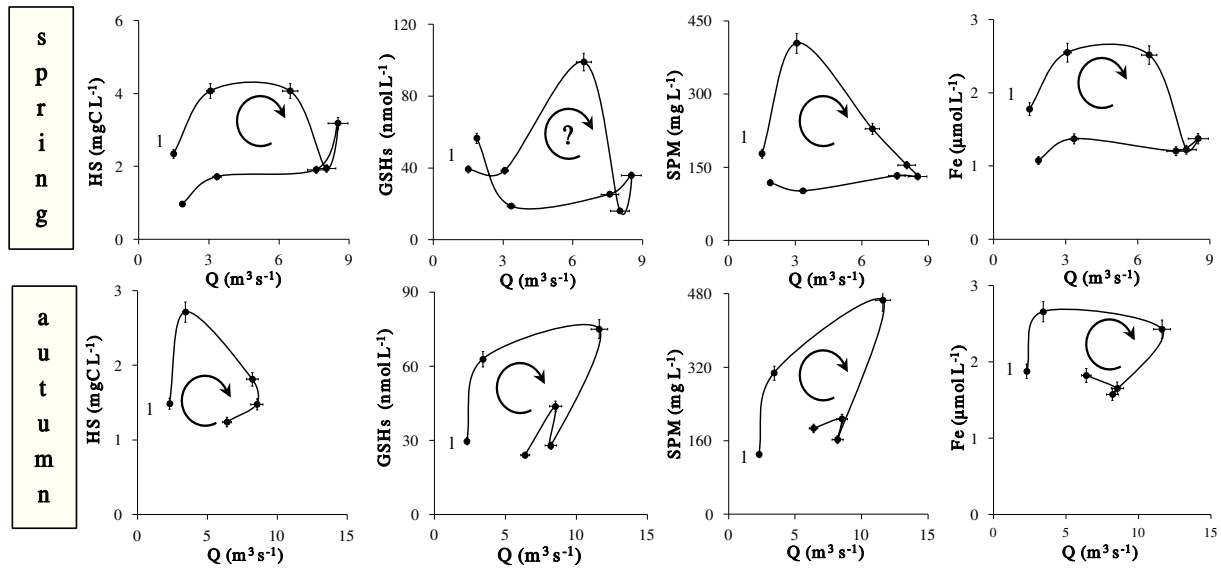


Fig. 4. HS, GSHs, SPM and Fe versus water discharge (Q) during the spring flood (18/04/2012–01/06/2012) and autumn flood (15/11/2012–09/01/2013), all showing clockwise hysteresis rotation. Data points are connected in chronological order, as directed by arrows (“1” first sampling date for reference). DOC has not been plotted since it is fully correlated to HS. Error bars correspond to analytical uncertainties.

1 m during the flood) due to low water recharge in summer and consumption by vegetation. Second, if shallow groundwater is not recharged due to low water percolation and low DOM content in late spring and summer (Waeles et al., 2013), TAs may not be produced and so groundwater cannot significantly contribute to the flux during the autumn flood.

4.3. Multifactorial analysis over the annual cycle and HS diagram

The correlation between variables was investigated using principal component analysis and performed on the combined data set of twelve parameters (Mg, NO₃⁻, Fe, Toxic metals, GSH-like, TA-like, HS, DOC, Chl-a/SPM, SPM, Water discharge and Rain) measured from river water

(PCA; Fig. 6). 75% of the parameters are described by the two principal components (PCs).

The first group can be distinguished from the PC1 (59.6%): variables correlated with the rain (smoothed with a simple moving average of 9 days) are called “washing out”. The second set, anti-correlated with the rain variable is called “diluting”. This feature confirmed the previous result (Fig. 5) concerning the diluting behavior of the TAs and their potential production in groundwater. The PC2 differentiated two groups within the “washing out” family (15.4%). On the one hand, the SPM and rain correlated strongly with the water discharge as seen in the C–Q chart (Fig. 4). On the other hand, this statistical analysis suggested that GSHs strongly correlated with (i) primary production, here described by the Chl-a/SPM ratio and (ii) dissolved toxic metals evaluated

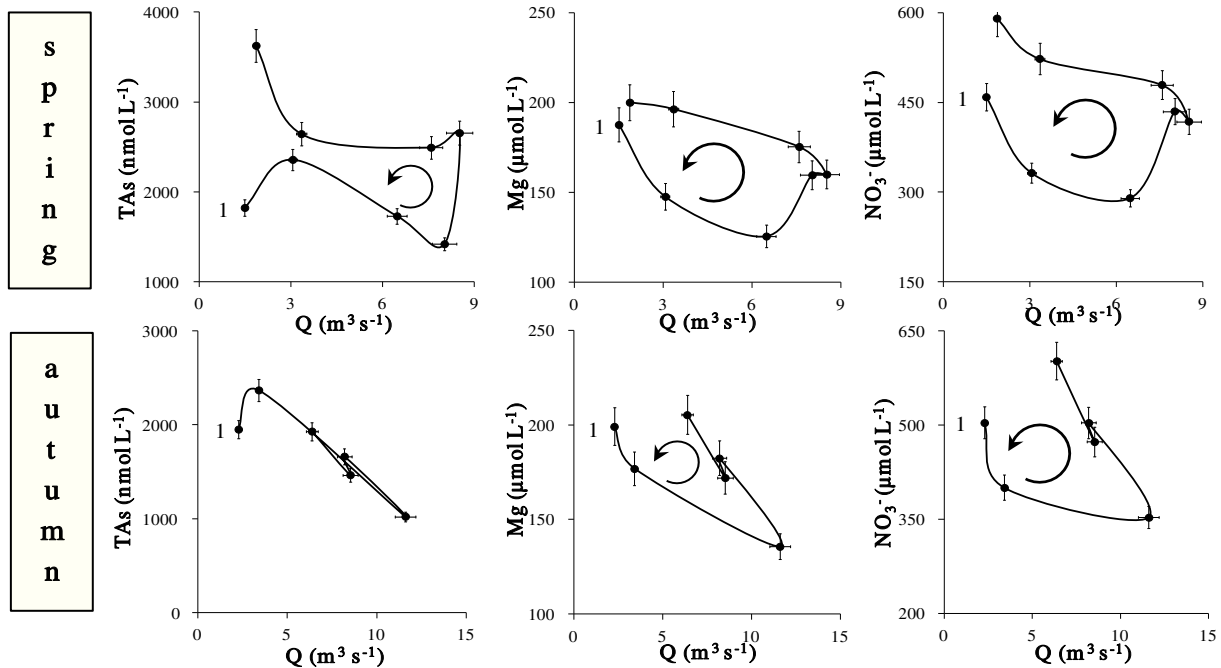


Fig. 5. TAs, Mg and NO₃⁻ vs. water discharge (Q) during the spring flood (18/04/2012–01/06/2012) and autumn flood (15/11/2012–09/01/2013). Data points are connected in chronological order, as directed by arrows (“1” first sampling date for reference). Error bars correspond to analytical uncertainties.

through normalized concentrations, i.e. the METOX parameter, which was computed from the sum of Cd, Pb, Cu and Cr concentrations weighted by a factor from 1 to 50 according to their toxicity. The METOX parameter was originally defined by the French Water Agency as the potential toxicity of metallic pollution (Afnor T 90–112, T 90–113 and T 90–119).

The occurrence of GSH in surface water was attributed to different processes, such as excretion and exudation during the life cycle of algae (Dupont et al., 2004, 2006) and cell lysis during senescence and/or grazing (Hu et al., 2006). Lab studies and a few field experiments showed additionally that glutathione increase in solution could be related to algae and aquatic mosses metal stress (Ahner et al., 2002; Bruns et al., 2001; Dupont and Ahner, 2005; Kawakami et al., 2006). Since GSH has a low resistance to UV irradiation (Laglera and van den Berg, 2006; Moingt et al., 2010), the measured concentrations reflect not only the biological input but also the photo-degradation process. Therefore the biological production of GSHs might be strong enough to unbalance its photo-degradation. In our dataset (Fig. 3), the peak concentration of GSHs appeared as a response after periods of strong sunlight and maximum Chl-*a* (Fig. 3C). It has been demonstrated that the low persistence of GSH can be increased in surface water through binding with Hg(II) and Ag(I) (Hsu-Kim, 2007). However this persistence in the Penzé River cannot be explained by soft metal complexation since their concentrations are probably much lower than the nanomolar level of GSHs. The low residence time, i.e. the quite high flow velocity of the Penzé River (in average $\sim 2 \text{ m s}^{-1}$) which means that one water molecule flows in less than 4 h from upstream to downstream, and the shadowed river bank may explained the GSHs persistency. Moreover DOM conjugation has been also suspected to preserve thiols in the aquatic system (Tang et al., 2004).

Concerning DOC and HS, the PCA analysis displayed a correlation with Fe and the rain suggesting a soil origin (Nagorski et al., 2003). The humic substances diagram (Huber et al., 2011), i.e. plotting the aromaticity versus the molecular weight of humic substances, can provide information about the HS origin. The HS data from the Penzé River were found in the upper center of the diagram (red dots, Fig. 7). Therefore these HS are clearly of pedogenic origin between FA and HA. This area reflects small rivers and creeks whose HS originate from areas where the high hydraulic energy allows relatively high molecular weight FA from soils to be washed into the water body (Huber et al., 2011). Often the aromaticity of these FA is low due to sunlight induced

bleaching of HS in the photic zone (Huber et al., 2011). However, the HS from the Penzé River do not displayed low SUVA, i.e. sunlight induced bleaching of HS is negligible probably for the same reasons previously explained (high flow velocity and the shadowed river bank). The hallmarks of the Penzé HS are the very low molecular weights, 700 g mol^{-1} against 900 g mol^{-1} for HS with similar SUVA. Extensive agricultural activities (cattle, pig and poultry) are taking place on the Penzé catchment resulting in manure spreading throughout the year as organic fertilization (Waeles et al., 2013). Besides, it has been shown that high molecular weights (MW) from manure-derived organic matter (cattle, pig and poultry) were preferentially sorbed on soil whereas low MW were leached (Aoyama and Kumakura, 2001; Ohno et al., 2007). This feature is thus highlighting the origin of the Penzé HS, i.e. manure and pedogenic.

4.4. Fluxes

Fig. 8 shows the cumulated and normalized fluxes for water discharge, DOC, HS, GSHs and TAs in the river in 2012. The DOC and HS loads generally follow the pattern for the water discharge. However ca. 60% of the annual export of DOC and HS happen in April–May and November–December, i.e. the spring and autumn flood. These results illustrate previous findings with large amount of the total annual DOC being exported during the flow events (Dalzell et al., 2005, 2007; Oeurng et al., 2011; Royer and David, 2005; Waeles et al., 2013). This feature was explained for agricultural catchment first by the retention and transformation of OM in soils after manure application during the dry period and second by the washing out of the OM from the soil to the river. The GSHs generally followed this pattern, revealing a pedogenic source; this is plausible since GSH production may result from the bacterial degradation of S-containing amino acids in the soil, i.e. in anoxic porewater (Zhang et al., 2004). It is also worth noting that GSHs flux also shows two steps, as well as DOC and HS, in April and June when the source may shift to aquagenic. This hypothesis is strengthened by Chl-*a* concentrations displaying maximum values at these two periods (Fig. 3). As shown above (Figs. 5 and 6), the TAs flux is less dependent on the discharge and most probably has a groundwater origin. The calculated DOC export is ca. 280 tC y^{-1} which represent $20 \text{ kgC ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$ and is in agreement with previous DOC fluxes calculated in agricultural catchments (Dalzell et al., 2007; Hope et al., 1997; Royer and David, 2005; Waeles et al., 2013). The annual HS loads were $12 \text{ kgC ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$ representing 60% of the DOC export. There are few estimates of the annual fluxes of FA and more generally HS. In the same system, Waeles et al. (2013) estimated a similar HS flux ($16 \text{ kgC ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$). First the changing hydrology may be an important factor explaining different annual DOC fluxes. Second the higher resolution, i.e. almost a weekly sampling in 2012 against a monthly sampling in 2008 allows a better estimation of the flux especially during the autumn flood particularly in small agricultural watersheds where DOC changes are principally controlled by water discharge (Dalzell et al., 2007; Royer and David, 2005). For the first time and with a very high sampling frequency, GSHs and TAs fluxes were determined representing 4 and 13% of the total annual DOC loads respectively.

5. Conclusions

The differential pulse cathodic stripping voltammetry and the liquid chromatography coupled to an organic carbon detector were applied to quantify respectively the concentrations of glutathione-like, thioacetamide-like, humic substances and dissolved organic carbon in the temperate Penzé River system affected by agricultural practices. Concentration-flow charts, poly-component analysis and flux analysis allowed us to discriminate the source and dynamics of each compound type. Our results confirmed previous hypothesis about the washing out of HS from the soil happening mainly during the strong flood events. TAs compound had a clear groundwater

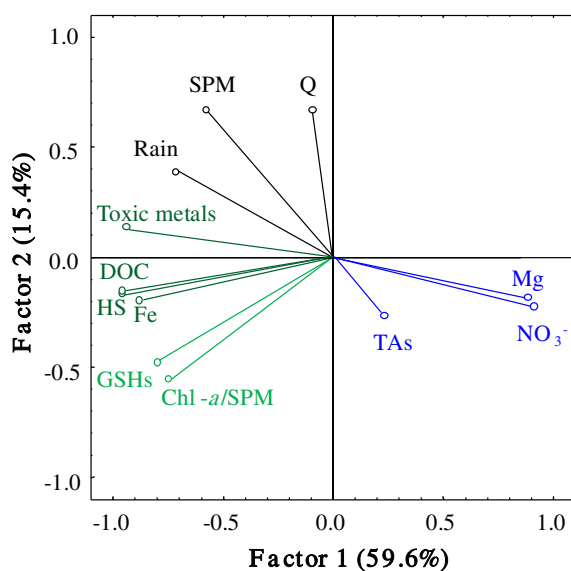


Fig. 6. PCA with 12 variables. The term “toxic metals” represents the METOX parameter computed from the weighted sum of the metal concentrations: $\text{METOX} = 50 \times [\text{Cd}] + 10 \times [\text{Pb}] + 5 \times [\text{Cu}] + [\text{Cr}]$.

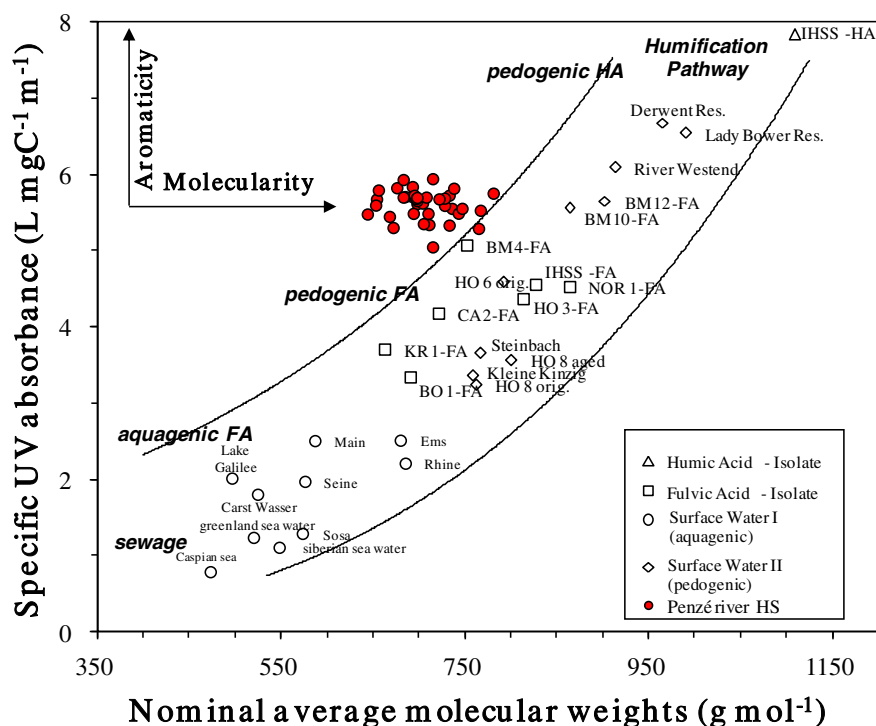


Fig. 7. Humic substances diagram: The specific UV absorbance (SUVA, i.e. aromaticity) of HS from the Penzé River is plotted against the nominal average molecular weights, shortly expressed as molecularity. Other data points come from Huber et al. (2011).

source and may be formed underground. For GSHs, our data set suggest two sources: one aquagenic origin linked to the primary productivity, and a pedogenic source probably linked to the bacterial degradation. High sampling frequency allowed a more accurate assessment of the flux values which were 280 tC y^{-1} for DOC representing $20 \text{ kgC ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$, HS, TAs and GSHs fluxes representing 60, 13, and 4%, respectively, of the total annual DOC export.

Acknowledgments

We thank N. Cabon, C. Bassoulet, C. Liorzou, M.-L. Rouget and C. Tissot for their assistance in the sampling campaigns and analysis. This work was financially supported by the Region Bretagne and the Université de Bretagne Occidentale (Ph.D. grant to L. Marie) and the Marie Curie FP7 (Dynamite project CIG 333737).

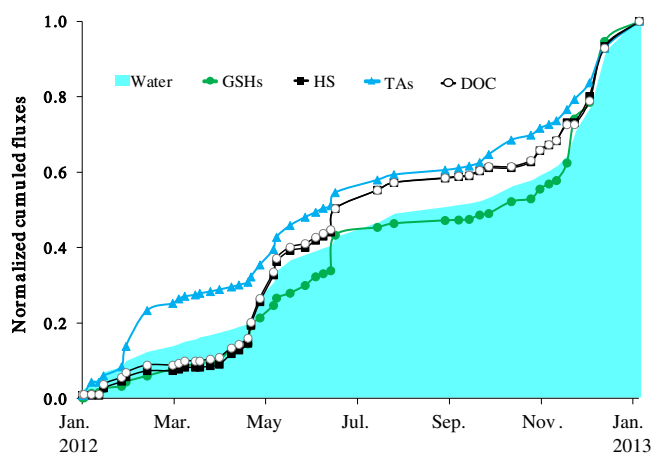


Fig. 8. Normalized cumulated fluxes of DOC, HS, GSHs, TAs and water discharge.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.07.089>.

References

- Abedinzadeh, Z., Gardes-Albert, M., Ferradini, C., 1989. Kinetic study of the oxidation mechanism of glutathione by hydrogen peroxide in neutral aqueous medium. *Can. J. Chem.* 67, 1247–1255.
- Ahner, B.A., Wei, L., Oleson, J.R., Ogura, N., 2002. Glutathione and other low molecular weight thiols in marine phytoplankton under metal stress. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 232, 93–103.
- Al-Farawati, R., van den Berg, C.M.G., 2001. Thiols in coastal waters of the Western North sea and English channel. *Environ. Sci. Technol.* 35, 1902–1911.
- Aminot, A., El-Sayed, M.A., Kerouel, R., 1990. Fate of natural and anthropogenic dissolved organic carbon in the macrotidal Elorn estuary (France). *Mar. Chem.* 29, 255–275.
- Aoyama, M., Kumakura, N., 2001. Quantitative and qualitative changes of organic matter in an Ando soil induced by mineral fertilizer and cattle manure applications for 20 years. *Soil Sci. Plant Nutr.* 47, 241–252.
- Averett, R.C., Leenheer, J.A., McKnight, D.M., Thorn, K.A., 1989. Humic substances in the Suwannee River, Georgia; interactions, properties, and proposed structures. *Open-File Report*.
- Bianchi, T.S., 2011. The role of terrestrially derived organic carbon in the coastal ocean: a changing paradigm and the priming effect. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 19473–19481.
- Böhlke, J.-K., 2002. Groundwater recharge and agricultural contamination. *Hydrobiol. J.* 10, 153–179.
- Bruns, Ina, Sutter, K., Menge, S., Neumann, D., Krauss, G.-J., 2001. Cadmium lets increase the glutathione pool in bryophytes. *J. Plant Physiol.* 158, 79–89.
- Buffle, J., 1988. *Complexation reactions in aquatic systems: an analytical approach*. Ellis Horwood, New York.
- Canuel, E.A., Cammer, S.S., McIntosh, H.A., Pondell, C.R., 2012. Climate change impacts on the organic carbon cycle at the land–ocean interface. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.* 40, 685–711.
- Chanudet, V., Filella, M., 2007. Submicron organic matter in a peri-alpine, ultra-oligotrophic lake. *Org. Geochem.* 38, 1146–1160.
- Dalzell, B.J., Filley, T.R., Harbor, J.M., 2005. Flood pulse influences on terrestrial organic matter export from an agricultural watershed. *J. Geophys. Res. Biogeosci.* 110, G02011.
- Dalzell, B.J., Filley, T.R., Harbor, J.M., 2007. The role of hydrology in annual organic carbon loads and terrestrial organic matter export from a midwestern agricultural watershed. *Geochim. Cosmochim. Acta* 71, 1448–1462.
- Dupont, C.L., Ahner, B.A., 2005. Effects of copper, cadmium, and zinc on the production and exudation of thiols by *Emiliania huxleyi*. *Limnol. Oceanogr.* 50, 508–515.

- Dupont, C.L., Goepfert, T.J., Lo, P., Wei, L., Ahner, B.A., 2004. Diurnal cycling of glutathione in marine phytoplankton: field and culture studies. *Limnol. Oceanogr.* 49, 991–996.
- Dupont, C.L., Moffett, J.W., Bidigare, R.R., Ahner, B.A., 2006. Distributions of dissolved and particulate biogenic thiols in the subarctic Pacific Ocean. *Deep-Sea Res.* 1 53, 1961–1974.
- Einsiedl, F., Mayer, B., Schäfer, T., 2008. Evidence for incorporation of H₂S in groundwater fulvic acids from stable isotope ratios and sulfur K-edge X-ray absorption near edge structure spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* 42, 2439–2444.
- Ertel, J.R., Hedges, J.I., Devol, A.H., Richey, J.E., de Nazarg Gbes Ribeiro, M., 1986. Dissolved humic substances of the Amazon River system. *Limnol. Oceanogr.* 31, 139–154.
- Filella, M., 2014. Understanding what we are measuring: standards and quantification of natural organic matter. *Water Res.* 50, 287–293.
- Filella, M., Quentel, F., Pernet-Coudrier, B., Varrault, G., 2009. Application of a refractory organic matter quantification method to wastewater effluents. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 89, 799–807.
- Filella, M., Rodríguez-Murillo, J.C., Quentel, F., 2013. Natural organic matter quantification in the waters of a semiarid freshwater wetland (Tablas de Daimiel, Spain). *J. Environ. Sci.* 25, 114–123.
- Filoso, S., Martinelli, L., Williams, M., Lara, L., Krusche, A., Victoria Ballester, M., et al., 2003. Land use and nitrogen export in the Piracicaba River basin, Southeast Brazil. *Biogeochemistry* 65, 275–294.
- Gascuel-Oudou, C., Arousseau, P., Durand, P., Ruiz, L., Molenat, J., 2010. The role of climate on inter-annual variation in stream nitrate fluxes and concentrations. *Sci. Total Environ.* 408, 5657–5666.
- Hansell, D.A., Carlson, C.A., 2002. Biogeochemistry of marine dissolved organic matter. Academic Press, San Diego, USA.
- Heinen, W., Lauwers, A.M., 1996. Organic sulfur compounds resulting from the interaction of iron sulfide, hydrogen sulfide and carbon dioxide in an anaerobic aqueous environment. *Orig. Life Evol. Biosph.* 26, 131–150.
- Hope, D., Billett, M.F., Milne, R., Brown, T.A.W., 1997. Exports of organic carbon in British rivers. *Hydrocarb. Process.* 11, 325–344.
- Hsu-Kim, H., 2007. Stability of metal–glutathione complexes during oxidation by hydrogen peroxide and Cu(II)-catalysis. *Environ. Sci. Technol.* 41, 2338–2342.
- Hu, H., Mylon, S.E., Gaboury, B., 2006. Distribution of the thiols glutathione and 3-mercaptopyruvic acid in Connecticut lakes. *Limnol. Oceanogr.* 51, 2763–2774.
- Huber, S.A., Balz, A., Abert, M., Pronk, W., 2011. Characterisation of aquatic humic and non-humic matter with size-exclusion chromatography–organic carbon detection–organic nitrogen detection (LC–OCD–OND). *Water Res.* 45, 879–885.
- Jacob, C., Giles, G.I., Giles, N.M., Sies, H., 2003. Sulfur and selenium: the role of oxidation state in protein structure and function. *Angew. Chem. Int. Ed.* 42, 4742–4758.
- Kawakami, S.K., Gledhill, M., Achterberg, E.P., 2006. Production of phytochelatin and glutathione by marine phytoplankton in response to metal stress. *J. Phycol.* 42, 975–989.
- Laglera, L.M., Tovar-Sanchez, A., 2012. Direct recognition and quantification by voltammetry of thiol/thioamide mixes in seawater. *Talanta* 89, 496–504.
- Laglera, L.M., van den Berg, C.M.G., 2003. Copper complexation by thiol compounds in estuarine waters. *Mar. Chem.* 82, 71–89.
- Laglera, L.M., van den Berg, C.M.G., 2006. Photochemical oxidation of thiols and copper complexing ligands in estuarine waters. *Mar. Chem.* 101, 130–140.
- Laglera, L.M., Downes, J., Tovar-Sánchez, A., Monticelli, D., 2014. Cathodic pseudopolarography: a new tool for the identification and quantification of cysteine, cystine and other low molecular weight thiols in seawater. *Anal. Chim. Acta* 836, 24–33.
- Le Gall, A.-C., van den Berg, C.M.G., 1993. Cathodic stripping voltammetry of glutathione in natural waters. *Analyst* 118, 1411.
- Longnecker, K., Kujawinski, E.B., 2011. Composition of dissolved organic matter in groundwater. *Geochim. Cosmochim. Acta* 75, 2752–2761.
- Lorenzen, C.J., 1967. Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equations. *Limnol. Oceanogr.* 12, 343–346.
- Moatar, F., Meybeck, M., 2005. Compared performances of different algorithms for estimating annual nutrient loads discharged by the eutrophic River Loire. *Hydrocarb. Process.* 19, 429–444.
- Moingt, M., Bressac, M., Bélanger, D., Amyot, M., 2010. Role of ultra-violet radiation, mercury and copper on the stability of dissolved glutathione in natural and artificial freshwater and saltwater. *Chemosphere* 80, 1314–1320.
- Nagorski, S.A., Moore, J.N., McKinnon, T.E., Smith, D.B., 2003. Geochemical response to variable streamflow conditions in contaminated and uncontaminated streams. *Water Resour. Res.* 39.
- Oeurng, C., Sauvage, S., Coynel, A., Maneux, E., Etcheber, H., Sánchez-Pérez, J.-M., 2011. Fluvial transport of suspended sediment and organic carbon during flood events in a large agricultural catchment in southwest France. *Hydrocarb. Process.* 25, 2365–2378.
- Ohno, T., Chorover, J., Omoike, A., Hunt, J., 2007. Molecular weight and humification index as predictors of adsorption for plant- and manure-derived dissolved organic matter to goethite. *Eur. J. Soil Sci.* 58, 125–132.
- Pernet-Coudrier, B., Waeles, M., Filella, M., Quentel, F., Riso, R.D., 2013. Simple and simultaneous determination of glutathione, thioacetamide and refractory organic matter in natural waters by DP-CSV. *Sci. Total Environ.* 463–464, 997–1005.
- Pettersson, C., Allard, B., Boren, H., 1997. River discharge of humic substances and humic-bound metals to the Gulf of Bothnia. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 44, 533–541.
- Quentel, F., Filella, M., 2008. Quantification of refractory organic substances in freshwaters: further insight into the response of the voltammetric method. *Anal. Bioanal. Chem.* 392, 1225–1230.
- Quentel, F., Madec, C., Le Bihan, A., Courtot-Coupez, J., 1986. Détermination des Substances Humiques en Milieu Marin Par Redissolution Cathodique à L'Electrode à Coutte Pendante de Mercure. *Anal. Lett.* 19, 325–344.
- Royer, T.V., David, M.B., 2005. Export of dissolved organic carbon from agricultural streams in Illinois, USA. *Aquat. Sci.* 67, 465–471.
- Schäfer, T., Buckau, G., Artinger, R., Kim, J.I., Geyer, S., Wolf, M., et al., 2005. Origin and mobility of fulvic acids in the Gorleben aquifer system: implications from isotopic data and carbon/sulfur XANES. *Org. Geochem.* 36, 567–582.
- Smedley, P.L., 1991. The geochemistry of rare earth elements in groundwater from the Carnmenellis area, southwest England. *Geochim. Cosmochim. Acta* 55, 2767–2779.
- Superville, P.-J., Pižeta, I., Omanović, D., Billon, G., 2013. Identification and on-line monitoring of reduced sulphur species (RSS) by voltammetry in oxic waters. *Talanta* 112, 55–62.
- Tang, D., Hung, C.-C., Warnken, K.W., Santschi, P.H., 2000. The distribution of biogenic thiols in surface waters of Galveston Bay. *Limnol. Oceanogr.* 45, 1289–1297.
- Tang, D., Shafer, M.M., Vang, K., Karner, D.A., Armstrong, D.E., 2003. Determination of dissolved thiols using solid-phase extraction and liquid chromatographic determination of fluorescently derivatized thiolic compounds. *J. Chromatogr. A* 998, 31–40.
- Tang, D., Shafer, M.M., Karner, D.A., Overdier, J., Armstrong, D.E., 2004. Factors affecting the presence of dissolved glutathione in estuarine waters. *Environ. Sci. Technol.* 38, 4247–4253.
- Tanji, K., Valoppi, L., 1989. Groundwater contamination by trace elements. *Agric. Ecosyst. Environ.* 26, 229–274.
- Visscher, P.T., Taylor, B.F., 1993. Aerobic and anaerobic degradation of a range of alkyl sulfides by a denitrifying marine bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 4083–4089.
- Volkman, J.K., 2006. Marine organic matter: biomarkers, isotopes and DNA. Springer Verlag, Berlin.
- Waeles, M., Riso, R.D., Le Corre, P., 2005. Seasonal variations of dissolved and particulate copper species in estuarine waters. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 62, 313–323.
- Waeles, M., Riso, R., Pernet-Coudrier, B., Quentel, F., Durrieu, G., Tissot, C., 2013. Annual cycle of humic substances in a temperate estuarine system affected by agricultural practices. *Geochim. Cosmochim. Acta* 106, 231–246.
- Williams, G.P., 1989. Sediment concentration versus water discharge during single hydrologic events in rivers. *J. Hydrol.* 111, 89–106.
- Winterbourn, C.C., Metodieva, D., 1999. Reactivity of biologically important thiol compounds with superoxide and hydrogen peroxide. *Free Radic. Biol. Med.* 27, 322–328.
- Zhang, J., Wang, F., House, J.D., Page, B., 2004. Thiols in wetland interstitial waters and their role in mercury and methylmercury speciation. *Limnol. Oceanogr.* 49, 2276–2286.

III.1. Conclusion

Lors de ce travail, les concentrations en composés soufrés réduits (GSH-like et TA-like), en substances humiques (SH) et en carbone organique dissous (COD) dans la rivière de la Penzé impactée par des activités agricoles ont pu être quantifiées avec succès, grâce à la mise en place de deux techniques analytiques différentes et complémentaires : une électrochimique (DP-CSV) et l'autre chromatographique (LC-OCD-OND-UVD).

Dans un premier temps, nous avons mis en évidence les sources et la dynamique de chacun des composés étudiés. Nos résultats confirment les hypothèses précédentes émises concernant l'apport des SH par le lessivage des sols agricoles au cours des périodes de crues intenses. Les composés de type thioacétamide (TA-like) montrent une origine principalement souterraine et une production dans les horizons profonds des sols. Quant aux composés de type glutathione (GSH-like), nos données suggèrent deux sources différentes : une source aquatique liée à la production primaire et une autre terrestre probablement liée à la dégradation bactérienne.

Dans un second temps, les prélèvements effectués à haute fréquence ont permis une estimation des flux annuels pour les différents composés avec une bonne précision. Pour le COD, le flux estimé représente 280 tC.an^{-1} , ce qui correspond à un flux spécifique de $20 \text{ kgC.ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$. Les flux de SH, TA-like et GSH-like représentent respectivement 60%, 13% et 4% du flux total de COD exporté par année.

Chapitre IV : Etude comparée des concentrations et de la dynamique des composés soufrés réduits et des substances humiques dans des systèmes fluviaux impactés par différentes pratiques agricoles

IV.1. Introduction

L'augmentation de la production agricole exigée par l'accroissement démographique a rendu nécessaire une agriculture plus intensive, d'où un apport accru de substances fertilisantes dans les sols. Les apports d'origine agricole, comprenant engrais et déjections animales sur de grandes surfaces, sont utilisés pour fertiliser. Ces apports ont certes un rôle bénéfique mais sont cause de perturbation quand ils sont appliqués en quantité supérieure à ce que les cultures peuvent absorber (Young *et al.*, 2008 ; Tank *et al.*, 2010). Les pratiques agricoles ont une conséquence directe sur les propriétés chimiques du sol, notamment en zone d'élevage. En effet, dans un milieu naturel, à l'abri des apports anthropiques, les sols sont plutôt de nature acide (Richards *et al.*, 2000). Au contraire, sur les sols agricoles, l'épandage de fumier animal a pour effet de modifier le pH des sols jusqu'à la neutralité par effet tampon (Whalen *et al.*, 2000). La fertilisation des sols engendre également une modification de la conductivité par augmentation de la charge en cations dans les engrais et les déjections animales (Richards *et al.*, 2000 ; Edmeades, 2003). Elle génère également une diminution du potentiel redox lié à l'augmentation de la demande en oxygène par l'activité microbienne (Kashem et Singh, 2001 ; Plaza *et al.*, 2004). Une autre conséquence directe de l'agriculture est la modification de la composition des sols en éléments chimiques (Richards *et al.*, 2000). En effet, les fumiers et lisiers peuvent contenir des quantités non négligeables d'éléments chimiques (macro-éléments, micro-éléments, nutriments). A titre d'exemple, les concentrations en azote et phosphore dans les sols augmentent considérablement après la période d'épandage (Whalen *et al.*, 2000). D'autres éléments tels que K, S, Ca et Mg sont également apportés en grande quantité par les effluents d'animaux (Whalen *et al.*, 2000). Une surcharge en éléments nutritifs dans les rivières suite au lessivage des sols peut être à l'origine d'un déséquilibre des écosystèmes (prolifération d'algues, désoxygénation des eaux, dégradation de la faune, etc.) (Ménèsguen, 2003). D'autres éléments plus toxiques, comme le Cu, le Zn mais aussi le Pb, le Cd et l'As sont connus pour être présents dans les aliments du bétail donc dans le lisier épandu sur les sols (Levasseur et Texier, 2001 ; Waeles *et al.*, 2015). La mobilité de ces éléments peut se trouver modifiée selon la nature et l'utilisation du sol. Un sol de nature acide facilite la dissolution de certains éléments (i.e. Ni, Cd, Zn ; Richards *et al.*, 2000 ; Kashem et Singh, 2001). D'autres éléments peuvent être transférés via les nappes phréatiques (entre quelques jours et quelques semaines) lorsqu'ils n'ont pas été absorbés par la culture en place ou non stockés dans le sol. Ils vont ainsi créer une contamination diffuse lors de la résurgence de ces dernières (Molenat et Gascuel-Odoux, 2001 ; Böhlke, 2002). Cependant, la contamination de l'eau souterraine et le devenir des déchets par les pratiques agricoles restent peu quantifiés.

En plus de modifier le cycle des éléments chimiques, l'intensification des pratiques agricoles perturbe également le cycle des composés organiques (Foley *et al.*, 2005 ; Wilson et Xenopoulos, 2009). Les modes d'occupation des sols et de gestion des terres ont des effets importants sur la nature des restitutions organiques (Attard *et al.*, 2011). C'est notamment le cas lors d'épandages d'effluents d'élevage (lisiers, fumiers, compost) (Bernoux *et al.*, 2011). Leur recyclage sur les sols est la première source d'apport en matière organique. Certains travaux suggèrent de nombreux avantages à l'amendement des sols tels que l'augmentation de la qualité, la stabilisation de la structure du sol, la limitation de l'érosion, l'augmentation de la rétention de l'eau et des éléments minéraux et l'augmentation de la quantité de nutriments favorables au développement des plantes et des organismes (Salter et Schollenberger, 1939). Cependant, des travaux plus récents montrent que lorsque la MOD se trouve en trop grande quantité, elle perturbe l'équilibre biologique naturel (Young *et al.*, 2008 ; Tank *et al.*, 2010). L'agriculture augmente considérablement les quantités de carbone organique dissous (COD) dans les sols (Ogle *et al.*, 2005 ; Royer et David, 2005 ; Stedmon *et al.*, 2006 ; Dalzell *et al.*, 2007 ; Oeurng *et al.*, 2011). Elle modifie également la composition moléculaire de la MOD (Wilson et Xenopoulos, 2009 ; Graeber *et al.*, 2012 ; Asmala *et al.*, 2013), les principaux facteurs contrôlant la MOD étant le temps de compostage des produits épandus, la nature du sol, le type de pratique agricole et la nature des communautés microbiennes (Tiquia *et al.*, 1997 ; Ohno *et al.*, 2007 ; Wang *et al.*, 2015). Sous l'effet des phénomènes d'érosion, les rivières reçoivent les excédents de composés organiques exportés des terres. Les changements de proportion et de composition de la matière organique transportée à partir des terres agricoles restent des sujets peu approfondis (Graeber *et al.*, 2015).

Ce chapitre propose une étude comparative du cycle de trois composés de la matière organique dissoute, la glutathione-like (GSH-like), le thioacétamide-like (TA-like) et les acides fulviques-like (FA-like) dans quatre rivières bretonnes (Saint-Rivoal, Le Yar, La Penzé et l'Aulne) possédant des bassins versants variés en termes de tailles et d'activités agricoles.

Le suivi de ces trois composés de la MOD a été effectué à haute fréquence sur un cycle saisonnier entre Janvier et Décembre 2014. La rivière de Saint-Rivoal non impactée par les activités anthropiques, a été utilisée comme système de référence.

Cette étude avait pour objectifs :

- (i) de déterminer les niveaux de concentrations des composés organiques dissous (GSH-like, TA-like et FA-like) dans ces quatre systèmes fluviaux et de relier les différences de concentrations avec les modifications du milieu par les pratiques agricoles.

- (ii) de caractériser la dynamique et le mode de transfert de ces trois type de composés organiques afin de mieux comprendre les facteurs qui les contrôlent.

IV.2. Occupations des sols

La rivière de Saint-Rivoal a été choisie comme « système de référence » car elle traverse le parc naturel d'Armorique et n'est donc pas impactée par les apports anthropiques d'origine agricole. Les trois autres rivières étudiées sont situées en aval de bassins versants où l'occupation des sols est dominée par l'agriculture (~75%) (Source : SOeS, 2016), le reste étant occupé par des forêts (~15%) et des zones urbaines (~10%). La production agricole de chacun des bassins versants est constituée d'une part de l'élevage principalement porcin, bovin et avicole, et d'autre part des cultures, majoritairement consacrées à la production de fourrages pour l'alimentation animale (Vertès *et al.*, 2014).

Compte tenu des intenses activités d'élevage sur les bassins versants du Yar, de la Penzé et de l'Aulne, nous avons estimé les flux de carbone organique dissous (COD) potentiellement apportés par ces activités (Tableau VI.1). Dans un premier temps, nous avons considéré le nombre d'animaux vivant sur chacun des bassins versants (Banque de données 2012, Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt) afin de calculer la quantité d'effluent produit par ces animaux (Biomasse Normandie, 2002). Par la suite, une valeur moyenne du carbone organique extractible à l'eau (WEOC, mg.g⁻¹) a été obtenue pour chaque type d'effluent (Waeles *et al.*, 2013 et références incluses). Les valeurs moyennes de WEOC retenues sont de 12 mg.g⁻¹ pour tout type d'effluent frais et 5 mg.g⁻¹ pour le composté. Enfin, l'estimation des flux de COD issus de l'agriculture a été obtenue en prenant en compte la part d'effluent compostée avant son application sur les sols (Biomasse Normandie, 2002).

Selon nos estimations, les flux normalisés de COD apportés par l'élevage sont potentiellement plus élevés sur le bassin versant de la Penzé (15 tC.an⁻¹.km⁻²) et du Yar (13 tC.an⁻¹.km⁻²) que de l'Aulne (5 tC.an⁻¹.km⁻²). La contribution la plus importante aux flux provient des bovins (de 65 à 84%) et ceci indépendamment du système considéré. La part des volailles et des porcs est fonction du système considéré. En effet, si la contribution de volailles est importante dans le Yar (13%), celle des porcs l'est essentiellement dans la Penzé (28%).

Tableau IV.1: Quantification des flux potentiels de COD par les activités d'élevage sur les différents bassins versants en amont des points de prélèvement.

| | Yar | Penzé | Aulne |
|---|--------------|--------------|--------------|
| Taille du bassin versant (km²) | 58 | 76 | 1387 |
| Nombre d'animaux d'élevage /km^{2(a)} | | | |
| Bovin | 730 | 640 | 270 |
| Porc | 240 | 3100 | 460 |
| Volaille | 38600 | 21100 | 6800 |
| Quantité d'effluent (T.an⁻¹.km⁻², matière sèche)^(b) | | | |
| Bovin | 1400 | 1240 | 510 |
| Porc | 40 | 550 | 80 |
| Volaille | 250 | 140 | 45 |
| Total | 1690 | 1930 | 635 |
| Utilisation d'effluent frais (Ef) et composté (Ec) (%)^(b) | | Ef/Ec | |
| Bovin | | 43%/57% | |
| Porc | | 42%/58% | |
| Volaille | | 31%/69% | |
| Valeur de WEOC (mg.g⁻¹)^(c) | | Ef/Ec | |
| Bovin | | 12/5 | |
| Porc | | 12/5 | |
| Volaille | | 12/5 | |
| Flux de COD pour chaque type d'effluent (tC.an⁻¹) | Ef/Ec | Ef/Ec | Ef/Ec |
| Bovin | 420/230 | 490/270 | 3650/2015 |
| Porc | 12/7 | 210/120 | 560/320 |
| Volaille | 54/50 | 40/37 | 230/215 |
| Total (tC.an ⁻¹) | 770 | 1170 | 7000 |
| Total (tC.an ⁻¹ .km ⁻²) | 13 | 15 | 5 |
| Contribution animal (%) au flux de COD | | | |
| Bovin | 84% | 65% | 81% |
| Porc | 3% | 28% | 13% |
| Volaille | 13% | 7% | 6% |

(a) Banque de données 2012, Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt

(b) Biomasse Normandie (2002)

(c) Water Extractable Organic Carbon (WEOC), d'après Waeles et al., 2013

IV.3. Résultats

IV.3.1. Variations des paramètres hydrologiques, chimiques et biologiques

a. Précipitation et débit fluvial

La figure IV.1 représente les variations de la pluviométrie et du débit des quatre systèmes étudiées sur la période de janvier à décembre 2014. Les données sont présentées sous la forme d'une moyenne mobile sur une période de sept jours (P7j) afin de ressortir les épisodes les plus importants.

Dans ces quatre systèmes soumis à un climat océanique tempéré, trois périodes distinctes peuvent être observées. Il y a deux périodes caractérisées par des forts débits (janvier - février et novembre - décembre) et une période caractérisée par des faibles débits (avril - octobre). La comparaison avec les valeurs moyennes mensuelles observées au cours de la période 1993-2013, montre que les débits relevés en 2014 sont globalement plus forts sur la période de crue (~1,5 à 3 fois) et plus faibles sur la période d'étiage (~1,5 fois). Il est important de souligner également l'existence d'un pic pour le débit au mois de mai, plus au moins accentué selon le système considéré.

Le tableau IV.2 résume les valeurs moyennes du débit journalier (Qj) ainsi que de la pluviométrie annuelle (Pj) sur les quatre bassins versant étudiés. Concernant le débit, les valeurs observées dans l'Aulne sont entre 20 et 200 fois supérieures à celles correspondant aux autres systèmes. Par contre la pluviométrie moyenne est très proche dans les quatre systèmes.

On rappelle que les contributions moyennes des eaux souterraines au flux de la rivière sont plus importantes dans la Penzé et le Yar (55-60%) et moins importantes dans l'Aulne et le Saint-Rivoal (~50%) (Source : BRGM Bretagne, 2015).

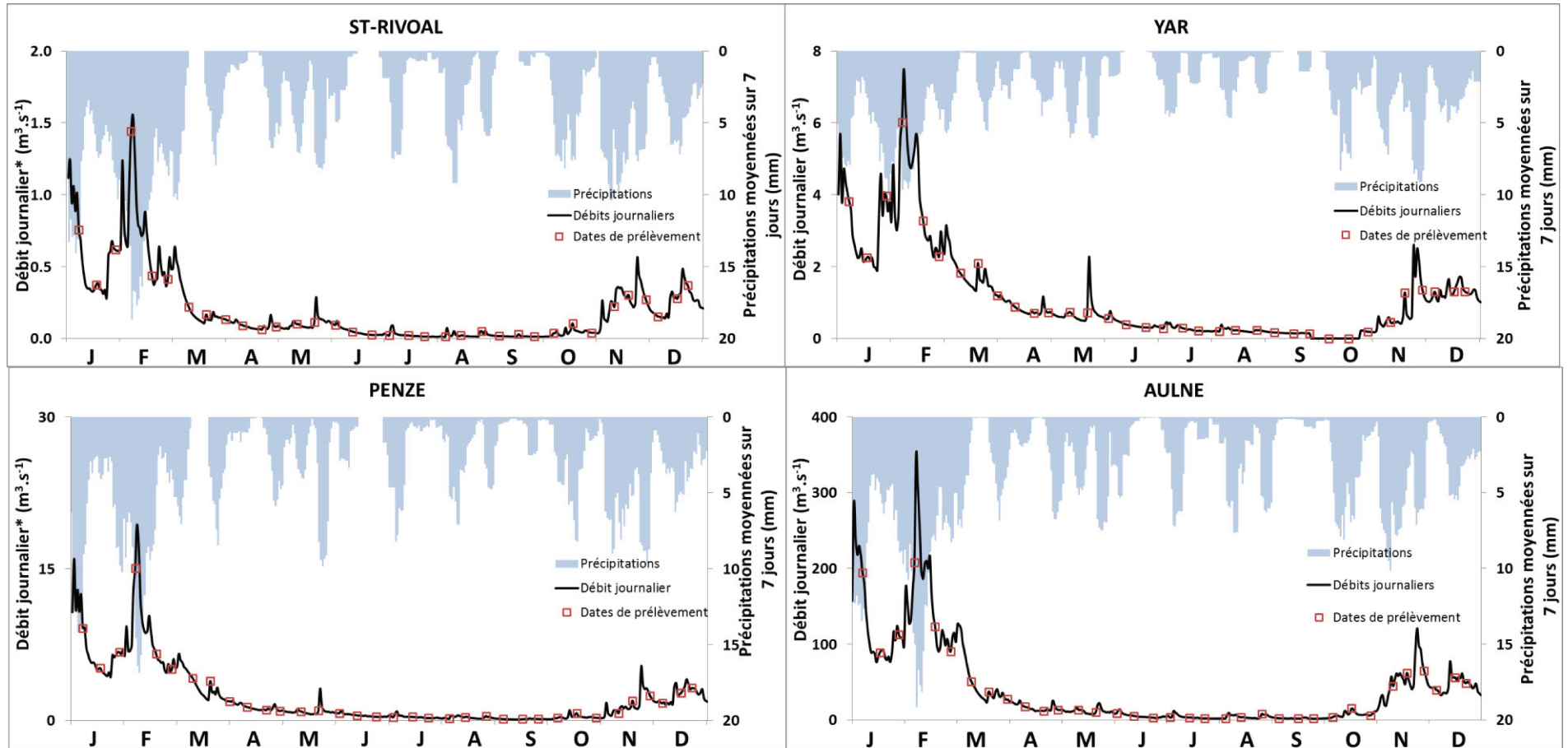


Figure IV.1: Variations des précipitations (mm) en 2014 dans les différents bassins versants étudiés (stations de Brasparts, Lannion, Pleyber-Christ et St-Ségal issues de Météo France). Les valeurs sont moyennées sur une période de 7 jours. Variations du débit ($m^3 \cdot s^{-1}$) (Sations de Saint-Ségal, Tréduder, Taulé et Pont-Coblant issues de hydro-France). Chaque campagne de prélèvement est indiquée par un carré rouge. *Les débits à Saint-Rivoal et dans la Penzé ont été corrigés en tenant compte du point de prélèvement.

Tableau IV.2 : Débit journalier moyen ($Q_j, m^3.s^{-1}$) et pluviométrie moyenne ($P_j, mm.j^{-1}$)(Stations de Brasparts, Lannion, Pleyber-christ et Saint-Ségal) en 2014 dans les quatre rivières étudiées. Les minimums et maximums pour ces deux paramètres sont indiqués entre parenthèses.

| | St-Rivoal | Yar | Penzé | Aulne |
|--------------------|----------------|---------------|----------------|----------------|
| $Q_j (m^3.s^{-1})$ | 0,2 (0,01-1,6) | 1,2 (0,1-7,5) | 2,3 (0,1-19,3) | 40,5 (1,5-351) |
| $P_j (mm.j^{-1})$ | 4,2 (0-37) | 2,9 (0-35) | 3,4 (0-35) | 3,8 (0-33,3) |

b. Energie lumineuse reçue

La quantité d'énergie lumineuse moyennée sur une période de 7 jours est représentée sur la figure IV.2. Lors du cycle saisonnier, l'énergie lumineuse varie entre $160 W.m^{-2}$ et $2800 W.m^{-2}$. Faible en hiver et en automne, l'énergie lumineuse augmente au début du printemps jusqu'au mois de juin où elle atteint son maximum. A la fin de l'été, l'énergie lumineuse diminue rapidement jusqu'à la fin du mois de décembre. Il est à noter en cette année 2014, la récurrence d'épisodes d'intensité lumineuse plus marquée sur 15 jours à 3 semaines en avril, mai et juin.

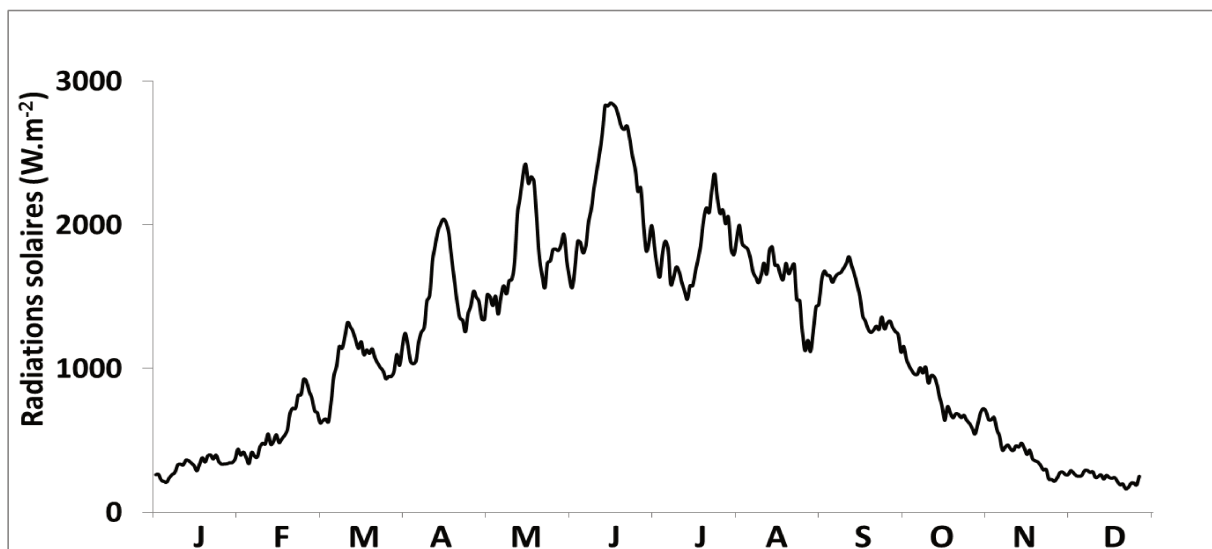


Figure IV.2 : Variations saisonnières de l'énergie lumineuse (rayonnement global quotidien en $W.m^{-2}$). Les valeurs sont moyennées sur une période de 7 jours à la station de Saint-Ségal (Météo France).

c. Teneurs en cations majeurs (Mg, K, Ca et Sr)

Le suivi des teneurs en cations majeurs peut, en première approximation, permettre d'évaluer l'impact anthropique des bassins versants sur les systèmes étudiés. Sur la figure IV.3, l'ordre de grandeur des teneurs pour les quatre éléments analysés (Mg, K, Ca et Sr) est représenté sous formes de diagrammes en boîtes. Les médianes des teneurs en Mg dissous varient de 50 000 nM pour le Saint-Rivoal à 258 000 nM dans le Yar. Celles du K varient de 12 000 nM dans Saint-Rivoal à 75 000 nM. Pour le Ca, les teneurs se situent entre 36 000 nM dans le Saint-Rivoal et 331 000 nM dans le Yar. Enfin, les teneurs les plus faibles en Sr (102 nM) sont observées dans le Saint-Rivoal, et les plus forts (1100 nM) dans le Yar. D'une manière générale, les teneurs pour les quatre éléments sont plus élevées dans le Yar, la Penzé et l'Aulne que dans la rivière de référence, le Saint-Rivoal.

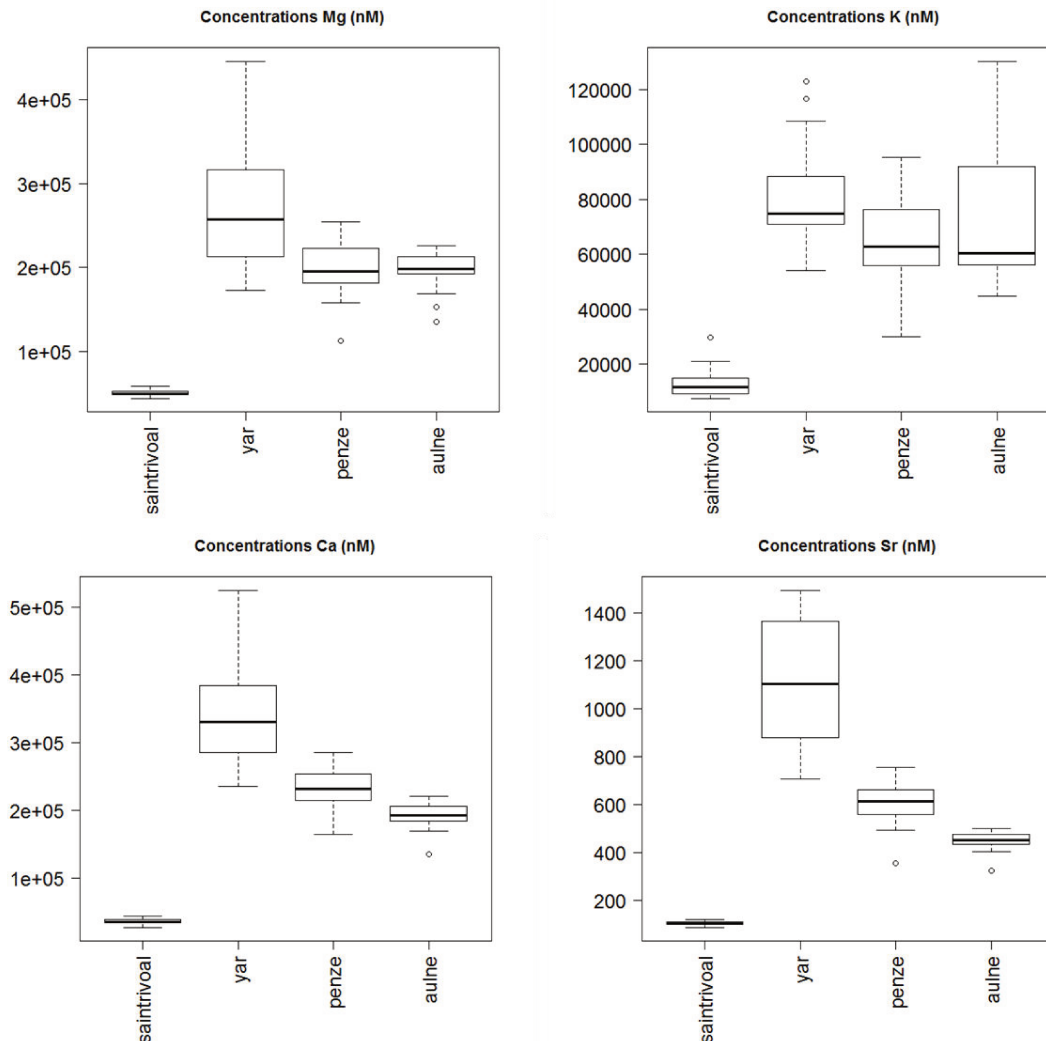


Figure IV.3: Diagrammes de distribution en quartile des teneurs en Mg, K, Ca et Sr dans la phase dissoute des rivières étudiées.

d. Rapport isotopique $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$

D'après Négrel et Pauwels (2004), les signatures isotopiques du Sr d'un échantillon d'eau peuvent être utilisées pour tracer les interactions entre le sol et l'eau. Couplées avec les concentrations en Sr, elles peuvent permettre de retracer l'impact de différentes sources. En effet, le rapport isotopique ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) varie selon que l'échantillon soit impacté par de l'eau de pluie, par de l'eau dont les caractéristiques dépendent du type de roche lessivée ou encore par de l'eau perturbée par des activités anthropiques. L'utilisation du rapport Mg/Sr plutôt que la concentration absolue en Sr permet d'éviter les variations dues à la dilution ou aux effets de concentrations.

Dans la rivière de référence, les rapports isotopiques du Sr sont compris entre 0,711143 et 0,711891, pour des rapports Mg/Sr de 422 à 544 (Tableau IV.3). Pour la Penzé, les rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ sont compris entre 0,712739 et 0,713377, pour des rapports Mg/Sr allant de 270 à 291. L'Aulne, présente une fenêtre de variation plus faible, avec des rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ compris entre 0,711566 à 0,711718 pour des rapports Mg/Sr allant de 348 à 366. Enfin, pour le Yar, les rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ sont compris entre 0,709691 et 0,710828 pour des rapports Mg/Sr de 206 à 228.

Tableau IV.3: Caractéristiques statistiques et valeurs (médiane, minimum, maximum) du rapport Mg/Sr et $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$.

| | Saint-Rivoal | Yar | Penzé | Aulne |
|---|---|--|--|--|
| Mg/Sr | 550 (388-464) ^a | 216 (163-229) ^b | 282 (250-293) ^c | 364 (372-371) ^d |
| $^{86}\text{Sr}/^{87}\text{Sr}$ | 0.711440 (0.711143- 0.711891) ^a | 0.7104895 (0.709761- 0.710828) ^a | 0.71312 (0.712739- 0.713377) ^b | 0.7117015 (0.711566- 0.711718) ^{a,b} |

e. Conductivité, pH et potentiel redox

Le tableau IV.4 synthétise les maximums et minimums des différents paramètres physico-chimiques (conductivité, pH, potentiel redox, matière en suspension) et biologiques (chlorophylle-*a*, phaeopigments, carbone organique et azote organique particulaire) dans les systèmes.

La conductivité (E_c) de l'eau d'une rivière donne une bonne indication de la charge globale en ions des eaux et spécialement de leur concentration en minéraux. Cette mesure permet d'évaluer rapidement le degré de minéralisation d'une eau, c'est-à-dire la quantité de substances dissoutes ionisées. La nature du bassin versant peut conditionner cette conductivité. En effet, c'est dans les rivières caractérisées par des bassins versants agricoles que l'on retrouve les plus fortes conductivités liées à des concentrations élevées en cations (K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+}) présents en grande quantité dans les engrais et les déjections (Edmeades, 2003). Ces cations, par différents processus (érosion mécanique, percolation) sont mobilisés du sol vers les rivières, en augmentant leur conductivité. Dans notre étude, la conductivité varie entre 48 et 80 $\mu S.cm^{-1}$ dans la rivière de référence. Ces faibles valeurs sont caractéristiques des eaux de pluie (10-30 $\mu S.cm^{-1}$) et des eaux provenant de roches non carbonatées (30-90 $\mu S.cm^{-1}$) (Négre *et al.*, 2001). Dans les autres systèmes, les valeurs sont plus élevées et fluctuent entre 70 et 340 $\mu S.cm^{-1}$, caractéristiques d'une eau riche en carbonate et en minéraux.

Tableau IV.4 : Valeurs (minimum, maximum) des différents paramètres généraux (conductivité, pH, potentiel redox, matière en suspension, chlorophylle *a*, ratio chlorophylla sur phaeopigments et ratio carbone organique sur azote organique particulaire) dans les quatre rivières. En rouge, les plus fortes valeurs obtenues.

| Variables | St-Rivoal | Yar | Penzé | Aulne |
|---------------------------------|-----------------|------------------|------------------|-------------------|
| E_c ($\mu S.cm^{-1}$) | (48-80) | (81-339) | (119-339) | (69-256) |
| pH | (4,8-6,9) | (5,9-8,5) | (6,1-7,6) | (6,5-8,2) |
| Eh (mV) | (78-257) | (19-203) | (48-209) | (38-190) |
| MES ($mg.L^{-1}$) | (0,2-47) | (3-80) | (3-34) | (1-27) |
| Chl <i>a</i> ($\mu g.L^{-1}$) | (0,1-3) | (0,1-15) | (0,1-4) | (0,1-24) |
| Chl <i>a</i> /pheao | (0,1-1) | (0,04-1,3) | (0,02-1,1) | (0,02-1,4) |
| COP/NOP | (4-16) | (5-16) | (4-15) | (3-15) |

Dans les eaux douces, plusieurs systèmes chimiques interviennent en complément des carbonates dans la fixation du pH. La plupart des eaux des rivières ont leur pH compris entre 6,5 et 8,5 (Aminot et Kérouel, 2004). Cependant, la nature et l'utilisation des sols par les activités agricoles peuvent perturber le pH. En effet, les activités agricoles, via l'épandage de fumier animal dont le pH varie entre 6 et 9 (Bernal *et al.*, 2009) augmentent le pH des sols jusqu'à la neutralité (Whalen *et al.*, 2000). Cette augmentation est expliquée par le pouvoir tampon des ions hydrogénocarbonates et des acides organiques contenus dans le fumier. Le carbonate qui est ajouté dans l'alimentation du bétail peut également se retrouver dans les excréments (Eghball, 1999). Au sein des systèmes étudiés, les valeurs de pH les plus faibles (4,8-6,9) sont observées dans la rivière de Saint-Rivoal. Ces valeurs sont caractéristiques des eaux de pluies (4-6) et correspondent également à des sols caractérisés par des roches non carbonatés (Négrel *et al.*, 2001). Dans les trois autres systèmes, le pH varie entre 4,5 et 8,5 avec une moyenne annuelle plus élevée (7,5) dans le Yar. Ces valeurs sont caractéristiques du ruissellement des bassins versants agricoles bretons où le pH des sols varie entre 6 et 8,5 (<http://www.bretagne-environnement.org/>).

La mesure du potentiel d'oxydo-réduction (Eh), étroitement liée à la quantité de dioxygène, apporte une information sur la qualité de l'eau (Aminot et Kérouel, 2004). Les apports importants de MOD sur les sols agricoles peuvent influencer ce paramètre en augmentant la demande en oxygène des activités bactériennes et ainsi diminuer le potentiel redox dans les sols (Kashem et Singh, 2001). La MOD peut également se retrouver dans les systèmes aquatiques et engendrer le même phénomène. Dans notre étude, le potentiel redox de la rivière de référence est globalement fort, de l'ordre de 145 mV. Dans les trois autres systèmes, les valeurs du potentiel redox obtenues sont plus faibles, en moyenne de l'ordre de 90 mV, indiquant des conditions plus réductrices que dans la rivière de référence.

f. Matière en suspension, Chlorophylle a, phaeopigments, azote et carbone organique particulaire

Les matières en suspension (MES), organiques et inorganiques, proviennent de diverses sources (Turner et Millward, 2002). Elles ont pour principales origines l'érosion continentale et les activités anthropiques alors que la production autochtone génère principalement des matières organiques. Les concentrations en MES varient entre 0,2 et 47 mg L⁻¹, 3 et 80 mg L⁻¹, 3 et 34 mg L⁻¹ et 1 et 27 mg L⁻¹ dans le Saint Rivoal, le Yar, la Penzé et l'Aulne respectivement. Ces valeurs de MES sont du même ordre de grandeur de celles observées dans des études précédentes effectuées dans des systèmes bretons (Aulne, Elorn) (Bassoullet, 1979 ; Aminot *et al.*, 1990).

La mesure de la chlorophylle *a* (Chl*a*) est utilisée comme indicateur de biomasse (débris de végétaux terrestre et efflorescences algales) dans les eaux naturelles. Dans le système de référence (St. Rivoal), les concentrations en chl*a* varient entre 0,1 et 3 µg.L⁻¹. Les valeurs sont plus élevées dans les autres systèmes, avec une moyenne annuelle comprise entre 1 et 5 µg.L⁻¹ et des maximums de 24 µg.L⁻¹ observés dans l'Aulne en automne. Le rapport chlorophylle *a* / phaeopigments (chl*a*/phaeo) est souvent utilisé comme un indicateur de l'état physiologique du phytoplancton (Aminot et Kérouel, 2004). Un rapport faible (<1) est indicateur d'une matière organique particulaire (MOP) dégradée ou détritique et un rapport élevé (>1) est généralement associé au développement phytoplanctonique. On observe un rapport souvent <1 sur la majeure partie de l'année dans les quatre systèmes signifiant une matière majoritairement dégradée. Un rapport proche ou supérieur à 1 est quelque fois observé dans l'Aulne et la Penzé, pouvant être relié au développement local du phytoplancton.

L'analyse du rapport C/N dans la MOP est souvent utilisée pour appréhender l'origine ou l'état d'évolution de la matière organique particulaire (Perdue et Koprivnjak, 2007 ; Savoye *et al.*, 2012). Par exemple, il permet de distinguer une origine plutôt terrigène ou dégradée lorsque le rapport est >12, d'une origine plutôt aquatique, phytoplanctonique et donc riche en azote, lorsque le rapport est <10 (Thornton et McManus, 1994). Pour les quatre systèmes, ce rapport fluctue sur l'année avec des maximums (14-16) observés sur une large période hivernale et au cours de l'été. Des minimums (3-5) sont observés le plus souvent au printemps et en automne, et sont associés au développement phytoplanctonique.

Pour résumer, notre système de référence, la rivière de Saint-Rivoal, se caractérise par une eau dont le pH et la conductivité sont significativement plus faibles ($p < 0,05$) que dans les trois autres systèmes (Fig. IV.4). La nature non carbonatée du bassin versant et les faibles teneurs en cations majeurs dissous dans cette rivière (Ca, Sr, K, Mg) peuvent expliquer ces valeurs. A l'inverse, le potentiel redox dans Saint-Rivoal est significativement plus élevé ($p < 0,05$) que dans les autres systèmes, illustrant un milieu bien oxygéné. Tous ces paramètres sont en accord avec la nature « non perturbée » de cette rivière. Les trois autres rivières se caractérisent par une eau dont le pH et la conductivité sont significativement plus forts ($p < 0,05$) que dans un système naturel. A l'inverse, le potentiel d'oxydoréduction dans ces trois rivières est significativement plus faible ($p < 0,05$) que dans la rivière de Saint-Rivoal, révélant une demande en oxygène plus élevée due à une activité bactérienne plus importante. Ces paramètres sont représentatifs des intenses activités d'épandages de fumier et de lisier sur les bassins versants de ces rivières.

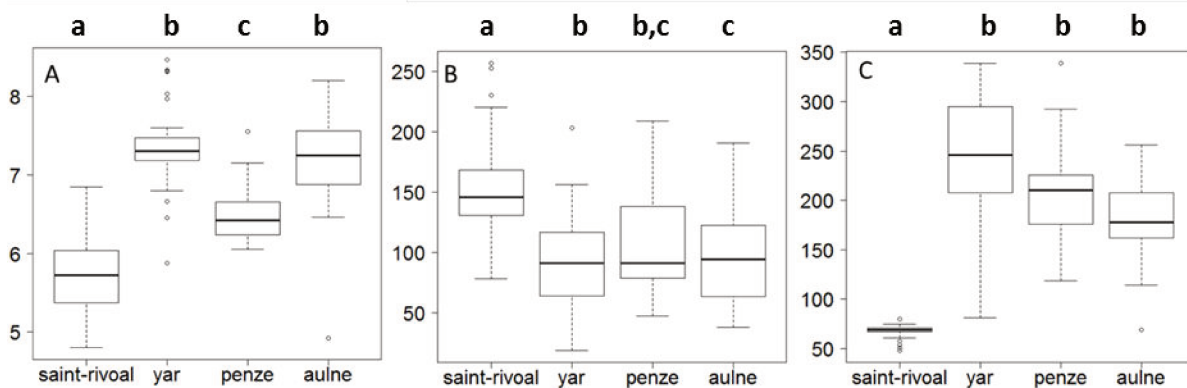


Figure IV.4: Diagrammes de distribution du pH (A), du potentiel redox (B, mV) et de la conductivité (C, $\mu S.cm^{-1}$) dans les 4 rivières étudiées.

IV.3.2. Niveaux de concentrations des trois familles des composés organiques étudiés (FA-like, TA-like et GSH-like)

La figure IV.5 présente les niveaux des concentrations en composés de type FA-like, TA-like et GSH-like dans la fraction dissoute au sein des quatre rivières étudiées au cours de l'année 2014. Les résultats sont représentés sous forme de diagrammes en boîte représentant la médiane, les quartiles, le minimum, le maximum et les outsiders. Le test statistique non paramétrique de Kruskal-Wallis a permis de mettre en évidence la significativité des différences de concentrations entre chaque bassin. Les résultats sont présentés de gauche à droite, par ordre croissant de taille du bassin versant. Le tableau IV.5 récapitule les variations des trois composés (médiane, minimum, maximum), les concentrations annuelles moyennes pondérées du débit (C_{dwm}) et les résultats du test de différence.

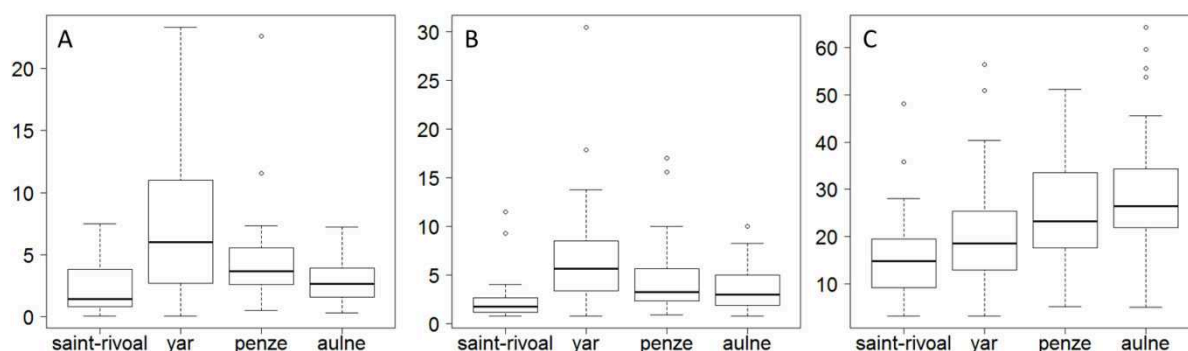


Figure IV.5 : Diagrammes de distribution des concentrations en (A) FA-like (mgC.L^{-1} , $n=139$), (B) TA-like ($\mu\text{mol.L}^{-1}$, $n=128$) et (C) GSH-like (nmol.L^{-1} , $n=125$) dans les 4 rivières étudiées.

Les teneurs en composés de type FA-like varient de $0,3$ à 23 mgC.L^{-1} mais restent généralement comprises entre 2 et 12 mgC.L^{-1} . Les différences de niveaux de concentrations entre les quatre rivières sont relativement marquées. Les valeurs les plus faibles sont observées dans la rivière de St-Rivoal et dans l'Aulne, pour lesquels les teneurs restent généralement inférieures à 4 mgC.L^{-1} . Les valeurs les plus élevées sont retrouvées dans la rivière de la Penzé et surtout dans celle du Yar, avec un écart interquartile compris entre $3-6 \text{ mgC.L}^{-1}$ et $3-12 \text{ mgC.L}^{-1}$ respectivement. Dans le système référence, le flux spécifique en composés de type FA-like est de $3,4 \pm 0,2 \text{ tC.an}^{-1}.\text{km}^{-2}$. Dans les systèmes impactés par l'agriculture (Aulne, Penzé et Yar), les flux spécifiques de FA-like sont de $3,5 \pm 0,2 \text{ tC.an}^{-1}.\text{km}^{-2}$, $4,2 \pm 0,3 \text{ tC.an}^{-1}.\text{km}^{-2}$ et $7,4 \pm 0,4 \text{ tC.an}^{-1}.\text{km}^{-2}$ respectivement.

Les concentrations en composés de type TA-like fluctuent entre 1 et 30 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ avec des valeurs généralement comprises entre 2 et 8 $\mu\text{mol.L}^{-1}$. Comme pour les FA-like, les différences de niveaux de concentrations entre rivières sont marquées. Les plus faibles valeurs sont observées dans la rivière de Saint-Rivoal, généralement comprises entre 1 et 3 $\mu\text{mol.L}^{-1}$. De plus fortes valeurs sont observées dans la Penzé et l'Aulne, comprises entre 2 et 5 $\mu\text{mol.L}^{-1}$. C'est dans la rivière du Yar que l'écart interquartile est maximum, compris entre 3 et 8 $\mu\text{mol.L}^{-1}$. Les flux spécifiques de TA-like pour les 4 systèmes sont de $140 \pm 15 \text{ kg.an}^{-1}.\text{km}^{-2}$ pour la rivière de référence et de $250 \pm 30 \text{ kg.an}^{-1}.\text{km}^{-2}$, $270 \pm 30 \text{ kg.an}^{-1}.\text{km}^{-2}$ et $360 \pm 50 \text{ kg.an}^{-1}.\text{km}^{-2}$ pour la Penzé, l'Aulne et le Yar respectivement.

Tableau IV.5 : Caractéristiques statistiques et valeurs (médiane, minimum, maximum) de concentrations des composés de type FA-like (mgC.L^{-1}), TA-like ($\mu\text{mol.L}^{-1}$) et GSH-like (nmol.L^{-1}) dans les 4 systèmes fluviaux en 2014. Les plus fortes concentrations annuelles moyennes pondérées du débit (C_{dwm}) sont indiquées en rouge. Les écarts-types de chaque C_{dwm} sont également indiqués.

| Composés organiques | St-Rivoal | Yar | Penzé | Aulne |
|---|--------------------------|----------------------------------|--------------------------|--------------------------------|
| FA-like (mgC.L^{-1}) | 2 (0,5-7,5) ^a | 6 (0,1-23) ^b | 4 (0,5-23) ^{bc} | 3 (0,3-7) ^{ac} |
| C_{dwm} (mgC.L^{-1}) | $3,2 \pm 0,2$ | $11,8 \pm 0,7$ | $4,5 \pm 0,3$ | $3,8 \pm 0,2$ |
| TA-like ($\mu\text{mol.L}^{-1}$) | 2 (1-11) ^a | 6 (1-30) ^b | 3 (1-17) ^{bc} | 3 (1-10) ^{ac} |
| C_{dwm} ($\mu\text{mol.L}^{-1}$) | $1,7 \pm 0,2$ | $7,8 \pm 0,9$ | $3,4 \pm 0,4$ | $3,8 \pm 0,5$ |
| GSH-like (nmol.L^{-1}) | 15 (3-48) ^a | 19 (3-57) ^{ab} | 23 (5-51) ^b | 26 (5-64) ^b |
| C_{dwm} (nmol.L^{-1}) | $15 \pm 1,0$ | $4,5 \pm 0,3$ | $23 \pm 1,6$ | $28 \pm 2,0$ |

Les niveaux de concentrations des composés de type GSH-like dans les quatre systèmes fluctuent entre 3 et 64 nmol.L^{-1} , mais restent généralement compris entre 10 et 35 nmol.L^{-1} . On retrouve les concentrations les plus faibles dans la rivière de Saint-Rivoal, généralement comprises entre 10 et 20 nmol.L^{-1} . Dans les autres systèmes, l'écart interquartile est plus élevé, compris entre 15 et 25 nmol.L^{-1} dans le Yar, entre 20 et 35 nmol.L^{-1} dans la Penzé et entre 22 et 35 nmol.L^{-1} dans l'Aulne. Le flux spécifique de GSH-like est de $5,1 \pm 0,4 \text{ kg.an}^{-1}.\text{km}^{-2}$ pour la rivière de référence. Pour les trois autres systèmes, il est de $1,7 \pm 0,1 \text{ kg.an}^{-1}.\text{km}^{-2}$ pour le Yar, $6,6 \pm 0,7 \text{ kg.an}^{-1}.\text{km}^{-2}$ pour la Penzé et $7,9 \pm 0,6 \text{ kg.an}^{-1}.\text{km}^{-2}$ pour

l'Aulne. Le manque de données dans la rivière du Yar pendant les périodes de fortes crues n'ont pas permis d'obtenir une valeur représentative du flux de GSH-like exporté.

IV.3.3. Variations saisonnières des trois types de composés organiques

a. Composés de type FA-like

La figure IV.6 présente les variations des composés de type FA-like dans les quatre systèmes étudiés. Les périodes de l'année pour lesquelles les précipitations sont les plus élevées sont représentées en bleues (janvier-février et octobre-novembre).

L'évolution des concentrations annuelles révèle une dynamique beaucoup plus marquée dans les systèmes agricoles. Les plus faibles valeurs sont observées au cours de la période d'étiage, de juin à septembre avec des concentrations souvent inférieures à 1 mgC.L^{-1} . Les teneurs les plus fortes sont observées au cours de l'hiver et de l'automne dans les 4 rivières pendant les périodes de fortes crues, avec des maximums plus marqués ($>10 \text{ mgC.L}^{-1}$) dans le Yar et la Penzé. Une exception est à noter au mois d'août dans la Penzé avec une concentration extrêmement forte, proche des 25 mgC.L^{-1} . Cette augmentation brutale et unique pourrait être liée à l'augmentation des pluies particulièrement importante survenue début août (23,8 mm en un jour au lieu d'une moyenne de 2 mm en période d'étiage). Un décroissement plus ou moins rapide est ensuite observé selon la rivière. En mai-juin, une augmentation importante des FA-like est observée dans les 4 rivières à la suite de plusieurs périodes pluvieuses. Il est à noter que cette augmentation semble décalée dans le temps selon la taille des bassins versant. Elle est observée en avril-mai dans la rivière de Saint-Rivoal, en mai-juin dans le Yar et la Penzé et plus tard, vers fin juin dans l'Aulne. Le retard observé pourrait être expliqué par le couvert végétal qui absorbe la majorité de l'eau avant son déversement dans la rivière.

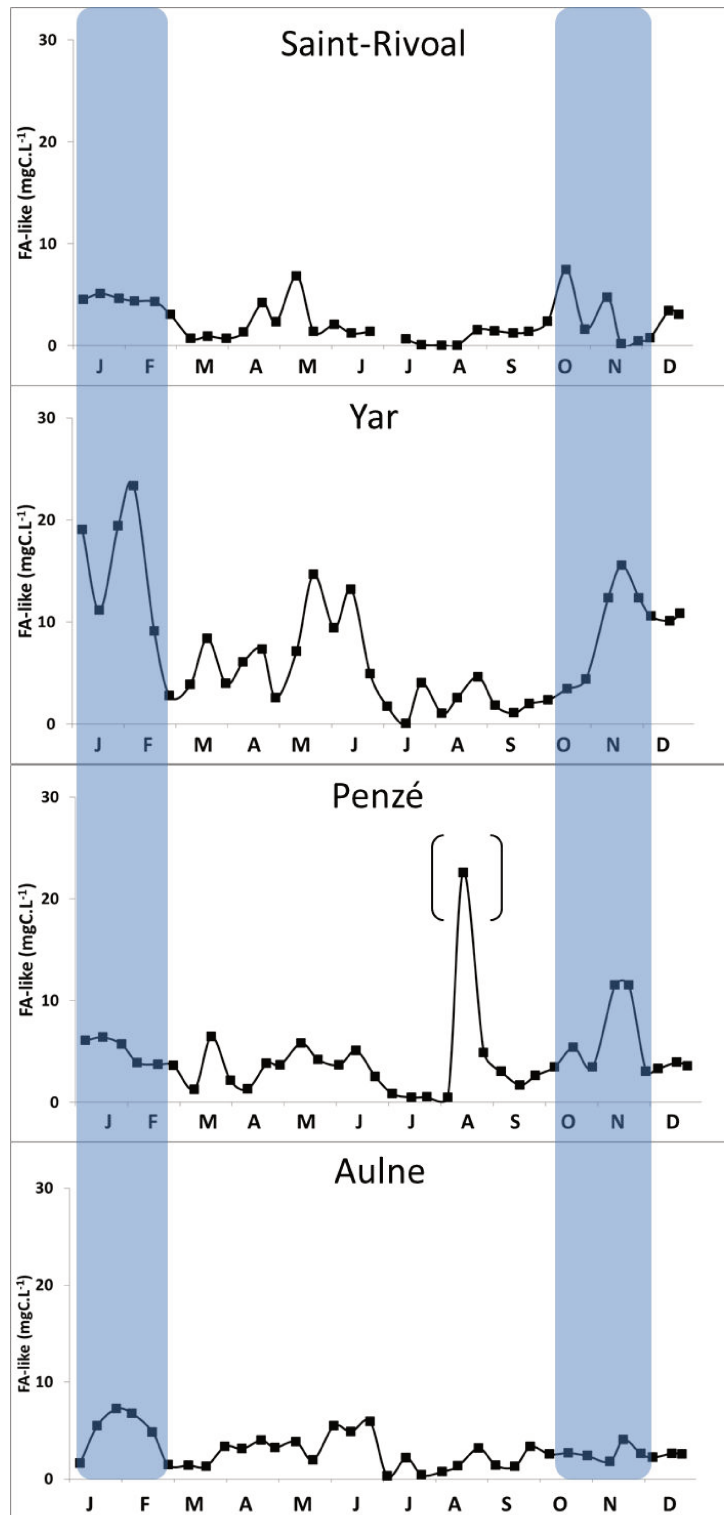


Figure IV.6 : Variations saisonnières des concentrations des composés de type FA-like en mgC.L^{-1} dans les quatre systèmes étudiés en 2014. Les bandes en bleues représentent les deux périodes de l'année de plus fortes précipitations.

b. Composés de type TA-like

La figure IV.7 présente les variations saisonnières des composés de type TA-like au cours de l'année 2014. Sur cette figure est également représenté le niveau de piézométrie correspondant à la profondeur des nappes phréatiques sur chacun des bassins versants étudiés. Nos précédentes études ayant montré la formation de ce composé organique dans les environnements profonds (Marie *et al.*, 2015), ce paramètre semble important dans la compréhension des variations des TA-like. Les données de piézométrie montrent qu'en période de crue hivernale (janvier-février), les nappes sont relativement proches de la surface ($\approx 2\text{m}$), à l'exception de Saint-Rivoal ($\approx 7\text{m}$). A partir de la décrue hivernale, une diminution régulière du niveau des nappes est observée jusqu'aux mois d'octobre-novembre où les profondeurs sont maximales (entre 4 et 15 m). Le niveau remonte rapidement vers la surface (1 à 2 mois) avec la crue d'automne.

L'évolution des variations saisonnières des composés de type TA-like est globalement similaire dans les quatre systèmes. Les teneurs restent relativement faibles ($< 10 \mu\text{mol.L}^{-1}$) au cours de la première partie de l'année, de janvier à août. Cependant, notons des élévations de concentration en TA-like non négligeables, jusqu'à $\approx 10 \mu\text{mol.L}^{-1}$, pendant les phases de décrue printanière et après des périodes de fortes précipitations. C'est en automne que l'on observe une augmentation significative des concentrations ($p < 0,05$) jusqu'à atteindre des valeurs maximales au mois d'octobre ou novembre selon la rivière. C'est dans les systèmes agricoles, le Yar et la Penzé, que ces maximums atteignent des valeurs les plus fortes ($> 15 \mu\text{mol.L}^{-1}$). Par la suite, les concentrations diminuent jusqu'aux valeurs observées au début de l'année.

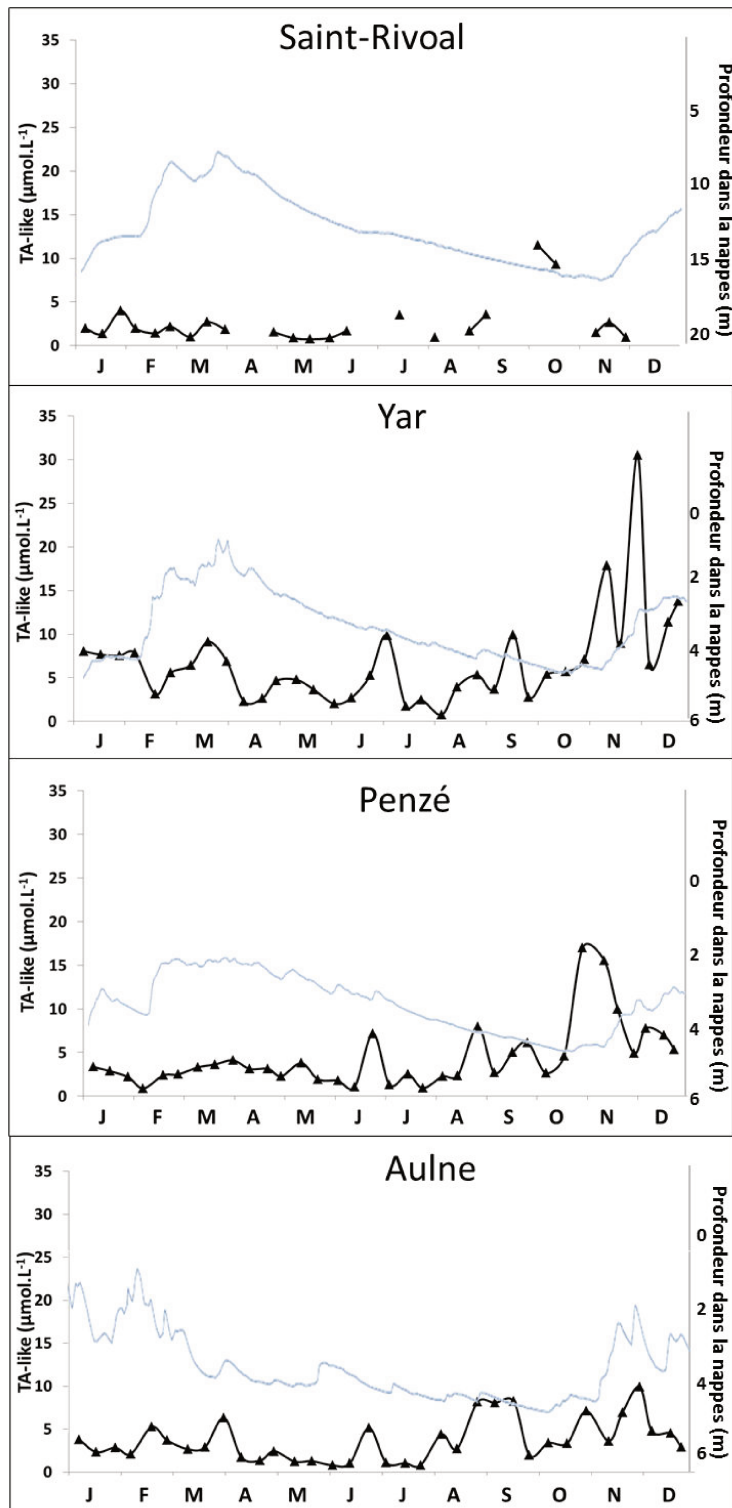


Figure IV.7 : Variations saisonnières des concentrations des composés de type TA-like en $\mu\text{mol.L}^{-1}$ dans les quatre systèmes étudiés en 2014. Le niveau piézométrique des nappes phréatiques (m) est représenté en bleu.

c. Composés de type GSH-like

Les variations saisonnières des composés de type GSH-like sont présentées sur la figure IV.8. Sur cette figure sont également représentées les concentrations en *Chla* au cours de l'année 2014 ; des études antérieures ayant montré l'importance potentielle de la *Chla* dans la compréhension des variations de ces composés organiques (Al-Farawati et van den Berg, 2001 ; Dupont *et al.*, 2004 ; Tang *et al.*, 2004). Les périodes de l'année pour lesquelles les concentrations en *Chla* sont les plus élevées sont représentées en vert (avril-mai et août-novembre).

Les variations saisonnières de GSH-like semblent moins claires et marquées que pour les autres composés organiques. En effet, les concentrations peuvent varier de plusieurs dizaines de nM d'un jour de prélèvement à l'autre. Cependant, on peut noter que les plus faibles valeurs sont toujours observées au cours de l'hiver, correspondant aux maxima du débit et en été, lorsque la radiation solaire est au maximum (Fig. IV.2). Les valeurs les plus élevées sont réparties au cours de deux saisons ; au printemps et en automne, lorsque les concentrations en *Chla* sont les plus élevées. Au sein de chaque système, la variation des GSH-like semble très dynamique. Il est possible que la fréquence de nos prélèvements n'ait pas permis de rendre suffisamment compte de cette dynamique.

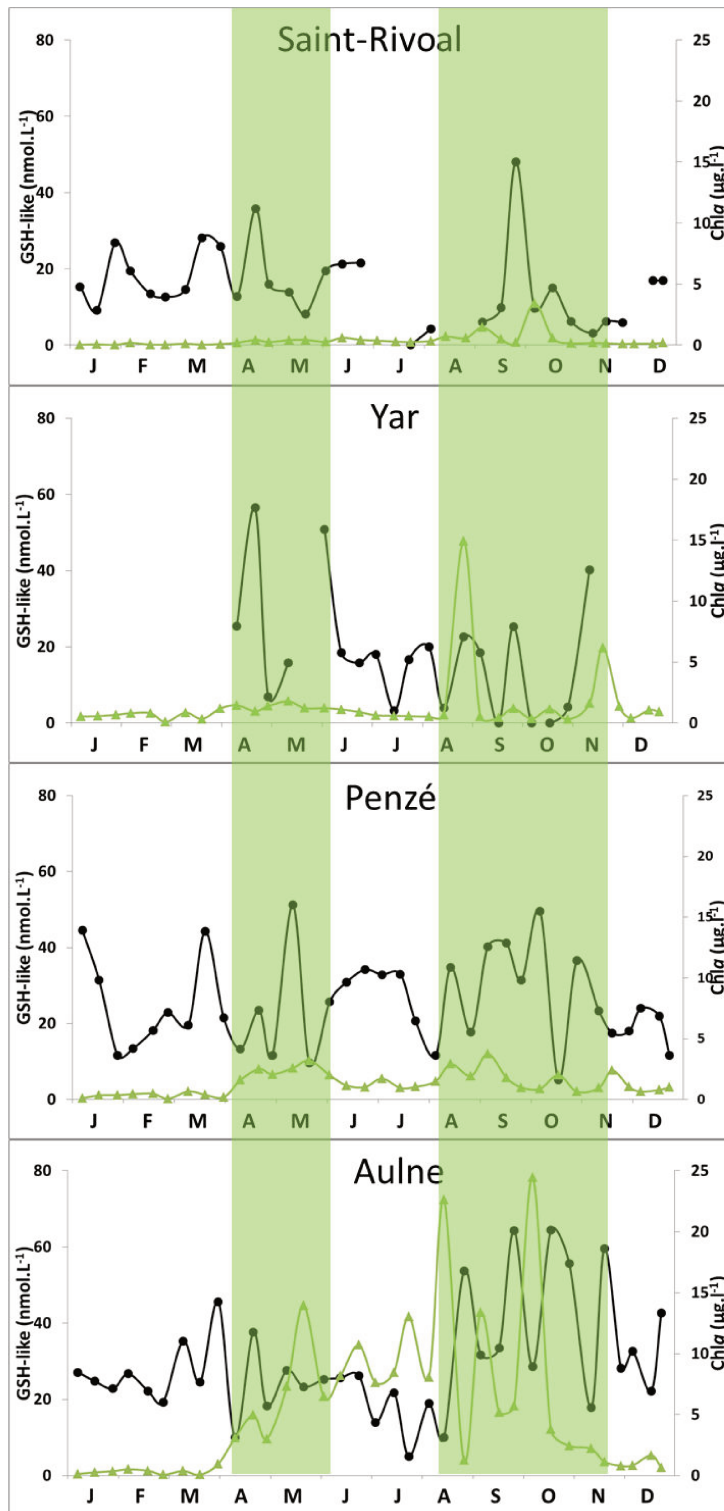


Figure IV.8 : Variations saisonnières des concentrations des composés de type GSH-like en nmol.L^{-1} dans les quatre systèmes étudiés en 2014. Les bandes en vertes représentent les deux périodes de l'année où les concentrations en Chla ($\mu\text{g.L}^{-1}$) sont les plus élevées.

IV.4. Discussion

IV.4.1. Influence des activités agricoles sur la composition chimique des eaux fluviales

a. Cations majeurs et isotopes du strontium

D'après Whalen *et al.* (2000), après chaque application de lisier, une augmentation des teneurs en K, Ca et Mg est immédiatement observée dans les sols. Les déjections animales (bétail, porc et volaille) apporte également un excès de Sr sur les sols (Widory *et al.*, 2001). Dans les eaux de rivières, les teneurs en cations majeurs sont supérieures dans le Yar, la Penzé et l'Aulne par rapport au système de référence (Fig. IV.3). Comme montré précédemment, les épandages sont élevés pour chaque bassin versant, avec un cumul d'environ 600 tonnes d'effluents.an⁻¹.km⁻² pour l'Aulne, environ 2 000 pour la Penzé et 1 700 pour le Yar. Les teneurs en cations majeurs dans les eaux de rivières sont donc clairement influencées par les quantités d'effluents épandus sur les sols.

Parmi les systèmes impactés, c'est dans la rivière du Yar que l'on retrouve les plus fortes teneurs en cations majeurs (Fig. IV.3). D'après Kirchmann et Witter (1992) et Widory *et al.* (2001), c'est dans le lixiviat de fiente de volaille que l'on retrouve les plus importantes concentrations en Mg et Sr, entre 35 et 55 mg.L⁻¹ et entre 0,3 et 4 mg.L⁻¹ respectivement mais également en K et Ca. Or nous avons vu que les effluents de volailles sont produits en plus grande quantités dans le bassin du Yar (250 T.an⁻¹.km⁻² par animal). Les teneurs en cations majeurs semblent donc influencées par les quantités de déjections mais également par le type d'effluent.

D'après Négrel et Pauwel (2004), une augmentation des teneurs en Mg et en Sr indique une source commune d'origine agricole, provoquant une corrélation entre les teneurs de ces deux éléments. Nous avons donc étudié la corrélation entre les deux éléments dans nos systèmes (Fig. IV.9). Le Mg est bien corrélé avec le Sr pour l'Aulne ($r^2=0,943$; $n=35$), pour la Penzé ($r^2=0,964$; $n=35$) et pour le Yar ($r^2=0,946$; $n=35$). Ces résultats montrent un impact de l'agriculture sur ces rivières. De plus, les pentes sont significativement différentes ($p<0,05$), indiquant un impact de l'agriculture différent selon les systèmes. L'absence de corrélation Mg-Sr dans notre système de référence est en accord avec la nature « non perturbée » de cette rivière.

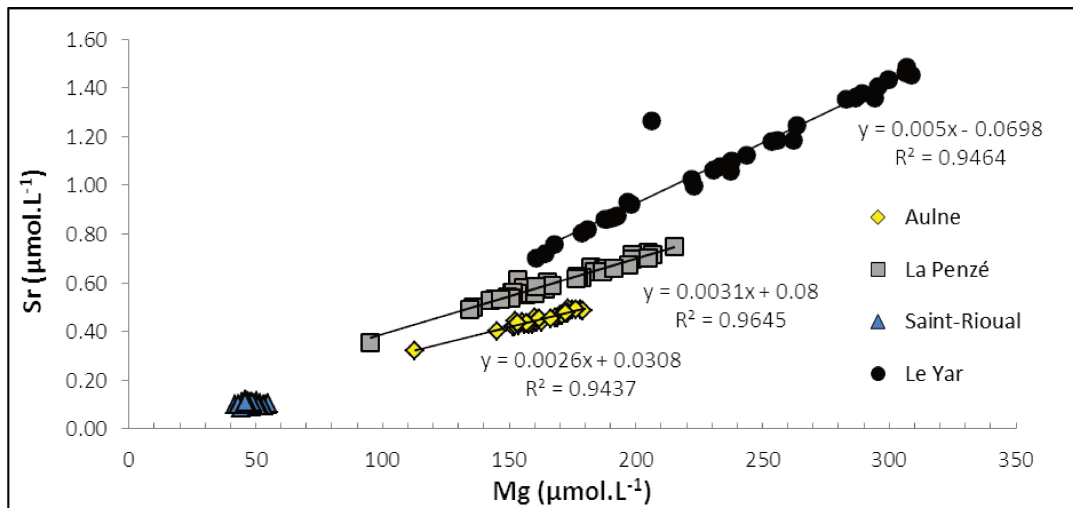


Figure IV.9: Concentrations en strontium dissous (μM) en fonction des concentrations en magnésium dissous (μM) dans les quatre rivières.

Le couplage entre le rapport isotopique $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ et le rapport Mg/Sr dans la phase dissoute permet de retracer l'origine et les proportions de mélange de différentes sources (Négre et Pauwels, 2004). Comme montré dans la figure IV.9, le Mg est étroitement lié au Sr et aux sources anthropiques. Sur la figure IV.10, trois valeurs aux extrémités sont représentées. Il y a les impacts agricoles (engrais, lisiers et fumiers), représentés par de faibles rapports isotopiques $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ et de faibles rapports Mg/Sr. La partie la moins profonde des milieux aquifères, les altérites, est représentée par de forts rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, dû au lessivage des minéraux résiduels, provoqués par les interactions de l'eau avec les altérites. La partie la plus profonde de l'aquifère, le milieu fissuré, est caractérisée par des plus faibles rapports isotopiques $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, et de forts rapports Mg/Sr. Enfin, l'eau de pluie est représentée par un rapport isotopique $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de 0,7097 et Mg/Sr égal à 470 (Négre et Pauwels, 2004). Les effluents sont représentés pour chaque type d'élevage, bovin, avicole ou porcin. Ils ont de faibles rapports de Mg/Sr et $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, proches des valeurs de fertilisants.

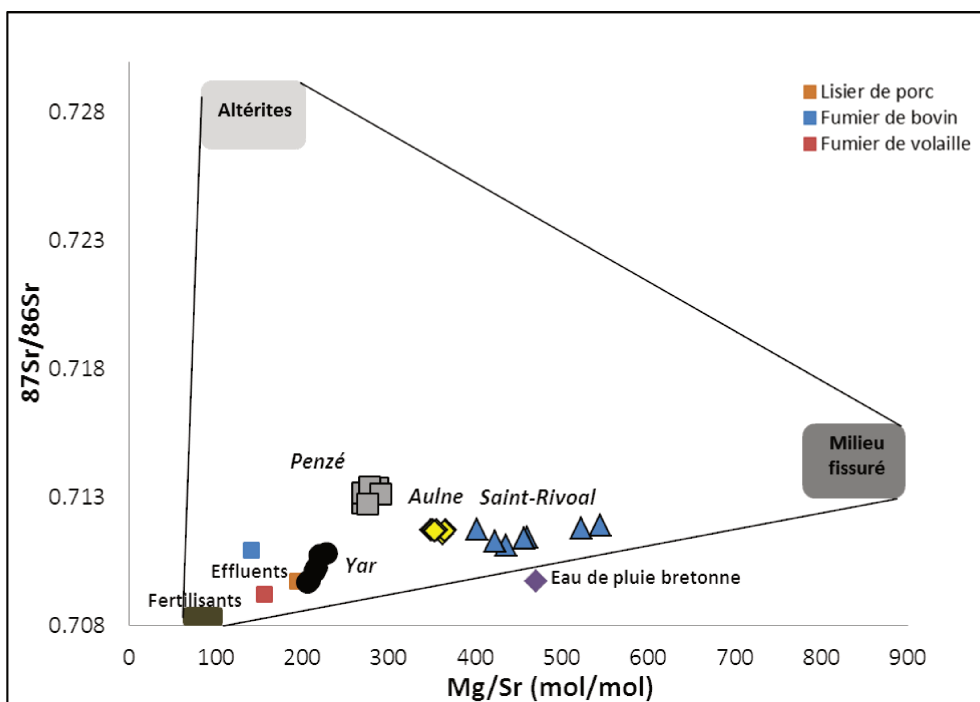


Figure IV.10 : $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ en fonction du rapport Mg/Sr en phase dissoute pour les quatre rivières d'étude en 2014. Les « end-members » (Altérites, milieu fissuré, fertilisants et effluents de porcs, de volailles et de bovins) sont extraites de Négrel et Pauwels, 2004.

Nos résultats montrent une séparation nette entre les quatre systèmes, indiquant une différenciation entre les apports, vraisemblablement liés à un impact différent des activités agricoles. Pour la rivière de référence, les points sont proches des valeurs des eaux de pluies bretonnes. La Penzé a des rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ plus élevés que les autres rivières. Ceci peut indiquer un impact plus important du milieu altéritique. L'Aulne ne montre pas de variation significative au cours de l'année et se situe entre les domaines des autres systèmes. Ceci pourrait s'expliquer par la taille du bassin versant, pouvant amener un grand nombre de sources différentes, moyennant donc les rapports obtenus entre les 3 autres rivières. Le Yar tend vers des rapports faibles, aussi bien pour les rapports isotopiques du Sr que pour les rapports de concentrations Mg/Sr , indiquant un impact plus important des fumiers et des lisiers.

En résumé, ces résultats indiquent clairement que le Saint-Rivoal est principalement impactée par les eaux de pluies. La Penzé et l'Aulne montrent un mélange de sources agricoles, d'eaux de pluies et plus ou moins influencé par le milieu souterrain. Le Yar montre quant à lui un impact plus important de l'agriculture via l'utilisation de fumier et de lisier.

b. Composés organiques dissous

D'après nos estimations, les flux de COD apportés par l'élevage, tout type d'effluent compris (bovin, porc et volaille) (Tableau IV.1), représentent un total de $5 \text{ tC.an}^{-1}.\text{km}^{-2}$ sur le bassin versant de l'Aulne et trois fois plus sur celui du Yar et de la Penzé ; $13 \text{ tC.an}^{-1}.\text{km}^{-2}$ et $15 \text{ tC.an}^{-1}.\text{km}^{-2}$ respectivement.

Nos calculs montrent également que les flux spécifiques des composés de type FA-like les plus élevés ($7,4 \text{ tC.an}^{-1}.\text{km}^{-2}$ et $4,2 \text{ tC.an}^{-1}.\text{km}^{-2}$) se trouvent dans le Yar et la Penzé. Par conséquent, les apports en FA-like dans les eaux de systèmes impactés semblent clairement influencés par les pressions agricoles. De plus, si l'on considère que les FA-like représentent entre 60 et 80% du COD dans les systèmes fluviaux tempérés (Waeles *et al.*, 2013 ; Marie *et al.*, 2015), le lessivage des effluents épandus par l'agriculture contribue, d'après nos estimations, à la majorité du flux de COD exporté dans ces systèmes aquatiques.

Cependant, les flux de FA-like dans les systèmes agricoles ne sont pas proportionnels aux flux de COD apportés par l'agriculture. En effet pour une même charge organique, on observe des flux de FA-like environ 2 fois plus élevés dans le Yar que dans la Penzé. Les sols sur le bassin versant du Yar reçoivent très certainement une MOD issue des effluents d'élevage plus humifiée que celui de la Penzé. Les activités agricoles sur le bassin versant du Yar se démarquent par une contribution plus élevée des bovins (84%) et des volailles (13%) aux flux de COD (Tableau IV.1). Le bassin de la Penzé, quant à lui, se caractérise par une plus forte contribution des porcs (28%). Il semblerait donc que les effluents de bovin et de volaille soient plus humifiés que les effluents de porc. Moral *et al.* (2005) et Ohno *et al.* (2007) ont en effet observé un plus fort taux d'humification dans les effluents de bovin et de volaille que dans ceux de porc. D'après Wang *et al.* (2015), le fumier de bovin est 2 fois plus humifié que le fumier de volaille et 1,6 fois plus que le fumier de porc. Par conséquent, les différences de flux de FA-like entre les bassins agricoles ne s'expliquent pas seulement par la pression agricole mais également par le type d'élevage.

Les composés soufrés réduits de type TA-like semblent produits par la dégradation de la MOD en conditions anaérobiques (milieux souterrains, environnements profonds du sol) (Marie *et al.*, 2015). Bien qu'aucune étude n'ait observé de TA-like dans les effluents d'animaux, le soufre est également présent, en différentes proportions, dans le lisier issu des déjections animales (vaches, cochons et poules) (Bol *et al.*, 2005 ; Wang *et al.*, 2015).

Dans notre cas, le flux spécifique estimé en composés de type TA-like du système de référence est 1,8 à 2,6 fois plus faible que dans les systèmes impactés par l'agriculture. En effet, le flux de TA-like le plus élevé a été observé dans le Yar, système qui reçoit une forte charge organique. Ces composés semblent donc clairement influencés par les pressions agricoles.

Cependant, comme pour les FA-like, les flux de TA-like dans les systèmes agricoles ne sont pas proportionnels aux flux de COD apportés par l'élevage. En effet, pour une même charge organique sur les bassins du Yar et de la Penzé, on observe un flux de TA-like environ 1,5 fois plus fort dans le Yar que dans la Penzé. Compte tenu de la grande contribution des bovins et des volailles sur le bassin versant du Yar (Tableau IV.1), on peut supposer que la MOD issue de ces effluents contienne plus de composés soufrés. D'après Kirchmann et Witter, (1992) et Wang *et al.*, (2015), le fumier de volaille a un taux de soufre 1,5 à 2 fois plus important que le fumier de porc et de bovin. Après 20 jours de compostage, Wang *et al.*, (2015) observent également une augmentation des teneurs en soufre plus importante dans les effluents de volaille. D'après les données de Biomasse Normandie (2002), ce sont les effluents avicoles qui doivent être épandus majoritairement sous forme compostée (69%). Or c'est dans le Yar que la quantité d'effluents avicoles épandue est la plus importante. La forte production de TA-like dans le Yar semble donc clairement influencée par le type d'effluent sur les sols. De plus, il est possible que la MOD épandue sur le bassin versant du Yar soit soumise à des conditions réductrices plus intenses favorisant la production de composés soufrés réduits tel que le TA-like. Cette hypothèse peut être soutenue par un potentiel redox légèrement plus faible en période estivale dans la rivière du Yar permettant une formation plus intense de TA-like. Par conséquent, les différences de flux de TA-like entre les bassins agricoles ne s'expliquent pas seulement par la quantité d'effluent sur les sols. D'autres facteurs, tels que des conditions réductrices plus prononcées ou un temps de résidence plus long de la matière organique dans les sols semblent contrôler les teneurs de ce composé.

En ce qui concerne les composés de type GSH-like, un certain nombre de processus biologiques tels que l'excrétion, l'exsudation, la lyse ou le broutage des cellules durant le cours de la vie des algues peuvent être à l'origine de la présence de ces composés dans l'eau. De nombreuses études rapportent la présence de GSH-like à une production *in-situ* pendant les épisodes de blooms phytoplanktoniques dans les milieux côtiers (Tang *et al.*, 2000 ; Al-Farawati et van den Berg, 2001 ; Dupont *et al.*, 2006) et dans les systèmes fluviaux (Superville *et al.*, 2013). Le stress métallique chez les algues et plantes peut également être un

facteur de production et d'exsudation de glutathione (Bruns *et al.*, 2001 ; Dupont et Ahner, 2005 ; Wei et Ahner, 2005 ; Kawakami *et al.*, 2006). En effet, la glutathione sous forme réduite est présente en beaucoup plus grande quantité que la glutathione sous forme oxydée dans le milieu intracellulaire (Sato *et al.*, 2002) car elle joue le rôle d'anti-oxydant et d'agent détoxifiant intracellulaire (Ahner *et al.*, 2002 ; Jacob *et al.*, 2003).

Dans notre étude, c'est dans la rivière de référence que l'on observe les plus faibles teneurs en composés de type GSH-like. Dans les systèmes agricoles, les apports en GSH-like sont plus élevés dans l'Aulne. Le manque de données dans la rivière du Yar en période de crues ne permet pas d'obtenir une valeur représentative du flux de GSH-like. On sait que l'impact de l'agriculture sur le bassin de l'Aulne est modéré et que les apports en matière organique sur le bassin versant de l'Aulne sont plus faibles que dans les autres systèmes agricoles (Tableau IV.1). On peut donc conclure qu'il ne semble pas y avoir de relation directe entre les pressions agricoles et les flux de GSH-like dans les rivières. D'autres paramètres sont susceptibles de modifier l'apport des composés de type GSH-like. La rivière de l'Aulne est caractérisée par un développement phytoplanctonique intense, illustré par une forte concentration en Chla, un rapport Chla/phéao élevé et un faible rapport C/N (<10) d'avril à octobre (Tableau IV.4). Par conséquent, les fortes concentrations de GSH-like observées peuvent être en partie liées à la forte production phytoplanctonique en période estivale. Ce type de composé peut être retrouvé également en grande concentration dans le milieu intracellulaire des grands végétaux (Jacob *et al.*, 2003). Par conséquent, le couvert végétal présent sur le bassin versant de l'Aulne, beaucoup plus grand que les autres bassins, peut également être un facteur expliquant la production de GSH-like avant d'être lessivé jusqu'à la rivière en période de fortes précipitations.

IV.4.2. Facteurs contrôlant la dynamique des composés organiques dissous

Afin de mieux visualiser le cheminement et la mobilisation des composés organiques dans les systèmes étudiés, nous avons tracé une matrice de corrélation de Pearson entre ces composés et d'autres éléments, dont le comportement est connu (Fig. IV.11). Dans nos quatre systèmes, les composés de type FA-like ont un comportement de type « purging », c'est-à-dire que leurs concentrations augmentent dès le début de la crue, en hiver et en automne (Fig. IV.6). Les matrices de corrélation indiquent également que les composés FA-like sont fortement corrélés au débit et aux éléments de type « purging », tels que le Cu, le Pb et le Cd (Waeles *et al.*, 2015). Ces corrélations sont d'autant plus fortes dans la rivière du Yar et de la

Penzé ($p < 0,05$). Ces résultats consolident l'hypothèse du transfert des FA-like des continents vers les milieux côtiers principalement par le lessivage des sols agricoles.

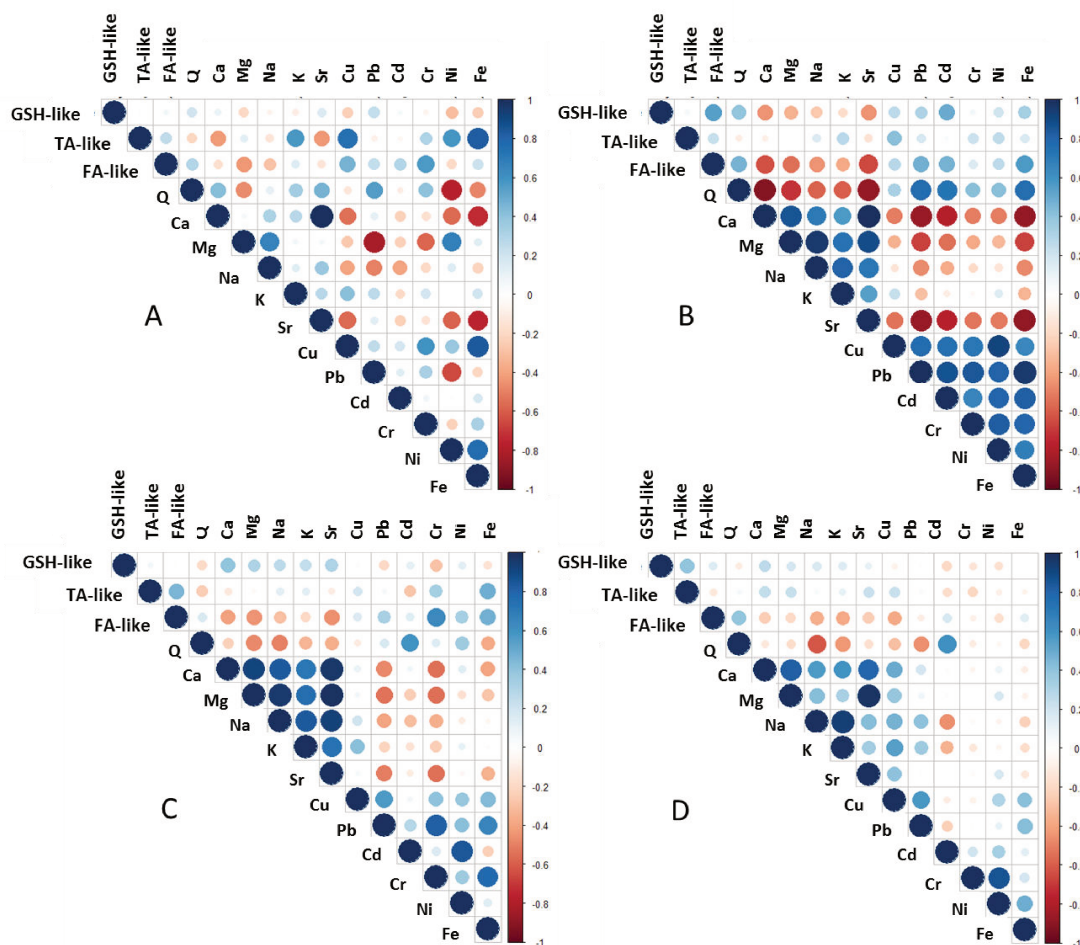


Figure IV.11: Matrice de corrélation de Pearson pour chaque rivière (A) Saint-Rivoal, (B) le Yar, (C) la Penzé et (D) l'Aulne. L'intensité de la couleur et la taille des cercles sont proportionnelles aux coefficients de corrélation.

Les composés TA-like ont un comportement de type « diluting » dans la Penzé, l'Aulne et le Yar en période de très forte crue hivernale et automnale (Fig. IV.7). Ce comportement est caractérisé par une diminution rapide des concentrations au début de la crue, suivie d'une augmentation avant la fin de la crue. Cette tendance n'est pas aussi nette dans la rivière de Saint-Rivoal. Ces résultats sont révélateurs d'une origine souterraine qui intervient après la première phase de dilution par les eaux de pluie (Marie *et al.*, 2015). Par ailleurs, les légères élévations des concentrations en TA-like lors de la décrue printanière sont également révélatrices d'un apport souterrain. L'augmentation significative des concentrations en fin d'année au même moment que la remontée des nappes renforce aussi l'origine souterraine de ces composés. Néanmoins, les matrices de Pearson (Fig. IV.11) nous révèlent très peu de

corrélations positives et significatives entre les composés de type TA-like et les éléments de type « diluting » cheminant par les environnements souterrains, ou de type « purging » amenés aux rivières par lessivage des sols. On peut donc conclure que ces composés semblent produits dans les horizons profonds des sols plutôt que dans les nappes souterraines. Cette production est favorisée par l'apport de MOD d'origine agricole en période d'étiage sèche et chaude, la remontée des nappes en automne ayant pu permettre la purge des horizons profonds riches en TA-like. En effet, lors de la remontée de la nappe, une partie de l'horizon profond des sols devient saturé et entraîne donc la MOD en plus forte concentration que lorsque la nappe est plus basse.

Les variations hebdomadaires et saisonnières des composés de type GSH-like sont très marquées dans les quatre systèmes. Le comportement très réactif de ces composés est difficile à interpréter du fait des nombreuses sources et puits potentiels qui peuvent venir perturber sa dynamique. En effet, plusieurs sources semblent contribuer à l'apport de GSH-like dans les systèmes fluviaux. Dans un premier temps, leur dynamique semble suivre celle de la Chla, avec des concentrations plus élevées au printemps et en automne (Fig. IV.8). L'hypothèse d'une production *in situ* liée à l'activité biologique pendant la période estivale, principalement dans l'Aulne ou les teneurs en Chla sont les plus élevées, est à retenir.

Le reste de l'année, le rapport Chla/pheo reste toujours très faible et le rapport C/N est souvent supérieur à 10, suggérant une origine plutôt terrestre de ces composés. En effet, le transfert de ces composés organiques vers les eaux fluviales semble être principalement effectué lorsque les débits sont maximums, avec plus de 60% de l'export annuel qui se fait entre janvier et mars. Certains puits pouvant perturber sa dynamique, les variations saisonnières montrent une diminution des concentrations de GSH-like en période de maximum de luminosité, ce qui suggère une dégradation photochimique de ces composés à cette période de l'année. En effet, ces composés sont connus pour être sensibles à la photo-oxydation dans les eaux de surface (Laglera et van den Berg, 2006 ; Moingt *et al.*, 2010). Le fort pouvoir complexant de la glutathione avec certains métaux (Tang *et al.*, 2004 ; Moingt *et al.*, 2010) peut cependant la préserver de ces phénomènes d'oxydation. D'autres mesures et expériences devront être entreprises pour mieux comprendre la dynamique et le transfert de ces composés dans les milieux aquatiques.

Afin de résumer les différentes situations observées pour les différentes familles de composés, un schéma est présenté sur la figure IV.12. Les composés FA-like sont essentiellement lessivés des sols en périodes de fortes précipitations. Les composés TA-like semblent produits dans les horizons anaérobiques et profonds des sols puis sont apportés aux rivières par la remontée de la nappe. Enfin, les composés de type GSH-like semblent être produits dans les horizons superficiels puis apportés par le lessivage des sols, mais peuvent également être produits *in situ* par l'activité biologique en période estivale.

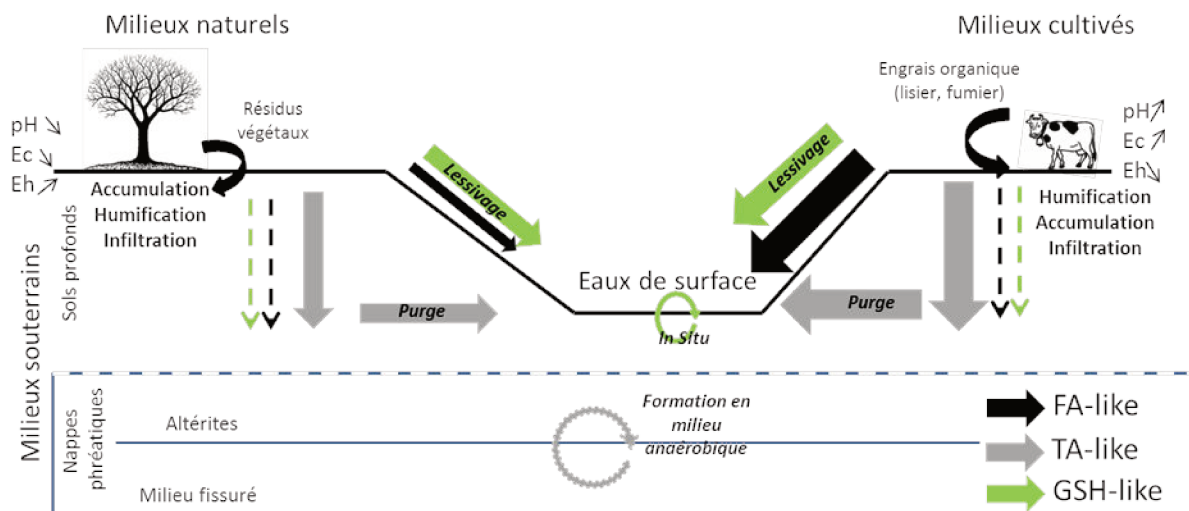


Figure IV.12: Schéma synoptique de transfert des composés organiques (FA-like en noir, TA-like en gris et GSH-like en vert) vers les eaux fluviales. Les flèches pleines représentent les transferts principaux et en pointillées les secondaires. La taille des flèches est proportionnelle au flux exporté vers la rivière.

IV.5. Conclusion

Le suivi à haute fréquence des variations de trois familles des composés de la MOD a été effectué par DP-CSV (Differential Pulse Cathodic Stripping Voltammetry) au cours d'un cycle saisonnier (2014). Deux composés soufrés réduits (GSH-like et TA-like) et les composés de type acides fulviques (FA-like) ont été mesurés dans quatre systèmes fluviaux dont les bassins versants sont très proches en termes de composition lithogénique mais contrastés en termes d'activités agricoles.

Par rapport au système de référence (Saint-Rivoal), nos résultats ont montré, d'une manière quasi générale, des flux en FA-like, TA-like plus forts dans les systèmes impactés par les activités agricoles. Dans le cas des composés de type GSH-like, le rôle des activités agricoles est moins évident à identifier.

Nous avons aussi mis en évidence que les différences de flux estimés dans les différents systèmes ne semblent pas seulement liées à la pression agricole mais également au type d'élevage. Ceci est particulièrement bien illustré dans le cas des composés de type FA-like. En effet, pour une même charge organique sur le bassin du Yar et de la Penzé, on observe un flux de FA-like environ 2 fois plus fort dans le Yar. Ceci peut être imputé à la plus grande contribution des bovins et des volailles à l'élevage sur le bassin versant du Yar.

Enfin, nos résultats ont également montré des variations saisonnières plus marquées dans les systèmes agricoles que dans le système de référence. Ces variations semblent être contrôlées par différents processus : un lessivage des sols en période de fortes précipitations pour les FA-like, une purge des horizons profonds par la remontée des nappes phréatiques pour les TA-like et un apport à la fois terrestre et aquatique pour les GSH-like.

**Chapitre V : Variations saisonnières et
comportement des composés
soufrés réduits et des substances
humiques dans un estuaire tempéré
macrotidal (Aulne, France)**

V.1. Contexte

Dans les systèmes fluviaux-estuariens soumis à de fortes pressions agricoles, la MOD présente une origine essentiellement liée à l'amendement des sols. Si cette origine semble établie, des incertitudes persistent concernant sa composition, son rôle (agent complexant des métaux, substrat microbien, etc.), ainsi que son devenir en particulier dans la zone de mélange eau douce eau de mer. Ceci est principalement dû au manque de techniques analytiques capables de faire face à sa forte hétérogénéité. Afin d'avoir une meilleure compréhension du devenir de la MOD au cours de son transport vers le milieu côtier, il est judicieux d'étudier séparément les différents constituants de la MOD. Parmi ces constituants, les substances humiques et les substances soufrées réduites (RSS) représentent une fraction significative de la MOD.

Dans ce chapitre présenté sous la forme d'un article soumis en 2016 (*Marie, L ; Pernet-Coudrier, B ; Waeles, M et Riso, R. - Estuarine and Coastal Shelf Science - en révision*), nous avons examiné les variations saisonnières et le comportement de deux RSS : la glutathione-like (GSH-like) et le thioacetamide-like (TA-like), ainsi que les acides fulviques-like (FA-like) le long du gradient salé de l'Aulne (Bretagne, France).

Douze stations ont été échantillonnées par mois au cours d'une année hydrologique (décembre 2013 à décembre 2014) afin de couvrir les fortes variations de ce système. Les objectifs étaient :

- de comprendre les variations saisonnières de ces familles de composés organiques, sachant qu'elles peuvent être influencées par la nature de la matière organique exportée du bassin versant ou par d'autres processus qui contrôlent leur synthèse ou leur dégradation dans les eaux de l'estuaire,
- d'examiner leur comportement lors du mélange estuarien,
- d'estimer leurs flux vers l'océan côtier.

V.2. Article 2



Seasonal variation and mixing behaviour of glutathione, thioacetamide and fulvic acids in a temperate macrotidal estuary (Aulne, NW France)



Lauriane Marie, Benoît Pernet-Coudrier, Matthieu Waeles*, Ricardo Riso

Université de Bretagne Occidentale, IUEM, LEMAR, UMR-CNRS 6539, Groupe Chimie Marine, Place N. Copernic, 29280 Plouzané, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 8 February 2016

Received in revised form

4 November 2016

Accepted 21 November 2016

Available online 23 November 2016

Keywords:

Thiols

Glutathione

Fulvic acid

Dissolved organic matter

Estuary

Fluxes

ABSTRACT

Fulvic acids and two dissolved reduced sulphur substances (RSS) were analysed for one year along the whole salinity gradient in the Aulne estuary (north-western France) using differential pulse cathodic stripping voltammetry. Concentrations of glutathione-like (GSH-like), thioacetamide-like (TA-like) and fulvic acid-like (FA-like) compounds ranged from 0.2 to 38 nmol L⁻¹, from 0.02 to 6.6 μmol L⁻¹ and from 0.1 to 4 mgC L⁻¹, respectively. Our results indicated primarily allochthonous-continental sources for all three compounds. The behaviour of GSH-like compounds along the salinity gradient was globally conservative, with minor losses (<25%), possibly limited due to metal complexation. TA-like compounds generally displayed non-conservative behaviour with important removals. In terms of the TA-like budget, losses were counterbalanced by exceptional inputs occurring in the flood period (February). FA-like compounds were intensely degraded (~50%) in the last section of the river and then behaved conservatively in the estuary. The annual flux of FA-like compounds to coastal waters was 2800 ± 600 tC. This flux was mainly (74%) delivered during the high discharge period, in accordance with its known pedogenic origin.

© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

A better understanding of the fate of dissolved organic matter (DOM) during its estuarine transport requires the investigation of various constituents of the DOM pool (Hedges et al., 1997). For example, the conservative behaviour of dissolved organic carbon (DOC), one of the most common parameters used to quantify bulk natural organic matter (NOM) (Filella, 2009), may hide the simultaneous release and use of different compounds. Consequently, its study may mask other processes in estuaries (Cauwet, 2002). Among the major groups of compounds representative of DOM, reduced sulphur substances (RSS) and humic substances have stimulated interest. RSS are ubiquitous at the millimolar level in intracellular media, participate in a wide range of biochemical reactions and quickly undergo oxidation processes in surface waters (Mopper and Kieber, 2002; Jacob et al., 2003). In contrast, humic substances mainly derive from the decay of terrestrial lignin-containing plants (Dittmar and Kattner, 2003). They are generally considered recalcitrant in aquatic systems but can at least partially be decomposed by microorganisms (Rocker et al., 2012) and are photoreactive (e.g. Benner and Kaiser, 2011).

RSS, particularly thiol, contain one of the most reactive functional groups found in eukaryote cells (Gruhlke and Slusarenko, 2012). One thiol, glutathione (GSH), a tripeptide, is the most dominant and abundant low molecular weight cellular thiol in animals, plants and bacteria (Jacob et al., 2003). GSH is believed to play an important role in protecting cells against oxidative stress and also in decreasing metal toxicity (Noctor and Foyer, 1998; Jacob et al., 2003). It is also one of the most abundant RSS found in aquatic environments (Tang et al., 2000). GSH, is released by marine phytoplankton in surface seawater during the life cycle (Dupont et al., 2004; Hu et al., 2006) or in response to metal stress (Ahner et al., 2002; Tang et al., 2004; Kawakami et al., 2006). In anoxic porewaters, GSH production may result from the bacterial degradation of sulphur-containing amino acids (Zhang et al., 2004). Other specific RSS, such as thioacetamide (TA), cysteine or thiourea, may be also detected in surface waters but their origin has not yet been demonstrated (Laglera and Tovar-Sanchez, 2012; Superville et al., 2013; Marie et al., 2015). Their low micromolar or nanomolar concentrations and low stability in aquatic systems make them difficult to analyse, thereby limiting environmental surveys. Studies on the behaviour of RSS during estuarine mixing are scarce, with most of them involving GSH, and are usually limited in scale-time (one or two sampling campaigns), preventing the analysis of important factors varying seasonally (e.g. nature of OM being

* Corresponding author. Université de Bretagne Occidentale, Brest, France.
E-mail address: waeles@univ-brest.fr (M. Waeles).

exported from watershed, phytoplankton or bacterial production). A few authors have demonstrated that GSH behaves conservatively (Le Gall and van den Berg, 1993; Laglera and van den Berg, 2003; Han et al., 2006). This stability of GSH has been attributed to strong metal complexation (Tang et al., 2004; Moingt et al., 2010). For example, metals such as Cu have a high affinity for thiols (Leal and van den Berg, 1998; Dryden et al., 2007). In other studies, various non-conservative behaviours have been observed. Laglera and van den Berg (2006) showed that thiol concentrations decrease in surface water by 30–50% after one day of exposure to sunlight with a half-life of 3 h. In contrast, inputs at mid-estuary are observed upon GSH release from various algal species (Tang et al., 2000).

Humic substances is an operationally defined fraction of DOM (Thurman and Malcolm, 1981) which can be further separated into three components according to solubility: humic acids (HA), fulvic acids (FA) and humin (Stevenson, 1994). They are a complex mixture of high molecular weight molecules originating from the breakdown of terrestrial organic matter and represent the major component of DOM in rivers and estuaries (>80% of DOC) (Pettersson et al., 1997; Waeles et al., 2013). Similar to RSS, the behaviour of humic substances during transport to the marine environment is still unclear. Some studies report the preservation of FA, the predominant humic substances fraction in freshwater, under estuarine mixing (Ertel et al., 1986; Nouredin and Courtot, 1989; Otero et al., 2003; McKenna, 2004; Tremblay and Gagné, 2009; Waeles et al., 2013). In contrast, other studies have shown that HA are removed at the early stage of estuarine mixing by flocculation and precipitation (Sholkovitz et al., 1978; Fox, 1983; Ertel et al., 1986; Asmala et al., 2014b) and that humic substances are subject to important bacterial degradation when reaching coastal marine conditions (Kisand et al., 2013).

In this study, we examined the seasonal variation and mixing behaviour of GSH-like, TA-like and FA-like compounds across the salinity gradient of the Aulne estuary (NW France). These groups of compounds were analysed at a mercury drop electrode (pH 1.95) using a recently-developed differential pulse cathodic stripping method (DP-CSV; Pernet-Coudrier et al., 2013). Twelve stations were sampled monthly during one hydrological year (December 2013 to December 2014) to cover the relatively high variations of this dynamic system. The first objective was to understand the seasonal variations of these organic compounds that might be influenced by the nature of OM being exported from the watershed or by other important factors controlling their synthesis or their degradation in waters. The other goals were to examine their behaviour during estuarine mixing and to estimate their fluxes towards the coastal ocean.

2. Materials and methods

2.1. Study area

The Aulne river (Brittany, France) has a drainage area of 1900 km², is 144 km long and is the main river discharging into the Bay of Brest (average of 29 m³ s⁻¹ over the 2010–2015 period) (Fig. 1). Anthropogenic activities in the Aulne watershed are mainly agricultural, i.e. vegetable cultivation and animal farming. Soil occupancy is mainly in arable and permanently cultivated areas (40%) and in heterogeneous agricultural areas (33%). The remaining non-urbanised areas comprise meadows (8%), moors and peat bogs (5%), and forests (11%). Change in the Aulne water discharge is constrained by a temperate oceanic climate. Rain falls all year round (annual rainfall usually around 1500 mm), with a distinct maximum during winter, mainly from the regular procession of weather fronts that move east across the Atlantic. As a result, ~60%

of the annual flow generally occurs in the December–March period. The Aulne estuary is characterised by a macrotidal regime, with a tidal range that fluctuates between 1.2 and 7.3 m. The residence time of water within the estuary is firstly controlled by the river flow and is also dependant on the tidal range (Bassoullet, 1979). For our survey, the residence time of water was estimated to vary between ~5 days (February 2014) to 20–30 days (June–September period). No dredging was performed in the estuary in 2014 (SMA-TAH, Finistère).

2.2. Sampling

Estuarine waters were collected monthly from December 2013 to December 2014. To cover the whole salinity gradient, sampling stations were selected according to their salinity ($S_{\text{surface}} \approx 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 28, 30$ and 34). In January and February, very high discharge hindered sampling at the high salinity (30–34) stations. In order to limit the tidal effect, each set of samples was always collected during neap tides (Table 1). Sampling was started from the salinity front ($S = 0$) at high tide. The inner part of the system of ~15 km long ($S < 15$) was sampled within the first hour over which the tidal flow was low (tidal flow under 20 cm s⁻¹, Bassoullet, 1979). Then sampling of the outer wide-open part of the system and the bay of Brest (~35 km long) was performed until typical seawater ($S = 34$) ending at high tide + ~3 h. Samples were collected by hand at about 0.5 m depth in prebaked 500 mL (450 °C, 4 h) glass bottles (Schott®) which were stored cool in dark boxes until filtration. Long gloves were worn during sampling (92 cm, Polysem®). Water samples were also collected close to the bottom at three stations ($S_{\text{surface}} \approx 6, 9, 15$) with a Niskin bottle (except in March). Salinity was measured *in situ* using a multi-element probe (Hanna®, HI 9828), calibrated daily with KCl solution (Hanna®, 1413 μS cm⁻¹). In addition to the estuary samples, river samples were collected weekly at Pont Coblant (7.5 km upstream from Châteaulin, Fig. 1), where the tide has no influence.

2.3. Sample treatment and reagents

For all estuarine water samples, between 100 and 500 mL was filtered in the laboratory within 3 h of collection on 0.7 μm GF/F membranes (Ø25 mm, Whatman®) which were immediately stored at -20 °C until Chlorophyll-*a* (Chl_a) and phaeopigments (phaeo) measurements. Filtered water was acidified at pH 2 (with 3% HCl, Suprapur®, Merck), poured in prebaked (450 °C, 4 h) brown glass bottles and frozen (-20 °C) until analysis of FA-like, GSH-like and TA-like. Suspended particulate matter (SPM) was collected on 0.45 μm HATF filters (Ø47 mm, Millipore®). Prior to use, all items employed for sampling and filtration were washed with diluted hydrochloric acid (pH 2, HCl Suprapur®, Merck) then rinsed thoroughly with ultrapure deionised water (>18.2 MΩ; Millipore® Milli-Q Element system). Ultrapure deionised water was used for cleaning and preparation of reagents and working solutions.

2.4. Analyses

Analyses of the various compounds was performed by differential-pulse cathodic stripping voltammetry (DP-CSV) (Pernet-Coudrier et al., 2013) using standard addition of glutathione (GSH), thioacetamide (TA) and fulvic acid (FA) standard solutions. As previously explained by Pernet-Coudrier et al. (2013), analytical targets, which are operationally defined, correspond to glutathione-like, thioacetamide-like and fulvic acid-like compounds that will thus be referred here as GSH-like, TA-like and FA-like. However, it is worth remaining that the FA-like signal corresponds to humic substances which is relative to both FA and HA

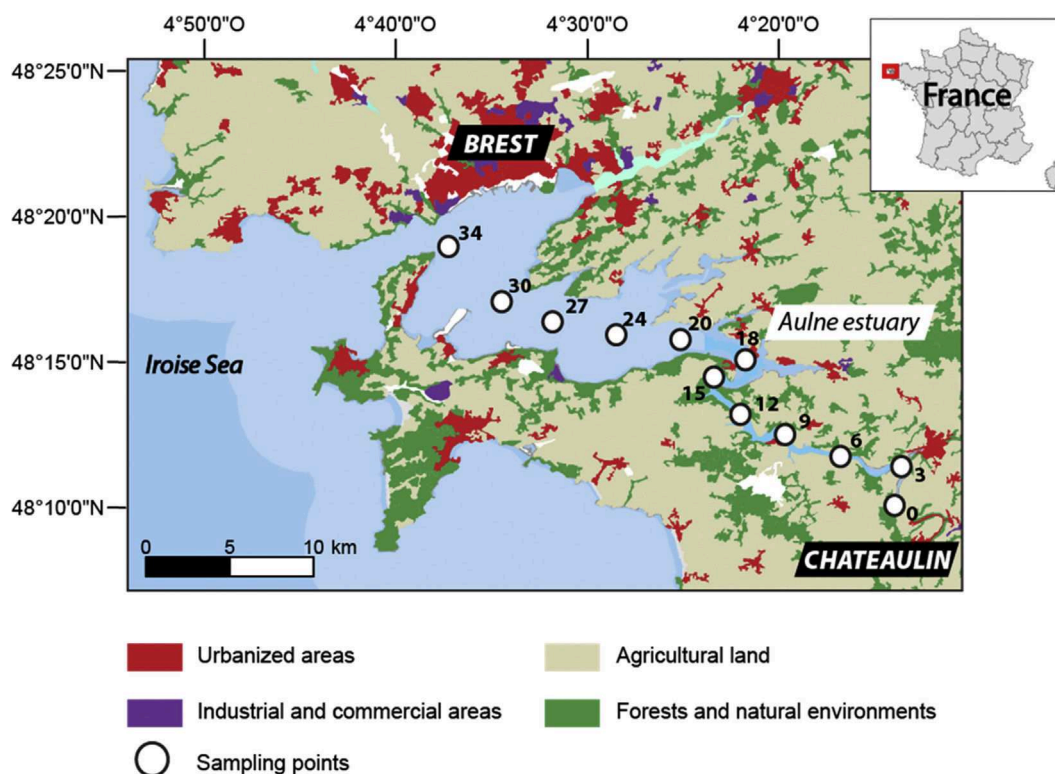


Fig. 1. Sampling station in the estuary and soil occupancy. Positions of stations varied slightly from month to month because stations were selected according to their salinity.

compounds (Chanudet et al., 2006). Sample concentrations were always above the limits of detection of the DP-CSV method. For the lowest concentrated samples, the deposition time was increased to 200 s. In these conditions, detection limits were 0.2 nmol L^{-1} for GSH-like and 20 nmol L^{-1} for TA-like compounds. Detection limits for FA-like compounds was $10 \text{ } \mu\text{gC L}^{-1}$ (deposition time of 1 min). Precision was about 10%, 12% and 9% for GSH-like, TA-like and FA-like, respectively. GSH and TA stock solutions, 3 mmol L^{-1} and 10 mmol L^{-1} respectively, were freshly prepared by dissolution of the solids (all from Sigma-Aldrich®) in ultrapure water acidified (pH 2) with HCl (Suprapur®, Merck) and then stored at $4 \text{ } ^\circ\text{C}$ in the dark. The working solutions ($3\text{--}150 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) were prepared by dilution from these stock solutions in the same acidified ultrapure water. Stock solution of Suwannee River Fulvic Acid (SRFA) 1S101F (IHSS) (468 mg L^{-1}) was prepared by dissolution of SRFA powder in ultrapure deionised water pH 10 (NaOH, Traceselect®, Fluka) and a working solution ($\sim 18 \text{ mg L}^{-1}$) was prepared with a diluted HCl solution (pH 2, Suprapur®, Merck). SPM concentrations were

determined using the gravimetric method with an uncertainty lower than 10%. Chla and phaeo were extracted and measured using Lorenzen's method (Lorenzen, 1967) with an 8% precision.

2.5. Assessment of conservative/non-conservative behaviour and statistical differences

The assessment of GSH-like, TA-like and FA-like behaviour during estuarine mixing was estimated by testing two different models for each monthly dataset: a linear model ($Y = aS + b$), corresponding to conservative mixing, and a second-order polynomial model ($Y = a'S^2 + b'S + c$), corresponding to non-conservative mixing (Rochelle-Newall and Fisher, 2002), where S is the salinity. To determine which of these two models provided significantly better fit to the data, an F-test was conducted, with F_{exp} as follows:

$$F_{\text{exp}} = \left(\frac{SS1 - SS2}{p2 - p1} \right) / \left(\frac{SS2}{(n - p2)} \right) \quad (1)$$

where $SS2$ and $SS1$ are the residual sum of squares and $p2$ and $p1$ are the number of parameters in the linear and second-order model, respectively with n being the number of data points. The null hypothesis, i.e., the second-order model does not provide a better fit than the linear model, was rejected if F_{exp} was greater than the critical value of the F distribution for a 0.10 false-rejection probability ($\alpha = 0.10$). Under this null hypothesis, mixing was considered conservative. An alpha value of 0.10 has been chosen here in accordance with the precision of our method which is about 10% for the quantification of the 3 classes of compounds. Because not all data exhibited normal distributions, differences or similarities between surface and bottom concentrations have been examined for each data set using a non-parameter comparison test (Kruskal-Wallis).

Table 1

Sampling dates and conditions. Flow velocity was calculated with water levels in the Aulne River (Pont-Coblant station-Banque HYDRO-France).

| Sampling dates | Water discharge (Châteaulin, $\text{m}^3 \text{ s}^{-1}$) | Tidal range (m) | Flow Velocity (m s^{-1}) |
|----------------|--|-----------------|-------------------------------------|
| 12/12/2013 | 14.9 | 3.50 | 1.0 |
| 09/01/2014 | 157.0 | 3.35 | 1.1 |
| 10/02/2014 | 203.0 | 2.75 | 1.0 |
| 26/03/2014 | 42.6 | 3.35 | 0.5 |
| 23/04/2014 | 14.5 | 3.30 | 0.2 |
| 06/05/2014 | 13.4 | 2.75 | 0.1 |
| 05/06/2014 | 15.9 | 2.85 | 0.1 |
| 03/07/2014 | 6.9 | 3.85 | 0.1 |
| 22/07/2014 | 1.5 | 3.10 | 0.05 |
| 02/09/2014 | 4.7 | 3.35 | 0.04 |
| 02/10/2014 | 2.6 | 2.95 | 0.1 |
| 31/10/2014 | 6.1 | 3.35 | 0.4 |
| 15/12/2014 | 56.4 | 3.80 | 0.6 |

2.6. Flux calculations

The annual fluxes of GSH-like (t year^{-1}), TA-like (t year^{-1}) and FA-like (tC year^{-1}) were assessed using the annual discharge weighted mean (DWM) (Filoso et al., 2003) which is considered as one of the most accurate methods (Moatar and Meybeck, 2005):

$$\text{DWM} = \frac{\sum C_i \bar{Q}_i}{\sum \bar{Q}_i} \quad (2)$$

where C_i (mg L^{-1}) is the observed concentration (instantaneous flow i), Q_i ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) is the mean discharge calculated for the period p comprising sampling date i (from $i - p/2$ to $i + p/2$). Then, the annual flux was assessed using the annual DWM concentration with Q_j ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) the mean annual discharge:

$$F = [\text{DWM}] * Q_j \quad (3)$$

where DWM (mg L^{-1}) is the annual discharge weighted mean concentration and Q_j ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) is the mean annual discharge.

To quantify GSH-like, TA-like and FA-like losses or inputs during estuarine transport, the concentration C'_0 , which was considered to represent the effective zero-salinity end-member for each dataset, was calculated according to the tangent to the curve $C = f(S)$ at $S = 35$ using Officer's method (Officer, 1979).

3. Results

3.1. Master variables

During 2014, water discharge (Q) at Châteaulin varied from $1.2 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ to $420 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, with an average of $46 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$. Two distinct periods can be identified: the flood period from November to March, with high discharges ($>60 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) and low direct solar radiation ($<1000 \text{ W m}^{-2}$) and the dry period from April to October, with low discharges ($<15 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) and high solar radiation ($>1500 \text{ W m}^{-2}$) (Fig. 2).

Chla concentrations in estuarine waters varied between 0.1 and $70 \mu\text{g L}^{-1}$ (Fig. 3a). High concentrations were observed during June–July in a large upstream part of the estuary (salinity range, 0 – 25) and in September in the 15 – 20 salinity range. Fig. 3b illustrates the variation in the Chla/phaeo ratio, which fluctuated between 0.02 and 10 during the survey. High values of this ratio (>4) were encountered in June–July along the entire salinity gradient. Maximum values (5 – 10) were found in September in the salinity range of 10 – 25 , indicative of the presence of autochthonous phytoplankton in good physiological condition.

SPM, suspended particulate matter, levels fluctuated between 2 and 157 mg L^{-1} (Fig. 3c). In macrotidal estuaries, suspended

sediment transport is characterised by the formation of a maximum turbidity zone (MTZ). The MTZ, typically located in the low-salinity zone, can move up and down the estuary depending on seasonal river flow variation (Bassoullet, 1979; Sottolichio and Castaing, 1999). As observed in other temperate tidal systems (Brenon and Le Hir, 1999; Middelburg and Herman, 2007; Savoye et al., 2012; Waeles et al., 2013), the MTZ was mainly observed during summer. SPM values generally greater than 50 mg L^{-1} were observed at salinities below 10 in June–August.

3.2. Spatial and seasonal variations in GSH-like, TA-like and FA-like

GSH-like concentrations ranged from 0.2 to 38 nmol L^{-1} throughout the seasonal survey (Fig. 4a). Spatial distributions along the salinity gradient always showed a clear downstream decrease in concentration of approximately one order of magnitude. This important result indicates that the origin of GSH-like compounds is mainly allochthonous and continental. Seasonal variation was relatively low, with fluctuations in GSH-like concentration at a given salinity remaining within a relatively narrow range. However, slightly higher levels were occasionally encountered (Jan–Feb, Jun–Jul and Oct–Dec) in the upstream part of the system ($S < 3$). The increase observed in summer (Jun–Jul) coincided with a maximum of Chla concentrations ($>30 \mu\text{g L}^{-1}$).

TA-like concentrations ranged from 0.02 to $6.6 \mu\text{mol L}^{-1}$ (Fig. 4b). Along the salinity gradient, concentrations decreased from upstream, where they were generally in the range of 2 – $5 \mu\text{mol L}^{-1}$, to downstream ($S > 20$), where TA-like values were lower than $0.5 \mu\text{mol L}^{-1}$. This spatial distribution, with a strong decrease of approximately two orders of magnitude, indicates that the dominant source of TA-like compounds in the estuary was allochthonous and continental. In contrast to GSH-like, TA-like concentrations displayed relatively high variation over the seasonal cycle. Two significant increases, with values greater than $4 \mu\text{mol L}^{-1}$, were observed. The first increase, coinciding with the very strong winter flood ($Q > 200 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$), was observed in the 5 – 15 salinity range in February. The second increase was observed in the low salinity section ($0 < S < 10$) during the driest period (July to August) and corresponded to the MTZ area.

FA-like concentrations fluctuated between 0.1 and 4.0 mgC L^{-1} (Fig. 4c). Similar to GSH-like and TA-like concentrations, FA-like concentrations strongly decreased downstream indicating that FA-like concentrations in the estuary were principally controlled by the riverine end-member. Over the seasonal cycle, two periods can be distinguished. During the winter-spring period, FA-like levels were usually below 2 mgC L^{-1} . In early summer, a rapid increase

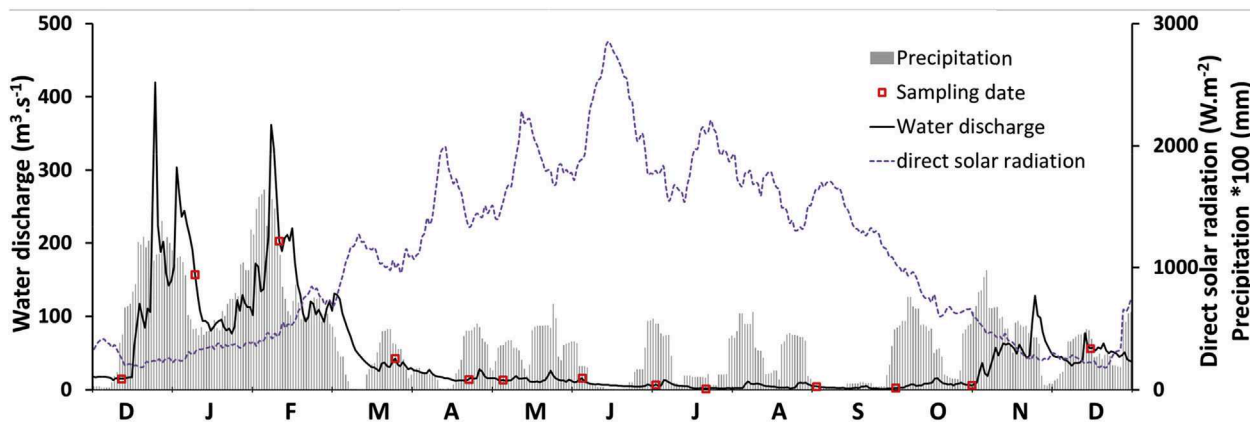


Fig. 2. Seasonal variation in water discharge at Châteaulin during 2014 (website: www.hydro.eaufrance.fr), precipitation and direct solar radiation at Saint Ségéral (Météo France) and sampling dates. Direct solar radiation and precipitation curves were smoothed with a simple moving average of 10 days.

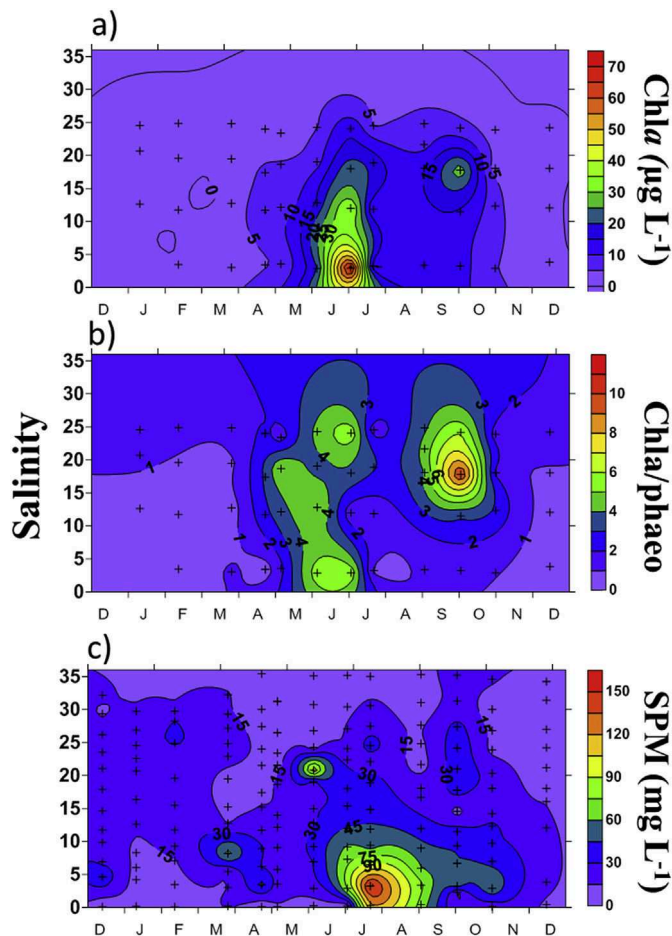


Fig. 3. Spatial and seasonal variation in (a) Chla, (b) the Chla/phaeo ratio, and (c) SPM across the salinity gradient of the Aulne estuary between December 2013 and December 2014.

occurred and FA-like concentrations during the summer-autumn period were generally greater than 2 mgC L^{-1} in the upstream part of the estuary (salinity range, 0–15).

3.3. Behaviour of GSH-like, TA-like and FA-like compounds in the estuary

On the GSH-like-salinity distributions, with lines fitted to first and second-order models distributions (Fig. 5), the observed GSH-like data show some scatter relative to the best-fit model. This scatter can be attributed to natural variability and not to our DP-CSV method whose precision at nanomolar levels was about 10%. The F-tests conducted on each dataset indicate that the GSH-like distribution exhibited a conservative behaviour in a little over half of the occurrences (7/13 occurrences with $\alpha = 0.10$). On the other sampling dates, the second-order polynomial model fit the data better, suggesting non-conservative behaviour. In these latter cases, limited negative deviations, indicative of removals, were apparent. In the absence of significant positive deviation from the theoretical line, no *in situ* source of GSH-like compounds was identified within the Aulne estuary. Furthermore, bottom values for a given salinity were not significantly different from surface values ($p > 0.05$ for each data set) suggesting no benthic addition.

The analysis of TA-like-salinity diagrams revealed a decrease in TA-like concentrations with increasing salinity, indicating that the river is a major TA-like source for the estuary (Fig. 6). This decrease was generally non-conservative (11/13 occurrences with $\alpha = 0.10$).

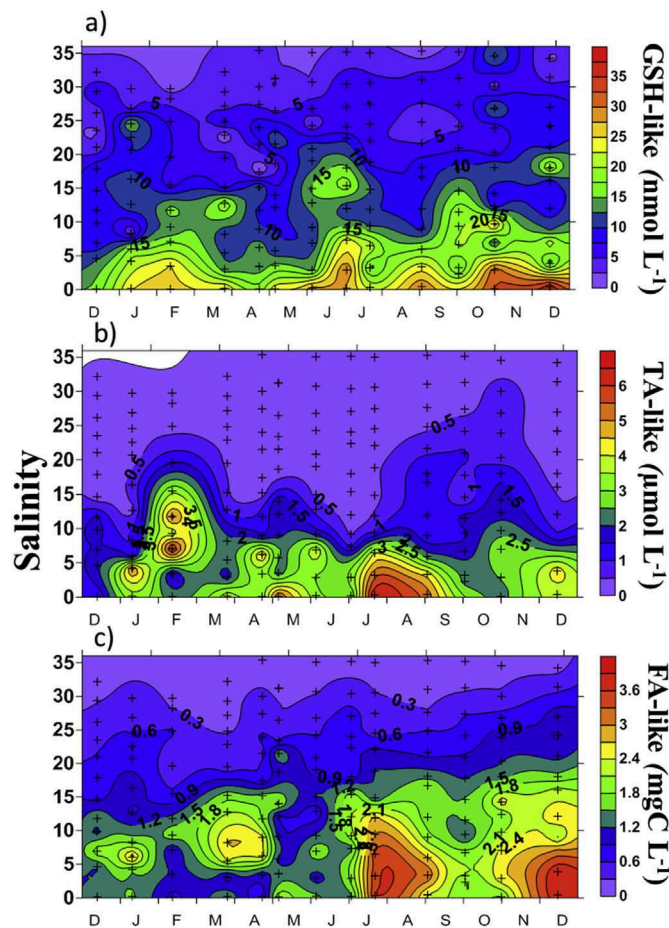


Fig. 4. Spatial and seasonal variations in GSH-like (a), TA-like (b) and FA-like (c) along the salinity gradient of the Aulne estuary between December 2013 and December 2014.

In December 2013 and in late October 2014, the apparent conservative behaviour may be the result of an input at low salinity (3–10) and a loss at higher salinity (10–30), showing also the limit of the F-test. In almost all cases (10/13), high negative deviations from the theoretical dilution lines, indicative of strong removals, were observed. One exception was observed in February during the strong and exceptional flood event. TA-like behaved non-conservatively with a significant positive deviation from the theoretical line at salinities of 10–20. Limited positive anomalies were also observed for the months of January, March, April, June, October and December at salinities of 3–10. Bottom concentrations were usually not different from surface concentrations except in July (p value of 0.029).

The analysis of FA-like-salinity diagrams from December 2013 to December 2014 (Fig. 7) revealed an overall conservative behaviour (11/13 occurrences with $\alpha = 0.10$). This conservative behaviour indicates that the river is the main source of FA-like compounds for the estuary. Few negative anomalies were observed at low salinities (0–3) indicating minor estuarine removals. During the whole year, bottom concentrations were not significantly different from surface concentrations ($p > 0.05$), suggesting no benthic inputs.

4. Discussion

4.1. Comparison of concentrations with literature

GSH-like values from the Aulne estuary were compared with those reported from various estuarine systems affected by different

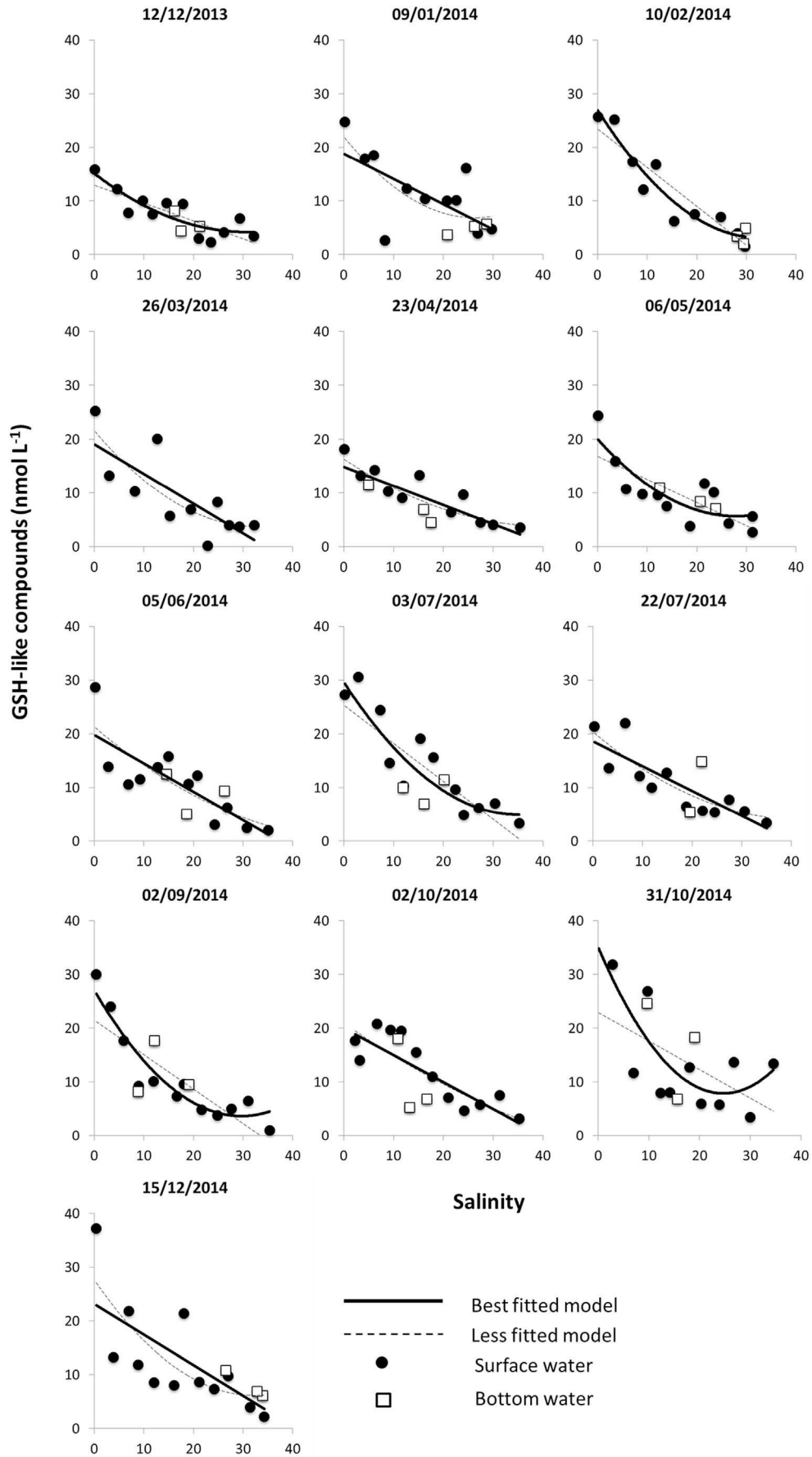


Fig. 5. The GSH-like (nmol L⁻¹)-salinity distributions with lines fitted to first and second-order models in the Aulne estuary. Values of the fitted models are given in [Appendix A1](#). Note that GSH-like was not quantified in a few samples (2/188).

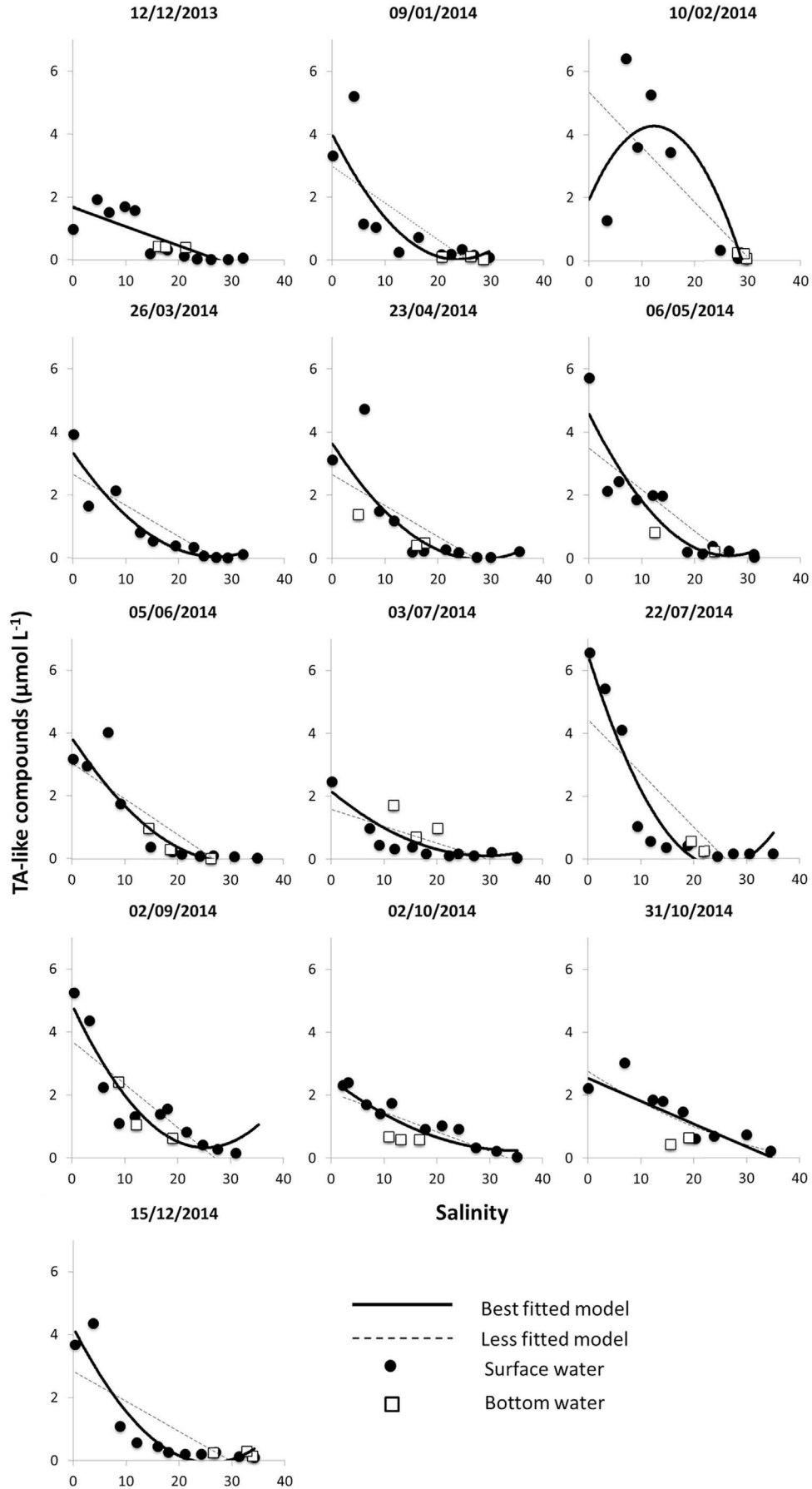


Fig. 6. The GSH-like ($\mu\text{mol L}^{-1}$)-salinity distributions with lines fitted to first and second-order models in the Aulne estuary. Values of the fitted models are given in [Appendix A1](#). Note that TA-like were not quantified in a few samples (12/188).

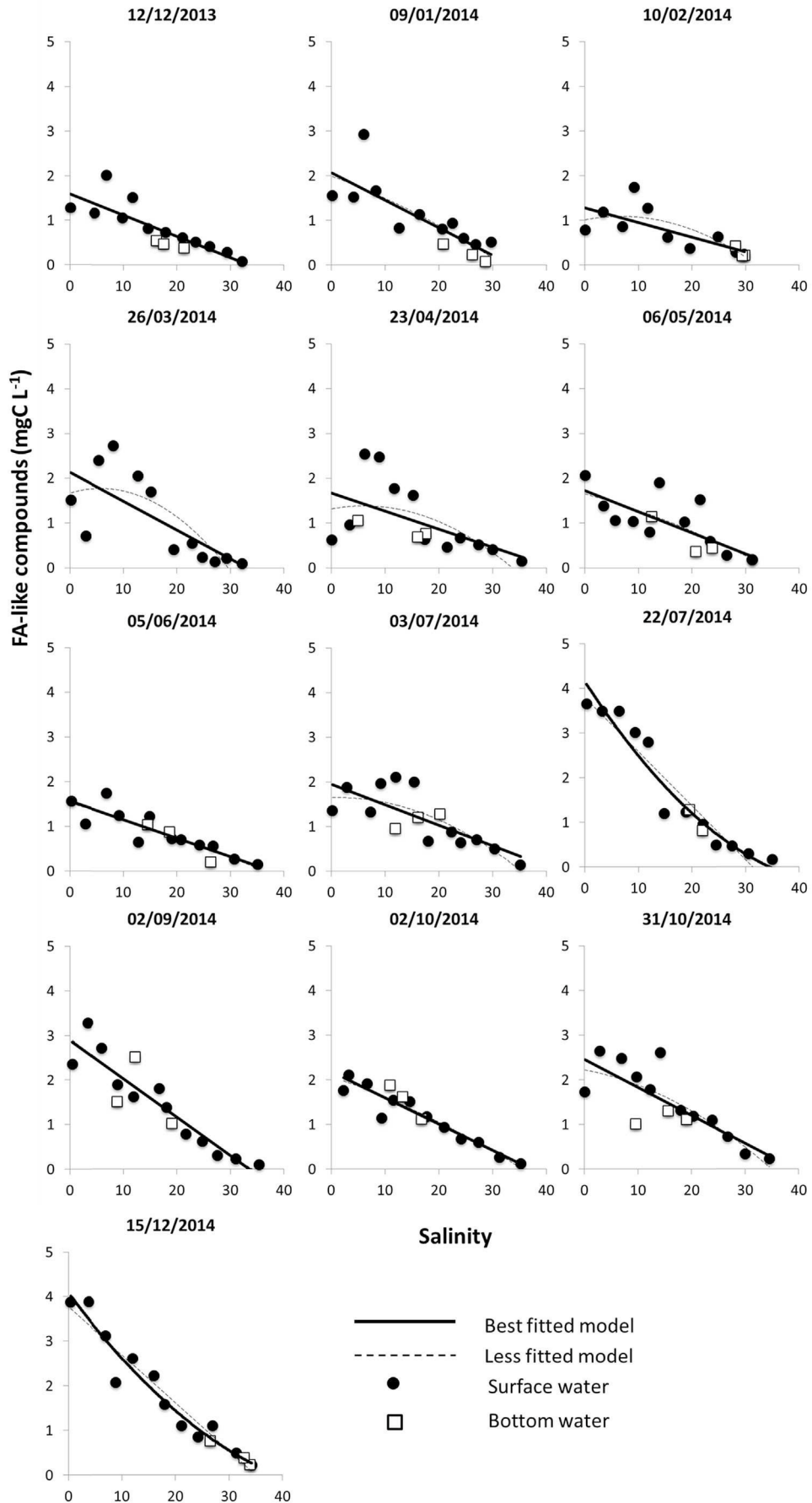


Fig. 7. The FA-like (mgC L⁻¹)-salinity distributions with lines fitted to first and second-order models in the Aulne estuary. Values of the fitted models are given in [Appendix A1](#).

activities (Table 2). However, comparisons must be interpreted with precaution because all of these previous studies (Table 2) were conducted using different analytical techniques, on different time scales, from days to months, and often not covering the entire salinity gradient. The lowest concentrations (2.3–4.0 nM) were observed in the Loch-Fornace (Ireland), a pristine system (Murray et al., 2014). Our measurements were comparable to those obtained by Tang et al. (2000) and Dryden et al. (2007) in estuarine systems affected by moderate industrial activities. Other studies show slightly higher concentrations, with values reaching several hundreds of nanomoles (Le Gall and van den Berg, 1993; Laglera and van den Berg, 2003; Han et al., 2006).

To our knowledge, no studies have been undertaken before on TA-like compounds in other estuarine systems, but a comparison can still be made with studies conducted in riverine systems using cathodic stripping voltammetry (CSV). In the Penzé River, a system affected by agricultural practices, TA-like concentrations, ranging between 1 and 9.3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ with an average of 2.9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Marie et al., 2015), were comparable to those found in the Aulne River. In the Deûle River (northern France), a system affected by urban activities, Superville et al. (2013) reported TA concentrations of less than 30 nmol L^{-1} . However, direct comparison with this study is somewhat difficult because it is likely that Superville et al. (2013) TA at pH 8.3 after different deposition potentials for discriminating the effect of other TA-like compounds (e.g. thiourea) and after increasing additions of copper in order to deconvolute the TA contribution to that of GSH and oxidized glutathione in the coalescent signal.

FA-like concentrations in the Aulne estuary were also compared with humic substances concentrations reported for various estuarine systems (Table 3). Despite the different analytical methods for humic substances determination, our data are comparable to those generally found in systems affected by agricultural practices (Noureddin and Courtot, 1989; Otero et al., 2003; Tanguy et al., 2011; Waeles et al., 2013). Other studies in estuaries with a wide range of watersheds (forests, industry or city) often report lower concentrations (Sholkovitz et al., 1978; McKenna, 2004; Tremblay and Gagné, 2009). Note that this comparison, based on the few reports on humic substances in estuaries, must not be considered representative of all system types. Indeed humic substances concentrations in natural waters can vary from tens of $\mu\text{gC L}^{-1}$ in alpine systems to tens of mgC L^{-1} in peat systems (Pettersson et al., 1997; Chanudet et al., 2006).

4.2. Source and behaviour of GSH-like compounds in the estuary

In coastal and oceanic waters, the presence of GSH-like and thiol compounds has been attributed to *in situ* primary production (Le Gall and van den Berg, 1998; Al-Farawati and van den Berg, 2001). According to Dupont et al. (2004, 2006), GSH-like

compounds are produced through *in situ* excretion or exudation processes during the life cycle of algae. For example, in the estuarine waters of Galveston Bay (Texas, USA) (Tang et al., 2000), the low nanomolar GSH levels are closely related to *in situ* algal production rather than terrestrial inputs. In our study, although the relative increase in GSH-like concentrations in June–July in the upstream part of the estuary appeared to be linked to the very high Chl *a* levels, no anomalies were observed at the sampling date and salinity range corresponding to the bloom in September. Thus, we cannot eliminate the possibility that algal activities play a role and contribute to minor GSH-like compounds inputs in the system. Furthermore, nanomolar increases in GSH concentrations due to primary production as observed in Galveston Bay (e.g. ~4 nM, Tang et al., 2000) would be difficult to observe in our system which showed GSH-like concentrations of about one order of magnitude greater, i.e. about 10–30 nM.

Sediments are also known to host thiol production and thus can be a potential *in situ* source of GSH-like compounds. GSH in sediments can be formed via a variety of pathways, including microbial degradation of S-containing amino acids (Kiene et al., 1990; Zhang et al., 2004), microbial degradation of dimethylsulfoniopropionate (DMSP) (Kiene and Taylor, 1988), abiotic reactions between hydrogen sulphide and unsaturated bonds in organic molecules (Vairavamurthy and Mopper, 1987) or oxidation of organic matter by chemosynthetic bacteria in which pyrite is involved (Luther et al., 1986). In coastal sediments, these reactions can lead to thiol concentrations in porewaters at nanomolar to millimolar levels as observed in Chesapeake Bay (Maryland, USA) (Shea and MacCrehan, 1988), in the Great Marsh of Delaware (USA) (Luther et al., 1986), in Biscayne Bay (Florida, USA) (Kiene and Taylor, 1988) and in Forster's Bay (Manitoba, Canada) (Zhang et al., 2004). In the Venice Lagoon (Italy), benthic fluxes of thiol (calibrated against GSH) can reach ~60 $\text{pmol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$ (Chapman et al., 2009). Taking into account the residence time of the water and the surface of the Aulne estuary, a similar flux could explain the measured nanomolar levels of GSH-like compounds. However, almost no differences were observed between bottom and surface concentrations, reducing the possibility that the sediment contributes significantly to a flux of GSH-like compounds in the Aulne estuary.

Based on our dataset, the estuarine GSH-like concentrations are mainly controlled by the riverine end-member. The factors and sources at the origin of GSH-like compounds in rivers have not been yet clearly demonstrated, but the study of Superville et al. (2013) in the Deûle River with GSH-like diurnal variation, suggests that this occurrence is linked to biological activity. On the other hand; Marie et al. (2015) observed in the Penzé River, i.e. a system very similar to the Aulne River, clockwise hysteresis rotation of GSH-like concentrations during flood events suggesting a pedogenic origin of GSH-like compounds to the river.

Table 2
Estuarine GSH or GSH-like values (nmol L^{-1}) reported in the literature.

| System | Type of watershed | Salinity gradient (n of samples) | Sampling period | GSH or GSH-like (nmol L^{-1}) | Analytical method | References |
|--------------------------|----------------------|----------------------------------|-----------------|--|------------------------------|--------------------------------|
| Loch Furnace, Ireland | Pristine | 4–34 (4) | 1 day | 2.3–4.0 | SW-CSV, SMDE, pH 8.1 | Murray et al., 2014 |
| Elizabeth, USA | Industrial-urbanised | 8–31 (20) | 4 months | 0.4–0.5 | HPLC, fluorescence detection | Tang et al., 2004 |
| Galveston Bay, USA | Industrial | 9–22 (6) | 6 months | 15–25 | HPLC, fluorescence detection | Dryden et al., 2007 |
| | | 0–35 (13) | 4 days | 0.2–6 | | Tang et al., 2000 |
| Scheldt, the-Netherlands | Industrial | 0–35 (24) | 2 months | 20–120 | SW-CSV, SMDE, pH 7.8 | Han et al., 2006 |
| | | 0–30 (13) | 1 day | 25–115 | | Laglera and van den Berg, 2003 |
| Mersey, UK | Industrial | 23–33 (20) | 2 months | 20–300 | DP-CSV, SMDE, pH 8.5 | Le Gall and van den Berg, 1993 |
| Aulne, France | Agricultural | 0–35 (196) | 1 year | 0.2L ⁻¹ 38 | DP-CSV, SMDE, pH 1.95 | This study |

SW-CSV: square-wave cathodic stripping voltammetry; DP-CSV: differential pulse cathodic stripping voltammetry; SMDE: static mercury drop electrode; HPLC: high performance liquid chromatography.

Table 3
Estuarine concentrations of humic substances (mgC L^{-1}) reported in the literature.

| System | Type of watershed | Salinity gradient (n of samples) | Sampling period | Humic substances (mgC L^{-1}) | Analytical method | References |
|------------------------------|-------------------|----------------------------------|-----------------|--|---|-----------------------------|
| Amazon, Brazil | Forests | 0–35 (12) | 2 months | 0–0.2 | Colorimetry ^a | Sholkovitz et al., 1978 |
| Pawcatuck, USA | Natural-urbanised | 0–30.5 (60) | 3 years | 0.03–0.2 | XAD-8 extraction; TOC analyser | McKenna, 2004 |
| Saguenay/St Lawrence, Canada | Natural-urbanised | 0–34 (15) | 4 months | 0.2–6.0 | XAD-8 extraction; freeze-drying; Gravimetry | Tremblay and Gagné, 2009 |
| Elorn, France | Agricultural | 0–34 (91) | 1 year | 0.05–3.0 | XAD-2 extraction; Fluorescence | Noureddin and Courtot, 1989 |
| Penzé, France | Agricultural | 0–34 (18) | 3 months | 0.1–4.8 | SW-CSV, SDME, pH 1.95 | Tanguy et al., 2011 |
| Altamaha/Satilla, USA | Agricultural | 0–34 (132) | 1 year | 0.07–4.8 | | Waeles et al., 2013 |
| Aulne, France | Agricultural | 0–34 (30) | 6 months | 0.5–21.7 | XAD-8 extraction; TOC analyser | Otero et al., 2003 |
| | Agricultural | 0–35 (196) | 1 year | 0.1–4.0 | SW-CSV, SDME, pH 1.95 | This study |

^a after HCl precipitation (pH 1) and sodium pyrophosphate redissolution.

Regarding GSH-like behaviour in the Aulne salinity gradient (Fig. 5), some limited removals were occasionally observed without any seasonality. Several studies have shown the biodegradation of RSS by bacteria in the anoxic part of the sediment (Kiene et al., 1990; Hagen and Nelson, 1997; Vairavamurthy et al., 1997). Such a removal of RSS within the water column of the Aulne estuary is hardly conceivable since the studies that were conducted on an annual basis in this well-mixed system (Oudot et al., 1998; Khalil et al., 2013) never shown any anoxic conditions in the water column or close to the sediment interface where dissolved oxygen concentrations are always above 200 μM . The removal of GSH-like compounds can perhaps be attributed to chemical or photo-oxidation. Thiols, like GSH-like compounds, can oxidise within minutes (Scarpa et al., 1996; Winterbourn and Metodiewa, 1999). According to Hsu-Kim (2007) GSH quickly convert to oxidized forms such as disulphide bridges, e.g. GSSG, and other sulphur compounds displaying various sulphur oxidation states, which cannot be measured with our DP-CSV method. Regarding photo-oxidation, GSH-like compounds are affected by UV radiation with half-lives ranging from 1.6 to 7 h in seawater (Laglera and van den Berg, 2006; Moingt et al., 2010). However, the direct use of these experimental results are not straightforward because the light characteristics (intensity and UV spectra) used are relatively different from those of solar radiation. During our survey, direct solar radiation varied between 180 and 2850 W m^{-2} . Further experiments are needed to test if photo-oxidation of GSH-like compounds can occur under such natural radiation conditions, while taking into account the light attenuation as a function of depth and the overall residence time of waters in the estuary. Even if photo-oxidation of GSH-like compounds does occur in the Aulne estuary, our results show that it must be only occasional and limited in extent.

Given their conservative behaviour, GSH-like compounds may owe their stability to their metal binding via the sulphhydryl group (Krezel and Bal, 1999). One study (Hsu-Kim, 2007) has shown that Ag^+ and Hg^{2+} form the most stable complexes and protect GSH against oxidation at least for a few days. However, these two elements are usually present in natural waters at concentrations well below nanomolar levels. Other metals, e.g. Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , or Pb^{2+} , can form complexes with GSH (Krezel and Bal, 1999; Tang et al., 2002; Hsu-Kim, 2007). Although less stable, these complexes probably dominate the GSH-like speciation because the involved metals are potentially present at concentrations equimolar to GSH-like concentrations. These metals have effectively been detected at nanomolar concentrations in estuaries of the same region, i.e. in the Morlaix (Monbet, 2006) and the Penzé estuaries (Waeles et al., 2005, 2014; Tanguy et al., 2011). Complexation of thiols with metals may also indicate the important role of thiols in determining the fate of metal in estuaries, in particular for copper which was often observed as behaving conservative (e.g. Dai et al.,

1995; Dai and Martin, 1995), including in the Aulne estuary (Bordin, 1991).

4.3. Source and behaviour of TA-like compounds in the estuary

The main origin of TA-like compounds in the Aulne system is likely similar to the source determined for the Penzé River (Marie et al., 2015). In the Penzé River, TA-like concentrations were found at micromolar levels and their concentrations followed a counter-clockwise hysteresis during floods and were related to a groundwater origin. Even though TA-like concentrations have never been measured in groundwater, the presence of sulphur compounds under anaerobic conditions has already been observed there (Schäfer et al., 2005; Einsiedl et al., 2008; Longnecker and Kujawinski, 2011).

The sediment as an alternative source of TA-like compounds for the water column of the Aulne estuary should be considered since RSS have previously been observed in marine and estuarine porewaters (Billon et al., 2001; Werne et al., 2003) and substantial diffusive benthic fluxes have also been reported in coastal systems (e.g. Venice Lagoon, Chapman et al., 2009). In our system, such an input in the estuary itself must be limited because no bottom anomalies were detected in the salinity gradient except on one occasion (July). Furthermore distributions almost always evidenced overall removal of TA-like compounds within the estuarine gradient. The peculiar situation observed in February merits special attention and the important positive anomaly of TA-like concentrations observed at salinities 10–20 need first to be discussed in relation with the exceptional flooding conditions. Indeed; water discharge in February 2014 (maximum of 360 $\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) reached values of a 20-year flood. During flood events, the maximum turbidity zone in macrotidal estuaries is expelled and eroded sediments are also transported downward (Castaing and Allen, 1981). As shown by Jalón-Rojas et al. (2015) for the Gironde estuary such conditions can lead to a decrease of the turbidity in the freshwater reaches and the inner estuary explaining why SPM concentrations did not increase in our system. The erosion of the sediment in the upstream part may have promote the release of important amount of RSS. Our measurements close to the sediment could not confirmed this input because of their very high salinity (S~30). Another possibility for explaining the TA-like anomaly during February flood resides in a downstream export of particulate organic matter and a further degradation by different microbial populations.

Several processes can explain the high removals generally observed over the year. As previously explained, several studies have shown the degradation of RSS by bacteria. However, this biodegradation has been highlighted in anaerobic conditions, which is not the case for the surface waters of the Aulne estuary. Similarly to GSH-like, TA-like compounds may undergo chemical or

photo-oxidation (see above). To our knowledge, only one study has been specifically dedicated to the photo-oxidation of TA-like compounds and showed faster photo-degradation of TA-like compounds than GSH-like, i.e. the half-life time of TA-like was at least seven times shorter than GSH-like under solar UV radiation (Laglera and van den Berg, 2006). This study also showed that TA-like compounds can be stabilised through complexation with copper at high Cu^{2+} concentrations (300 nM). However, copper levels are at the nanomolar levels in the Aulne estuary (Bordin, 1991), which thus appear insufficient to stabilise TA-like compounds. As no clear seasonal trend was observed in our survey, the potential loss by photo-oxidation during estuarine mixing requires further investigation.

4.4. Source and behaviour of FA-like compounds in the estuary

FA-like concentrations in the estuary are mainly controlled by those of the riverine end-member. The residence time of organic matter in soils has been identified as being one of the key factors for the production of humic substances in soils (Stevenson, 1994; Milori et al., 2002). In the Aulne catchment affected by extensive agricultural practices, soils are enriched in DOM, and probably also in humic substances and FA-like compounds originating from plant debris as well as composted manure (Waeles et al., 2013; Marie et al., 2015). Manure spreading is generally authorised throughout the whole year. Therefore, FA-like compounds can accumulate in the soil during spring and summer. Then, the first rain events, leading to surface runoff, leach the soils and transfer DOM and FA-like compounds to the river (Royer and David, 2005; Stedmon et al., 2006; Dalzell et al., 2007; Oeurng et al., 2011; Marie et al., 2015). Furthermore, the low concentrations observed during the exceptional flood event in February confirmed that the flushing of FA-like compounds occurred mainly during the first precipitation events after a dry period, i.e. FA-like concentrations increased at the very early stage of the flood event, generally in November–December, due to soil washouts, and then dropped due to dilution (Marie et al., 2015). As previously highlighted, this result underlines the importance of the hydrology and climate on the dynamics of these compounds (Nagorski et al., 2003). The second increase in concentration occurring in summer (July–September) was likely related to MTZ formation. The intense accumulation of particles, i.e. the formation of the MTZ, can lead to intense DOM mineralisation (Abril et al., 1999; Herman and Heip, 1999) and the production of humic-like compounds (Huguet et al., 2009). A recent paper has also shown the production of humic material in a boreal estuary due to the mineralisation of riverine DOM by estuarine bacteria (Asmala et al., 2014a).

Regarding the conservative behaviour of FA-like compounds (Fig. 7), their preservation has been also reported in similar

estuaries of the region (Noureddin and Courtot, 1989; Waeles et al., 2013) and in estuaries of North America (Otero et al., 2003; McKenna, 2004; Tremblay and Gagné, 2009). Two main reasons can account for the overall conservation during mixing of FA-like compounds, which correspond here with the DP-CSV method to both FA and HA species. FA represent the main part of DOM in fluvial and estuarine waters (Ertel et al., 1986; Tremblay and Gagné, 2009) whereas HA account only for a small proportion of humic substances (~10%) (Thurman, 1985; Nagao et al., 2003). For our system, this dominance of FA species was also confirmed by LC-OCD (liquid chromatography coupled to an organic carbon detector) measurements which showed that the molecular weight ($700 \pm 50 \text{ g mol}^{-1}$) and the aromaticity ($5 \pm 0.5 \text{ L mgC}^{-1} \text{ m}^{-1}$) of the humic fraction was typical of FA compounds. As opposed to HA, that quantitatively flocculate and form particles during the early stage of estuarine mixing (Sholkovitz et al., 1978; Fox, 1983; Ertel et al., 1986), FA, which are more soluble than HA and whose molecular weight are typically significantly lower than that of HA (Bratskaya et al., 2008), must be less susceptible to removal by flocculation/aggregation processes. Note that the small negative anomalies observed at very low salinities in our system, i.e. at salinities of 0–3, could possibly correspond to such a limited flocculation/aggregation process. Secondly, FA-like compounds are also relatively refractory due to their high lignin phenol content (Moran and Hodson, 1994; Stevenson, 1994). Although some studies report their possible bacterial or photochemical degradation (Benner and Kaiser, 2011; Bianchi, 2011; Rocker et al., 2012; Kisand et al., 2013) we anticipate that degradation processes involving FA are relatively slow and thus limited in inner estuaries (as compared to the rapid mixing of waters). Such processes should be more efficient with the increase of the residence time, e.g. when these compounds reach coastal marine conditions (Kisand et al., 2013), or in less turbid riverine or coastal waters. Note that the FA-like concentrations we observed 7.5 km upstream from the estuary were significantly higher than the FA-like concentrations observed at the salinity estuarine front. This represents a loss of FA-like compounds of ~50% (yearly basis, see next section about fluxes). In this last section of the Aulne River, the more labile part of FA could be rapidly degraded and the residual more refractory fraction that survives this degradation is then transported conservatively in the estuary.

4.5. Fluxes and conceptual cycle

Our measurements performed at the freshwater station and along the salinity gradient provided data to calculate annual fluxes. For the first time, a yearly mass balance of GSH-like, TA-like and FA-like compounds was carried out and is described in Fig. 8. First, a major allochthonous source, i.e. riverine, was observed for all three compounds. GSH-like compounds are maintained from the river to

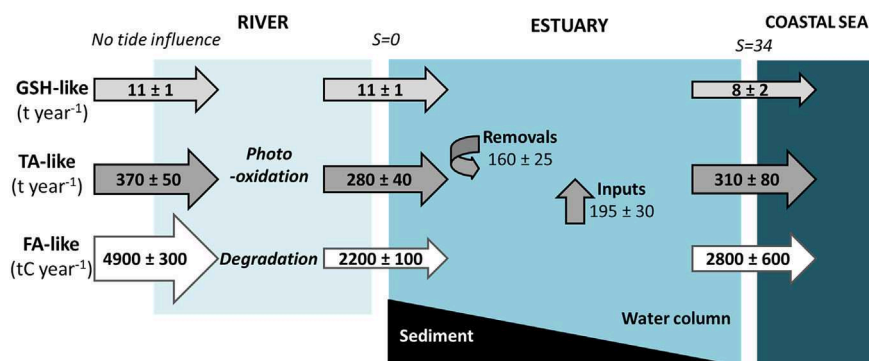


Fig. 8. Fluxes of GSH-like, TA-like and FA-like in the Aulne system in 2014.

the estuarine salinity front with an annual flux of $11 \pm 1 \text{ t year}^{-1}$. During estuarine mixing, GSH-like concentrations show conservative behaviour, with less than 25% being lost. The annual fluxes of TA-like compounds calculated in the river and at $S = 0$ were $370 \pm 50 \text{ t year}^{-1}$ and $280 \pm 40 \text{ t year}^{-1}$, respectively, revealing an annual loss of 25%. Removals of TA-like compounds during estuarine mixing were estimated at 60%, but were counterbalanced by exceptional inputs occurring mainly in February and representing 69% of the final flux. It is worth noting here that these inputs of TA-like compounds occurred under exceptional flooding conditions which does not happen every year. The exported mass of TA-like compounds represented $310 \pm 80 \text{ t year}^{-1}$. Finally, the FA-like budget indicated high removal in the river, with ~50% of annual losses. Along the salinity gradient, the refractory part of FA-like compounds was conservatively transferred to the Bay of Brest as previously analysed from the salinity diagrams. The annual flux of FA-like compounds to the coastal seawater was $2800 \pm 600 \text{ tC}$ and 74% of the flux was delivered during the high discharge period, i.e. January, February, November and December.

5. Conclusion

GSH-like, TA-like and FA-like compounds were quantified by DP-CSV across the whole salinity gradient of the Aulne estuary over one annual hydrological cycle. Seasonal concentrations suggested one main allochthonous-continental source for all three compounds. The behaviour of GSH-like compounds along the salinity gradient

was generally conservative. Minor losses of GSH-like (<25%) in the estuary, were probably limited due to metal complexation. TA-like compounds displayed a global non-conservative behaviour with important removals. In terms of the TA-like annual budget, losses were counterbalanced by the exceptional inputs observed in February. FA-like compounds had a clear pedogenic source, i.e. mainly flushed out from the soil during the high discharge period. FA-like compounds were intensely (~50%) removed in the last section of the river. Along the salinity gradient, the refractory part of FA-like compounds surviving the upstream degradation behaved conservatively. For the first time, an annual budget was assessed for GSH-like, TA-like and FA-like compounds in an estuarine system.

Acknowledgements

Thierry Le Bec, Erwan Amice, Isabelle Bihannic and Jérémy Devesa are acknowledged for their excellent assistance during sampling campaigns. This work was financially supported by the Marie Curie FP7 (Dynamite project CIG-333727). The PhD grant awarded to Lauriane Marie was funded by the Brittany Regional Council (Région Bretagne) and the University of Brest (Université de Bretagne Occidentale).

Appendix A1

Results of modelling dissolved glutathione-like (GSH-like), thioacetamide-like (TA-like) and fulvic acid-like (FA-like) concentrations as a function of salinity (S) with a linear model ($X = aS + b$) and a second-order model ($X = a'S^2 + b'S + c$) and for each sampling date. F_{exp} and F_{th} are values of the Fisher test used to determine the conservativeness or non-conservativeness of compounds.

| Sampling date | Linear X-S fitting | R ² | Second-order X-S fitting | R ² | n | F _{exp} | F _{th} ($\alpha = 0.10$) |
|---------------|-------------------------|----------------|---|----------------|--------|------------------|-------------------------------------|
| 12/12/2013 | GSH = -0.3334S + 12.923 | 0.66 | GSH = 0.0116S ² -0.7122S + 15.107 | 0.74 | n = 15 | 3.51 | 3.18 |
| 09/01/2014 | GSH = -0.4731S + 18.794 | 0.47 | GSH = 0.0219S ² -1.1532S + 22.01 | 0.53 | n = 14 | 1.30 | 3.23 |
| 10/02/2014 | GSH = -0.7227S + 23.438 | 0.88 | GSH = 0.0223S ² -1.46152S + 27.015 | 0.93 | n = 13 | 6.11 | 3.29 |
| 26/03/2014 | GSH = -0.5543S + 19.082 | 0.61 | GSH = 0.0167S ² -1.0924S + 21.625 | 0.66 | n = 12 | 1.13 | 3.36 |
| 23/04/2014 | GSH = -0.3563S + 14.911 | 0.72 | GSH = 0.0077S ² -0.6201S + 16.35 | 0.76 | n = 15 | 2.17 | 3.18 |
| 06/05/2014 | GSH = -0.4307S + 16.809 | 0.61 | GSH = 0.0185S ² -1.0308S + 20.04 | 0.7 | n = 15 | 3.70 | 3.18 |
| 05/06/2014 | GSH = -0.5306S + 19.864 | 0.64 | GSH = 0.0072S ² -0.7799S + 21.324 | 0.66 | n = 15 | 0.45 | 3.18 |
| 03/07/2014 | GSH = -0.7097S + 25.384 | 0.7 | GSH = 0.0203S ² -1.415S + 29.62 | 0.77 | n = 15 | 3.43 | 3.18 |
| 22/07/2014 | GSH = -0.4622S + 18.613 | 0.65 | GSH = 0.0093S ² -0.7822S + 20.421 | 0.67 | n = 14 | 0.92 | 3.23 |
| 02/09/2014 | GSH = -0.6413S + 21.477 | 0.68 | GSH = 0.0267S ² -1.5805S + 27.062 | 0.8 | n = 15 | 7.36 | 3.18 |
| 02/10/2014 | GSH = -0.5026S + 19.977 | 0.61 | GSH = 0.0041S ² -0.6532S + 20.967 | 0.61 | n = 15 | 0.12 | 3.18 |
| 31/10/2014 | GSH = -0.5317S + 22.91 | 0.31 | GSH = 0.0448S ² -2.2108S + 35.138 | 0.5 | n = 14 | 4.27 | 3.23 |
| 15/12/2014 | GSH = -0.5711S + 23.158 | 0.53 | GSH = 0.0208S ² -1.3365S + 27.644 | 0.59 | n = 15 | 1.74 | 3.18 |
| 12/12/2013 | TA = -60.613S + 1670.2 | 0.65 | TA = 0.3465S ² -71.933S + 1735.5 | 0.65 | n = 15 | 0.07 | 3.18 |
| 09/01/2014 | TA = -116.33S + 2972.3 | 0.58 | TA = 7.1159S ² -337.29S + 4017 | 0.70 | n = 14 | 4.33 | 3.23 |
| 10/02/2014 | TA = -174.48S + 5342.3 | 0.6 | TA = -15.497S ² +382.38S + 1913.5 | 0.74 | n = 11 | 4.33 | 3.46 |
| 26/03/2014 | TA = -98.327S + 2659.9 | 0.76 | TA = 4.526S ² -244.43S + 3350.5 | 0.88 | n = 11 | 8.59 | 3.46 |
| 23/04/2014 | TA = -97.701S + 2642.5 | 0.52 | TA = 4.6727S ² -262.38S + 3646.8 | 0.66 | n = 14 | 4.34 | 3.23 |
| 06/05/2014 | TA = -130.93S + 3473.3 | 0.71 | TA = 6.4561S ² -642.08S + 4593.8 | 0.84 | n = 14 | 9.71 | 3.23 |
| 05/06/2014 | TA = -113.06S + 3043.3 | 0.73 | TA = 4.2723S ² -259.43S + 3863.2 | 0.84 | n = 14 | 7.56 | 3.23 |
| 03/07/2014 | TA = -53.477S + 1579 | 0.53 | TA = 2.3882S ² -139.95S + 2159.7 | 0.65 | n = 14 | 3.66 | 3.23 |
| 22/07/2014 | TA = -170.77S + 4435.4 | 0.65 | TA = 10.734S ² -538.75S + 6515 | 0.92 | n = 14 | 35.34 | 3.23 |
| 02/09/2014 | TA = -137.08S + 3704.8 | 0.71 | TA = 7.1965S ² -362.73S + 4901.5 | 0.86 | n = 14 | 11.78 | 3.23 |
| 02/10/2014 | TA = -62.186S + 2081.6 | 0.73 | TA = 1.8351S ² -129.18S + 2509.2 | 0.79 | n = 15 | 4.07 | 3.18 |
| 31/10/2014 | TA = -72.294S + 2525 | 0.63 | TA = 0.9834S ² -107.12S + 2748.3 | 0.65 | n = 11 | 0.01 | 3.46 |
| 15/12/2014 | TA = -95.743S + 2843.2 | 0.62 | TA = 6.4133S ² -332.51S + 4241.9 | 0.87 | n = 14 | 21.58 | 3.23 |
| 12/12/2013 | FA = -0.0478S + 1.5991 | 0.7 | FA = -0.0001S ² -0.0441S + 1.5777 | 0.7 | n = 15 | 0.009 | 3.18 |
| 09/01/2014 | FA = -0.0619S + 2.0771 | 0.67 | FA = -0.0006S ² -0.0438S + 1.9916 | 0.69 | n = 14 | 0.104 | 3.23 |
| 10/02/2014 | FA = -0.0329S + 1.2822 | 0.57 | FA = -0.0017S ² +0.0228S + 1.0124 | 0.66 | n = 13 | 2.348 | 3.29 |
| 26/03/2014 | FA = -0.0645S + 2.1405 | 0.53 | FA = -0.0031S ² +0.0365S + 1.6669 | 0.62 | n = 12 | 2.050 | 3.36 |
| 23/04/2014 | FA = -0.0403S + 1.67 | 0.32 | FA = -0.0018S ² +0.0223S + 1.3173 | 0.39 | n = 15 | 1.356 | 3.18 |
| 06/05/2014 | FA = -0.0473S + 1.7341 | 0.58 | FA = -0.0005S ² -0.0322S + 1.6524 | 0.59 | n = 15 | 0.102 | 3.18 |
| 05/06/2014 | FA = -0.0413S + 1.5689 | 0.77 | FA = -0.0002S ² -0.0331S + 1.5207 | 0.78 | n = 15 | 0.050 | 3.18 |
| 03/07/2014 | FA = -0.0458S + 1.9473 | 0.56 | FA = -0.0017S ² +0.0035S + 1.6516 | 0.62 | n = 15 | 1.958 | 3.18 |
| 22/07/2014 | FA = -0.1208S + 3.7923 | 0.91 | FA = 0.0019S ² -0.1846S + 4.1527 | 0.93 | n = 14 | 3.720 | 3.23 |
| 02/09/2014 | FA = -0.0861S + 2.8887 | 0.84 | FA = 0.0003S ² -0.0952S + 2.9431 | 0.84 | n = 15 | 0.020 | 3.18 |
| 02/10/2014 | FA = -0.0587S + 2.1859 | 0.89 | FA = -0.0005S ² -0.0419S + 2.0755 | 0.89 | n = 15 | 0.453 | 3.18 |
| 31/10/2014 | FA = -0.0628S + 2.4651 | 0.65 | FA = -0.0012-0.022S + 2.224 | 0.68 | n = 15 | 0.960 | 3.18 |
| 15/12/2014 | FA = -0.1076S + 3.7669 | 0.94 | FA = 0.0014-0.1608S + 4.0786 | 0.95 | n = 15 | 3.422 | 3.18 |

References

- Abril, G., Etcheber, H., Le Hir, P., Bassoullet, P., Boutier, B., Frankignoulle, M., 1999. Oxic/anoxic oscillations and organic carbon mineralization in an estuarine maximum turbidity zone (The Gironde, France). *Limnol. Oceanogr.* 44 (5), 1304–1315.
- Ahner, B.A., Wei, L., Oleson, J.R., Ogura, N., 2002. Glutathione and other low molecular weight thiols in marine phytoplankton under metal stress. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 232, 93–103.
- Al-Farawati, R., van den Berg, C.M.G., 2001. Thiols in coastal waters of the western North Sea and English channel. *Environ. Sci. Technol.* 35 (10), 1902–1911.
- Asmala, E., Autio, R., Kaartokallio, H., Stedmon, C.A., Thomas, D.N., 2014a. Processing of humic-rich riverine dissolved organic matter by estuarine bacteria: effects of predegradation and inorganic nutrients. *Aquat. Sci.* 76 (3), 451–463.
- Asmala, E., Bowers, D.G., Autio, R., Kaartokallio, H., Thomas, D.N., 2014b. Qualitative changes of riverine dissolved organic matter at low salinities due to flocculation. *J. Geophys. Res. Biogeosci.* 119 (10), 1919–1933.
- Bassoullet, P., 1979. Etude de la dynamique des sédiments en suspension dans l'estuaire de l'Aulne (Rade de Brest). Ph.D. thesis. University of Brittany, France.
- Benner, R., Kaiser, K., 2011. Biological and photochemical transformations of amino acids and lignin phenols in riverine dissolved organic matter. *Biogeochemistry* 102 (1–3), 209–222.
- Bianchi, T.S., 2011. The role of terrestrially derived organic carbon in the coastal ocean: a changing paradigm and the priming effect. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108 (49), 19473–19481.
- Billon, G., Ouddane, B., Boughriet, A., 2001. Chemical speciation of sulfur compounds in surface sediments from three bays (Fresnaye, Seine and Authie) in northern France, and identification of some factors controlling their generation. *Talanta* 53 (5), 971–981.
- Bordin, G., 1991. Distribution et évolution saisonnière du cuivre dissous dans un écosystème estuarien macrotidal d'Europe occidentale (estuaire de l'Aulne, France). *Oceanol. acta* 14 (5), 445–457.
- Bratskaya, S., Golikov, A., Lutsenko, T., Nesterova, O., Dudarchik, V., 2008. Charge characteristics of humic and fulvic acids: comparative analysis by colloid titration and potentiometric titration with continuous pK-distribution function model. *Chemosphere* 73 (4), 557–563.
- Brenon, I., Le Hir, P., 1999. Modelling the turbidity maximum in the Seine estuary (France): identification of formation processes. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 49 (4), 525–544.
- Castaing, P., Allen, G.P., 1981. Mechanisms controlling seaward escape of suspended sediment from the Gironde: a macrotidal estuary in France. *Mar. Geol.* 40 (1), 101–118.
- Cauwet, G., 2002. DOM in the coastal zone. In: Hansell, D.A., Carlson, C.A. (Eds.), *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*. Academic Press, Amsterdam, pp. 579–602.
- Chanudet, V., Filella, M., Quentel, F., 2006. Application of a simple voltammetric method to the determination of refractory organic substances in freshwaters. *Anal. Chim. Acta* 569 (1), 244–249.
- Chapman, C.S., Capodaglio, G., Turetta, C., van den Berg, C.M.G., 2009. Benthic fluxes of copper, complexing ligands and thiol compounds in shallow lagoon waters. *Mar. Environ. Res.* 67 (1), 17–24.
- Dai, M., Martin, J.M., Cauwet, G., 1995. The significant role of colloids in the transport and transformation of organic carbon and associated trace metals (Cd, Cu and Ni) in the Rhône delta (France). *Mar. Chem.* 51 (2), 159–175.
- Dai, M.H., Martin, J.M., 1995. First data on trace-metal level and behavior in 2 major Arctic river-estuarine systems (Ob and Yenisey) and in the adjacent Kara Sea, Russia. *Earth Planet. Sci. Lett.* 131 (3–4), 127–141.
- Dalzell, B.J., Filley, T.R., Harbor, J.M., 2007. The role of hydrology in annual organic carbon loads and terrestrial organic matter export from a midwestern agricultural watershed. *Geochim. Cosmochim. Acta* 71 (6), 1448–1462.
- Dittmar, T., Kattner, G., 2003. Recalcitrant dissolved organic matter in the ocean: major contribution of small amphiphilics. *Mar. Chem.* 82 (1–2), 115–123.
- Dryden, C.L., Gordon, A.S., Donat, J.R., 2007. Seasonal survey of copper-complexing ligands and thiol compounds in a heavily utilized, urban estuary: Elizabeth River, Virginia. *Mar. Chem.* 103 (3–4), 276–288.
- Dupont, C.L., Goepfert, T.J., Lo, P., Wei, L., Ahner, B.A., 2004. Diurnal cycling of glutathione in marine phytoplankton: field and culture studies. *Limnol. Oceanogr.* 49, 991–996.
- Dupont, C.L., Moffett, J.W., Bidigare, R.R., Ahner, B.A., 2006. Distributions of dissolved and particulate biogenic thiols in the subarctic Pacific Ocean. *Deep Sea Res. Part I* 53 (12), 1961–1974.
- Einsiedel, F., Mayer, B., Schafer, T., 2008. Evidence for incorporation of H₂S in groundwater fulvic acids from stable isotope ratios and sulfur K-edge X-ray absorption near edge structure spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* 42 (7), 2439–2444.
- Ertel, J.R., Hedges, J.L., Devol, A.H., Richey, J.E., 1986. Dissolved humic substances of the Amazon River system. *Limnol. Oceanogr.* 31 (4), 739–754.
- Filella, M., 2009. Freshwaters: which NOM matters? *Environ. Chem. Lett.* 7 (1), 21–35.
- Filoso, S., Martinelli, L.A., Williams, M.R., Lara, L.B., Krusche, A., Ballester, M.V., Victoria, R., De Camargo, P.B., 2003. Land use and nitrogen export in the Piracicaba River basin, Southeast Brazil. *Biogeochemistry* 65 (3), 275–294.
- Fox, L.E., 1983. The removal of dissolved humic acid during estuarine mixing. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 16 (4), 431–440.
- Gruhlke, M.C.H., Slusarenko, A.J., 2012. The biology of reactive sulfur species (RSS). *Plant Physiol. Biochem.* 59, 98–107.
- Hagen, K.D., Nelson, D.C., 1997. Use of reduced sulfur compounds by *Beggiatoa* spp.: enzymology and physiology of marine and freshwater strains in homogeneous and gradient cultures. *Appl. Environ. Microbiol.* 63 (10), 3957–3964.
- Han, S., Gill, G.A., Lehman, R.D., Choe, K.Y., 2006. Complexation of mercury by dissolved organic matter in surface waters of Galveston Bay, Texas. *Mar. Chem.* 98 (2), 156–166.
- Hedges, J.L., Keil, R.G., Benner, R., 1997. What happens to terrestrial organic matter in the ocean? *Org. Geochem.* 27 (5), 195–212.
- Herman, P.M.J., Heip, C.H.R., 1999. Biogeochemistry of the Maximum Turbidity zone of Estuaries (MATURE): some conclusions. *J. Mar. Syst.* 22 (2), 89–104.
- Hsu-Kim, H., 2007. Stability of metal-glutathione complexes during oxidation by hydrogen peroxide and Cu (II)-catalysis. *Environ. Sci. Technol.* 41 (7), 2338–2342.
- Hu, H., Mylon, S.E., Benoit, G., 2006. Distribution of the thiols glutathione and 3-mercaptopropionic acid in Connecticut lakes. *Limnol. Oceanogr.* 51 (6), 2763–2774.
- Huguet, A., Vacher, L., Relexans, S., Saubusse, S., Froidefond, J.M., Parlanti, E., 2009. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde estuary. *Org. Geochem.* 40 (6), 706–719.
- Jacob, C., Giles, G.L., Giles, N.M., Sies, H., 2003. Sulfur and selenium: the role of oxidation state in protein structure and function. *Angew. Chem. Int. Ed.* 42 (39), 4742–4758.
- Jalón-Rojas, I., Schmidt, S., Sottolichio, A., 2015. Turbidity in the fluvial Gironde estuary (southwest France) based on 10-year continuous monitoring: sensitivity to hydrological conditions. *Hydrol. Earth Syst. Sci.* 19 (6), 2805–2819.
- Kawakami, S.K., Gledhill, M., Achterberg, E.P., 2006. Production of phytochelatin and glutathione by marine phytoplankton in response to metal stress. *J. Phycol.* 42 (5), 975–989.
- Khalil, K., Raimonet, M., Laverman, A.M., Yan, C., Andrieux-Loyer, F., Viollier, E., Deflandre, B., Ragueneau, O., Rabouille, C., 2013. Spatial and temporal variability of sediment organic matter recycling in two temperate eutrophic estuaries. *Aquat. Geochem.* 19 (5–6), 517–542.
- Kiene, R.P., Malloy, K.D., Taylor, B.F., 1990. Sulfur-containing amino acids as precursors of thiols in anoxic coastal sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 56 (1), 156–161.
- Kiene, R.P., Taylor, B.F., 1988. Demethylation of dimethylsulfoniopropionate and production of thiols in anoxic marine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 54 (9), 2208–2212.
- Kisand, V., Gebhardt, S., Rullkötter, J., Simon, M., 2013. Significant bacterial transformation of riverine humic matter detected by pyrolysis GC–MS in serial chemostat experiments. *Mar. Chem.* 149, 23–31.
- Krezel, A., Bal, W., 1999. Coordination chemistry of glutathione. *Acta Biochim. Pol.* 46 (3), 567–580.
- Laglera, L.M., Tovar-Sanchez, A., 2012. Direct recognition and quantification by voltammetry of thiol/thioamide mixes in seawater. *Talanta* 89, 496–504.
- Laglera, L.M., van den Berg, C.M.G., 2003. Copper complexation by thiol compounds in estuarine waters. *Mar. Chem.* 82 (1–2), 71–89.
- Laglera, L.M., van den Berg, C.M.G., 2006. Photochemical oxidation of thiols and copper complexing ligands in estuarine waters. *Mar. Chem.* 101 (1), 130–140.
- Le Gall, A.C., van den Berg, C.M.G., 1993. Cathodic stripping voltammetry of glutathione in natural waters. *Analyst* 118 (11), 1411–1415.
- Le Gall, A.C., van den Berg, C.M.G., 1998. Folic acid and glutathione in the water column of the north east Atlantic. *Deep-Sea Res. Part I-Oceanogr. Res. Pap.* 45 (11), 1903–1918.
- Leal, M.F.C., van den Berg, C.M.G., 1998. Evidence for strong copper (I) complexation by organic ligands in seawater. *Aquat. Geochem.* 4 (1), 49–75.
- Longnecker, K., Kujawinski, E.B., 2011. Composition of dissolved organic matter in groundwater. *Geochim. Cosmochim. Acta* 75 (10), 2752–2761.
- Lorenzen, C.J., 1967. Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equations. *Limnol. Oceanogr.* 12 (2), 343–346.
- Luther, G.W., Church, T.M., Scudlark, J.R., Cosman, M., 1986. Inorganic and organic sulfur cycling in salt-marsh pore waters. *Science* 232 (4751), 746–749.
- Marie, L., Pernet-Coudrier, B., Waeles, M., Gabon, M., Riso, R., 2015. Dynamics and sources of reduced sulfur, humic substances and dissolved organic carbon in a temperate river system affected by agricultural practices. *Sci. Total Environ.* 537, 23–32.
- McKenna, J.H., 2004. DOC dynamics in a small temperate estuary: simultaneous addition and removal processes and implications on observed nonconservative behavior. *Estuaries* 27 (4), 604–616.
- Middelburg, J.J., Herman, P.M.J., 2007. Organic matter processing in tidal estuaries. *Mar. Chem.* 106 (1), 127–147.
- Milori, D.M.B.P., Martin-Neto, L., Bayer, C., Mielniczuk, J., Bagnato, V.S., 2002. Humification degree of soil humic acids determined by fluorescence spectroscopy. *Soil Sci.* 167 (11), 739–749.
- Moatar, F., Meybeck, M., 2005. Compared performances of different algorithms for estimating annual nutrient loads discharged by the eutrophic River Loire. *Hydrol. Process.* 19 (2), 429–444.
- Moingt, M., Bressac, M., Bélanger, D., Amyot, M., 2010. Role of ultra-violet radiation, mercury and copper on the stability of dissolved glutathione in natural and artificial freshwater and saltwater. *Chemosphere* 80 (11), 1314–1320.
- Monbet, P., 2006. Mass balance of lead through a small macrotidal estuary: the Morlaix River estuary (Brittany, France). *Mar. Chem.* 98 (1), 59–80.
- Mopper, K., Kieber, D.J., 2002. Photochemistry and the cycling of carbon, sulfur,

- nitrogen and phosphorus. In: Hansell, D.A., Carlson, C.A. (Eds.), *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*. Academic Press, Amsterdam, p. 546, 503.
- Moran, M.A., Hodson, R.E., 1994. Dissolved humic substances of vascular plant origin in a coastal marine environment. *Limnol. Oceanogr.* 39 (4), 762–771.
- Murray, H., Meunier, G., Stengel, D.B., Cave, R., 2014. Metal complexation by organic ligands (L) in near-pristine estuarine waters: evidence for the identity of L. *Environ. Chem.* 11 (2), 89–99.
- Nagao, S., Matsunaga, T., Suzuki, Y., Ueno, T., Amano, H., 2003. Characteristics of humic substances in the Kuji River waters as determined by high-performance size exclusion chromatography with fluorescence detection. *Water Res.* 37 (17), 4159–4170.
- Nagorski, S.A., Moore, J.N., McKinnon, T.E., Smith, D.B., 2003. Geochemical response to variable streamflow conditions in contaminated and uncontaminated streams. *Water Resour. Res.* 39 (2), 1–13.
- Noctor, G., Foyer, C.H., 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annu. Rev. Plant Biol.* 49 (1), 249–279.
- Noureddin, S., Courtot, P., 1989. Comportement conservatif des substances humiques dans un estuaire macrotidal. Composition des phases particulaire et dissoute. *Océanologica* 12 (4), 381–392.
- Oeurng, C., Sauvage, S., Coynel, A., Maneux, E., Etcheber, H., Sánchez-Pérez, J.M., 2011. Fluvial transport of suspended sediment and organic carbon during flood events in a large agricultural catchment in southwest France. *Hydrol. Process.* 25 (15), 2365–2378.
- Officer, C.B., 1979. Discussion of the behaviour of nonconservative dissolved constituents in estuaries. *Estuar. Coast. Mar. Sci.* 9 (1), 91–94.
- Otero, E., Culp, R., Noakes, J.E., Hodson, R.E., 2003. The distribution and $\delta^{13}\text{C}$ of dissolved organic carbon and its humic fraction in estuaries of southeastern USA. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 56 (5–6), 1187–1194.
- Oudot, J., Merlin, F.X., Pinvidic, P., 1998. Weathering rates of oil components in a bioremediation experiment in estuarine sediments. *Mar. Environ. Res.* 45 (2), 113–125.
- Pernet-Coudrier, B., Waeles, M., Filella, M., Quentel, F., Riso, D.R., 2013. Simple and simultaneous determination of glutathione, thioacetamide and refractory organic matter in natural waters by DP-CSV. *Sci. Total Environ.* 463–464 (0), 997–1005.
- Pettersson, C., Allard, B., Boren, H., 1997. River discharge of humic substances and humic-bound metals to the Gulf of Bothnia. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 44 (5), 533–541.
- Rochelle-Newall, E.J., Fisher, T.R., 2002. Chromophoric dissolved organic matter and dissolved organic carbon in Chesapeake Bay. *Mar. Chem.* 77 (1), 23–41.
- Rocker, D., Brinkhoff, T., Grüner, N., Dogs, M., Simon, M., 2012. Composition of humic acid-degrading estuarine and marine bacterial communities. *FEMS Microbiol. Ecol.* 80 (1), 45–63.
- Royer, T.V., David, M.B., 2005. Export of dissolved organic carbon from agricultural streams in Illinois, USA. *Aquat. Sci.* 67 (4), 465–471.
- Savoie, N., David, V., Morisseau, F., Etcheber, H., Abril, G., Billy, I., Charlier, K., Oggian, G., Derriennic, H., 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.
- Scarpa, M., Momo, F., Viglino, P., Vianello, F., Rigo, A., 1996. Activated oxygen species in the oxidation of glutathione A kinetic study. *Biophys. Chem.* 60 (1), 53–61.
- Schäfer, T., Buckau, G., Artinger, R., Kim, J.I., Geyer, S., Wolf, M., Bleam, W.F., Wirick, S., Jacobsen, C., 2005. Origin and mobility of fulvic acids in the Gorleben aquifer system: implications from isotopic data and carbon/sulfur XANES. *Org. Geochem.* 36 (4), 567–582.
- Shea, D., MacCrehan, W.A., 1988. Role of biogenic thiols in the solubility of sulfide minerals. *Sci. Total Environ.* 73 (1–2), 135–141.
- Sholkovitz, E.R., Boyle, E.A., Price, N.B., 1978. The removal of dissolved humic acids and iron during estuarine mixing. *Earth Planet. Sci. Lett.* 40 (1), 130–136.
- Sottolichio, A., Castaing, P., 1999. A synthesis on seasonal dynamics of highly-concentrated structures in the Gironde estuary. *Earth Planet. Sci.* 329 (11), 795–800.
- Stedmon, C.A., Markager, S., Sondergaard, M., Vang, T., Laubel, A., Borch, N.H., Windelin, A., 2006. Dissolved organic matter (DOM) export to a temperate estuary: seasonal variations and implications of land use. *Estuaries Coasts* 29 (3), 388–400.
- Stevenson, F.J., 1994. *Humus Chemistry : Genesis, Composition, Reaction*. John Wiley and Sons, USA, p. 496.
- Superville, P.J., Pizeta, I., Omanović, D., Billon, G., 2013. Identification and on-line monitoring of reduced sulphur species (RSS) by voltammetry in oxic waters. *Talanta* 112, 55–62.
- Tang, D., Hung, C.C., Warnken, K.W., Santschi, P.H., 2000. The distribution of biogenic thiols in surface waters of Galveston Bay. *Limnol. Oceanogr.* 45 (6), 1289–1297.
- Tang, D., Shafer, M.M., Karner, D.A., Overdier, J., Armstrong, D.E., 2004. Factors affecting the presence of dissolved glutathione in estuarine waters. *Environ. Sci. Technol.* 38 (16), 4247–4253.
- Tang, D., Warnken, K.W., Santschi, P.H., 2002. Distribution and partitioning of trace metals (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn) in Galveston Bay waters. *Mar. Chem.* 78 (1), 29–45.
- Tanguy, V., Waeles, M., Gigault, J., Cabon, J.Y., Quentel, F., Riso, R.D., 2011. The removal of colloidal lead during estuarine mixing: seasonal variations and importance of iron oxides and humic substances. *Mar. Freshw. Res.* 62 (4), 329–341.
- Thurman, E.M., 1985. *Organic Geochemistry of Natural Waters*. Martinus Nijhoff/Dr W Junk Publisher, Lancaster, p. 497.
- Thurman, E.M., Malcolm, R.L., 1981. Preparative isolation of aquatic humic substances. *Environ. Sci. Technol.* 15 (4), 463–466.
- Tremblay, L., Gagné, J.P., 2009. Organic matter distribution and reactivity in the waters of a large estuarine system. *Mar. Chem.* 116 (1), 1–12.
- Vairavamurthy, A., Mopper, K., 1987. Geochemical formation of organosulphur compounds (thiols) by addition of H_2S to sedimentary organic matter. *Nature* 329 (6140), 623–625.
- Vairavamurthy, M.A., Manowitz, B., Maletic, D., Wolfe, H., 1997. Interactions of thiols with sedimentary particulate phase: studies of 3-mercaptopropionate in salt marsh sediments from Shelter Island, New York. *Org. Geochem.* 26 (9–10), 577–585.
- Waeles, M., Riso, R., Pernet-Coudrier, B., Quentel, F., Durrieu, G., Tissot, C., 2013. Annual cycle of humic substances in a temperate estuarine system affected by agricultural practices. *Geochim. Cosmochim. Acta* 106, 231–246.
- Waeles, M., Riso, R.D., Le Corre, P., 2005. Seasonal variations of cadmium speciation in the Penzé estuary, NW France. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 65 (1), 143–152.
- Waeles, M., Tanguy, V., Riso, R.D., 2014. High-resolution examination of the colloidal speciation of cadmium in estuarine waters (Penzé, NW France). *Mar. Chem.* 167 (0), 71–81.
- Werne, J.P., Lyons, T.W., Hollander, D.J., Formolo, M.J., Damsté, J.S.S., 2003. Reduced sulfur in euxinic sediments of the Cariaco Basin: sulfur isotope constraints on organic sulfur formation. *Chem. Geol.* 195 (1), 159–179.
- Winterbourn, C.C., Metodiewa, D., 1999. Reactivity of biologically important thiol compounds with superoxide and hydrogen peroxide. *Free Radic. Biol. Med.* 27 (3), 322–328.
- Zhang, J., Wang, F., House, J.D., Page, B., 2004. Thiols in wetland interstitial waters and their role in mercury and methylmercury speciation. *Limnol. Oceanogr.* 49 (6), 2276–2286.

V.3. Conclusion

Dans cette étude, les composés de type GSH-like, TA-like et FA-like ont été quantifiés avec succès par DP-CSV le long du gradient de salinité de l'estuaire de l'Aulne au cours d'un cycle hydrologique annuel. Les concentrations saisonnières suggèrent une source principalement allochtone et continentale pour ces trois composés. Le comportement des composés de type GSH-like le long du gradient salé est principalement conservatif. De faibles pertes ont été observées (<25%) dans l'estuaire, probablement limitées par une complexation métallique. Les composés de type TA-like affichent un comportement non-conservatif avec d'importantes pertes le long du gradient salé. En termes de budget annuel, ces pertes ont été compensées par des apports exceptionnels survenus en février. Les composés de type FA-like ont une source clairement terrestre, i.e. lessivés des sols pendant les périodes de fortes précipitations. Une importante perte de FA-like (~ 50%) est observée dans la rivière. Le long du gradient salé, les composés de type FA-like ont un comportement conservatif. Pour la première fois dans un système estuarien, un budget annuel a été estimé pour les composés de type GSH-like, TA-like et FA-like.

**Chapitre VI : Spéciation de la matière
organique dissoute par LC-OCD-
OND-UVD dans une rivière
impactée par les activités agricoles**

VI.1. Introduction

La LC-OCD-OND-UVD est une technique chromatographique d'exclusion stérique couplée à trois détecteurs ; un détecteur de carbone, un détecteur d'azote et un détecteur UV. Elle a l'avantage d'offrir à la fois une caractérisation globale et une autre spécifique de la MOD. En effet, en plus de la mesure du COD, elle permet la séparation de la matière organique dissoute (MOD) en cinq fractions de taille et de nature différentes que sont les biopolymères (BP), les substances humiques (SH), les building-blocks (BB), les molécules de petits poids moléculaires acides (LMWA) et neutres (LMWN). Une autre particularité de la méthode est sa très faible limite de détection. La LC-OCD-OND-UVD permet de suivre une grande variété de composés à des concentrations de l'ordre de la ppb.

Comme nous l'avons vu précédemment, une partie significative de la MOD est constituée de composés stables produits par divers mécanismes dans le sol et l'eau. Ces composés à caractère réfractaire, font référence le plus souvent aux substances humiques (SH). Les buildings blocks (BB) sont considérés comme une sous-fraction des SH. Leurs masses moléculaires sont plus faibles que celles des SH mais leurs propriétés sont équivalentes, d'où l'appellation commune de « SH-like » par certains auteurs pour définir le groupe des SH et des BB (Huber *et al.*, 2011). Les biopolymères (BP) constituent une autre fraction de la MOD, contenant des molécules plus facilement dégradables ou assimilables (polysaccharides et protéines). Les molécules de petits poids moléculaires acides (LMWA) et neutres (LMWN) font partie de deux autres familles de composés identifiés. Elles sont caractérisées par des composés révélateurs de processus biologiques tels que la production primaire autochtone et la dégradation bactérienne de la MOD (Huber *et al.*, 2011 ; Penru *et al.*, 2013 ; Villacorte *et al.*, 2015).

En plus de l'analyse des composés organiques, la méthode permet, dans certaines conditions, d'analyser différentes formes azotées telles que les nitrates, l'ammonium ou l'urée.

Malgré ces particularités qui peuvent rendre la méthode analytique très intéressante, son utilisation reste à ce jour focalisée dans le domaine du traitement de l'eau (Simon *et al.*, 2013 ; Ho *et al.*, 2015) ; très peu de travaux concernent les milieux naturels. Parmi les études effectuées dans l'environnement, He *et al.* (2016) se sont concentrés principalement sur une zone humide coréenne relativement protégée des apports anthropiques. Chen *et al.* (2015) ont

étudié la spéciation de la MOD dans des eaux douces en Chine et Penru *et al.* (2013) ont travaillé en milieu marin (Méditerranée) au large de Barcelone.

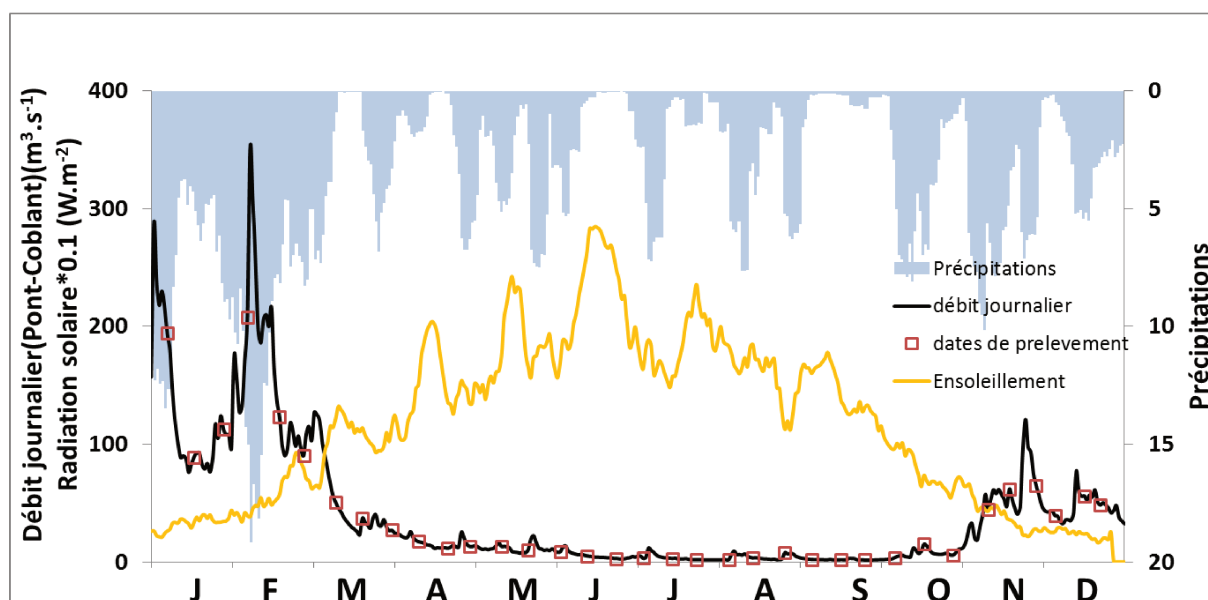
Dans le cadre général de ce travail, la distribution des cinq fractions précédemment citées (BP, SH, BB, LMWA et LMWN) de la MOD a été suivie sur la base d'un cycle annuel dans l'Aulne. L'étude de chaque fraction a été effectuée dans le but d'identifier des nouveaux traceurs/descripteurs chimiques, nous permettant de mieux appréhender le fonctionnement des écosystèmes aquatiques.

VI.2. Résultats et Discussions

VI.2.1. Paramètres hydrologiques

La figure VI.1 représente l'ensoleillement et la pluviométrie moyennée sur une période de sept jours ainsi que les débits journaliers mesurés dans la rivière de l'Aulne sur la période de janvier 2014 à décembre 2014.

Dans cette rivière impactée par les activités agricoles et soumise à un climat océanique tempéré, on peut noter deux périodes distinctes. Une période de crue avec de forts débits ($50-350 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$) et de fortes précipitations (5-20 mm), de novembre à mars 2014, et une période d'étiage, de faibles débits et de fort ensoleillement, d'avril à octobre.



VI.2.2. Composition de la MOD et comparaison avec d'autres systèmes

L'évolution annuelle de la composition moléculaire de la MOD est représentée sur la figure VI.2. La composition des cinq fractions de la MOD, à savoir les BP, SH, BB, LMWN et LMWA, compte en moyenne pour 5%, 54%, 10%, 10% et 1% du COD respectivement. La MOD présente dans cette rivière est donc majoritairement composée de molécules de fort poids moléculaire.

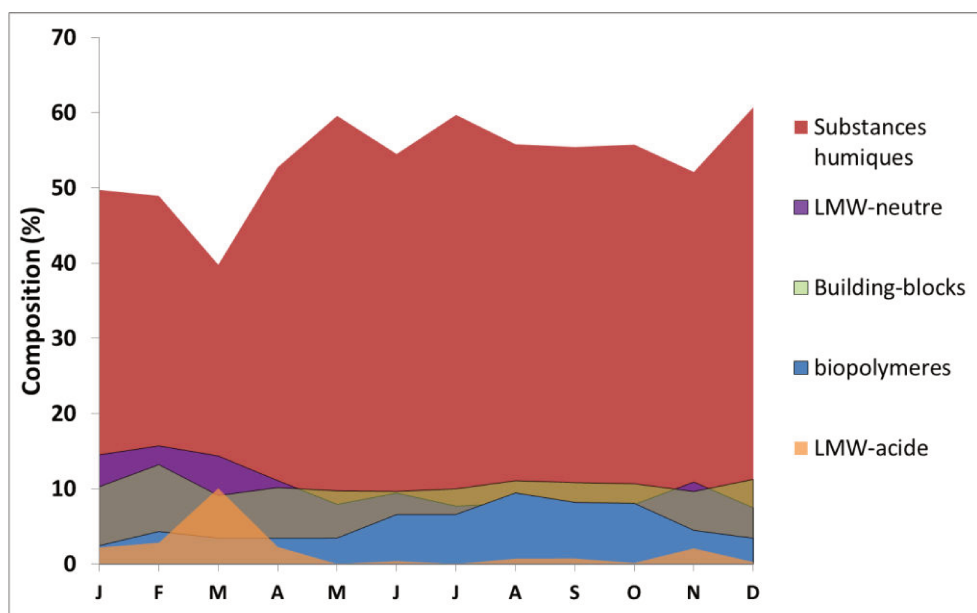


Figure VI.2 : Variations des cinq fractions (% du COD) analysées par LC-OCD-OND-UVD dans la rivière de l’Aulne au cours de l’année 2014. Les données ont été moyennées par mois.

Nous avons comparé nos résultats avec différentes études effectuées dans des systèmes aquatiques (Tableau VI.1). Les compositions en BP, SH et LMWA de notre étude sont relativement proches de celles des milieux aquatiques d’eau douce de Chine et de Corée (Chen *et al.*, 2015 ; He *et al.*, 2016). Cependant, l’abondance des BB et des LMWN est plus faible dans notre cas. Cette différence peut être attribuée à différents processus de dégradation des fractions de plus haut poids moléculaire conduisant à l’émergence de fractions de plus petites tailles comme les BB et les LMWN. En effet, les zones humides et les réservoirs d’eaux douces sont des systèmes peu profonds avec des temps de résidence de la MOD plus importants, ce qui permet une meilleure dégradation. Quand on s’éloigne de la source de MOD terrigène, on peut noter l’abondance des LMWN et la faible proportion de SH (Penru *et al.*, 2013).

Tableau VI.1 : Composition de la MOD (%) dans différentes études utilisant la LC-OCD.

| Système | BP (%) | SH (%) | BB (%) | LMWA (%) | LMWN (%) |
|--|--------|--------|-------------|----------|-------------|
| Rivière en zone humide (Corée, He <i>et al.</i> , 2016) | 6 | 42 | 25 | 0 | 26 |
| Réservoir d’eau douce (Chine, Chen <i>et al.</i> , 2015) | 1-5 | 40-60 | 16-30 | 0,5-1 | 18-27 |
| Zone côtière (Méditerranée, Penru <i>et al.</i> , 2013) | 3 | 37 | 14 | 6 | 40 |
| Notre étude | 2-8 | 40-61 | 9-13 | 0-6 | 7-16 |

VI.2.3. Variabilité saisonnières des différentes fractions de la MOD

a. Carbone organique dissous

Les concentrations en carbone organique dissous (COD) dans la rivière de l'Aulne varient entre 2,0 et 9.5 mgC.L⁻¹, avec une moyenne de 4,6 ± 1,6 mgC.L⁻¹ (Fig. VI.3). Les plus faibles valeurs sont observées dans la première partie de l'année, entre février et juin. Les concentrations en COD augmentent progressivement à partir de mai jusqu'au maximum observé au mois de novembre associé à la crue d'automne (Fig. VI.1). Ces concentrations sont du même ordre de grandeur que celles mesurées dans des systèmes avec des bassin versants comparables à celui de l'Aulne (Aminot *et al.*, 1990 ; Royer et David, 2005 ; Dalzell *et al.*, 2007 ; Oeurng *et al.*, 2011 ; Marie *et al.*, 2015).

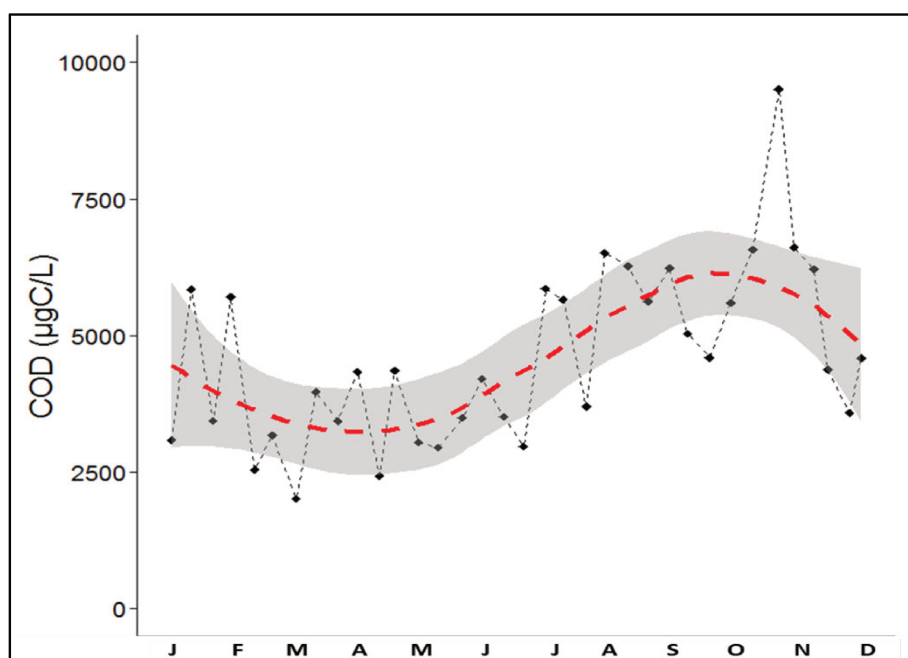


Figure VI.3 : Evolution des concentrations en COD ($\mu\text{gC.L}^{-1}$) dans l'Aulne au cours de l'année 2014. Une courbe de lissage est représentée en rouge (régression non paramétrique de Loess) ainsi que l'intervalle de confiance représenté en gris.

b. Biopolymères (BP)

Les biopolymères (BP) sont des molécules de haut poids moléculaire, entre 1000 et 20000 Da, qui présentent une faible absorption UV. Cette fraction hydrophile comporte des molécules organiques d'origine biogénique contenant principalement des polysaccharides et des protéines (Huber *et al.*, 2011 ; Penru *et al.*, 2013). Par l'intermédiaire d'expériences réalisées au laboratoire sur du phytoplancton, Villacorte *et al.* (2015) démontre que 50% de la

matière organique aquagénique (MOA), c'est-à-dire de la matière organique produite au sein du milieu aquatique, est composée de BP.

Dans notre étude, les concentrations en BP varient entre 36 et 500 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ avec une moyenne de $220 \pm 140 \mu\text{gC.L}^{-1}$ (Fig. VI.4). Les plus faibles valeurs sont observées de janvier jusqu'à mi-juin avec une moyenne de $115 \pm 45 \mu\text{gC.L}^{-1}$. Les valeurs les plus élevées sont observées à partir de juillet et jusqu'en novembre avec une moyenne de $365 \pm 90 \mu\text{gC.L}^{-1}$.

La mesure de la chlorophylle *a* (Chla) est utilisée comme indicateur de biomasse (débris de végétaux terrestre et efflorescences algales) dans les eaux naturelles. Dans le système, les concentrations en Chla oscillent entre 0,1 et 24 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Fig. VI.4). Les valeurs restent faibles de janvier à mars. Les concentrations augmentent à partir d'avril et atteignent des maximums en août et en octobre, signe d'un développement phytoplanctonique intense.

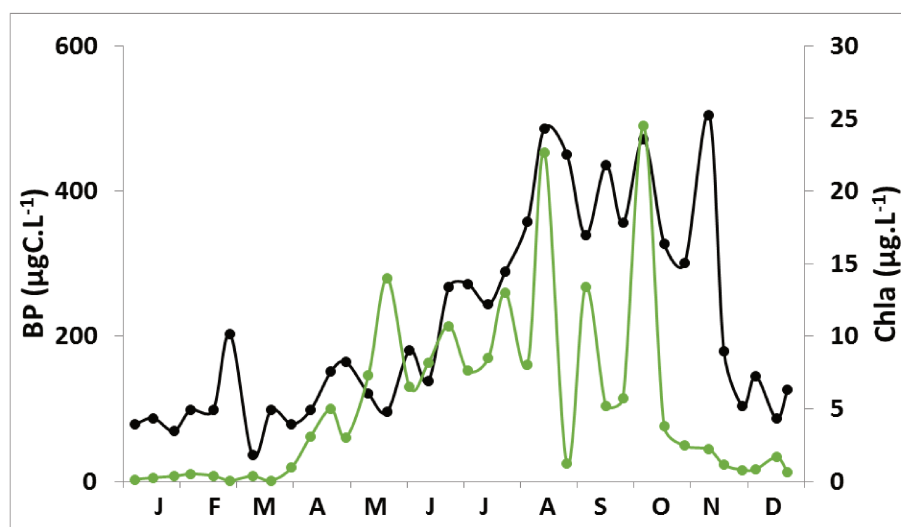


Figure VI.4 : Evolution des concentrations en BP (noir, $\mu\text{gC.L}^{-1}$) et en Chla (vert, $\mu\text{g.L}^{-1}$) dans l'Aulne au cours de l'année 2014.

Comme le suggère l'évolution des deux paramètres ; BP et Chla (Fig. VI.4), la présence de BP semble être associée en grande partie à la production primaire. En effet, l'augmentation graduelle des BP, entre mars et août, coïncide avec un brusque changement de la concentration en Chla qui passe de valeurs en moyenne autour de 0,2 à des valeurs supérieures à 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$ début août. Cette variation est le signe d'un bloom phytoplanctonique printanier. La matrice de corrélation de Pearson (Tableau VI.2), calculée entre les différentes fractions de la MOD et les paramètres hydrologiques et biologiques, confirme la forte corrélation entre les BP et la Chla ($p < 0,05$).

L'évolution du taux de polysaccharides dans les biopolymères (Fig.VI.5) a été obtenue en prenant en compte la composition protéique et polysaccharidique des biopolymères. On remarque une forte production de polysaccharides entre juin et novembre. Les polysaccharides sont des macromolécules produites principalement au cours du cycle de vie de l'activité phytoplanctonique ou bactériennes par différentes voies (sécrétion, excrétion, exsudation, lyse) (Chin *et al.*, 2004 ; Azam et Malfatti, 2007 ; Villacorte *et al.*, 2015). Leur présence dans l'eau en période estivale confirme la production de BP par l'activité autochtone. Cette production autochtone de BP a également été considérée par d'autres auteurs (Penru *et al.*, 2013 ; Chen *et al.*, 2015 ; He *et al.*, 2016).

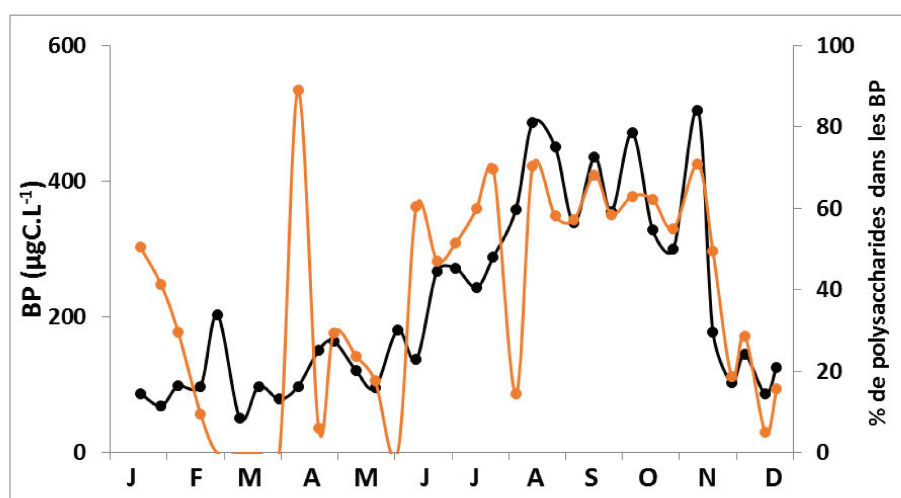
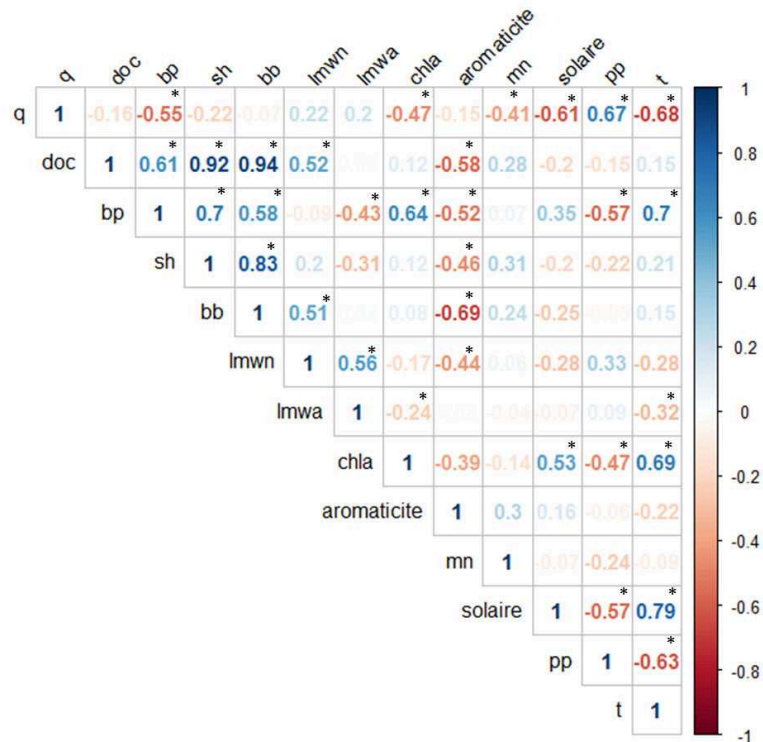


Figure VI.5 : Evolution des concentrations en BP (noir, $\mu\text{gC.L}^{-1}$) et du pourcentage de polysaccharides (orange) dans la fraction des biopolymères.

Entre novembre et mars, l'absence de polysaccharides et la présence de protéines dans le milieu est le signe d'une matière déjà dégradée. Le lessivage des sols à cette période de l'année amène un nombre important de matériel végétal ou animal, principalement en cours de dégradation.

Tableau VI.2 : Matrice de corrélation de Pearson sur les différents composés de la MOD ainsi que sur les paramètres hydrologiques et biologiques (q et pp = débit et précipitations moyennées sur 7 jours, t=température). Les étoiles représentent les valeurs significatives ($p < 0,05$).



c. Substances Humiques (SH)

Les substances humiques (SH) sont caractérisées par des substances organiques hétérogènes, de structure complexe, de haut poids moléculaire (800-1000 Da) dont une grande partie est réfractaire à la dégradation biologique (Dittmar et Kattner, 2003 ; Bianchi, 2011). Ces composés hydrophobes mais non retenus sur la colonne, absorbent fortement en UV et résultent de la dégradation et transformation des végétaux et animaux dans les sols et les eaux de surfaces.

Pour permettre de distinguer l'origine des substances humiques, la LC-OCD-OND-UVD permet de classer les SH en fonction de leur aromaticité et de leur poids moléculaire, le long d'un continuum d'humification (Fig. VI.6). Ce diagramme permet ainsi de séparer les acides fulviques (FA) des acides humiques (HA) et de déterminer l'origine aquagénique ou pédogénique des SH.

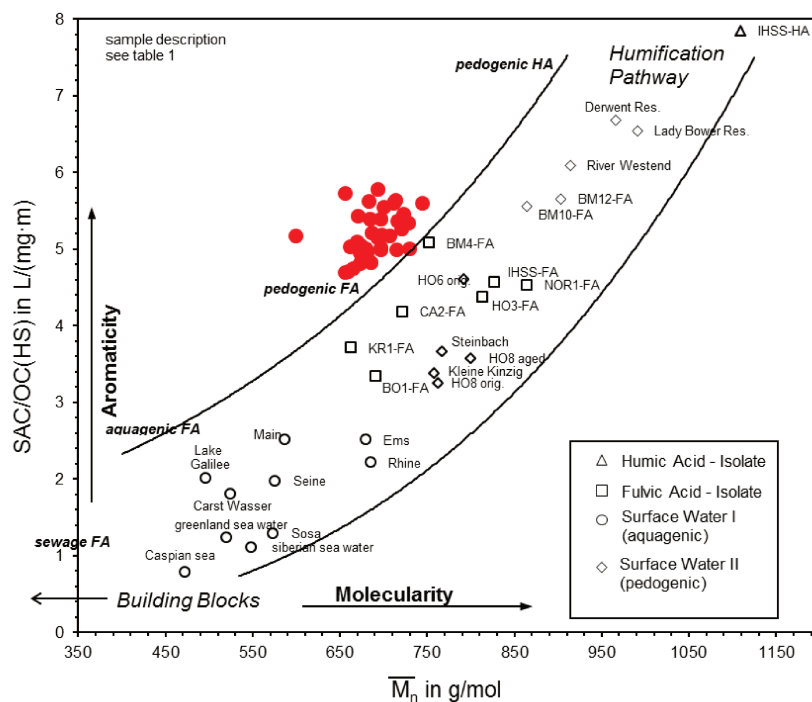


Figure VI.6 : Classement des substances humiques en fonction de leur molécularité et de leur aromaticité.

Dans notre étude, les SH se situent dans la région supérieure du diagramme, ce qui montre ont une origine clairement pédogénique. Cependant, les SH de la rivière de l’Aulne se situent à l’extérieur du continuum d’humification proposé par Huber *et al.* (2011), avec de plus faibles poids moléculaires et une aromaticité plus forte que dans les autres systèmes. Ces caractéristiques ont déjà été observées par Marie et al. (2015) dans la rivière de la Penzé soumis à des impacts agricoles intenses.

La prépondérance des SH d’origine terrestre tout au long de l’année semble alors dominante sur les sources autochtones. Il est possible que, dans notre cas, la fréquence des épandages et le lessivage relativement régulier par les pluies apportent tout au long de l’année une MOD riche en SH pédogéniques. En effet, l’Aulne tout comme la Penzé, est soumise à un apport intense de MOD par l’agriculture via l’épandage d’engrais organiques (lisiers, fumiers). Ceci est cohérent avec l’idée que l’agriculture est la source principale de SH toute l’année (Waeles *et al.*, 2013).

Les variations saisonnières des SH sont marquées ($p < 0,05$), avec des concentrations qui varient entre 0,9 et 5,9 mgC.L^{-1} et une moyenne de $2,5 \pm 0,9 \text{ mgC.L}^{-1}$ (Fig. VI.7). L’année peut être caractérisée par trois périodes graduellement importantes en termes de concentrations en SH. La première période, qui s’étend du début de l’année jusqu’à mi-mars,

présente des concentrations basses avec une moyenne de $1,7 \pm 0,5 \text{ mgC.L}^{-1}$. La deuxième période, avec une moyenne de $2,5 \pm 0,8 \text{ mgC.L}^{-1}$, comprend des concentrations en SH qui augmentent progressivement de la mi-mars jusqu'à début octobre. La dernière période correspond à la crue automnale qui comprend le maximum de $5,9 \text{ mgC.L}^{-1}$ avec une moyenne de $3,3 \pm 1,1 \text{ mgC.L}^{-1}$.

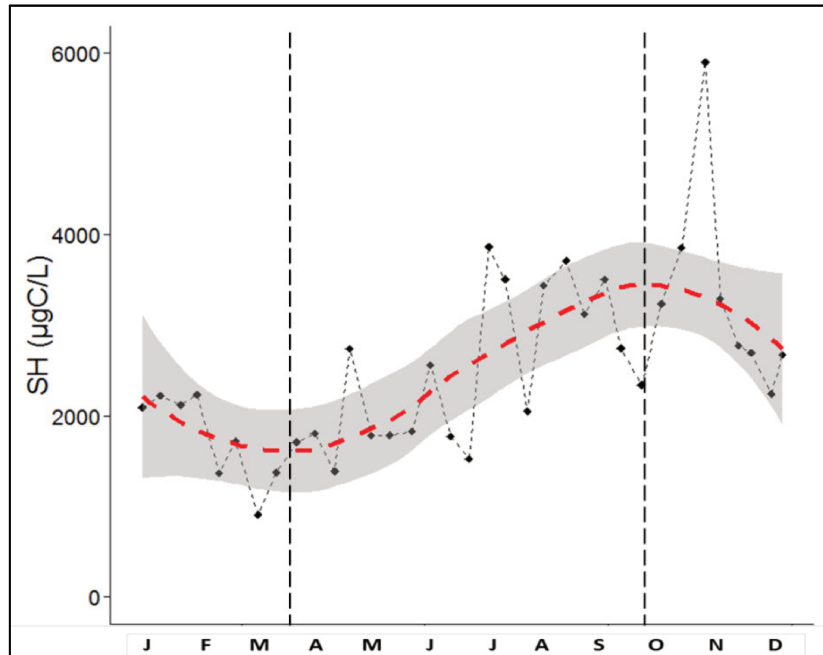


Figure VI.7: Evolution des concentrations en SH ($\mu\text{gC.L}^{-1}$) dans l'Aulne au cours de l'année 2014. Une courbe de lissage est représentée en rouge (régression non paramétrique de Loess) ainsi que l'intervalle de confiance représenté en gris.

Les concentrations en SH plus basses du début de l'année pourraient traduire un effet de dilution par les horizons profonds qui interviendrait après l'épuisement des sols (Marie *et al.*, 2015). L'augmentation suivante des concentrations pendant l'étiage peut être expliquée par la nature des épandages et leur temps de résidence sur les sols. En effet, à partir de juillet, le fumier composté devient dominant du fait de l'interdiction d'utiliser du fumier frais (Waeles *et al.*, 2013). De plus, en été, les précipitations sont entrecoupées de périodes plus sèches et chaudes qui permettent l'accumulation de MOD dans les sols. Or le compostage modifie la MO en augmentant son degré d'humification (Plaza *et al.*, 2004) de même que des températures plus importantes entraîneraient une plus grande formation de SH (Tiquia *et al.*, 1997). Par ailleurs, les faibles débits à cette période diminuent également l'effet de dilution et permettent l'accumulation de ces composés dans la rivière. Le maximum de SH observé en fin d'année lors de l'épisode de crue automnale, démontre une fois de plus que le lessivage de sols exposés à une humification importante durant l'été est un facteur déterminant. Un

décroissement rapide est ensuite observé traduisant l'épuisement relatif des sols et des sédiments (Williams, 1989 ; Nagorski *et al.*, 2003).

d. Building-Blocks (BB)

Les building-blocks, dont le poids moléculaire est compris entre 350 et 600 Da, sont de même nature que les SH, mais de poids moléculaire plus faibles (Huber *et al.*, 2011). Ces composés reflètent les produits de dégradation des SH (Liu *et al.*, 2010 ; Huber *et al.*, 2011 ; Chen *et al.*, 2015 ; He *et al.*, 2016). C'est pourquoi le terme « SH-like » est parfois utilisé pour désigner ces deux fractions. Leur formation peut être liée à une dégradation photochimique des SH (Tercero-Espinoza *et al.*, 2009 ; Liu *et al.*, 2010).

Dans notre étude, les concentrations en BB varient au cours des saisons ($p < 0,05$) et oscillent entre 190 et 835 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ avec une moyenne de $480 \pm 160 \mu\text{gC.L}^{-1}$ (Fig. VI.8). Les concentrations peuvent être séparées en trois périodes. La première période, qui s'étend du début de l'année jusqu'à fin-mars, avec une moyenne de $400 \pm 170 \mu\text{gC.L}^{-1}$, comprend des concentrations qui peuvent atteindre plus de 700 $\mu\text{gC.L}^{-1}$. La deuxième période, avec une moyenne de $360 \pm 142 \mu\text{gC.L}^{-1}$, comprend des concentrations en BB qui augmentent progressivement entre avril et octobre. La dernière période qui commence à partir d'octobre, comprend les concentrations les plus élevées autour de $600 \pm 132 \mu\text{gC.L}^{-1}$ avec le maximum à 835 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ pendant la crue d'automne.

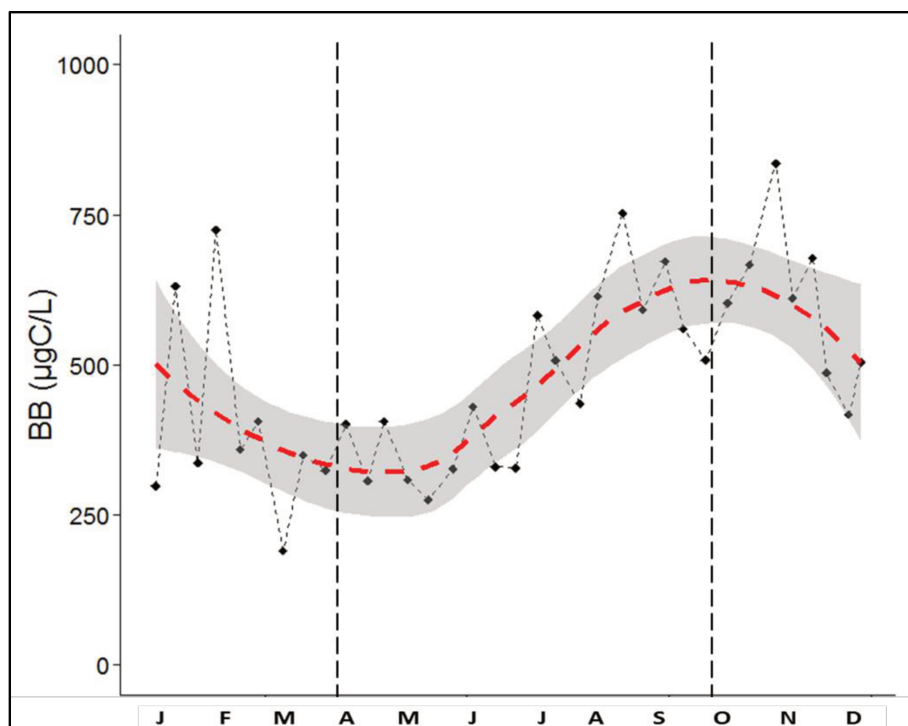


Figure VI.8 : Evolution des concentrations en BB ($\mu\text{gC}\cdot\text{L}^{-1}$) dans l'Aulne au cours de l'année 2014. Une courbe de lissage est représentée en rouge (régression non paramétrique de Loess) ainsi que l'intervalle de confiance représenté en gris.

Dans le cas de l'Aulne, les variations saisonnières des concentrations en BB et en SH montrent une dynamique similaire (Fig. VI.8). Une forte corrélation est en effet observée entre ces deux fractions ($p < 0,05$, tableau VI.2). Comme établi via de précédentes études (Liu *et al.*, 2010 ; Huber *et al.*, 2011 ; Chen *et al.*, 2015 ; He *et al.*, 2016), les BB semblent être ainsi des produits de dégradation des SH. Les SH et les BB (SH-like) semblent donc apportés principalement depuis des sources allochtones à la rivière. La matrice de corrélation de Pearson nous montre également une très bonne corrélation entre les SH-like et le COD. Cette famille contrôle en grande partie la dynamique du COD tout au long de l'année.

e. Molécules de bas poids moléculaire neutres (LMWN)

Les LMWN font partie d'une fraction qui peut contenir une grande complexité de composés incluant les alcools, les aldéhydes, les cétones, les acides aminés et les sucres (Huber *et al.*, 2011). Les LMWN peuvent être des produits de dégradation des fractions de plus haut poids moléculaire comme les SH-like (Tercero-Espinoza *et al.*, 2009 ; Liu *et al.*, 2010 ; He *et al.*, 2016). Une production de LMWN par l'activité biologique (phytoplanktonique et bactérienne) a également été observée dans plusieurs études (Dittmar et Kattner, 2003 ; Azam et Malfatti, 2007 ; Penru *et al.*, 2013 ; Villacorte *et al.*, 2015).

Dans notre étude, les variations saisonnières des LMWN sont moins marquées que pour les fractions de plus fort poids moléculaire. Les concentrations se répartissent entre 220 et 1120 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ avec une moyenne de $450 \pm 210 \mu\text{gC.L}^{-1}$ (Fig. VI.9). Elles varient de façon importante pendant les quatre premiers mois de l'année avec une moyenne de $470 \pm 270 \mu\text{gC.L}^{-1}$. En période d'été, les concentrations augmentent doucement et s'établissent autour d'une moyenne de $380 \pm 90 \mu\text{gC.L}^{-1}$. Un dernier maximum à $1000 \mu\text{gC.L}^{-1}$ est atteint pendant la crue d'automne.

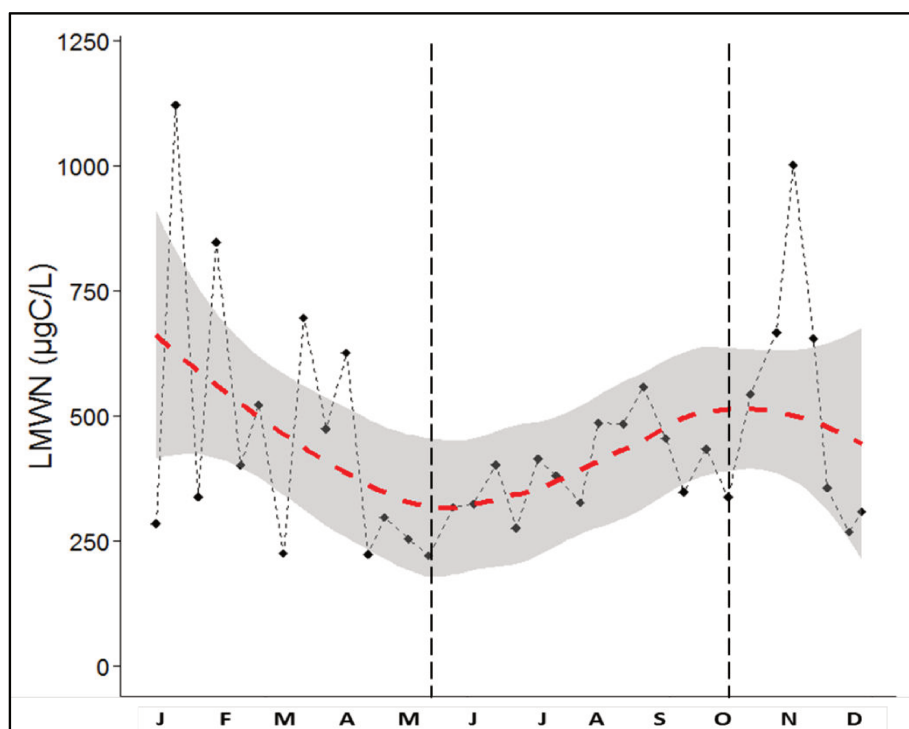


Figure VI.9: Evolution des concentrations en LMWN ($\mu\text{gC.L}^{-1}$) dans l'Aulne au cours de l'année 2014. Une courbe de lissage est représentée en rouge (régression non paramétrique de Loess) ainsi que l'intervalle de confiance représenté en gris.

Au cours de l'année, la variation des concentrations des LMWN suit globalement celle des SH-like. De plus, une forte corrélation est obtenue entre les LMWN et les BB ($p < 0,05$, tableau VI.2) suggérant qu'une partie des LMWN provient de la dégradation des BB. Ceci conforterait l'hypothèse émise dans de précédents travaux (Liu *et al.*, 2010 ; He *et al.*, 2016). Néanmoins, les niveaux de concentrations en BB et LMWN étant du même ordre de grandeur, il est probable que d'autres mécanismes entrent en jeu dans les apports de LMWN. Une partie des LMWN peut notamment provenir de la sénescence et/ou de la décomposition des organismes (Penru *et al.*, 2013 ; Villacorte *et al.*, 2015).

f. Molécules de bas poids moléculaire acides (LMWA)

La fraction des LMWA contient des molécules de faibles poids moléculaires (< 350Da) comme les acides organiques aliphatiques chargés négativement (Penru *et al.*, 2013). D'après Huber *et al.* (2011), cette famille pourrait contenir une faible quantité de substances humiques (LMW-HS). Elles peuvent également être produites par photo-oxydation ou biodégradation de la MOD, souvent associée à une diminution des composés tels que les BP, SH et BB (Brinkmann *et al.*, 2003 ; Leenheer et Croue, 2003 ; Tercero-Espinoza *et al.*, 2009 ; Liu *et al.*, 2010). Cette fraction peut également être un produit de dégradation des LMWN, comme le suggère He *et al.* 2016. On retrouve également cette fraction en milieu anaérobie par dégradation microbienne de la MOD tels que dans les nappes phréatiques, les eaux interstitielles ou les sédiments profonds (Cozzarelli *et al.*, 1994 ; Sachse *et al.*, 2001).

Dans notre étude, les concentrations en LMWA ne sont pas détectées entre avril et août (<LD) (Fig. VI.10). Le reste de l'année, elles peuvent atteindre périodiquement des concentrations entre 1 et 360 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ avec une moyenne de $80 \pm 100 \mu\text{gC.L}^{-1}$ sur l'année. Les maximums sont observés au mois de mars et en novembre.

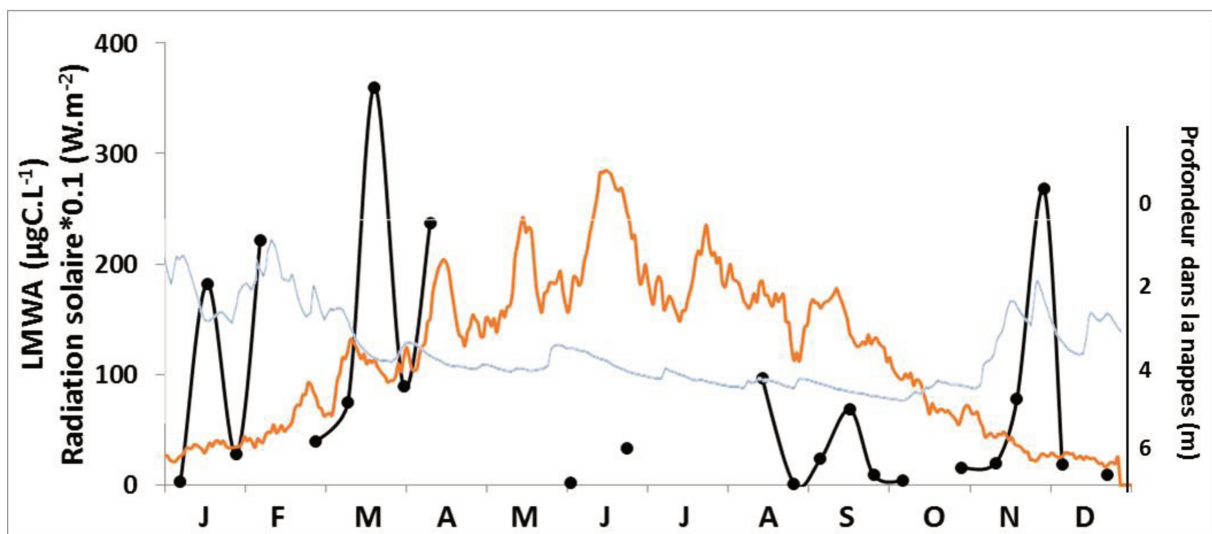


Figure VI.10: Evolution des concentrations en LMWA ($\mu\text{gC.L}^{-1}$) dans l'Aulne au cours de l'année 2014. La profondeur de la nappe phréatique (m) est représentée en bleue et la radiation solaire (W.m^{-2}) en orange.

Dans notre système, on observe un léger décalage dans le temps entre les pics de LMWA et ceux des LMWN au cours de l'année. On peut donc supposer qu'une partie des LMWA peut être des produits de dégradation des LMWN avec un temps de retard correspondant à leur formation. Cette hypothèse peut être soutenue par la bonne corrélation

obtenue entre ces deux fractions (Tableau VI.2). Un apport souterrain pourrait également être responsable de leur présence dans la rivière. En effet, le maximum observé en novembre coïncide avec la remontée de la nappe et se trouve décalé par rapport à l'onde de crue. Le rôle que peuvent jouer les nappes phréatiques sur la composition de la MOD a été mis en évidence dans un système similaire (Marie *et al.*, 2015). Cette étude présente des concentrations en thioacétamide, composé soufré dont l'origine souterraine est clairement établie, plus importantes à ces mêmes périodes de l'année. Au vu de la littérature, l'hypothèse de l'origine souterraine peut être avancée. Enfin, leur absence apparente entre avril et août coïncide avec l'augmentation de l'ensoleillement et de la Chla. Comme le suggère les études de Tercero-Espinoza (2009) et Lia *et al.* (2010), ces composés se détruisent totalement par photo-oxydation après plusieurs heures d'ensoleillement. Ces composés peuvent également être consommés par l'activité biologique en période estivale (Donderski *et al.*, 1998).

VI.3. Conclusion

Les concentrations en biopolymères, substances humiques, building blocks, molécules de bas poids moléculaire acides et molécules de bas poids moléculaire neutres ont été mesurées par la LC-OCD-OND-UVD et les variations saisonnières de ces composés ont été étudiées lors d'un cycle annuel (2014) dans la rivière de l'Aulne. Nos résultats montrent que la MOD est principalement composée de molécules de fort poids moléculaire. Nos résultats ont aussi permis d'apporter des informations sur l'origine et la dynamique de ces cinq familles de composés dans un bassin versant agricole. Les biopolymères sont des composés issus principalement de l'activité biologique aquagénique. La dominance des SH d'origine terrestre par ailleurs caractérisées par une forte aromaticité et un faible poids moléculaire toute l'année, montre l'importance des apports allochtones dans ces systèmes aquatiques. L'examen des variations saisonnières et des corrélations nous ont permis de révéler que les BB semblent être des produits de dégradation des SH. Les SH et les BB forment la famille des « SH-like » et sont apportés principalement depuis des sources allochtones à la rivière. Les LMWN semblent être des produits de dégradation des BB et des organismes alors que les LMWA semblent plutôt produits de la dégradation des LMWN ou sont formés dans les horizons profonds des sols.

L'impact des activités agricoles sur le cycle de ces différents composés organiques de la fraction dissoute ne peut cependant pas être confirmé à ce stade. Il sera nécessaire de compléter notre étude par l'analyse de systèmes de référence (tels que le Saint-Rivoal

notamment). Par ailleurs, une étude plus approfondie du cycle des composés azotés (nitrates, urée, ammonium) devra permettre une meilleure compréhension du rôle de la production primaire et de la reminéralisation de la matière organique.

Conclusion générale

L'objectif global de ce travail a été d'apporter des éléments nouveaux sur l'identification des sources de la matière organique dissoute (MOD) et sur le comportement de celle-ci dans les systèmes fluviaux-estuariens à fort caractère agricole.

Ce travail a été soutenu par des approches analytiques originales et complémentaires permettant de s'affranchir des problèmes classiques liés à l'extraction. Dans un premier temps, un effort important a été consacré à l'ajustement de la DP-CSV, méthode électrochimique récemment développée au laboratoire par Pernet-Coudrier *et al.* (2013), pour l'analyse des eaux douces. Cette méthode a permis de caractériser de façon simultanée trois familles de composés organiques dissous : deux types de composés soufrés réduits (glutathione-like et thioacétamide-like) et les composés de type acides fulviques. Dans un second temps, la LC-OCD-OND-UVD, chromatographie liquide couplée aux détecteurs de carbone, azote et UV, a été mise en œuvre. Elle offre l'avantage, en plus de la mesure du carbone organique dissous, de séparer la MOD en cinq fractions de taille et de nature différentes. Ces deux méthodes combinées permettent d'une part l'analyse globale de la MOD et d'autre part l'analyse sélective de différentes familles représentatives de l'ensemble de la MOD.

Le suivi annuel des composés organiques a été effectué à haute fréquence (~10 jours) dans quatre systèmes fluviaux (Saint-Rivoal, Le Yar, la Penzé et l'Aulne) possédant des bassins versants variés en termes de taille et de pratiques agricoles. La rivière de Saint-Rivoal non impactée par les activités anthropiques, a été utilisée comme système de référence. Nous avons également examiné les variations saisonnières et le comportement des différentes familles de composés de la MOD le long du gradient salé de l'Aulne. Pour la première fois dans un système estuarien, un budget annuel a été estimé. Il a permis d'évaluer les apports en matière organique vers le milieu côtier ainsi que de mieux cerner les principaux échanges qui s'opèrent au sein de l'estuaire.

Parmi les nombreux résultats obtenus, ces travaux de thèse ont permis d'identifier une source clairement terrestre pour les composés de la famille des **substances humiques** (nommés SH en chromatographie et FA-like en électrochimie). Dans les systèmes fluviaux, ces composés représentent entre 50 et 60 % du COD exporté vers le milieu côtier. La majeure partie de cette fraction (>60%) est exportée pendant les périodes de crue par le lessivage des sols. Le suivi saisonnier des substances humiques dans l'estuaire de l'Aulne a mis en évidence un comportement conservatif le long du gradient salé. Ce comportement semble associé à leur

nature réfractaire qui les préserve d'une dégradation éventuelle lors du mélange des eaux douces avec les eaux salées.

Quelle que soit la méthode analytique utilisée pour l'analyse des substances humiques, la dynamique de ces composés dans les eaux douces et le long du gradient salé reste similaire. Cependant une différence de concentrations dans les eaux douces est notable entre les substances humiques analysées par électrochimie et par chromatographie. Cette différence peut s'expliquer par le fait que la méthode électrochimique est dépendante de l'étalon choisi.

Les composés de la famille du **thioacétamide** (TA-like) ont, quant à eux, une origine principalement souterraine et sont produits dans les horizons profonds des sols. Ces composés représentent environ 15% du COD exporté dans le milieu côtier. La majeure partie de cette fraction est exportée en automne lors de la remontée des nappes phréatiques. Dans l'estuaire de l'Aulne, ces composés affichent un comportement globalement non conservatif avec d'importantes pertes ($\approx 60\%$) le long du gradient salé. Ces pertes semblent liées à différents processus d'oxydation. En termes de budget annuel, les pertes de TA-like dans l'estuaire ont été compensées lors de notre étude par des apports exceptionnels qui ont été observés pendant la période de crue hivernale.

Dans le cas des composés de la famille de la **glutathione** (GSH-like), nos études menées dans les systèmes fluviaux ont montré une dynamique hebdomadaire et saisonnière très marquée. Cette dynamique semble être contrôlée par deux origines bien distinctes. D'une part ces composés ont une origine terrestre, via le lessivage des sols en périodes de fortes précipitations. D'autre part, ces composés ont une origine aquatique liée à la production primaire pendant la période estivale. Un comportement globalement conservatif a été observé pour ces composés le long du gradient salé. Les faibles pertes ($< 25\%$) observées dans l'estuaire doivent être reliées à son fort pouvoir de complexation vis-à-vis de certains métaux tels que Cu qui limite sa photo-oxydation.

Nos résultats ont également montré, par rapport au système de référence, des flux en FA-like et TA-like plus forts dans les systèmes impactés par les activités agricoles. Les différences de flux entre les bassins agricoles ne semblent pas seulement liées à la pression agricole mais également au type d'élevage. En revanche, dans le cas des composés de type GSH-like, le rôle des activités agricoles est moins évident à identifier. Ces résultats pourraient constituer une première piste dans l'orientation des décisions d'aménagement du territoire.

Enfin, la chromatographie liquide couplée à un détecteur de carbone, d'azote et UV, la LC-OCD-OND-UVD, a été appliquée aux échantillons de l'Aulne. En plus de la mesure du COD, cette méthode a permis de quantifier et de suivre les variations saisonnières de cinq fractions de la MOD à de très faibles concentrations à savoir : les biopolymères (BP), les substances humiques (SH), les building-blocks (BB), les molécules de petits poids moléculaires acides (LMWA) et neutres (LMWN). Nos résultats ont permis d'apporter des informations sur l'origine et la dynamique de ces cinq familles de composés. Les biopolymères sont des composés issus principalement de l'activité biologique aquagénique. En revanche, les SH et les BB, formant la famille des « SH-like », sont apportés principalement par des sources allochtones à la rivière. Les LMWN semblent être des produits de dégradation des BB et des organismes alors que les LMWA semblent plutôt provenir de la dégradation des LMWN. L'étude de la MOD par la chromatographie d'exclusion stérique offre ainsi de nouvelles voies pour la détermination de nouveaux descripteurs chimiques dans les systèmes aquatiques.

Perspectives

De nombreuses perspectives peuvent être envisagées à l'issue de ce travail. Dans un premier temps, des études complémentaires permettront de confirmer et compléter les origines et le cheminement de nos composés organiques. Par exemple, des études dans les sédiments et les eaux souterraines permettront d'identifier les conditions de formation des composés soufrés. Le suivi d'un bloom phytoplanctonique en milieu naturel ou dans des cultures en laboratoire devrait permettre de distinguer les processus biologiques (excrétion, exsudation, lyse, broutage ou stress métallique) à l'origine de la présence de la glutathione dans l'eau. Un suivi plus fin (avec des prélèvements horaires pendant 24h lors d'un épisode de crue par exemple) pourront confirmer la pertinence de nos résultats pour les substances humiques. De plus, des prélèvements à plus haute fréquence devront être menés le long du gradient salé (surface et fond) de l'Aulne et d'un autre estuaire afin de confirmer les facteurs qui contrôlent la synthèse ou la dégradation des composés organiques le long du gradient salé.

Dans un second temps, au travers de l'utilisation de standards internationaux (*International Humic Substances Society*), la DP-CSV permettrait d'identifier l'origine (type de sols), le mode de formation (décomposition de végétaux ou de microorganismes, oxydation naturelle) ou encore le type de SH (acides fulviques/humiques).

D'autre part, l'utilisation de la LC-OCD-OND-UVD, méthode très peu appliquée à l'environnement, dans le système de Saint-Rivoal (système de référence de notre étude) permettrait d'observer l'impact des activités agricoles sur le cycle des différents composés organiques de la fraction dissoute. Par ailleurs, une étude plus approfondie du cycle des composés azotés (nitrates, urée, ammonium) devra permettre une meilleure compréhension du rôle de la production primaire et de la reminéralisation de la matière organique.

Enfin, l'utilisation de la chromatographie sur des échantillons d'un estuaire tempéré sous influence agricole, permettra d'observer l'évolution spatiale et saisonnière des différentes fractions organiques et de quantifier les flux de matière organique et d'azote organique des rivières vers le milieu côtier. Les concentrations d'azote organique, comparés à la littérature, permettront d'examiner si ces composés peuvent conditionner des phénomènes de proliférations d'algues toxiques régulièrement observés dans notre région.

Références bibliographiques

- Abril, G., Etcheber, H., Le Hir, P., Bassoullet, P., Boutier, B. and Frankignoulle, M., 1999.** Oxic/anoxic oscillations and organic carbon mineralization in an estuarine maximum turbidity zone (The Gironde, France). *Limnology and Oceanography*, 44, 5, 1304-1315
- Abril, G., Nogueir, M., Etcheber, H., Cabecadas, G., Lemaitre, E. and Brogueir, M.J., 2002.** Behaviour of Organic Carbon in Nine Contrasting European Estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 54, 241-262
- Ahner, B.A., Wei, L., Oleson, J.R. and Ogura, N., 2002.** Glutathione and other low molecular weight thiols in marine phytoplankton under metal stress. *Marine Ecology Progress Series*, 232, 93-103
- Al-Farawati, R. and van den Berg, C.M.G., 2001.** Thiols in coastal waters of the western North Sea and English Channel. *Environmental Science & Technology*, 35, 10, 1902-1911
- Alberts, J.J. and Takács, M., 1999.** Importance of humic substances for carbon and nitrogen transport into southeastern United States estuaries. *Organic Geochemistry*, 30, 6, 385-395
- Alberts, J.J., Takacs, M. and Schalles, J., 2004.** Ultraviolet-visible and fluorescence spectral evidence of natural organic matter (NOM) changes along an estuarine salinity gradient. *Estuaries*, 27, 2, 296-310
- Allen, G.P., Salomon, J.C., Bassoullet, P., Du Penhoat, Y. and de Grandpré, C., 1980.** Effects of tides on mixing and suspended sediment transport in macrotidal estuaries. *Sedimentary Geology*, 26, 1-3, 69-90
- Álvarez-Salgado, X.A. and Miller, A.E.J., 1999.** Dissolved Organic Carbon in a Large Macrotidal Estuary (the Humber, UK): Behaviour During Estuarine Mixing. *Marine Pollution Bulletin*, 37, 3-7, 216-224
- Aminot, A., El-Sayed, M. and Kerouel, R., 1990.** Fate of natural and anthropogenic dissolved organic carbon in the macrotidal Elorn estuary (France). *Marine Chemistry*, 29, 255-275
- Aminot, A. and Kérouel, R., 2004.** Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses. *IFREMER*, pp. 335
- Anderson, M.A. and Morel, F.M.M., 1982.** The influence of aqueous iron chemistry on the uptake of iron by the coastal diatom *Thalassiosira weissflogii*1. *Limnology and Oceanography*, 27, 5, 789-813
- Aoyama, M. and Kumakura, N., 2001.** Quantitative and qualitative changes of organic matter in an Ando soil induced by mineral fertilizer and cattle manure applications for 20 years. *Soil science and plant nutrition*, 47, 2, 241-252
- Asmala, E., Autio, R., Kaartokallio, H., Pitkänen, L., Stedmon, C. and Thomas, D.N., 2013.** Bioavailability of riverine dissolved organic matter in three Baltic Sea estuaries and the effect of catchment land use. *Biogeosciences*, 10, 11, 6969-6986
- Asmala, E., Bowers, D.G., Autio, R., Kaartokallio, H. and Thomas, D.N., 2014.** Qualitative changes of riverine dissolved organic matter at low salinities due to flocculation. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 119, 10, 1919-1933
- Attard, E., Le Roux, X., Laurent, F., Chabbi, A., Nicolardot, B. and Recous, S., 2011.** Impacts de changements d'occupation et de gestion des sols sur la dynamique des matières organiques, les communautés microbiennes et les flux de carbone et d'azote. *Etude et Gestion des Sols*, 18, 3, 147-160
- Averett, R.C., Leenheer, J.A., McKnight, D.M. and Thorn, K.A., 1994.** Humic substances in the Suwannee River, Georgia; interactions, properties, and proposed structures. *United States Geological Survey Water*,

- Azam, F. and Malfatti, F., 2007.** Microbial structuring of marine ecosystems. *Nature Reviews Microbiology*, 5, 10, 782-791
- Baghoth, S.A., Maeng, S.K., Rodriguez, S.G., Ronteltap, M., Sharma, S., Kennedy, M. and Amy, G.L., 2008.** An urban water cycle perspective of natural organic matter (NOM): NOM in drinking water, wastewater effluent, storm water, and seawater. *Water Science & Technology*, 8, 707-707
- Baghoth, S.A., Sharma, S.K. and Amy, G.L., 2011.** Tracking natural organic matter (NOM) in a drinking water treatment plant using fluorescence excitation-emission matrices and PARAFAC. *Water Research*, 45, 2, 797-809
- Baken, S., Degryse, F., Verheyen, L., Merckx, R. and Smolders, E., 2011.** Metal complexation properties of freshwater dissolved organic matter are explained by its aromaticity and by anthropogenic ligands. *Environmental science & technology*, 45, 7, 2584-2590
- Baker, A., 2001.** Fluorescence excitation-emission matrix characterization of some sewage-impacted rivers. *Environmental Science & Technology*, 35, 5, 948-953
- Baker, A., 2002.** Fluorescence properties of some farm wastes: implications for water quality monitoring. *Water Research*, 36, 1, 189-195
- Barak, P. and Chen, Y.N., 1992.** Equibalent radii of humic macromolecules from acid-base titration *Soil Science*, 154, 3, 184-195
- Bassoullet, P., 1979.** Etude de la dynamique des sédiments en suspension dans l'estuaire de l'Aulne (Rade de Brest). *Ph.D. Thesis, University of Brittany, France*
- Battin, T.J., Kaplan, L.A., Findlay, S., Hopkinson, C.S., Marti, E., Packman, A.I., Newbold, J.D. and Sabater, F., 2008.** Biophysical controls on organic carbon fluxes in fluvial networks. *Nature Geoscience*, 1, 2, 95-100
- Bauer, J.E. and Bianchi, T.S., 2011.** 5.02 Dissolved Organic Carbon Cycling and Transformation. *Treatise on Estuarine and Coastal Science*, 5, 7-67
- 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, 7478, 61-70
- Benner, R., 2002.** Chemical composition and reactivity. In: Hansell DA, Carlson CA (eds) Biogeochemistry of marine dissolved organic matter. *Academic Press, Amsterdam*, pp. 59-90
- Benner, R. and Biddanda, B., 1998.** Photochemical transformations of surface and deep marine dissolved organic matter: Effects on bacterial growth. *Limnology and Oceanography*, 43, 6, 1373-1378
- Benner, R. and Opsahl, S., 2001.** Molecular indicators of the sources and transformations of dissolved organic matter in the Mississippi river plume. *Organic Geochemistry*, 32, 4, 597-611
- Benoit, J.M., Mason, R.P., Gilmour, C.C. and Aiken, G.R., 2001.** Constants for mercury binding by dissolved organic matter isolates from the Florida Everglades. *Geochimica et cosmochimica acta*, 65, 24, 4445-4451
- Bernal, M.P., Alburquerque, J.A. and Moral, R., 2009.** Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review. *Bioresource Technology*, 100, 22, 5444-5453
- Bernoux, M., Chenu, C., Blanchart, E., Eglin, T., Bispo, A., Bardy, M. and King, D., 2011.** Le programme GESSOL 2: Impact des pratiques agricoles sur les matières organiques et les fonctions des sols. *Etude et Gestion des sols*, 18, 3, 137-145
- Bianchi, T.S., 2011.** The role of terrestrially derived organic carbon in the coastal ocean: A changing paradigm and the priming effect. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108, 49, 19473-19481

- Biomasse Normandie, 2002.** Evaluation des quantités actuelles et futures de déchets épandus sur les sols agricoles et provenant de certaines activités-Lot 3- effluents d'élevage. Available at: <<http://www.biomasse-normandie.org/IMG/pdf/rapport.pdf>> pp. 57
- Birck, J.L., 2001.** The precision and sensitivity of thermal ionisation mass spectrometry (TIMS): An overview of the present status. *Geostandards Newsletter*, 25, 2-3, 253-259
- Blasioli, S., Braschi, I., Pinna, M.V., Pusino, A. and Gessa, C.E., 2008.** Effect of undesalted dissolved organic matter from composts on persistence, adsorption, and mobility of cyhalofop herbicide in soils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56, 11, 4102-4111
- Böhlke, J.K., 2002.** Groundwater recharge and agricultural contamination. *Hydrogeology Journal*, 10, 1, 153-179
- Bol, R., Eriksen, J., Smith, P., Garnett, M.H., Coleman, K. and Christensen, B.T., 2005.** The natural abundance of ^{13}C , ^{15}N , ^{34}S and ^{14}C in archived (1923–2000) plant and soil samples from the Askov long-term experiments on animal manure and mineral fertilizer. *Rapid Communications in mass spectrometry*, 19, 22, 3216-3226
- Boyle, E., Collier, R., Dengler, A.T., Edmond, J.M., Ng, A.C. and Stallard, R.F., 1974.** On the chemical mass-balance in estuaries. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 38, 11, 1719-1728
- Brenon, I. and Le Hir, P., 1999.** Modelling the turbidity maximum in the Seine estuary (France): identification of formation processes. *Estuarine, Coastal and Shelf science*, 49, 4, 525-544
- BRGM, 2008.** SILURES Bretagne (Système d'Information pour la Localisation et l'Utilisation des Ressources en Eaux Souterraines). Available at: <<http://infoterre.brgm.fr/rapports/RP-56457-FR.pdf>>, pp. 129
- Bricaud, A., Morel, A. and Prieur, L., 1981.** Absorption by dissolved organic matter of the sea (yellow substance) in the UV and visible domains. *Limnology and Oceanography*, 26, 1, 43-53
- Brinkmann, T., Horsch, P., Sartorius, D. and Frimmel, F.H., 2003.** Photoformation of low-molecular-weight organic acids from brown water dissolved organic matter. *Environmental Science & Technology*, 37, 18, 4190-4198
- Bruns, I., Sutter, K., Menge, S., Neumann, D. and Krauss, G.J., 2001.** Cadmium lets increase the glutathione pool in bryophytes. *Journal of Plant Physiology*, 158, 1, 79-89
- Buffle, J., 1988.** Complexation reactions in aquatic systems. An analytic approach. *John Wiley and Sons, New York*, pp. 692
- Cai, W.J., 2011.** Estuarine and coastal ocean carbon paradox: CO_2 sinks or sites of terrestrial carbon incineration? *Annual Review of Marine Science*, 3, 123-145
- Canuel, E.A., Cammer, S.S., McIntosh, H.A. and Pondell, C.R., 2012.** Climate change impacts on the organic carbon cycle at the land-ocean interface. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 40, 685-711
- Canuel, E.A., Cloern, J.E., Ringelberg, D.B., Guckert, J.B. and Rau, G.H., 1995.** Molecular and isotopic tracers used to examine sources of organic matter and its incorporation into the food webs of San Francisco Bay. *Limnology and Oceanography*, 40, 1, 67-81
- Chanudet, V. and Filella, M., 2007.** Submicron organic matter in a peri-alpine, ultra-oligotrophic lake. *Organic Geochemistry*, 38, 7, 1146-1160
- Chanudet, V., Filella, M. and Quantel, F., 2006.** Application of a simple voltammetric method to the determination of refractory organic substances in freshwaters. *Analytica Chimica Acta*, 569, 1, 244-249

- Chapman, C.S., Capodaglio, G., Turetta, C. and van den Berg, C.M.G., 2009.** Benthic fluxes of copper, complexing ligands and thiol compounds in shallow lagoon waters. *Marine Environmental Research*, 67, 1, 17-24
- Chen, M., He, W., Choi, I. and Hur, J., 2015.** Tracking the monthly changes of dissolved organic matter composition in a newly constructed reservoir and its tributaries during the initial impounding period. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-10
- Chin-Leo, G. and Benner, R., 1992.** Enhanced bacterioplankton production and respiration at intermediate salinities in the Mississippi River plume. *Marine Ecology Progress Series*, 87, 87-103
- Chin, W.C., Orellana, M.V., Quesada, I. and Verdugo, P., 2004.** Secretion in unicellular marine phytoplankton: demonstration of regulated exocytosis in *Phaeocystis globosa*. *Plant and cell physiology*, 45, 5, 535-542
- Christensen, J.B., Tipping, E., Kinniburgh, D.G., Grøn, C. and Christensen, T.H., 1998.** Proton binding by groundwater fulvic acids of different age, origins, and structure modeled with the model V and NICA-Donnan model. *Environmental science & technology*, 32, 21, 3346-3355
- Cozzarelli, I.M., Baedecker, M.J., Eganhouse, R.P. and Goerlitz, D.F., 1994.** The geochemical evolution of low-molecular-weight organic acids derived from the degradation of petroleum contaminants in groundwater. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 58, 2, 863-877
- Cronan, C.S., Piampiano, J.T. and Patterson, H.H., 1999.** Influence of land use and hydrology on exports of carbon and nitrogen in a Maine river basin. *Journal of Environmental Quality*, 28, 3, 953-961
- Croué, J.P., 2004.** Isolation of humic and non-humic NOM fractions: structural characterization. *Environmental monitoring and assessment*, 92, 1-3, 193-207
- Croué, J.P., Benedetti, M., Violleau, D. and Leenheer, J.A., 2003.** Characterization and Copper Binding of Humic and Nonhumic Organic Matter Isolated from the South Platte River: Evidence for the Presence of Nitrogenous Binding Site. *Environmental Science & Technologie*, 37, 328-336
- Dalzell, B.J., Filley, T.R. and Harbor, J.M., 2007.** The role of hydrology in annual organic carbon loads and terrestrial organic matter export from a midwestern agricultural watershed. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 71, 6, 1448-1462
- Del Vecchio, R. and Blough, N.V., 2002.** Photobleaching of chromophoric dissolved organic matter in natural waters: kinetics and modeling. *Marine Chemistry*, 78, 4, 231-253
- Dittmar, T. and Kattner, G., 2003.** Recalcitrant dissolved organic matter in the ocean: major contribution of small amphiphilics. *Marine Chemistry*, 82, 1-2, 115-123
- Donderski, W., Mudryk, Z. and Walczak, M., 1998.** Utilization of low molecular weight organic compounds by marine neustonic and planktonic bacteria. *Polish Journal of Environmental Studies*, 7, 279-284
- Dryden, C.L., Gordon, A.S. and Donat, J.R., 2007.** Seasonal survey of copper-complexing ligands and thiol compounds in a heavily utilized, urban estuary: Elizabeth River, Virginia. *Marine Chemistry*, 103, 3-4, 276-288
- Dupont, C.L., Goepfert, T.J., Lo, P., Wei, L. and Ahner, B.A., 2004.** Diurnal cycling of glutathione in marine phytoplankton: Field and culture studies. *Limnology and Oceanography*, 49, 991-996
- Dupont, C.L. and Ahner, B.A., 2005.** Effects of copper, cadmium, and zinc on the production and exudation of thiols by *Emiliania huxleyi*. *Limnology and Oceanography*, 50, 2, 508-515

- Dupont, C.L., Moffett, J.W., Bidigare, R.R. and Ahner, B.A., 2006.** Distributions of dissolved and particulate biogenic thiols in the subarctic Pacific Ocean. *Deep Sea Research Part I*, 53, 12, 1961-1974
- Edmeades, D.C., 2003.** The long-term effects of manures and fertilisers on soil productivity and quality: a review. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 66, 2, 165-180
- Eghball, B., 1999.** Liming effects of beef cattle feedlot manure or compost. *Communications in Soil Science & Plant Analysis*, 30, 19-20, 2563-2570
- Elliott, M. and McLusky, D.S., 2002.** The need for definitions in understanding estuaries. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 55, 6, 815-827
- Ertel, J.R., Hedges, J.I., Devol, A.H. and Richey, J.E., 1986.** Dissolved humic substances of the Amazon River system. *Limnology and Oceanography*, 31, 4, 739-754
- Filella, M., 2009.** Freshwaters: which NOM matters? *Environmental Chemistry Letters*, 7, 1, 21-35
- Filella, M., 2014.** Understanding what we are measuring: Standards and quantification of natural organic matter. *Water Research*, 50, 287-293
- Filella, M., Quentel, F., Pernet-Coudrier, B. and Varrault, G., 2009.** Application of a refractory organic matter quantification method to wastewater effluents. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry*, 89, 8-12, 799-807
- Filella, M., Rodríguez-Murillo, J.C. and Quentel, F., 2013.** Natural organic matter quantification in the waters of a semiarid freshwater wetland (Tablas de Daimiel, Spain). *Journal of Environmental Sciences*, 25, 1, 114-123
- Filoso, S., Martinelli, L.A., Williams, M.R., Lara, L.B., Krusche, A., Ballester, M.V., Victoria, R. and De Camargo, P.B., 2003.** Land use and nitrogen export in the Piracicaba River basin, Southeast Brazil. *Biogeochemistry*, 65, 3, 275-294
- Foley, J.A., DeFries, R., Asner, G.P., Barford, C., Bonan, G., Carpenter, S.R., Chapin, F.S., Coe, M.T., Daily, G.C. and Gibbs, H.K., 2005.** Global consequences of land use. *science*, 309, 5734, 570-574
- Forbes, V.E., Palmqvist, A. and Bach, L., 2006.** The use and misuse of biomarkers in ecotoxicology. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25, 1, 272-280
- Garnier, C., Mounier, S. and Benaïm, J.Y., 2004.** Influence of dissolved organic carbon content on modelling natural organic matter acid-base properties. *Water research*, 38, 17, 3685-3692
- Gascuel-Oudou, C., Arousseau, P., Durand, P., Ruiz, L. and Molenat, J., 2010.** The role of climate on inter-annual variation in stream nitrate fluxes and concentrations. *Science of the total environment*, 408, 23, 5657-5666
- Goni, M.A., Teixeira, M.J. and Perkey, D.W., 2003.** Sources and distribution of organic matter in a river-dominated estuary (Winyah Bay, SC, USA). *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 57, 5-6, 1023-1048
- Graeber, D., Boechat, I. G., Encina-Montoya, F., Esse, C., Gelbrecht, J., Goyenola, G., Gucker, B., Heinz, M., Kronvang, B., Meerhoff, M., Nimptsch, J., Pusch, M.T., Silva, R.C.S., von Schiller, D. and Zwirnmann, E., 2015.** Global effects of agriculture on fluvial dissolved organic matter. *Scientific Report*, 5, 16328
- Graeber, D., Gelbrecht, J., Pusch, M.T., Anlanger, C. and von Schiller, D., 2012.** Agriculture has changed the amount and composition of dissolved organic matter in Central European headwater streams. *Science of the Total Environment*, 438, 435-446
- Greenwood, P.F., Berwick, L.J. and Croue, J.P., 2012.** Molecular characterisation of the dissolved organic matter of wastewater effluents by MSSV pyrolysis GC-MS and search for source markers. *Chemosphere*, 87, 5, 504-512

- Han, S., Gill, G.A., Lehman, R.D. and Choe, K.Y., 2006.** Complexation of mercury by dissolved organic matter in surface waters of Galveston Bay, Texas. *Marine Chemistry*, 98, 2, 156-166
- Hansell, D.A. and Carlson, C.A., 2002.** Biogeochemistry of marine dissolved organic matter. *Academic Press, London*, pp. 283
- Harvey, H.R. and Mannino, A., 2001.** The chemical composition and cycling of particulate and macromolecular dissolved organic matter in temperate estuaries as revealed by molecular organic tracers. *Organic Geochemistry*, 32, 4, 527-542
- He, W., Choi, I., Lee, J.J. and Hur, J., 2016.** Coupling effects of abiotic and biotic factors on molecular composition of dissolved organic matter in a freshwater wetland. *Science of The Total Environment*, 544, 525-534
- Hedges, J.I., Keil, R.G. and Benner, R., 1997.** What happens to terrestrial organic matter in the ocean? *Organic geochemistry*, 27, 5, 195-212
- Heinz, M., Graeber, D., Zak, D., Zwirnmann, E., Gelbrecht, J. and Pusch, M.T., 2015.** Comparison of Organic Matter Composition in Agricultural versus Forest Affected Headwaters with Special Emphasis on Organic Nitrogen. *Environmental Science & Technology*, 49, 4, 2081-2090
- Hejzlar, J., Szpakowska, B. and Wershaw, R.L., 1994.** Comparison of humic substances isolated from peatbog water by sorption on daea cellulose and amberlite XAD-2. *Water Research*, 28, 9, 1961-1970
- Herman, P.M.J. and Heip, C.H.R., 1999.** Biogeochemistry of the MAXimum TURbidity Zone of Estuaries (MATURE): some conclusions. *Journal of Marine Systems*, 22, 2, 89-104
- 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. *Journal of Geophysical Research*, 108, C9, 3291
- Hirose, K., 2007.** Metal-organic matter interaction: Ecological roles of ligands in oceanic DOM. *Applied Geochemistry*, 22, 8, 1636-1645
- Ho, J.S., Ma, Z., Qin, J., Sim, Si.H. and Toh, C.S., 2015.** Inline coagulation–ultrafiltration as the pretreatment for reverse osmosis brine treatment and recovery. *Desalination*, 365, 242-249
- Hsu, J.H. and Lo, S.L., 1999.** Chemical and spectroscopic analysis of organic matter transformations during composting of pig manure. *Environmental Pollution*, 104, 189-193
- Huber, S.A., Balz, A., Abert, M. and Pronk, W., 2011.** Characterisation of aquatic humic and non-humic matter with size-exclusion chromatography – organic carbon detection – organic nitrogen detection (LC-OCD-OND). *Water Research*, 45, 2, 879-885
- Huber, S.A. and Frimmel, F.H., 1994.** Direct gel chromatographic characterization and quantification of marine dissolved organic carbon using high-sensitivity DOC detection. *Environmental Science & Technology*, 28, 6, 1194-1197
- Jacob, C., Giles, G.I., Giles, N.M. and Sies, H., 2003.** Sulfur and selenium: the role of oxidation state in protein structure and function. *Angewandte Chemie International Edition*, 42, 39, 4742-4758
- Juckers, M., Williams, C.J. and Xenopoulos, M.A., 2013.** Land-use effects on resource net flux rates and oxygen demand in stream sediments. *Freshwater Biology*, 58, 7, 1405-1415
- Kalscheur, K.N., Penskar, R.R., Daley, A.D., Pechauer, S.M., Kelly, J.J., Peterson, C.G. and Gray, K.A., 2012.** Effects of anthropogenic inputs on the organic quality of urbanized streams. *Water Research*, 46, 8, 2515-2524

- Kashem, M.A. and Singh, B.R., 2001.** Metal availability in contaminated soils: I. Effects of flooding and organic matter on changes in Eh, pH and solubility of Cd, Ni and Zn. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 61, 3, 247-255
- Kawakami, S.K., Gledhill, M. and Achterberg, E.P., 2006.** Production of phytochelatin and glutathione by marine phytoplankton in response to metal stress. *Journal of phycology*, 42, 5, 975-989
- Kieber, R.J., Zhou, X. and Mopper, K., 1990.** Formation of carbonyl compounds from UV-induced photodegradation of humic substances in natural waters: Fate of riverine carbon in the sea. *Limnology and Oceanography*, 35, 7, 1503-1515
- Kirchmann, H. and Witter, E., 1992.** Composition of fresh, aerobic and anaerobic farm animal dung. *Bioresource Technology*, 40, 2, 137-142
- Köhler, H., Meon, B., Gordeev, V.V., Spitzky, A. and Amon, R.M.W., 2003.** Dissolved organic matter (DOM) in the estuaries of Ob and Yenisei and the adjacent Kara Sea, Russia. *Proceedings in Marine Science*, 6, 281-310
- Kukkonen, J. and Oikari, A., 1991.** Bioavailability of organic pollutants in boreal waters with varying levels of dissolved organic material. *Water Research*, 25, 4, 455-463
- Laglera, L.M., Battaglia, G. and van den Berg, C.M.G., 2011.** Effect of humic substances on the iron speciation in natural waters by CLE/CSV. *Marine Chemistry*, 127, 1-4, 134-143
- Laglera, L.M. and Tovar-Sanchez, A., 2012.** Direct recognition and quantification by voltammetry of thiol/thioamide mixes in seawater. *Talanta*, 89, 496-504
- Laglera, L.M. and van den Berg, C.M.G., 2003.** Copper complexation by thiol compounds in estuarine waters. *Marine Chemistry*, 82, 1-2, 71-89
- Laglera, L.M. and van den Berg, C.M.G., 2006.** Photochemical oxidation of thiols and copper complexing ligands in estuarine waters. *Marine Chemistry*, 101, 1, 130-140
- Lanoux, A., Etcheber, H., Schmidt, S., Sottolichio, A., Chabaud, G., Richard, M. and Abril, G., 2013.** Factors contributing to hypoxia in a highly turbid, macrotidal estuary (the Gironde, France). *Environmental Science: Processes & Impacts*, 15, 3, 585-595
- Laureillard, J. and Saliot, A., 1993.** Biomarkers in organic matter produced in estuaries- A case study of the Krka estuary (Adriatic sea) using the sterol marker series. *Marine Chemistry*, 43, 1-4, 247-261
- Le Gall, A.C. and van den Berg, C.M.G., 1993.** Cathodic stripping voltammetry of glutathione in natural waters. *Analyst*, 118, 11, 1411-1415
- Leal, M.F.C. and van den Berg, C.M.G., 1998.** Evidence for strong copper (I) complexation by organic ligands in seawater. *Aquatic Geochemistry*, 4, 1, 49-75
- Leenheer, J.A. and Croue, J.P., 2003.** Characterizing aquatic dissolved organic matter. *Environmental Science & Technology*, 37, 1, 18A-26A
- Lehtonen, T., Peuravuori, J. and Pihlaja, K., 2000.** Characterisation of lake-aquatic humic matter isolated with two different sorbing solid techniques: tetramethylammonium hydroxide treatment and pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 424, 1, 91-103
- Levasseur, P. and Texier, C., 2001.** Teneurs en éléments-trace métalliques des aliments et des lisiers de porcs à l'engrais, de truies et de porcelets. *Journées de la recherche porcine en France*, 33, 57-62
- Li, A., Hu, J., Li, W., Zhang, W. and Wang, X., 2009.** Polarity based fractionation of fulvic acids. *Chemosphere*, 77, 10, 1419-1426
- Liu, S., Lim, M., Fabris, R., Chow, C.W.K., Drikas, M., Korshin, G. and Amal, R., 2010.** Multi-wavelength spectroscopic and chromatography study on the photocatalytic oxidation of natural organic matter. *Water research*, 44, 8, 2525-2532

- Lorenz, S.E., Cai, W.J., Chen, F., Chen, X. and Tuel, M., 2010.** Seasonal variability in air-sea fluxes of CO₂ in a river-influenced coastal margin. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 115, 1-13
- Louis, Y., Garnier, C., Lenoble, V., Omanović, D., Mounier, S. and Pižeta, I., 2009.** Characterisation and modelling of marine dissolved organic matter interactions with major and trace cations. *Marine environmental research*, 67, 2, 100-107
- Louis, Y., Pernet-Coudrier, B. and Varrault, G., 2014.** Implications of effluent organic matter and its hydrophilic fraction on zinc (II) complexation in rivers under strong urban pressure: Aromaticity as an inaccurate indicator of DOM–metal binding. *Science of the Total Environment*, 490, 830-837
- Ma, H.Z., Allen, H.E. and Yin, Y.J., 2001.** Characterization of isolated fractions of dissolved organic matter from natural waters and a wastewater effluent. *Water Research*, 35, 4, 985-996
- Maie, N., Sekiguchi, S., Watanabe, A., Tsutsuki, K., Yamashita, Y., Melling, L., Cawley, K. M., Shima, E. and Jaffe, R., 2014.** Dissolved organic matter dynamics in the oligo/meso-haline zone of wetland-influenced coastal rivers. *Journal of Sea Research*, 91, 58-69
- Malcolm, R.L., 1990.** The uniqueness of humic substances in each of soil, stream and marine environments. *Analytica Chimica Acta*, 232, 19-30
- Mantoura, R.F.C. and Woodward, E.M.S., 1983.** Conservative behaviour of riverine dissolved organic carbon in the Severn Estuary: chemical and geochemical implications. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 47, 7, 1293-1309
- Mao, J.D., Tremblay, L., Gagné, J.P., Kohl, S., Rice, J. and Schmidt-Rohr, K., 2007.** Humic acids from particulate organic matter in the Saguenay Fjord and the St. Lawrence Estuary investigated by advanced solid-state NMR. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 71, 22, 5483-5499
- Marie, L., Pernet-Coudrier, B., Waeles, M., Gabon, M. and Riso, R., 2015.** Dynamics and sources of reduced sulfur, humic substances and dissolved organic carbon in a temperate river system affected by agricultural practices. *Science of the Total Environment*, 537, 23-32
- Markager, S., Stedmon, C.A. and Sondergaard, M., 2011.** Seasonal dynamics and conservative mixing of dissolved organic matter in the temperate eutrophic estuary Horsens Fjord. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 92, 3, 376-388
- Matilainen, A., Gjessing, E. T., Lahtinen, T., Hed, L., Bhatnagar, A. and Sillanpää, M., 2011.** An overview of the methods used in the characterisation of natural organic matter (NOM) in relation to drinking water treatment. *Chemosphere*, 83, 11, 1431-1442
- Maurice, L., 1994.** Biodégradabilité de la matière organique dans le bouchon vaseux et la crème de vase de l'estuaire de la Loire. *Oceanologica Acta*, 17, 5, 501-516
- McDonald, S., Bishop, A.G., Prenzler, P.D. and Robards, K., 2004.** Analytical chemistry of freshwater humic substances. *Analytica Chimica Acta*, 527, 2, 105-124
- McKenna, J.H., 2004.** DOC dynamics in a small temperate estuary: simultaneous addition and removal processes and implications on observed nonconservative behavior. *Estuaries*, 27, 4, 604-616
- McKnight, D., 1981.** Chemical and biological processes controlling the response of a freshwater ecosystem to copper stress: A field study of the CuSO₄ treatment of Mill Pond Reservoir, Burlington, Massachusetts. *Limnology and Oceanography*, 26, 3, 518-531
- Ménesguen, A., 2003.** Les " marées vertes " en Bretagne, la responsabilité du nitrate. *Ifremer*

- Meng, F.G., Huang, G.C., Yang, X., Li, Z.Q., Li, J., Cao, J., Wang, Z.G. and Sun, L., 2013.** Identifying the sources and fate of anthropogenically impacted dissolved organic matter (DOM) in urbanized rivers. *Water Research*, 47, 14, 5027-5039
- Middelburg, J.J. and Herman, P.M.J., 2007.** Organic matter processing in tidal estuaries. *Marine Chemistry*, 106, 1, 127-147
- Miller, W.L. and Moran, M.A., 1997.** Interaction of photochemical and microbial processes in the degradation of refractory dissolved organic matter from a coastal marine environment. *Limnology and Oceanography*, 42, 6, 1317-1324
- Moatar, F. and Meybeck, M., 2005.** Compared performances of different algorithms for estimating annual nutrient loads discharged by the eutrophic River Loire. *Hydrological Processes*, 19, 2, 429-444
- Moingt, M., Bressac, M., Bélanger, D. and Amyot, M., 2010.** Role of ultra-violet radiation, mercury and copper on the stability of dissolved glutathione in natural and artificial freshwater and saltwater. *Chemosphere*, 80, 11, 1314-1320
- Molénat, J., Durand, P., Gascuel-Oudou, C., Davy, P. and Gruau, G., 2002.** Mechanisms of nitrate transfer from soil to stream in an agricultural watershed of French Brittany. *Water, air, and soil pollution*, 133, 1-4, 161-183
- Molenat, J. and Gascuel-Oudou, C., 2001.** Role of shallow groundwater in nitrate and herbicide transport in the Kervidy agricultural catchment (Brittany, France). *IAHS Publication* 347-352
- Monterroso-Marco, B. and López-Ruiz, B., 2003.** pH effect on cysteine and cystine behaviour at hanging mercury drop electrode. *Talanta*, 61, 5, 733-741
- Moral, R., Moreno-Caselles, J., Perez-Murcia, M.D., Perez-Espinosa, A., Rufete, B. and Paredes, C., 2005.** Characterisation of the organic matter pool in manures. *Bioresource Technology*, 96, 2, 153-158
- Moran, M.A., Sheldon, W.M and Sheldon, J.E., 1999.** Biodegradation of riverine dissolved organic carbon in five estuaries of the southeastern United States. *Estuaries*, 22, 1, 55-64
- Mostofa, K.M.G., Wu, F.C., Liu, C.Q., Fang, W.L., Yuan, J., Ying, W.L., Wen, L. and Yi, M., 2010.** Characterization of Nanming River (southwestern China) sewerage-impacted pollution using an excitation-emission matrix and PARAFAC. *Limnology*, 11, 3, 217-231
- Mounier, S., Benedetti, M., Benaim, J.Y. and Boulegue, J., 2002.** Organic matter size and dynamics in the Amazon river. *The ecohydrology of South American Rivers and wetlands*, 6, 25-35
- Mounier, S., Patel, N., Quilici, L., Benaim, J.Y. and Benamou, C., 1999.** Fluorescence 3D de la matière organique dissoute du fleuve amazon:(Three-dimensional fluorescence of the dissolved organic carbon in the Amazon river). *Water Research*, 33, 6, 1523-1533
- Mounier, S., Zhao, H., Garnier, C. and Redon, R., 2011.** Copper complexing properties of dissolved organic matter: PARAFAC treatment of fluorescence quenching. *Biogeochemistry*, 106, 1, 107-116
- Muresan, B., Pernet-Coudrier, B., Cossa, D. and Varrault, G., 2011.** Measurement and modeling of mercury complexation by dissolved organic matter isolates from freshwater and effluents of a major wastewater treatment plant. *Applied Geochemistry*, 26, 12, 2057-2063
- Murray, H., Meunier, G., Stengel, D.B. and Cave, R., 2014.** Metal complexation by organic ligands (L) in near-pristine estuarine waters: evidence for the identity of L. *Environmental Chemistry*, 11, 2, 89-99

- Myklestad, S.M., 2000.** Dissolved organic carbon from phytoplankton in The handbook of Environmental Chemistry (5), P. Wangersky, Springer, Berlin, 111-148
- Naden, P.S., Old, G.H., Eliot-Laize, C., Granger, S.J., Hawkins, J.M.B., Bol, R. and Haygarth, P., 2010.** Assessment of natural fluorescence as a tracer of diffuse agricultural pollution from slurry spreading on intensely-farmed grasslands. *Water research*, 44, 6, 1701-1712
- Nagao, S., Matsunaga, T., Suzuki, Y., Ueno, T. and Amano, H., 2003.** Characteristics of humic substances in the Kuji River waters as determined by high-performance size exclusion chromatography with fluorescence detection. *Water Research*, 37, 17, 4159-4170
- Nagorski, S.A., Moore, J.N., McKinnon, T.E. and Smith, D.B., 2003.** Geochemical response to variable streamflow conditions in contaminated and uncontaminated streams. *Water Resources Research*, 39, 2, 1-13
- Nam, S. and Amy, G., 2008.** Differentiation of wastewater effluent organic matter (EfOM) from natural organic matter (NOM) using multiple analytical techniques. *Water Science and Technology*, 57, 3173-3181
- Négre, P., Casanova, J. and Aranyosy, J.F., 2001.** Strontium isotope systematics used to decipher the origin of groundwaters sampled from granitoids: the Vienne Case (France). *Chemical Geology*, 177, 3, 287-308
- Négre, P. and Pauwels, H., 2004.** Interaction between different groundwaters in Brittany catchments (France): characterizing multiple sources through strontium-and sulphur isotope tracing. *Water, air, and soil pollution*, 151, 1-4, 261-285
- Neveux, J., 1976.** Fluorimetric determination of chlorophyll-a and phaeophytin-a. *Annales de l'Institut Oceanographique*, 52, 2, 165-174
- Oeurng, C., Sauvage, S., Coynel, A., Maneux, E., Etcheber, H. and Sánchez-Pérez, J.M., 2011.** Fluvial transport of suspended sediment and organic carbon during flood events in a large agricultural catchment in southwest France. *Hydrological Processes*, 25, 15, 2365-2378
- Officer, C.B., 1979.** Discussion of the behaviour of nonconservative dissolved constituents in estuaries. *Estuarine and Coastal Marine Science*, 9, 1, 91-94
- Ogawa, H. and Tanoue, E., 2003.** Dissolved organic matter in oceanic waters. *Journal of Oceanography*, 59, 2, 129-147
- Ogle, S.M., Breidt, F.J. and Paustian, K., 2005.** Agricultural management impacts on soil organic carbon storage under moist and dry climatic conditions of temperate and tropical regions. *Biogeochemistry*, 72, 1, 87-121
- Ogura, N., 1974.** Molecular weight fractionation of dissolved organic matter in coastal seawater by ultrafiltration. *Marine Biology*, 24, 4, 305-312
- Ohno, T., Chorover, J., Omoike, A. and Hunt, J., 2007.** Molecular weight and humification index as predictors of adsorption for plant-and manure-derived dissolved organic matter to goethite. *European journal of soil science*, 58, 1, 125-132
- Para, J., Coble, P.G., Charriere, B., Tedetti, M., Fontana, C. and Sempere, R., 2010.** Fluorescence and absorption properties of chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in coastal surface waters of the northwestern Mediterranean Sea, influence of the Rhone River. *Biogeosciences*, 7, 12, 4083-4103
- Parlanti, E., Worz, 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. *Organic Geochemistry*, 31, 12, 1765-1781
- Pellerin, B.A., Kaushal, S.S. and McDowell, W.H., 2006.** Does anthropogenic nitrogen enrichment increase organic nitrogen concentrations in runoff from forested and human-dominated watersheds? *Ecosystems*, 9, 5, 852-864

- Peña-Méndez, E.M., Havel, J. and Patočka, J., 2005.** Humic substances—compounds of still unknown structure: applications in agriculture, industry, environment, and biomedicine. *J. Appl. Biomed*, 3, 1, 13-24
- Penru, Y., Simon, F.X., Guastalli, A.R., Esplugas, S., Llorens, J. and Baig, S., 2013.** Characterization of natural organic matter from Mediterranean coastal seawater. *Journal of Water Supply*, 62, 1, 42-51
- Perdue, E.M. and Koprivnjak, J.F., 2007.** Using the C/N ratio to estimate terrigenous inputs of organic matter to aquatic environments. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 73, 1, 65-72
- Perdue, E.M. and Ritchie, J.D., 2003.** Dissolved organic matter in freshwaters. *Elsevier*, pp. 273-318
- Perillo, G.M.E., 1995.** Definitions and geomorphologic classifications of estuaries. *Elsevier, London*, pp. 17-47
- Pernet-Coudrier, B., Clouzot, L., Varrault, G., Tusseau-Vuillemin, M.H., Verger, A. and Mouchel, J.M., 2008.** Dissolved organic matter from treated effluent of a major wastewater treatment plant: Characterization and influence on copper toxicity. *Chemosphere*, 73, 4, 593-599
- Pernet-Coudrier, B., Companys, E., Galceran, J., Morey, M., Mouchel, J.M., Puy, J., Ruiz, N. and Varrault, G., 2011a.** Pb-binding to various dissolved organic matter in urban aquatic systems: Key role of the most hydrophilic fraction. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 75, 14, 4005-4019
- Pernet-Coudrier, B., Varrault, G., Saad, M., Croue, J.P., Dignac, M.F. and Mouchel, J.M., 2011b.** Characterisation of dissolved organic matter in Parisian urban aquatic systems: predominance of hydrophilic and proteinaceous structures. *Biogeochemistry*, 106, 1, 89-106
- Pernet-Coudrier, B., Waeles, M., Filella, M., Quentel, F. and Riso, D.R., 2013.** Simple and simultaneous determination of glutathione, thioacetamide and refractory organic matter in natural waters by DP-CSV. *Science of the Total Environment*, 463-464, 0, 997-1005
- Petrone, K.C., Fellman, J.B., Hood, E., Donn, M.J. and Grierson, P.F., 2011.** The origin and function of dissolved organic matter in agro-urban coastal streams. *Journal of Geophysical Research-Biogeosciences*, 116, 1-13
- Pettersson, C., Allard, B. and Boren, H., 1997.** River discharge of humic substances and humic-bound metals to the Gulf of Bothnia. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 44, 5, 533-541
- Peuravuori, J., 2005.** NMR spectroscopy study of freshwater humic material in light of supramolecular assembly. *Environmental Science & Technology*, 39, 15, 5541-5549
- Peuravuori, J., Lehtonen, T. and Pihlaja, K., 2002.** Sorption of aquatic humic matter by DAX-8 and XAD-8 resins: Comparative study using pyrolysis gas chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 471, 2, 219-226
- Peuravuori, J., Paaso, N. and Pihlaja, K., 1999.** Characterization of lake-aquatic humic matter isolated with two different sorbing solid techniques: pyrolysis electron impact mass spectrometry. *Analytica chimica acta*, 391, 3, 331-344
- Piccolo, A., 2002.** The supramolecular structure of humic substances: a novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. *Advances in Agronomy*, 75, 57-134
- Plaza, C., Hernandez, D., Garcia-Gil, J.C. and Polo, A., 2004.** Microbial activity in pig slurry-amended soils under semiarid conditions. *Soil Biology and Biochemistry*, 36, 10, 1577-1585

- Pompe, S., Heise, K.H. and Nitsche, H., 1996.** Capillary electrophoresis for a “finger-print” characterization of fulvic and humic acids. *Journal of Chromatography A*, 723, 1, 215-218
- Quentel, F., 1992.** Synergic effect of fulvic acids on the differential pulse adsorptive voltammetry of the Mo(VI)-Phenanthroline complex. *Electroanalysis*, 4, 707-711
- Quentel, F., Madec, C. and Courtot-Coupez, J., 1985.** Influence de la matière organique des milieux naturels sur la redissolution cathodique à l'électrode à goutte pendante de mercure. *Analytical Letters* 18, 12, 1493-1506
- R Development Core Team, 2013.** R: A language and environment for statistical computing.
- Ravichandran, M., 2004.** Interactions between mercury and dissolved organic matter—a review. *Chemosphere*, 55, 3, 319-331
- Raymond, P.A. and Bauer, J.E., 2000.** Bacterial consumption of DOC during transport through a temperate estuary. *Aquatic Microbial Ecology*, 22, 1, 1-12
- Renjith, K.R., Joseph, M.M., Ghosh, P., Rahman, K.H., Kumar, C.S R. and Chandramohanakumar, N., 2013.** Biogeochemical facsimile of the organic matter quality and trophic status of a micro-tidal tropical estuary. *Environmental Earth Sciences*, 70, 2, 729-742
- Rice, J.A. and MacCarthy, P., 1991.** Statistical evaluation of the elemental composition of humic substances. *Organic Geochemistry*, 17, 5, 635-648
- Richards, B.K., Steenhuis, T.S., Peverly, J.H. and McBride, M.B., 2000.** Effect of sludge-processing mode, soil texture and soil pH on metal mobility in undisturbed soil columns under accelerated loading. *Environmental Pollution*, 109, 2, 327-346
- Rochelle-Newall, E.J. and Fisher, T.R., 2002.** Chromophoric dissolved organic matter and dissolved organic carbon in Chesapeake Bay. *Marine Chemistry*, 77, 1, 23-41
- Royer, T.V. and David, M.B., 2005.** Export of dissolved organic carbon from agricultural streams in Illinois, USA. *Aquatic Sciences*, 67, 4, 465-471
- Sachse, A., Babenzien, D., Ginzler, G., Gelbrecht, J. and Steinberg, C.E.W., 2001.** Characterization of dissolved organic carbon (DOC) in a dystrophic lake and an adjacent fen. *Biogeochemistry*, 54, 3, 279-296
- Saliot, A., Tronczynski, J., Scribe, P. and Letolle, R., 1988.** The application of isotopic and biogeochemical markers to the study of the biochemistry of organic matter in a macrotidal estuary, the Loire, France. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 27, 6, 645-669
- Salter, R.M. and Schollenberger, C.J., 1939.** Farm manure. *Ohio Agricultural Experiment Station*, pp. 3-64
- Satoh, M., Hirachi, Y., Yoshioka, A., Kobayashi, M. and Oyama, Y., 2002.** Determination of cellular levels of nonprotein thiols in phytoplankton and their correlations with susceptibility to mercury. *Journal of phycology*, 38, 5, 983-990
- 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. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 108, 16-28
- Schmitt, P., Kettrup, A., Freitag, D. and Garrison, A.W., 1996.** Flocculation of humic substances with metal ions as followed by capillary zone electrophoresis. *Fresenius' journal of analytical chemistry*, 354, 7-8, 915-920
- Seitzinger, S.P., Sanders, R.W. and Styles, R., 2002.** Bioavailability of DON from natural and anthropogenic sources to estuarine plankton. *Limnology and Oceanography*, 47, 2, 353-366

- Seo, D.H., Kim, Y.J., Ham, S.Y. and Lee, D.H., 2007.** Characterization of dissolved organic matter in leachate discharged from final disposal sites which contained municipal solid waste incineration residues. *Journal of Hazardous Materials*, 148, 3, 679-692
- Sepers, A.B.J., 1977.** The utilization of dissolved organic compounds in aquatic environments. *Hydrobiologia*, 52, 1, 39-54
- Servais, P. and Garnier, J., 2006.** Organic carbon and bacterial heterotrophic activity in the maximum turbidity zone of the Seine estuary (France). *Aquatic Sciences*, 68, 1, 78-85
- Shi, W., Sun, M.Y., Molina, M. and Hodson, R.E., 2001.** Variability in the distribution of lipids biomarkers and their molecular isotopic composition in Altamaha estuarine sediments : implications for the relative contribution of organic matter from various sources. *Organic Geochemistry*, 32, 453-457
- Sholkovitz, E.R., Boyle, E.A. and Price, N.B., 1978.** The removal of dissolved humic acids and iron during estuarine mixing. *Earth and Planetary Science Letters*, 40, 1, 130-136
- Siegel, D.A., Maritorea, S., Nelson, N.B., Behrenfeld, M.J. and McClain, C.R., 2005.** Colored dissolved organic matter and its influence on the satellite-based characterization of the ocean biosphere. *Geophysical Research Letters*, 32, 20, 2-5
- Simon, F.X., Penru, Y., Guastalli, A.R., Esplugas, S., Llorens, J. and Baig, S., 2013.** NOM characterization by LC-OCD in a SWRO desalination line. *Desalination and Water Treatment*, 51, 7-9, 1776-1780
- Skoog, A., Wedborg, M. and Fogelqvist, E., 2011.** Decoupling of total organic carbon concentrations and humic substance fluorescence in a an extended temperate estuary. *Marine Chemistry*, 124, 1-4, 68-77
- SOeS, (Service de l'observation et des Statistiques), 2016.** Base de données sur l'occupation des sols en France. Available at: <http://www.statistiques.developpement-durable.gouv.fr/donnees-ligne/li/1825.html>,
- Song, H., Orr, O., Hong, Y. and Karanfil, T., 2009.** Isolation and fractionation of natural organic matter: evaluation of reverse osmosis performance and impact of fractionation parameters. *Environmental monitoring and assessment*, 153, 1-4, 307-321
- Spencer, R.G.M., Ahad, J.M.E., Baker, A., Cowie, G.L., Ganeshram, R., Upstill-Goddard, R.C. and Uher, G., 2007.** The estuarine mixing behaviour of peatland derived dissolved organic carbon and its relationship to chromophoric dissolved organic matter in two North Sea estuaries (UK). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 74, 1, 131-144
- Stedmon, C.A., Markager, S., Sondergaard, M., Vang, T., Laubel, A., Borch, N.H. and Windelin, A., 2006.** Dissolved organic matter (DOM) export to a temperate estuary: Seasonal variations and implications of land use. *Estuaries and Coasts*, 29, 3, 388-400
- Stevenson, F.J., 1994.** Humus chemistry : genesis, composition, reaction. *John Wiley and Sons, USA*, pp. 496
- Superville, P.J., Pižeta, I., Omanović, D. and Billon, G., 2013.** Identification and on-line monitoring of reduced sulphur species (RSS) by voltammetry in oxic waters. *Talanta*, 112, 55-62
- Świetlik, J., Dąbrowska, A., Raczyk-Stanisławiak, U. and Nawrocki, J., 2004.** Reactivity of natural organic matter fractions with chlorine dioxide and ozone. *Water Research*, 38, 3, 547-558
- Tagliapietra, D., Sigovini, M. and Ghirardini, A.V., 2009.** A review of terms and definitions to categorise estuaries, lagoons and associated environments. *Marine and Freshwater Research*, 60, 6, 497-509
- Tang, D., Hung, C.C., Warnken, K.W. and Santschi, P.H., 2000.** The distribution of biogenic thiols in surface waters of Galveston Bay. *Limnology and Oceanography*, 45, 6, 1289-1297

- Tang, D., Shafer, M.M., Karner, D.A., Overdier, J. and Armstrong, D.E., 2004.** Factors affecting the presence of dissolved glutathione in estuarine waters. *Environmental Science & Technology*, 38, 16, 4247-4253
- Tank, J.L., Rosi-Marshall, E.J., Griffiths, N.A., Entrekin, S.A. and Stephen, M.L., 2010.** A review of allochthonous organic matter dynamics and metabolism in streams. *Journal of the North American Benthological Society*, 29, 1, 118-146
- Tedetti, M., Longhitano, R., Garcia, N., Guigue, C., Ferretto, N. and Goutx, M., 2012.** Fluorescence properties of dissolved organic matter in coastal Mediterranean waters influenced by a municipal sewage effluent (Bay of Marseilles, France). *Environmental Chemistry*, 9, 5, 438-449
- Tercero-Espinoza, L.A., ter Haseborg, E., Weber, M. and Frimmel, F.H., 2009.** Investigation of the photocatalytic degradation of brown water natural organic matter by size exclusion chromatography. *Applied Catalysis B: Environmental*, 87, 1, 56-62
- 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. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 38, 3, 219-233
- Thurman, E.M. and Malcolm, R.L., 1981.** Preparative isolation of aquatic humic substances. *Environmental Science & Technology*, 15, 4, 463-466
- Tiquia, S.M., Tam, N.F.Y. and Hodgkiss, I.J., 1997.** Effects of turning frequency on composting of spent pig-manure sawdust litter. *Bioresource Technology*, 62, 1-2, 37-42
- Tremblay, L. and Gagné, J.P., 2009.** Organic matter distribution and reactivity in the waters of a large estuarine system. *Marine Chemistry*, 116, 1, 1-12
- Turner, A. and Millward, G.E., 2002.** Suspended Particles: Their role in estuarine biogeochemical cycles. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 55, 6, 857-883
- Uncles, R.J., Stephens, J.A. and Law, D.J., 2006.** Turbidity maximum in the macrotidal, highly turbid Humber Estuary, UK: flocs, fluid mud, stationary suspensions and tidal bores. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 67, 1, 30-52
- Vertès, F., Devienne, S., Ruiz, L., Moreau, P., Durand, P., Delaby, L., Corgne, S., Dusseux, P. and Gascuel, C., 2014.** De l'évaluation environnementale à la dynamique des systèmes agraires sur un bassin versant « Algues vertes ». *Innovations Agronomiques*, 39, 11-31
- Villacorte, L.O., Ekowati, Y., Neu, T.R., Kleijn, J.M., Winters, H., Amy, G., Schippers, J.C. and Kennedy, M.D., 2015.** Characterisation of algal organic matter produced by bloom-forming marine and freshwater algae. *Water research*, 73, 216-230
- Volkman, J.K., 2006.** Marine organic matter: biomarkers, isotopes and DNA. *Springer Science Berlin*, pp. 379
- Waeles, M., Pernet-Coudrier, B., Rouget, M.L., Liorzou, C. and Riso, R.D., 2015.** Stream chemical dynamic and metal accumulation in a temperate watershed affected by agricultural practices (Penzé, NW France). *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 29, 19, 1795-1804
- Waeles, M., Riso, R., Pernet-Coudrier, B., Quentel, F., Durrieu, G. and Tissot, C., 2013.** Annual cycle of humic substances in a temperate estuarine system affected by agricultural practices. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 106, 231-246
- Waeles, M., Tanguy, V. and Riso, R.D., 2014.** High-resolution examination of the colloidal speciation of cadmium in estuarine waters (Penzé, NW France). *Marine Chemistry*, 167, 0, 71-81

- Wang, K., He, C., You, S., Liu, W., Wang, W., Zhang, R., Qi, H. and Ren, N., 2015.** Transformation of organic matters in animal wastes during composting. *Journal of Hazardous Materials*, 300, 745-753
- Wei, L. and Ahner, B.A., 2005.** Sources and sinks of dissolved phytochelatin in natural seawater. *Limnology and oceanography*, 50, 1, 13-22
- 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. *Environmental Science & Technology*, 37, 20, 4702-4708
- Wetzel, R.G., Hatcher, P.G. and Bianchi, T.S., 1995.** Natural photolysis by ultraviolet irradiance of recalcitrant dissolved organic matter to simple substrates for rapid bacterial metabolism. *Limnology and Oceanography*, 40, 8, 1369-1380
- Whalen, J.K., Chang, C., Clayton, G.W. and Carefoot, J.P., 2000.** Cattle manure amendments can increase the pH of acid soils. *Soil Science Society of America Journal*, 64, 3, 962-966
- Widory, D., Chery, L., Mouglin, B., Talbo, H., Bonnin, J., Plancard, D. and Rochdi-Ghandour, H., 2001.** Traçage isotopique des sources de nitrates dans les eaux souterraines: cas du Bassin de l'Arguenon (Côtes-d'Armor). *Rapport BRGMIRP-51 091-FR*, 135, 182
- Wiegner, T.N. and Seitzinger, S.P., 2004.** Seasonal bioavailability of dissolved organic carbon and nitrogen from pristine and polluted freshwater wetlands. *Limnology and Oceanography*, 49, 5, 1703-1712
- Williams, C.J., Yamashita, Y., Wilson, H.F., Jaffé, R. and Xenopoulos, M.A., 2010.** Unraveling the role of land use and microbial activity in shaping dissolved organic matter characteristics in stream ecosystems. *Limnology and Oceanography*, 55, 3, 1159-1171
- Williams, G.P., 1989.** Sediment concentration versus water discharge during single hydrologic events in rivers. *Journal of Hydrology*, 111, 1, 89-106
- Wilson, H.F. and Xenopoulos, M.A., 2008.** Ecosystem and seasonal control of stream dissolved organic carbon along a gradient of land use. *Ecosystems*, 11, 4, 555-568
- Wilson, H.F. and Xenopoulos, M.A., 2009.** Effects of agricultural land use on the composition of fluvial dissolved organic matter. *Nature Geoscience*, 2, 1, 37-41
- Woods, G.C., Simpson, M.I., Kelleher, B.P., McCaul, M., Kingery, W.L. and Simpson, A.J., 2010.** Online High-Performance Size Exclusion Chromatography-Nuclear Magnetic Resonance for the Characterization of Dissolved Organic Matter. *Environmental Science & Technology*, 44, 2, 624-630
- Wyns, R., Baltassat, J.M., Lachassagne, P., Legchenko, A., Vairon, J. and Mathieu, F., 2004.** Application of proton magnetic resonance soundings to groundwater reserve mapping in weathered basement rocks (Brittany, France). *Bulletin de la société géologique de France*, 175, 1, 21-34
- Young, R.G., Matthaei, C.D. and Townsend, C.R., 2008.** Organic matter breakdown and ecosystem metabolism: functional indicators for assessing river ecosystem health. *Journal of the North American Benthological Society*, 27, 3, 605-625
- Zhou, Q.H., Cabaniss, S.E. and Maurice, P.A., 2000.** Considerations in the use of high-pressure size exclusion chromatography (HPSEC) for determining molecular weights of aquatic humic substances. *Water Research*, 34, 14, 3505-3514
- Zimmerman, A.R. and Canuel, E.A., 2000.** A geochemical record of eutrophication and anoxia in Chesapeake Bay sediments: anthropogenic influence on organic matter composition. *Marine Chemistry*, 69, 1, 117-137

Publications et communications

Publications et communications :

Ces travaux de thèse ont donné lieu à la rédaction de 2 articles scientifiques. Des communications orales et par poster ont aussi été présentées. Mon stage de master, effectué sur l'origine et la variabilité spatio-temporelle de la matière organique dissoute et colorée a également fait l'objet d'un article scientifique.

Publications

Marie, L., Pernet-Coudrier, B., Waeles, M., Gabon, M. and Riso, R., 2015. Dynamics and sources of reduced sulfur, humic substances and dissolved organic carbon in a temperate river system affected by agricultural practices. *Science of the Total Environment*, 537, 23-32

Marie, L., Pernet-Coudrier, B., Waeles, M. and Riso, R., 2016. Seasonal variation and mixing behaviour of glutathione, thioacetamide and fulvic acids in a temperate macrotidal estuary (Aulne, NW France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 184, 177-190

Tedetti, M., **Marie, L.**, Rottgers, R., Rodier, M., Van Wambeke, F., Helias, S., Caffin, M., Corner-Barthaux, V. and Dupouy, C., 2016. Evolution of dissolved and particulate coral lagoon (South West Pacific). *Biogeosciences*, 13, 11, 3283-3303

Communications orales :

Marie, L., Pernet-Coudrier, B., Waeles, M. and Riso, R., Suivi annuel de la matière organique réfractaire, des thioacétamides et de la glutathione dans les eaux fluviales de la Penzé par voltampérométrie, Journée de l'IHSS Français (*International Humic Substances Society*), Toulon, 15 Avril 2014.

Marie, L., Ma thèse en 180s, Doctoriales de Bretagne, Rennes, 16-19 Février 2015.

Marie, L., Pernet-Coudrier, B., Waeles, M., and Riso, R., Dynamics and pathways of two Reduced Sulfur Substances (RSS) (glutathione-like and thioacetamide-like compounds) in a temperate macrotidal estuary (Brittany-France), Congrès international IEBS (*International Estuarine Biogeochemistry Symposium*), Bordeaux, France, 7-10 Juin 2015.

Marie, L., Pernet-Coudrier, B., Waeles, M., and Riso, R., Impact of agriculture on the quantity, composition and dynamics of MOD in temperate rivers, Congrès international IHSS (*International Humic Substances Society*), Kanazawa, Japon, 11-16 Septembre 2016.

Communications par poster :

Marie, L., Pernet-Coudrier, B., Waeles, M., and Riso, R., Seasonal behaviour of glutathione, thioacetamide and fulvic acids in a temperate macrotidal estuary, jours de l'EDSM, 4-6 Novembre 2015.