



HAL
open science

Effet des variations climatiques sur la production de Matière Organique Algale et Microcystines par le phytoplancton dans les systèmes eutrophes. Etude de leur élimination dans le procédé de traitement des eaux

Hélène Thuret-Benoist

► **To cite this version:**

Hélène Thuret-Benoist. Effet des variations climatiques sur la production de Matière Organique Algale et Microcystines par le phytoplancton dans les systèmes eutrophes. Etude de leur élimination dans le procédé de traitement des eaux. Sciences de la Terre. Université de Limoges, 2019. Français. NNT : 2019LIMO0093 . tel-02467907

HAL Id: tel-02467907

<https://theses.hal.science/tel-02467907>

Submitted on 5 Feb 2020

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 Limoges

ED 614 - Chimie, Environnement, Géosciences, Agrosociétés (CEGA)

Laboratoire PEIRENE - EA7500 - URA IRSTEA

Thèse pour obtenir le grade de
Docteur de l'Université de Limoges
Eau / Sol / Environnement

Présentée et soutenue par
Hélène THURET BENOIST

Le 14 octobre 2019

**Effets des variations climatiques sur la production de Matière Organique
Algale et de Microcystines par le phytoplancton dans les systèmes eutrophes.
Etude de leur élimination dans le procédé de traitement des eaux.**

Thèse dirigée par Geneviève FEUILLADE & Virginie PALLIER

Jury

Rapporteurs

M ^r MAZELLIER Patrick	Professeur	UMR CNRS 5805 EPOC-OASU Périgueux
M ^r ROBIN Joël	Maître de Conférences – HDR	ISARA Lyon

Examineurs

M ^r PERSSON Kenneth	Professeur	Water Resources Engineering, Lund University
M ^r LABANOWSKI Jérôme	Chargé de Recherche	CNRS IC2MP Poitiers
M ^{me} FEUILLADE Geneviève	Professeure	PEIRENE, Université de Limoges
M ^{me} PALLIER Virginie	Maître de Conférences	PEIRENE, Université de Limoges



Université de Limoges

ED 614 - Chimie, Environnement, Géosciences, Agrosociétés (CEGA)

Laboratoire PEIRENE - EA7500 - URA IRSTEA

Thèse pour obtenir le grade de
Docteur de l'Université de Limoges
Eau / Sol / Environnement

Présentée et soutenue par
Hélène THURET BENOIST

Le 14 octobre 2019

**Effets des variations climatiques sur la production de Matière Organique
Algale et de Microcystines par le phytoplancton dans les systèmes eutrophes.
Etude de leur élimination dans le procédé de traitement des eaux.**

Thèse dirigée par Geneviève FEUILLADE & Virginie PALLIER

Jury

Rapporteurs

M ^r MAZELLIER Patrick	Professeur	UMR CNRS 5805 EPOC-OASU Périgueux
M ^r ROBIN Joël	Maître de Conférences – HDR	ISARA Lyon

Examineurs

M ^r PERSSON Kenneth	Professeur	Water Resources Engineering, Lund University
M ^r LABANOWSKI Jérôme	Chargé de Recherche	CNRS IC2MP Poitiers
M ^{me} FEUILLADE Geneviève	Professeure	PEIRENE, Université de Limoges
M ^{me} PALLIER Virginie	Maître de Conférences	PEIRENE, Université de Limoges

REMERCIEMENTS

Une thèse, et notamment le manuscrit et la soutenance qui en sont l'aboutissement, est souvent comparée à une grossesse, à l'ascension d'une montagne, au match final de la saison, à une course à obstacles, Ces années sont certes rudes et semées d'embûches, avec une alternance de hauts et de bas, de difficultés à surmonter mais le dénouement final n'est que bonheur et satisfaction. Ce projet n'aurait pas pu être mené dans de si bonnes conditions sans l'aide de nombreuses personnes que je tiens à remercier ici.

Il faut l'avouer, ces années de thèse n'auraient pas été pareilles sans mon duo de directrices de thèse, Geneviève FEUILLADE et Virginie PALLIER. Tout d'abord, merci pour m'avoir fait confiance pour réaliser cette thèse avec vous.

Geneviève, merci d'avoir pris du temps pour me guider, me conseiller et pour ton regard expert. Je te remercie également pour ton soutien et pour nos nombreuses heures de discussion autour de croissants et autres gourmandises. Je te remercie d'avoir fait de moi une chercheuse ainsi que pour ton amitié.

Virginie, merci pour ta disponibilité et ta bonne humeur. Merci pour les heures passées dans ton bureau à bavarder et pour les multiples corrections de mes écrits. Je me souviendrai de tes remarques « pertinentes » ;) et de mon anglais avec une pointe d'accent breton !! Merci d'avoir été là, d'avoir pris le temps de m'apprendre, de m'avoir aidée, de m'avoir écoutée dans les moments de mou, d'avoir été plus qu'une simple directrice et collègue.

Merci à vous deux pour l'attention que vous avez toujours portée à mes travaux, pour votre dynamisme, votre disponibilité et vos idées et conseils. On passera sous silence l'heure passée à calculer la durée du jour dans chacun des pays Il est vrai que parfois nos réunions déviaient ...

Je voudrais aussi remercier les membres du jury, Patrick MAZELLIER et Joël ROBIN pour avoir accepté de rapporter ce travail de thèse ainsi que Jérôme LABANOWSKI et Kenneth PERSSON pour avoir examiné ce travail. Leur retour positif sur mon travail a été très important pour moi et les conversations scientifiques, très intéressantes, ont ouvert de nouveaux horizons quant à la thématique.

Je voudrais également remercier Michel BAUDU et Vincent SOL de m'avoir accueillie au sein du Groupement de Recherche Eau, Sol et Environnement (GRESE), ensuite devenu le laboratoire PEIRENE.

Ces années de thèse n'auraient pas été les mêmes dans un autre laboratoire, sans toutes les personnes que j'y ai croisé et avec qui j'ai eu la chance de travailler ou simplement discuter. Dans le désordre, je remercie ceux de l'ENSIL, Patrick, Christophe, Audrey, Marie-Line et Serge, le personnel technique Corinne, Séverine et David ; personnes avec qui j'ai eu la chance de travailler en recherche, en enseignement ou simplement avec qui j'ai sympathisé autour d'un café ou d'un repas. Côté FST, je remercie le trio : Karine, Manue et Lourdès, merci pour les commandes de matériel, la gestion administrative et votre bonne humeur : impossible de juste passer à la fac, il y a toujours des choses à se raconter. Merci également à Sophie pour ces conseils sur l'HPLC-UV, à Patrice, à Véro, à Isa, à Gilles.

À tous les doctorants (et ex-doctorants) du laboratoire : une pensée particulière à Camille, merci de m'avoir si bien accueillie dans le bureau, pour ta motivation pour aller à la piscine, pour ta bonne humeur et tes nombreux conseils. Merci aux gars : merci Robin et Matthias pour nos virées nocturnes et votre soutien d'avant soutenance, merci Sylvain, Valentin et Eloi. Merci Mélodie, qui est arrivée plus tard. Merci Cédric et bon courage pour la fin ! Merci à toutes les autres personnes du laboratoire et autres doctorants qui ont croisé ma route durant ces années : Delphine, Sabrina, Alexis, Ophélie, Anne, Nathalie, Dieppe, Noël, ...

Je tiens également à remercier Luc BRIENT, qui m'a fait découvrir la problématique des cyanobactéries en 2011 et qui a toujours suivi mon parcours jusqu'à ce jour. Merci d'avoir fait le déplacement jusqu'à Limoges pour assister à ma soutenance.

Cette thèse et ces années à Limoges n'auraient pas été les mêmes sans toutes les personnes extra-professionnelles que j'ai rencontrées et qui ont jouées un rôle important durant ces années. Tout d'abord je remercie plus que chaleureusement les colocs du 29 rue Meissonier : merci à Christoboule et Ribon pour les 18 mois de franche rigolade et de camaraderie, pour ces soirées endiablées, et autres aventures que je passerai sous silence ici, merci à Marion, Walid et Sara pour les dîners de folie, meilleure team de jardinage, merci à Aymerick et Pâcome les derniers avant la fin de la coloc. Ensuite, je remercie l'USAL et surtout les Gazelles alias la team bibi : merci Lisou, Mel, Laura, Malo ; votre amitié m'a été d'un grand soutien dans les moments compliqués, merci pour les soirées, les repas, les goûters, les débrief et les ragots, Marion (encore toi oui), Zozo, Marie, Fayou, Mignon, Boulch, Gomar, Flav', Améloche, Cépine, Ali, Marion la kiné et toutes les autres (Chou, Montar, Athène, Savanne, Helo, Célia, Edna, Zizert, Zaza, Julie, Lee-lou, Lucie, Léanne, Isa, Gaby, Pauline), merci à Eva, Marc et Pine, et un merci tout particulier à Coco et Ricou, un entraîneur en or, toujours présent pour discuter, écouter et râler. Enfin j'aimerais remercier la team Limoges Mud Run, les Culs Noirs, une équipe d'enfer toujours motivée pour gambader, escalader, ramper, porter par vents et orages. Merci à Jul, Cécile, Hortense, Carl, Johan, Pierre, Thomas, Tom, Noémie, Ludivine, Martin, ... Merci à eux qui m'ont fait découvrir la joie de la course nature et de la course à obstacles et surtout le dépassement de soi.

Puis, un grand merci à tous mes amis qui ont contribué de loin à la réalisation de cette thèse : la bande de copains du lycée (Crocket, Garel, Manu, Edouard, Zip, BG, Yvan, Willou, La rouquine, Yann, Bastien), une source d'énergie inépuisable, des copains de folie qui me supportent depuis plus de dix ans, le trio infernal Lucie, Maud, Sarah, best team pour les coups durs et les repas dans le calme, les copinoux de Brest (Touillette, Lessive, Marco, Kiwi, Gabin, Kevin, Do, ..), merci d'avoir fait 4273km pour venir me voir à Limoges, merci les copains de l'agro en particulier Dim et Croûte.

Et enfin, merci à toute ma famille qui a fait de moi ce que je suis aujourd'hui : maman (que j'aime et que j'adore), papa et mes deux Sistah Claire et Lucie. Merci pour votre soutien, merci d'être venue pour ma soutenance, merci pour les ptits plats du dimanche soir.

A nouveau, un grand merci à tous!!!

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE	- 1 -
PREAMBULE : L'EAU & L'HOMME	- 7 -
1. L'eau sur Terre : cycle hydrologique et ressources en eau disponible	- 9 -
2. Une inégale répartition des ressources	- 9 -
2.1. Disparités spatiales.....	- 9 -
2.2. Disparités temporelles.....	- 10 -
3. Besoins anthropiques : les différents usages de l'eau	- 10 -
3.1. Secteurs d'usages de l'eau	- 10 -
3.2. Disparités entre les zones géographiques	- 11 -
3.2.1. Dans le monde	- 12 -
3.2.2. Cas de la France.....	- 13 -
3.3. Et demain ?.....	- 13 -
4. Dégradation des ressources en eau	- 14 -
PARTIE 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	- 17 -
1. L'eutrophisation des eaux douces	- 19 -
1.1. Généralités	- 19 -
1.2. Facteurs de contrôle de l'eutrophisation	- 20 -
1.2.1. L'apport de nutriments.....	- 21 -
1.2.1.1. Les nutriments majeurs : rôle essentiel du phosphore	- 21 -
1.2.1.2. Les macro- et micronutriments.....	- 25 -
1.2.2. Un climat favorable ?.....	- 26 -
1.2.2.1. Importance de la température	- 26 -
1.2.2.2. Rôle de la pluviométrie	- 27 -
1.2.2.3. Rôle de la lumière.....	- 30 -
1.3. Etat des lieux de l'occurrence des phénomènes d'eutrophisation	- 31 -
1.3.1. Cas de la France.....	- 33 -
1.3.2. Cas de la Suède.....	- 35 -
1.3.3. Cas du Togo.....	- 36 -
2. Impacts de l'eutrophisation sur la qualité de la ressource.....	- 36 -
2.1. Changement de communautés des producteurs primaires.....	- 36 -
2.1.1. Perte de diversité.....	- 36 -
2.1.2. Ecologie et phylogénie simplifiée du phytoplancton	- 37 -
2.1.2.1. Les cyanobactéries et leurs avantages compétitifs	- 38 -
2.1.2.2. Les algues	- 40 -
2.1.2.3. Distribution du phytoplancton dans les pays d'étude	- 40 -
2.1.2.3.1. En France	- 40 -
2.1.2.3.2. En Suède	- 41 -

2.1.2.3.3. Au Togo	- 41 -
2.2. Dégradation de la qualité de l'eau	- 41 -
2.2.1. Impacts de l'eutrophisation sur les caractéristiques de la Matière Organique	- 42 -
2.2.1.1. La Matière Organique.....	- 42 -
2.2.1.2. Quantification et qualification de la MO	- 43 -
2.2.1.2.1. Méthode de quantification de la MOD.....	- 43 -
2.2.1.2.2. Méthodes de caractérisation de la MOD	- 43 -
2.2.1.2.2.1. Indice SUVA	- 43 -
2.2.1.2.2.2. Fractionnement selon le caractère hydrophobe.....	- 44 -
2.2.1.3. Matière Organique Naturelle des eaux de surface	- 46 -
2.2.1.4. Matière Organique Algale	- 49 -
2.2.1.4.1. Définition	- 49 -
2.2.1.4.2. Evolution de la MOA au cours de la croissance d'une culture de laboratoire.....	- 49 -
2.2.1.4.3. Différences de quantité et qualité de la MOA selon l'espèce et les conditions environnementales.....	- 51 -
2.2.2. Toxicité.....	- 56 -
2.2.2.1. Diversité des cyanotoxines : focus sur les microcystines	- 57 -
2.2.2.2. Identification et quantification des microcystines	- 59 -
3. Les filières de traitement de l'eau et leurs adaptations à la variation de qualité des ressources en eaux eutrophes.....	- 65 -
3.1. Le cadre réglementaire : ressource en eau et eau potable.....	- 65 -
3.2. Les procédés de traitement de l'eau	- 66 -
3.2.1. Fonctionnement d'une chaîne de potabilisation de l'eau	- 66 -
3.2.2. Efficacité des procédés conventionnels de traitement de l'eau pour l'élimination des cellules phytoplanctoniques, de la MOA et des MCs	- 67 -
3.2.2.1. Elimination des cellules phytoplanctoniques par coagulation-floculation.....	- 67 -
3.2.2.2. Elimination de la MO par coagulation-floculation	- 68 -
3.2.2.3. Elimination des MCs	- 69 -
3.2.3. Intérêt d'une étape d'adsorption sur charbon actif en poudre : efficacité pour l'élimination de la MOA et des MCs.....	- 70 -
3.2.3.1. Principe de l'adsorption sur charbon actif.....	- 70 -
3.2.3.2. Elimination de la MO sur CAP.....	- 71 -
3.2.3.3. Elimination des MCs sur CAP.....	- 72 -
3.2.3.4. Compétition d'adsorption entre la MO et les MCs.....	- 73 -
4. Climat et eutrophisation : Vers quelle qualité de la ressource en eau ?	- 76 -
4.1. Climat futur	- 76 -
4.2. Vers une domination des cyanobactéries ?.....	- 78 -
5. Conclusions et objectifs de l'étude	- 79 -
PARTIE 2 : MATERIEL ET METHODES.....	- 81 -
1. Démarche expérimentale	- 83 -
2. Analyse de la qualité de l'eau	- 86 -
2.1. Paramètres climatiques et paramètres globaux.....	- 86 -
2.1.1. Paramètres météorologiques	- 86 -

2.1.2.	Paramètres globaux.....	- 86 -
2.1.3.	Quantification des éléments nutritifs	- 87 -
2.2.	Quantification et caractérisation de la MO.....	- 88 -
2.2.1.	Quantification de la MO : mesure du Carbone Organique Dissous (COD)	- 88 -
2.2.2.	Caractérisation de la MO	- 88 -
2.2.2.1.	Détermination de l'aromaticité.....	- 88 -
2.2.2.2.	Fractionnement selon le caractère hydrophobe	- 88 -
2.3.	Caractérisation du phytoplancton.....	- 90 -
2.3.1.	Mesure de l'absorbance spécifique.....	- 90 -
2.3.2.	Identification et comptage cellulaire.....	- 90 -
2.3.3.	Dosage de la Chl-a.....	- 91 -
2.4.	Identification et quantification des MCs	- 92 -
2.4.1.	Prélèvement et stockage de l'échantillon.....	- 92 -
2.4.2.	Préparation des échantillons	- 92 -
2.4.3.	Filtration	- 93 -
2.4.4.	Toxines intracellulaires : lyse cellulaire et extraction.....	- 93 -
2.4.5.	Toxines extracellulaires : purification et concentration	- 94 -
2.4.6.	Identification et quantification des microcystines.....	- 94 -
3.	Evaluation de l'impact des variations climatiques sur la production de Matière Organique Algale et de Microcystines par le phytoplancton.....	- 95 -
3.1.	Etude en cultures de laboratoire	- 95 -
3.1.1.	Les souches cultivées.....	- 95 -
3.1.2.	Préparation du milieu de culture	- 96 -
3.1.3.	Conditions de culture : simulation de différents régimes pluviométriques sous trois conditions climatiques	- 98 -
3.2.	Etude in-situ	- 99 -
3.2.1.	Présentation des sites d'études.....	- 100 -
3.2.1.1.	Le Lac Vombsjön en Suède.....	- 101 -
3.2.1.2.	Etang de Pigeard, France.....	- 102 -
3.2.1.3.	Rivière Kara, Togo	- 103 -
3.2.2.	Analyses effectuées.....	- 104 -
4.	Impact des modifications des caractéristiques physico-chimiques de la ressource en eau sur l'efficacité de l'adsorption sur Charbon Actif en Poudre : Etude spécifique de la réactivité de la MON et des microcystines MC-LR.....	- 106 -
4.1.	Les échantillons testés.....	- 106 -
4.1.1.	Cultures de laboratoire de <i>M. aeruginosa</i>	- 106 -
4.1.1.1.	Tests sur culture pure.....	- 106 -
4.1.1.2.	Extraction de la MOA des cultures de laboratoire de <i>M. aeruginosa</i>	- 108 -
4.1.2.	Eau synthétique dopée en fractions de MOA et MC-LR	- 108 -
4.1.3.	Eau naturelle : eau de Pigeard.....	- 109 -
4.2.	Les tests d'adsorption sur Charbon Actif en Poudre	- 109 -
4.2.1.	Conditions expérimentales des essais d'adsorption	- 109 -
4.2.2.	Interprétation de l'adsorption sur Charbon Actif en Poudre	- 110 -
4.2.2.1.	Equation de Langmuir	- 110 -
4.2.2.2.	Equation de Freundlich.....	- 111 -
4.2.3.	Choix du Charbon Actif en Poudre.....	- 111 -

PARTIE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION.....	- 113 -
Chapitre 1 - 116 -Identification et quantification des Microcystines (MCs) par HPLC-UV/PDA et pré concentration sur SPE : optimisation de la méthode et analyse des interférences.	- 116 -
1. Optimisation de la méthode d'analyse des Microcystines par HPLC-UV/PDA	- 116 -
1.1. Optimisation de la méthode d'analyse par HPLC-UV/PDA	- 116 -
1.2. Validité et performances de la méthode	- 118 -
1.3. Linéarité et interférence	- 119 -
2. Pré concentration des MCs sur SPE, optimisation du protocole et étude des interférences...	- 119 -
2.1. Optimisation du protocole de pré concentration sur SPE.....	- 119 -
2.2. Etude des interférences de la matrice sur l'étape de préconcentration sur SPE	- 122 -
2.2.1. Impact du pH de l'échantillon sur l'efficacité de l'étape de pré concentration.....	- 122 -
2.2.2. Impact de la conductivité de l'échantillon sur l'efficacité de l'étape de pré concentration .	- 123 -
2.2.3. Impact des concentrations et des caractéristiques de la Matière Organique sur l'efficacité de l'étape de pré concentration sur SPE	- 124 -
3. Validation de la méthode sur des échantillons du milieu naturel.....	- 125 -
4. Conclusions du chapitre 1.....	- 126 -
 Chapitre 2 - 127 -Effets des variations climatiques sur la réponse des espèces phytoplanctoniques en conditions d'eutrophisation : étude qualitative et quantitative de la Matière Organique Algale (MOA) et suivi de la production de Microcystines (MCs).	- 127 -
 Axe 1 : Comparaison de la croissance cellulaire, analyse quantitative et qualitative de la Matière Organique Algale et évaluation de la production de toxines de cultures de <i>Chlorella vulgaris</i> et de <i>Microcystis aeruginosa</i> sous conditions contrôlées : Etude en laboratoire, sous différentes conditions climatiques.....	- 128 -
1. Impact des variations climatiques sur la croissance cellulaire et la production de MOA et de MCs générées d'une culture de <i>M. aeruginosa</i>	- 129 -
1.1. Analyse quantitative et qualitative sous les conditions de références : 23°C – sécheresse	- 129 -
1.1.1. Détermination des phases de croissance	- 129 -
1.1.2. Evolution de la MOA générée au cours des phases de croissance	- 130 -
1.1.2.1. Evolution quantitative	- 130 -
1.1.2.2. Evolution qualitative	- 132 -
1.1.3. Analyse quantitative des MC produites	- 134 -
1.2. Effets des variations climatiques sur la croissance de <i>M. aeruginosa</i>	- 135 -
1.2.1. Effet de la température.....	- 135 -
1.2.2. Effet de la pluviométrie	- 136 -
1.2.2.1. Sous une température de 23°C	- 137 -
1.2.2.2. Sous une température de 15°C	- 138 -
1.3. Effets des variations climatiques sur la production de MOA d'une culture de <i>M. aeruginosa</i> ...	- 139 -
1.3.1. Effet de la température.....	- 139 -
1.3.2. Effet de la pluviométrie	- 142 -
1.3.2.1. Sous une température de 23°C	- 142 -
1.3.2.2. Sous une température de 15°C	- 144 -

1.4.	Effets des variations climatiques sur les caractéristiques de la MOA produite par <i>M. aeruginosa</i> -	147
1.4.1.	Effet de la température.....	147 -
1.4.2.	Effet de la pluviométrie sous une température de 15°C.....	148 -
1.5.	Effets des variations climatiques sur les concentrations et la répartition des microcystines produites par <i>M. aeruginosa</i>	148 -
1.5.1.	Effet de la température.....	148 -
1.5.2.	Effet de la pluviométrie.....	149 -
1.5.2.1.	Sous une température de 23°C.....	149 -
1.5.2.2.	Sous une température de 15°C.....	150 -
2.	Impacts des variations climatiques sur la croissance cellulaire et la production de MOA générée par une culture de <i>C. vulgaris</i>	151 -
2.1.	Analyse quantitative et qualitative sous les conditions de référence : 23°C – sécheresse.....	151 -
2.1.1.	Détermination des phases de croissance.....	151 -
2.1.2.	Evolution de la production de MOA au cours des phases de croissance.....	151 -
2.1.2.1.	Evolution quantitative.....	151 -
2.1.2.2.	Evolution qualitative.....	153 -
2.2.	Effets des variations climatiques sur la croissance de <i>C. vulgaris</i>	154 -
2.2.1.	Effet de la température.....	154 -
2.2.2.	Effet de la pluviométrie.....	156 -
2.2.2.1.	Sous une température de 23°C.....	156 -
2.2.2.2.	Sous une température de 15°C.....	157 -
2.3.	Effets des variations climatiques sur la production de MOA par <i>C. vulgaris</i>	159 -
2.3.1.	Effet de la température.....	159 -
2.3.2.	Effet de la pluviométrie.....	161 -
2.3.2.1.	Sous une température de 23°C.....	161 -
2.3.2.2.	Sous une température de 15°C.....	163 -
2.4.	Comparaison de l'effet de la température sur les caractéristiques de la MOA pour la modalité ruissellement-	166 -
3.	Conclusion de l'axe 1 du chapitre 2	167 -
Axe 2 : Dynamique de la Matière Organique Naturelle et évolution des teneurs en Microcystines au cours des saisons dans différentes ressources en eau : étude <i>in-situ</i>.		169 -
1.	Etats des lieux de l'eutrophisation de l'étang de Pigeard (France) et conséquences sur la dynamique de la Matière Organique Naturelle et des Microcystines	170 -
1.1.	Dynamique et évolution durant la période 2017-2019.....	170 -
1.1.1.	Etat des lieux des facteurs de contrôle de l'eutrophisation.....	170 -
1.1.2.	Evolution des paramètres physico-chimiques.....	172 -
1.1.3.	Dynamique du phytoplancton : concentration cellulaire et espèces.....	174 -
1.1.4.	Toxicité des proliférations.....	177 -
1.1.5.	Impacts de l'eutrophisation sur la dynamique de la Matière Organique Naturelle.....	178 -
1.1.5.1.	Impact sur la quantité de Matière Organique Naturelle.....	178 -
1.1.5.2.	Evolution des caractéristiques de la MON.....	179 -
1.1.5.3.	Dynamique des fractions de la Matière Organique Naturelle.....	181 -
1.2.	Evolution de la qualité de l'eau sur le court terme.....	183 -
1.2.1.	Climat.....	183 -

1.2.2.	Etat de trophie et caractéristiques physico-chimiques	- 184 -
1.2.3.	Développements du phytoplancton	- 186 -
1.2.4.	Evolution des caractéristiques de la MON.....	- 186 -
1.3.	Et demain ?.....	- 188 -
2.	Comparaison des dynamiques de la MON dans trois plans d'eau soumis à des climats variés - 189	
2.1.	Des climats différents.....	- 189 -
2.2.	Etats de trophie et caractéristiques physico-chimiques	- 190 -
2.3.	Développements phytoplantoniques.....	- 191 -
2.3.1.	Lac Vombsjön.....	- 191 -
2.3.2.	Rivière Kara.....	- 191 -
2.4.	Quantité et caractéristiques de la MON	- 192 -
2.4.1.	Quantité de MON	- 192 -
2.4.2.	Caractérisation de la MON	- 192 -
3.	Conclusion de l'axe 2 du chapitre 2	- 193 -
Chapitre 3 - 195 -Impacts des phénomènes d'eutrophisation sur les performances du traitement par Charbon Actif en Poudre (PAC)..... - 195 -		
1.	Détermination des paramètres d'étude : concentration et type de CAP	- 196 -
2.	Réactivité de la Matière Organique lors de l'adsorption sur Charbon Actif en Poudre	- 196 -
2.1.	Réactivité de la Matière Organique Algale	- 196 -
2.2.	Réactivité de la Matière Organique Naturelle	- 199 -
2.2.1.	Etude de la réactivité d'échantillons naturels en fonction du climat.....	- 199 -
2.2.2.	Impacts de l'eutrophisation sur la réactivité d'échantillons naturels : étude d'une eau naturelle dopée en MOA- 203 -	
2.2.3.	Réactivité de la fraction HPI.....	- 206 -
3.	Réactivité des MCs lors de l'adsorption sur Charbon Actif en Poudre.....	- 207 -
3.1.	Elimination des MCs.....	- 207 -
3.2.	Effet de la MO sur l'adsorption de la MC-LR	- 207 -
3.3.	Effets de la présence de MC-LR sur l'élimination de la MO	- 208 -
4.	Conclusions du chapitre 3.....	- 209 -
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES		- 211 -
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES		- 215 -
ANNEXES		- 233 -

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Prélèvements et consommations d'eau par secteur. Comparaison entre la moyenne française et la moyenne mondiale (Morel, 2007 ; eaufrance ; scb ; fao).....	- 11 -
Figure 2 : Disparités des consommations domestiques moyennes selon les pays (Eurostat, eaufrance)	- 12 -
Figure 3 : Disparités des consommations domestiques moyennes selon les régions de France (eaufrance).....	- 13 -
Figure 4 : Evolution de la consommation domestique quotidienne en France (Eaufrance).....	- 13 -
Figure 5 : Evolution de la population mondiale, des prélèvements et des consommations d'eau au cours du XXème siècle et prédictions pour le XXIème (Shiklomanov, 1999 ; Marsily, 2006 ; Morel, 2007)	- 14 -
Figure 6 : Dispositifs juridiques internationaux et nationaux de lutte contre les rejets de nutriments dans l'eau (liste non exhaustive) (Pinay et al., 2017).....	- 19 -
Figure 7 : Concentration en CO ₂ atmosphérique. Les données d'avant 1958 sont basées sur des mesures dans des forages glaciers en Antarctique et Groenland. Depuis 1958, les concentrations sont mesurées continuellement en différents lieux dont Mauna Loa, Hawaï et au pôle Sud. (GIEC, 2013 ; Sandrini, 2016).....	- 21 -
Figure 8 : Diversités des apports globaux (en T.an ⁻¹) d'azote (a) et de phosphore (b) dans les eaux de surface (Beusen et al., 2016)	- 22 -
Figure 9 : Corrélations entre les apports en azote et phosphore et les écosystèmes aquatiques n'atteignant pas le bon état écologique (A. Excédent d'azote (EEA, 2005) – B. Fertilisation phosphatée totale (EEA, 2005) – C. Part des masses d'eau de surface de bon ou très bon état écologique en 2010 (Eau France, 2015) – D. Part des masses d'eau de surface de bon état chimique en 2010 (Eau France, 2015)).....	- 23 -
Figure 10 : Evolution de la pollution des cours d'eau par les nitrates et les phosphates. L'indice est calculé avec les données partielles sur les bassins Seine-Normandie (2008-2009) et Adour-Garonne (2010-2011) en raison de séries ponctuellement incomplètes (ONEMA, 2016).....	- 24 -
Figure 11: Successions saisonnières phytoplanctoniques sous un climat tempéré (adapté de Leitao et Couté, 2005).....	- 26 -
Figure 12 : a. Anomalies de température observées moyennes en surface de 1850 à 2012 (GIEC, 2015). b. Augmentation de la température de l'eau en août sur le site de Lobith (Rhin) (Gosse et Hendrickx, 2009). c. Evolution de la température moyenne annuelle de l'eau (0 – 10 m) du lac Léman (CIPEL, 2017) d. Evolution de la température moyenne annuelle de l'eau profonde du lac Léman (CIPEL, 2017).....	- 27 -
Figure 13 : Brassage des eaux et stratification thermique d'un lac tempéré.....	- 28 -
Figure 14: Changements observés des précipitations annuelles sur les terres émergées (GIEC, 2013).....	- 28 -
Figure 15 : Eutrophisation et proliférations cyanobactériennes en réponse à la pluviométrie. (Adapté depuis Lu et al., 2019). « + » signifie favorise et « - » signifie défavorise les proliférations cyanobactériennes.	- 29 -
Figure 16 : (a). Irradiance solaire au cours d'une journée : en haut durant une journée nuageuse, en bas, au solstice d'été (Reynolds, 2006). (b). Irradiance solaire au cours d'une année (Limoges) (Leloup, 2013).....	- 30 -
Figure 17 : Définition de la zone euphotique d'un plan d'eau.....	- 31 -
Figure 18: Etat d'hypoxie ou d'eutrophisation des zones côtières (Diaz et al., 2004 ; Selmán et al., 2008)	- 32 -
Figure 19: Occurrence globale des blooms de Microcystis et des MCs déterminée à partir de recherches sur 257 pays et territoires (Harke et al., 2016)	- 32 -
Figure 20: (a) Répartition des masses d'eau de surface (toutes catégories confondues) selon l'état écologique. (b) Etat écologique des masses d'eau « cours d'eau » (Eau France, 2015 ; ONEMA, 2016).....	- 34 -
Figure 21: Qualité des eaux de baignade en Haute-Vienne (87) lors de la saison touristique de 2017.....	- 35 -
Figure 22 : A) Répartition des masses d'eau de surface suédoises (toutes catégories confondues) selon l'état écologique. B) Pourcentage des eaux de surface (lacs, rivières) non classées en bon état écologique (EEA, 2012).....	- 35 -
Figure 23: Réseaux trophiques et biodiversité d'un écosystème oligotrophe (à gauche) et eutrophe (à droite).	- 37 -
Figure 24 : Schéma simplifié (non exhaustif) de la classification des organismes photosynthétiques des plans d'eau douce.....	- 38 -
Figure 25: Distribution des cyanobactéries au sein de l'arbre du vivant (modifié d'après Cracraft et Donoghue, 2004).....	- 39 -
Figure 26 : Fractions constitutives de la MO (HPI : hydrophiles, TPH : transphiliques, HPO : hydrophobes). Origine, répartition dans le milieu naturel et caractéristique de ces fractions (Croué, 2004 ; Labanowski, 2004 ; Świetlik et Sikorska, 2004 ; Pernet-Coudrier, 2008 ; Labanowski et Feuillade, 2009 ; Leloup, 2013)	- 42 -
Figure 27 : Evolution de la concentration en COD et des caractéristiques de la MO (fractions et SUVA) dans une rivière	- 48 -

Figure 28: Evolution de la quantité et des caractéristiques de la MOA produite par <i>M. aeruginosa</i> au cours de sa croissance. (a) Evolution du COD et de la chlorophylle a (Pivokonsky et al., 2006) (b) Evolution de la proportion des fractions de la MOA (Leloup et al., 2013) (1. Latence ; 2. Phase exponentielle ; 3. Phase stationnaire ; 4. Déclin).....	50 -
Figure 29 : (a) Fractionnement de <i>M. aeruginosa</i> lors de la phase de croissance exponentielle, stationnaire et déclin ; fractionnement de la MOE et MOI de cette même espèce (Henderson et al., 2008 ; Qu et al., 2012 ; Leloup et al., 2013 ; Pivokonsky et al., 2014). (b) Evolution de la portion de COD protéique et non-protéique (Pivokonsky et al., 2006).....	50 -
Figure 30 : Bilan de la dynamique annuelle de la MON dans un plan d'eau et dans une rivière.	55 -
Figure 31 : A. Historique de la documentation sur les cyanotoxines (Merel et al., 2013 a) B. Nombre d'articles publiés par an sur les cyanotoxines (Merel et al., 2013 a) C. Cumul des articles publiés sur les cyanotoxines et distribution des thématiques (Merel et al., 2013 b).	56 -
Figure 32 : Nombre de publications annuelles sur les cyanotoxines (moyenne sur 2004-2012) (Merel et al., 2013a).	57 -
Figure 33 : Structure moléculaire générale des microcystines (Chorus & Bartram, 1999).....	58 -
Figure 34 : Sensibilité et sélectivité des différentes méthodes d'analyses des microcystines (Chorus et Bartram, 1999).	60 -
Figure 35 : Etapes de préparation avant analyse des microcystines par méthodes physico-chimiques (dont HPLC-UV/PDA)..	61 -
Figure 36 : Diversité des méthodes de lyse et extraction cellulaire	62 -
Figure 37 : Développement de l'extraction en phase solide (SPE) (Andrade-Eiroa et al., 2016) (*Environmental Protection Agency)	63 -
Figure 38 : Principes de l'extraction sur SPE.....	63 -
Figure 39 : Vue d'ensemble de la filière de traitement de l'eau et effets sur les cyanobactéries et leurs cyanotoxines. CCs = Cellules de Cyanobactéries – TICs = Toxines Intracellulaires – TECs = Toxines Extracellulaires – SPCTs = Sous-produits de Cyanotoxines. (Adapté de Merel et al., 2013).	66 -
Figure 40 : Efficacité d'élimination de MC-LR en fonction de la concentration en MC-LR, de la dose de CAP et de la concentration en MON (adapté de Campinas et Rosa, 2010)	75 -
Figure 41: Prévisions du climat de la fin du XXI ^{ème} siècle (a) Prévisions des émissions anthropiques annuelles de CO ₂ selon les différents scénarios (RCP) (traits de couleur) et catégories de scénarios associées utilisées par le groupe de travail III (GTIII) (ombrage en couleur représentant la fourchette de 5 à 95%) et (b) Prévisions de la température moyenne à la surface du globe. Les séries chronologiques et l'incertitude (parties ombrées) sont présentées pour les scénarios RCP2,6 et 8,5. Les moyennes et incertitudes associées sur la période 2081-2100 sont fournies pour tous les scénarios RCP sous forme de bandes verticales à droite du graphe. Le nombre de modèles utilisés pour calculer la moyenne multi-modèles est indiqué. (GIEC, 2013).	76 -
Figure 42 : Températures moyennes interannuelles simulées en période annuelle : 1994 – 2011 (à gauche) et à la fin du XXI ^{ème} siècle : 2082 – 2099 (à droite) (Beaufort, 2015).	77 -
Figure 43 : Evolution des précipitations moyennes (GIEC, 2013)	78 -
Figure 44 : Démarche expérimentale globale de cette étude.	85 -
Figure 45: Protocole de fractionnement de la matière organique selon son caractère hydrophobe.	89 -
Figure 46 : Description d'une lame de Malassez.....	91 -
Figure 47: Protocole de préparation d'un échantillon pour le dosage des MCS intra- et extracellulaires (adapté depuis Chorus et Bartram, 1999 ; Meriluoto et Spoof, 2005 ; ISO 20179 :2005 ; Cong et al., 2006 et Antoine et al., 2009)	93 -
Figure 48: Conditions expérimentales des cultures de laboratoire et suivi des populations phytoplanctoniques et des caractéristiques de la MO	98 -
Figure 49: Localisation des trois sites d'étude (source : http://www.atlas-monde.net/).....	100 -
Figure 50: A) Localisation géographique du plan d'eau (source : https://www.ezilon.com/maps/europe/sweden-physical-maps.html). B) Vue aérienne du lac Vombsjön (Suède) (source : kartor.embro.se) et localisation des points de prélèvement. C) Caractéristiques du plan d'eau.....	101 -
Figure 51: A) Localisation géographique du plan d'eau (source : http://e-sushi.fr/map-of-france). B) Vue aérienne de l'étang de Pigeard (France) (source : géoportail) et localisation du point de prélèvement. C) Caractéristiques du plan d'eau	102 -
Figure 52: A) Localisation géographique de la rivière (source : https://www.actualitix.com/carte-togo.html). B) Vue aérienne de la rivière Kara, 1-2 et 3 sont 3 ruisseaux qui alimentent la rivière (source : https://earth.google.com/)	103 -
Figure 53 : Frise chronologique des prélèvements et mesures in-situ et des analyses sur l'eau en laboratoire associées	105 -
Figure 54: Méthodologie d'étude de l'efficacité d'adsorption sur CAP	107 -
Figure 55: Protocole d'extraction des fractions de la MO par désorption des résines DAX-8 et XAD-4.....	108 -
Figure 56: Protocole des tests d'adsorption de la MO et de MC-LR sur CAP	110 -
Figure 57 : Performances des deux CAP de l'agglomération de Limoges sur l'élimination de l'absorbance à 254 nm et du COD d'un échantillon du milieu naturel.....	112 -

Figure 58 : Quelques exemples de gradients testés	- 118 -
Figure 59 : Comparaison du gradient de phases mobiles de la norme ISO 20179 : 2005 et de la méthode optimisée (1).....	- 118 -
Figure 60 : Séparation de MC-RR, -YR et -LR présentes dans de l'eau ultra pure par HPLC-UV/PDA. Données mesurées à 238 nm.....	- 118 -
Figure 61 : Comparaison de la courbe de calibration de MC-LR dans de l'EUP et dans de l'ES. Analyses par HPLC-UV/PDA à 238.....	- 119 -
Figure 62 : Protocole de pré-concentration sur SPE adapté depuis la littérature. En rouge, les étapes optimisées.....	- 121 -
Figure 63 : %RE de MCs dans un mélange contenant 1 µg.L ⁻¹ de chaque variant (i.e. MC-RR, -YR et -LR). Extraction opérée sur OASIS HLB et analyse par HPLC-UV/PDA à 238 nm.	- 123 -
Figure 64 : %RE de MCs depuis un mélange contenant 1 µg.L ⁻¹ de chaque variant (i.e. MC-RR, -YR et -LR). Extraction opérée sur OASIS HLB et analyse sur HPLC-UV/PDA à 238 nm	- 123 -
Figure 65 : Comparaison des chromatogrammes de MC-LR (1 µg.L ⁻¹) contenue dans de l'EUP et de l'ES après pré-concentration sur SPE.....	- 123 -
Figure 66 : Comparaison des chromatogrammes de MC-LR (1 µg.L ⁻¹) contenue dans de l'EUP dopée en MO (HPO à 2,5 mg C.L ⁻¹) ¹ avec ou sans prétraitement sur SPE.....	- 125 -
Figure 67 : %RE de MC-LR (1 µg.L ⁻¹) présente dans des solutions d'EUP dopées ou non en MO. Extraction opérée sur OASIS HLB et analyse sur HPLC-UV/PDA à 238 nm.....	- 125 -
Figure 68 : Evolution de l'absorbance à 750 nm et détermination des phases de croissance pour la culture de <i>M. aeruginosa</i> . -	129 -
Figure 69 : Evolution de la concentration en COD (a) et des concentrations des fractions de MOA (b) au cours de la croissance de <i>M. aeruginosa</i>	- 131 -
Figure 70 : Répartition des fractions hydrophobes dans la solution à la fin de chaque phase de croissance de <i>M. aeruginosa</i> . -	133 -
Figure 71 : (a) Evolution de la concentration totale en MCs au cours du vieillissement de la culture ; (b) Evolution des proportions en toxines intra et extracellulaires au cours du vieillissement. (I : Initial ; Ed : début phase Exponentielle ; Ef : fin phase Exponentielle ; S : Stationnaire ; D : déclin).....	- 134 -
Figure 72 : Effet de la température sur la croissance de <i>M. aeruginosa</i> , suivi de (a, b, c) l'absorbance à 750 nm et (d, e) la concentration cellulaire (1 : phase de latence ; 2 : phase exponentielle).....	- 136 -
Figure 73 : Effet de la pluviométrie sur la croissance de <i>M. aeruginosa</i> cultivée à 23°C. Les apports sont simulés par ajout de milieu Z8 contenant des AF à une concentration moyenne de 21 ± 1 mg C.L ⁻¹	- 137 -
Figure 74 : Effet de la pluviométrie sur la croissance de <i>M. aeruginosa</i> cultivée à 15°C. Les apports sont simulés par ajout de milieu Z8 contenant des AF à une concentration moyenne de 21 ± 1 mg C.L ⁻¹	- 138 -
Figure 75 : Effets de la température sur la production de MOA (totale et par fractions hydrophobes) par une culture de <i>M. aeruginosa</i>	- 141 -
Figure 76 : Variations des taux de production de MOA en fonction de la température de culture	- 142 -
Figure 77 : Proportion du COD total allouée (a) aux apports par ruissellement et (b) aux apports par orage lors de la croissance de <i>C. vulgaris</i> sous une température de 23°C	- 142 -
Figure 78 : Effets de la pluviométrie sur la quantité de MOA produite par <i>M. aeruginosa</i> soumise à une température de 23°C. Les apports sont simulés par ajout de milieu Z8 contenant des AF à une concentration moyenne de 21 ± 1 mg C.L ⁻¹	- 143 -
Figure 79 : Variations des taux de production de MOA en fonction des apports, sous une température de 23°C	- 144 -
Figure 80 : Effets de la pluviométrie sur la quantité de MOA produite par <i>M. aeruginosa</i> soumise à une température de 15°C. Les apports sont simulés par ajout de milieu Z8 contenant des AF à une concentration moyenne de 21 ± 1 mg C.L ⁻¹	- 145 -
Figure 81 : Proportion du COD total allouée (a) aux apports par ruissellement et (b) aux apports par orage lors de la croissance de <i>C. vulgaris</i> sous une température de 23°C	- 146 -
Figure 82 : Variations des taux de production de MOA par <i>M. aeruginosa</i> en fonction de la température de culture	- 146 -
Figure 83 : Effets de la température sur les caractéristiques de la MOA produite par <i>M. aeruginosa</i>	- 147 -
Figure 84 : Effets de la pluviométrie sur les caractéristiques de la MOA produite par <i>M. aeruginosa</i> sous une température de 15°C	- 148 -
Figure 85 : Impact de la température sur (a) la concentration totale en MCs (b) la proportion en toxines intra et extracellulaires. (I : Initial ; Ed : début phase Exponentielle ; Ef : fin phase Exponentielle ; S : Stationnaire ; D : déclin).....	- 149 -
Figure 86 : Sous une température de 23°C, conséquences de la pluviométrie sur (a) Evolution de la concentration totale en MCs en fonction de la température de culture. (b) Evolution de la proportion en toxines intra et extracellulaires. (I : Initial ; Ed : début phase Exponentielle ; Ef : fin phase Exponentielle ; S : Stationnaire ; D : déclin).....	- 150 -

Figure 87: Sous une température de 15°C, conséquences de la pluviométrie sur (a) Evolution de la concentration totale en MCs en fonction de la température de culture. (b) Evolution de la proportion en toxines intra et extracellulaires. (I : Initial ; Ed : début phase Exponentielle ; Ef : fin phase Exponentielle ; S : Stationnaire ; D : déclin).....	150 -
Figure 88 : Evolution de la concentration cellulaire et détermination des phases de croissance pour <i>C. vulgaris</i>	151 -
Figure 89 : Evolution de la concentration en COD (a) et des concentrations des fractions de MOA (b) au cours de la croissance de <i>C. vulgaris</i>	152 -
Figure 90 : Répartition des fractions hydrophobes dans la solution à la fin de chaque phase de croissance de <i>C. vulgaris</i>	153 -
Figure 91 : Effet de la température sur la croissance de <i>C. vulgaris</i> , suivi de (a, b, c) l'absorbance à 685 nm et (d, e) la concentration cellulaire (1 : phase de latence ; 2 : phase exponentielle).....	155 -
Figure 92 : Effet de la pluviométrie sur la croissance de <i>C. vulgaris</i> cultivée à 23°C. Les apports sont simulés par ajout de milieu Z8 contenant des AF à une concentration moyenne de 21 ± 1 mg C.L ⁻¹	157 -
Figure 93 : Effet de la pluviométrie sur la croissance de <i>C. vulgaris</i> cultivée à 15°C. Les apports sont simulés par ajout de milieu Z8 contenant des AF à une concentration moyenne de 21 ± 1 mg C.L ⁻¹	158 -
Figure 94 : Effets de la température sur la quantité de MOA produite par <i>C. vulgaris</i>	160 -
Figure 95 : Variations des taux de production de MOA en fonction de la température de culture	161 -
Figure 96 : Effets de la pluviométrie sur la quantité de MOA produite par <i>C. vulgaris</i> soumise à une température de 23°C. Les apports sont simulés par ajout de milieu Z8 contenant des AF à une concentration moyenne de 21 ± 1 mg C.L ⁻¹	162 -
Figure 97 : Proportion du COD total allouée (a) aux apports par ruissellement et (b) aux apports par orage lors de la croissance de <i>C. vulgaris</i> sous une température de 23°C	162 -
Figure 98 : Variations des taux de production de MOA en fonction des apports par pluviométrie sous une température de 23°C....	163 -
Figure 99 : Effets de la pluviométrie sur la quantité de MOA produite par <i>C. vulgaris</i> soumise à une température de 15°C. Les apports sont simulés par ajout de milieu Z8 contenant des AF à une concentration moyenne de 21 ± 1 mg C.L ⁻¹	164 -
Figure 100 : Proportion du COD total allouée (a) aux apports par ruissellement et (b) aux apports par orage lors de la croissance de <i>C. vulgaris</i> sous une température de 15°C	165 -
Figure 101: Variations des taux de production de MOA en fonction de la température de culture	165 -
Figure 102 : Effets de la température sur les caractéristiques de la MOA produite par <i>C. vulgaris</i>	167 -
Figure 103 : Concentrations en a) azote total et b) orthophosphates (LQ : limite de quantification de l'appareil = 50 g.L ⁻¹) dans l'étang de Pigeard.....	170 -
Figure 104 : Données météorologiques mesurées à la station de Limoges-Bellegarde (située à moins de 10 km de l'étang de Pigeard) : a) Intensité lumineuse (cumulée sur 24h) et température de l'air (météo France). B) Pluviométrie quotidienne En ombré, les périodes favorables aux développements phytoplanctoniques (Intensité lumineuse > 1500 J.cm ⁻² et température de l'air > 10°C).....	171 -
Figure 105 : Evolution des paramètres durant les 21 mois de suivi : a) Température de l'air et de l'eau ; b) pH ; c) Saturation en oxygène dissous ; d) Carbone Organique Dissous. Les aires grisées représentent les périodes favorables aux proliférations phytoplanctoniques.....	173 -
Figure 106 : Evolution entre avril 2017 et janvier 2019 de la turbidité et des matières en suspension (part organique (MVS) et part minérale (MMS)).....	174 -
Figure 107 : Evolution entre avril 2017 et janvier 2019 de la chlorophylle-a et de la concentration en phytoplancton total	175 -
Figure 108 : Répartition saisonnière du phytoplancton dans le plan d'eau de Pigeard.....	176 -
Figure 109 : Evolution saisonnière des concentrations des 7 espèces majoritaires de cyanobactéries dans l'étang de Pigeard	176 -
Figure 110 : Corrélation entre la concentration en MCs totale répartie entre MCs intracellulaires et MCs extracellulaires et la concentration en cyanobactéries potentiellement productrices de MCs.	177 -
Figure 111 : Evolution entre avril 2017 et janvier 2019 de la concentration des fractions HPO, TPH et HPI de la MON de l'étang de Pigeard et concentration totale en phytoplancton.....	179 -
Figure 112 : Comparaison des répartitions des fractions de HPO, TPH et HPI et évolution de l'indice SUVA dans l'étang de Pigeard en fonction des saisons (moyenne hivernale et estivales)	180 -
Figure 113 : Evolution de la proportion de HPI en fonction de la concentration cellulaire.....	181 -
Figure 114 : Comparaison des données climatiques (moyenne sur les 7 jours précédents le prélèvement) entre les années 2012-2013 et 2017-2019. a) Moyenne des pluviométries cumulées sur 24h. b) Moyenne de la température de l'air et c) de l'ensoleillement cumulé sur 24h. En grisé, les périodes favorables aux développements de phytoplancton.	184 -
Figure 115 : Comparaison entre les années 2012-2013 et 2017-2019 a) de la température de l'eau, b) du pH, c) de la concentration en COD et d) de la concentration en chlorophylle-a.	185 -

Figure 116 : Concentration en phytoplancton total, répartition en cyanobactéries et algues, entre les années 2012-2013 et 2017-2018.	186 -
Figure 117 : Comparaison des proportions des fractions de la MON et de l'indice SUVA entre la rivière Valette et les moyennes en saisons hivernale et estivale dans l'étang de Pigeard. Comparaison entre les années 2012-2013 et 2017-2018.	187 -
Figure 118: Pluviométrie et température de l'air moyenne mensuelle (a) à Lund (Suède) (moyenne sur les années 2016-2019), (b) à Limoges (France) (moyennes sur les années 2012-2019) et (c) à Kara (Togo) (moyennes sur les années 2010-2016) -	189 -
Figure 119 : Profils (a) de température ; (b) d'oxygène dissous et (c) de pH aux dates de prélèvements.....	191 -
Figure 120 : Caractéristiques de la MON présentes dans les échantillons de Vombsjön, Kara et Pigeard.....	193 -
Figure 121 : (a) COD et (b) SUVA initial et final en fonction de la température de culture de la souche de MA.....	197 -
Figure 122 : Elimination de l'UV ₂₅₄ lors du traitement par le CAP 2 à une dose de 150 mg.L ⁻¹ en fonction du temps de contact	197 -
Figure 123 : Elimination (a) du COD et (b) de l'UV ₂₅₄ en fonction de la dose de CAP appliquée (T _{23°C} =480min ; T _{15°C} =240min) .	198 -
Figure 124 : (a) et (b) Répartition des fractions HPO, TPH et HPI dans les cultures de <i>M. aeruginosa</i> avant et après traitement. (c) et (d) Elimination des fractions HPO, TPH et HPI pour un temps de contact de 5min et au T _{eq} . Les résultats des cultures à 15°C sont sur la ligne du haut, ceux des cultures à 23°C sont sur la ligne du bas.	199 -
Figure 125 : Elimination (a) du COD et (b) de l'UV ₂₅₄ lors du traitement par le CAP 2 à une dose de 150 mg.L ⁻¹ d'eaux naturelles prélevées aux mois de mars, avril et mai 2018	200 -
Figure 126 : Evolution des concentrations des fractions de la MON avant et après traitement aux trois mois de prélèvement -	202 -
Figure 127 : Répartition des fractions HPO, TPH et HPI dans les échantillons de Pigeard avant traitement et après traitement (T = T _{eq}).....	202 -
Figure 128 : Répartition des fractions HPO, TPH et HPI de la solution de dopage	203 -
Figure 129 : Caractéristiques de la MON des échantillons bruts et dopés. Etude réalisée sur les échantillons d'eaux naturelles de mars et avril 2018.	203 -
Figure 130 : (a) et (b) élimination du COD ; (c) et (d) élimination de l'UV ₂₅₄ lors du traitement par le CAP 2 à une dose de 150 mg.L ⁻¹ . Comparaison de l'efficacité en fonction des apports de matières hydrophiles. A gauche, l'échantillon de mars et à droite celui de mai.	204 -
Figure 131 : Elimination du COD et de l'UV ₂₅₄ lors du traitement de la fraction HPI contenue dans de l'eau synthétique, par le CAP 2 à une dose de 150 mg.L ⁻¹	206 -
Figure 132 : Elimination des fractions HPO, TPH et HPI dans l'eau synthétique pour un temps de contact de 30 min.	206 -
Figure 133 : Elimination de la MC-LR contenue dans un échantillon d'eau synthétique (C _i = 8,1 ± 0,3 µg.L ⁻¹ ; [CAP] = 150 mg.L ⁻¹) et d'une culture de <i>M. aeruginosa</i> (23°C) (C _i = 1204 µg.L ⁻¹ ; [CAP] = 150 mg.L ⁻¹).....	207 -
Figure 134 : (a) et (b) Elimination du COD ; (c) et (d) Elimination de l'UV ₂₅₄ lors du traitement par le CAP 2 à une dose de 150 mg.L ⁻¹ . Comparaison de l'efficacité en fonction des apports de matières hydrophiles et des apports de matières hydrophiles et de MC-LR. A gauche, l'échantillon de mars et à droite celui de mai	208 -
Figure 135 : Répartition des fractions HPO, TPH et HPI dans les échantillons de Pigeard de mars et mai dopés en MOA ou dopés en MOA et MC-LR.....	208 -

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Prélèvements d'eau douce par secteur et par pays (FAO, 2006).....	- 12 -
Tableau 2: Caractéristiques des statuts trophiques des plans d'eau (Smith et al., 1998).....	- 20 -
Tableau 3 : Nutriment limitant en fonction de la valeur du ratio N/P.....	- 21 -
Tableau 4 : Sources naturelles et anthropiques d'apports en nutriments (Carpenter et al., 1998 ; Beusen et al., 2015).....	- 22 -
Tableau 5 : Teneurs en phosphore total sédimentaire et statuts trophiques rencontrés dans divers lacs à travers le monde.....	- 25 -
Tableau 6: Caractéristiques de quelques genres et espèces fréquemment retrouvés dans la Haute-Vienne (87) (Antoine et al., 2009 ; ARS Nouvelle-Aquitaine, 2017).....	- 40 -
Tableau 7 : Corrélations entre hydrophobicité, aromaticité et poids moléculaire de différentes matières organiques naturelles (Leloup, 2013).....	- 43 -
Tableau 8 : Méthodes de caractérisation de la matière organique dissoute : Techniques et intérêts (Adapté de Leloup, 2013 et Baccot, 2016).....	- 45 -
Tableau 9 : Concentrations en carbone organique dissous dans des plans d'eau eutrophes dans le monde.....	- 46 -
Tableau 10 : Controverses quant à la dynamique de l'hydrophobicité et aromaticité de la MOA générée lors du vieillissement d'une culture de laboratoire et de celle de la MOE/MOI.....	- 51 -
Tableau 11 : Comparaison de la production et des caractéristiques de la MOA au cours des phases de croissance d'algues et de cyanobactéries (Pivokonsky et al., 2014).....	- 52 -
Tableau 12 : Répartition des fractions HPO, TPH et HPI au sein de la MOA issue de cultures de <i>M. aeruginosa</i> en laboratoire sous différentes conditions (NC : Non Communiqué).....	- 53 -
Tableau 13 : Présentation des trois grandes familles de cyanotoxines, des espèces productrices, de l'action toxique et des effets liés (liste non exhaustive) (Chorus & Bartram, 1999 ; Meriluoto & Codd, 2005, Lévi et al., 2006 ; Merel et al., 2013). Surligné en rouge, les toxines étudiées dans l'étude.....	- 58 -
Tableau 14 : Approches biologiques d'analyse des microcystines (Merel et al., 2013 b).....	- 59 -
Tableau 15 : Description des techniques de séparation et de détection les plus communément utilisées dans l'analyse des microcystines (Merel et al., 2013). Surligné en rouge, la méthode utilisée dans l'étude.....	- 60 -
Tableau 16 : Valeur guide de concentrations en cyanotoxines dans les eaux potables selon les pays (Health Canada, 2016 ; Hoeger et al., 2005 ; Chorus, 2012).....	- 65 -
Tableau 17 : Caractéristiques de la MOA de chaque espèce avant traitement, pourcentages d'élimination de chacune des fractions et caractéristiques de la MOA après traitement par coagulation-floculation (Leloup, 2013).....	- 68 -
Tableau 18 : Impacts des procédés de traitement additionnels sur l'élimination des microcystines.....	- 70 -
Tableau 19 : Volume de micropores et mésopores en fonction du matériau d'origine du CA.....	- 71 -
Tableau 20 : Paramètres influençant l'élimination des MCs.....	- 74 -
Tableau 21: Analyses effectuées en fonction du type d'échantillon.....	- 86 -
Tableau 22: Matériels utilisés en France avec le multi-paramètres 3430 IDS.....	- 86 -
Tableau 23 : Limites de quantification et de détection des cations et anions par chromatographie ionique.....	- 87 -
Tableau 24: Mesures de caractérisation du phytoplancton réalisées en fonction du type d'échantillon.....	- 90 -
Tableau 25: Caractéristiques des espèces d'algue et de cyanobactérie cultivées au laboratoire.....	- 96 -
Tableau 26: Composition du milieu de culture Z8.....	- 97 -
Tableau 27: Description des climats des trois pays d'étude. (Au Togo, la T°C de l'air moyenne est basée sur les années 1980-2010, la T°C maximale sur les années 1981-1998 et la T°C minimale sur les années 1977-1998, les précipitations sont basées sur les années 1960-2008. En France, les moyennes sont basées sur les années 1981-2010. En Suède, les moyennes sont basées sur les années 2010-2017).....	- 100 -
Tableau 28 : Principaux usages de l'eau des sites d'étude.....	- 100 -
Tableau 29 : Qualité physico-chimiques et concentrations en nutriments (mg.L ⁻¹) moyens dans les ruisseaux alimentant la rivière Kara.....	- 104 -
Tableau 30: Résumé des 17 échantillons étudiés.....	- 106 -
Tableau 31 : Caractéristiques de l'eau synthétique (concentrations en mg.L ⁻¹).....	- 109 -
Tableau 32: Conditions expérimentales des cinétiques et isothermes d'adsorption.....	- 109 -
Tableau 33: Spécificités des CAP testés.....	- 111 -
Tableau 34 : Optimisation de la méthode d'analyse des MCs par HPLC-UV/PDA.....	- 117 -
Tableau 35 : Performances de l'HPLC-UV/PDA utilisant une colonne XBridge C18 (3.5µm – 4.6x100mm) et le gradient d'élution optimisé (LQ = Limite de Quantification ; LD = Limite de Détection).....	- 119 -

Tableau 36 : Pourcentage de récupération de MC-LR en fonction de la teneur en MeOH dans l'étape 2 du nettoyage.....	120 -
Tableau 37 : Protocole fourni par Waters et optimisations.....	120 -
Tableau 38 : Performances de la méthode d'analyse des MCs extracellulaires dans l'EUP. Pré-concentration de l'échantillon sur OASIS HLB et analyse par HPLC-UV/PDA à 238 nm.	121 -
Tableau 39 : Tests d'interférences de la matrice sur la récupération des MCs après pré concentration sur SPE.....	122 -
Tableau 40 : %RE à la suite du dopage avec MC-LR d'échantillons issus du milieu naturel	125 -
Tableau 41 : Durées des phases de croissance d'une culture de <i>M. aeruginosa</i> en fonction des conditions environnementales.....	130 -
Tableau 42 : Taux de production de COD par phase et par fraction (mg C.L ⁻¹ .jour ⁻¹)	132 -
Tableau 43 : Disparités du taux de production de MOA et des concentrations en COD en chaque phase de croissance d'une culture de <i>M. aeruginosa</i> en fonction des conditions environnementales. (Durée en jour ; taux de production en mg C.L ⁻¹ .jour ⁻¹ ; COD mesurée à la fin de la phase en mg C.L ⁻¹).....	132 -
Tableau 44 : Indices SUVA mesurés à la fin de chaque phase de croissance.....	133 -
Tableau 45 : Indices SUVA des fractions de MOA produite par <i>M. aeruginosa</i> (Leloup et al., 2013).....	134 -
Tableau 46 : Taux de croissance (DO.jour ⁻¹) en fonction de la température de culture.....	135 -
Tableau 47 : Concentrations et caractéristiques des apports simulant un ruissellement ou un orage	136 -
Tableau 48 : Volume de milieu Z8 (mL) et quantité de MO (mg COD _{AF}) ajoutés dans les erlenmeyers au cours de chaque phase de croissance de <i>M. aeruginosa</i> . Durée des phases de croissance définie à partir de la culture à 23°C	137 -
Tableau 49 : Volume de milieu Z8 (mL) et quantité de MO (mg COD _{AF}) ajoutés dans les erlenmeyers au cours de chaque phase de croissance de <i>M. aeruginosa</i> . Durée des phases de croissance définie à partir de la culture à 15°C	138 -
Tableau 50 : Effet des apports sur la croissance de <i>M. aeruginosa</i> à 15°C.....	139 -
Tableau 51 : Effets de la température et de la pluviométrie sur la croissance de <i>M. aeruginosa</i> . Dans le cas de la température, les résultats sont comparés aux conditions 23°C-ruissellement. Dans le cas de la pluviométrie à 23°C, les résultats sont comparés aux conditions 23°C – sécheresse. Dans le cas de la pluviométrie à 15°C, les résultats sont comparés au cas 15°C – sécheresse. (R : ruissellement ; O : orage).....	139 -
Tableau 52 : Effets de la température et de la pluviométrie sur la production de MOA par <i>M. aeruginosa</i> . Dans le cas de la température, les résultats sont comparés aux conditions 23°C-ruissellement. Dans le cas de la pluviométrie à 23°C, les résultats sont comparés aux conditions 23°C – sécheresse. Dans le cas de la pluviométrie à 15°C, les résultats sont comparés aux conditions 15°C – sécheresse. (S : sécheresse ; R : ruissellement ; O : orage).....	147 -
Tableau 53 : Production de MCs totale par cellule de <i>M. aeruginosa</i> (µg MCs.cellule ⁻¹) en fonction de la température.	149 -
Tableau 54 : Taux de production du COD par phase et par fraction (mg C.L ⁻¹ .jour ⁻¹).....	152 -
Tableau 55 : Apport en fraction organique généré par la culture au cours de chaque phase de croissance	153 -
Tableau 56 : Indices SUVA mesurés à la fin de chaque phase de croissance. (En grisé, les résultats de la présente étude).	154 -
Tableau 57 : Taux de croissance (DO.jour ⁻¹) en fonction de la température de culture.....	156 -
Tableau 58 : Volume de milieu Z8 (mL) et quantité de MO (mg COD _{AF}) ajoutés dans les erlenmeyers au cours de chaque phase de croissance de <i>C. vulgaris</i> . Durée des phases de croissance définie à partir de la culture à 23°C.....	156 -
Tableau 59 : Volume de milieu Z8 (mL) et quantité de MO (mg COD _{AF}) ajoutés dans les erlenmeyers au cours de chaque phase de croissance de <i>C. vulgaris</i> . Durée des phases de croissance définie à partir de la culture à 15°C.....	157 -
Tableau 60 : Effets de la température et de la pluviométrie sur la croissance de <i>C. vulgaris</i> . Dans le cas de la température, les résultats sont comparés aux conditions 23°C-ruissellement. Dans le cas de la pluviométrie à 23°C, les résultats sont comparés aux conditions 23°C – sécheresse. Dans le cas de la pluviométrie à 15°C, les résultats sont comparés au cas 15°C – sécheresse. (R : ruissellement ; O : orage).....	159 -
Tableau 61 : Effets de la température et de la pluviométrie sur la production de MOA par <i>C. vulgaris</i> . Dans le cas de la température, les résultats sont comparés aux conditions 23°C-ruissellement. Dans le cas de la pluviométrie à 23°C, les résultats sont comparés aux conditions 23°C – sécheresse. Dans le cas de la pluviométrie à 15°C, les résultats sont comparés au cas 15°C – sécheresse. (S : sécheresse ; R : ruissellement ; O : orage)	166 -
Tableau 62 : Moyennes et extrêmes climatiques mesurées à chaque période identifiée sur l'étang de Pigeard	172 -
Tableau 63 : Relation entre climat, qualité physico-chimique de l'eau et proportion des fractions HPI, HPO.	182 -
Tableau 64 : Indices SUVA globaux et des fractions de la MON de 2017, 2018 comparés aux indices SUVA de la MOA produite par les cultures de laboratoires.....	183 -
Tableau 65 : Evolution des indices SUVA de l'étang de Pigeard en fonction des saisons	188 -
Tableau 66 : Qualité physico-chimique et concentrations en nutriments dans les échantillons	190 -
Tableau 67 : Caractéristiques du phytoplancton dans les échantillons	191 -
Tableau 68 : Concentrations en COD dans les échantillons	192 -

Tableau 69 : Elimination de l'UV_{254nm} et du COD en fonction de la concentration après 60 min de contact. Condition : CAP 1 - 196 -

Tableau 70 : Elimination de l'UV_{254nm} et du COD en fonction du CAP après 60 min de contact. Condition : 150 mg.L⁻¹ - 196 -

Tableau 71 : Quantité et caractéristiques de la MOA issue des cultures de *M. aeruginosa* cultivées à 15°C et 23°C - 196 -

Tableau 72 : Climat et caractéristiques des échantillons de Pigeard aux trois mois de prélèvement (année 2018) - 200 -

Tableau 73 : Comparaison des paramètres caractéristiques des isothermes de Langmuir et Freundlich entre les échantillons de Pigeard prélevés à différents mois de l'année 2018 - 201 -

Tableau 74 : Indice SUVA des fractions HPO, TPH et HPI avant et après traitement ($T = T_{\text{ea}}$) (cas du mois de mars) - 202 -

Tableau 75 : Comparaison des paramètres caractéristiques des isothermes de Langmuir et Freundlich entre les échantillons de Pigeard non dopés et dopés en MOA - 205 -

LISTE DES EQUATIONS

Équation I	- 43 -
Équation II	- 87 -
Équation III	- 87 -
Équation IV	- 87 -
Équation V	- 88 -
Équation VI	- 89 -
Équation VII	- 90 -
Équation VIII	- 90 -
Équation IX	- 90 -
Équation X	- 91 -
Équation XI	- 92 -
Équation XII	- 94 -
Équation XIII	- 95 -
Équation XIV	- 95 -
Équation XV.....	- 95 -
Équation XVI	- 95 -
Équation XVII	- 108 -
Équation XVIII.....	- 110 -
Équation XIX	- 111 -
Équation XX	- 111 -
Équation XXI	- 111 -

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Arbre décisionnel relatif à la gestion des cyanobactéries dans les plans d'eau à vocation récréative (ARS Bretagne, Juin 2016 adapté de la note d'information de la DGC/EA4 n° 2015-181 du 2 juin 2015).....	- 235 -
Annexe 2 Représentations graphiques des linéarisations de Langmuir (a) et de Freundlich (b) appliquées aux échantillons de l'étang de Pigeard aux mois de mars, avril et mai	- 236 -

LISTE DES ABREVIATIONS

Ac : Anticorps	MON : Matière Organique Naturelle
ACh : Acétylcholine	MS : Mass Spectrometry (spectrométrie de masse)
AChE : Acétylcholinestérase	MVS : Matière Volatile en Suspension
ACN : Acétonitrile	NODs : Nodularines
AF : Acide Fulvique	OMS : Organisation Mondiale de la Santé (WHO en anglais)
APTxs: Aplysiatoxines	PCR : Polymerase chain reaction (Réaction de polymérisation en chaîne)
ANTX-a : Anatoxine-a	PP : Protéine phosphatase
BMAA : β -N-méthylamino-L-alanine	PSM : Poste de Sécurité Microbiologique
CE : Capillary Electrophoresis (électrophorèse capillaire)	PSP : Paralytic shellfish poisoning (intoxication paralysante par les fruits de mer)
CAP : Charbon Actif en Poudre	RMN : Résonance magnétique nucléaire
Chl-a : Chlorophylle-a	STXs : Saxitoxines
COD : Carbone Organique Dissous	SPE : Solid Phase Extraction
CYN : Cyindropermopsine	SUVA : Specific UV Absorbance
DAD : Diode Array Detector (Détecteur à barrettes de diodes)	TFA : Acide trifluoroacétique
DCE : Directive Cadre sur l'Eau	TPH : Composés Transphiliques
DGS : Direction Générale de la Santé	UV : Ultra-Violet
ELISA: Enzyme-Linked Immune-Sorbent Assay (Test immuno-enzymatique)	
HPI : Composés Hydrophiles	
HPLC: Chromatographie Liquide à Hautes Performances	
HPO : Composés Hydrophobes	
LPS: Lipopolysaccharides	
LTXs: Lyngbyatoxines	
MCs: Microcystines	
MC-LR : Microcystine-LR	
MeOH : Méthanol	
MES : Matières en Suspension	
MMS : Matières Minérales en Suspension	
MO : Matière Organique	
MOA : Matière Organique Algale	
MOD : Matière Organique Dissoute	
MOE : Matière Organique Extracellulaire	
MOI : Matière Organique Intracellulaire	

LISTE DES COMMUNICATIONS

- **Publication dans des revues internationales**

- Thuret Benoist, H., Pallier, V., Feuillade, G. 2019. Quantification of Microcystins in natural waters by HPLC-UV/PDA after a pre-concentration step: validation of analytical performances and study of interferences. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. (Publié)

- **Communications internationales et actes de conférence**

- Thuret Benoist, H., Pallier, V., Feuillade-Cathalifaud, G. 2018. Impact of eutrophication on adsorption efficiency during water treatment: reactivity of organic matter & Microcystin. ICHA 2018, 21-26 October 2018, Nantes (France). (Communication orale, résumé)

- Thuret Benoist, H., Feuillade-Cathalifaud, G., Pallier, V. 2018. Climate changes effect on Algal Organic Matter and MC-LR production: lab culture experiments and *in-situ* monitoring. ICHA 2018, 21-26 October 2018, Nantes (France). (Poster, résumé)

- Thuret Benoist, H., Pallier, V., Feuillade-Cathalifaud, G. 2018. Impact of eutrophication on adsorption efficiency on Powdered Activated Carbon: reactivity of Organic Matter and Microcystin. French-Swedish autumn school, 18 October 2018, Limoges (France). (Communication orale)

- Thuret Benoist, H., Pallier, V., Feuillade-Cathalifaud, G. 2018. Climate changes effect on Algal Organic Matter characteristics and cyanotoxins production in eutrophic pond: lab culture and on field monitoring. Water JPI Conference "Emerging Pollutants in freshwater ecosystems", 6-7 June 2018, Helsinki (Finland). (Poster, résumé)

- **Communication nationale et acte de conférence**

- Thuret Benoist, H., Pallier, V., Feuillade-Cathalifaud, G. 2018. Influence des conditions climatiques sur les caractéristiques de la Matière Organique Algale générée lors de phénomènes d'eutrophisation. Etude en culture de laboratoire de *Chlorella vulgaris* et *Microcystis aeruginosa*. ResMO « la matière organique dans tous ces états », 4-7 février 2018, Trégastel (France). (Communication orale, résumé)

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION

L'eau est à la fois un besoin vital et un besoin économique, une source de plaisirs (baignade, thalassothérapie, ...) mais aussi de risque (pollutions diffuses, catastrophes naturelles, ...). La protection de la ressource est une préoccupation majeure afin de permettre à toute forme de vie (humaine, animale et végétale) mais aussi à toutes activités (individuelle, collective, économique, ...) de bénéficier d'une eau de bonne qualité et en quantité suffisante. Paradoxalement, les différents usages de l'eau (domestiques, industriels, agricoles, ...) contribuent à détériorer la ressource, compromettant sa qualité ainsi que le bon fonctionnement écologique du milieu.

Le phénomène d'eutrophisation, processus naturel de vieillissement des écosystèmes aquatiques, est accéléré par les activités anthropiques (agricoles, domestiques, industrielles), à l'origine de rejets dans le milieu naturel, notamment de phosphore et d'azote. Ces apports excessifs en nutriments viennent s'accumuler dans les plans d'eau *via* les eaux de ruissellement et d'infiltration. Dans ces écosystèmes aquatiques fermés, la production primaire est naturellement limitée par les concentrations en phosphore et en azote. Leurs apports en excès leur font donc perdre momentanément leurs statuts de facteurs limitants et dans ce contexte, lorsque les conditions environnementales (température, luminosité, stabilité de la masse d'eau) sont favorables, le phytoplancton prolifère.

Ces proliférations, généralement assimilées à des blooms cyanobactériens, seront d'autant plus intenses que les experts climatiques prévoient une évolution du climat d'ici la fin du siècle en faveur de leurs développements, sur l'ensemble des continents. En effet, l'augmentation du CO₂ atmosphérique, de la température moyenne et des phénomènes pluviométriques extrêmes favorisent la libération du phosphore piégé dans les sols et sédiments (par érosion ou par relargage lors des phénomènes d'anoxie estivale) et soutiennent les proliférations cyanobactériennes avec une extension de la durée de la période favorable au développement et une expansion des zones géographiques.

Parmi les effets connus des phénomènes d'eutrophisation, outre les impacts négatifs sur les usages récréatifs, ils génèrent des conséquences néfastes sur les écosystèmes aquatiques avec un changement de communautés de producteurs primaires entraînant une perte de biodiversité. Ces blooms participent également à la dégradation de la qualité de l'eau par augmentation de la charge organique et de la turbidité et par libération de métabolites secondaires potentiellement toxiques. En effet, en conséquence des proliférations de phytoplancton, il y a une surproduction de matière organique liée à l'activité métabolique des cellules phytoplanctoniques et à la libération de métabolites intracellulaires lors de la sénescence des cellules. L'ensemble de cette matière organique produite, qualifiée d'allochtone, est appelée Matière Organique Algale et elle se différencie de la Matière Organique Naturelle autochtone, qui, comme son nom l'indique, est naturellement présente dans la ressource en eau. Ces deux types de matières organiques ne suivent pas la même dynamique et présentent des caractéristiques différentes ; la MOA se caractérise par un caractère hydrophile élevée (> 50% HPI) et un caractère aromatique faible (SUVA < 20 L.cm⁻¹.g C⁻¹) (Her *et al.*, 2004 ; Nguyen *et al.*, 2005 ; Henderson *et al.*, 2008 ; Zhang *et al.*, 2011 ; Li *et al.*, 2012 ; Leloup, 2013) alors que la MON présente un caractère hydrophobe marqué (38-56% HPO) et un caractère aromatique plus élevé (15-50 L.cm⁻¹.g C⁻¹) (Imai *et al.*, 2001 ; Labanowski et Feuillade, 2009 ; Leloup, 2013). Au cours du temps, la matière organique algale va progressivement s'intégrer au cycle de la matière organique naturelle, en augmentant sa charge et modifiant ses caractéristiques propres ; la rendant plus

hydrophile et moins aromatique. Ces blooms cyanobactériens peuvent également entraîner la présence dans la ressource en eau de métabolites dangereux pour la santé humaine appelés cyanotoxines. Ces molécules sont transférées à l'homme par inhalation, contact ou ingestion d'eau ou d'aliment contaminés. Les microcystines, toxines les plus fréquemment retrouvées, sont des hépatotoxines qui provoquent, selon la quantité et la fréquence d'ingestion, des symptômes comme de simples diarrhées jusqu'à des tumeurs au foie ou au tube digestif. Ainsi, en période de blooms cyanobactériens, les évolutions quantitatives et qualitatives de la MON et les risques sanitaires associés à la présence de toxines nécessitent des adaptations et des optimisations des procédés de traitement des eaux conventionnels afin de respecter les réglementations et maintenir la qualité de l'eau. La coagulation-floculation, procédé usuel d'élimination de la matière organique, voit en effet son efficacité diminuer en présence de matière organique algale et est inefficace pour l'élimination des microcystines libres dans l'eau. Une étape additionnelle d'adsorption sur Charbon Actif en Poudre (CAP) est donc nécessaire afin de permettre la rétention conjointe de la matière organique réfractaire à la coagulation-floculation et des microcystines.

A l'exception de l'Antarctique, pour lequel les données sont encore insuffisantes, tous les continents recensent des blooms de cyanobactéries et les évolutions climatiques prédites vont soutenir ces proliférations. Il apparaît alors nécessaire de caractériser le phénomène et d'évaluer l'impact des variations climatiques sur le développement du phytoplancton, la production de matière organique et la génération de toxines afin d'anticiper la dégradation de la qualité de l'eau. Pour évaluer le rôle du climat, caractériser ses effets sur le phénomène et prévoir les changements, trois pays aux climats opposés sont suivis : la Suède, la France et le Togo. Sur un axe Nord-Sud, les pays sont soumis à des régimes climatiques variés : les pays nordiques présentent une température moyenne annuelle faible (7,6°C en Suède) en comparaison aux pays du sud (27,4°C au Togo) ; les précipitations moyennes annuelles sont variables en quantité (650 mm en Suède contre 1328 mm au Togo) et en répartition (4 saisons en Suède contre seulement 2 au Togo), mais aucun n'échappe aux proliférations récurrentes de cyanobactéries. Chaque pays présente des périodes favorables et défavorables aux développements de phytoplancton en raison d'une température trop faible, comme en Suède, ou d'une pluviométrie trop élevée, comme au Togo. Les changements climatiques prédits risquent d'étendre les périodes favorables, notamment en Suède avec l'augmentation de la température. Les dégradations actuelles au sud seront-elles celles de demain au nord ?

Ce travail de thèse s'inscrit dans la continuité du projet européen CYAME (2010-2013), et vise à identifier et comprendre l'impact des variations climatiques sur l'intensité et la recrudescence des phénomènes d'eutrophisation. L'étude s'intéresse plus particulièrement à la dynamique du phytoplancton (croissance, concentration cellulaire, taux de production de MOA), à la production quantitative et qualitative de MOA (évaluation du caractère hydrophobe et aromatique) et à l'impact de ses apports récurrents sur les caractéristiques de la matière organique naturelle de plans d'eau eutrophes (suivi *in situ* de l'étang de Pigéard). Elle est complétée par l'évaluation de l'élimination des toxines par adsorption sur CAP en considérant les compétitions d'adsorption avec la MON (tests de cinétique et isotherme d'adsorption).

Afin de répondre à ces interrogations scientifiques, ce travail combine des expérimentations en laboratoire sous conditions contrôlées simulant les conditions climatiques des 3 pays de l'étude (France, Suède et Togo) à des suivis *in situ* de ressources en eau identifiées comme ayant connu des épisodes d'eutrophisation. Ce manuscrit propose donc une présentation synthétique des recherches bibliographiques ayant permis de définir une méthodologie pertinente et d'obtenir des résultats scientifiques. Il se décompose en trois parties :

- La première partie tient lieu de synthèse des connaissances bibliographiques sur le phénomène d'eutrophisation, ses facteurs de contrôle, son ampleur dans les pays d'étude et ses conséquences diverses, ainsi que les techniques analytiques de caractérisation de la matière organique et des microcystines. Les caractéristiques des matières organiques naturelle et algale sont également présentées et corrélées aux performances des procédés de traitement des eaux afin de confirmer l'intérêt d'ajouter un traitement au charbon actif en poudre pour respecter les normes réglementaires et la qualité sanitaire de l'eau,

- La seconde partie présente la démarche expérimentale adoptée au cours de ce travail de thèse, les techniques utilisées et les analyses effectuées pour répondre à la problématique,

- La troisième partie se découpe en trois chapitres présentant une synthèse argumentée des résultats obtenus :

- Le chapitre 1 intitulé « Identification et quantification des Microcystines par HPLC-UV/PDA et pré concentration sur SPE : optimisation de la méthode et analyse des interférences » présente la méthode d'analyse par HPLC-UV/PDA optimisée pour le dosage des microcystines intra- et extracellulaires dans différents types d'échantillons (eaux naturelles aux statuts trophiques variés, eau potable), l'optimisation du protocole de pré concentration des toxines extracellulaires par extraction sur phase solide et les résultats de l'étude des interférences de la matrice (pH, conductivité, charge organique) sur cette étape de pré concentration. Cette méthode est par la suite utilisée pour le suivi de la concentration en microcystines dans les échantillons. Ces résultats ont fait l'objet d'un article publié dans « Environmental Toxicology and Pharmacology ».

- Le chapitre 2 intitulé « Effets des variations climatiques sur la réponse des espèces phytoplanctoniques en conditions d'eutrophisation : étude qualitative et quantitative de la Matière Organique Algale et suivi de la production de Microcystines » vise à étudier l'impact de variations climatiques sur la dynamique du phytoplancton, l'évolution quantitative et qualitative de la matière organique et la libération de microcystines. Ce chapitre est divisé en 2 axes. Le 1^{er} axe présente les résultats d'une étude laboratoire menée sur des cultures de *C. vulgaris* et *M. aeruginosa* cultivées sous conditions contrôlées. L'objectif est d'évaluer les effets de la température et de la pluviométrie sur les dynamiques de croissance des cultures (durée des phases, croissance et concentration cellulaire), les quantités de matière organique algale produites (quantité et taux de production), les caractéristiques de cette matière organique produite (caractère hydrophobe et aromatique) et la concentration en microcystines (totale et répartition intra- et extracellulaire). Cette étude laboratoire est complétée par des suivis *in-situ* dont les résultats sont présentés dans le 2nd axe de ce chapitre 2. Ces suivis visent à évaluer l'impact des variations climatiques sur la dynamique de la matière organique naturelle et des microcystines présentes dans des ressources en eau situées sur un axe géographique Nord-Sud et sujettes à des phénomènes d'eutrophisation. L'impact de proliférations récurrentes sur la dynamique de la matière organique naturelle et des microcystines est également étudié au travers d'un suivi à moyen terme (2012-2019) sur l'étang hyper-eutrophe de Pigéard (Nieul, 87).

- Le chapitre 3 intitulé « Impacts des phénomènes d'eutrophisation sur les performances du traitement par Charbon Actif en Poudre » présente les résultats de l'étude de l'efficacité d'un traitement par charbon actif en poudre pour l'élimination conjointe des matières organiques naturelle et algale et des microcystines. Les impacts de l'eutrophisation sont évalués par comparaison de la réactivité de fractions extraites de matière organique de caractères hydrophobe et aromatique variés. Les compétitions

d'adsorption entre microcystines et matière organique sont identifiées par comparaison de leurs rendements d'élimination seuls ou en mélange.

La synthèse globale des résultats est présentée dans une conclusion qui permet d'identifier les conditions les plus favorables à l'apport d'une matière organique algale d'une eau eutrophisée. Elle propose les conditions de traitements en charbon actif en poudre à appliquer si cette eau doit servir de ressource pour la production d'eau potable.

PREAMBULE : L'EAU & L'HOMME

L'EAU & L'HOMME

BESOINS ET DEGRADATION DES RESSOURCES

1. L'eau sur Terre : cycle hydrologique et ressources en eau disponible

L'eau recouvre 71% de la surface terrestre et pourtant, sa masse ne représente que 0,023% de celle de la Terre. L'eau change d'état (solide, liquide, gazeux) au cours de son cycle, mais sa quantité globale est inchangée depuis son apparition sur Terre (\approx 3 milliards d'années) (Maurel, 2006). La réserve d'eau sur Terre, représente 1,4 milliards de km³ (Shiklomanov et Rodda, 2003) mais seulement 2,5 % est de l'eau douce. La majeure partie de l'eau douce est stockée dans les glaciers et calottes glaciaires (69,5 %) ou sous forme d'eau souterraine (30,1 %). Seulement 0,27 % de l'eau douce est présente dans les lacs et rivières (Morel, 2007 ; Durand-Dastès, 2008). La répartition de l'eau dans les différents compartiments n'est pas fixe ; l'eau se renouvelle par évaporation et précipitation, c'est le cycle de l'eau. La différence entre les précipitations et l'évapotranspiration sur les continents représente l'écoulement total des rivières. La ressource en eau (ou ressource en eau disponible) désigne les eaux liquides en écoulement et accessibles aux usages humains (Shiklomanov, 1999).

Ce projet de thèse porte sur trois pays : la Suède, la France et le Togo. La répartition de la ressource et les usages dans chacun de ces pays seront plus particulièrement étudiés et seront comparés aux moyennes mondiales. Cette comparaison permettra de mieux comprendre les spécificités de chacun des pays pour appréhender la problématique de l'eutrophisation.

2. Une inégale répartition des ressources

Bien que l'eau douce soit abondante sur Terre, elle n'est pas répartie de façon homogène entre les différentes régions du globe. Les processus naturels distribuent l'eau inégalement dans l'espace et le temps.

2.1. Disparités spatiales

Les cycles climatiques passés et actuels ont façonné la répartition géographique des ressources en eau. En effet, les précipitations, extrêmement variables dans le monde, se répercutent directement sur les flux d'écoulement annuels moyens. Les zones les plus pluvieuses, situées à proximité de l'équateur et dans les zones tempérées, sont séparées par des zones sèches (zones tropicales et polaires). Près de 60 % des ressources naturelles d'eau douce sont partagées par 9 pays : Brésil, Fédération Russe, Indonésie, Chine, Canada, Etats-Unis, Colombie, Pérou et Inde. A l'opposé, certains pays disposent de ressources extrêmement faibles voire nulles : Emirats Arabes Unis, Libye, Singapour, Israël, Au regard de la ressource en eau, la situation d'un pays est évaluée selon trois paramètres (www.cieau.com):

- L'indice d'exploitation, qui représente la part d'eau prélevée pour l'ensemble des besoins par rapport au volume annuel moyen des apports annuels (ex : 1 % au Venezuela, 100 % en Arabie Saoudite, 17 % en France).
- Le volume des ressources naturelles : entre 500 m³.an⁻¹.personne⁻¹ à Malte à plus de 80 000 m³.an⁻¹.personne⁻¹ (Norvège, Canada). La France se situe entre 2 500 et 6000 m³.an⁻¹.personne⁻¹, la

Suède entre 15 000 et 70 000 m³.an⁻¹.personne⁻¹ et le Togo, est en zone vulnérable avec un volume entre 1 700 et 2 500 m³.an⁻¹.personne⁻¹.

- Le degré d'indépendance : l'Egypte par exemple dépend fortement des ressources externes (99 %).

Ainsi, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) considère que 1,4 milliards de personnes vivent sous le seuil de pénurie d'eau (1 000 m³.an⁻¹).

2.2. Disparités temporelles

Il y a de fortes disparités de temporalité des pluies selon les régions géographiques ; temporalité qui conditionne l'utilisation de l'eau par les sociétés humaines. La distribution temporelle des pluies varie selon la zone géographique et par conséquent le climat. Certaines régions connaissent des temporalités très longues : cycles pluriannuels qui peuvent faire alterner des périodes (décennies ou années) sèches et pluvieuses. D'autres régions connaissent des temporalités plus courtes caractérisées par de fortes accumulations de précipitations en quelques jours voire quelques heures. La France et la Suède sont soumis à un climat tempéré océanique, caractérisé par quatre saisons présentant des averses toute l'année (< 50 mm de différence entre le mois le plus sec et le plus humide). Le Togo est soumis à un climat de savane, caractérisé par quatre saisons au Sud (grande saison sèche, grande saison des pluies, petite saison sèche, petite saison des pluies) mais seulement deux au Nord (saison sèche d'octobre à mars et saison des pluies d'avril à septembre) avec une différence de l'ordre de 250 mm entre les mois les plus secs et les plus humides.

Les conditions d'usages de l'eau dépendent du rapport entre les ressources et les besoins. Les besoins se distinguent en besoins naturels et besoins anthropiques (économiques, sociaux et démographiques). Les besoins naturels s'apparentent au bilan hydrique, c'est-à-dire au rapport entre précipitations et évapotranspiration (ETP). Il existe trois régimes impactant grandement les usages de l'eau (Durand-Dastès, 2005) : bilan négatif (ETP > pluies), bilan positif avec alternance de saisons sèches et humides (ex : climat méditerranéen) et bilan positif toute l'année. Dans le cas d'un déficit saisonnier, un pays au bilan hydrique positif pourra puiser dans ses réserves souterraines.

3. Besoins anthropiques : les différents usages de l'eau

Pour comparer les usages de l'eau selon les secteurs et les pays, il est important de distinguer les termes « prélèvement » et « consommation » :

- Les prélèvements désignent les eaux prélevées dans le milieu naturel puis rejetées après utilisation ; elles sont de nouveau disponibles pour un autre usage
- La consommation correspond aux eaux prélevées réellement consommées, absorbées, qui ne peuvent être renvoyées dans le milieu naturel qu'après traitement.

Les prélèvements et consommations d'eau sont variables d'un pays à un autre en raison des contextes géographiques et climatiques variés mais également du fait de situations économiques, politiques et démographiques disparates.

3.1. Secteurs d'usages de l'eau

Près de 4 000 km³.an⁻¹ d'eau sont prélevées dans le monde pour subvenir aux besoins anthropiques. Cette quantité a presque doublé depuis 1960 et continue d'augmenter avec la croissance démographique.

Les trois grands secteurs d'utilisation de l'eau sont l'agriculture, l'industrie et le domestique. La part d'eau prélevée et consommée est variable selon le secteur d'activité et le pays (Figure 1). En effet, le climat, la répartition et densité de la population ainsi que le degré de développement économique participent à la variation inter-pays.

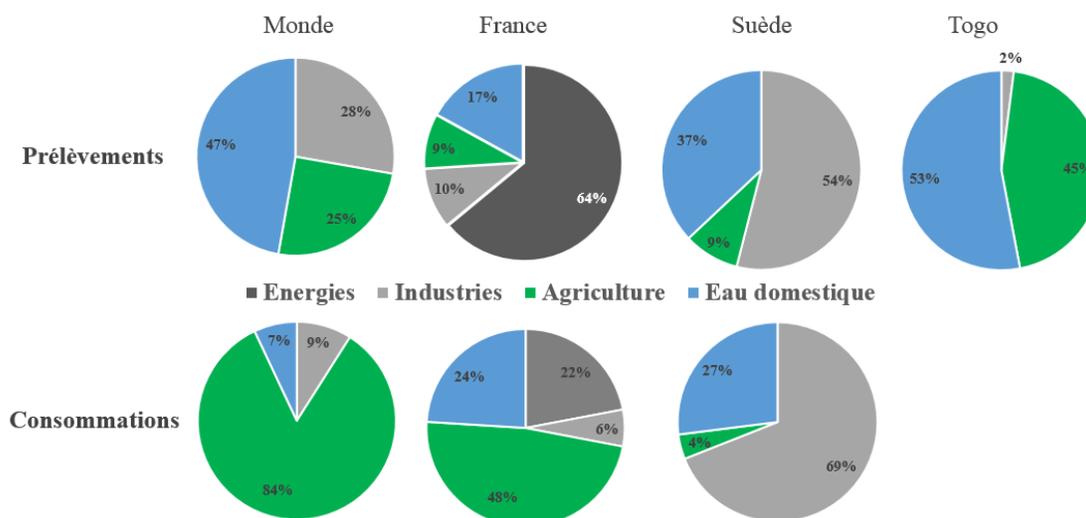


Figure 1 : Prélèvements et consommations d'eau par secteur. Comparaison entre la moyenne française et la moyenne mondiale (Morel, 2007 ; eaufrance ; scb ; fao).

Le secteur agricole regroupe l'eau utilisée pour l'irrigation, principalement, mais également pour l'alimentation du bétail et le lavage des installations. Ce secteur est le principal consommateur d'eau dans le monde. La part prélevée est plus importante dans les pays au climat sec, où l'irrigation est nécessaire, et dans les pays en voie de développement, où l'agriculture représente le secteur économique majoritaire. Jusqu'à 90 % des consommations de l'eau sont attribuées à l'irrigation dans certains pays au climat aride alors qu'elles représentent seulement 48 % en France.

Le secteur industriel (industries + énergies) regroupe l'eau utilisée pour le refroidissement des centrales, pour les processus industriels, pour le lavage et pour l'évacuation des déchets. En France, le secteur de l'énergie représente une importante part de l'eau prélevée (64 %) mais seulement 22 % de l'eau consommée. La majeure partie de l'eau prélevée est utilisée pour refroidir les centrales thermiques et nucléaires ; et est rejetée dans le milieu naturel.

L'eau domestique englobe l'eau de consommation personnelle mais aussi l'eau utilisée par les établissements commerciaux et les services publics ou municipaux (93 % pour l'hygiène et le nettoyage et 7% pour la boisson et l'alimentation). La part allouée à cet usage est supérieure dans les pays développés car est fortement dépendante du niveau et mode de vie et de l'âge.

L'eau est également utilisée comme voie de circulation ou comme support pour les activités aquatiques et nautiques et la pêche. Ces secteurs ne prélèvent ni ne consomment la ressource, mais participent à la dégradation de sa qualité.

3.2. Disparités entre les zones géographiques

Les pays ne sont pas égaux au regard de l'eau. D'une part, les processus naturels (climat) distribuent inégalement la ressource, d'autre part, la situation économique, politique et démographique du pays impacte les quantités prélevées et consommées.

3.2.1. Dans le monde

Cinq pays (Chine, Inde, Etats-Unis, Pakistan et Russie) cumulent 60 % de l'eau consommée mondiale. L'Asie et l'Amérique latine possèdent à eux deux plus de 50 % des ressources en eau (cf 2.1 Disparités spatiales). Il est également observé que l'Asie est le plus gros préleveur d'eau mondial avec 2 378 km³.an⁻¹ soit 62 % des prélèvements totaux. Dans les continents en voie de développement (Asie, Amérique latine et Afrique), l'agriculture représente plus de 70 % de l'eau prélevée alors qu'en Amérique du Nord et Europe, les usages industriels sont majoritaires (Tableau 1).

Tableau 1 : Prélèvements d'eau douce par secteur et par pays (FAO, 2006).

	Ressource en eau renouvelable		Volume d'eau douce prélevée		Domestiques		Industriels		Agricoles		Taux de prélèvement des ressources
	km ³ .an ⁻¹	%*	km ³ .an ⁻¹	%**	km ³ .an ⁻¹	%	km ³ .an ⁻¹	%	km ³ .an ⁻¹	%	%
Monde	43 659		3 830		381	10%	785	20%	2664	70%	9%
Afrique	3 936	9%	215	6%	21	10%	9	4%	184	86%	6%
Asie	11 594	27%	2 378	62%	172	7%	270	11%	1936	81%	21%
Am. latine	13 477	31%	252	7%	47	19%	26	10%	178	71%	2%
Am Nord	6 253	14%	525	14%	70	13%	252	48%	203	39%	8%
Europe	6 603	15%	418	11%	63	15%	223	53%	132	32%	6%

* pourcentage calculé par rapport à la ressource mondiale. ** pourcentage calculé par rapport au volume mondial prélevé.

En Afrique, 4 % des prélèvements sont pour les usages domestiques (Tableau 1). Pour répondre aux besoins fondamentaux d'hygiène et d'hydratation, l'OMS préconise un minimum vital de 20 L.jour⁻¹.personne⁻¹, un réel confort étant atteint à partir de 100 L.jour⁻¹.personne⁻¹. Or, actuellement dans le monde, et notamment en Afrique, 2 à 4 milliards de personnes n'ont pas accès à l'eau potable et ont moins que ce minimum vital. La consommation en eau domestique moyenne dans les pays Européens est supérieure à celle de l'Afrique mais inférieure à celles des États-Unis (Figure 2). Dans les pays où la ressource est importante, les habitants la considèrent comme inépuisable et n'ont pas de notion de gaspillage. A contrario, d'autres la perçoivent comme l'or bleu, source de tensions et conflits (ex : cas du Nil (Egypte, Ethiopie, Soudan), du Tigre et de l'Euphrate (Irak, Syrie, Turquie)).

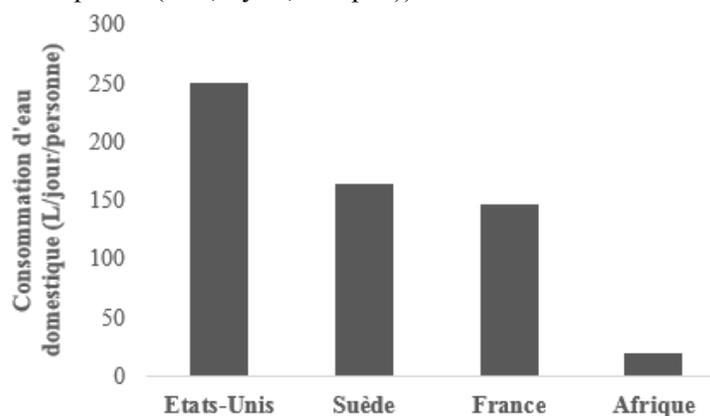


Figure 2 : Disparités des consommations domestiques moyennes selon les pays (Eurostat, eaufrance)

3.2.2. Cas de la France

La France reçoit chaque année 480 km^3 d'eau par les précipitations. Une majorité s'évapore (61 %) et s'infiltrer pour reconstituer les réserves souterraines (23 %) et une minorité (16 %) alimente les eaux de surface. Ainsi, le pays contient 191 km^3 d'eau disponible dont 17 % (32 km^3) sont consommés chaque année. Le pays connaît des disparités de consommation selon ses régions (Figure 3). La consommation domestique augmente selon un gradient Nord – Sud : le minimum est atteint en région Hauts-de-France avec $109 \text{ L.jour}^{-1}.\text{personne}^{-1}$ et le maximum est atteint en région PACA avec $228 \text{ L.jour}^{-1}.\text{personne}^{-1}$.

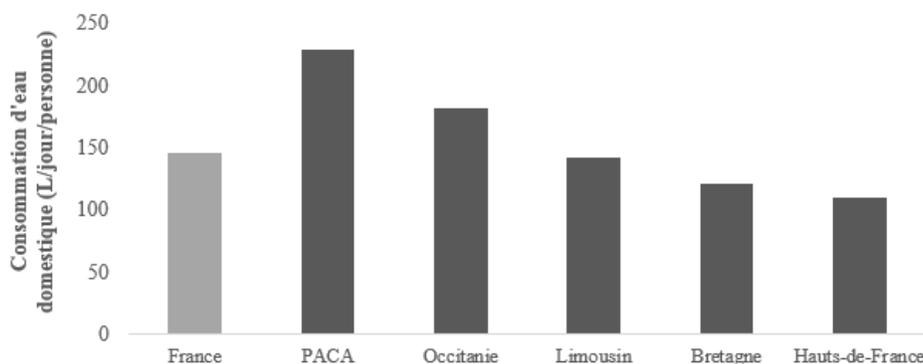


Figure 3 : Disparités des consommations domestiques moyennes selon les régions de France (eau France)

Mais cette consommation n'a pas toujours été stable. Durant les dernières décennies, les gestionnaires d'eau potable ont été confrontés aux fluctuations de la demande : après une croissance jusque dans les années 2000 ($165 \text{ L.jour}^{-1}.\text{personne}^{-1}$ en 2004), il est depuis observé une diminution de la consommation malgré la croissance démographique (Figure 4). Cette baisse de la consommation s'explique par : un comportement éco-citoyens des consommateurs, un renouvellement d'équipement à consommation réduite, une rénovation et surveillance des réseaux de distribution et des usines ainsi qu'une volonté des consommateurs de diminuer les coûts (Montginoul, 2013).

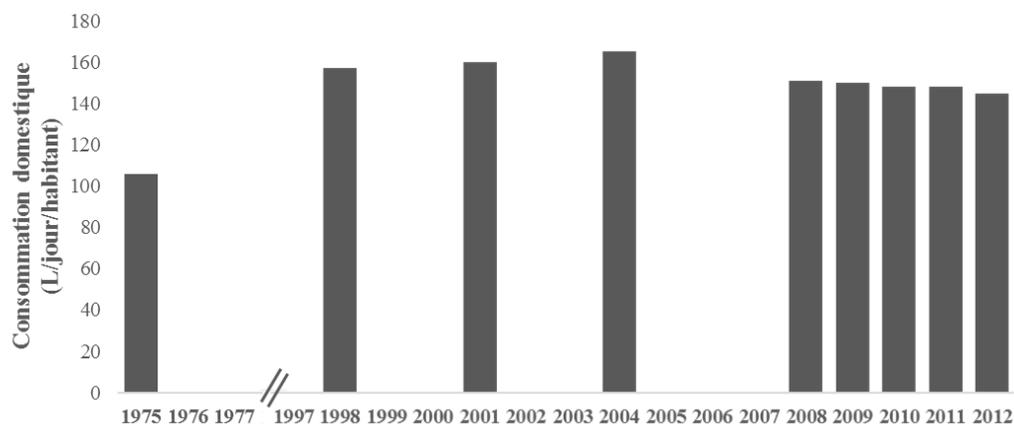


Figure 4 : Evolution de la consommation domestique quotidienne en France (Eau France)

3.3. Et demain ?

Actuellement, un tiers de la population mondiale n'a pas un accès satisfaisant à l'eau potable (Lacoste, 2003), limitant le développement de ces pays. En effet, moins de 40 % des habitants du Cambodge, de l'Ethiopie ou de la Mauritanie ont accès à une eau salubre. Les experts ont observé une augmentation des besoins durant le XX^{ème} siècle et prédisent une augmentation de ces chiffres au cours du XXI^{ème} en corrélation avec la croissance démographique et le changement climatique.

Entre le début et la fin du XX^{ème} siècle, alors que la population s'est multipliée par 4, les prélèvements d'eau ont été multipliés par 7 (Figure 5). La croissance démographique engendre une augmentation des besoins domestiques (liée à l'alimentation et boisson) mais également des activités humaines gourmandes en eau telles que l'agriculture. La surface irriguée était de 47 millions d'hectares en 1900 contre 260 millions d'hectares en 2000, soit une superficie multipliée par 5,6 ; elle devrait atteindre 330 millions d'hectares d'ici 2050. Bien que l'augmentation des prélèvements soit mondiale, les pays les plus concernés sont localisés en Afrique et Moyen-Orient, où l'eau manque déjà.

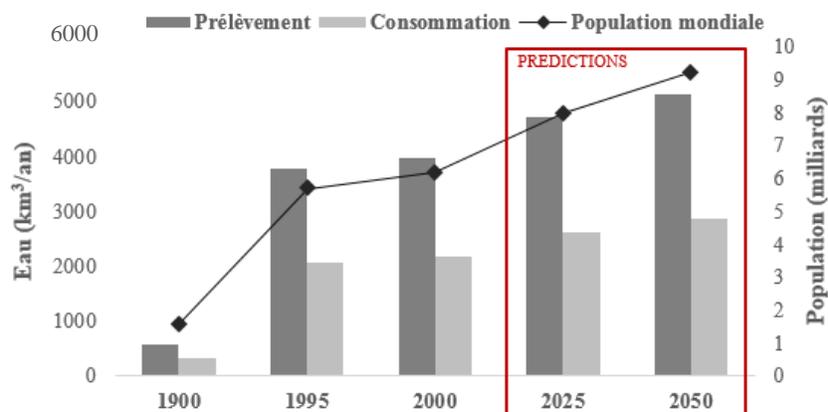


Figure 5 : Evolution de la population mondiale, des prélèvements et des consommations d'eau au cours du XX^{ème} siècle et prédictions pour le XXI^{ème} (Shiklomanov, 1999 ; Marsily, 2006 ; Morel, 2007)

En 2008, environ quarante pays sont sous le seuil de stress hydrique ($< 1700 \text{ m}^3 \cdot \text{an}^{-1} \cdot \text{personne}^{-1}$), dont une vingtaine en situation de pénurie hydrique ($< 1000 \text{ m}^3 \cdot \text{an}^{-1} \cdot \text{personne}^{-1}$), représentant 8 % de la population mondiale. D'ici 2025, 63 % de la population sera en situation de stress hydrique dont 25 % en situation de pénurie. Les pays les plus touchés sont ceux d'Afrique, du Moyen-Orient, du sud de l'Europe et de l'Asie.

L'eau douce disponible est une ressource renouvelable, grâce au cycle de l'eau, dont la quantité est constante depuis des milliards d'années. Cependant, une augmentation de la demande est prédite à cause de la croissance démographique et du changement climatique. Les pays en voie de développement sont actuellement et seront les plus touchés par la diminution de la ressource et la dégradation de sa qualité.

4. Dégradation des ressources en eau

Les différents usages de l'eau déséquilibrent les écosystèmes aquatiques par l'apport massif de matières organiques et d'éléments nutritifs. Ces apports issus de rejets directs d'effluents (domestiques, industriels ou agricoles) liés à des problèmes de raccordement, de fuites ou de déversements en cas d'orage, d'écoulement d'eau de ruissellement contaminée après leur passage sur des surfaces contaminées (agricoles ou non) et des retombées atmosphériques, conduisent à la pollution des eaux continentales de surface et dans une moindre mesure des eaux souterraines. Actuellement, l'eau souterraine fournit la moitié de la population mondiale en eau potable ; mais un aquifère sur cinq est surexploité (WWAP, 2015). 1,7 milliards de personnes n'ont plus de réserves souterraines et se tournent vers l'eau de surface, de qualité moindre. Le problème d'eau dans les pays défavorisés ne provient pas que d'un manque de ressource, mais aussi d'un manque de moyen pour traiter, stocker et distribuer l'eau. Or, de moins en moins d'eaux sont utilisables sans traitement.

L'expansion des zones et de la durée de sécheresse a pour conséquence de concentrer les polluants dans les eaux de surface. A contrario, les fortes pluies favorisent l'érosion des sols et peuvent conduire à des dysfonctionnements de stations, remobilisant les polluants. La pollution est divisée en plusieurs types :

- La pollution physique : température, matières en suspension
- La pollution organique : provient des ordures ménagères animales ou végétales, des excréments et déjections animales, entraîne une surconsommation de l'oxygène
- La pollution microbiologique : bactéries, virus, parasites

L'eau est un vecteur de maladies (diarrhée, choléra, hépatite, typhoïde, dengue, ...); l'OMS recense trois millions de décès par an liés à la mauvaise qualité de l'eau. Ce chiffre est en hausse avec l'augmentation de la température des eaux qui favorise le développement de germes et le manque de moyen quant au traitement.

- La pollution chimique : majoritairement d'origine humaine, elle provient des activités agricoles : engrais (azotés, phosphatés), déjections animales et épandages (médicaments, hormones, compléments alimentaires), pesticides, ... mais également des activités industrielles : polluants organiques (produits azotés et phosphatés), rejets toxiques (métaux, hydrocarbures, acides) et augmentation de la température de l'eau.

Des dizaines de milliers de produits chimiques sont retrouvés dans les ressources d'eau douce. Dans les régions d'agriculture intensive, les nitrates et phosphates sont un des problèmes majeurs. L'augmentation de la diversité en polluants et leurs concentrations altèrent la qualité de l'eau. La dégradation de la qualité de l'eau détériore le fonctionnement des écosystèmes et peut conduire à des changements brusques. Ainsi, une charge excessive en nutriments (azote, phosphore) provoque des changements brusques et considérables qui conduisent à des développements phytoplanktoniques et un appauvrissement en oxygène. Ce phénomène s'appelle l'eutrophisation.

Naturellement, les ressources en eau douce sont inégalement réparties à la surface de la Terre. Dans le futur, ces inégalités vont s'accroître. Les pays développés de l'hémisphère Nord (exemple : France, Suède) prélèvent et consomment l'eau douce en majorité pour leurs usages domestiques et industriels. Grâce à un bilan hydrique positif, ils utilisent principalement l'eau souterraine, de meilleure qualité et nécessitant moins de traitement, pour produire l'eau potable. Dans le futur, les activités humaines, la croissance démographique et le changement climatique vont accroître la demande et diminuer la qualité de la ressource. Les apports en nutriments (azote, phosphore) vont notamment accélérer le phénomène d'eutrophisation. Pour satisfaire les besoins quantitatifs et qualitatifs en eau, les coûts associés à la production vont augmenter.

Les pays en voie de développement de l'hémisphère Sud (exemple : Togo) prélèvent et consomment l'eau douce majoritairement (> 80%) pour les usages agricoles et notamment l'irrigation des cultures. Le Togo jouit d'abondantes ressources en eau (souterraine et de surface) ainsi que d'une pluviométrie moyenne annuelle importante (en alternance de saisons sèches et pluvieuses). Malgré cette situation favorable, le Togo souffre d'un déficit de mobilisation et de traitement peinant à satisfaire les besoins essentiels des populations en eau potable. 39 % de la population (57 % en milieu rural et 10 % en milieu urbain) n'ont pas accès à une source d'eau potable. Sous l'effet du changement climatique, la pluviométrie diminue et la répartition des pluies devient plus irrégulière (inondations et sécheresses plus sévères). Les eaux de surface, moins coûteuses d'accès, connaissent une dégradation prononcée. Une mauvaise gestion des ordures ménagères et des activités agricoles favorise le lessivage des déchets, engrais, pesticides et déjections dans les cours d'eau accélérant l'eutrophisation. Les lacs Togo et Zowla sont classés en état d'eutrophisation avancée. Sans améliorations de l'assainissement et du traitement de l'eau, les crises sanitaires et les maladies/mortalités liées à l'eau risquent d'augmenter (actuellement 3,4 millions.an⁻¹ dans le monde).

PARTIE 1 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1. L'eutrophisation des eaux douces

1.1. Généralités

Les phénomènes d'eutrophisation ont commencé à être observés au début du XX^{ème} siècle dans les systèmes aquatiques situés à proximité des grandes aires urbaines et industrielles des pays de l'hémisphère Nord. Il est d'abord décrit comme un enrichissement naturel et progressif en nutriments et est associé au vieillissement d'un écosystème aquatique (Anderson *et al.*, 2002). L'écosystème piège et concentre les nutriments et matières organiques apportés naturellement par l'atmosphère¹ et les eaux de ruissellement du bassin versant² (Carpenter *et al.*, 1998). Sur des temps géologiques, cette accumulation naturelle de matières peut amener au comblement du plan d'eau.

Les activités humaines ont intensifié les apports en azote et phosphore provoquant une accélération de ce phénomène, on parle alors d'« eutrophisation anthropique » ou « dystrophie ». La dégradation d'écosystèmes aquatiques majeurs comme le lac Léman (Suisse - France) ou le lac Erié (Canada - USA) a provoqué des réactions gouvernementales à partir des années 1970. D'une part, des politiques de protection et de gestion de l'eau sont mises en place (Figure 6). D'autre part, les dispositifs de surveillance et de mesure de l'évolution des états des milieux et des effets des actions de gestion sont renforcés.

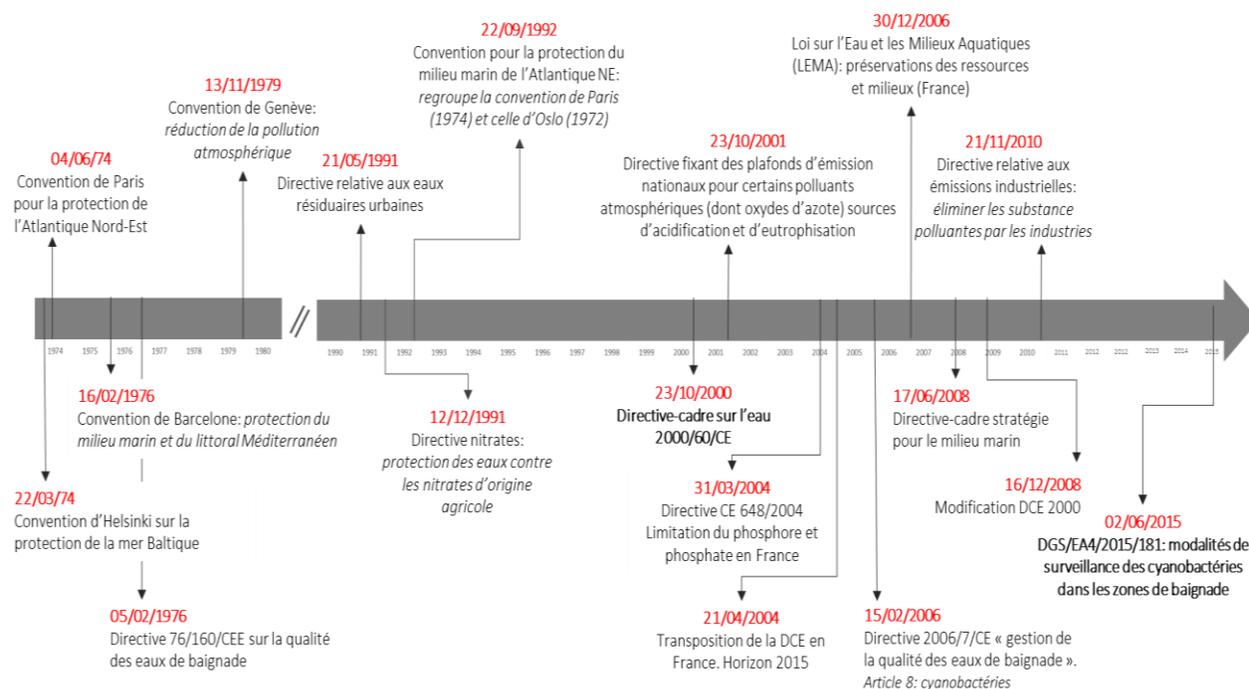


Figure 6 : Dispositifs juridiques internationaux et nationaux de lutte contre les rejets de nutriments dans l'eau (liste non exhaustive) (Pinay *et al.*, 2017)

¹ Apports de N par les pluies acides et les polluants atmosphériques générés par les activités humaines. Les dépôts de N, sous forme N₂ et N₂O dans l'air, proviennent essentiellement de la combustion d'énergies fossiles ou de la volatilisation de gaz à base de N provenant des terres agricoles.

² Apports de P, N et MO par les activités humaines agricoles (fertilisants, engrais) et urbaines.

Le terme eutrophisation est aujourd'hui assimilé au processus d'évolution du statut trophique (Tableau 2) des écosystèmes aquatiques (plans d'eau, cours d'eau, milieu marin) qui deviennent progressivement ou brutalement eutrophe par augmentation des apports en nutriments, principalement l'azote et le phosphore.

Tableau 2: Caractéristiques des statuts trophiques des plans d'eau (Smith et al., 1998)

Statut trophique	N _{tot} (µg N.L ⁻¹)	P _{tot} (µg P.L ⁻¹)	Chl-a en suspension (µg.L ⁻¹)	Transparence* (m)
Oligotrophe	< 350	< 10	< 3,5	> 4
Mésotrophe	350 - 650	10 - 30	3,5 - 9	2 - 4
Eutrophe	650 - 1200	30 - 100	9 - 25	1 - 2
Hypertrophe	> 1200	> 100	> 25	< 1

Chl-a = Chlorophylle a ; *mesurée au disque de Secchi.

Dans les écosystèmes aquatiques, la production primaire est naturellement limitée par les concentrations en azote et phosphore. En réponse à un apport excessif en nutriments, les producteurs primaires (cyanobactéries, algues, ...) vont proliférer (Chorus et Bartram, 1999). Cette augmentation du phytoplancton amène une surproduction de matière organique d'origine algale qui engendre des réactions en cascade : diminution de l'oxygène dissous lors de la dégradation de la matière organique par les bactéries et éventuelle anoxie du milieu, modifications de la structure des communautés biologiques, des réseaux trophiques et des cycles biogéochimiques (Pinay et al., 2017).

La prolifération de phytoplancton augmente la teneur en chlorophylle a en suspension dans l'eau. L'augmentation de la quantité de cellules provoque une augmentation de la turbidité et donc une diminution de la transparence. Ces paramètres sont donc intéressants à suivre pour caractériser ou prédire l'état trophique d'un plan d'eau.

Au début du XX^{ème} siècle, une dégradation de la qualité des eaux de surface est observée dans les plans d'eau des pays développés de l'hémisphère Nord : l'eutrophisation. Ce phénomène se traduit par un développement non contrôlé, ni désiré de phytoplancton (plus particulièrement les cyanobactéries). L'intensification du phénomène sous l'action des activités humaines a fait réagir les pouvoirs publics. A partir des années 1970, des politiques de surveillance, gestion et protection de la qualité des eaux ont été mises en place.

Afin de limiter voire contrôler ce phénomène, il est impératif de comprendre quels en sont les mécanismes ? Et quel est le rôle de l'homme dans son occurrence ?

1.2. Facteurs de contrôle de l'eutrophisation

Les mécanismes de base de l'eutrophisation sont communs à tous les écosystèmes aquatiques. En revanche, les manifestations sont diverses et variées selon les écosystèmes, leurs localisations et les espèces présentes. La vitesse de réponse de l'eutrophisation peut se résumer aux interactions entre les facteurs suivants : excès d'apport de nutriments, quantité de lumière suffisante, température favorable, stagnation de l'eau dans le plan d'eau, pH et pression exercée par les prédateurs (Pinay et al., 2017).

1.2.1. L'apport de nutriments

1.2.1.1. Les nutriments majeurs : rôle essentiel du phosphore

Pour leur métabolisme, le phytoplancton utilise les substances minérales suivantes : C, H, O, N et P. Le carbone n'est généralement pas limitant dans les milieux aquatiques grâce aux échanges permanents avec le CO₂ atmosphérique (Chorus et Bartram, 1999), dont la concentration ne cesse d'augmenter depuis 1750 en raison des activités humaines (Figure 7).

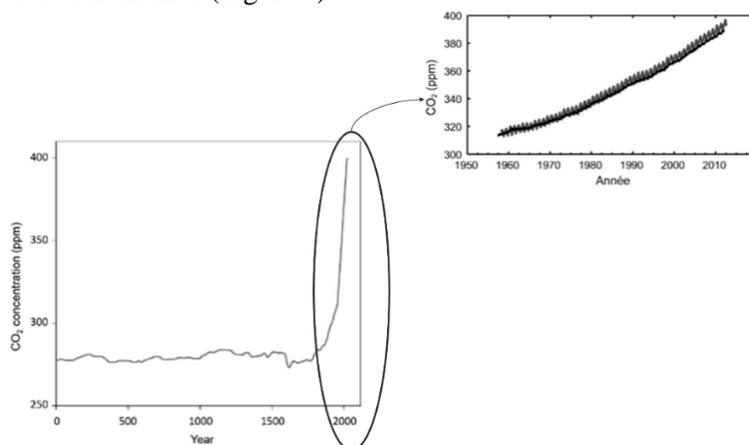


Figure 7 : Concentration en CO₂ atmosphérique. Les données d'avant 1958 sont basées sur des mesures dans des forages glaciers en Antarctique et Groenland. Depuis 1958, les concentrations sont mesurées continuellement en différents lieux dont Mauna Loa, Hawaï et au pôle Sud. (GIEC, 2013 ; Sandrini, 2016)

Le phytoplancton utilise principalement le phosphore sous forme d'orthophosphates (PO₄³⁻) et l'azote sous forme d'ammonium (NH₄⁺) et de nitrates (NO₃⁻) (Liu *et al.*, 2011) ; bien que certaines cyanobactéries, pourvues d'hétérocystes, aient la capacité de fixer l'azote atmosphérique (N₂). Dans le milieu naturel, le facteur limitant est l'azote ou le phosphore selon le ratio azote total sur phosphore total (NT/PT). Dans la majorité des cas, l'azote est limitant en milieu marin tandis que le phosphore est le facteur limitant dans les écosystèmes d'eau douce (Anderson *et al.*, 2002 ; Schindler, 2008). De nombreux auteurs se sont intéressés à l'impact du ratio NT/PT sur la domination des cyanobactéries ou des microalgues dans la communauté phytoplanctonique (Ferber *et al.*, 2004 ; Barroin, 2007 ; Ekholm, 2008 ; Vrede *et al.*, 2008 ; Pinay *et al.*, 2017). Les résultats sont controversés sur le ratio limite de la bascule azote limitant ou phosphore limitant (Tableau 3). En revanche, les auteurs s'accordent sur la dominance des cyanobactéries, lorsque le ratio NT/PT est faible ; bien qu'il n'y ait pas de consensus sur la valeur précise d'un ratio « faible ».

Tableau 3 : Nutriments limitants en fonction de la valeur du ratio N/P

N/P	Facteur limitant	Référence
<7	Azote	Barroin, 2007
>10	Phosphore	
<16	Azote	Rapport de Redfield, 1963
<10	Azote	Ekholm, 2008
>17	Phosphore	
<33	Azote	Morris et Lewis, 1988
<60	Azote	Vrede <i>et al.</i> , 2008

Les apports en azote et en phosphore dans les milieux aquatiques sont véhiculés dans les plans d'eau via les eaux souterraines, fluviales ou les dépôts atmosphériques. Les apports peuvent être d'origine naturelle ou anthropique. Les sources anthropiques d'apports en nutriments sont nombreuses et sont divisées en deux catégories : les sources ponctuelles et les sources diffuses (Tableau 4).

Tableau 4 : Sources naturelles et anthropiques d'apports en nutriments (Carpenter *et al.*, 1998 ; Beusen *et al.*, 2015)

SOURCES NATURELLES	SOURCES ANTHROPIQUES	
	Ponctuelles	Diffuses
- Décomposition bactérienne - Erosion continentale	- Aquaculture - Déjections animales - Eaux de ruissellement et d'infiltration issues de parcelles d'engraissement animal - Rejets d'eaux usées (urbaines ou industrielles) - Eaux de ruissellement issues de sites industriels ou de sites d'enfouissement de déchets - Déversement des bassins d'orages des villes (> 100 000 habitants) - Débordements des réseaux pluviaux et égouts	- Eaux de ruissellement issues de l'agriculture (élevages intensifs, irrigation, amendement, pâturage ...) - Dépôts atmosphériques - Rejets de fosses septiques défectueuses - Rejets urbains (< 100 000 habitants)

La Figure 8 présente l'évolution des quantités allouées à chaque type d'apport. Il est observé qu'au cours du XX^{ème} siècle, l'intensification des activités humaines (agriculture, consommation en eau, industries, ...) ont engendré une forte augmentation de l'apport global de nutriments aux cours d'eau : 64 T.N.an⁻¹ d'azote contre 34 T.N.an⁻¹ et 8,8 T.P.an⁻¹ de phosphore contre 5 T.P.an⁻¹ respectivement au cours de l'année 2000 et 1900 (Beusen *et al.*, 2015). Bien que les sources anthropiques d'apports en nutriments soient variées, l'agriculture demeure la source majeure de nutriments, avec une contribution de 33 T.N.an⁻¹ et de 5 T.P.an⁻¹ (données de 2000, Beusen *et al.*, 2015).

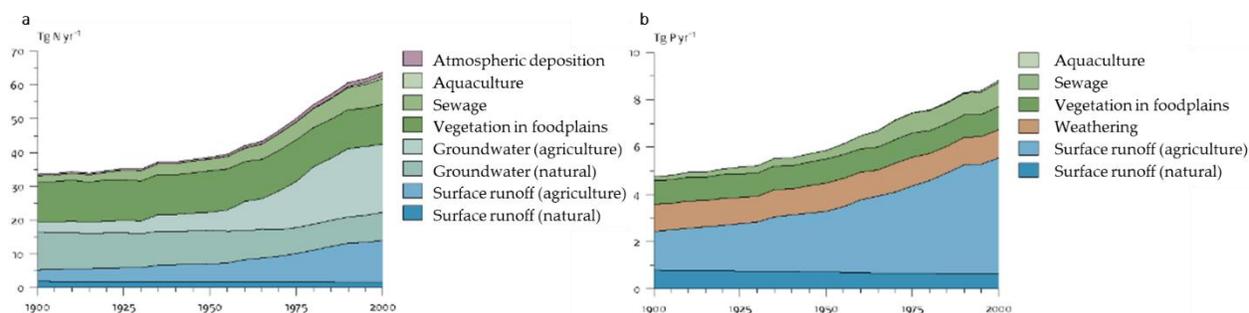


Figure 8 : Diversités des apports globaux (en T.an⁻¹) d'azote (a) et de phosphore (b) dans les eaux de surface (Beusen *et al.*, 2015)

Les activités humaines déversent donc dans le réseau hydrologique des quantités non négligeables de phosphore (environ 8,8 T.P.an⁻¹ en 2000 (Beusen *et al.*, 2015)) qui lui fait perdre momentanément son statut de facteur limitant au profit de l'azote. Cette carence en azote stimule la prolifération d'organismes fixateurs d'azote atmosphérique, c'est-à-dire les cyanobactéries pourvues d'hétérocystes et celles possédant des vacuoles à gaz, leur permettant d'aller chercher l'azote ammoniacal benthique (Ferber *et al.*, 2004). Le déficit relatif en azote est alors comblé par l'azote atmosphérique disponible en quantité illimitée. Le

phosphore est ainsi le levier principal sur lequel l'homme peut agir pour maîtriser les blooms cyanobactériens (Reynolds, 1984, Golterman, 2004).

Ces apports anthropiques excessifs font perdre le caractère limitant de l'azote ou du phosphore permettant alors le développement de phytoplancton. Comme l'illustre la Figure 9, il y a une forte corrélation entre les bassins riches en azote et phosphore (grands bassins d'agriculture intensives) et les bassins de non atteinte du bon état écologique et/ou chimique. Prenons le cas de la région Bretagne, région d'agriculture intensive (productions animales, fourragères et légumières) qui connaît des excédents de N de 80 – 150 kg.ha⁻¹ et une fertilisation de P de 21 – 40 kg.ha⁻¹ : seulement 10 – 30% de ces masses d'eau atteignent un bon état écologique et 30 – 50%, un bon état chimique.

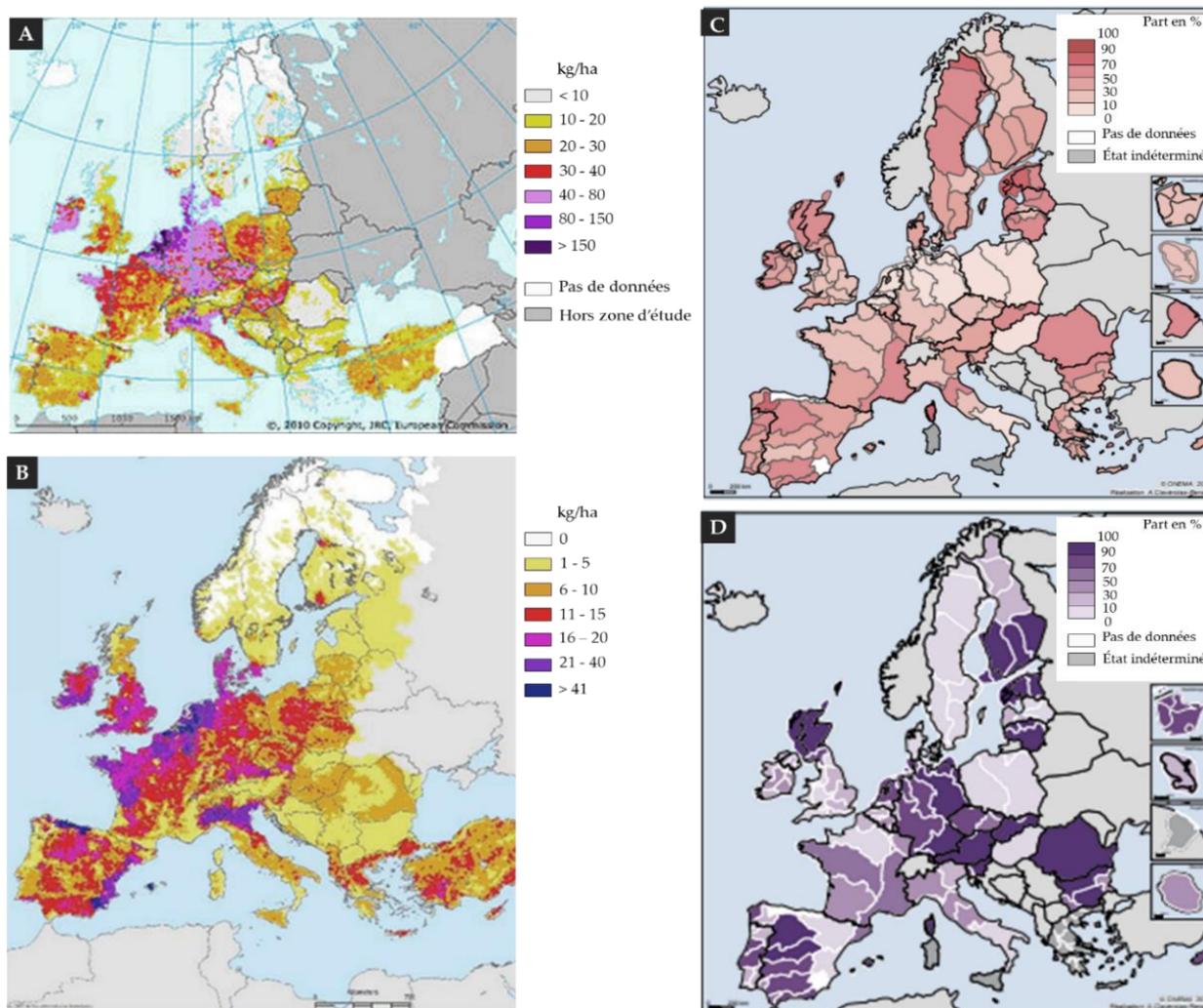


Figure 9 : Corrélations entre les apports en azote et phosphore et les écosystèmes aquatiques n'atteignant pas le bon état écologique (A. Excédent d'azote (EEA, 2005) – B. Fertilisation phosphatée totale (EEA, 2005) – C. Part des masses d'eau de surface de bon ou très bon état écologique en 2010 (Eau France, 2015) – D. Part des masses d'eau de surface de bon état chimique en 2010 (Eau France, 2015))

En France, face aux augmentations inquiétantes de l'apport de nutriments et aux conséquences engendrées, le gouvernement a mis en place des politiques de réduction des rejets azotés et phosphatés : amélioration des performances de dépollution des eaux usées urbaines et industrielles ; diminution de l'utilisation des phosphates dans les produits ménagers (interdiction des lessives et détergents phosphatés

dans certains pays d'Europe à partir de 1986 et en 2007 en France (Décret n°2007-491) ; développement d'une agriculture raisonnée (ajustements des apports en fertilisants, protocole d'épandage limitant le transfert par ruissellement, limitation de l'accès direct du bétail aux cours d'eau, ...). Ces différentes réglementations (DCE 2000/60, LEMA 2006) ainsi que l'évolution des pratiques agricoles ont permis une diminution considérable des teneurs en orthophosphates dans les eaux de surface (Figure 10). Toutefois, celles en nitrates, très influencées par la pluviométrie, restent stables sur la période (Figure 10).

Malgré ces efforts, l'agriculture reste, au niveau mondial la source dominante de nutriments avec 51 % et 56 % de l'azote et du phosphore émis (contre 20 % et 35 % il y a 150 ans) (Beusen *et al.*, 2015 ; Pinay *et al.*, 2017). Le phosphore inorganique dissous (les orthophosphates), sont retrouvés à des concentrations allant de moins de 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (limite de détection) à plusieurs centaines de $\mu\text{g.L}^{-1}$. L'azote, sous forme de nitrates, est retrouvé à des concentrations allant de moins de 10 mg.L^{-1} NO_3 à plus de 50 mg.L^{-1} NO_3 ³.

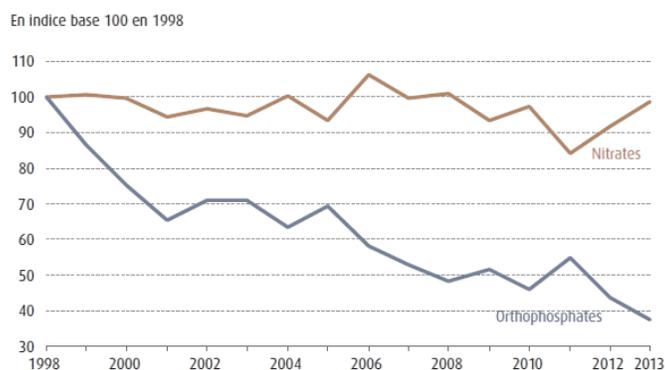


Figure 10 : Evolution de la pollution des cours d'eau par les nitrates et les phosphates. L'indice est calculé avec les données partielles sur les bassins Seine-Normandie (2008-2009) et Adour-Garonne (2010-2011) en raison de séries ponctuellement incomplètes (ONEMA, 2016).

Malgré la diminution des entrants en phosphore dans le milieu naturel, le statut trophique des lacs ne s'améliore pas en raison d'un mécanisme interne qui retarde la récupération de la bonne qualité de l'eau: la mobilisation du phosphore sédimentaire (Carpenter *et al.*, 1998 ; Nikolai et Dzialowski, 2014; Arunbabu *et al.*, 2014; North *et al.*, 2015 ; Bormans *et al.*, 2016). L'origine du phosphore dans les lacs peut être externe ou interne : la contribution externe provient des apports issus du bassin versant, l'origine interne est quant à elle soutenue par le compartiment sédimentaire.

Le sédiment est le principal puits de phosphore dans les milieux aquatiques (Broecker et Peng, 1982 ; Froelich *et al.*, 1982 ; Ruttenberg et Sulak 2011). Les concentrations en phosphore total sédimentaire dépassent fréquemment les 1 mg P.g^{-1} poids sec dans les milieux eutrophes (Tableau 5). Le réservoir de phosphore se crée durant les années d'apports intensifs, puis diffuse progressivement en fonction des conditions environnementales (oxygène, pH, température) (Jensen et Anderson, 1992). Le phosphore est piégé lors de la sédimentation de particules organiques et inorganiques et/ou lors de mécanismes de sorption (adsorption, (co)précipitation). D'après Donald *et al.* (2015) et North *et al.* (2015), jusqu'à 90% du phosphore entrant peut être piégé dans les sédiments des lacs. La capacité du sédiment à piéger ou relarguer le phosphore dépend : des caractéristiques physiques et chimiques de la fraction solide (granulométrie, composition minéralogique) ; de la distribution du phosphore sédimentaire ; des conditions physico-

³ Norme sanitaire maximale relative aux eaux destinées à la consommation humaine et la norme environnementale pour la qualité des eaux de surface et souterraines, fixées au plan européen et national

chimiques du milieu et de l'activité microbiologique. La mobilité du phosphore à l'interface eau/sédiment dépend de la dynamique d'éléments (Fe, Mn, S, Ca) et de nutriments (C, N). Les variations de température, du potentiel d'oxydo-réduction et du pH permettent la désorption du phosphore ou la déstabilisation des phases porteuses et favorisent son passage sous forme dissoute. Rapin (2017) a montré que plus de 60% du phosphore est lié aux oxy(hydroxy)des de fer. Sous certaines conditions de pH et de redox, généralement présentes en conditions d'anoxie, les oxydes de fer sont réduits, libérant le phosphore qui y était adsorbé, le rendant de nouveau disponible pour le phytoplancton.

Tableau 5 : Teneurs en phosphore total sédimentaire et statuts trophiques rencontrés dans divers lacs à travers le monde.

Référence	Type de masse d'eau	Statut trophique	Concentration moyenne en P _{TOT} (mg P.g ⁻¹ poids sec)
Rapin, 2017	Barrages hydroélectriques, Creuse	Eutrophe	1,59 ± 0,51
Lukawaska <i>et al.</i> , 2013	Lac Saebvannet, Norvège	Eutrophe	1,20
Zhang <i>et al.</i> , 2017	Lac Taihu, Chine	Eutrophe	0,461-1,194
Lucas <i>et al.</i> , 2015	Lac de barrage Diefenbaker, USA	Mésotrophe	0,500-1,500
Lopez <i>et al.</i> , 2009	Cascade de 5 réservoirs, Espagne	Eutrophe* à mésotrophe**	0,930** - 2,325*

1.2.1.2. Les macro- et micronutriments

Pour sa croissance, le phytoplancton a besoin des cinq éléments majeurs (C, H, O, N, P) mais également de macronutriments : magnésium (Mg), potassium (K), calcium (Ca) et soufre (S) et d'éléments métalliques sous forme de micronutriments : fer (Fe), bore (B), manganèse (Mn), zinc (Zn), cuivre (Cu), nickel (Ni), chlore (Cl) et molybdène (Mo) (Reynolds, 2006). La dépendance vis-à-vis des éléments varie selon le groupe de phytoplancton. Par exemple, les diatomées ont besoin de silicium (Si) pour construire leur enveloppe siliceuse.

Bien que létaux en cas de forte concentration, les éléments traces métalliques sont nécessaires au métabolisme cellulaire, car ce sont des cofacteurs de nombreuses enzymes et ils participent souvent au fonctionnement de l'appareil photosynthétique. Par exemple, le fer est impliqué dans le transport des électrons pour la photosynthèse ainsi que dans la synthèse de la chlorophylle-a, il participe avec le molybdène à l'assimilation de l'azote (Boyer, 1987). Le zinc est impliqué dans la croissance et dans la régulation de la production de toxines (Lukac et Aegerter, 1993). Les interactions entre ces micronutriments et le phytoplancton dépendent de la concentration et de la spéciation des ions. Cette biodisponibilité est influencée par le pH et le potentiel redox (Sunda, 1989).

Les nutriments, plus particulièrement le phosphore et l'azote, sont un des facteurs limitants à la croissance du phytoplancton. Le lien entre activités humaines – l'agriculture principalement – et intensification de l'eutrophisation (dystrophie) est avéré. Malgré les politiques de limitation des apports, le statut trophique des eaux de surface ne s'améliore pas. D'une part, à l'échelle globale, les concentrations ne cessent d'augmenter (environ 50% des apports proviennent des activités agricoles). D'autre part, le phosphore sédimentaire est progressivement mobilisé sous l'effet des conditions environnementales.

Quels sont les autres paramètres favorisant le développement du phytoplancton ? Existe-t-il d'autres leviers sur lesquels l'homme peut s'appuyer ?

1.2.2. Un climat favorable ?

La présence de nutriments en quantité suffisante n'explique pas à elle seule la prolifération du phytoplancton. Les paramètres climatiques sont déterminants de l'intensité et de la vitesse de développement.

1.2.2.1. Importance de la température

La température est un des facteurs principaux de contrôle de la dynamique du phytoplancton. En effet, une haute température stimule les activités métaboliques du phytoplancton telle que : l'activité enzymatique, la photosynthèse, la respiration, l'adsorption des nutriments et par conséquent la croissance (Raven & Geider, 1988). Lorsqu'elle approche de la température optimale, les différentes activités métaboliques atteignent leurs maximums. De nombreux articles et expériences (Patrick, 1971 ; Boumnic *et al.*, 1990 ; Chorus et Bartram, 1999 ; Yamamoto et Nakahara, 2005 ; Reynolds, 2006 ; Paerl et Huisman, 2008-2009) montrent que le taux maximal de croissance est atteint pour des températures plus élevées pour les cyanobactéries (> 25°C) que pour les algues. La température optimale serait entre 25 – 35°C pour les cyanobactéries (Chorus et Bartram, 1999 ; Reynolds, 2006 ; Paerl et Huisman, 2008), autour de 20°C pour les chlorophycées (Reynolds, 2006) et inférieure à 15°C pour les diatomées (Patrick, 1971 ; Boumnic *et al.*, 1990 ; Reynolds, 2006) ; expliquant alors leur succession annuelle (Figure 11) et la domination des cyanobactéries en période estivale (mai – septembre).

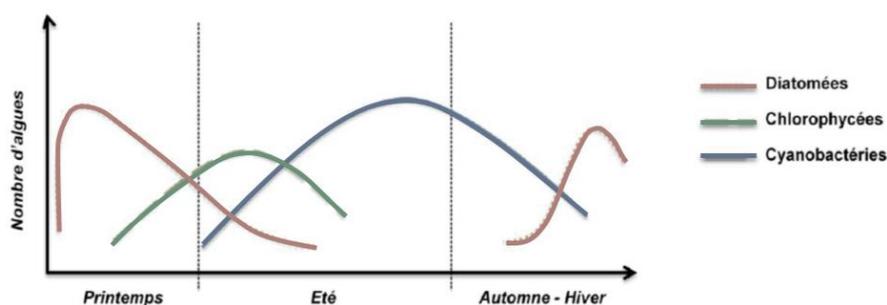


Figure 11: Successions saisonnières phytoplanctoniques sous un climat tempéré (adapté de Leitao et Couté, 2005)

L'étude laboratoire de Lüring *et al.* (2013) portant sur huit cyanobactéries et huit chlorophycées sous six températures comprises entre 20°C et 30°C n'a pas montré de différence significative de températures optimales de croissance entre ces deux taxons (cyanobactéries : 25 – 35°C et chlorophycées : 27,5 – 35°C). L'augmentation de température n'explique alors, pas à elle seule, les proliférations de cyanobactéries. En effet, il ne faut pas considérer uniquement une augmentation constante de la température, mais des fluctuations de température comme par exemple des variations journalières de la température de surface (1 et 3°C) mais également des différences entre les températures en surface et en profondeur en période de stratification. Chaque espèce de phytoplancton adopte une stratégie différente en réponse aux fluctuations thermiques. Zhang *et al.* (2016) ont démontré que les cyanobactéries sont moins sensibles aux variations et maintiennent une croissance stable contrairement aux chlorophycées qui voient leur croissance diminuée en conséquence des variations de la température de l'eau. Les cyanobactéries ont développé différentes stratégies d'adaptation à l'augmentation de température mais également aux fluctuations journalières. La prise en compte de ces variations de température durant le printemps permet de prédire de manière plus précise (à 82,3% au lieu de 68,5% en ne prenant en compte que la température) le ratio cyanobactéries/algues ainsi que l'apparition de blooms cyanobactériens.

En France, au cours du XX^{ème} siècle, la température a augmenté de +0,1°C par décennie ; tendance qui s'est récemment accélérée. Sur la période 1951 – 2000, cela s'est traduit par une diminution du nombre de jours de gel et une augmentation du nombre de jours où la température dépasse 25°C en été (www.meteofrance.fr). Depuis les années 30, une augmentation des températures est également mesurée en Suède ; cette augmentation est particulièrement marquée depuis 1987. La hausse de température est différente entre le Nord et le Sud du pays, mais également entre l'été et l'hiver. Entre les années 1930 et 1980, il a été relevé +0,8°C au Nord et +0,4°C au Sud. Entre les années 1961-1990 et 1990-2007, la température moyenne annuelle a augmenté de +1°C. Sur la même période, la température l'hiver a augmenté de +2°C (Swedish Government, 2007). Au Togo, sur la période 1961 – 2000, les températures annuelles moyennes ont augmenté de +0,5 à +1,1°C (République Togolaise, 2010).

En conséquence directe du réchauffement de l'air, la température des rivières et lacs a évolué (Figure 12). En effet, il a été observé une augmentation de 0,11 °C de la température des océans entre 1971 et 2010 (GIEC, 2013). Par exemple, la température de l'eau du lac Léman a augmenté de 0,8 °C depuis 1974 pour la couche de surface (0 – 10 m) (Figure 12 - c). et de 0,4 °C pour les eaux profondes (Figure 12 - d).

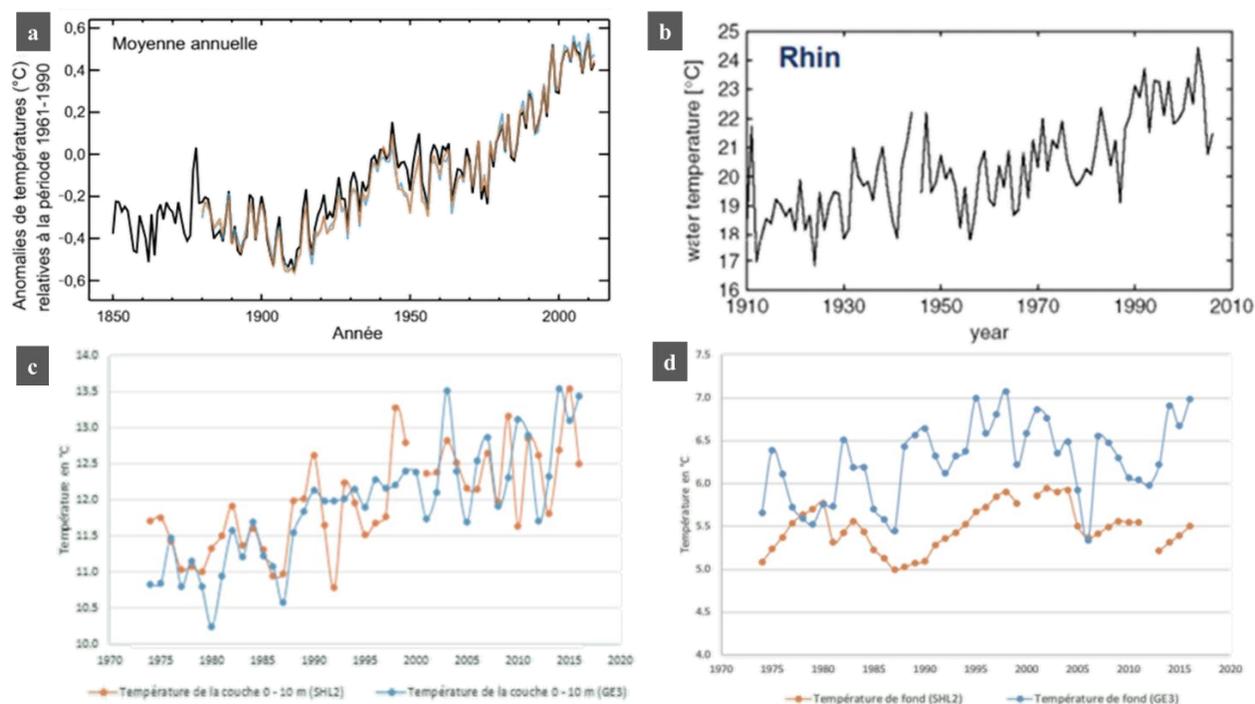


Figure 12 : a. Anomalies de température observées moyennes en surface de 1850 à 2012 (GIEC, 2015). b. Augmentation de la température de l'eau en août sur le site de Lobith (Rhin) (Gosse et Hendrickx, 2009). c. Evolution de la température moyenne annuelle de l'eau (0 – 10 m) du lac Léman (CIPEL, 2017) d. Evolution de la température moyenne annuelle de l'eau profonde du lac Léman (CIPEL, 2017)

1.2.2.2. Rôle de la pluviométrie

Les communautés phytoplanctoniques sont directement influencées par le régime pluviométrique auquel elles sont soumises. Les pluies hivernales augmentent les concentrations en nutriments par ruissellement sur le bassin versant, permettant alors le développement phytoplanctonique et les fortes pluies contribuent au renouvellement et au brassage de la masse d'eau, limitant alors le développement du phytoplancton et notamment des cyanobactéries qui ont un taux de croissance plus faible. Les périodes de sécheresse vont, quant à elles, contribuer à la stagnation de la masse d'eau et à la mise en place d'une

stratification thermique (Figure 13). Un long temps de résidence favorise le risque d'eutrophisation ; le phytoplancton formé n'est pas évacué et les échanges entre les microorganismes et les nutriments sont importants (Pinay *et al.*, 2017).

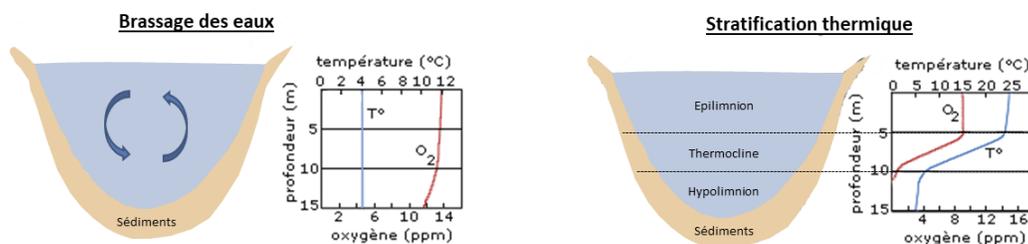


Figure 13 : Brassage des eaux et stratification thermique d'un lac tempéré.

Lorsque les conditions climatiques sont rassemblées : température élevée, absence de vent, faibles précipitations, la couche d'eau superficielle (épilimnion) se réchauffe contrairement aux masses d'eau plus profonde (hypolimnion). De la température de l'eau dépend sa densité. La différence de température entre l'épilimnion et l'hypolimnion crée deux couches d'eau superposées qui ne se mélangent plus, créant alors une stratification thermique et chimique. La couche supérieure est riche en oxygène grâce aux échanges à l'interface eau/air et à la production du phytoplancton mais pauvre en nutriments car rapidement consommés par ces derniers. La couche inférieure est pauvre en oxygène car consommé par les bactéries hétérotrophes, mais riche en nutriments car ceux-ci sont libérés du sédiment en conditions anoxiques. Les éléments essentiels au phytoplancton (nutriments et lumière) se retrouvent ainsi aux extrémités de la colonne d'eau, favorisant le développement des espèces capables de se déplacer dans la colonne d'eau ou capables de faire des réserves, comme les cyanobactéries (Reynolds *et al.*, 1987 ; Visser *et al.*, 1996 ; Huisman *et al.*, 2004 ; Wagner & Adrian, 2009).

Des conditions climatiques défavorables : vent ou fortes pluies, vont induire un brassage de la masse d'eau assurant une homogénéisation des nutriments et de l'oxygène dans la colonne d'eau.

Entre 1900 et 2005, une augmentation des précipitations annuelles a été observée au Nord de l'Europe, en Amérique du Nord et Sud et au Nord et centre de l'Asie. A contrario, une baisse a été observée au Sahel, en régions méditerranéennes, en Afrique australe et en Asie du Sud (Figure 14). A ces variations s'ajoutent une augmentation des épisodes de précipitations abondantes (fréquence, intensité et nombre) et des épisodes de sécheresse (degré de confiance moyen) (GIEC, 2013).

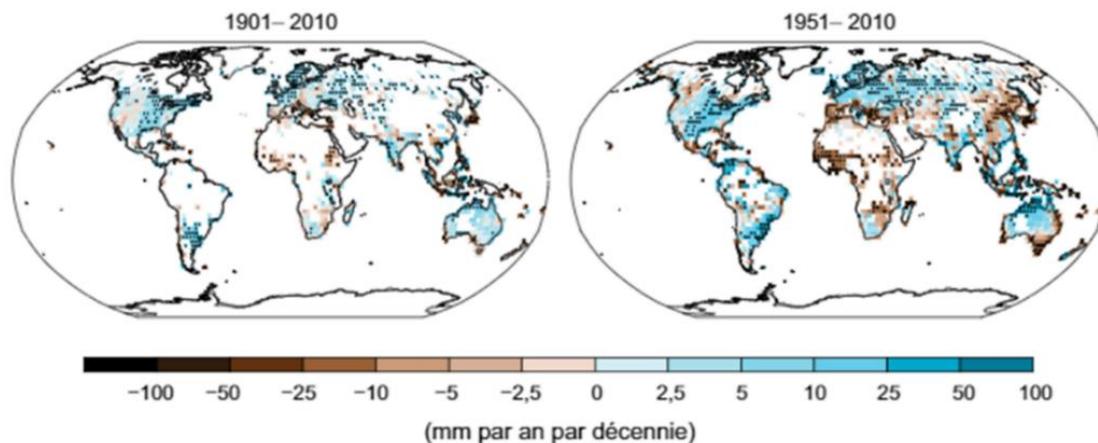


Figure 14: Changements observés des précipitations annuelles sur les terres émergées (GIEC, 2013)

En France, entre 1951 et 2000, il a été observé une augmentation du nombre de jours de fortes pluies (> 10 mm en 24 h) en hiver et une augmentation de nombres de jours secs (< 1 mm en 24 h) (Moisselin et Dubuisson, 2006). En Suède, il a été mesuré une augmentation des pluies annuelles depuis le début du XX^{ème} siècle : environ + 2% - + 5%.an⁻¹ (moyenne annuelle 1000 mm.an⁻¹). Cette augmentation est plus marquée depuis 1970. Les hivers, plus doux, présentent une pluviométrie plus importante et une diminution des épisodes neigeux et de la durée de la couverture neigeuse. En revanche, les étés sont plus secs et peuvent connaître des épisodes de sécheresse (Swedish Government, 2007). Au Togo, depuis 1970, des perturbations du régime pluviométrique ont été notifiées : une désorganisation des saisons potentiellement utiles (retard d'environ 1 mois, fin plus précoce d'environ 2 semaines) (Adewi *et al.*, 2010) ; diminution de la pluviométrie entre - 36,7 et - 113,8 mm ; diminution du nombre de jours de pluies d'environ 15 jours ; augmentation des épisodes d'inondation et de sécheresse (République Togolaise, 2010).

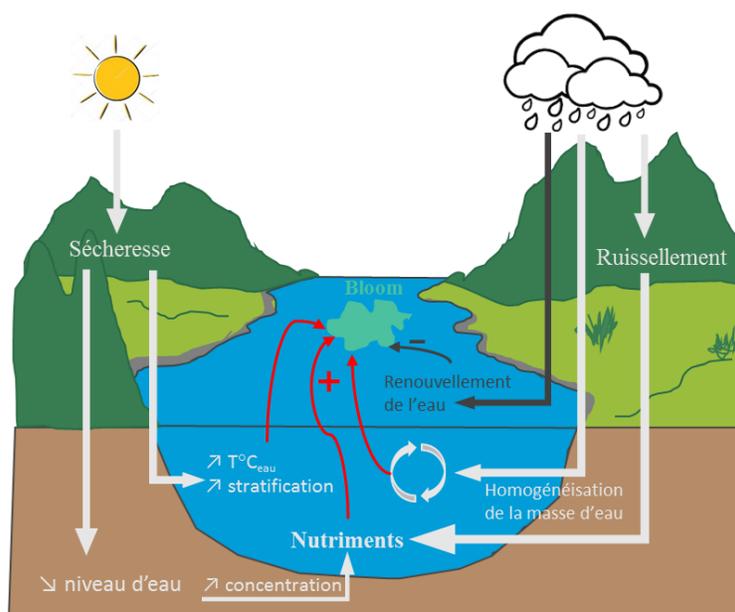


Figure 15 : Eutrophisation et proliférations cyanobactériennes en réponse à la pluviométrie. (Adapté depuis Lu *et al.*, 2019).
« + » signifie favorise et « - » signifie défavorise les proliférations cyanobactériennes.

Les changements climatiques et notamment les variations de durée et d'intensité des pluies impactent les phénomènes d'eutrophisation (Brias *et al.*, 2018) et la domination des cyanobactéries (Paerl et Huisman, 2009) (Figure 15). D'un point de vue favorable au développement, les épisodes de sécheresse favorisent les longs temps de séjour de l'eau dans l'écosystème, la stabilité de la masse d'eau et ainsi, la mise en place de stratification avec en surface une eau chaude et oxygénée et en profondeur, une eau plus froide, riche en nutriments (Li *et al.*, 2015). La diminution du volume d'eau, concentre les nutriments, alors disponibles pour le phytoplancton (Vinçon-Leite et Casenave, 2019 ; Lu *et al.*, 2019). Les fortes précipitations participent grandement à l'apport de nutriments (notamment de phosphore) dans le plan d'eau par lessivage des sols, ruissellement et décharge de l'eau souterraine (Paerl et Huisman, 2009 ; Rissik *et al.*, 2009 ; Brias *et al.*, 2018 ; Vinçon-Leite et Casenave, 2019). L'homogénéisation de la masse d'eau sous l'effet des pluies, permet le déploiement de nutriments dans toute la colonne d'eau permettant alors le développement de cyanobactéries (Li *et al.*, 2015). D'un point de vue défavorable aux proliférations, les importants volumes d'eau apportés par les pluies participent au renouvellement de la masse d'eau qui engendre une diminution de la biomasse mais également une augmentation de la diversité par diminution de l'espèce prédominante (Li *et al.*, 2015).

1.2.2.3. Rôle de la lumière

L'accès à la lumière est primordial pour procurer aux végétaux l'énergie nécessaire à la photosynthèse (Hedger *et al.*, 2004). Dans certaines conditions (forte turbidité, couverture nuageuse), elle peut être la ressource limitante à leur développement (Anderson *et al.*, 2002). La qualité, l'intensité et la durée de lumière nécessaire à la croissance est dépendant de l'espèce, de ces pigments et de sa morphologie (Reynolds, 2006 ; Deblois et Juneau, 2010). Par exemple, les espèces *Planktothrix* et *Oscillatoria* (cyanobactéries filamenteuses) préfèrent les faibles intensités lumineuses. Parmi les *Planktothrix*, *P. rubescens* est adaptée aux faibles intensités ($< 200 \mu\text{mol.photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) alors que *P. agardhii* est moins sensible à la qualité de la lumière (Oberhaus *et al.*, 2007).

Dans le milieu naturel, le phytoplancton est exposé à des fluctuations rapides et intenses de l'intensité lumineuse à l'échelle d'une journée (Figure 16 – A) ou d'une année (Figure 16 – B). Au cours d'une journée, elle atteint son maximum à midi ; l'intensité maximale étant dépendante de la couche nuageuse. Au cours d'une année, l'intensité solaire est maximale en été et minimale en hiver.

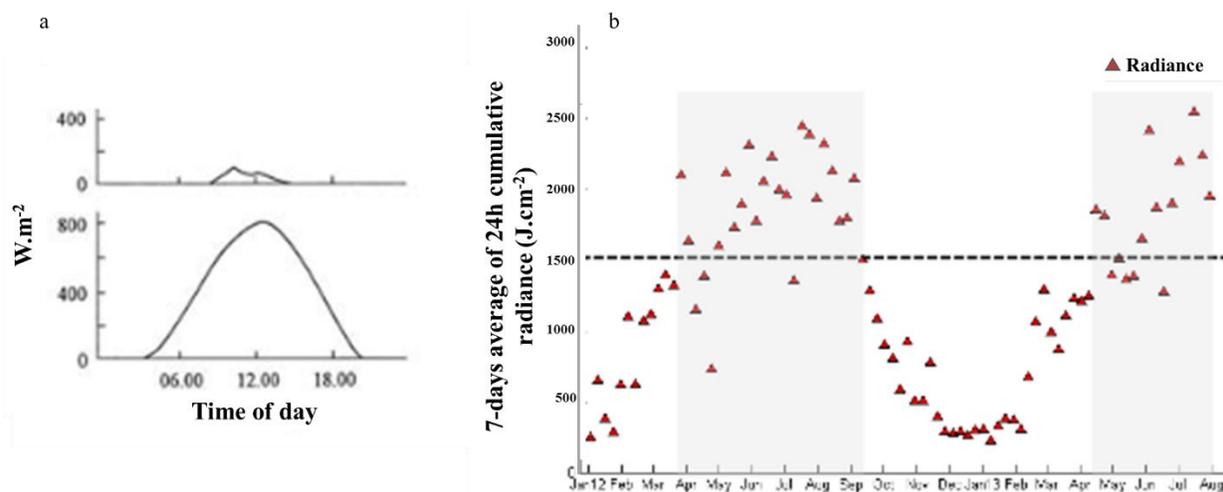


Figure 16 : (a). Irradiance solaire au cours d'une journée : en haut durant une journée nuageuse, en bas, au solstice d'été (Reynolds, 2006). (b). Irradiance solaire au cours d'une année (Limoges) (Leloup, 2013).

A la surface d'un plan d'eau, l'intensité lumineuse varie entre 200 et 2000 $\mu\text{mol.photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (Reynolds, 2006 ; Leloup, 2013). Pour survivre à ces variations, le phytoplancton développe des processus de photo-acclimation telle que l'adaptation de la teneur en pigments photosynthétiques (Reynolds, 2006 ; Dubinsky et Stambler, 2009).

L'intensité lumineuse est hétérogène dans la colonne d'eau. D'une part, elle n'est pas absorbée de manière identique sur son spectre : les photons aux longueurs d'onde entre 400 et 480 nm pénètrent plus que ceux autour de 700 nm (Reynolds, 2006). D'autre part, la lumière s'atténue avec la profondeur par absorption avec l'eau, les particules solides en suspension et les cellules algales. Le phytoplancton se développe dans toute la zone de la colonne d'eau qui reçoit au minimum 1% de la radiation solaire, soit une intensité minimale de 20 $\mu\text{mol.photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (Reynolds, 2006). Cette zone est appelée la zone euphotique (Figure 17).

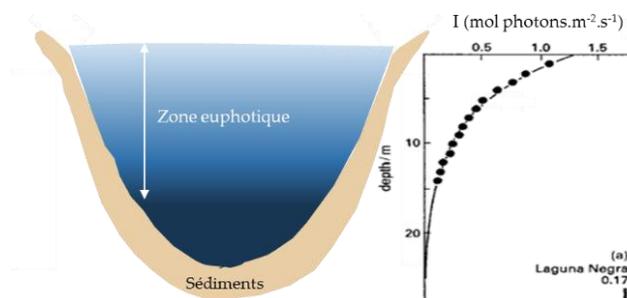


Figure 17 : Définition de la zone euphotique d'un plan d'eau

Le changement climatique va affecter la compétition pour la lumière entre les cyanobactéries et les microalgues, en faveur des premières (Carey *et al*, 2012). Elles contiennent plusieurs pigments photosynthétiques : la chlorophylle a, les caroténoïdes et les phycobiliprotéines (phycocyanine et phycoérythrine) qui leurs permettent d'utiliser un plus large spectre lumineux (Chorus et Bartram, 1999). Ainsi, lors d'épisodes d'auto-ombrage liés au fort développement phytoplanctonique, les cyanobactéries, moins exigeantes sur la qualité de la lumière, sont favorisées (Reynolds, 2006 ; Dubinsky et Stambler, 2009). Elles possèdent également des vacuoles à gaz qui leur permettent de se positionner à la profondeur la plus favorable dans la colonne d'eau afin d'avoir accès à la lumière tout en évitant une dégradation de l'appareil photosynthétique par photo-inhibition (Chorus et Bartram, 1999). En effet, de nombreuses espèces de phytoplancton sont sensibles voire inhibées aux longues périodes de hautes intensités lumineuses car des intensités supérieures à $320 \mu\text{mol}.\text{photons}.\text{m}^2.\text{s}^{-1}$ sont létales pour nombre d'espèces (Yamamoto et Nakahara, 2005 ; Dubinsky et Stambler, 2009).

L'intensité et la vitesse de développement du phytoplancton sont influencées par le climat et des températures élevées, de fortes pluies hivernales et une sécheresse estivale contribuent au développement. Or, les évolutions du climat au cours du XX^{ème} siècle ont montré une augmentation des températures de l'air et des eaux de surface, une augmentation des précipitations hivernales et une diminution des précipitations estivales.

*L'évolution de ces facteurs climatiques combinée à l'apport constant de nutriments explique l'expansion du phytoplancton dans les plans d'eau douce mondiaux au cours des dernières décennies et les différents suivis in-situ (Wiedner *et al.*, 2007 ; Kosten *et al.*, 2012 ; Leloup, 2013 ; Taranu *et al.*, 2015 et Pitois *et al.*, 2014, 2016) mettent en évidence une domination en cours des cyanobactéries.*

Quelle est l'ampleur de ce phénomène dans le monde ? Comment ce phénomène a-t-il évolué depuis le début du XX^{ème} siècle ? Comment va-t-il évoluer sous l'effet des changements climatiques ? Pourquoi les cyanobactéries dominant-elles, quelles sont leurs avantages compétitifs ?

1.3. Etat des lieux de l'occurrence des phénomènes d'eutrophisation

Les phénomènes d'eutrophisation peuvent être identifiés soit par leur cause (concentration excessive en nutriments, température de l'eau élevée, stabilité de la masse d'eau) soit par leur conséquence (prolifération du phytoplancton, diminution de la biodiversité, anoxie). Sur la base de ces paramètres, l'ampleur de la dégradation de l'état écologique des eaux côtières dans le monde a été estimée (Figure 18). Selman *et al.* (2008) ont identifié, à travers le monde, 415 sites présentant les symptômes de l'eutrophisation avec 78% des côtes des USA et 65% des côtes de l'Europe Atlantique touchées.

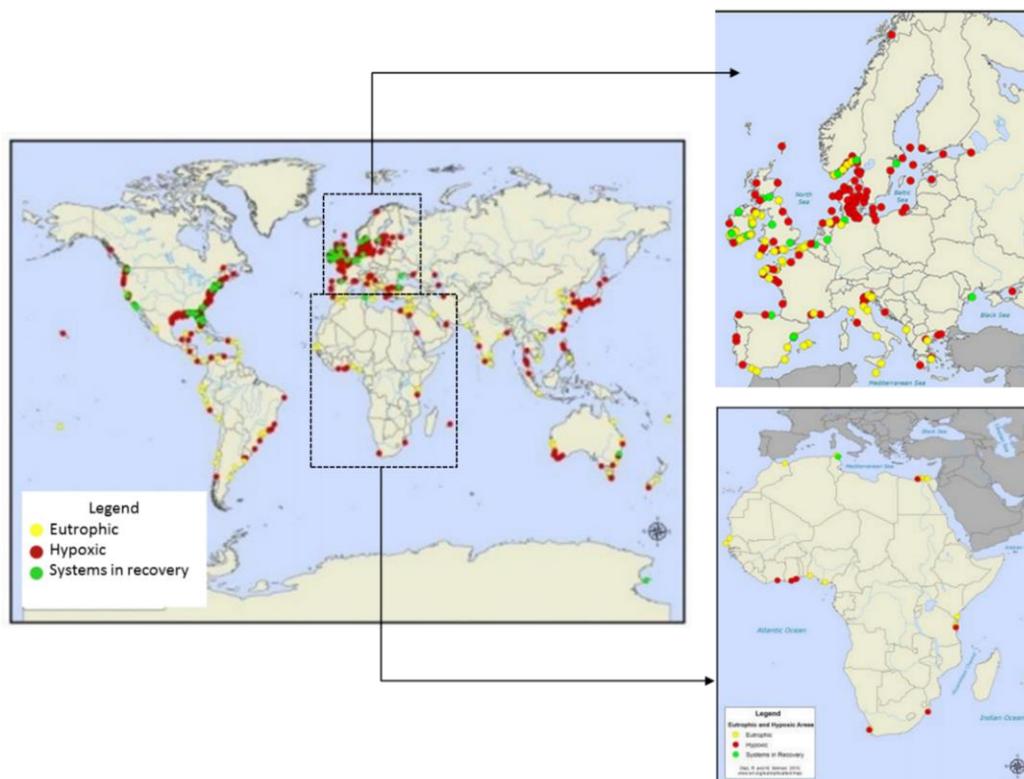


Figure 18: Etat d'hypoxie ou d'eutrophisation des zones côtières (Diaz et al., 2004 ; Selman et al., 2008)

Le changement climatique, illustré par le changement des régimes thermique et pluviométrique et le changement des paysages terrestres, est une perturbation supplémentaire qui impacte l'ensemble des mécanismes de l'eutrophisation et qui en amplifie les symptômes, notamment la prolifération de cyanobactéries. Les blooms de cyanobactéries se sont étendus géographiquement ; de l'Arctique à l'Antarctique, les eaux de surface (douces et salées) sont atteintes, menaçant aujourd'hui la viabilité des plus grandes ressources en eau : lac Victoria (Afrique), lac Erie (Canada-USA), lac Taihu (Chine), mer Baltique (Europe du Nord) (Smith & Schindler, 2009 ; Paerl et al., 2011). Les *Microcystines*, par exemple, connaissent une forte expansion géographique : leurs blooms ont été observés dans 108 pays répartis sur tous les continents exceptés l'Antarctique où aucun enregistrement n'a été réalisé (Figure 19).

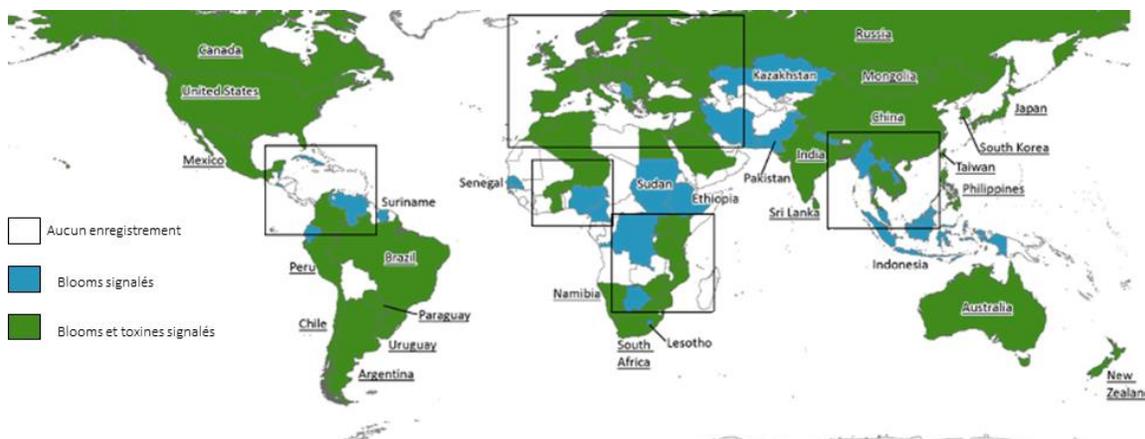


Figure 19: Occurrence globale des blooms de *Microcystis* et des MCs déterminée à partir de recherches sur 257 pays et territoires (Harke et al., 2016)

Taranu *et al.* (2015) ont étudié les pigments contenus dans les sédiments de 191 plans d'eau (situés en régions tempérées et subarctique), accumulés depuis 200 ans. L'analyse a montré une augmentation significative des pigments cyanobactériens depuis 1800 ; une augmentation supérieure à celle des algues et une augmentation encore plus rapide depuis 1945. Pitois *et al.* (2014 - 2016) ont suivi 26 lacs bretons entre 2004 et 2011. Ils ont observé une augmentation de la dominance des cyanobactéries et notamment du genre *Microcystis* ainsi qu'une extension de la période de développement. Kosten *et al.* (2012) ont étudié le phytoplancton de 143 lacs situés sur un transect longitudinal entre l'Europe subarctique et l'Amérique du Sud. Sur le biovolume total du phytoplancton, le pourcentage alloué aux cyanobactéries augmente avec l'augmentation de température. Wiedner *et al.* (2007) ont souligné la présence de l'espèce *Cylindrospermopsis raciborski*, cyanobactérie tropicale, dans des plans d'eau situés en zone tempérée.

En 2009, 58% des masses d'eau européennes sont jugées en mauvaise état contre 45% aux Etats-Unis. Les régions européennes les plus touchées sont l'Allemagne du Nord, les Pays-Bas, l'ouest et le nord de la France et la Belgique (Pinay *et al.*, 2017). Dans le cadre de cette étude, la France, la Suède et le Togo sont plus largement considérés car répondant à des régimes climatiques différents et permettant donc d'identifier l'impact des variations climatiques sur l'ampleur du phénomène.

1.3.1. Cas de la France

Depuis les années 1970, la France a développé des dispositifs de surveillance et d'évaluation – aspects physico-chimiques, biologiques et hydromorphologiques – pour comprendre le fonctionnement et connaître l'état des milieux aquatiques. La Directive Cadre sur l'Eau (DCE) de 2000 a renforcé la surveillance et les exigences, dans le but d'atteindre le bon état des eaux. Celui-ci est atteint si l'état chimique⁴ et l'état écologique⁵ sont à minima « bons ». Sur le territoire français, on peut compter 2043 stations de contrôle de surveillance (suivi pérenne d'un échantillon de masse d'eau) et 4618 stations de contrôle opérationnel (suivi des eaux risquant de ne pas atteindre l'objectif).

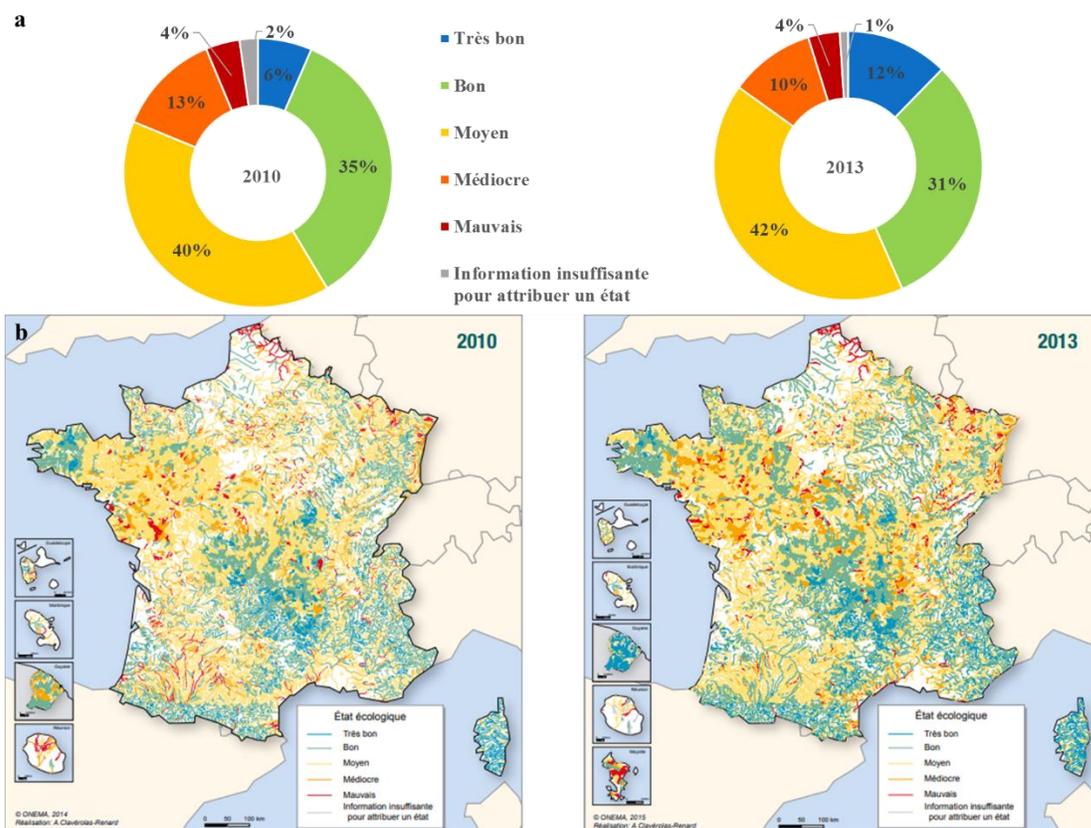
En 2013, 48,2% des masses d'eau de surface (toutes catégories confondues) sont en « bon état » chimique et 15,9% n'ont pas atteint l'objectif (les 36% restants n'étant pas classés par manque de données) (Eau France, 2015). Avec de tels pourcentages, la France se situe en 15^{ème} position au rang européen ; avec une proportion de masses d'eau en « bon état » chimique supérieure à la moyenne européenne de 35,4% (donnée de 2010). Cette dernière est influencée par la Suède, fortement déclassée à cause de ses concentrations en mercure ; la Suède étant le pays ayant recensé le plus grand nombre de masses d'eau et la France recensant 9% de l'effectif européen (Agence de l'eau pour l'environnement, données rapportées en 2010).

L'état écologique des masses d'eau est caractérisé par cinq classes de « très bon » à « mauvais ». 43,4% des masses d'eau de surface sont au moins en « bon état » écologique en 2013 contre 41,4% en 2010 (Figure 20-A). En comparant les masses d'eau évaluées sur les deux périodes, 24,6% voient leur état s'améliorer, 52,6% stagner et 20,1% se dégrader. En 2013, l'élément le plus déclassant est la physico-chimie

⁴ Etat chimique = appréciation d'une qualité d'une eau sur la base des concentrations des substances dites « prioritaires » ou « prioritaires dangereuses ». Le bon état est atteint lorsque les concentrations (moyennes et maximales) ne dépassent pas les normes de qualité environnementale (directive de 2008). Deux classes existent pour ce paramètre : « bon état » ou « non atteinte du bon état ».

⁵ Etat écologique = appréciation de la structure et du fonctionnement des écosystèmes aquatiques. Déterminé à partir d'éléments de qualité biologique (espèces animales et végétales), hydromorphologiques (débit, état des rives, largeur du lit, ...) et physico-chimiques (nutriments, température, oxygène, ...) associés aux cycles biologiques. Le bon état est atteint selon l'écart à des conditions de référence. Cinq classes existent pour ce paramètre : « très bon », « bon », « moyen », « médiocre » ou « mauvais ».

pour 17,8% des cours d'eau et 34,5% des plans d'eau, suivi du phytoplancton pour 23,6% des plans d'eau. Les zones les moins soumises aux impacts des activités anthropiques (zones montagneuses) connaissent des masses d'eau de meilleure qualité écologique (Figure 20-B). La moyenne française de masses d'eau en « bon état » écologique est comparable à la moyenne européenne de 38,8%, moyenne à nuancer car selon les pays, la part de masses d'eau en état indéterminé est variable (2,2% en France mais 79% en Pologne) ainsi que le nombre de masses d'eau considérées (9 à Malte mais 23 418 en Suède). La France se classe au 14^{ème} rang européen sur la base de l'état écologique.



Dans le département de la Haute-Vienne (87), l'Agence Régionale de Santé (ARS) Nouvelle-Aquitaine contrôle entre le 15 juin et le 31 août la qualité de l'eau de 25 zones de baignade. L'arbre décisionnel de la surveillance des cyanobactéries en eau douce est illustré Annexe 1. En 2017, 197 prélèvements ont été réalisés dont 159 pour l'identification des cyanobactéries. 80% des zones de baignade présentaient une situation préoccupante (81% sur la moyenne 2014 – 2017) : 56% a déclenché le niveau d'alerte 1 (35% sur la moyenne 2014 – 2017) et 24% le niveau 2 (46% sur la moyenne 2014 – 2017) (Figure 21). Ces développements algaux sont le témoin de fortes concentrations en nutriments et donc d'un état d'eutrophisation avancée des plans d'eau.

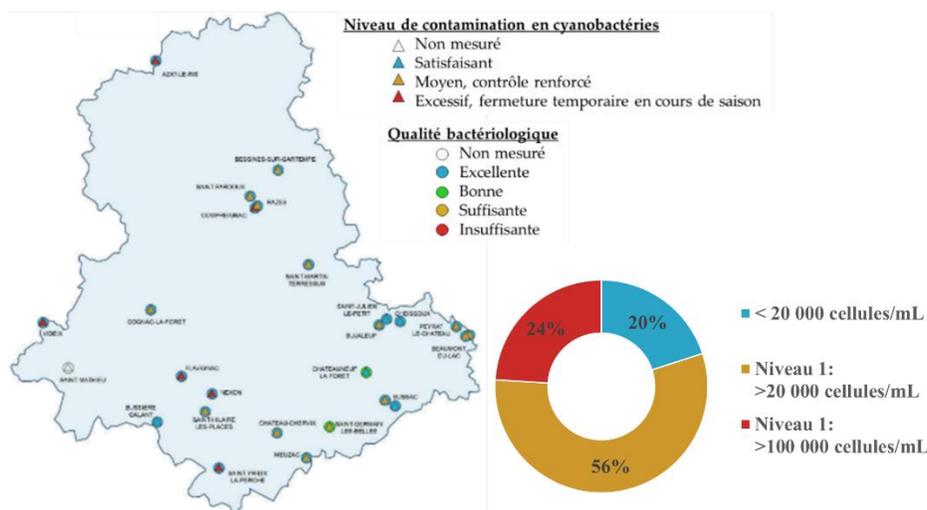


Figure 21: Qualité des eaux de baignade en Haute-Vienne (87) lors de la saison touristique de 2017. (ARS Nouvelle-Aquitaine, 2017)

1.3.2. Cas de la Suède

L'expansion urbaine du 19^{ème} siècle en Europe est responsable de la dégradation de la qualité des eaux, notamment en raison du mauvais traitement des déchets et des eaux usées. Dans les années 1950, des programmes ont été initiés en Suède afin d'identifier et atténuer les impacts des eaux usées sur le milieu naturel. En 1964, le Conseil Suédois de Recherche en Sciences Naturelles a conduit une étude du processus d'eutrophisation du lac Mälaren (troisième plus grand lac du pays). La création de l'Agence Suédoise de Protection de l'Environnement (SEPA) en 1967 a permis d'étendre l'étude à l'ensemble du territoire, comptant jusqu'à 1 250 lacs suivis en 1972. Le programme actuel comprend aux alentours de 5000 lacs, régulièrement surveillés (4800 lacs sont échantillonnés selon un cycle de six ans, 110 lacs sont échantillonnés 4 fois par an, à chaque saison (programme « Trend lakes »), Fölster *et al.*, 2014).

Malgré l'amélioration du traitement des eaux usées, la limitation des intrants et les différentes directives environnementales, 46% des masses d'eau suédoises, majoritairement au sud du pays, n'atteignent toujours pas le bon état écologique (Figure 22). L'état a donc mis en place l'objectif « zéro eutrophisation », visant à diminuer drastiquement les apports de nutriments et à atteindre zéro apport en mer Baltique d'ici 2021.

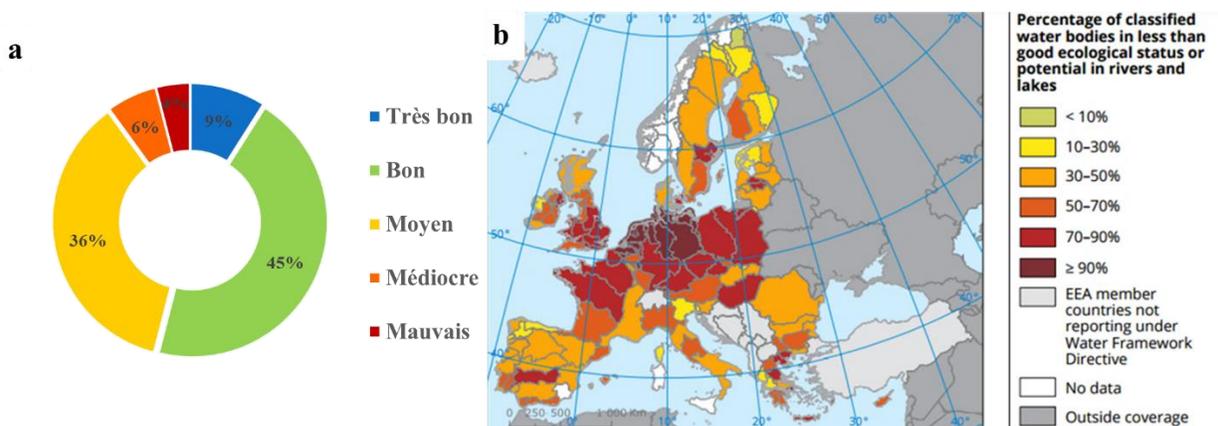


Figure 22 : A) Répartition des masses d'eau de surface suédoises (toutes catégories confondues) selon l'état écologique. B) Pourcentage des eaux de surface (lacs, rivières) non classées en bon état écologique (EEA, 2012).

1.3.3. Cas du Togo

Le Togo comporte un riche réseau hydrographique. Ces écosystèmes d'eau douce (rivières et plans d'eau) sont d'un intérêt socio-économique capital (commercialisation des produits halieutiques, navigation, sport nautique, tourisme) mais leur qualité ne cesse de se dégrader à cause des pressions anthropiques auxquelles ils sont soumis. Les déchets ménagers, les pâturages d'animaux et le lessivage des terres environnantes contribuent à l'enrichissement des eaux en matières organiques alors que les activités agricoles et les usines d'exploitation de minerais contribuent à l'enrichissement en nutriments (Atanle *et al.*, 2013 ; Assougnon *et al.*, 2017). Cet apport continu en nutriments entretient le développement phytoplanctonique. Peu d'études ont été consacrées à l'état des lieux de l'eutrophisation de ces écosystèmes. Issifou *et al.* (2014) a recensé les différentes espèces présentes au Togo. Au total 795 espèces ont été observées dont 26% de diatomées, 17% de cyanobactéries et 16% de chlorophycées. Le suivi *in-situ* de Radji *et al.* (2013) a montré que la densité de la population algale est plus importante en grande saison pluvieuse que sèche et l'importance est encore moindre en petite saison sèche que pluvieuse. Il a également été remarqué que dans les lagunes de Lomé (Sud-Ouest du pays), les cyanobactéries représentent plus de 50% de la population durant la grande saison sèche, période qui coïncide avec de hautes températures (autour de 33°C).

L'ampleur de l'eutrophisation est mondiale : sous tous les climats des plans d'eau eutrophes sont recensés et ce malgré des limitations d'usages de nutriments et des réglementations sur les eaux usées.

Quelles sont les conséquences de l'eutrophisation : sur l'environnement, l'économie, la santé humaine ? Une dégradation de la qualité de l'eau a-t-elle été observée et mesurée ? Est-il possible de restaurer la qualité des eaux ? Comment s'adapter dans le cas contraire ? Dans un contexte de changements climatiques, l'état de trophie des masses d'eau va-t-il s'améliorer ?

2. Impacts de l'eutrophisation sur la qualité de la ressource

Les phénomènes d'eutrophisation génèrent des perturbations majeures pour les écosystèmes aquatiques mais impactent également la santé humaine, les services associés ainsi que les activités économiques.

2.1. **Changement de communautés des producteurs primaires**

Le phénomène d'eutrophisation impacte directement le compartiment des producteurs primaires et par des réactions en chaîne, modifie les autres compartiments jusqu'à faire évoluer l'écosystème aquatique concerné : perte de diversité dans les différents réseaux trophiques en réponse à la domination d'une ou de deux espèces de producteur primaire.

2.1.1. **Perte de diversité**

L'augmentation des apports nutritifs entraîne une cascade de réactions. Différents groupes fonctionnels de producteurs primaires (macrophytes, macroalgues ou phytoplancton selon l'hydrologie et la concentration en nutriments) se succèdent (Pinay *et al.*, 2017). Les producteurs primaires étant à la base de la chaîne trophique, les changements des communautés bouleversent la structure et le fonctionnement des communautés qui suivent (Oliver et Ganf, 2000 ; Zingone *et al.*, 2010 ; Sanseverino *et al.*, 2016). Dans un système eutrophe, les diatomées sont remplacées par les cryptophytes ou cyanobactéries, qui sont des ressources nutritives de moindre qualité pour le zooplancton ou qui peuvent leur être toxique (cyanotoxines).

De la baisse de qualité et de quantité du zooplancton s'ensuit une perte de la biodiversité aquatique de l'hydrosystème (Figure 23) (Smith *et al.*, 1998 ; Mooij *et al.*, 2005).

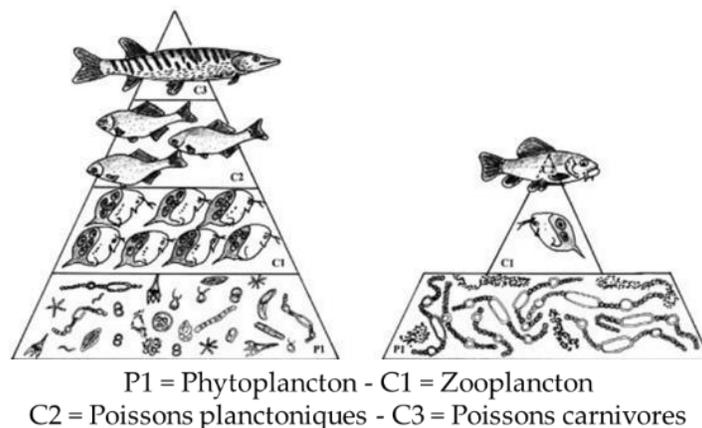


Figure 23: Réseaux trophiques et biodiversité d'un écosystème oligotrophe (à gauche) et eutrophe (à droite).

2.1.2. Ecologie et phylogénie simplifiée du phytoplancton

Le phytoplancton est doté d'une grande plasticité écologique, qui lui a permis de coloniser des milieux extrêmement variés : milieu dulcicole (lacs, rivières), marins ou simplement humides (grottes), eaux thermales chaudes ou glacées, eaux courantes ou stagnantes. Son mode de vie peut être planctonique – en suspension dans la colonne d'eau – ou benthique – fixé sur des substrats immergés. Dans les plans d'eau ou les cours d'eau lents – faciès lentique – c'est le comportement planctonique qui est favorisé. Ces microorganismes peuvent être unicellulaires ou pluricellulaires, ramifiés ou non, isolés ou regroupés en colonies ou filaments. Leur taille varie de 2 μm à 400 μm en unité cellulaire mais de 1 mm à 10 cm en unité coloniale. La reproduction se fait majoritairement par voie végétative : par bourgeonnement, division binaire ou divisions multiples, mais également par voie sexuée pour certaines classes (*Chlorophycées* et *Zygophycées*). Certaines espèces vivent en association avec des organismes animaux ou végétaux (Chorus et Bartram, 1999 ; Lévi *et al.*, 2006).

Près de 30 000 espèces de phytoplancton d'eau douce sont répertoriées et classées selon leur organisation cellulaire puis selon leur contenu en pigments photosynthétiques ; on parle alors « d'algues » vertes, brunes, jaunes ou bleues. La Figure 24 présente, de manière non exhaustive, la classification des principales espèces de phytoplancton d'eau douce.

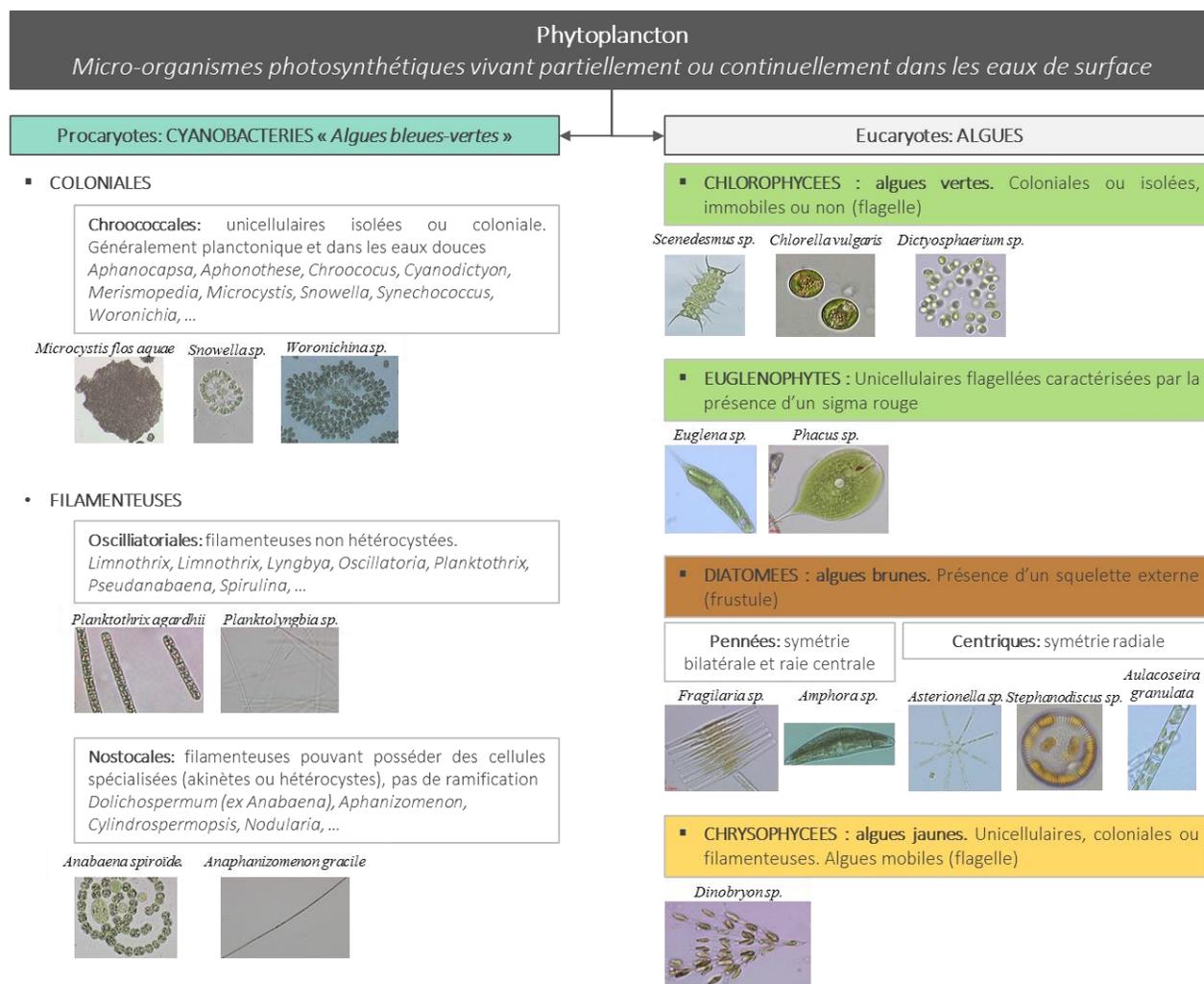


Figure 24 : Schéma simplifié (non exhaustif) de la classification des organismes photosynthétiques des plans d'eau douce (Photos : Luc Brient).

Les paramètres physico-chimiques contrôlant le développement du phytoplancton ont été précédemment détaillés. Or il a été observé une domination des cyanobactéries dans les plans d'eau.

Que sont les cyanobactéries ? Quelles caractéristiques fonctionnelles et morphologiques leur confèrent une telle compétitivité ?

2.1.2.1. Les cyanobactéries et leurs avantages compétitifs

Les algues bleues, plus couramment appelées cyanophycées ou cyanobactéries, sont des micro-organismes autotrophes reconnues parmi les premiers organismes sur Terre. A ce jour, environ 2 000 espèces ont été identifiées dont 40 recensées comme toxiques (Briand *et al.*, 2003). Par l'absence d'une membrane isolant le matériel nucléaire (ADN, ...) du cytoplasme, elles sont définies comme procaryotes et classées dans le règne des Eubactéries (Leitão et Couté, 2005) (Figure 25). Mais, elles ont longtemps été classées dans le règne végétal car possèdent, outre des propriétés propres aux bactéries, des caractéristiques spécifiques des algues :

- Structure cellulaire semblable aux bactéries : absence de noyau et d'organites intracellulaires
- Présence de chlorophylle-a, pigment typique des végétaux associé à d'autres pigments photosynthétiques : les phycobiliprotéines (phycocyanine, allo-phycocyanine et phycoérythrine) qui leur permettent de réaliser la photosynthèse. Ces derniers pigments leur confèrent une large gamme de couleur : bleu, vert, rouge.

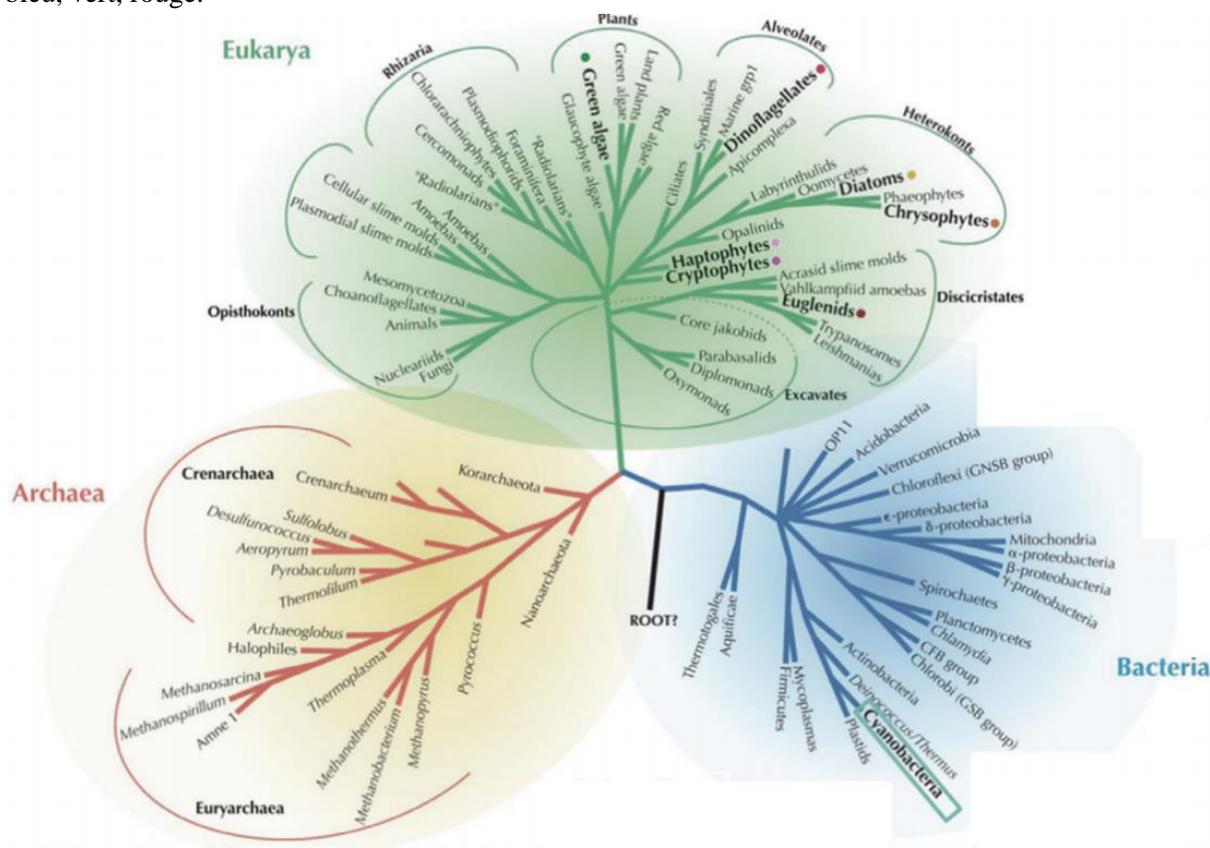


Figure 25: Distribution des cyanobactéries au sein de l'arbre du vivant (modifié d'après Cracraft et Donoghue, 2004).

Les blooms phytoplanctoniques sont régulés par les paramètres physiques, chimiques et biologiques. Pour se développer et dominer la population phytoplanctonique, les cyanobactéries ont développées de nombreuses capacités d'adaptation (Chorus & Bartam, 1999 ; Leitão & Couté, 2005 ; Reynolds, 2006). Tout d'abord, elles ont peu de prédateurs : leur organisation cellulaire (en colonie englobée dans un mucilage (ex : *Microcystis*), en filament (ex : *Planktothrix*, *Anabaena*)) les rendent difficilement ingérables par le zooplancton. Bien que le rôle des cyanotoxines ne soit pas clairement identifié, elles dissuadent voire tuent les organismes prédateurs. Ensuite, pour faire face aux changements qualitatifs et quantitatifs de la lumière, elles sont capables d'adapter leur appareil photosynthétique. Afin de bénéficier des conditions optimales de luminosité, certaines cyanobactéries (ex : *Aphanizomenon*, *Microcystis*) possèdent des vacuoles à gaz, leurs permettant d'ajuster leur densité. Ainsi, leur position dans la colonne d'eau est judicieusement adaptée : une montée vers la surface pour des conditions optimales de luminosité et une descente vers les sédiments où les nutriments sont abondants. Elles ont également optimisé leur accès aux nutriments : 1/3 des espèces (les *Nostocales*, ex : *Anabaena*) sont capables de fixer l'azote atmosphérique via les hétérocystes, d'autres stockent le phosphore pour le consommer lorsque les conditions sont défavorables. Enfin, pour assurer leur survie lorsque les conditions sont peu favorables, certaines espèces (ex : *Anabaena*, *Aphanizomenon*) développent des cellules de résistance appelées akinètes.

2.1.2.2. Les algues

Les autres familles de phytoplancton sont des organismes eucaryotes ; on parle alors de microalgues. Environ 20 000 à 40 000 espèces d'algues ont été décrites dans le monde, représentant 18% du règne végétal (Garon-Lardiere, 2004 ; Guiry, 2012). Les algues regroupent de nombreux genres, classifiés selon leur contenu en pigments photosynthétiques :

- Les algues vertes, telles que les *Chlorophycées* (près de 80% de la biomasse sur terre), les *Zygothycées* ou les *Euglénophycées*, contiennent de la chlorophylle a et b.
- Les algues brunes telles que les diatomées, contiennent de la chlorophylle a et c masquées par un pigment brun la fucoxanthine
- Les algues jaunes, les *Crysophycées*, contiennent de la chlorophylle a et c masquée par d'autres pigments dont la fucoxanthine
- Les algues rouges, telles que les *Dinophycées* ou *Dinoflagellés*, contiennent de la chlorophylle a et c masqué par d'autres pigments

2.1.2.3. Distribution du phytoplancton dans les pays d'étude

Le phytoplancton est ainsi divisé en deux groupes (microalgues et cyanobactéries), eux-mêmes subdivisés en ordres, genres et espèces selon leurs spécificités. Les caractéristiques propres à chaque espèce et les paramètres environnementaux conditionnent la période de développement du phytoplancton. Dans les régions au climat tempéré, la succession diatomées, chlorophycées et cyanobactéries est annuellement rapporté (Figure 11) (Pourriot & Meybeck, 1995 ; Leitão et Couté, 2005). Dans l'hémisphère nord, les cyanobactéries apparaissent entre mai et septembre et dans quelques cas, sont présentes toute l'année ou jusqu'à la reprise des débits.

2.1.2.3.1. *En France*

En été, en France, 27 genres de cyanobactéries sont recensés dans les plans d'eau dont au moins un genre potentiellement toxique dans 97 % des échantillons. Les genres dominants sont *Microcystis* et *Woronichinia* (ordre des Chroococales) dans 75 % et 32 % des sites respectivement, *Planktothrix* (ordre des Oscillatoriales) dans 65 % des sites, *Aphanizomenon* et *Dolichospermum* (ordre des Nostocales) respectivement dans 64 % et 54 % des sites, les autres espèces étant retrouvées dans moins de 10 % des cas (Lévi *et al.*, 2006). Le Tableau 6 présente les caractéristiques des genres dominants en Haute-Vienne (87). Les microalgues les plus fréquemment retrouvés sont *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus* sp. (Chlorophycées), *Euglena gracilis* (Euglenophycées) ou encore les Diatomées suivantes : *Asterionella*, *Aulacoseira*, *Stephanodiscus*, *Tabellaria*.

Tableau 6: Caractéristiques de quelques genres et espèces fréquemment retrouvés dans la Haute-Vienne (87) (Antoine *et al.*, 2009 ; ARS Nouvelle-Aquitaine, 2017)

GENRE	ESPECE	Organisation	Potentiellement toxique	Fixation du N ₂	Formation akinètes
<i>Aphanizomenon</i>	<i>issatschenkoi</i>	Filamenteuse	+	+	+
	<i>flos aquae</i>				
<i>Dolichospermum</i>		Filamenteuse	+	+	+
<i>Limnothrix</i>		Filamenteuse	-	-	-
<i>Planktothrix</i>	<i>agardhii</i>	Filamenteuse	+	-	-
<i>Microcystis</i>	<i>aeruginosa</i>	Coloniale	+	-	-
<i>Woronichinia</i>		Coloniale	+	-	-

2.1.2.3.2. En Suède

Parmi les 110 lacs suivis dans le programme « Trend lakes », 9 ont connu une concentration en cyanobactéries supérieure à 1 mg.L⁻¹. Treize espèces de cyanobactéries ont, en moyenne, été retrouvées (minimum 3 et maximum 23) (Pekar *et al.*, 2016). Les espèces dominantes sont : *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis* et *Woronichinia* (Li *et al.*, 2017). Des études plus anciennes (Willén, 2001; Willén et Mattsson, 1997 ; Willén *et al.*, 2000) avaient observé la dominance des espèces suivantes : *Dolichospermum*, *Aphanizomenon*, *Microcystis* et *Planktothrix*. Ces différentes études ont montré qu'en Suède, plus de 50 % des blooms étaient toxiques, avec 22 toxines différentes identifiées (Pekar *et al.*, 2016).

2.1.2.3.3. Au Togo

Au Togo, une prospection de la diversité phytoplanctonique a été effectuée en 2014 (Issifou *et al.*, 2014). Au total 795 espèces ont été recensées pour 282 genres. Les embranchements les plus retrouvés sont les diatomées (39 %), les chlorophycées (32 %) et les cyanobactéries (17 %). Les algues bleues les plus répandues au Togo sont des filamenteuses de l'ordre des *Oscillatoriales* et des *Nostocales* (Issifou *et al.*, 2014).

Les effets les plus notables de l'eutrophisation sont les proliférations de phytoplancton – cyanobactéries et microalgues – engendrant des pertes de biodiversité. De plus, les cyanobactéries présentes de nombreux avantages (morphologie, toxicité, vacuole à gaz, hétérocyste, akinète) faisant d'elles d'excellentes compétitrices et expliquant leur expansion dans le monde et leur domination dans les plans d'eau.

Quels sont les impacts de tels développement phytoplanctoniques et cyanobactériens sur la qualité de la ressource en eau ?

2.2. Dégradation de la qualité de l'eau

Outre les impacts sur l'écosystème aquatique et la perte de diversité, les proliférations d'algues et de cyanobactéries affectent les usages de l'eau. La dégradation de la qualité de l'eau s'articule selon deux problématiques:

- L'augmentation de la charge organique et de la turbidité de l'eau
- La libération de métabolites secondaires odorants ou potentiellement toxiques.

L'augmentation de la concentration cellulaire engendre une augmentation de la quantité de particules en suspension, réduisant alors la pénétration de la lumière qui, par réactions en chaîne, réduit la diversité aquatique. De plus, de l'abondance de matières organiques générées lors des proliférations, découle un développement de micro-organismes décomposeurs. La minéralisation de cette matière organique par ces derniers consomme de l'oxygène. L'anoxie du milieu conduit à la mort d'espèces aquatiques et au relargage d'éléments nutritifs et métaux.

Parallèlement à cette forte production de biomasse, certaines espèces de cyanobactéries produisent des composés dangereux appelés cyanotoxines. Par leurs effets toxiques (neurologiques, dermatologiques, hépatiques, ...), elles représentent un danger pour la santé humaine.

2.2.1. Impacts de l'eutrophisation sur les caractéristiques de la Matière Organique

2.2.1.1. La Matière Organique

La matière organique (MO) est une composante ubiquiste et hétérogène des milieux terrestres, aquatiques et anthropiques, constituée des atomes de C (45 – 55 % de la masse totale), H, O, N, P et S. Dans les écosystèmes terrestres, les producteurs primaires prolifèrent et génèrent de la MO à hauteur de 10^{17} g C.an⁻¹ (Pinay *et al.*, 2017). Dans les eaux, la MO peut avoir une origine anthropique, issue des activités humaines (rejets d'eaux usées, agriculture intensive) ou naturelle (végétale, animale ou bactérienne). Lorsqu'elle est générée dans le milieu naturel, elle est principalement issue de l'activité métabolique des micro-organismes. La MO, bien qu'hétérogène, est systématiquement composée de deux types de composés, présents en proportions variables :

- Des composés facilement identifiables et dégradables (substances non humifiées)
- Des composés plus difficilement identifiables et réfractaires (substances humiques, ...) (Dignac, 1998 ; McDonald *et al.*, 2004)

Les substances non humifiées sont composées de molécules de structures assez simples (protéines, polysaccharides, acides aminés, lipides, ...). Elles peuvent être rapidement dégradées et subir des réactions de polymérisation pour se transformer en macromolécules plus complexes telles que les Substances Humiques (SH) (Cheshire *et al.*, 1992 ; Stevenson, 1994). Les SH formées sont hydrophobes et de nature complexe, qui ne sont définies ni par leur structure ni par leur fonction chimique, mais par leur mode d'extraction. Une extraction à différents pH permet de les séparer selon leur solubilité (Chen *et al.*, 2002 ; Piccolo, 2002 ; Labanowski et Feuillade, 2009), une extraction selon le caractère hydrophobe permet de séparer les fractions des Acides Fulviques (AF) (Malcolm et MacCarthy, 1992) (Figure 26).

La MO est divisée en deux fractions : MO particulaire (MOP) et MO dissoute (MOD), en fonction du diamètre des particules. La MOD représente la fraction la plus abondante (90 – 95 % d'après Thurman, 1985 ; Toming *et al.*, 2016 ; Song *et al.*, 2018), retrouvée après filtration à 0,45 µm (McDonald *et al.*, 2004). Elle englobe les molécules de dégradation d'organismes morts ainsi que les molécules excrétées. La MO est une matrice en constante évolution, complexe et très réactive. Ainsi, la répartition des différentes fractions varie significativement selon l'origine de l'échantillon (Imai *et al.*, 2001) et il est possible de définir des caractéristiques propres à chaque source et chaque milieu.

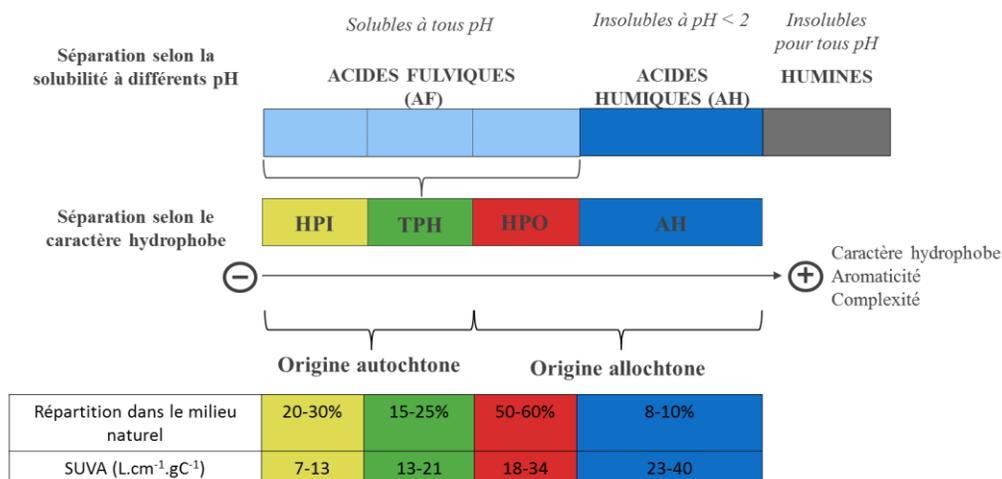


Figure 26 : Fractions constitutives de la MO (HPI : hydrophiles, TPH : transphiliques, HPO : hydrophobes). Origine, répartition dans le milieu naturel et caractéristique de ces fractions (Croué, 2004 ; Labanowski, 2004 ; Świetlik et Sikorska, 2004 ; Pernet-Coudrier, 2008 ; Labanowski et Feuillade, 2009 ; Leloup, 2013)

2.2.1.2. Quantification et qualification de la MO

2.2.1.2.1. *Méthode de quantification de la MOD*

La MO est formée à 50 % de Carbone Organique (CO) (PetitJean *et al.*, 2004 ; Evans *et al.*, 2005 ; Griffin *et al.*, 2018). Sa mesure permet alors d'avoir une estimation de la teneur en MO dans l'eau. Le Carbone Organique Dissous (COD) représente 90 – 95 % du COT. Ainsi, la mesure du COD permet de suivre aisément la dynamique de la MOD (Evans *et al.*, 2005).

2.2.1.2.2. *Méthodes de caractérisation de la MOD*

Pour décrire totalement la MO d'une ressource en eau, il faut caractériser sa structure, ses fonctions chimiques constitutives et les propriétés physiques (taille des molécules, ...) et chimiques (polarité, hydrophobicité, ...) des éléments qui la composent (Labanowski, 2004). Pour se faire, il existe de nombreuses techniques nécessitant d'être combinées pour obtenir des informations complémentaires (Tableau 8).

L'objectif principal de la caractérisation de la MO consiste à comprendre et prédire la réactivité de celle-ci ou de ses fractions constitutives vis-à-vis d'un procédé spécifique. Dans le cadre de ce travail, la caractérisation de la MO vise à déterminer les caractéristiques spécifiques de la MO générée lors du développement du phytoplancton afin d'appréhender les conséquences de ces apports liés à l'eutrophisation sur les caractéristiques de la MO naturelle et définir l'impact des variations climatiques sur ses caractéristiques.

2.2.1.2.2.1. Indice SUVA

L'indice SUVA (Specific UV Absorbance) est pertinent pour déterminer le caractère aromatique et hydrophobe des molécules organiques (Chin *et al.*, 1994 ; Leenheer et Croué, 2003). Plus il est élevé et plus les molécules sont aromatiques (Weishaar *et al.*, 2003). Un composé de SUVA élevé présente une hydrophobicité marquée mais également un haut poids moléculaire (Croué, 2004). A contrario, un SUVA faible est caractéristique d'une MO hydrophile et de faible poids moléculaire (Tableau 7). Il est défini comme le rapport de l'absorbance UV à 254 nm sur la concentration en COD (Équation 1) et s'exprime en $L \cdot cm^{-1} \cdot g \cdot C^{-1}$.

$$\text{Équation 1 : } SUVA = \frac{UV_{254nm}}{COD}$$

Tableau 7 : Corrélation entre hydrophobicité, aromaticité et poids moléculaire de différentes matières organiques naturelles (Leloup, 2013)

		Suwannee River		Eau du milieu naturel (Pigeard)	
		Acide Humique (AH)	Acide Fulvique (AF)	Fraction hydrophobe (HPO)	Fraction hydrophile (HPI)
SUVA ($L \cdot cm^{-1} \cdot g \cdot C^{-1}$)		67,4	47,4	52,8	14,1
Répartition du poids moléculaire (%)	> 3 kDa	82	78	46	14
	< 3 kDa	18	22	54	86

2.2.1.2.2.2. Fractionnement selon le caractère hydrophobe

La MO est composée d'une multitude de molécules organiques complexes et hétérogènes. Dans cette étude, la caractérisation se base sur leur séparation selon l'une de leurs propriétés chimiques : le caractère hydrophobe. Il renseigne d'une part sur l'origine de la MO, et d'autre part sur le degré d'humification des composés. Les processus d'humification tendent à complexifier les molécules et augmenter leur aromaticité, hydrophobicité et leur poids moléculaire (Leenheer et Croué, 2003 ; Pernet-Coudrier, 2008 ; Leloup, 2013) (Figure 26). Le caractère hydrophobe est alors corrélé à l'aromaticité des molécules, mesurée par l'indice SUVA.

Le fractionnement de la MO selon son caractère hydrophobe est basé sur un phénomène d'adsorption sur résines, retenant de façon sélective certains composants organiques. Pour cela, différentes résines peuvent être utilisées : XAD, DEAE⁶ et PVP⁷ (Peuravuori *et al.*, 2005 ; Pernet-Coudrier, 2008). L'utilisation des résines XAD pour le fractionnement et l'isolement des substances humiques est reconnue par l'IHSS (International Humic Substances Society). Elle est donc la méthode la plus utilisée. Les résines XAD sont composées de substrat macroporeux non ionique (styrène – divinylbenzène ou polymères de méthacrylate de méthyle) avec différents groupements greffés différenciant alors les résines XAD-1, XAD-2, XAD-4, XAD-7 et XAD-8, pour retenir les composés les plus hydrophobes (1) au plus hydrophiles (8). Depuis plusieurs années, la résine XAD-8 n'est plus commercialisée et a été remplacée par la DAX-8 (Farnworth, 1995), qui présente des propriétés de sorption meilleure que la XAD-8 (Peuravuori *et al.*, 2001 - 2002 ; Labanowski, 2004 ; Chow, 2006).

Il existe différents protocoles fonction du type d'échantillon, de la concentration et de l'origine de la MO : eaux naturelles (Aiken *et al.*, 1992 ; Imai *et al.*, 2001 ; Croué, 2004 ; Sharp *et al.*, 2006 ; Labanowski et Feuillade, 2009), eaux traitées (Croué, 2004), eaux usées (Jacquin *et al.*, 2018), lixiviats (Labanowski, 2004, Baccot *et al.*, 2017), pellicule d'encrassement de membranes (Qu *et al.*, 2012 ; Zhou *et al.*, 2014).

⁶ Cellulose de DiEthylAminoEthyle, cette résine présente l'avantage de ne pas soumettre la MO à des conditions de pH acides mais l'éluion de la matière adsorbée est difficile.

⁷ PolyVinylPyrrolidone, cette résine est inadéquate en raison d'un rendement faible pour les composés de grandes tailles.

Tableau 8 : Méthodes de caractérisation de la matière organique dissoute : Techniques et intérêts (Adapté de Leloup, 2013 et Baccot, 2016).

OBJECTIFS	TECHNIQUES	INTERETS	REFERENCES
Caractère biodégradable	Carbone organique dissous biodégradable (CODB)	- Informations sur la quantité de COD minéralisé par les micro-organismes hétérotrophes	Servais <i>et al.</i> , 1987 Labanowski et Feuillade, 2009
	Carbone organique assimilable (COA)	- Estimation de la proportion de carbone organique facilement assimilable par les micro-organismes	Van der Kooij <i>et al.</i> , 1982 Labanowski et Feuillade, 2009
Détermination d'éléments de structure / Groupements fonctionnels	Analyse de la composition isotopique	- Informations sur l'origine de la matière organique (allochtone / autochtone)	Hiradate <i>et al.</i> , 2004
	Electrophorèse capillaire	- Caractérisation des substances humiques	Parlanti <i>et al.</i> , 2002
	Titration acide-base	- Détermination des groupements fonctionnels acides (de type carboxylique et phénolique) de la MO pouvant se lier aux éléments traces métalliques	Perdue, 1985 Lu et Allen, 2002
	Spectroscopie de fluorescence 3D	- Informations sur la structure moléculaire de la matière organique dissoute et des SH	Parlanti <i>et al.</i> , 2002 Ziegmann <i>et al.</i> , 2010
	Pyrolyse GC/MS	- Informations sur la réactivité avec les métaux - Informations sur les origines et la formation de la MO - Identification au niveau structural	Navalon <i>et al.</i> , 2010
	Spectroscopie UV-Visible Absorbance UV_{254nm}	- Identification quantitative des composés organiques (200-800nm) - Mise en évidence de composés organiques aromatiques	Leenheer et Croué, 2003 Wang <i>et al.</i> , 2009
	Analyse élémentaire (C, H, O, N, P, S)	- Informations sur les teneurs atomiques en divers éléments	Jouraphy <i>et al.</i> , 2008 Maurice <i>et al.</i> , 2002 Maurice <i>et al.</i> , 2002
	Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)	- Etude de la Matière Organique (AH et AF) - Information qualitative sur les différents groupements carbonés - Distinction entre les carbones aromatiques et aliphatiques	Croué, 2004 Navalon <i>et al.</i> , 2010
	Spectroscopie photo-électronique à rayons X	- Analyse de spéciation - Détermination de la nature des liaisons - Quantification de groupements fonctionnels	Monteil-Rivera <i>et al.</i> , 2000 Mercier <i>et al.</i> , 2002
	Spectrométrie de masse	- Caractérisation de la structure chimique des molécules par fragmentation	Mugo et Bottaro, 2004 Navalon <i>et al.</i> , 2010
Fractionnement selon des propriétés chimiques	Infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)	- Etude des groupements fonctionnels de la matière organique	Maurice <i>et al.</i> , 2002 Croué, 2004
	Thermo-Gravimétrie et Différential (TG), Scanning Calorimetry (DSC)	- Mise en évidence de pics spécifiques de la matière organique	Esteves et Duarte, 1999
	Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC)	- Séparation des différentes classes de matière organique dissoute - Séparation des SH en fonction de leur polarité	Parlanti <i>et al.</i> , 2002 Navalon <i>et al.</i> , 2010
Détermination des propriétés physiques	Fractionnement selon le caractère hydrophobe	- Quantification et identification des AH, AF et du carbone organique hydrophile	Henderson <i>et al.</i> , 2008 Labanowski et Feuillade, 2009
	Chromatographie d'Exclusion Stérique à Haute Performance (HPSEC)	- Détermination des masses moléculaires moyennes	Maurice <i>et al.</i> , 2002 Wang <i>et al.</i> , 2009
	Chromatographie à perméation de gel	- Etude du poids moléculaire apparent	Seo <i>et al.</i> , 2007
	Ultrafiltration (UF)	- Fractionnement selon le poids moléculaire apparent	Lagier <i>et al.</i> , 2000 Labanowski et Feuillade, 2009

Le protocole utilisé, adapté par Aiken *et al* (1992), Malcolm et MacCarthy (1992), Croué *et al.* (1993) et Labanowski et Feuillade (2011), se déroule en trois étapes et consiste à séparer, extraire et concentrer les fractions de la matière organique dissoute. La première étape, l'acidification de l'échantillon, permet de séparer les acides humiques (AH), insolubles à $\text{pH} < 2$, des autres fractions. La seconde étape consiste au passage de l'échantillon à travers la résine DAX-8 qui retient les composés hydrophobes (HPO). S'ensuit le passage de l'échantillon à travers la résine XAD-4 qui retient les composés transphiliques (TPH), dont le caractère hydrophobe est moins marqué. La fraction non retenue sur les résines est constituée de la partie hydrophile (HPI) de la MOD.

La part de chaque fraction caractérise l'origine de la matière organique. Les composés hydrophobes, de haut poids moléculaire et de fort SUVA proviennent principalement d'une origine allochtone tandis que les composés hydrophiles, de plus faible poids moléculaire et de plus faible SUVA ont plutôt une origine autochtone (Edzwald, 1993 ; Imai *et al.*, 2001 ; McKinght *et al.*, 2001 ; Wang *et al.*, 2009).

L'eutrophisation, qui se manifeste principalement par des proliférations phytoplanctoniques, génère une dégradation de la qualité de l'eau, une augmentation de la charge organique, qui entraîne, outre une pollution visuelle pour les usagers, un impact sur les procédés de traitement des eaux. La seconde manifestation, provient de la libération de métabolites secondaires, odorants ou toxiques, qui représentent un risque lors de l'ingestion d'eau (eau potable ou lors d'activités récréatives aquatiques).

2.2.1.3. Matière Organique Naturelle des eaux de surface

Dans le milieu naturel, des concentrations de $0,1 \text{ mg C.L}^{-1}$ (eau souterraine) à 50 mg C.L^{-1} (tourbières) peuvent être mesurées (Leenheer et Croué, 2003). La concentration moyenne dans les eaux de rivière a été estimée à 5 mg C.L^{-1} (Thurman, 1985). Dans les plans d'eau, l'état de trophie impacte grandement la concentration : autour de $2 - 3 \text{ mgC.L}^{-1}$ sont mesurés dans un plan d'eau oligotrophe et autour de $10 - 30 \text{ mg C.L}^{-1}$ dans un plan d'eau eutrophe (Thurman, 1985). Comme l'illustre le Tableau 9, la concentration en COD dans les plans d'eau eutrophes évoluent au cours des saisons.

Tableau 9 : Concentrations en carbone organique dissous dans des plans d'eau eutrophes dans le monde.

PAYS	SITE D'ETUDE	SAISON	COD (mg C.L ⁻¹)	Référence
Hongrie	Balaton	Printemps / Eté / Automne / Hiver	7,70 / 9,20 /	Honti <i>et al.</i> , 2007
			8,90 / 8,80	
Chine	Taihu (Meiliang Bay)	Printemps / Eté	3,70 / 5,13	Ye <i>et al.</i> , 2012
	Taihu (centre)	Printemps / Eté	3,97 / 4,60	
	Taihu (Gonghu bay)	Printemps / Eté	4,03 / 4,68	
Estonie	Vortsjarv	Printemps / Eté / Automne / Hiver	15 / 13 /	Toming <i>et al.</i> , 2016
			16,8 / 16,1	
Angleterre	Allt na Coire nan Con		1,1 - 13,4	Clark <i>et al.</i> , 2010
	Coneyglen Burn		1,7 - 28,8	
	Beagh's Burn	-	3,3 - 37,0	
	Cottage Hill Sykea		3,5 - 41,5	

De nombreuses études ont montré que la concentration moyenne en COD dans les eaux de surface augmente depuis les années 1980 en Europe du Nord (entre 1990 et 2004, jusqu'à $> 0,15 \text{ mg C.L}^{-1}.\text{an}^{-1}$), dans le centre de l'Europe et en Amérique du Nord (Evans *et al.*, 2005 ; Monteith *et al.*, 2007 ; Clark *et al.*, 2010 ; Delpla, 2011 ; Filella et Rodrigues-Murillo, 2014 ; Toming *et al.*, 2016). Un manque de données dans les pays de l'hémisphère sud ne permet cependant pas de généraliser le phénomène (Filella et Rodrigues-Murillo, 2014). Cette augmentation pourrait être la réponse à une combinaison de facteurs : diminution des pluies acides, changements climatiques et hydrologiques, modification de l'utilisation des sols, enrichissement en azote et CO_2 atmosphérique (Evans *et al.*, 2005). L'enrichissement en COD impacte le cycle global du carbone mais également la qualité de l'eau (coloration, limitation de la pénétration de lumière, mobilité des éléments traces, ...) (Filella et Rodriguez, 2014 ; Song *et al.*, 2018).

Dans le milieu naturel, l'indice SUVA retrouvé pour la MON varie entre 15 et $50 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$ (Edzwald, 1993 ; Labanowski et Feuillade, 2009). Sa valeur évolue en conséquence des apports (allochtones ou autochtones), dont les caractéristiques diffèrent. Ainsi, cet indice est supérieur dans les eaux de rivières comparés aux eaux de lac (respectivement 39 et $34 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$) et supérieur en hiver comparé à l'été dans le plan d'eau (respectivement 37 et $31 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$) (Leloup, 2013). La concentration, la composition et les caractéristiques de la Matière Organique Naturelle (MON) varient donc considérablement selon son origine, son environnement : conditions hydrologiques, végétation et activités de bassin versant et le climat (Imai *et al.*, 2001). Ainsi, la MON diffère quantitativement et qualitativement entre une rivière et un plan d'eau, mais également, dans un même milieu, au cours des saisons.

La Figure 27 présente l'évolution de la concentration en COD et des caractéristiques de la MON dans une rivière (la Valette) et dans un plan d'eau eutrophe (Pigeard) en fonction de l'année. Dans la rivière, la concentration en COD fluctue selon l'apport d'eaux de ruissellement lessivant les sols du bassin versant. Le cas de septembre 2012 permet d'illustrer ces propos : le 13 septembre 2012, le COD de la rivière Valette vaut $4,8 \text{ mg C.L}^{-1}$. À la suite de fortes pluviométries ($11,3 \text{ mm.jour}^{-1}$ en moyenne sur 7 jours), le COD atteint $8,3 \text{ mg C.L}^{-1}$ le 27 septembre (Figure 27). Les concentrations sont par conséquent légèrement plus élevées en hiver, période pluvieuse ($5 \pm 1 \text{ mg C.L}^{-1}$), qu'en été ($4,6 \pm 0,6 \text{ mg C.L}^{-1}$). La fraction hydrophobe (HPO) de la MON est majoritaire et représente 38 à 56 % du COD (Imai *et al.*, 2001 ; Labanowski et Feuillade, 2009 ; Leloup, 2013) ; sa proportion n'évolue pas de manière significative au cours de l'année. Comme le témoigne la part de HPO, la MON de la rivière résulte principalement d'une contribution allochtone, véhiculée par les eaux de ruissellement.

A contrario, dans un plan d'eau, la concentration en COD varie selon le climat (température, luminosité) qui contrôle l'occurrence des phénomènes d'eutrophisation.

Une corrélation entre les concentrations en chlorophylle-a et en COD a été montrée par Cheng et Chi (2003) et Leloup (2013) : le COD augmente avec l'augmentation de la densité cellulaire, avec un léger décalage temporel. En période hivernale, la faible température ($8 - 9^\circ\text{C}$) limite le développement du phytoplancton, comme le témoigne la concentration en chlorophylle ($80 \mu\text{g.L}^{-1}$ en moyenne) et la concentration cellulaire (environ $34\,000 \text{ cellules.mL}^{-1}$) (Figure 27). L'augmentation de la température ($16 - 19^\circ\text{C}$) et de l'intensité lumineuse permet les développements de phytoplanctons. En conséquence, les concentrations en chlorophylle ($152 \mu\text{g.L}^{-1}$ en moyenne) et cellulaire ($3,4.10^4 \text{ cellules.mL}^{-1}$) augmentent. L'augmentation de la densité cellulaire induit une augmentation de la concentration en MO. Ainsi, la concentration maximale en COD est retrouvée en saison estivale, période propice au développement du phytoplancton. Le COD atteint, en moyenne en hiver, $4,9 \pm 0,9 \text{ mg C.L}^{-1}$ contre $6,1 \pm 0,7 \text{ mg C.L}^{-1}$ en été dans le plan d'eau (Figure 27).

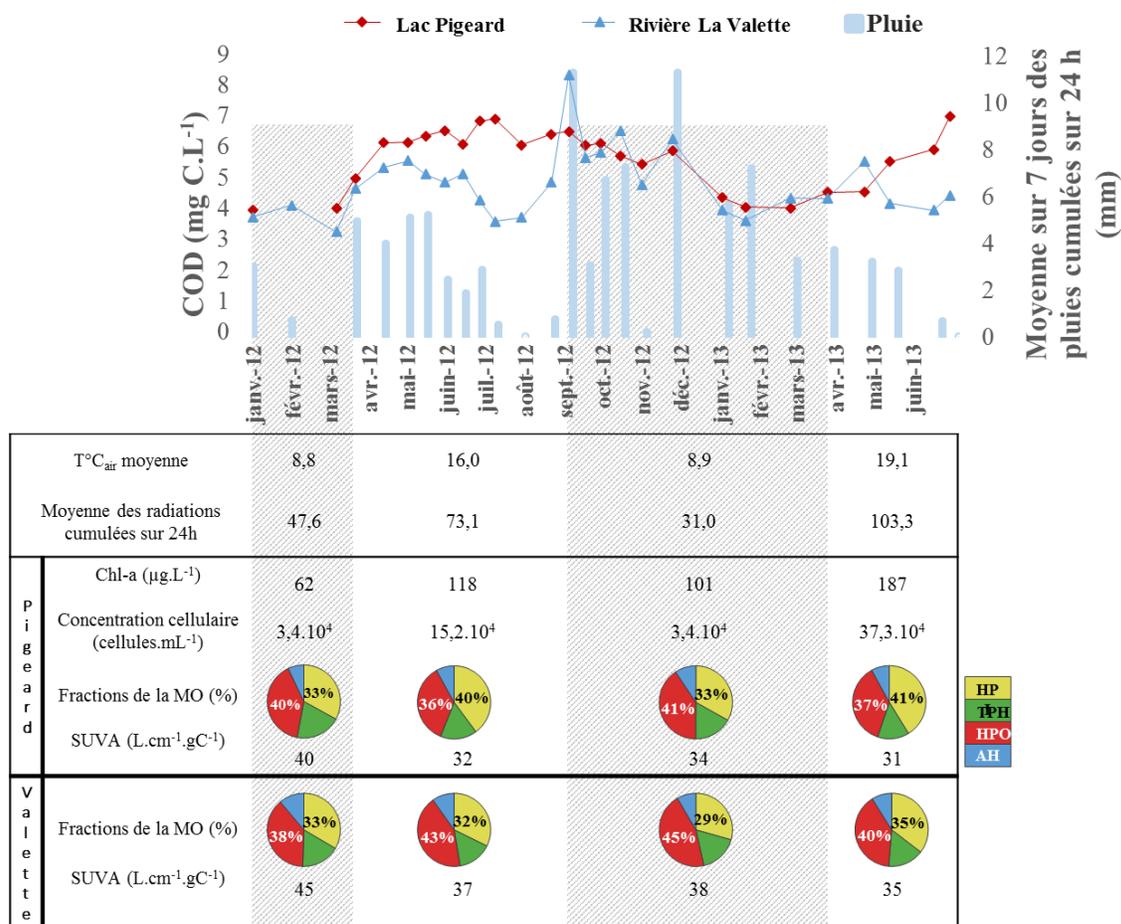


Figure 27 : Evolution de la concentration en COD et des caractéristiques de la MO (fractions et SUVA) dans une rivière (La Valette, 87) et dans un plan d'eau (Pigeard, 87) en fonction des conditions climatiques : pluviométrie, température et luminosité (Leloup, 2013).

Les origines de la MON sont également fortement impactées par le climat :

- En période hivernale, le lessivage des sols et les eaux de ruissellement sont les principales sources de MO
- En période estivale, la dynamique de la MO est liée à l'activité biologique des populations de phytoplancton, qui génèrent de la MO Algale (MOA).

Cette temporalité des apports explique les variations des proportions des fractions de la MON d'un plan d'eau. Consécutivement aux apports de MO générée par les algues, la part de fraction HPI augmente (+7%) et celle de HPO diminue (-4%) (Figure 27). Dans le même temps, le caractère SUVA de la MO estivale diminue pour atteindre en moyenne 31,5, L.cm⁻¹.g C⁻¹ (37 L.cm⁻¹.g C⁻¹ en moyenne en hiver). En effet, en été, dans un plan d'eau eutrophe, les caractéristiques de la MON sont influencées par la MO produite par les algues, à dominante hydrophile (57 – 71 % ; Leloup, 2013), qui engendrent une augmentation de la fraction HPI et une diminution de l'indice SUVA. En automne/hiver, la fraction HPO et le SUVA augmentent parallèlement à la diminution du phytoplancton, à l'augmentation de la proportion de MO allochtone et à l'humification de la MO présente (Leloup, 2013). Progressivement, les caractéristiques et dynamique de la MON hivernale se rapproche des caractéristiques et dynamique de la MON d'une rivière. Néanmoins, il semble exister un « effet mémoire » du développement estival : la fraction HPI du plan d'eau reste supérieure à celle de la rivière et son aromaticité demeure plus faible.

2.2.1.4. Matière Organique Algale

2.2.1.4.1. *Définition*

Dans un plan d'eau, une portion non négligeable de la MOD provient des processus métaboliques du phytoplancton, elle est appelée Matière Organique Algale (MOA) (Leenheer et Croué, 2003 ; Fang *et al.*, 2010). Elle regroupe la Matière Organique Extracellulaire (MOE), résultant d'excrétions de l'activité métabolique et la Matière Organique Intracellulaire (MOI), libérée dans le milieu lors de la lyse ou sénescence cellulaire (Pivokonsky *et al.*, 2006 ; Henderson *et al.*, 2008). La MOE est principalement composée de polysaccharides et de quelques protéines (Pivokonsky *et al.*, 2006, 2014 ; Villacorte *et al.*, 2015 ; Xu *et al.*, 2018) alors que la MOI contient essentiellement des protéines (Pivokonsky *et al.*, 2006).

Ce mélange hétérogène, composé d'oligosaccharides, polysaccharides, protéines, peptides, acides aminés, acides organiques (Pivokonsky *et al.*, 2006, 2014), confère à la MOA un caractère hydrophile important (> 50 %) (Her *et al.*, 2004, Zhang *et al.*, 2011 ; Li *et al.*, 2012, Leloup, 2013) et un faible caractère aromatique ($SUVA < 20 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$) (Nguyen *et al.*, 2005 ; Henderson *et al.*, 2008).

2.2.1.4.2. *Evolution de la MOA au cours de la croissance d'une culture de laboratoire*

La mesure de la chlorophylle, de la concentration cellulaire ou de l'absorbance permettent de suivre la croissance de la culture et d'en déterminer les phases de croissances (Figure 28-A). La production de MOA et ses caractéristiques sont fonction des phases de croissance (Figure 28-B).

Au cours de la phase de latence, période relativement courte (3-5 jours), la culture s'adapte au milieu et aux conditions, la production de MO est faible ($< +0,5 \text{ mg C.L}^{-1}$) et contient entre 70 – 75% de composés HPI (Leloup *et al.*, 2013).

Au cours de la phase de croissance exponentielle, le COD augmente ($+1,8 \text{ mg C.L}^{-1}$) à un taux de production (COD produit sur la durée de la phase) de $0,13 \text{ mg C.L}^{-1}.\text{jour}^{-1}$. Le fractionnement montre une forte augmentation des composés HPI ($+1,2 \text{ mg C.L}^{-1}$) alors que les fractions TPH et HPO n'évoluent pas de manière significative. La matière générée est essentiellement constituée de la fraction HPI (67%). (Figure 28-B).

Durant la phase stationnaire, le taux de production du COD atteint son maximum ($0,46 \text{ mg C.L}^{-1}.\text{jour}^{-1}$). La quantité de matière produite atteint $6,5 \text{ mg C.L}^{-1}$ dont $2,8 \text{ mg C.L}^{-1}$ (43%) sont des composés HPI. En parallèle de l'augmentation de la fraction HPI, les fractions plus hydrophobes commencent à être produites (HPO $+0,5 \text{ mg C.L}^{-1}$; TPH $+2,8 \text{ mg C.L}^{-1}$) (Figure 28-B).

Au cours de la phase de déclin, le COD continue d'augmenter ($+7,7 \text{ mg C.L}^{-1}$), résultant de la libération de MOI dans le milieu lors de la sénescence des cellules (Pivokonsky *et al.*, 2006 ; Henderson *et al.*, 2008). Durant cette phase, la fraction HPI est continuellement produite ($+ 3,33 \text{ mg C.L}^{-1}$) et les fractions HPO et TPH continuent d'augmenter (HPO : $+ 2,95 \text{ mg C.L}^{-1}$ et TPH : $+ 1,44 \text{ mg C.L}^{-1}$) (Figure 28-B).

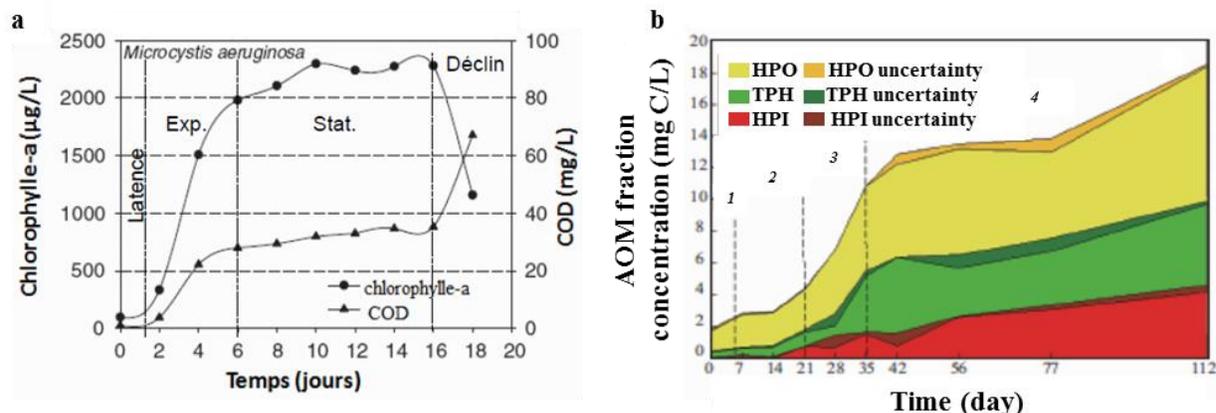


Figure 28: Evolution de la quantité et des caractéristiques de la MOA produite par *M. aeruginosa* au cours de sa croissance. (a) Evolution du COD et de la chlorophylle a (Pivokonsky et al., 2006) (b) Evolution de la proportion des fractions de la MOA (Leloup et al., 2013) (1. Latence ; 2. Phase exponentielle ; 3. Phase stationnaire ; 4. Déclin)

Durant les phases de latence et de croissance exponentielle, seule la fraction HPI est produite. Elle provient du métabolisme cellulaire et est associée à de la MOE excrétée par les cellules vivantes. Au cours du vieillissement de la culture, le caractère hydrophobe de la MOA augmente (Henderson *et al.*, 2008 ; Leloup *et al.*, 2013). En effet, les fractions TPH et HPO commencent à croître à partir de la phase stationnaire : la littérature a montré une hausse de 10 – 17% entre les phases exponentielle et stationnaire et de 17% entre la phase stationnaire et de déclin (Henderson *et al.*, 2008 ; Leloup, 2013). De plus, une augmentation de la fraction protéique de la MOA est observée (Figure 29-B). Or Pivokonsky *et al.* (2006) et Villacorte (2015) ont montré que la MOI était principalement composée de protéines. L'augmentation de COD à partir de la phase stationnaire s'explique donc par la libération de MOI lors de la lyse cellulaire. La MOI étant plus hydrophobe que la MOE (59 % HPO contre 42 %) (Fang *et al.*, 2010 ; Qu *et al.*, 2012) (Figure 29-A), l'hydrophobicité de la MOA augmente par conséquent.

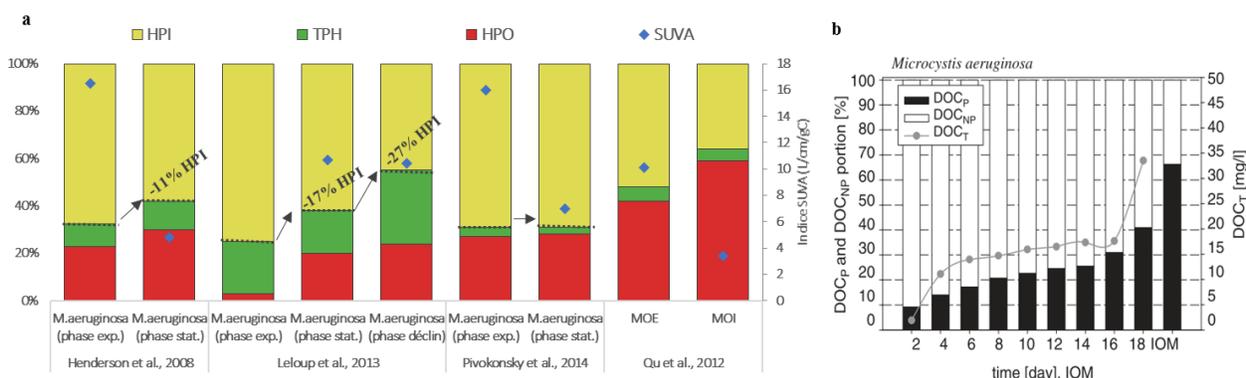


Figure 29 : (a) Fractionnement de *M. aeruginosa* lors de la phase de croissance exponentielle, stationnaire et déclin ; fractionnement de la MOE et MOI de cette même espèce (Henderson *et al.*, 2008 ; Qu *et al.*, 2012 ; Leloup *et al.*, 2013 ; Pivokonsky *et al.*, 2014). (b) Evolution de la portion de COD protéique et non-protéique (Pivokonsky *et al.*, 2006)

En concordance avec l'important caractère hydrophile de la MOA, l'indice SUVA est faible ($< 18 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$). Cependant, au regard des résultats de fractionnement et de l'augmentation des pourcentages de HPO et TPH, une augmentation de l'indice SUVA est attendue. Or, le SUVA diminue au cours des phases de croissance. Entre les phases exponentielle et stationnaire, malgré une augmentation des fractions hydrophobes (+ 10 %), le SUVA diminue de $- 11,7 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$ (Henderson *et al.*, 2008). Entre la phase stationnaire et de déclin, Leloup *et al.* (2013) ont mesuré une très faible diminution du SUVA ($- 0,3 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$).

$^1.g C^{-1}$) malgré une augmentation (+ 17 %) de fractions hydrophobes. Bien qu'étonnantes, ces observations sont corrélées aux résultats de Fang *et al.* (2010) et ceux de Qu *et al.* (2012) : malgré une part de HPO plus élevée dans la MOI que dans la MOE, son indice SUVA est plus faible : $SUVA_{MOI} = 5,8 L.cm^{-1}.g C^{-1} < SUVA_{MOE} = 13,8 L.cm^{-1}.g C^{-1}$ (Fang *et al.*, 2012) ; $SUVA_{MOI} = 3,4 L.cm^{-1}.g C^{-1} < SUVA_{MOE} = 10,1 L.cm^{-1}.g C^{-1}$ (Qu *et al.*, 2012 ; Figure 29-A). Pour expliquer ces résultats, Leloup *et al.* (2013) ont mesuré l'indice SUVA de chacune des fractions de la MOA en phase stationnaire et de déclin : (i) les fractions TPH révèlent un SUVA faible ($< 10 L.cm^{-1}.g C^{-1}$), (ii) l'indice $SUVA_{HPO}$ augmente (+ $7 L.cm^{-1}.g C^{-1}$) alors que l'indice $SUVA_{TPH}$ et $SUVA_{HPI}$ diminuent (respectivement - $3,3 L.cm^{-1}.g C^{-1}$ et - $0,3 L.cm^{-1}.g C^{-1}$).

Ces observations sont controversées par Pivokonsky *et al.* (2014) qui n'observent pas de différence significative de l'évolution des fractions au cours du vieillissement des cultures (Figure 29-A). Par ailleurs, le caractère plus hydrophobe de la MOI n'a pas été clairement établi : Pivokonsky *et al.* (2014) et Li *et al.* (2012) ont observé que la MOI est plus hydrophile que la MOE ($HPI_{MOI} = 86\%$ et $HPI_{MOE} = 63\%$). Mais, alors que les premiers ont observé une diminution de l'indice SUVA (- $9,0 L.cm^{-1}.g C^{-1}$), les second ont observé une augmentation (+ $1,9 L.cm^{-1}.g C^{-1}$). A ce jour, l'évolution des caractères hydrophobe et aromatique de la MOA en vieillissement et de la MOI par rapport à la MOE ne sont pas clairement établis (Tableau 10).

Tableau 10 : Controverses quant à la dynamique de l'hydrophobicité et aromaticité de la MOA générée lors du vieillissement d'une culture de laboratoire et de celle de la MOE/MOI.

	HPO	HPI	SUVA	Référence
Dynamique des caractéristiques de la MOA au cours du vieillissement de la culture	↗	↘	↘	Henderson <i>et al.</i> , 2008
	↗	↘	↘	Leloup <i>et al.</i> , 2013
	→	→	↘	Pivokonsky <i>et al.</i> , 2014
Comparaison des caractéristiques de la MO (part allouée aux fractions HPO et HPI et SUVA) entre la MOE et la MOI	-	-	↘	Fang <i>et al.</i> , 2012
	↗	↘	↘	Qu <i>et al.</i> , 2012
	↘	↗	↗	Li <i>et al.</i> , 2012
	↘	↗	↘	Pivokonsky <i>et al.</i> , 2014

Selon l'espèce considérée, il existe quelques différences de comportement, notamment la durée des phases de croissance, la quantité de MO produite, et les caractéristiques de la MOA (proportion HPI). Néanmoins, les caractéristiques propres à la MOA sont mises en évidence : elle est majoritairement hydrophile et présente un faible SUVA. Ses propriétés évoluent au cours des phases de croissance : la part de HPI reste majoritaire mais tend à diminuer avec le déclin des cellules et la libération, dans le milieu, de MOI dont le caractère hydrophobe est plus marqué, avec une part de fractions TPH et HPO supérieure à celle de la MOE. Cependant, il n'y a pas de proportionnalité directe entre le COD, la quantité de fraction HPI et la concentration cellulaire. En effet, de nombreux paramètres – espèce, âge de la culture, conditions environnementales – peuvent influencer la quantité et la qualité de la MOA générée.

2.2.1.4.3. Différences de quantité et qualité de la MOA selon l'espèce et les conditions environnementales.

La durée des phases de croissance, le taux et la vitesse de croissance sont dépendantes de l'espèce et des conditions de culture. Pivokonsky *et al.* (2014) ont par exemple montré qu'en phase de croissance exponentielle, le taux de croissance de *M. aeruginosa* (MA) ($0,31 \text{ jour}^{-1}$) est plus faible que celui de *F.*

crotonensis (*FC*) et *C. geitleri* (*CG*) (respectivement 0,43 jour⁻¹ et 0,38 jour⁻¹). La quantité de MOA générée est spécifique de l'espèce considérée : les productions de *MA* et *CG* sont relativement similaires (0,0029 et 0,0011 ng.cellules⁻¹) alors que *FC* produit une quantité bien supérieure (0,75 ng.cellules⁻¹) (Tableau 11). La quantité de COD générée par phase est ainsi dépendante d'une part de la production par cellule et d'autre part de la concentration cellulaire. Ainsi, la souche de *FC*, bien que très productrice de MOA par cellule, atteint une concentration en COD inférieure à celle de *MA* en raison d'une concentration cellulaire. Ces observations sont comparables à celles de Henderson *et al.* (2008) et Leloup *et al.* (2013).

Tableau 11 : Comparaison de la production et des caractéristiques de la MOA au cours des phases de croissance d'algues et de cyanobactéries (Pivokonsky *et al.*, 2014)

Espèce Classification	<i>M. aeruginosa</i> Cyanobactérie		<i>F. crotonensis</i> Diatomée		<i>C. geitleri</i> Chlorophycée	
Milieu et conditions de cultures	Milieu WC 20°C 16h-8h (lumière-obscurité)		Diatom culture medium 15°C 12h-12h		Milieu WC 20°C 16h-8h (lumière-obscurité)	
Phases de croissance (jours)	Exponentielle	Stationnaire	Exponentielle	Stationnaire	Exponentielle	Stationnaire
Taux de croissance (jour ⁻¹)	0,31	15 – 20	0,43	12 – 20	0,38	13 – 20
Concentration cellulaire (cellules.mL ⁻¹)		18,7.10 ⁶		0,118.10 ⁶		11,4.10 ⁶
MOA générée (ng.cellules ⁻¹)		0,0029		0,75		0,0011
COD (mg C.L ⁻¹)	5 – 55	55 – 71	5 – 30	30 – 48	4 – 13	13 – 21
% COD _P de la MOA (T _{20j})		47 %		42 %		28 %
% COD _P de la MOI		63 %		53 %		33 %

Bien que les grandes caractéristiques de la MOA soient identiques d'une espèce à une autre – hydrophile, faiblement aromatique, générée en majeure partie lors de la phase stationnaire – elle présente des spécificités selon les espèces. N'existant pas de consensus quant à la dynamique du caractère hydrophobe lors du vieillissement des cultures, cet aspect ne sera pas conclu. Néanmoins, au cours du vieillissement, la proportion de peptides et protéines de la MOA (COD_P) augmente (Figure 29-B) (Pivokonsky *et al.*, 2006 - 2014 ; Henderson *et al.*, 2008 ; Fang *et al.*, 2010 ; Huang *et al.*, 2012) mais diffère d'une espèce à une autre. En effet, Pivokonsky *et al.* (2014) ont montré que d'une part la proportion de COD_P de la MOA variait d'une espèce à l'autre (à T_{0j} : 22%, 27% et 15% respectivement pour *MA*, *FC* et *CG*), et d'autre part, la proportion COD_P de la MOI variait (63%, 53% et 33% pour *MA*, *FC* et *CG*) engendrant une variation de l'augmentation du COD_P (à T_{20j} : +114%, +36% et +46% pour *MA*, *FC* et *CG*) (Tableau 11).

Outre une dynamique de la MOA différente selon l'espèce, les conditions environnementales (milieu de culture, température, luminosité) impactent la production et caractéristiques de la MOA d'une même espèce (Tableau 12, Figure 29-A). Les quatre études présentées ont fixé une température proche de l'optimale de croissance de la culture (20 - 24°C), en revanche, le milieu de culture et la luminosité varient. Tout d'abord, il est observé une durée variable des phases de croissances : de 12 à 15 jours pour la phase exponentielle et de 14 à 5 jours pour la phase stationnaire. Ensuite, la concentration en COD est très différente d'une étude à l'autre : en fin de phase stationnaire, elle varie entre 11 et 71 mg C.L⁻¹ selon les études. Enfin, les caractéristiques et évolutions de la répartition des fractions diffèrent significativement. En phase exponentielle, la fraction HPI est majoritaire et sa proportion varie entre 59 – 75%, parallèlement,

celle de la fraction HPO oscille entre 2 – 24%. En phase stationnaire, l'amplitude de variation de la part de HPI diminue, avec des pourcentages retrouvés entre 57 – 69% ; celle de HPO reste élevée avec une proportion comprise entre 19 – 30 % selon les études. L'étude de Henderson *et al.* (2008) montre constamment les pourcentages de HPO les plus élevés. Les proportions de chaque fraction évoluent de manière similaire, à savoir une augmentation de la fraction HPO et une diminution des fractions TPH et HPI, mais les amplitudes diffèrent. En effet, Henderson *et al.* (2008) observent une variation des HPO de +6% et des HPI de -2%, inférieure aux variations observées par Leloup *et al.* (2013) (+18% HPO, -13% HPI). Pivokonsky *et al.* (2014), observe une importante augmentation des HPO (+26%) mais pas d'évolution des HPI. L'évolution est relativement similaire pour les TPH, avec une variation comprise entre -1% et -5%. Les différences sont moins significatives pour l'indice SUVA. Henderson *et al.* (2008) et Pivokonsky *et al.* (2014) ont mesuré un indice autour de 16 L.cm⁻¹.g C⁻¹ malgré une proportion de HPO très différente. Une diminution de l'indice est observée entre la phase exponentielle et stationnaire. A la fin de cette phase, l'indice SUVA varie entre 0,8 et 10,7 L.cm⁻¹.g C⁻¹ selon les auteurs.

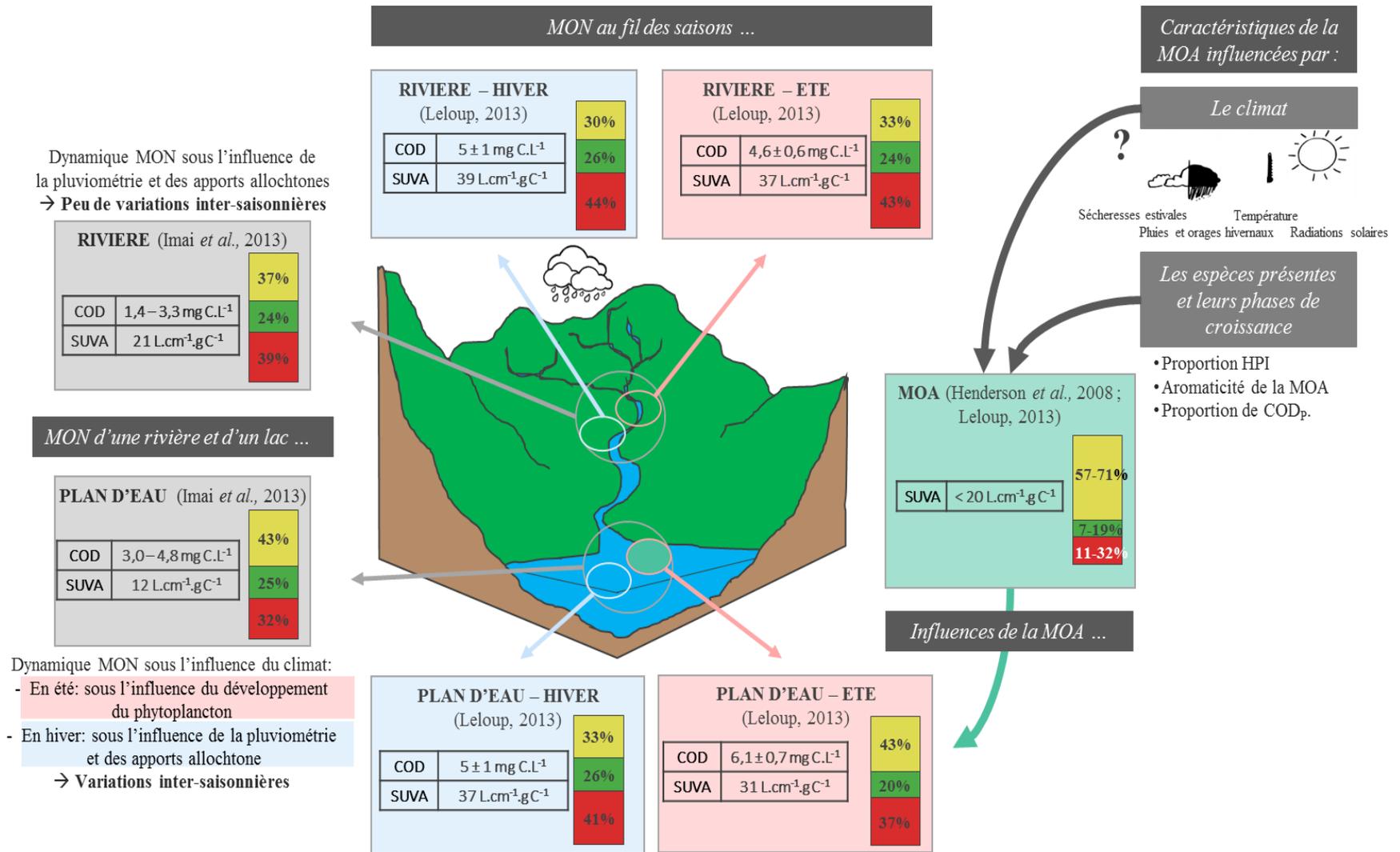
Tableau 12 : Répartition des fractions HPO, TPH et HPI au sein de la MOA issue de cultures de *M. aeruginosa* en laboratoire sous différentes conditions (NC : Non Communiqué)

Phase de croissance	Jours	Fractions (%)			COD (mgC.L ⁻¹)	SUVA (L.cm ⁻¹ .g C ⁻¹)	Milieu de culture	T°C	Jour-nuit Intensité (μmol.m ⁻² .s ⁻¹)	Référence
		HPO	TPH	HPI						
Exp.	NC	24%	17%	59%	NC	16,5	Jaworski	20°C	14h/10h Non précisé	Henderson <i>et al.</i> , 2008
	6 – 21	2%	23%	75%	2 – 5	NC	Chu 10 modifié	23°C ± 1°C	15h-9h 30	Leloup <i>et al.</i> , 2013
	3 – 15	2%	4%	69%	5 – 55	16 ± 0,4	Milieu WC	20°C	16h-8h Non précisé	Pivokonsky <i>et al.</i> , 2014
Stat.	NC	30%	12%	57%	18 ± 2,3	4,8	Jaworski	20°C	24 h Non précisé	Henderson <i>et al.</i> , 2008
	NC	19%	18%	63%	NC	0,8 – 1,6	BG 11	23 – 24°C	12h-12h Non précisé	Zhang <i>et al.</i> , 2011
	21 – 35	20%	18%	62%	5 – 11	10,7 ± 1,3	Chu 10 modifié	23°C ± 1°C	15h-9h 30	Leloup <i>et al.</i> , 2013
	15 – 20	28%	3%	69%	55 – 71	7 ± 0,3	Milieu WC	20°C	16h-8h Non précisé	Pivokonsky <i>et al.</i> , 2014
Déclin	35 – 112	28%	24%	48%	11 – 19	10,4 ± 0,8	Chu 10 modifié	23°C ± 1°C	15h-9h 30	Leloup <i>et al.</i> , 2013

La MO est une matrice complexe formée de multiples composés en constante évolution. Ses caractéristiques dépendent de son origine (naturelle, anthropique ou algale dans le cas présent) et conditionnent sa réactivité. Lors des phénomènes d'eutrophisation, la MOA est générée par le phytoplancton et ses caractéristiques qualitatives et quantitatives dépendent des espèces majoritaires et de leurs phases de croissance (Figure 30).

L'étude de la concentration et des caractéristiques de la MOA au cours de la croissance de cyanobactéries ou d'algues en laboratoire met en évidence une augmentation de la concentration en COD au cours de leur développement, avec un taux de production et des caractéristiques variables selon les phases. Au cours de la phase exponentielle, la MOA peut être assimilée à la MOE alors qu'elle est assimilée à la MOI en phase stationnaire et de déclin. La MOA est toujours plus hydrophile et plus faiblement aromatique que la MON, mais les caractéristiques sont variables au cours de la croissance en fonction des espèces. Cependant, les études de caractérisation de la MOA, issue de cultures de laboratoire, ont systématiquement été réalisées dans des conditions optimales de croissance (température = 20 – 25°C, milieu adapté à la demande en nutriment, luminosité optimisée, ...) alors que le phytoplancton est soumis à des conditions variables de température, luminosité et pluviométrie.

Quel est donc l'influence du climat sur les caractéristiques de la MOA?



Influences de la MOA ...

MOA (Henderson *et al.*, 2008 ; Leloup, 2013)

SUVA	< 20 L.cm ⁻¹ .gC ⁻¹	57-71%
		7-19%
		11-32%

PLAN D'EAU – HIVER (Leloup, 2013)

COD	5 ± 1 mg C.L ⁻¹	33%
SUVA	37 L.cm ⁻¹ .gC ⁻¹	26%
		41%

PLAN D'EAU – ETE (Leloup, 2013)

COD	6,1 ± 0,7 mg C.L ⁻¹	43%
SUVA	31 L.cm ⁻¹ .gC ⁻¹	20%
		37%

RIVIERE – HIVER (Leloup, 2013)

COD	5 ± 1 mg C.L ⁻¹	30%
SUVA	39 L.cm ⁻¹ .gC ⁻¹	26%
		44%

RIVIERE – ETE (Leloup, 2013)

COD	4,6 ± 0,6 mg C.L ⁻¹	33%
SUVA	37 L.cm ⁻¹ .gC ⁻¹	24%
		43%

Figure 30 : Bilan de la dynamique annuelle de la MON dans un plan d'eau et dans une rivière.

2.2.2. Toxicité

Le premier écrit rapportant la toxicité d'un développement phytoplanctonique, date de 1878 (Francis, 1878). Mais ce n'est que depuis les années 1960 que sont publiés les premiers articles scientifiques : d'abord sur les anatoxines et saxitoxines (1960) puis sur les microcystines et nodularines (1980) et enfin sur les cylindrospermopsines (1990) (Figure 31-A). Les préoccupations croissantes liées aux cyanotoxines et aux effets sur la santé publique démultiplient le nombre d'articles publiés par an depuis 1991 (Figure 31 B). Depuis 25 ans, le nombre cumulé de publications a augmenté de manière exponentielle (Figure 31 C) pour atteindre 5 293 articles disponibles en 2012. Parmi ces articles, les microcystines dominent largement avec 2 971 articles à leur actif (56 %) (Figure 31 C) (Merel *et al.*, 2013 a et b).

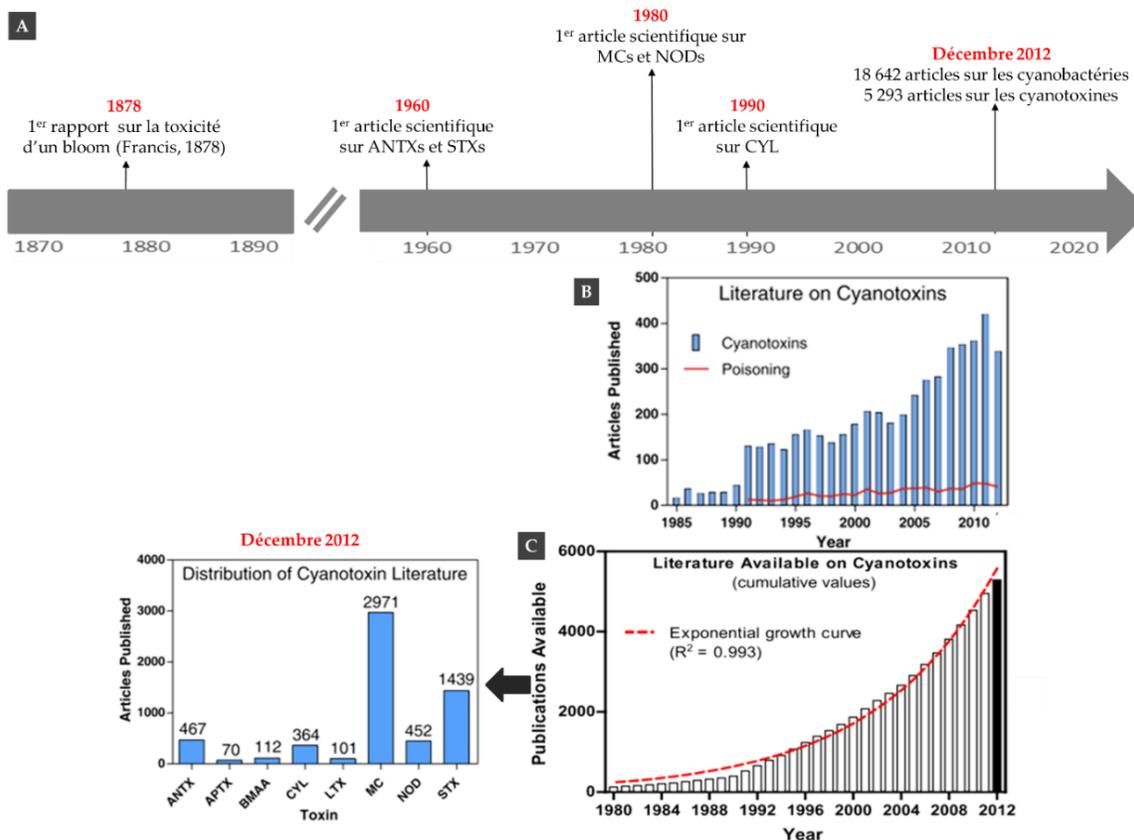


Figure 31 : A. Historique de la documentation sur les cyanotoxines (Merel *et al.*, 2013 a) B. Nombre d'articles publiés par an sur les cyanotoxines (Merel *et al.*, 2013 a) C. Cumul des articles publiés sur les cyanotoxines et distribution des thématiques (Merel *et al.*, 2013 b).

La distribution spatiale de la recherche sur les cyanotoxines est très disparate et concentrée sur quelques grands pays : 10 pays ont publié 90 % des articles (USA 31%, Chine et Japon 10% chacun, Allemagne 8%, Grande-Bretagne et Australie 7% chacun, Canada 6%, France, Finlande et Espagne 5% chacun) (Merel *et al.*, 2013a). Ces pays continuent de dominer la recherche comme l'illustre la Figure 32. Les zones d'études se concentrent sur l'Australie, la Chine, l'Amérique du Nord, l'Ouest de l'Europe et dans une moindre mesure, sur l'Amérique latine (176 articles), l'Asie ou l'Afrique (une dizaine d'articles) (Merel *et al.*, 2013a).

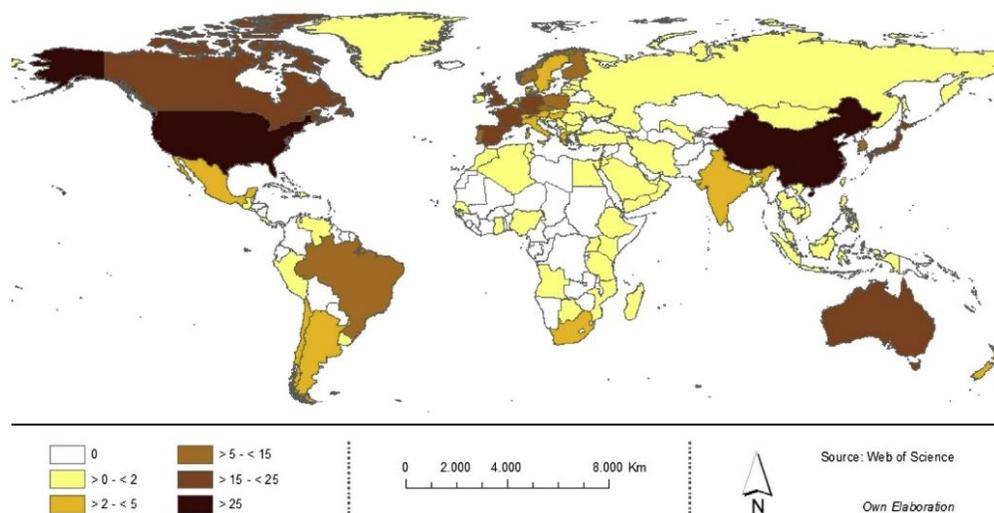


Figure 32 : Nombre de publications annuelles sur les cyanotoxines (moyenne sur 2004-2012) (Merel *et al.*, 2013a).

2.2.2.1. Diversité des cyanotoxines : focus sur les microcystines

Sur environ 2 000 espèces de cyanobactéries, une quarantaine sont capables de produire des toxines appelées cyanotoxines (Briand *et al.*, 2003 ; Graham *et al.*, 2010). Bien que les espèces productrices de toxines soient en minorité, elles sont retrouvées dans 60 à 70 % des blooms (Fawell *et al.*, 1993 ; Sivonen et Jones, 1999). Une même cyanotoxine peut être produite par différentes espèces de cyanobactéries et une même espèce de cyanobactérie peut produire différentes cyanotoxines, sachant qu'une même souche peut produire ou non une/des cyanotoxine(s) selon les conditions environnementales. Des souches toxiques et non toxiques ne se différencient non pas sur la morphologie mais sur le génome (Kaebernick et Neilan, 2001 ; Dittman and Wiegand, 2006). A la fin du XX^{ème} siècle, il a été observé chez *Microcystis aeruginosa* PCC 7806, la présence de gènes *mcy* codant pour le complexe de microcystine synthétase (Dittman *et al.*, 1997), gène absent chez les souches non productrices de toxine.

A ce jour, une centaine de molécules (136) sont répertoriées et classées en catégories selon leur type d'action toxique et l'organe cible (Chorus et Bartram, 1999 ; Codd *et al.*, 2005 ; Merel *et al.*, 2013 a) (Tableau 13). Le transfert à l'homme s'effectue par ingestion de poissons ou coquillages contaminés, par contact, ingestion ou inhalation d'eau contaminée lors d'activités aquatiques ou encore par ingestion d'eau potable produite à partir d'eau contaminée. D'autres molécules non toxiques dites « off flavor » ou odorantes ((2-méthylisoborneol (MIB) et géosmine) sont produites par les cyanobactéries (Falconer, 1999) et donnent un mauvais goût et odeur à l'eau et aux poissons.

Les microcystines sont les toxines les plus fréquemment retrouvées dans les blooms d'eaux douce et saumâtre (Chorus & Bartram, 1999 ; Codd *et al.*, 2005) et sont par conséquent les plus étudiées. La large distribution géographique des microcystines sur tous les continents s'explique en partie par la prolifération dans des conditions variées du genre *Microcystis* (Figure 19), une des espèces productrices de cette toxine. Les microcystines sont des peptides cycliques à sept acides aminés, de formule générale : cyclo-(D-alanine¹-X²-D-MeAsp³-Z⁴-Adda⁵-D-Glu⁶-Mdha⁷) (Figure 33). Les composés X et Z sont des acides aminés variables et environ quatre-vingt-dix variants structuraux de microcystines sont identifiés (Codd *et al.*, 2005). Mais ce nombre ne cesse d'augmenter grâce à la progression des outils analytiques. Le plus commun, le plus étudié et le plus toxique est le variant MC-LR (Leucine – Arginine) (Meriluoto & Spoof, 2008).

Tableau 13 : Présentation des trois grandes familles de cyanotoxines, des espèces productrices, de l'action toxique et des effets liés (liste non exhaustive) (Chorus & Bartram, 1999 ; Meriluoto & Codd, 2005, Lévi et al., 2006 ; Merel et al., 2013). Surligné en rouge, les toxines étudiées dans l'étude.

Exemples	NEUROTOXINES				HEPATOTOXINES			DERMATOTOXINES	
	Anatoxines-a ANTX-a	Anatoxines-a(S) ANTX-a(S)	Beta-N- methylamino- L-alanine BMAA	Saxitoxines STX (ex :PSP)	Microcystines MCs	Nodularines NODs	Cylindrospermopsines CYL	Lynbyatoxine (LTX) Aplysiatoxine (APTX)	Lipolysaccharide LPS
Nombre de variants	5	1	3	20	90	9	3	3 2	
Exemples d'espèces associées	<i>Anabaena</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Cylindrospermopsis</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Planktothrix</i> , <i>Pseudanabaena</i>	<i>Anabaena</i>	-	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i> , <i>Anabaena circinalis</i> <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> <i>Lyngbya wollei</i>	<i>Anabaena</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Cylindrospermopsis</i> , <i>Microcystis</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Planktothrix</i> , ...	<i>Nodularia spumigena</i>	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> <i>Aphanizomenon ovalisporum</i> <i>Raphidopsis curvata</i>	<i>Oscillatoria</i> , <i>Lyngbya</i> , <i>Schizothrix</i>	
Modes d'action	Inhibe les récepteurs nicotiniques de l'ACh	Inhibe l'AChE	Inhibe les récepteurs de glutamate	Inhibe les canaux sodium	Inhibition de la protéine phosphatase		Inhibition de la synthèse protéique	Active la protéine kinase C	
Effets	Maux de tête, malaise, vomissement, étourdissement, paralysie musculaire, dégénérescence nerveuse				Diarrhée, hépatotoxicité hémorragique, fibrose, cytolysse hépatique, tumeur au foie et au tube digestif			Allergies cutanées : inflammations, démangeaisons, irritations	

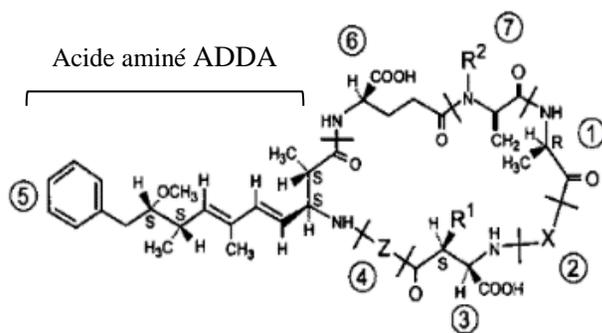


Figure 33 : Structure moléculaire générale des microcystines (Chorus & Bartram, 1999)

Avec :

R¹ et R² sont H (demethylmicrocystins) ou CH₃

D-MeAsp: acide D-erythro-β-méthylaspartic

Mdha: N-méthyldehydroalanine

ADDA: acide (2S, 3S, 8S, 9S)-3-amino-9-méthoxy-2,6,8-triméthyl-10-phényldeca-4,6-dienoïque

X et Z : acide-L-aminé variable nommé en utilisant une abréviation indiquant les acides aminés présents; exemple dans MC-LR, X=L-Leucine (L) et Z=L-Arginine (R). Ainsi on observe : MC-RR, -YR, -LR, -FR, -LA, -LY, -LW, -LF.

Les variations observées ailleurs qu'en position 2 et 4 sont décrites par un préfixe (ex : [D-Asp³]MC-LR autrement appelé 3-demethylMC-LR, contenant l'acide D-aspartic en position 3).

Dans le milieu naturel, les microcystines sont essentiellement intracellulaires (> 80 %) et se retrouvent libres dans le milieu lors de la sénescence ou lyse cellulaire (Chorus & Bartram, 1999 ; Meriluoto et Codd, 2005 ; Lévi *et al.*, 2006). Les microcystines sont solubles dans l'eau et sont dotées d'une grande stabilité : elles supportent de nombreux changements environnementaux tels que des variations de pH et de température (jusqu'à 300°C), sont résistantes à l'hydrolyse chimique et enzymatique et sont persistantes plusieurs mois voire années dans des échantillons naturels à l'obscurité (Sivonen & Jones, 1999).

2.2.2.2. Identification et quantification des microcystines

Dans les années 1980, la présence de cyanotoxines était recherchée par des tests de toxicité sur souris. Il aura fallu attendre le début des années 1990 pour voir se développer de nouvelles méthodes analytiques, basées sur les propriétés biologiques, physiques ou chimiques des microcystines (Tableau 14).

Tableau 14 : *Approches biologiques d'analyse des microcystines (Merel et al., 2013 b).*

METHODE	AVANTAGES	INCONVENIENTS	SENSIBILITE	APPLICATION
Test de toxicité : Test <i>in vivo</i> sur souris	Etude de la toxicité d'un échantillon	Pas d'identification des toxines Détece uniquement les neuro/hépatotoxines	Faible (méthode semi-quantitative)	Méthode limitée à la recherche toxicologique (question d'éthique, développement de nouvelles méthodes)
Test immunologique : ELISA	Sélective aux MCs, NODs, CYL ou STX Quantitative	Pas d'identification des variants. Réactions croisées avec d'autres composés	Très sensible LD* = 4 ng.L ⁻¹	En routine (kits)
Test biochimique : PPIA**	Sélective aux MCs, NODs Quantitative	Pas d'identification des variants, ne différencie pas MCs de NODs	LD = 0,01 µg.L ⁻¹	En routine (kits)

*LD = Limite de Détection - **PPIA : Inhibition de la Protéine Phosphatase-

Les méthodes biologiques, bien que sensibles, rencontrent deux inconvénients majeurs: (1) l'existence de faux-positif/faux-négatif et d'interférences avec la matrice, (2) ne permettent pas de distinguer un variant d'un autre. Ses méthodes, dites de détection (qualitative, semi-quantitative ou quantitative), sont néanmoins fréquemment utilisées pour confirmer ou infirmer rapidement la présence de toxines. En effet, aucune préparation de l'échantillon n'est requise, permettant d'avoir rapidement (< 24h) un résultat, à un coût limité. Dans le cas de résultats positifs, une méthode chromatographique permet d'identifier et quantifier précisément le résultat. Ces méthodes reposent sur deux étapes : la séparation des composés puis leur détection par un détecteur spécifique ; les techniques sont détaillées dans le Tableau 15.

Tableau 15 : Description des techniques de séparation et de détection les plus communément utilisées dans l'analyse des microcystines (Merel et al., 2013). Surligné en rouge, la méthode utilisée dans l'étude.

TECHNIQUE DE SPERATION			
	Chromatographie liquide (HPLC)	Chromatographie gazeuse (GC)	Electrophorèse capillaire (CE)
Remarques	Méthode la plus commune : flexible, rapide, adaptable	Moins répandu. Requiert une préparation complexe (MCs non volatiles)	Séparation selon la masse et charge. Méthode peu robuste.
TECHNIQUE DE DETECTION			
	Absorbance UV ou UV/PDA 1 ^{ère} technique.	Spectrométrie de masse (SM)	Fluorescence
Remarques	Absorbance spécifique de MCs à 240 nm, détection des variants sur leurs temps de rétention : standards analytiques nécessaires (seulement 10) Sensibilité limitée et faible spécificité.	De plus en plus communément utilisée : haute sensibilité, pour LC et GC. Détection basée sur la masse des molécules : limite les interférences, améliore la sélectivité. Standards analytiques nécessaires (seulement 10)	Sensibilité augmentée. Addition d'une étape de dérivation pour faire fluorescer les molécules.
LD	0,007 – 0,6 µg.L ⁻¹	0,005 – 2 µg.L ⁻¹	
LQ	0,03 – 0,7 µg.L ⁻¹	0,03 – 1,0 µg.L ⁻¹	
Références	A l'international : ISO 20179 :2005 Au niveau Européen : Meriluoto & Spoof, 2005		Au niveau Européen : Sjövall & Meriluoto, 2005

De nos jours, il existe une large gamme de méthodes analytiques pour détecter, identifier et quantifier les cyanotoxines. La méthode à utiliser dépend du type d'information recherchée et de la précision souhaitée (Figure 34). Pour estimer la toxicité d'un échantillon, les méthodes immunologiques et enzymatiques sont préconisées : *in-situ* (kits commerciaux), rapide, faible coût, fiable. Pour une identification précise, les méthodes chromatographiques sont nécessaires. Ces techniques ont l'avantage de détecter, identifier et quantifier avec justesse et précision mais sont coûteuses en temps et en argent.

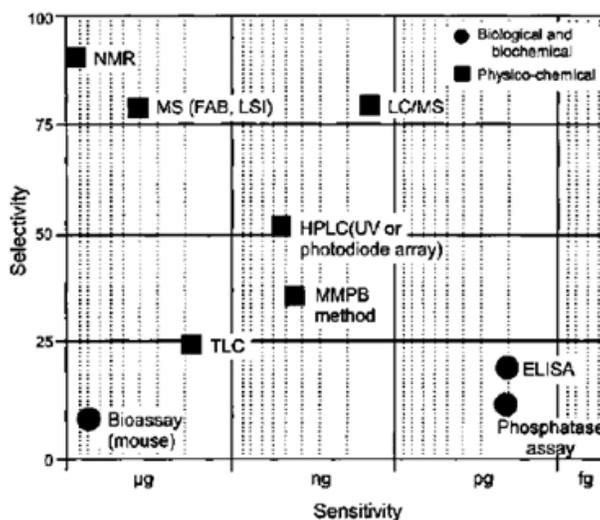


Figure 34 : Sensibilité et sélectivité des différentes méthodes d'analyses des microcystines (Chorus et Bartram, 1999).

La séparation par chromatographie liquide (HPLC) est la plus communément utilisée dans le monde (Nicholson & Burch, 2001 ; Lévi *et al.*, 2006 ; Coudert *et al.*, 2014). Les toxines sont séparées les unes des autres par l'utilisation d'une colonne spécifique (C18, C16, à échange d'ions, ...) et d'une phase mobile adaptée (Nicholson & Burch, 2001). L'utilisation d'une colonne phase inverse C18 et d'un gradient formé d'une phase mobile A d'« acétonitrile + 0,05% d'acide trifluoroacétique (TFA) » et d'une phase mobile B d'« eau ultra pure + 0,05% TFA » est préconisée dans la norme ISO 20179 : 2005 et est le plus fréquemment retrouvée dans les laboratoires (Coudert *et al.*, 2014). Pour détecter les composés, la méthode la plus utilisée est l'absorbance UV (Nicholson & Burch, 2001 ; Lévi *et al.*, 2006 ; Coudert *et al.*, 2014). Cette méthode permet une identification des variants de MCs en se basant sur le temps de rétention et les spectres UV de standards certifiés. La HPLC-UV/PDA, en plus d'être répandue dans les laboratoires du monde et donc très bien documentée, présente un bon compromis entre sélectivité et sensibilité. Cependant, le manque de solutions standards certifiés pour l'ensemble des variants rend difficile l'identification de certains variants. La détection par spectrométrie de masse (MS), basée sur les temps de rétention et les ions caractéristiques, permet de s'affranchir des interférences et garantit une plus grande précision dans l'identification des variants ainsi qu'une meilleure sensibilité.

Avant analyse par chromatographie liquide, l'échantillon suit une préparation spécifique (Figure 35). Ces étapes sont longues (en moyenne 60 % du temps total de dosage d'un échantillon), fastidieuses et la précision de l'analyse en dépend.

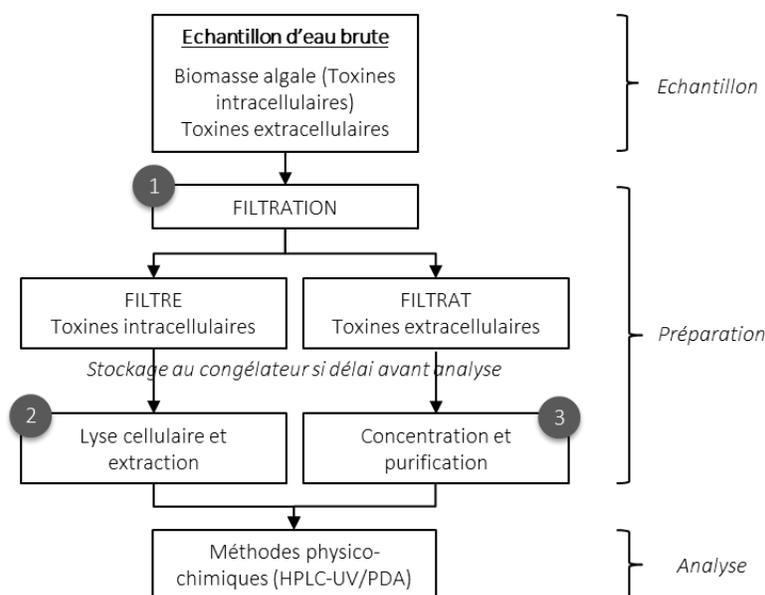


Figure 35 : Etapes de préparation avant analyse des microcystines par méthodes physico-chimiques (dont HPLC-UV/PDA)

Afin de ne pas altérer la répartition des toxines (intracellulaire/extracellulaire), l'échantillon doit être conservé à l'obscurité et à faible température (4°C) et la préparation de l'échantillon doit être réalisée dans les plus brefs délais suivant le prélèvement (24 – 48 heures). En cas de stockage prolongé, il est préférable de congeler l'échantillon. La filtration de l'échantillon (1) avant stockage ou avant préparation permet de séparer les toxines intracellulaires, dans la fraction solide sur le filtre, des toxines extracellulaires, dans la fraction liquide. La norme ISO 20179 : 2005 recommande l'utilisation d'un filtre en microfibre de verre de 1,2 µm (GF/C) de taille de pores et Ø47mm pour séparer les toxines intra et extracellulaires. En effet, par leur taille (de 1 à 10³ µm), la majeure partie des cellules cyanobactériennes sont retenues ; un filtre plus petit – GF/F 0,7 µm est requis pour les picocyanobactéries (0,2 – 2 µm). Chaque fraction suit alors une

préparation propre : les toxines intracellulaires (2) nécessitent une lyse des cellules afin d'en extraire les toxines, les toxines extracellulaires (3) nécessitent une étape de concentration car elles sont présentes en faible concentration.

Diverses techniques ont été développées afin de rompre les parois cellulaires des cyanobactéries et extraire les toxines intracellulaires pour permettre leur dosage : congélation – décongélation, sonication, utilisation de solvant, ... (Fastner *et al.*, 2002 ; Coudert *et al.*, 2014). Les techniques les plus retrouvées dans les laboratoires du monde sont présentées en Figure 36. Il est recommandé de les combiner afin d'augmenter le rendement d'extraction. Le méthanol est largement utilisé comme solvant d'extraction car il présente l'avantage de concentrer rapidement les toxines par évaporation du solvant (Chorus et Bartram, 1999). Le ratio méthanol : eau joue un rôle important sur l'efficacité de récupération des variants de MCs : le méthanol pur est plus efficace pour les MCs les plus hydrophobes alors qu'il est peu efficace pour les MCs les plus polaires (Coudert *et al.*, 2014). Le ratio recommandé est celui de la norme ISO 20179 : 2005, soit une solution aqueuse de MeOH à 75%.

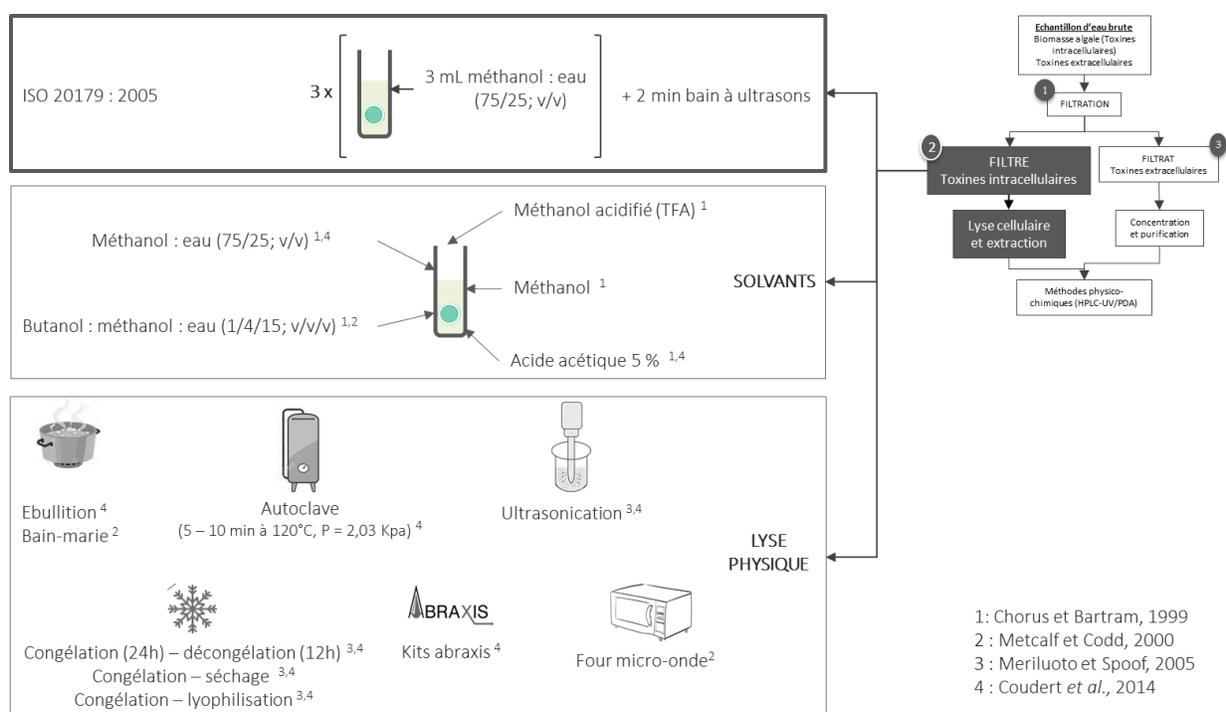


Figure 36 : Diversité des méthodes de lyse et extraction cellulaire

Pour concentrer et purifier les toxines extracellulaires, différentes techniques sont mentionnées dans la littérature : « dispersive liquid–liquid microextraction » (DLLME) (Yu *et al.*, 2015), micro-extraction en phase solide (SPME) (Poon *et al.*, 2001) ou extraction en phase solide (SPE) (Palagam *et al.*, 2017 ; Devasurendra *et al.*, 2018). Cette dernière est la méthode conseillée dans la norme ISO 20179 : 2005. Comparée aux autres techniques, elle a l'avantage de limiter l'utilisation de solvants organiques, la durée de concentration est grandement diminuée par l'automatisation du système et elle permet le stockage de la molécule d'intérêt dans la cartouche. De plus, cette méthode est la plus fréquemment utilisée ; les nombreuses publications sur cette technique permettent un développement et une optimisation de la méthode en un temps limité, ainsi qu'une comparaison des résultats (Andrade-Eiroa *et al.*, 2016). Bien qu'utilisée dans de nombreux domaines scientifiques (pharmaceutique, agroalimentaire, médicale,

environnementale), cette technique a vu le jour il y a seulement une cinquantaine d'années (1966) et est depuis en perpétuel développement et optimisation (Figure 37).

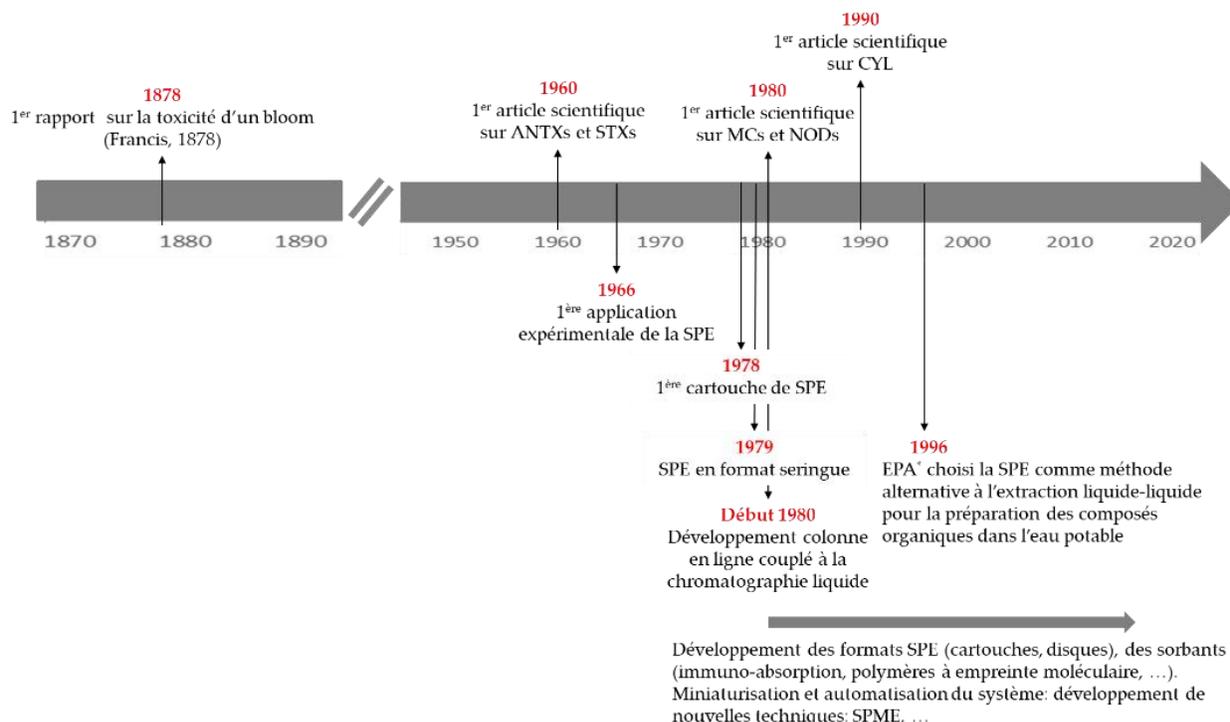


Figure 37 : Développement de l'extraction en phase solide (SPE) (Andrade-Eiroa et al., 2016) (*Environmental Protection Agency)

La SPE est une technique d'extraction qui repose sur la filtration d'un échantillon aqueux à travers une phase solide (généralement une cartouche/disque contenant le matériau absorbant) capable de retenir les composés d'intérêt. Les composés non désirés sont lavés puis ceux d'intérêt sont élués avec un solvant approprié et sont récupérés dans un tube (Figure 38).

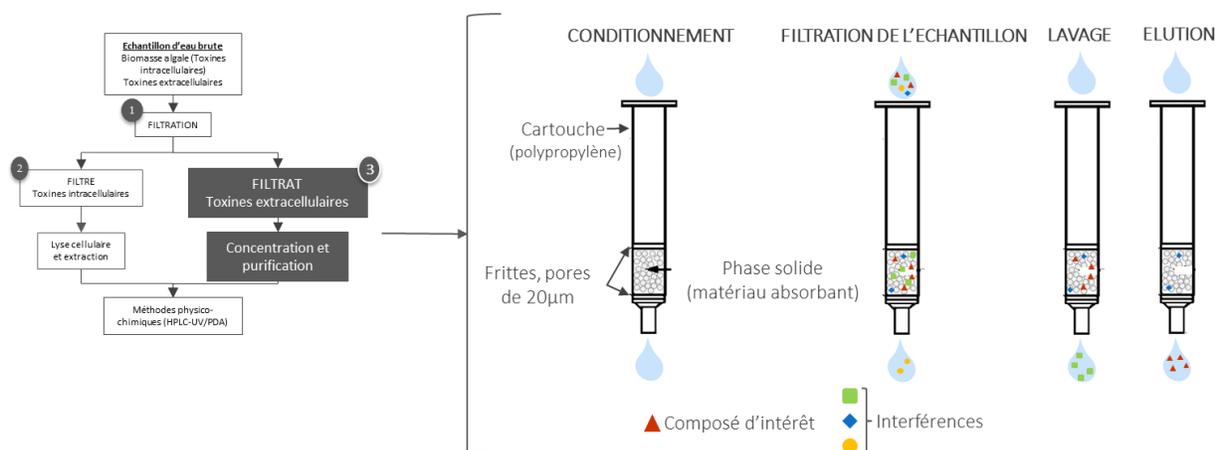


Figure 38 : Principes de l'extraction sur SPE

Ainsi, trois paramètres doivent être judicieusement choisis pour une extraction efficace : la forme et le volume de la cartouche, le matériau absorbant et le solvant d'élution.

L'extraction par SPE peut s'effectuer en cartouche ou sur disque (recommandé pour de grands volumes d'échantillon, chargé en particules). Le volume de la cartouche (1 – 60 mL) s'adapte au volume d'échantillon (< 1 mL à < 1 L).

De nombreux matériaux absorbants et conditionnements de SPE sont aujourd'hui disponibles et couvrent une large gamme d'application et de caractéristiques de la molécule d'intérêt. Le choix du matériau absorbant s'effectue au regard du composé d'intérêt et des interactions qui vont l'extraire de la matrice liquide : interactions hydrophobes (non polaire, Van des Waals) avec une résine en phase « inverse », interactions hydrophiles (polaire, pont hydrogène, ...) avec une phase « normale », attractions électrostatiques avec une résine échangeuse d'ions (Andrade-Eiroa *et al.*, 2016). Depuis quelques années, les domaines de la nanotechnologie et de la synthèse de polymère s'intéressent au développement de nouveaux matériaux absorbants afin d'augmenter la sélectivité et la capacité de sorption/adsorption (Andrade-Eiroa *et al.*, 2016). Pour les microcystines, les matériaux les plus fréquemment utilisés sont : de type C18 (Chorus et Bartram, 1999 ; ISO 20179 : 2005 ; Yen *et al.*, 2011), en phase inverse (OASIS HLB) (Rapala *et al.*, 2002 ; Aranda-Rodriguez *et al.*, 2013 ; Coudert *et al.*, 2014), d'immuno-affinité (Aranda-Rodriguez *et al.*, 2003), en carbone (Yen *et al.*, 2011 ; Coudert *et al.*, 2014 ; Zervou *et al.*, 2017) ou polymérique (Coudert *et al.*, 2014). La phase absorbante « OASIS HLB » (mélange équilibré de polymères hydrophiles et lipophiles) est la phase la plus utilisée car très peu sélective (pesticides, cyanotoxines, pharmaceutiques, ...) (Aranda-Rodriguez *et al.*, 2003) et promet une bonne récupération ($98,7 \pm 5,6$ % pour MC-LR et $95,4 \pm 4,7$ % pour MC-RR) (Cong *et al.*, 2006).

Divers solvants sont couramment utilisés pour la SPE (hexane, acétone, acétonitrile, méthanol, eau, ...). En fonction des caractéristiques du composé d'intérêt, du matériau absorbant et des interactions entre les deux, le choix du solvant s'effectue selon sa polarité, la force de la phase (inverse ou normale) et sa miscibilité avec l'eau.

Bien que la SPE soit une technique répandue qui présente de bons résultats d'extraction et purification, l'absence de consensus et de protocole standardisé complique le choix des conditions opératoires : phase absorbante, solvant, volume échantillon, pH, débit, De plus, peu d'études ont porté sur les interférences de la matrice (pH, force ionique, quantité et caractéristiques de la MO) lors de l'extraction sur SPE. Kaloudis *et al.* (2013) et Zervou *et al.* (2017) ont néanmoins préconisé un pH neutre (5 – 8) pour l'extraction de MCs sur OASIS HLB. La résine OASIS HLB étant peu sélective, la MOD peut s'adsorber et être éluée en même temps que la molécule d'intérêt engendrant alors une dérive de la ligne de base lors de l'analyse par HPLC-UV ainsi qu'une surestimation de la concentration en molécule d'intérêt (Aranda-Rodriguez *et al.*, 2003). Il n'y a cependant pas de données plus précises quant à l'effet de la concentration en COD ni de ces caractéristiques (hydrophile, hydrophobe) sur l'efficacité de concentration et purification des MCs.

A ce jour, 136 molécules toxiques recensées sont produites par une quarantaine d'espèces de cyanobactérie. Alors qu'une molécule peut être produite par une ou plusieurs espèces, une espèce peut produire une ou plusieurs molécules. De nombreuses techniques de détection, identification et quantification de ces molécules sont aujourd'hui développées. La qualité et la fiabilité du résultat dépend grandement de la préparation de l'échantillon. Or, les interférences de la matrice, notamment ceux liées à la MO, ont à ce jour, été peu étudiées. Alors que les MCs sont susceptibles d'être présentes dans un plan d'eau lors de développement cyanobactérien, en simultanément avec la variation qualitative et quantitative de la MOD, il est primordial de développer et optimiser des techniques d'identification et quantification fiables permettant d'assurer un screening environnemental de la contamination des masses d'eaux par des toxines mais aussi de définir l'impact des blooms algaux et cyanobactériens sur les procédés de traitement des eaux.

3. Les filières de traitement de l'eau et leurs adaptations à la variation de qualité des ressources en eaux eutrophes

3.1. Le cadre réglementaire : ressource en eau et eau potable

La qualité de la ressource en eau utilisée pour la production d'eau potable et la qualité de l'eau potable en sortie d'usine sont contrôlées et soumises à réglementation. La directive européenne 98/83/CE du 3 novembre 1998, retranscrite en droit français par le décret du 20/12/2001 et l'arrêté du 11/01/2007, relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine, fixe les paramètres chimiques et microbiologiques, avec notamment des concentrations maximales en Carbone Organique Total (COT) de 10 mg C.L⁻¹ dans la ressource en eau et de 2 mg C.L⁻¹ dans l'eau potable et une limite de 1 µg.L⁻¹ de microcystines totales (formes libre et liée dans les cellules) dans les eaux traitées, exprimée en équivalent MC-LR. La liste des variants à rechercher à minima n'est pas précisée, mais une recommandation devrait être faite par l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) d'ici le deuxième semestre 2019 (DGAL, 2018). Les autres types de toxines (anatoxines, cylindrospermopsines, ...) sont exclus des recommandations de l'OMS par manque de données toxicologiques. Certains pays ont fixé leurs propres réglementations, d'autres s'appuient sur les directives de l'OMS (Tableau 16).

Tableau 16 : Valeur guide de concentrations en cyanotoxines dans les eaux potables selon les pays (Health Canada, 2016 ; Hoeger et al., 2005 ; Chorus, 2012)

Pays	MCs (µg.L ⁻¹)	ANTX- (µg.L ⁻¹)	CYL (µg.L ⁻¹)	STX (µg.L ⁻¹)	Références
	1	-	-	-	WHO, 2007
Australie	1.3	-	1	3	Chorus, 2012 ; NHMRC, 2016
Brésil	1	-	15	3	Chorus, 2012
Canada	1.5	-	1	-	Health Canada, 2002
Quebec		3.7			Chorus, 2012
France	1	-	-	-	Arrêté du 11 janvier 2007
Nouvelle-Zélande	1	6	1	3	Chorus, 2012
Suède	1				WHO, 2007
Togo	1				WHO, 2007
USA	1	3	1	-	Chorus, 2012

Les concentrations en MC-LR pouvant atteindre des valeurs de l'ordre de quelques dizaines de µg.L⁻¹ (Lévi et al., 2006⁸) dans la ressource en eau, il est impératif de définir et optimiser des procédés de traitement efficaces pour respecter les recommandations et garantir la sécurité sanitaire de l'eau.

⁸ Résultats de 1492 analyses d'eau brute prélevée dans 442 communes (en éq MC-LR): 88 % < 3 µg.L⁻¹ ; 8 % entre 3 – 15 µg.L⁻¹ ; 3 % entre 15 – 100 µg.L⁻¹ et 1 % > 100 µg.L⁻¹. Sur ces 17 échantillons : 3 correspondent à des erreurs d'unités, 9 concernent le même site (concentration > 1 million de cellules.mL⁻¹), 3 proviennent d'efflorescences et 2 restent sans explication.

3.2. Les procédés de traitement de l'eau

3.2.1. Fonctionnement d'une chaîne de potabilisation de l'eau

Toutes les stations de traitement de l'eau alimentées par des eaux superficielles suivent une chaîne de procédés fondamentaux ou optionnels présentée Figure 39. La chaîne de traitement conventionnelle des eaux de surface inclut un prétraitement, une étape de clarification et une désinfection.

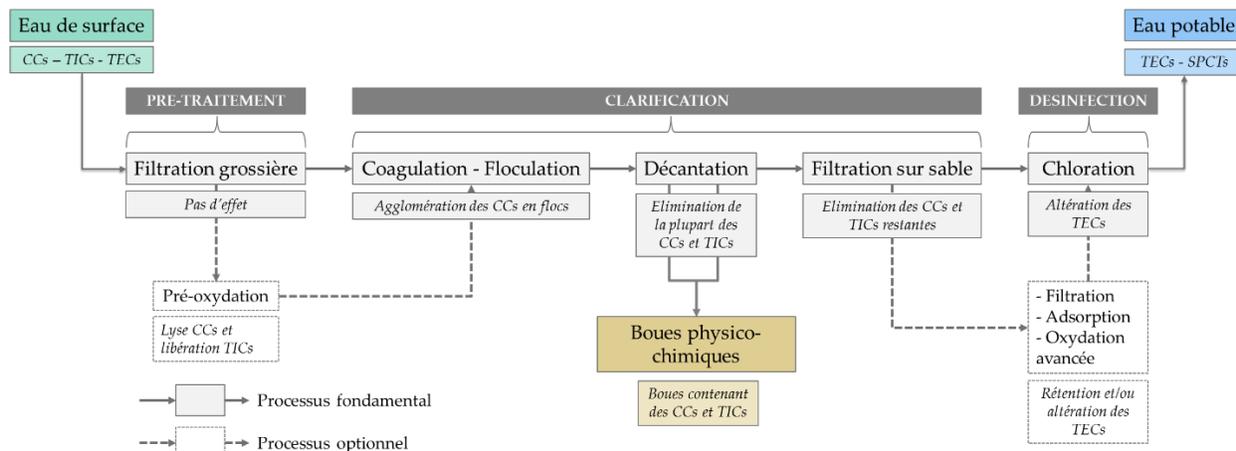


Figure 39 : Vue d'ensemble de la filière de traitement de l'eau et effets sur les cyanobactéries et leurs cyanotoxines. CCs = Cellules de Cyanobactéries – TICs = Toxines Intracellulaires – TECs = Toxines Extracellulaires – SPCTs = Sous-produits de Cyanotoxines. (Adapté de Merel et al., 2013).

La séquence et les procédés utilisés diffèrent selon la qualité de la ressource en eau et le pays. Dans une filière de traitement, les procédés sont divisés en deux catégories : les procédés basés sur la rétention des contaminants (clarification, adsorption, filtration, ...) et les procédés basés sur la dégradation des contaminants (traitement UV, ozonation, chloration, ...).

Le prétraitement se décompose en deux sous-étapes : 1) la filtration grossière, le plus souvent réalisée par dégrillage au niveau de la prise d'eau, a pour objectif d'éliminer les gros et moyens débris ; 2) la pré-oxydation, en amont de la clarification a pour objectif d'oxyder les ions métalliques (fer et manganèse essentiellement) ainsi que certaines MOD et d'améliorer l'efficacité des procédés ultérieurs de clarification. Des oxydants tels que l'ozone et le permanganate de potassium sont couramment utilisés. L'utilisation du chlore en tête de filière n'est plus autorisée en France depuis 2007 (Circulaire DGS NDGS/EA4 n° 2007-259 du 26 juin 2007) car il forme, avec les composés organiques (acides humiques et fulviques), des sous-produits – les trihalométhanes – cancérigènes faisant l'objet d'une norme (THM totaux < 100 µg.L⁻¹ (arrêté du 11 janvier 2007)). Cette étape de pré-oxydation n'est également pas conseillée lorsque la ressource en eau contient des cyanobactéries car elle engendre une lyse cellulaire et par conséquent une libération des toxines et de la MOI.

La clarification a pour objectif d'éliminer les particules à l'origine de la couleur et de la turbidité de l'eau : les particules en suspension (sables, limons argiles, débris végétaux, bactéries, phytoplanctons, ...), les particules colloïdales, les matières dissoutes telles que le fer, le manganèse et les MOD. Cette étape est subdivisée en trois sous-étapes : la coagulation, la floculation et la décantation ou flottation. La coagulation a pour objectif de déstabiliser les particules colloïdales par ajout de sels d'aluminium ou de fer, et la floculation assure l'agglomération des particules déstabilisées en floccs. La décantation ou flottation sont des procédés physiques permettant l'élimination des floccs formés. L'étape de coagulation-floculation-

décantation est systématiquement suivie d'une filtration sur sable afin de piéger les floccs non éliminés lors de l'étape précédente.

L'étape de chloration finale vise à désinfecter en éliminant les virus et bactéries pathogènes. L'utilisation du chlore assure la rémanence dans les réseaux de distribution.

Les proliférations d'algues et de cyanobactéries viennent perturber le fonctionnement de ces procédés de traitement qui doivent alors répondre à quatre problématiques majeures : 1) élimination des cellules, 2) élimination de la MOD, 3) élimination des toxines et 4) réduction des métabolites odorants afin d'améliorer les qualités organoleptiques de l'eau.

3.2.2. Efficacité des procédés conventionnels de traitement de l'eau pour l'élimination des cellules phytoplanctoniques, de la MOA et des MCs

3.2.2.1. Élimination des cellules phytoplanctoniques par coagulation-floculation

Le procédé de coagulation – floculation (CF) permet d'éliminer les cellules phytoplanctoniques. L'efficacité dépend du type de coagulant (Chow *et al.*, 1998 - 1999) et du taux de traitement, du pH, de la température, des propriétés des particules (taille, charge de surface, structures, groupes fonctionnels ionisés), de la force ionique et des espèces (algues/cyanobactéries, filamenteuses ou cylindriques) (Chorus et Bartram, 1999 ; Teixeira et Rosa, 2006 - 2007 ; Henderson *et al.*, 2008 ; Teixeira *et al.*, 2010 ; Leloup, 2013). Aux doses optimales de traitement, la CF montre une bonne efficacité pour l'élimination des cellules (69 – 99 %) (Widrig *et al.*, 1996 ; Drikas *et al.*, 2001 ; Henderson *et al.*, 2010 ; Leloup, 2013) et par conséquent des toxines qu'elles contiennent (Merel *et al.*, 2013 a). Le traitement présente des taux d'abattement élevés avec les sels de fer (82-97%) et d'aluminium (72-75%) (Sharp *et al.*, 2006). Toutefois, l'efficacité est variable selon l'espèce à cause de leurs caractéristiques physico-chimiques, leurs morphologies (colonies/filaments), la présence de vacuole ou encore leurs charges de surface (Henderson *et al.*, 2008). Il a été montré que les algues étaient plus efficacement éliminées que les cyanobactéries (Leloup, 2013). Au sein d'une même classe, des comportements morphologiques ont été mis en évidence (Zamyadi *et al.*, 2013). L'abattement de *E. gracilis* (algue) est élevé (85 – 91 %), indépendamment de la dose de traitement. En revanche, l'abattement de *M. aeruginosa* (MA) et *P. agardhii* (PA) dépendent des doses de traitement. Pour une dose inférieure à 37 mg Fe.L⁻¹, MA est peu éliminée (< 30 %). En revanche, pour une dose optimale, l'élimination augmente pour atteindre 96 %. Dans le cas de PA, son élimination reste inférieure à 72 % malgré une dose optimale (Leloup, 2013). Les conditions de CF (doses de traitement, agitation) n'entraînant pas la lyse des cellules, aucune augmentation de la concentration en toxines extracellulaires n'est observée (Chow *et al.*, 1998, 1999 ; Drikas *et al.*, 2001 ; Teixeira et Rosa, 2006 - 2007).

La CF précède une étape de décantation ou flottation. Plusieurs études ont montré que la flottation est plus efficace pour éliminer les cellules phytoplanctoniques coagulées (Chorus et Bartram, 1999, Lévi *et al.*, 2006) du fait de la présence de vacuoles chez certains organismes. Une dose plus faible de coagulant est utilisée pour un meilleur abattement (97 % d'abattement pour 8 mg Al₂O₃.L⁻¹ si flottation contre 91 % pour 12 mg Al₂O₃.L⁻¹ si décantation) (Teixera et Rosa, 2006 – 2007). De plus, une filière CF-décantation nécessite une gestion et une élimination permanente des boues. En effet, Chorus et Bartram (1999) et Drikas *et al.* (2001) ont montré qu'après 2 jours de conservation des boues, la moitié des cellules collectées sont lysées, libérant leurs toxines dans l'eau. Il faut attendre 5 jours pour observer une diminution de la

concentration en toxines par dégradation microbienne, dégradation qui nécessite 13 jours pour être complète.

Les pourcentages d'élimination du phytoplancton sont supérieurs pour les eaux naturelles (88 – 99 %) que lors d'essais de cultures de laboratoire (72 – 96 %) et varient peu au cours de l'année (Teixeira et Rosa, 2007 ; Leloup, 2013). Cependant, du fait de la forte concentration cellulaire lors des blooms estivaux, la concentration résiduelle reste élevée (50 000 – 100 000 cellules.mL⁻¹ en été contre 100 – 2000 cellules.mL⁻¹ en hiver) et peut alors entraîner une augmentation de la concentration en toxines dans l'eau à la suite de la lyse cellulaire lors des traitements ultérieurs.

3.2.2.2. Élimination de la MO par coagulation-floculation

La CF permet d'éliminer entre 30 et 70 % de la MO des eaux naturelles (Edzwald, 1993 ; Volk *et al.*, 2000 ; Sharp *et al.*, 2006, Leloup, 2013) mais le pourcentage d'élimination dépend de l'état de trophie de l'eau. En effet, la présence de MOA, de caractère hydrophile, diminue les performances du procédé (60 % d'abattement sur un étang eutrophe contre 66 – 80 % pour une rivière oligotrophe) (Leloup, 2013). Au sein d'un plan d'eau eutrophe, le taux d'abattement varie peu selon les saisons. Cependant, en raison d'une forte concentration en COD en période estivale, la concentration résiduelle est élevée (1,8 à 3,0 mg C.L⁻¹) (Leloup, 2013). Le fractionnement de la MON montre une meilleure efficacité d'élimination de la fraction HPO (70 – 90 %) en comparaison à la fraction HPI (14 – 17 %) (Croué *et al.*, 1993 ; Fearing *et al.*, 2004 ; Sharp *et al.*, 2006). Il est également observé un comportement différent de chaque fraction selon l'état de trophie de la ressource en eau. Dans un plan d'eau eutrophe, les fractions HPO et HPI sont moins bien éliminées que celles provenant de la rivière (HPO_{étang} 51 – 62 % contre HPO_{rivière} 59 – 90 % ; HPI_{étang} 13 – 36 % contre HPI_{rivière} 38 – 51 %) (Leloup, 2013).

Quelle que soit l'espèce, la MOA est difficilement éliminée (20 – 50 % pour les doses optimales) (Widrig *et al.*, 1996 ; Pivokonsky *et al.*, 2006 ; Henderson *et al.*, 2010 ; Leloup, 2013) en raison de la forte proportion de composés HPI, faiblement coagulables (1 – 15 %) (Croué *et al.*, 2000 ; Fearing *et al.*, 2004 ; Sharp *et al.*, 2006 ; Leloup, 2013). Pour une concentration initiale comprise entre 9,8 et 12,8 mg C.L⁻¹, l'élimination du COD varie d'une espèce à l'autre ; elle atteint 10 à 19 % pour l'algue, 13 à 29 % pour PA et 48 à 52 % pour MA (Leloup, 2013). Ces différences de performances s'expliquent par les différences de caractéristiques de la MOA de chacune des espèces (Tableau 17).

Tableau 17 : Caractéristiques de la MOA de chaque espèce avant traitement, pourcentages d'élimination de chacune des fractions et caractéristiques de la MOA après traitement par coagulation-floculation (Leloup, 2013).

	<i>E. gracilis</i>					<i>M. aeruginosa</i>					<i>P. agardhii</i>				
	COD	HPO	TPH	HPI	Totale	COD	HPO	TPH	HPI	Totale	COD	HPO	TPH	HPI	Totale
Répartition initiale	10,5	18%	16%	66%		9,8	31%	14%	55%		12,8	13%	18%	69%	
Élimination		0%	26%	15%	10-19%		73%	7%	6%	48-52%		15%	13%	1%	13-29%
Répartition finale		21%	14%	65%			11%	18%	71%			4%	20%	76%	

Pour les trois espèces étudiées, l'élimination des HPI est faible et varie entre 1 – 15%. Les abattements des fractions TPH et HPO dépendent fortement de l'espèce, entre 0 – 73% pour la fraction HPO et entre 7 – 26% pour la fraction TPH. Ainsi, l'élimination des fractions constitutives de la MOA est dépendante des propriétés et de la composition intrinsèque de chacune des fractions.

Les composés HPO d'origine allochtone (64 – 79 %) sont mieux éliminés que les composés HPO d'origine autochtone (< 30 %) (Leloup, 2013). Par ailleurs, le comportement des fractions diffère seules ou en mélange : un effet synergique ou au contraire une compétition entre les composés peut améliorer ou inhiber les performances du procédé. Par exemple, les composés HPI ne sont pas éliminés lorsqu'ils sont traités séparément des autres fractions (< 10 %).

Malgré ces nombreuses études, il reste difficile de prédire la réactivité des fractions. Les performances de la CF dépendent de leurs origines, de leurs compositions intrinsèques et de leurs caractéristiques (aromaticité, proportion de composés de hauts poids moléculaires, indice d'humification). Néanmoins, d'une manière globale, la fraction HPO est préférentiellement éliminée (Croué *et al.*, 1993 ; Fearing *et al.*, 2004 ; Sharp *et al.*, 2006 ; Leloup, 2013). La matière réfractaire, en sortie de CF, est alors concentrée en composés hydrophiles : la proportion de HPI augmente de 29% et 10% respectivement pour la MOA issue de MA et PA et celle de HPO diminue de 65% et 69% (Tableau 17). L'observation est similaire sur les échantillons d'eau naturelle : la fraction HPI augmente de 34% et 142% respectivement sur les échantillons d'été et d'hiver et la fraction HPO diminue de 79% et 64%.

Les performances de la CF sont diminuées par les développements phytoplanctoniques et la présence de MOA. Les fractions TPH et HPO de la MO sont préférentiellement éliminées et après traitement par CF, un échantillon d'eau naturelle, prélevé sur un plan d'eau eutrophe en été, présente les caractéristiques suivantes (Leloup, 2013) :

	<i>Eau Brute</i>	<i>Eau Traitée</i>
<i>Concentration cellulaire</i>	$5,7.10^5 \text{ cellules.mL}^{-1}$	$0,5.10^5 - 1,0.10^5 \text{ cellules.mL}^{-1}$
<i>Concentration en COD</i>	$5,8 \text{ mg C.L}^{-1}$	$1,8 - 3,0 \text{ mg C.L}^{-1}$
<i>Pourcentage de HPI</i>	54 %	77 %

*Ces concentrations résiduelles en MOD et leurs caractères hydrophiles viennent perturber les procédés d'affinage et entrent en compétition avec les micropolluants organiques dont les cyanotoxines (Hnatukova *et al.*, 2011). Il apparaît donc nécessaire d'étudier la réactivité de la MOA lors du traitement des cyanotoxines par adsorption.*

3.2.2.3. Élimination des MCs

Les procédés conventionnels de traitement de l'eau présentés Figure 39 sont inefficaces pour éliminer les MCs extracellulaires (Falconer *et al.*, 1989 ; Himberg *et al.*, 1989 ; Newcombe et Nicholson, 2004 ; Teixeira et Rosa, 2006 – 2007) et ne permettent pas une élimination complète de la MO. Une étape d'affinage est ajoutée à la chaîne de traitement pour éliminer les micropolluants, notamment les cyanotoxines, pesticides ou résidus médicamenteux, et la MO réfractaire. Deux types de procédés sont couramment utilisés : la filtration membranaire et l'adsorption sur Charbon Actif (CA) ; leurs avantages et inconvénients sont présentés Tableau 18. Les méthodes de radiation UV, photo-catalyse, ozonation et chloration, sont efficaces pour dégrader les MCs mais ne les éliminent pas et entraînent la formation de sous-produits.

Les procédés de micro- et ultrafiltration présentes des diamètres de pores trop élevés et ne sont, par conséquent, pas efficaces pour éliminer les toxines extracellulaires. Les procédés de nano-filtration et osmose inverse montrent de bons résultats d'élimination des toxines avec plus de 95% d'élimination des MCs et des ANTX. En raison du coût élevé de la nano-filtration et de l'osmose inverse et du risque de colmatage en présence de MOD, ces procédés ont une efficacité limitée et sont moins fréquemment choisis par les gestionnaires ; ils ne sont donc pas retenus pour cette étude.

Tableau 18 : Impacts des procédés de traitement additionnels sur l'élimination des microcystines.

	Avantages	Inconvénients	Références		
Filtration sur membrane	Micro	Elimination des cellules et des toxines intracellulaires (80 - 98 % pour <i>M. aeruginosa</i>).	Lyse cellulaire → libération toxines extracellulaires	Chow et al., 1997 ; Dumoutier et al., 2005 ; Cai et al., 2008 Tsuiji et al., 1995 ; Lévi et al., 2006 ; Gray et al., 2007 ; Campinas et Rosa, 2010 ; Merel et al., 2013a Teixeira et Rosa, 2006	
	Ultra	Faible élimination du COD d'une eau brute (20%) mais atteint 67-74% si ajout d'un adsorbant (ex : CAP)	Inefficace sur les toxines extracellulaires		Colmatage s'il reste de la MOD et des cellules → perte d'eau pour les lavages (jusqu'à 20%). Diminution de l'efficacité accélérée en présence de matières hydrophiles
	Nano	Elimination des toxines extracellulaires (> 95% pour MC et ANTX)	Coût		
Osmose inverse					
Adsorption sur CA	Poudre	Elimination des toxines extracellulaires (90 – 98% pour MC-LR dans les conditions optimales). Elimination de 30-70% de la MO. Adsorption	Dose de traitement élevée (>20 mg.L ⁻¹ pour éliminer 90-98% des toxines)	Efficacité dépend des caractéristiques du CA, de la MOD (quantité et qualité), des composés (forme, taille), du pH et de la force ionique.	Donati et al., 1994 ; Huang et al., 2007 ; Li et al., 2014 ; Bajracharya et al., 2018 Lévi et al., 2006 ; Merel et al., 2013a ; Li et al., 2014 ; Nguyen, 2014 Lambert et al., 1996 ; Hnatukova et al., 2011 ; Velten et al., 2011
	Grain	préférentielle des composés hydrophobes.	Régénération du CAG car diminution de l'efficacité	Fraction HPI réfractaire au traitement.	

Dans le cadre de cette étude, l'élimination par adsorption sur Charbon Actif (CA) a été sélectionnée car les coûts associés à ce processus sont nettement inférieurs à ceux de la nano-filtration et de l'osmose inverse (coûts de lavage des membranes et d'installation du procédé) ; et contrairement à la photo(cata)lyse, à l'ozonation et à la chloration, l'adsorption sur CA élimine les MCs sans les détruire ; il n'y a pas de formation de sous-produits, potentiellement toxiques.

3.2.3. Intérêt d'une étape d'adsorption sur charbon actif en poudre : efficacité pour l'élimination de la MOA et des MCs

3.2.3.1. Principe de l'adsorption sur charbon actif

Le CA est produit à partir de matière organique végétale riche en carbone : bois, coques de noix de coco, mousse de tourbe, charbon. Après une étape de calcination, le matériau est activé afin d'augmenter son pouvoir adsorbant. Cette activation peut être opérée par voie physique (combustion) ou par voie chimique (utilisation d'acide). L'origine et la voie d'activation du CA lui confère une structure interne ainsi qu'une distribution des pores qui lui sont spécifiques. Le CA constitue alors un réseau de pores, de tailles variables et connectés. Les pores sont classés selon leur diamètre, les micropores (< 2,0 nm), les mésopores (2 – 50 nm) et les macropores (> 50 nm). Un CA provenant du bois se compose d'un réseau régulier de pores parallèles alors qu'un CA provenant de houille est composé d'un réseau de pores organisés de manière aléatoire. Le matériau d'origine définit également le volume de mésopores et de micropores (Tableau 19) : un CA issu du bois présente un volume de mésopores bien supérieur aux autres matériaux : 3 fois plus que le charbon, 6 fois plus que la mousse de tourbe et jusqu'à 15 fois plus que la noix de coco. Les volumes de micropores sont, quant à eux, comparables (entre 0,44 pour la noix de coco et 0,66 pour le charbon).

Deux formes de charbon actif peuvent être utilisées : le Charbon Actif en Poudre (CAP) et le Charbon Actif en Grain (CAG). Généralement le CAP permet de retenir une pollution chronique ou accidentelle. En revanche, le CAG est installé en en étape d'affinage et s'adresse à l'élimination de la MOD. Le CAG s'utilise en filtration/percolation et nécessite une adaptation de la filière de traitement (addition de bassins dédiés). Il permet de combiner adsorption et biodégradation car il est le support de développement de biofilm. Le CAP a l'avantage d'être ajouté dans le système préexistant, pendant la clarification, sans adaptation majeure ou coûts additionnels. De plus, son ajout peut être intermittent et les doses variables en fonction de la qualité de l'eau (Donati *et al.*, 1994 ; Ho *et al.*, 2011). Il peut cependant modifier les caractéristiques du floc et demande d'optimiser les étapes de CF.

Tableau 19 : Volume de micropores et mésopores en fonction du matériau d'origine du CA.

Matériau	Volume de pores (cm ³ .g ⁻¹)		Référence	
	Micropores	Mésopores		
Noix de coco	0,42	0,02	Donati <i>et al.</i> , 1994	
	0,45	0,03		
Mousse de tourbe	0,23	0,06		
	0,39	0,1		
Charbon	0,44	0,05		
	0,66	0,19		
CAP	0,6	0,49		
	0,72	0,27		
<hr/>				
Noix de coco	0,812	0,089		Huang <i>et al.</i> , 2007
CAG	Charbon	0,689	0,175	
	Bois	0,242	0,76	

La littérature met en évidence une bonne efficacité d'élimination de la MO et des MCs par le CA (Donati *et al.*, 1994 ; Lambert *et al.*, 1996 ; Campinas et Rosa, 2006 ; Huang *et al.*, 2007 ; Cook et Newcombe, 2008 ; Ho *et al.*, 2011 ; Merel *et al.*, 2013 ; Li *et al.*, 2014). Cependant, l'efficacité du traitement dépend du sorbant utilisé (Donati *et al.*, 1994 ; Newcombe et Nicholson, 2004 ; Huang *et al.*, 2007 ; Cook et Newcombe, 2008), de la concentration et des caractéristiques de la MON (Donati *et al.*, 1994 ; Lambert *et al.*, 1996 ; Newcombe *et al.*, 1997 ; Cook *et al.*, 2001 ; Cook et Newcombe, 2002 a ; Huang *et al.*, 2007 ; Bajracharya *et al.*, 2018), des caractéristiques des micropolluants (Cook et Newcombe, 2002 b ; Ho *et al.*, 2011) et du pH (Huang *et al.*, 2007 ; Barjracharya *et al.*, 2018).

3.2.3.2. Élimination de la MO sur CAP

Le CAP est largement utilisé pour éliminer la MO (Campinas et Rosa, 2010 ; Chen *et al.*, 2010 ; Zhang *et al.*, 2010 ; Khan *et al.*, 2013 ; Leloup, 2013 ; Li *et al.*, 2014 ; Park *et al.*, 2019).

Les travaux de Nguyen, 2015 ont montré une diminution de 73% et de 32% du COD est observée avec la CF seule et le CAP seul respectivement. L'ajout du CAP avant ou pendant la CF n'améliore pas de manière significative l'élimination du COD, avec respectivement 76% et 72% d'élimination, car les molécules organiques de grosses tailles obstruent les pores du CAP. En revanche, l'élimination augmente à 87% lorsqu'un traitement au CAP est ajouté après la CF, car il permet d'éliminer la fraction HPI difficilement coagulable (Nguyen, 2015).

Les pourcentages d'élimination atteignent entre 30 et 70% (Li *et al.*, 2014 ; Nguyen, 2015) mais l'élimination dépend de la dose de CAP et du temps de contact, des caractéristiques de la MO et notamment de la répartition des fractions. Lors du traitement par CAP, les études ont montré une diminution du caractère aromatique supérieure à la diminution du COD (Cai *et al.*, 2008 ; Leloup, 2013 ; Park *et al.*, 2019). Selon Li *et al.* (2014), la diminution du SUVA est 2 à 3,5 fois plus importante que celle du COD et Nguyen (2015) a observé, au temps d'équilibre, une diminution de 50 % du SUVA contre seulement 30 % du COD. En corrélation avec cette diminution du caractère aromatique, des études plus approfondies des fractions de la MO ont montré une adsorption préférentielle de la fraction HPO (Cai *et al.*, 2008 ; Campinas et Rosa, 2010 ; Chen *et al.*, 2010 ; Zhang *et al.*, 2011 ; Khan *et al.*, 2013 ; Li *et al.*, 2014 ; Nguyen, 2015 ; Park *et al.*, 2017 ; Park *et al.*, 2019). En effet, il a été observé un meilleur abattement de la MOA que de la MOE (65% contre 45%) en conséquence d'une proportion de fraction HPO plus importante dans la MOA (Campinas et Rosa, 2010). Après mise en contact de MOA issue d'une culture de *M. aeruginosa* (COD = 3,5 mg C.L⁻¹) avec du CAP (50 mg.L⁻¹) pendant 30 min, Li *et al.* (2014) ont mesuré une élimination de 65,1% du COD dont 82,8% du COD éliminé sont attribués aux composés hydrophobes.

Des essais sur des eaux naturelles montrent des résultats similaires. Le fractionnement de la matière réfractaire à l'adsorption sur CAP (150 mg.L⁻¹, 30 min) voit sa proportion de HPI augmenter de 62% alors que les pourcentages de TPH et HPO diminuent respectivement de 67% et 73% (Nguyen, 2015).

Quelle que soit l'origine de la MO, les fractions présentent une réactivité différente au CAP : réactivité HPO > réactivité TPH > réactivité HPI. L'efficacité du procédé d'adsorption sur CAP diminue en fonction de la proportion de composés hydrophiles et la matière réfractaire au procédé contient une proportion de composés hydrophiles supérieure et une aromaticité inférieure à la matière initiale.

3.2.3.3. Élimination des MCs sur CAP

Dans le milieu naturel, les toxines sont à 80 – 90 % intracellulaires (Chorus et Bartram, 1999) et ne sont libérées dans le milieu que dans des conditions de lyse et sénescence cellulaire. Ainsi, il est primordial de privilégier des procédés de traitement ne compromettant pas l'intégrité des cellules afin de gérer en même temps l'élimination des cellules et des toxines intracellulaires (Chow *et al.*, 1999 ; Hall *et al.*, 2000). Cependant, au cours du vieillissement des cellules, la part de toxines extracellulaires augmente (Sivonen, 1990 ; Rapala *et al.*, 1997) et il faut ajouter un procédé pour les éliminer.

Le CAP est largement utilisé pour éliminer les MCs extracellulaires (Donati *et al.*, 1994 ; Cook and Newcombe, 2002 - 2008; Newcombe and Nicholson, 2004 ; Ho *et al.*, 2008 ; Campinas and Rosa, 2010 a,b ; Merel *et al.*, 2013). De nombreux paramètres (type de CAP, concentration en MCs, type de MCs, pH, force ionique, quantité et qualité MON) influencent le pourcentage d'abattement. L'augmentation de la dose de CAP et du temps de contact augmentent l'efficacité d'adsorption. Cependant, les gestionnaires veulent optimiser le couple efficacité/coût et le CAP présentant les meilleurs abattements et les conditions optimales de traitement est recherché.

L'adsorption de MC-LR, dont le diamètre est estimé à 3 nm, est positivement corrélée au volume de mésopores du CAP ($r^2 = 0,96$) (Donati *et al.*, 1994 ; Li *et al.*, 2003 ; Cook et Newcombe, 2007 ; Huang *et al.*, 2007). Avec un grand volume de mésopores (en moyenne 0,38 cm³.g⁻¹), les CAP provenant du bois sont les plus efficaces dans l'élimination des MC-LR, suivi des CAP provenant de la houille (volume mésopores = 0,11 cm³.g⁻¹) (Donati *et al.*, 1994 ; Ho *et al.*, 2011). Les CAP fabriqués à partir de la noix de coco et de mousse de tourbe présentent un faible volume de mésopores (en moyenne respectivement 0,025 cm³.g⁻¹ et 0,06 cm³.g⁻¹) et les plus mauvaises adsorptions (Donati *et al.*, 1994). A des doses respectives de 10 mg.L⁻¹

et 30 mg.L⁻¹ pour des CAP de bois et charbon, Donati *et al.* (1994) ont mesuré, après 3h d'adsorption, une élimination de 58% et 33% des MC-LR (C_i=2,5 mg.L⁻¹). Ainsi, pour de mêmes conditions, l'adsorption maximale est près de 3 fois plus importante sur du CAP bois en comparaison au CAP charbon (Tableau 20).

Les caractéristiques du micropolluant impactent également l'efficacité du traitement. Cook et Newcombe (2002 b - 2008) et Ho *et al.* (2011) ont mis en évidence une adsorption décroissante des variants de MCs (RR > YR > LR > LA) résultant d'une hydrophobicité variable (MC-RR étant plus hydrophobe que les autres (Fastner *et al.*, 1998). Un échantillon d'eau dopé avec 22 µg.L⁻¹ de MCs (4 µg.L⁻¹ de chaque variant -RR, -YR et -LA et 10 µg.L⁻¹ de -LR) est mis en contact avec 25 mg.L⁻¹ de CAP. Après 45 min de temps de contact, Ho *et al.* (2011) ont mesuré une élimination de 62%, 47%, 40% et 30% respectivement pour -RR, -YR, -LR et -LA. L'étude de Cook et Newcombe (2008) montre également une meilleure élimination de -LR par rapport à -LA, soit respectivement 60% et 20% après 30 minutes de contact avec 25 mg.L⁻¹ de CAP. L'élimination de la MC-LR seule en solution, ou en mélange avec la MC-LA ou la CYN montre des efficacités similaires (Cook et Newcombe, 2008 ; Ho *et al.*, 2011) ; il n'est donc pas observé de compétition entre MC-LR et -LA et MC-LR et CYN sur les sites d'adsorption. Un échantillon contenant un mélange de -LR et -LA dans un ratio de concentration de -LA/-LR variant de 0,5 à 4 est mis en contact avec du CAP (15 mg.L⁻¹). Après 30 min de contact, il est observé, pour tous les ratios testés, une élimination de 47 ± 2% de la -LR et de 12 ± 3% de la -LA (Cook et Newcombe, 2008).

D'autres facteurs, tels que le pH, la force ionique, impactent la capacité de sorption des MCs sur le CA. En effet, le pH affecte la charge de surface de charbon et de la toxine. L'augmentation du pH vers des valeurs plus basiques impactent négativement l'adsorption des MCs sur le CAP (Huang *et al.*, 2007 ; Baejracharya *et al.*, 2018). Alors qu'une diminution du pH, de 8 à 3, augmente l'adsorption de MC-LR par la formation de liaisons hydrogènes et modification de la forme moléculaire de la toxine (Huang *et al.*, 2007). Le potassium n'affecte pas la cinétique et l'isotherme d'adsorption de MC-LR. En revanche, le calcium améliore le taux d'adsorption et augmente la capacité d'adsorption (Campinas et Rosa, 2006). L'effet de la force ionique sur l'efficacité d'adsorption dépend de la charge cationique, de la concentration de surface de l'adsorbant et de la taille de la molécule. Le calcium affecte la configuration de la MC-LR et en diminue les forces de répulsions inter et intramoléculaire favorisant son adsorption.

L'adsorption sur CAP est un procédé adapté à l'élimination des MCs, présentant de bons rendements. Toutefois, la MO réfractaire à la coagulation-floculation peut entrer en compétition d'adsorption avec les MCs.

3.2.3.4. Compétition d'adsorption entre la MO et les MCs

Outre les spécificités du CAP (concentration, taille et volume des pores), la présence de MON et de MOA diminue l'efficacité d'élimination des MCs (Newcombe *et al.*, 1997 – 2002 ; Hnatukova *et al.*, 2011 ; Cook et Newcombe, 2008) soit par compétition pour les sites d'adsorption (Donati *et al.*, 1994 ; Campinas et Rosa, 2010 ; Ho *et al.*, 2011 ; Bajracharya *et al.*, 2019) soit par obstruction des pores (Li *et al.*, 2003). L'intensité de la diminution dépend de la concentration et des caractéristiques (taille et forme des composés) de la MO (Newcombe *et al.*, 1997 – 2002 ; Cook et Newcombe, 2008) mais également des propriétés du CAP (chimie, taille des pores et organisation du réseau) (Donati *et al.*, 1994 ; Bajracharya *et al.*, 2019).

Malgré le choix d'un CAP adapté, l'adsorption des MCs diminue quand la concentration en MO augmente (Donati *et al.*, 1994 ; Cook et Newcombe, 2008 ; Ho *et al.*, 2011 ; Bajracharya *et al.*, 2019). Cook

et Newcombe (2008) ont observé une diminution de 34% de l'élimination de MC-LR entre une eau naturelle contenant une charge organique de 6,7 mg C.L⁻¹ et une eau naturelle contenant 9,9 mg C.L⁻¹. Donati *et al.* (1994) ont observé une diminution de 36% de l'élimination de MC-LR entre l'eau distillée (< 0,5 mg C.L⁻¹) et un échantillon d'eau naturelle (8-12 mg C.L⁻¹) pour un CAP bois ; cette diminution est plus marquée pour un CAP peu adapté avec -45% avec un CAP charbon (Tableau 20).

Tableau 20 : Paramètres influençant l'élimination des MCs.

[MC] _{initial}	CAP	ELIMINATION (%)		ADSORPTION MAXIMALE			Référence
		COD (mg C.L ⁻¹)		(µg MC-LR.mg ⁻¹ CAP)			
		< 0,5	8-12	< 0,5	8-12	% réduction	
[LR]= 2,5 mg.L ⁻¹	Bois	58%	37%	250	210	-17%	Donati <i>et al.</i> , 1994
	Charbon	33%	18%	87	51	-40%	
		6,7	9,9				
[LR] =		58%	38%				Cook et Newcombe, 2008
[LA] =	Bois	22%	10%				
10-20 µg.L ⁻¹							
		< 0,5	4,5-7,9				
[LR]= 250 µg.L ⁻¹	Bois	65%	12%				Huang <i>et al.</i> , 2007

La dose de CAP nécessaire à l'élimination de MC-LR varie selon la concentration en MON, la concentration en MC-LR et le ratio entre ces composés. En absence de MON, le CAP (bois, 10 mg.L⁻¹) élimine 93 – 98 % de MC-LR et permet d'atteindre une concentration inférieure à la norme pour une concentration initiale de MC-LR entre 5 et 23 µg.L⁻¹. Pour une faible concentration en MC-LR (5,3 – 7,4 µg.L⁻¹), 10 mg.L⁻¹ de CAP sont suffisants pour respecter la norme (1 µg.L⁻¹) dans le cas d'une eau contenant 2,5 mg.L⁻¹ de MON (acides tannique et humique) alors que 15 mg.L⁻¹ sont nécessaires si la concentration en MON double. Pour une concentration en MC-LR plus élevée (17,1 – 23,2 µg.L⁻¹) dans une eau contenant 5 mg.L⁻¹ de MON, 15 mg.L⁻¹ de CAP ne sont pas suffisants pour respecter la norme (67 % d'élimination uniquement) (Figure 40) (Campinas et Rosa, 2010).

Lambert *et al.* (1996) a également étudié l'influence de la MON sur l'adsorption de MC-LR à des concentrations comparables à celles retrouvées dans le milieu naturel (0,1 – 2,3 µg MC-LR.L⁻¹). Une diminution de la capacité d'adsorption du CA a été observée en présence de MON (échantillon prélevé avant le lit de CAG de la station de Ferintosh, Canada ; COT = 25 – 30 mg C.L⁻¹). La filière complète de traitement présente tout de même un abattement de 80 % des MCs avec une concentration résiduelle en MCs entre 0,1 et 0,5 µg.L⁻¹ et l'efficacité du traitement diminue fortement lorsque la concentration initiale en MC-LR est inférieure à 0,5 µg.L⁻¹ (Lambert *et al.*, 1996).

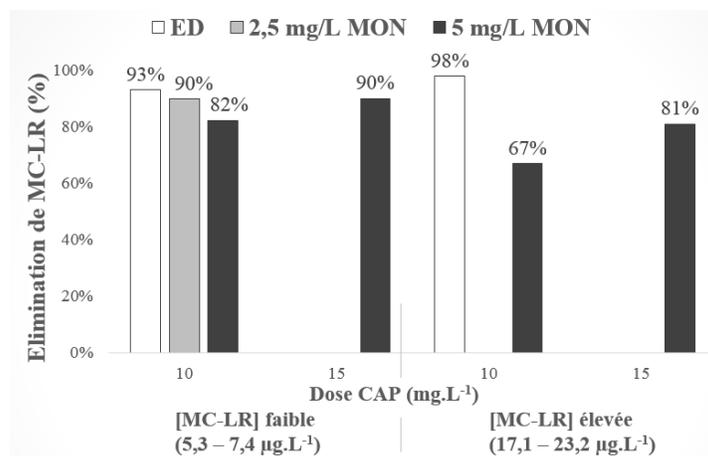


Figure 40 : Efficacité d'élimination de MC-LR en fonction de la concentration en MC-LR, de la dose de CAP et de la concentration en MON (adapté de Campinas et Rosa, 2010)

La compétition entre la MO et la MC-LR dépend des caractéristiques de chacun des composés. En effet, ces deux composés ont une taille relativement proche (Donati *et al.*, 1994), cherchant alors à s'adsorber sur les mêmes pores. Le caractère hydrophobe de la MO est alors à prendre en considération, mais peu d'auteurs s'y sont intéressés. Bajracharya *et al.* (2019), ont observé une diminution du taux d'adsorption de MC-LR (divisé par 4) et une augmentation du temps d'équilibre avec l'augmentation du COD (AF de la Suwannee river à 0 à 5 mg C.L⁻¹). Lorsque les AF sont remplacés par de la MON issue d'un plan d'eau eutrophe, le taux d'adsorption de la toxine diminue de 10% pour un CAP bois et de 80% pour un CAP charbon. Ces résultats diffèrent de ceux de Park *et al.* (2017) et Campinas et Rosa (2010), qui ont observé une efficacité de traitement des MC-LR moindre en présence d'AF que d'AH. Or les AH présente un caractère hydrophobe plus marqué que les AF, qui leur confère une meilleure affinité avec le CAP.

Enfin, Cook et Newcombe (2008) ont montré un impact variable selon les caractéristiques de la toxine. La MC-LA est plus impactée par l'augmentation de la charge organique que la MC-LR ; respectivement 10% et 38% d'élimination dans une eau contenant 9,9 mg C.L⁻¹ contre 22% et 58% dans une contenant 6,7 mg C.L⁻¹ (Tableau 20).

Il a ainsi été constaté une diminution de l'élimination des MO en présence de MCs. Lors de l'étude de la diminution de la concentration en MC-LR dans un échantillon d'eau naturelle, Donati *et al.* (1994) ont mesuré une diminution de l'indice UV₂₅₄, témoignant d'une élimination de la MO aromatique en parallèle de celle des MCs. Cependant, la compétition entre ces composés pour les sites d'adsorption engendre également une diminution de l'élimination de la MO (Campinas et Rosa, 2010 ; Bajracharya *et al.*, 2019). En présence de MC-LR (1 mg.L⁻¹), l'élimination d'AF (5 mg.L⁻¹) diminue de 27,3% (Bajracharya *et al.*, 2019).

*Outre un effet négatif sur la diversité faunistique et floristique du plan d'eau, l'eutrophisation engendre une diminution de la qualité de l'eau. D'une part, les développements phytoplanctoniques accroissent la charge organique et en modifient ses caractéristiques ; d'autre part, le développement de cyanobactéries peut parfois conduire à la présence de toxines dans l'eau. La CF permet d'abattre la concentration cellulaire du phytoplancton, la concentration en toxines intracellulaires (65,2 % d'élimination (Sengul *et al.*, 2018)) et le COD. Cependant, l'élimination du phytoplancton est variable selon l'espèce, plus élevée pour les algues en comparaison aux cyanobactéries, et peu efficace sur les cyanobactéries filamenteuses. L'élimination de la MO est variable selon son caractère hydrophobe ; la fraction HPI perturbe et diminue l'efficacité de la CF.*

La filière de traitement classique n'élimine pas les toxines extracellulaires ; c'est pourquoi une étape d'adsorption sur CAP est ajoutée. L'efficacité du procédé est dépendante de nombreux paramètres tels que le CAP (volume de mésopores, concentration, temps de contact), les MCs (variant, concentration) mais également la présence de MO (concentration, type). La présence en mélange de MO et de MCs entraîne une compétition pour les sites d'adsorption du CAP. L'élimination de ces composés est négativement impactée par la présence de l'autre ; mais peu d'études se sont attardées sur l'impact des caractéristiques hydrophobes de la MO.

Quelle est l'efficacité du procédé d'adsorption de MC-LR sur du CAP en présence de MOA, principalement hydrophile ? Sous l'effet du changement climatique, comment va évoluer l'état de trophie des masses d'eau et quelle va en être la conséquence sur l'efficacité du traitement ? Le traitement par CAP permet-il d'éliminer la MOA résiduelle après coagulation-floculation et entre-t-elle en compétition avec les MCs ?

4. Climat et eutrophisation : Vers quelle qualité de la ressource en eau ?

Les facteurs climatiques tels que les précipitations et la température influencent la qualité de la ressource en eau et le développement du phytoplancton (Bates *et al.*, 2008). Leurs évolutions, dans le cadre du changement climatique, va par conséquent, contrôler le phénomène d'eutrophisation et ses conséquences.

4.1. Climat futur

Selon les scénarios du GIEC (Figure 41-A), les émissions anthropiques de CO₂ risquent de continuer d'augmenter d'ici la fin du XXI^{ème} siècle, plus ou moins intensément selon les scénarios (RCP⁹ 2,6 : atténuation, RCP 4,5 et 6,0 : intermédiaires et RCP 8,5 : élevé). La température moyenne du globe continuera donc également d'augmenter (Figure 41-B) : entre 0,3°C et 0,7°C d'ici 2035 et entre 0,3°C et 1,7°C entre 2081 et 2100 (scénario RCP 2,6) ; avec des épisodes de vagues de chaleurs plus fréquents et plus longs.

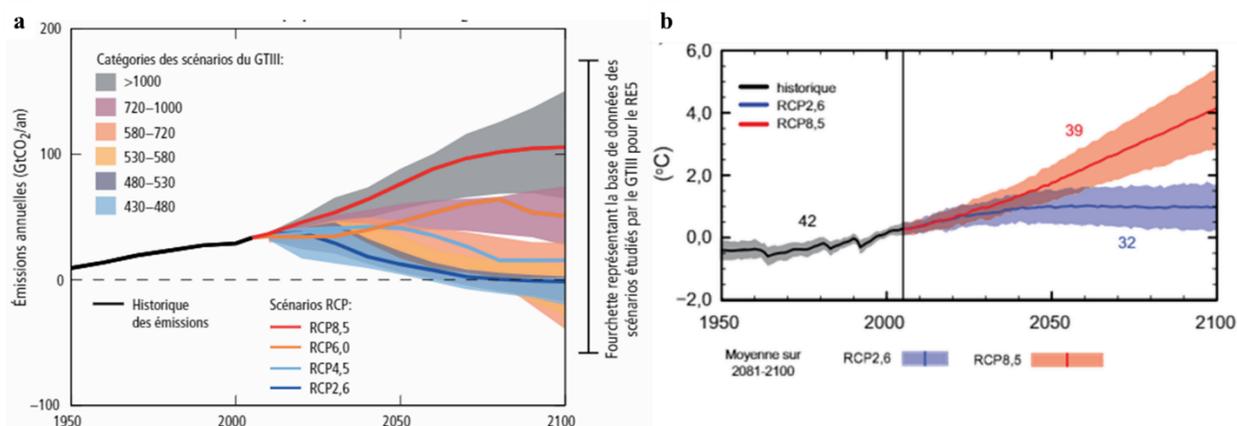


Figure 41: Prévisions du climat de la fin du XXI^{ème} siècle (a) Prévisions des émissions anthropiques annuelles de CO₂ selon les différents scénarios (RCP) (traits de couleur) et catégories de scénarios associées utilisées par le groupe de travail III (GTIII) (ombrage en couleur représentant la fourchette de 5 à 95%) et (b) Prévisions de la température moyenne à la surface du globe. Les séries chronologiques et l'incertitude (parties ombrées) sont présentées pour les scénarios RCP2,6 et 8,5. Les moyennes et incertitudes associées sur la période 2081-2100 sont fournies pour tous les scénarios RCP sous forme de bandes verticales à droite du graphe. Le nombre de modèles utilisés pour calculer la moyenne multi-modèles est indiqué. (GIEC, 2013).

⁹ Profils représentatifs d'évolution de concentration du CO₂ atmosphérique (scénarios du GIEC).

En France, une augmentation de la température moyenne nationale de 0,6 à 1,3°C est attendue d'ici 2050. D'ici 2100, la température hivernale augmentera de 0,9°C (RCP 2,6) à 3,5°C (RCP 8,5) et en été de 1,3°C à 5,3°C selon le scénario (Météo France). En Suède, il est estimé une augmentation de la température à chaque saison, entre 2°C et 6°C selon le scénario (RCP 2,6 et 8,5). La variation de température sera plus marquée au Nord du pays lors de l'hiver (www.smhi.se/en/climate/climate-scenarios). Au Togo, il est attendu une augmentation de 0,66 – 0,80°C d'ici 2025 et de 1,46 – 1,76°C d'ici 2050 (République Togolaise, 2010).

Par conséquent, les masses d'eau vont continuer de se réchauffer (+ 0,6°C - + 2,0°C sur les 100 premiers mètres de l'océan) (GIEC, 2013). Une étude de la température des cours d'eau français, menée par l'ONEMA (2008 – 2015), a modéliser les températures futures des cours d'eau du bassin Loire (Figure 42) (ONEMA, 2011). La réponse des cours d'eau est variable : la température augmente particulièrement à l'aval du bassin (+ 3,1°C ± 0,6°C à la fin du siècle) alors que les cours d'eau en amont semblent moins affectés (+ 1,5°C ± 0,8°C à la fin du siècle).

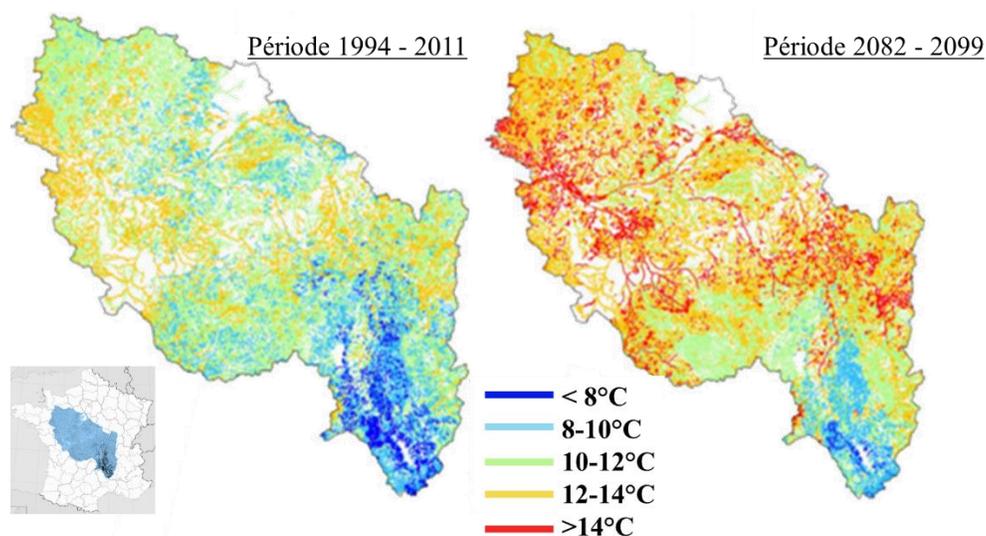


Figure 42 : Températures moyennes interannuelles simulées en période annuelle : 1994 – 2011 (à gauche) et à la fin du XXI^{ème} siècle : 2082 – 2099 (à droite) (Beaufort, 2015).

La moyenne annuelle des précipitations augmentera probablement dans les régions de hautes latitudes (Amérique du Nord, Nord de l'Eurasie). En revanche la tendance sera probablement à la baisse dans les régions tropicales et subtropicales (Figure 43). Les épisodes de précipitations extrêmes seront très probablement plus intenses et plus fréquents sur les continents de moyennes latitudes et dans les régions tropicales humides alors que les épisodes de sécheresse estivale seront probablement plus intenses et plus fréquents aux moyennes latitudes (bassin méditerranéen, Amérique centrale, Afrique australe).

En France, le nombre de jours de fortes pluies (> 10 mm en 24h) augmentera en hiver et les précipitations moyennes baisseront du printemps à l'automne mais augmenteront en hiver au Nord-Est – Sud-Est (+ 0,25 - + 0,5mm/jour). Enfin, le nombre de jours secs consécutifs augmentera (+ 10 jours) (Delpla, 2011). En Suède, la pluviométrie moyenne annuelle devrait augmenter de 20 – 60 % selon le scénario ; cette augmentation sera d'autant plus marquée en hiver, au nord du pays (www.smhi.se/en/climate/climate-scenarios). Au Nord du Togo, la pluviométrie augmentera (+ 1 % d'ici 2025, + 2 % d'ici 2050, jusqu'à + 5 % d'ici 2100). A contrario, au Sud du Togo, la pluviométrie diminuera (- 1,5 % en 2025, - 3 % d'ici 2050 et jusqu'à - 8 % d'ici 2100) (République Togolaise, 2010).

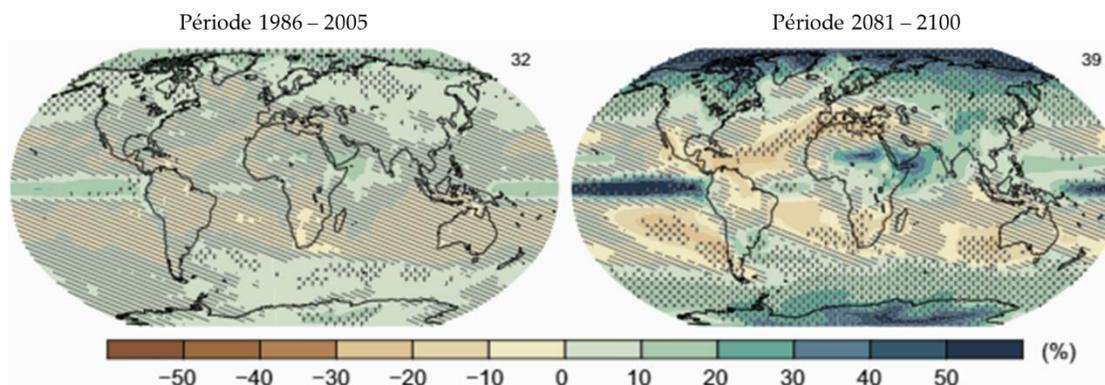


Figure 43 : Evolution des précipitations moyennes (GIEC, 2013)

4.2. Vers une domination des cyanobactéries ?

Ces différents changements tendent à favoriser la fréquence, l'intensité et la durée des blooms de cyanobactéries et la production de toxines (Visser *et al.*, 2016).

L'un des paramètres clés du développement phytoplanctonique est l'accès aux nutriments. Malgré les efforts de réduction d'utilisation et de limitations des rejets de phosphore, l'ampleur de l'eutrophisation ne cesse d'augmenter. Au vu des changements climatiques à venir, le stock de phosphore dans les sols et sédiments va peu à peu se libérer par érosion lors des épisodes pluvieux ou par relargage lors des épisodes d'anoxie estivale (Chapman, 1996 ; Paerl *et al.*, 2011 ; Beusen *et al.*, 2015) et tant que l'agriculture intensive persiste, les apports continueront. Concernant le carbone, les cyanobactéries possèdent d'efficaces mécanismes de fixation du CO₂ atmosphérique (Sandrini *et al.*, 2015 a). Chez *Microcystis*, ces mécanismes s'adaptent aux fluctuations de concentration du CO₂ atmosphérique (Sandrini, 2016).

La température impacte quatre paramètres : le taux de croissance du phytoplancton et son recrutement printanier, la stabilité de la masse d'eau et la stratification de la colonne d'eau. Ces quatre paramètres vont augmenter en réponse à l'augmentation de température, favorisant alors les proliférations cyanobactériennes. En effet, celles-ci ont un optimum de croissance à une température élevée (25 - 35°C) et leur vitesse de croissance augmente plus vite que celle des algues avec la température (Paerl et Huisman, 2008 ; Jöhnk *et al.*, 2008 ; Lürling *et al.*, 2013). De plus, des températures élevées plus tôt dans l'année permettent une germination précoce des akinètes ainsi qu'un recrutement anticipé des colonies de *Microcystis* (Peeters *et al.*, 2007 ; Visser *et al.*, 2016). L'augmentation de la stabilité de la masse d'eau et de la durée de stratification, qui commence plus tôt et se termine plus tard dans la saison, favorisent les cyanobactéries munies de vacuoles, leur permettant de se déplacer pour trouver la lumière et les nutriments (Peeters *et al.*, 2007 ; Jöhnk *et al.*, 2008 ; Paerl & Huisman, 2009 ; Paerl *et al.*, 2011).

L'augmentation de l'intensité et de la fréquence des épisodes d'orage et de sécheresse conduit également à la domination des cyanobactéries, les orages par les apports en nutriments générés par le ruissellement ou la décharge des eaux souterraines (Paerl & Huisman, 2009 ; Sinha *et al.*, 2017), la sécheresse par une augmentation du temps de résidence de l'eau, exacerbant son réchauffement (Paerl *et al.*, 2011 ; Carey *et al.*, 2012).

Les effets du changement climatique sur la production de toxines et la toxicité des blooms nécessitent davantage de recherche et d'expérimentations. La biomasse augmentant avec l'augmentation de la température, certains auteurs s'accordent alors sur une augmentation de la concentration en microcystines

(Davis *et al.*, 2009 ; Gehringer and Wannicke, 2014). Le ratio souche toxique et souche non-toxique porte également à controverse. Davis *et al.* (2009) a observé, durant une étude expérimentale sur quatre lacs, que les souches toxiques de *Microcystis* avaient une meilleure croissance que les souches non-toxiques quand la température augmentait. En revanche, d'autres auteurs ont observé une meilleure compétitivité des souches non-toxiques dans des conditions non limitées en lumière, température et azote. La domination des souches non toxiques entraînant une toxicité moindre des blooms de cyanobactéries (Kardinaal *et al.*, 2007 ; Briand *et al.*, 2008). Gehringer and Wannicke (2014) ont montré que la production de microcystines était stimulée par les conditions environnementales : dans un milieu riche en nutriments et CO₂, la quantité de toxines par cellules augmente. En revanche, dans le cas d'une souche productrice de plusieurs variants, un milieu riche en azote favorise la production de MC-RR, moins toxique que MC-LR. Enfin, la concentration en toxines extracellulaires est corrélée à la température de l'eau et serait plus élevée à hautes températures (20 – 25°C) (Walls *et al.*, 2018).

D'ici la fin du siècle, les prédictions climatiques annoncent une augmentation du CO₂, de la température de l'eau, des orages et des épisodes de sécheresse. Tous ces facteurs convergent vers une dominance des cyanobactéries, notamment celles pourvues de vacuoles. Les prédictions quant à la production de toxines sont encore à étudier.

Quelles vont donc être les conséquences de la domination des cyanobactéries sur les caractéristiques de la MON ? Quels seront leurs impacts sur l'efficacité des procédés de traitement de l'eau pour l'élimination conjointe de la MO et des toxines ?

5. Conclusions et objectifs de l'étude

Cette synthèse bibliographique a détaillé les facteurs de contrôle de l'eutrophisation et décrit les enjeux environnementaux, sanitaires et économiques actuels que représentent les phénomènes de proliférations d'algues et de cyanobactéries associés. Elle a également mis l'accent sur les variations climatiques observées et prévues, et leurs conséquences sur les blooms cyanobactériens de demain. Elle a montré le caractère multi-paramètres, à la dynamique complexe et aux conséquences multiples de ces développements. Elle a démontré la nécessité de caractériser les productions de matières organiques et de cyanotoxines, influencées par les variations climatiques, afin d'adapter et d'optimiser les filières de production d'eau potable.

Cette étude a ainsi plusieurs objectifs dont s'assurer d'une identification et détection des microcystines présentes dans les eaux potables et dans les ressources eutrophes d'eau. Elle vise également à caractériser la production de matières organiques algale et de microcystines sous différentes conditions climatiques et à évaluer les effets de ces apports générés lors des épisodes de proliférations sur les caractéristiques de la matière organique naturelle. Enfin, elle vise à déterminer les impacts de ces modifications de caractéristiques sur l'adsorption sur charbon actif en poudre.

PARTIE 2 : MATERIEL ET METHODES

1. Démarche expérimentale

Dans un contexte mondial de changement climatique, défini par le GIEC comme une augmentation de la température moyenne mondiale et une augmentation de la fréquence et intensité des épisodes pluvieux extrêmes, la qualité des ressources en eau se dégrade : intensification des développements phytoplanctoniques qui engendrent une diminution de la diversité écologique mais également une augmentation de la charge organique et de la turbidité, du pH et de la concentration en cyanotoxines. Cette dégradation impose des adaptations des chaînes de traitement des eaux afin d'assurer le respect des normes en vigueur (directive européenne 98/8/CE, décret français du 20/12/2001 et arrêté français du 11/01/2007) et la qualité sanitaire de l'eau potable. Ce travail de recherche s'intéresse plus particulièrement à la recrudescence des phénomènes d'eutrophisation suite aux variations climatiques et à leurs impacts, physico-chimiques, chimiques et biologiques, combinés sur la qualité des eaux. Il s'est subdivisé en trois chapitres, déployant des compétences en chimie analytique, chimie et microbiologie environnementale et traitement des eaux.

Le premier chapitre de ce travail de recherche a pour objectif de développer une méthode fiable, robuste et reproductible de dosage des MCs par HPLC-UV/PDA. Outre l'optimisation de la méthode pour l'identification et la quantification des MCs, un protocole de préparation de l'échantillon et de concentration des MCS sur SPE est également mis au point afin de diminuer les limites de détection et de quantification de la méthode analytique et de réduire les interférences de la matrice de l'échantillon. Ces interférences de la matrice – pH, conductivité, charge et caractéristiques de la MO - sont testées en respectant les conditions environnementales de l'ex-Région Limousin.

Le second chapitre de ce travail de recherche étudie l'impact des variations climatiques sur le développement et la recrudescence des phénomènes d'eutrophisation et des blooms algaux et cyanobactériens. L'étude est réalisée sous conditions contrôlées, en laboratoire, et comparée à un suivi *in situ*, de trois ressources en eau, géographiquement positionnées sur un axe Nord-Sud (Suède – France – Togo) et soumises à des conditions climatiques diverses.

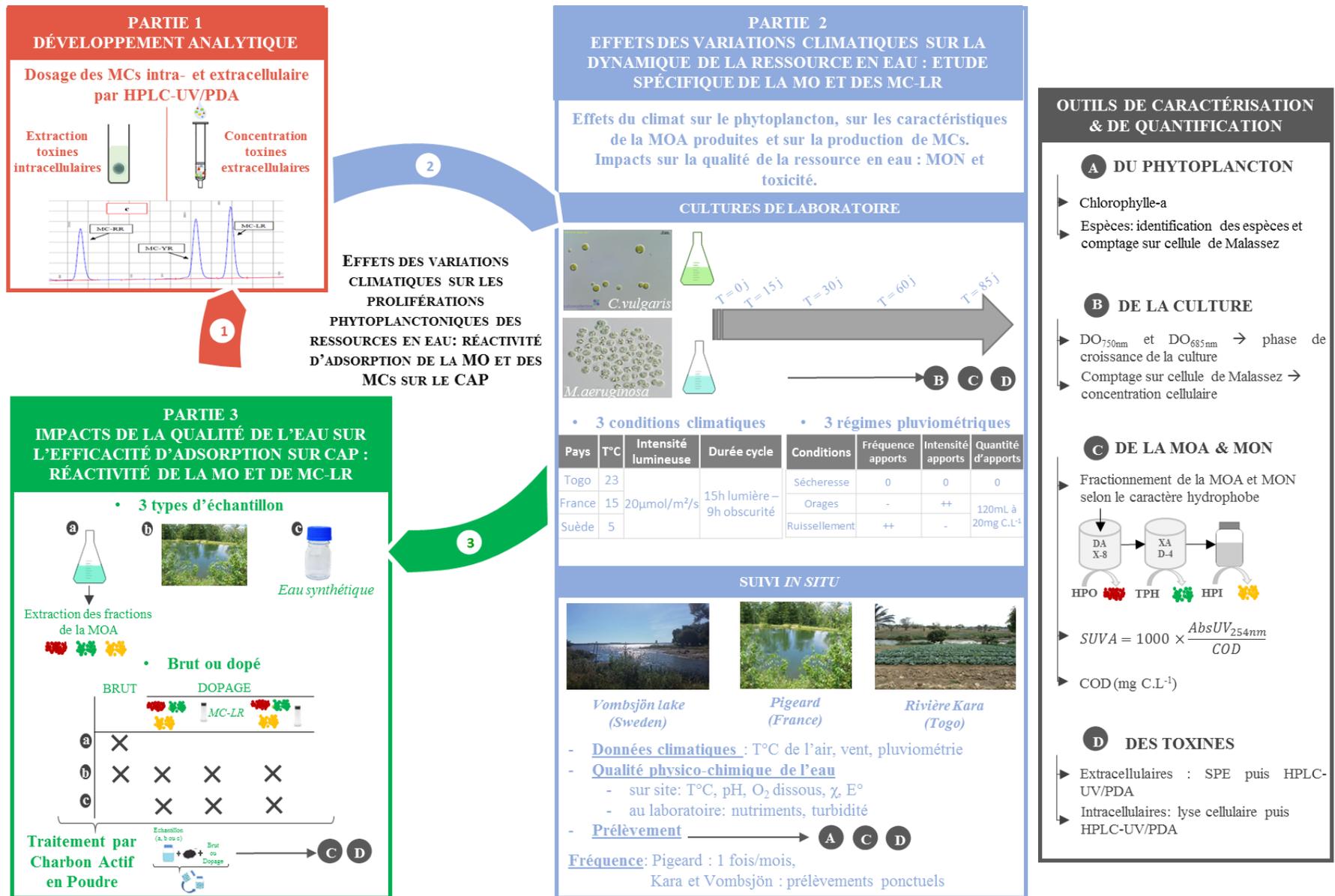
L'étude en laboratoire vise à évaluer le développement de deux espèces de microalgues, une algue verte, *Chlorella vulgaris* et une cyanobactérie, *Microcystis aeruginosa*, en conditions contrôlées, sous différentes températures et trois régimes pluviométriques. Les conditions climatiques choisies simulent les climats des pays de l'étude : Suède, France et Togo, respectivement 5°C, 15°C et 23°C alors que les régimes hydriques correspondent à des conditions de sécheresse, d'orage et de ruissellement. Le développement des espèces est suivi au cours des différentes phases de croissance et la MOA générée est quantifiée par mesure du COD et qualifiée par fractionnement selon le caractère hydrophobe et détermination de l'indice SUVA. La production de cyanotoxines par *Microcystis aeruginosa*, en fonction des conditions climatiques et pluviométriques, est mesurée par HPLC-UV/PDA au cours des phases de croissance.

L'étude terrain a pour objectif de comparer l'impact de conditions climatiques diverses, à l'échelle géographique, sur le développement et la recrudescence des phénomènes d'eutrophisation. Trois sites répondant à des conditions climatiques particulières sont choisis : le lac Vombsjön en Suède, l'étang de Pigéard en France et la rivière Kara au Togo. Le suivi de la qualité de l'eau et l'interprétation de son évolution temporelle sont réalisés sur 21 mois consécutifs en France et de manière ponctuelle en Suède et Togo, au cours des années 2016-2019. Les paramètres d'intérêt mesurés et corrélés à une fréquence mensuelle en France sont les données climatiques (température de l'air, pluviométrie, ensoleillement) ; les paramètres physico-chimiques globaux de la ressource en eau (température, oxygène dissous, pH, potentiel

d'oxydo-réduction, conductivité, turbidité) ; les concentrations en macronutriments (phosphore et azote) et micronutriments (Mg^{2+} , Ca^{2+} , Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Cl^- et SO_4^{2-}) ; les paramètres biologiques (comptage microscopique de populations d'algues et de cyanobactéries, mesure de la teneur en chlorophylle a) ; les concentrations en cyanotoxines, les teneurs en COD et les caractéristiques de la MON par fractionnement selon le caractère hydrophobe et détermination de l'indice SUVA.

Le troisième chapitre de ce travail vise à évaluer l'impact de la dégradation de la qualité de la ressource suite à des phénomènes de blooms récurrents sur l'efficacité des procédés de traitement, notamment l'adsorption sur charbon actif en poudre. L'étude s'est orientée plus spécifiquement sur les conséquences des apports successifs en MOA, plus hydrophile que la MON, et la libération de toxines dans la ressource en eau, sur l'efficacité du procédé. Pour répondre à cet enjeu sanitaire, des tests d'adsorption sont réalisés sur des cultures de laboratoire de *M. aeruginosa*, une eau synthétique dopée en fractions hydrophobes extraites de MOA et/ou MC-LR et des échantillons d'eau naturelle de Pigeard. L'objectif est triple : 1) comprendre la réactivité des fractions extraites de MOA en comparaison aux fractions de MON ; 2) identifier les compétitions d'adsorption entre la MOA et les toxines MC-LR et 3) évaluer l'efficacité du procédé d'adsorption sur CAP pour l'élimination simultanée des fractions de MOA réfractaires au traitement de clarification et des toxines MC-LR.

L'objet de cette partie est de décrire la méthodologie mise en œuvre et les outils utilisés pour répondre aux enjeux de la dégradation des ressources eutrophes dans un contexte de changement climatique.



2. Analyse de la qualité de l'eau

Sous l'influence des variations climatiques (température, luminosité, précipitations et vent), les paramètres physiques, chimiques et biologiques d'une masse d'eau se voient modifiés. Leur suivi au cours du temps permet de comprendre le fonctionnement et l'évolution de l'hydrosystème. Le Tableau 21 présente les différents types de mesures réalisées et cette partie détaille l'intérêt des paramètres étudiés et leur mode opératoire.

Tableau 21: Analyses effectuées en fonction du type d'échantillon

Mesures réalisées	Paramètres météorologiques	Paramètres globaux	Eléments nutritifs	Quantification et caractérisation de la MON ou MOA	Caractérisation du phytoplancton	Identification et dosage des cyanotoxines
Echantillon de culture de laboratoire				×	×	×
Echantillon de terrain	×	×	×	×	×	×

2.1. Paramètres climatiques et paramètres globaux

2.1.1. Paramètres météorologiques

La température de l'air, l'ensoleillement, les précipitations et le vent influencent fortement les caractéristiques de la masse d'eau ainsi que le développement du phytoplancton. Ces paramètres météorologiques sont mesurés au niveau de la station de Limoges Bellegarde (à 3 km du site d'étude) et fournis par Météo France (<http://publitheque.meteo.fr>). Les données météorologiques togolaises sont mesurées à la station de Kara et sont fournies par l'Université de Kara. En Suède, les données sont enregistrées à la station de Vombverket et sont fournies par Sydvatten.

2.1.2. Paramètres globaux

Le suivi des paramètres globaux – température de l'eau, oxygène dissous, pH, conductivité et potentiel redox - permet d'estimer la qualité physico-chimique de l'eau tout au long de l'année. Ces paramètres sont mesurés *in situ*, mensuellement en France à l'aide d'un multi-paramètres 3630 IDS (WTW) équipé des sondes présentées Tableau 22, bi-hebdomadairement en Suède et ponctuellement au Togo.

Tableau 22: Matériels utilisées en France avec le multi-paramètres 3430 IDS

Paramètre	Electrodes	Précision	Etalonnage
Température	FDO 925	± 0,5°C	
Oxygène dissous	Sonde optique	± 0,03 mg.L ⁻¹	Contrôle dans l'air saturé en vapeur d'eau
pH (avec compensation de la T°C)	SenTix® 940-3 Electrode de verre, référence Ag/AgCl/KCl saturé	± 0,01	3 points : 4 – 7 – 10
Conductivité (avec compensation de la T°C)	TetraCon® 925	± 1,0 % de la valeur	Contrôle avec solution de KCl 0,01mol.L ⁻¹
Potentiel rédox	SenTix® ORP-T-900 Electrode de platine	± 0,3 mV	Contrôle avec standard rédox 220mV

La transparence de l'eau est évaluée au laboratoire par mesure de la turbidité. Plus la turbidité est élevée, moins la lumière pénètre dans la colonne d'eau et moins elle est disponible pour les organismes photosynthétiques. L'analyse est effectuée en triplicat sur l'échantillon brut à l'aide d'un turbidimètre 550 IR de WTW (précision $\pm 2\%$, étalonnage à 3 points 0,02 – 10 et 100 NTU avec des solutions de formazine).

Le protocole de mesure des matières en suspension (MES) et des matières volatiles en suspension (MVS) respecte la norme NF EN 872 T90-105. L'analyse est réalisée en triplicat. La membrane en fibre de verre de seuil de coupure 1,2 μm (GF/C de Whatman) est préalablement rincée à l'eau ultra-pure, séchée à 105°C et pesée. Après filtration de l'échantillon, la membrane est de nouveau séchée à l'étuve à 105°C jusqu'à stabilisation de la masse et pesée. La teneur en MES est déterminée grâce à l'équation II. Après calcination pendant 2h à 550°C, la membrane est refroidie au dessiccateur et de nouveau pesée. La teneur en MES est déterminée grâce à l'équation II. La teneur en matières minérales en suspension (MMS) est calculée selon l'équation III. La teneur en MVS, assimilables à la MO, est estimée grâce à l'équation IV.

$$\text{Équation II : } MES = \frac{M_{105} - M_{\text{filtre}}}{V_{\text{filtré}}}$$

$$\text{Équation III : } MMS = \frac{M_{550} - M_{\text{filtre}}}{V_{\text{filtré}}}$$

$$\text{Équation IV : } MVS = \frac{M_{105} - M_{550}}{V_{\text{filtré}}}$$

Avec MES, MMS et MVS les concentrations respectives en MES, MMS et MVS (mg.L^{-1})
 M_{filtre} , la masse initiale du filtre rincé et sec (mg)
 M_{105} , la masse du filtre après filtration de l'échantillon et séchage à l'étuve à 105°C (mg)
 M_{550} , la masse du filtre après calcination à 550°C (mg)
 $V_{\text{filtré}}$, le volume d'échantillon filtré (L)

2.1.3. Quantification des éléments nutritifs

L'azote (N) et le phosphore (P) sont les principaux éléments pouvant limiter la croissance du phytoplancton, le phosphore étant généralement l'élément limitant dans les eaux douces.

Après filtration sur filtre en nitrate de cellulose de 0,45 μm , l'azote total est quantifié grâce au module TNM-L (précision $\pm 3\%$, LD = 20 $\mu\text{g N.L}^{-1}$) équipant le COT-mètre TOC-L de Shimadzu. La combustion des échantillons dans un four à 720°C, catalysée en présence de platine, conduit à la formation d'oxyde d'azote. Le NO formé est oxydé par ozonation, formant alors du NO₂, quantifié par chimiluminescence. La mesure est effectuée en duplicat.

Les concentrations en nitrates (NO₃⁻), nitrites (NO₂⁻), phosphates (PO₄³⁻) et en micronutriments – cations Mg²⁺, Ca²⁺, Na⁺, K⁺ et NH₄⁺ et anions Cl⁻, SO₄²⁻ – sont mesurées par chromatographie ionique (930 Compact IC Flex de Metrohm) après filtration sur membrane en nylon de 0,2 μm . Les limites de quantification et de détection de chacun des éléments sont présentées dans le Tableau 23.

Tableau 23 : Limites de quantification et de détection des cations et anions par chromatographie ionique

	CATIONS					ANIONS					
	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻
LQ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	20	30	10	50	10	1	20	1	20	300	3
LD ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	7	10	4	20	4	1	7	1	7	100	1

2.2. Quantification et caractérisation de la MO

Afin de connaître la dynamique de la MO au sein d'un milieu eutrophe mais aussi dans l'objectif de caractérisation de la performance d'un procédé de potabilisation de l'eau via l'étude de la réactivité de la MO, il est utile de mettre en place des outils de caractérisation. En effet, de sa quantité et de ses caractéristiques, telles que ses caractères hydrophobes et aromatiques, dépend son efficacité d'élimination (Edzwald, 1993 ; Croué, 2004 ; Leloup, 2013).

2.2.1. Quantification de la MO : mesure du Carbone Organique Dissous (COD)

La concentration en COD d'un échantillon est le paramètre de référence pour l'évaluation de la charge organique des milieux aquatiques. Cette analyse s'effectue à l'aide d'un COT-mètre Shimadzu TOC-L (précision $\pm 2\%$, limite de détection = $50 \mu\text{g C.L}^{-1}$) après filtration de l'échantillon à $0,45 \mu\text{m}$ sur filtre en nitrate de cellulose. L'échantillon est acidifié par du HCl 1M puis dégazé pendant 3 min à l'air synthétique afin d'éliminer le carbone inorganique sous forme de CO_2 . L'échantillon est alors injecté dans un four à une température de 720°C . Le CO_2 produit par combustion du carbone organique est détecté par un détecteur infra-rouge et la concentration en COD déterminée grâce à une gamme d'étalonnage à l'hydrogénophthalate de potassium. L'appareil effectue automatiquement une analyse en duplicat, voire en triplicat si l'écart-type sur les duplicats est supérieur à $0,1 \text{ mg C.L}^{-1}$.

2.2.2. Caractérisation de la MO

2.2.2.1. Détermination de l'aromaticité

L'indice SUVA (Specific UV Absorbance) correspond au ratio de l'absorbance UV à 254 nm et de la concentration en COD (Equation V). L'absorbance UV à 254 nm est mesurée par un spectrophotomètre UV-visible Shimadzu Pharmaspec 1700 à double faisceau (précision $\pm 0,005$) avec une cuve en quartz d'une longueur optique de 1 cm.

$$\text{Equation V: } SUVA = 1000 \times \frac{Abs_{UV_{254nm}}}{COD}$$

Avec SUVA, indice SUVA ($\text{L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$)

$Abs_{UV_{254nm}}$, absorbance UV mesurée à 254 nm (cm^{-1})

COD, Carbone Organique Dissous de l'échantillon (mg C.L^{-1})

2.2.2.2. Fractionnement selon le caractère hydrophobe

Les molécules organiques sont séparées selon leur caractère hydrophobe par passage successif de l'échantillon sur des résines DAX-8 et XAD-4. Le protocole utilisé (Figure 45) est adapté de celui d'Aiken *et al.* (1992) et Malcolm et MacCarthy (1992). Ce fractionnement permet de séparer le carbone organique en quatre fractions de caractère hydrophobe croissant.

Le volume d'échantillon à filtrer sur les résines est calculé en fonction de la capacité d'adsorption de la résine, déterminée par le facteur k' . Ce facteur se décrit comme le volume maximum d'échantillon qui traverse la colonne avant saturation de celle-ci. Il est fonction de la porosité de la résine mais également de la concentration et des caractéristiques de la MO de l'échantillon (Labanowski et Feuillade, 2011). Dans la littérature, des facteurs k' allant de 7 à 166 sont utilisés, mais les plus couramment retrouvés sont ceux de Thurman et Malcolm (1981) et Leenheer (1981) qui préconisent respectivement des facteurs de 100 et 50. Des études menées par Labanowski et Feuillade (2011) ont démontré l'importance du choix du facteur k' dans la reproductibilité des expériences. En effet, il influence la quantité de substances hydrophiles isolées

et leur composition. Pour des échantillons riches en composés hydrophiles et faiblement concentrés en MOD, ils préconisent d'utiliser un facteur de 50. L'utilisation de ce coefficient permet de s'affranchir de l'impact des variations de concentrations en COD. Or, les concentrations sont variables lors de la croissance des cultures de laboratoire ou dans un plan d'eau au cours d'une année hydrologique. Dans cette étude, un facteur de capacité k' de 50 est donc choisi et le volume d'échantillon à fractionner est calculé à partir de l'équation VI.

$$\text{Équation VI : } V_{\text{éch}} = 2V_0 \times (1 + k')$$

Avec : $V_{\text{éch}}$, volume d'échantillon (mL)
 V_0 , volume mort de la colonne de résine (60% du volume du lit) (mL)
 k' , facteur de capacité

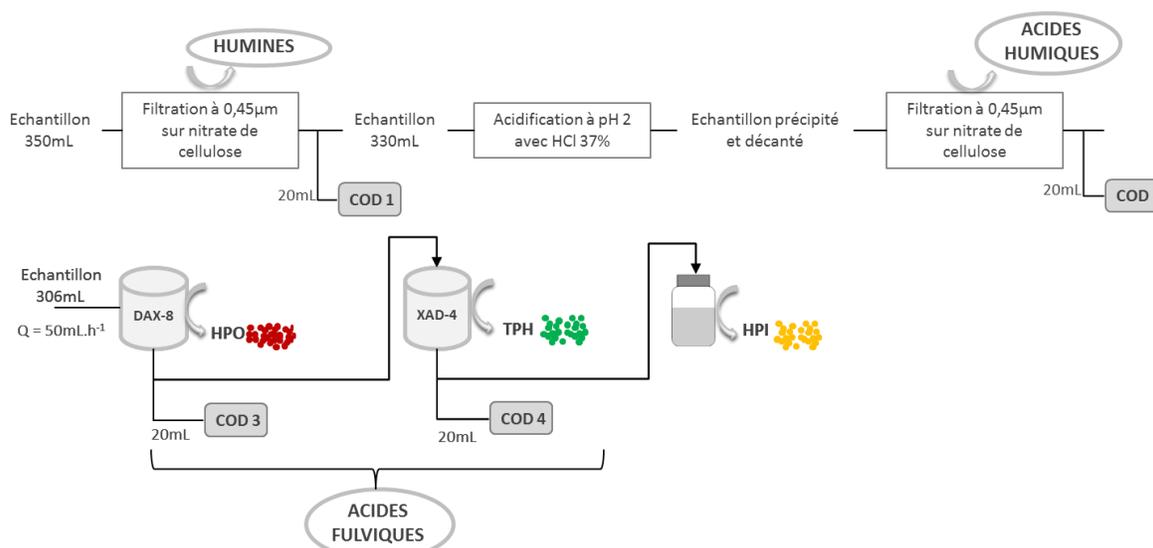


Figure 45: Protocole de fractionnement de la matière organique selon son caractère hydrophobe.

En utilisant 5 mL de résine, le volume d'échantillon est de 306 mL. L'échantillon est filtré sur filtre en nitrate de cellulose de 0,45 µm afin de séparer les humines insolubles quel que soit le pH. Pour des échantillons chargés en particules en suspension (cultures de laboratoire âgées, échantillons d'eau naturelle en période estivale), une étape de centrifugation (3500 g, 20 min, 4°C) en amont de la filtration est conseillée. Une acidification à pH 2 avec HCl 37% permet ensuite de séparer les acides humiques (AH), insolubles à pH < 2. L'échantillon est à nouveau filtré sur filtre en nitrate de cellulose de 0,45 µm et 306 mL d'échantillon acidifié et filtré passe successivement sur 5 mL de résines DAX-8 et XAD-4, placées dans des colonnes en acier inoxydable, à un débit moyen de 50 mL.h⁻¹ (pompes péristaltiques ISMATEC ISM827B et Cole Parmer 7554-85). La première résine utilisée est une résine acrylique présentant une polarité faible. La seconde, de nature styrène – divinylbenzène, est non polaire. Elles sont sous la forme de billes de polymère macroporeux non chargées. Avant utilisation, les résines sont conditionnées au méthanol puis rincées à l'eau distillée pH 2 jusqu'à ce que le COD de l'eau de rinçage soit inférieure à 0,5 mg C.L⁻¹.

Les composés hydrophobes (HPO) et transphiliques (TPH) sont retenus respectivement sur les résines DAX-8 et XAD-4. Les composés hydrophiles (HPI) ne sont retenus sur aucune résine. La proportion de chaque fraction est obtenue par mesure du COD après chaque étape du protocole (Figure 45), et calculée par différence (équation VII, équation VIII, équation IX). Les AH, insolubles à tout pH et obtenus par différence

entre le COD après acidification et COD initial, ne sont pas présentés car sont de faibles contributeurs au COD (< 5%) (Leloup *et al.*, 2013).

$$\text{Équation VII : \%HPO} = 100 \times \frac{COD_i - COD_{DAX-8}}{COD_i}$$

$$\text{Équation VIII : \%TPH} = 100 \times \frac{COD_{DAX-8} - COD_{XAD-4}}{COD_i}$$

$$\text{Équation IX : \%HPI} = 100 \times \frac{COD_{XAD-4}}{COD_i}$$

Avec COD_i , COD initial, avant passage sur résine (mg C.L⁻¹)

COD_{DAX-8} , COD après passage sur DAX-8 (mg C.L⁻¹)

COD_{XAD-4} , COD après passage sur XAD-4 (mg C.L⁻¹)

2.3. Caractérisation du phytoplancton

Les populations d'algues et de cyanobactéries, issues de cultures de laboratoire ou d'échantillons de terrain, sont suivies de manière qualitative par observation au microscope des espèces présentes et de manière quantitative par comptage des cellules sur lame de Malassez. En cas de présence de cyanobactéries, un dosage des microcystines est réalisé (cf partie 2.4). La phase de croissance est déterminée spécifiquement pour l'échantillon de culture de laboratoire par mesure de l'absorbance spécifique. L'analyse quantitative du phytoplancton issu d'échantillon de terrain est complétée par un dosage de la chlorophylle-a. Les analyses de caractérisation du phytoplancton en fonction de l'échantillon sont détaillées dans le Tableau 24.

Tableau 24: Mesures de caractérisation du phytoplancton réalisées en fonction du type d'échantillon

Mesures réalisées	Détermination des phases de croissance par mesure de l'absorbance spécifique	Evaluation de la concentration cellulaire	Identification des espèces	Dosage de la Chl-a	Dosage des cyanotoxines
Echantillon d'une culture de laboratoire	✗	✗			✗
Echantillon de terrain		✗	✗	✗	✗

2.3.1. Mesure de l'absorbance spécifique

Les phases de croissance sont déterminées par mesure de l'absorbance à 685 nm et 750 nm, longueurs d'onde maximale d'absorption de *C. vulgaris* (Mahmoud *et al.*, 2016 ; Sandrini G., 2016) et *M. aeruginosa* (Griffiths *et al.*, 2016 ; Geada *et al.*, 2017) respectivement. Cette mesure est réalisée avec un spectrophotomètre UV-visible Shimadzu Pharmaspec 1700 à double faisceau (précision ± 0,005) à l'aide d'une cuve en quartz d'une longueur de 1 cm.

2.3.2. Identification et comptage cellulaire

Une observation au microscope d'un échantillon placé sur une lame de Malassez, permet d'évaluer la concentration cellulaire de la culture de laboratoire mais également de l'échantillon naturel. Cette observation complète la mesure de l'absorbance spécifique quant au suivi des phases de croissance des cultures de laboratoire. Elle est primordiale, dans les analyses d'échantillons naturels, car elle donne un aperçu de la diversité d'espèces phytoplanctoniques et de la présence de cyanobactéries potentiellement

toxique. L'échantillon est concentré (échantillon du milieu naturel, $F_{\text{concentration}} = 2 - 350$) ou dilué (culture de laboratoire, $F_{\text{dilution}} = 2 - 10$) afin d'observer une quantité adéquate de cellules. Pour concentrer l'échantillon, un volume connu est passé sur un filtre en polycarbonate d'une porosité de $0,45\mu\text{m}$ à l'aide d'une pompe à vide. La biomasse retenue sur le filtre est ensuite remise en suspension dans 1 mL d'échantillon. L'échantillon concentré ou dilué est alors placé sur la lame de comptage. La lame de Malassez comporte un quadrillage normé qui, par le biais de l'équation X, permet d'obtenir une concentration cellulaire. L'échantillon, placé entre lamelle et lame de Malassez, est observé au microscope (Nikon Eclipse 2000) et

les cellules sont comptées comme expliqué en Figure 46.

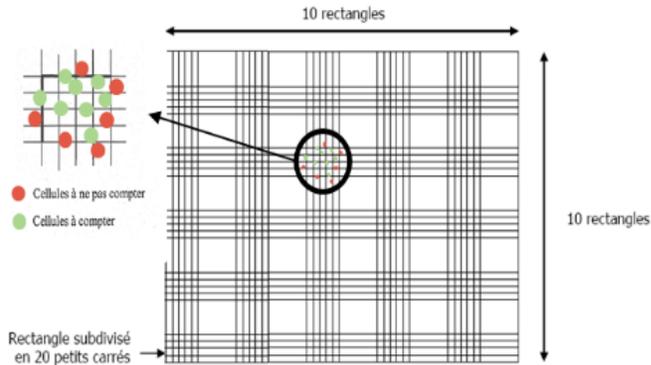


Figure 46 : Description d'une lame de Malassez

Équation X :

$$\text{Nombre de cellules/mL} = N \times 10 \times 1000 \times F$$

Avec : N, nombre de cellules mortes ou vivantes comptées sur 10 rectangles

10, comptage rapporté aux 100 carreaux
1000, estimation du nombre de cellules par mL ($1\mu\text{L} \times 1000 = 1\text{ mL}$)

F, facteur de dilution/concentration

Pour les cultures de laboratoire, du bleu de trypan – colorant d'exclusion – est ajouté à l'échantillon afin de différencier les cellules mortes (colorées en bleu) des vivantes (temps de contact = 5 min). L'identification du phytoplancton issu du milieu naturel est effectuée sur l'échantillon brut dans les 12-24 heures suivant le prélèvement. Du lugol peut-être ajouté à l'échantillon (1%, v/v) afin de conserver l'intégrité des cellules pendant trois semaines (Protocole standardisé, DCE 2010). Chaque espèce est identifiée et le nombre de cellules alloué à chacune des espèces est compté, permettant ainsi de calculer la part de chaque taxon.

2.3.3. Dosage de la Chl-a

La Chl-a est quantifiée en triplicat selon la norme NF T 90-117. L'échantillon est filtré sur un filtre en acétate de cellulose de seuil de coupure de $0,8\mu\text{m}$. Le filtre est dissous dans de l'acétone à 90% (v/v) afin d'extraire les pigments chlorophylliens contenus dans les cellules. Un blanc est réalisé par dissolution d'un filtre en acétate de cellulose dans le même volume d'acétone à 90%. Les extraits et le blanc sont centrifugés à 3500 g pendant 10 min. L'absorbance du surnageant est mesurée aux longueurs d'onde 750 nm et 665 nm. La longueur d'onde $\lambda = 750\text{nm}$ contrôle la turbidité de l'échantillon, elle ne doit pas excéder 0,010 (pour une cuve de parcours optique de 10 mm) pour l'échantillon non acidifié. La longueur d'onde ($\lambda = 665\text{ nm}$) correspond au pic d'absorbance de la Chl-a. Un échantillon contient des chlorophylles physiologiquement actives et des phéopigments (pigments dégradés). Afin de ne pas surestimer la concentration en Chl-a, il est nécessaire de s'affranchir de ces formes dégradées par acidification de l'échantillon. L'acidification de l'échantillon transforme la Chl-a dégradée en phéophytine a, permettant alors de calculer uniquement la concentration en Chl-a physiologiquement active. Après acidification avec HCl 5 M ($10\mu\text{L}$ d'acide pour 10 mL d'échantillon), les absorbances des extraits sont de nouveau mesurées aux longueurs d'onde 750 nm et 665 nm. La concentration en Chl-a est alors calculée à partir de l'équation de Lorenzen (équation XI).

$$\text{Équation XI : } \text{Chl } a = 27 \times \frac{[(A_0665 - A_0750) - (A_a665 - A_a750)] \times v}{L \times V_{\text{éch}}}$$

Avec :

- Chl a, la concentration en chlorophylle a ($\mu\text{g.L}^{-1}$)
- A_0665 , absorbance de l'extrait non acidifié à 665nm (cm^{-1})
- A_0750 , absorbance de l'extrait non acidifié à 750nm (cm^{-1})
- A_a665 , absorbance de l'extrait acidifié à 665nm (cm^{-1})
- A_a750 , absorbance de l'extrait acidifié à 750nm (cm^{-1})
- V, volume de solvant (mL)
- $V_{\text{éch}}$, volume d'échantillon filtré (L)
- L, trajet optique de la cuve (1 ou 4 cm)

2.4. Identification et quantification des MCs

Bien que les espèces de cyanobactéries productrices de toxines soient minoritaires (2% des espèces), 60 – 70% des blooms sont toxiques (Fawell *et al.*, 1993 ; Sivonen et Jones, 1999). Actuellement, cinq groupes de cyanotoxines sont identifiés et classifiés selon leur mode d'action. Dans le cadre de l'étude, seulement trois toxines appartenant au groupe des MCs sont étudiées : MC-LR, MC-RR et MC-YR. Ces variants sont choisis car ils sont les plus couramment étudiés en laboratoire et retrouvés dans le milieu naturel.

2.4.1. Prélèvement et stockage de l'échantillon

Dans le cadre du suivi de la concentration en MCs, un flaconnage en verre est préconisé tout au long des étapes du protocole. Un volume suffisant (1 L) est prélevé dans le milieu naturel. Le volume de culture de laboratoire est quant à lui limité à 110 mL (volume restant après prélèvement pour les autres analyses).

2.4.2. Préparation des échantillons

Les toxines ne peuvent pas être analysées directement depuis un échantillon d'eau brute. En effet, la majeure partie des toxines sont situées dans les cellules et une minorité est libre dans le milieu. Il est ainsi nécessaire d'une part d'extraire les toxines intracellulaires et d'autre part de concentrer les toxines extracellulaires. Le protocole présenté Figure 47 est adapté de la norme « Qualité de l'eau — Dosage des microcystines — Méthode utilisant l'extraction en phase solide (SPE) et la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) avec détection dans l'ultraviolet (UV) » (ISO 20179 : 2005) et des protocoles proposés par Chorus et Bartram, 1999 ; Meriluoto et Spoof, 2005 ; Cong *et al.*, 2006 et Antoine *et al.*, 2009.

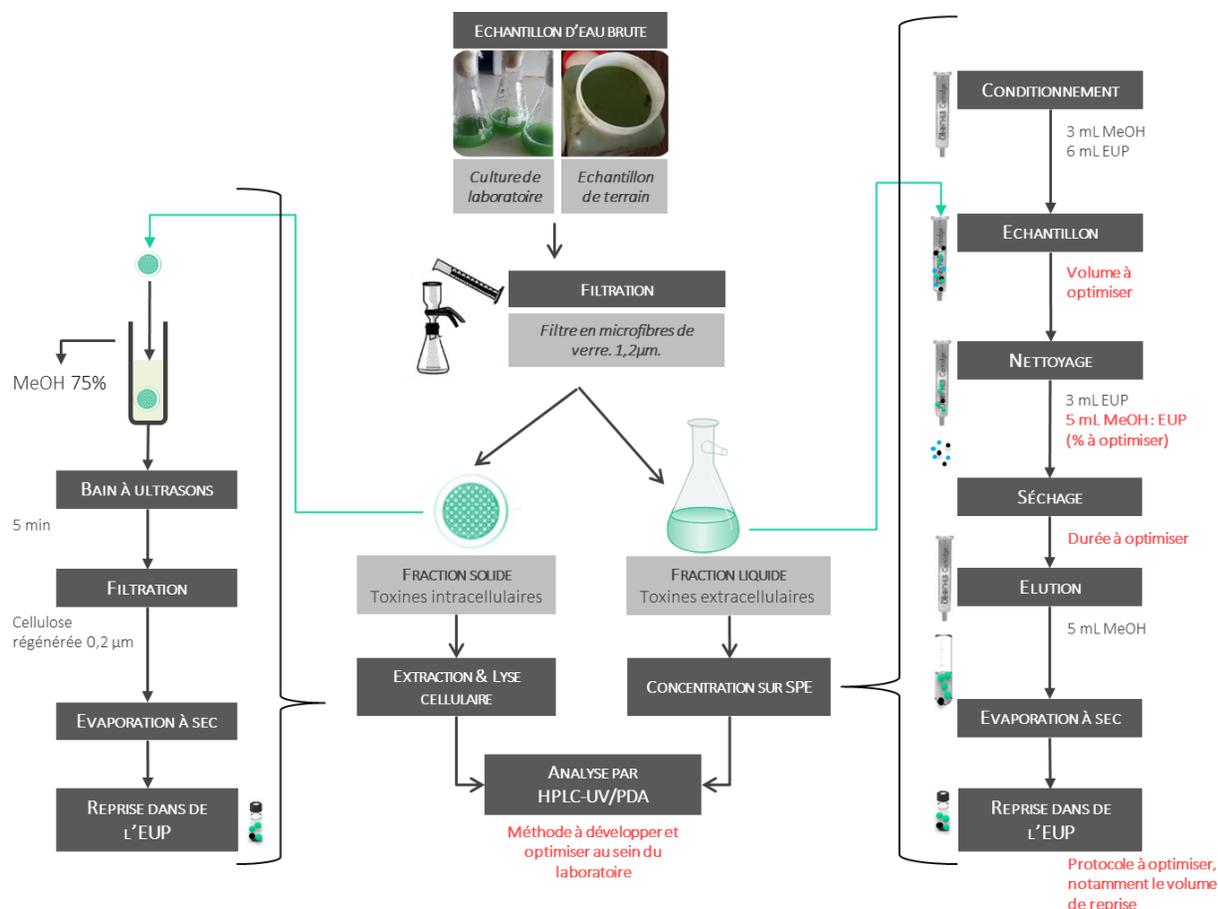


Figure 47: Protocole de préparation d'un échantillon pour le dosage des MCS intra- et extracellulaires (adapté depuis Chorus et Bartram, 1999 ; Meriluoto et Spoof, 2005 ; ISO 20179 :2005 ; Cong et al., 2006 et Antoine et al., 2009)

2.4.3. Filtration

Dans les 24h suivant le prélèvement, l'échantillon est filtré sur membrane en microfibrilles de verre de seuil de coupure 1,2 µm (GF/C de Whatman) afin de séparer la biomasse de la fraction liquide. En cas de forte biomasse, plusieurs filtres peuvent être utilisés. Le protocole de préparation des échantillons étant long et fastidieux, il est préférable d'attendre d'avoir une dizaine d'échantillons avant de l'entamer. Ainsi, après filtration, les filtres et filtrats sont stockés à T = -20 °C. Un volume d'EUP, dopé en MCs (1 µg.L⁻¹ de chaque variant) est filtré sur GF/C avant de passer par les différentes étapes de SPE. Le pourcentage de récupération (%RE) obtenu, compris entre 97 et 100 %, confirme que les toxines ne sont pas adsorbées sur le filtre. Des essais sont effectués en triplicat afin de valider l'absence de perte de MCs lors de cette étape.

2.4.4. Toxines intracellulaires : lyse cellulaire et extraction

Pour doser les toxines intracellulaires, une étape de lyse cellulaire est nécessaire. Afin de s'assurer d'une lyse complète, plusieurs méthodes sont combinées : congélation/décongélation, ajout de solvant et ultrasons. L'extraction n'étant pas réalisée dans les 24 heures suivant le prélèvement et la filtration, le filtre est conservé au congélateur pendant une durée maximale de 4 mois. L'étape de congélation/décongélation du filtre commence à initier la lyse des cellules. Le filtre est alors placé dans un mélange méthanol/eau (75/25 (v/v)). La souche de *M. aeruginosa* cultivée au laboratoire étant fortement productrice de MC-LR, un volume de 8 mL de solvant est utilisé. En cas d'échantillon naturel, moins concentré en cellules et donc

en cyanotoxines, un volume plus faible, de 5 mL est utilisé. Afin de parfaire la lyse des cellules, l'échantillon (filtre + solvant) est placé durant 5 min dans un bain à ultrasons. Puis, afin d'éviter le colmatage de la colonne de HPLC par des débris cellulaires, l'échantillon est filtré sur un filtre seringue en cellulose régénérée (RC) de diamètre de pore 0,2 µm. La méthode de quantification des cyanotoxines est développée pour des échantillons en milieu aqueux. La dernière étape de préparation pour le dosage des toxines intracellulaires consiste à évaporer à sec l'échantillon avant de le reprendre dans de l'EUP. Cette dernière étape permet de concentrer (reprise dans un volume inférieur d'EUP) ou de diluer (reprise dans un volume supérieur d'EUP) l'échantillon.

2.4.5. Toxines extracellulaires : purification et concentration

Les toxines extracellulaires sont généralement faiblement concentrées dans les eaux. Une étape de concentration et purification du filtrat par extraction sur phase solide (SPE) permet leur quantification. La résine Oasis® HLB (3 cc, 60 mg adsorbant, 30 µm taille de particules chez Waters) est sélectionnée pour la concentration des MCs (Rapala *et al.*, 2002 ; Cong *et al.*, 2006 ; Coudert *et al.*, 2014 ; Song *et al.*, 2014). Les étapes d'extraction et d'élution des MCs sur la résine sont effectuées grâce à l'automate GX-271 ASPEC® (de marque GILSON). Après conditionnement de la cartouche (3 mL de MeOH puis 6 mL d'EUP), un volume de filtrat est ajouté au goutte-à-goutte dans la cartouche. La résine contenue dans la cartouche retient spécifiquement certains composés dont les MCs. Une étape de lavage permet d'éluer les composés faiblement adsorbés sur la résine et ainsi purifier l'échantillon. Après séchage de la cartouche sous flux d'azote, les toxines sont éluées par du MeOH. L'analyse s'effectue sur un échantillon en milieu aqueux. La dernière étape consiste à évaporer à sec et reprendre dans de l'EUP. Le facteur de concentration sur SPE est alors calculé :

$$\text{Équation XII : } F_{SPE} = \frac{V_{\text{échantillon}}}{V_{\text{reprise}}}$$

Dans le cadre de ce travail, l'étape de purification et concentration sur SPE a été optimisée. Les résultats de cette optimisation sont présentés dans le chapitre 1 des résultats et discussion (page - 116 -).

2.4.6. Identification et quantification des microcystines

La quantification des cyanotoxines est réalisée par HPLC-UV/PDA (1220 Infinity, de marque Agilent), équipée d'une pompe à double canal permettant de faire varier le gradient d'élution. Cette technique est choisie car elle répond aux critères de sensibilité et de sélectivité désirés. Les composés sont séparés par une colonne C18 en phase inverse (XBridge C18 – 3,5 µm – 4,6 x 100 mm, de Waters). La méthode de séparation et d'élution des microcystines est inspirée de la norme ISO 20179 : 2005 et est adaptée aux spécificités techniques du laboratoire (colonne, HPLC). Les phases mobiles de la norme ont été utilisées, soit l'éluant A : Acétonitrile (ACN) + 0,05% TFA et l'éluant B : EUP + 0,05% TFA. Le spectre UV est enregistré entre 200 et 300 nm et l'absorbance à 238 nm est choisie pour déterminer la concentration en MCs. Cette longueur d'onde correspond au maximum d'adsorption du groupe Adda des MCs. La méthode a été optimisée de manière à diminuer le temps d'analyse tout en conservant une bonne séparation des variants de MCs. Les résultats de cette optimisation sont présentés dans le chapitre 1 des résultats et discussion.

Les variants d'une même toxine présentent un spectre similaire ; leur différenciation est basée sur le temps de rétention des composés dans la colonne. Il est donc possible d'identifier les variants grâce aux étalons de référence. Les standards analytiques sont fournis par la société Novakits. Ils sont conditionnés dans du MeOH et conservés au congélateur. Les méthodes sont développées pour un échantillon aqueux ;

les standards et les échantillons naturels doivent donc être préparés dans de l'EUP. Une étape d'évaporation du solvant et de reprise dans de l'EUP doit être réalisée avant injection dans l'HPLC.

Une gamme de calibration est effectuée pour chacun des standards. La reproductibilité et la répétabilité de la méthode sont vérifiées et validées par injections multiples d'un même échantillon et par comparaison de plusieurs gammes de calibration. Des dilutions successives sont injectées jusqu'à atteindre la concentration minimale détectable, c'est-à-dire, la concentration présentant un pic plat. Afin de déterminer les limites de quantification et de détection analytique de chaque toxine, l'échantillon contenant cette concentration minimale pouvant être détectée, est injectée dix fois. Les limites sont alors calculées grâce aux *équation XIII* et *équation XIV*.

$$\text{Équation XIII : } LQ = \frac{\sum(n_1, \dots, n_{10})}{10}$$

$$\text{Équation XIV : } LD = \frac{LQ}{3}$$

La concentration en toxines intracellulaires est calculée à partir de l'*équation XV*.

$$\text{Équation XV : } C_{MC,intra} = \frac{(y-b) \times F_{SPE} \times V_{ex}}{a \times V_{sam}}$$

Avec : $C_{MC,intra}$, Concentration en chaque MC présente dans la biomasse (en $\mu\text{g/mL}$)
 F_{SPE} , facteur de dilution/concentration dans l'étape d'extraction cellulaire
 V_{ex} , volume de MeOH 75% utilisé, (mL)
 V_{sam} , volume d'échantillon filtré (mL)
a, b et y, paramètres de l'équation de calibration (a : pente ($\text{mL}/\mu\text{g}$) ; b : ordonnée à l'origine (aire) ; y : aire de pic (aire))

La concentration en toxines extracellulaires présentes dans l'échantillon est calculée à partir de l'*équation XVI*.

$$\text{Équation XVI : } C_{MC,extra} = \frac{(y-b) \times V_d}{a \times V_{sam}}$$

Avec : $C_{MC,extra}$, Concentration en chaque MC dans la fraction liquide, (en $\mu\text{g/L}$)
 V_d , volume de reprise dans l'EUP après SPE et évaporation (en mL)
 V_{sam} , volume d'échantillon appliqué sur la SPE (en L)
a, b et y, paramètres de l'équation de calibration (a : pente ($\text{mL}/\mu\text{g}$) ; b : ordonnée à l'origine (aire) ; y : aire de pic (aire))

3. Evaluation de l'impact des variations climatiques sur la production de Matière Organique Algale et de Microcystines par le phytoplancton.

3.1. Etude en cultures de laboratoire

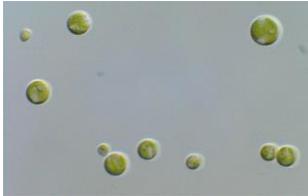
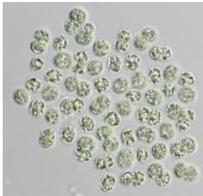
3.1.1. Les souches cultivées

Les souches choisies pour les cultures en laboratoire sous conditions contrôlées sont une algue verte, *Chlorella vulgaris* (CV), et une algue bleue, *Microcystis aeruginosa* (MA). Ces espèces sont choisies car très largement utilisées dans des expériences en laboratoire en raison de leur croissance rapide dans des milieux de culture simple et elles sont très fréquemment retrouvées dans les plans d'eaux français et mondiaux. *Chlorella vulgaris* est notamment l'une des 3 espèces les plus produites à l'échelle industrielle

(Clément-Larosi, 2012) et *Microcystis aeruginosa* est la cyanobactérie la plus répandue sur Terre (Aslan et Kapdan, 2006 ; Schenk *et al.*, 2008 ; Kim *et al.*, 2010 ; Kumar *et al.*, 2010 ; Chorus et Bartram, 1999 ; Kolmakov, 2006 ; Via-Ordorika *et al.*, 2006 ; Paerl *et al.*, 2011 ; Zhang *et al.*, 2012 ; Wilson *et al.*, 2015).

La souche d'algue verte – *Chlorella vulgaris* CCAP 211/11B – est fournie par la Culture collection of Algae and Protozoa de la Scottish Marine Institute. La souche de cyanobactérie – *Microcystis aeruginosa* PMC 728-11 – productrice de MCs est fournie par le Muséum National d'Histoires Naturelles à Paris. Le Tableau 25 présente les caractéristiques de chaque espèce. Les cultures étudiées sont non axéniques. Après mise à l'étuve à 37°C pendant 24 – 48 heures, un étalement de 0,1 mL de la culture sur un milieu PSA sous conditions stériles conduit au développement de colonies de bactéries.

Tableau 25: Caractéristiques des espèces d'algue et de cyanobactérie cultivées au laboratoire

		<i>Chlorella vulgaris</i> CCAP 211/11B	<i>Microcystis aeruginosa</i> PMC 728-11
Espèce			
Famille		Chlorophycée	Cyanobactérie
Ordre		Chlorellales	Chroococcales
Taille/forme		Sphérique ou ellipsoïde Diamètre moyen de 5µm	Sphérique 8-10µm de diamètre
Organisation structurelle		Unicellulaire	Unicellulaire en culture de laboratoire. Formation de colonie sans disposition particulière en milieu naturel
Mobilité		Non mobile	Pseudovacuoles permettant une migration verticale
Métabolisme		Photo-autotrophe	Photo-autotrophe Non fixatrice de N ₂
Toxicité		Non	MC-LR, MC-RR
Conditions optimales	pH	7	6-9
	Luminosité	Élevée	Élevée
	Température	25-30°C	23-35°C

3.1.2. Préparation du milieu de culture

Un des objectifs principaux de l'étude est le suivi de la production de MOA par le phytoplancton. Ainsi, le milieu est choisi afin d'apporter une quantité minimale en carbone organique. Leloup (2013) a utilisé le milieu Chu 10 modifié (Hadjoudja *et al.*, 2009) pour un apport de 1,8 mg C.L⁻¹. Cependant, ce milieu est peu utilisé et peu adapté pour une croissance optimale et donc une production maximale de toxines. Le milieu BG11 est le plus fréquemment utilisé pour la culture de microalgues d'eau douce ; cependant son apport en carbone, de 4,2 mg C.L⁻¹, est trop important pour l'étude. Ainsi, le milieu Z8 est choisi dans cette étude car il est également très largement utilisé dans la littérature (Kotai, 1972 ; Rippka, 1988 ; Sivonen ; 1990 ; Riabi, 2018) et permet une croissance reproductible et rapide des algues et cyanobactéries tout en minimisant l'apport total en COD (1,1 ± 0,2 mg C.L⁻¹). La concentration en COD du milieu n'est pas retranchée lors du suivi de la production de MOA. L'apport de carbone dans le milieu est

principalement composé de HPI induit par l'EDTA ($9,9 \cdot 10^{-6}$ mol.L⁻¹). La composition du milieu Z8 est donnée Tableau 26.

Tableau 26: Composition du milieu de culture Z8
(Protocole adapté par le Muséum National d'Histoires Naturelles depuis le protocole de Kotai, 1972)

	Produit	Masse (g) pour 1L	Fournisseur (pureté ≥ 99% si non précisé)		Volume (mL) pour 1L Z8
Solution stock Z8-I	NaNO ₃	46,70	Fluka		10
	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	5,90	Sigma-Aldrich	Autoclaver 20min à 121°C	
	ou Ca(NO ₃) ₂	4,10			
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	2,50	Fluka		
Solution stock Z8-II	K ₂ HPO ₄	3,10	VWR Prolabo	Autoclaver 20min à 121°C	10
	ou K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	4,10			
	Na ₂ CO ₃	2,10	VWR Prolabo		
	Produit	Masse (g) pour 100mL			
Solution stock Z8-III A	FeCl ₃ ·6H ₂ O	2,80	VWR Prolabo		
Solution stock Z8-III B	EDTANa ₂ ·2H ₂ O	3,7	Chem-Lab	Stérilisation facultative	
	Solution	Volume (mL) pour 1L			
Solution stock Z8-III	Solution stock Z8-III A	10		Autoclaver 20min à 121°C	10
	Solution stock Z8-III B	10			
	Produit	Masse (g) pour 100mL		Volume (mL) pour 1L solution trace	Volume (mL) pour 1L Z8
Solution trace	Na ₂ WO ₄ ·2H ₂ O	0,33	Aldrich	1	1
	(NH ₄) ₆ MO ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	0,88	Fluka	1	
	KBr	1,20	AnalaR-Normapur	1	
	KI	0,83	AnalaR-Normapur	1	
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	2,87	Sigma	1	
	Cd(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	1,55	Fluka	1	
	CO(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	1,46	Fluka	1	
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	1,25	Normapur	1	
	(NH ₄)Ni(SO ₄) ₂ ·6H ₂ O	1,98	Sigma (pureté ≥ 98%)	1	
	Cr(NO ₃) ₃ ·9H ₂ O	0,41	Fluka (pureté ≥ 97%)	1	
	KAl(SO ₄) ₂ ·12H ₂ O	4,74	Fluka (pureté ≥ 98%)	1	
	VOSO ₄	0,080	Aldrich (pureté 97%)	1	
	H ₃ BO ₃	3,1	Acros Organics	10	
	MnSO ₄ ·H ₂ O	1,6	Rectapur (pureté ≥ 98%)	10	

Les cultures sont réalisées dans des erlenmeyers de 1L contenant 594 mL de milieu Z8. Avant inoculation, le milieu de culture est stérilisé à l'autoclave (21 min, 121°C, 1 bar de pression). Lors de

l'autoclavage, l'atmosphère gazeuse présente dans le liquide est chassée. Par conséquent, le milieu Z8 s'alcalinise entraînant la formation d'un précipité. Par équilibre avec l'atmosphère, en milieu stérile, le précipité est remis en suspension. Le pH du milieu après aération est de $7,4 \pm 0,2$.

Le milieu est ensemencé en conditions stériles sous hotte PSM, par une culture « mère » en phase de croissance exponentielle (dilution au centième). Le travail en conditions stériles avec un milieu préalablement stérilisé permet d'éviter toute contamination et d'obtenir de cultures mono-spécifiques.

3.1.3. Conditions de culture : simulation de différents régimes pluviométriques sous trois conditions climatiques

Après inoculation, les Erlenmeyers sont placés dans une enceinte thermostatée (Versatile environmental test chamber, de SANYO) sous une intensité lumineuse de $20 \mu\text{mol}.\text{photon}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (environ 2000 lux) et avec une alternance de cycles jour/nuit de 15h/9h. Sous réserve d'une température adaptée, ces conditions de culture assurent une bonne croissance de l'algue et de la cyanobactérie (Hadjoudja *et al.*, 2009). Les cultures sont agitées à la main quotidiennement durant toute la durée de l'expérience.

Afin de comparer les effets combinés de pluviométrie et de température variables sur le développement du phytoplancton et la qualité de la ressource en eau, trois conditions de température et de pluviométrie sont simulées. Pour chaque couple température/pluviométrie, la croissance de la culture, les caractéristiques de la MOA produite et les concentrations en MCs sont suivis. La Figure 48 synthétise les tests et analyses effectués sur les cultures de laboratoire.

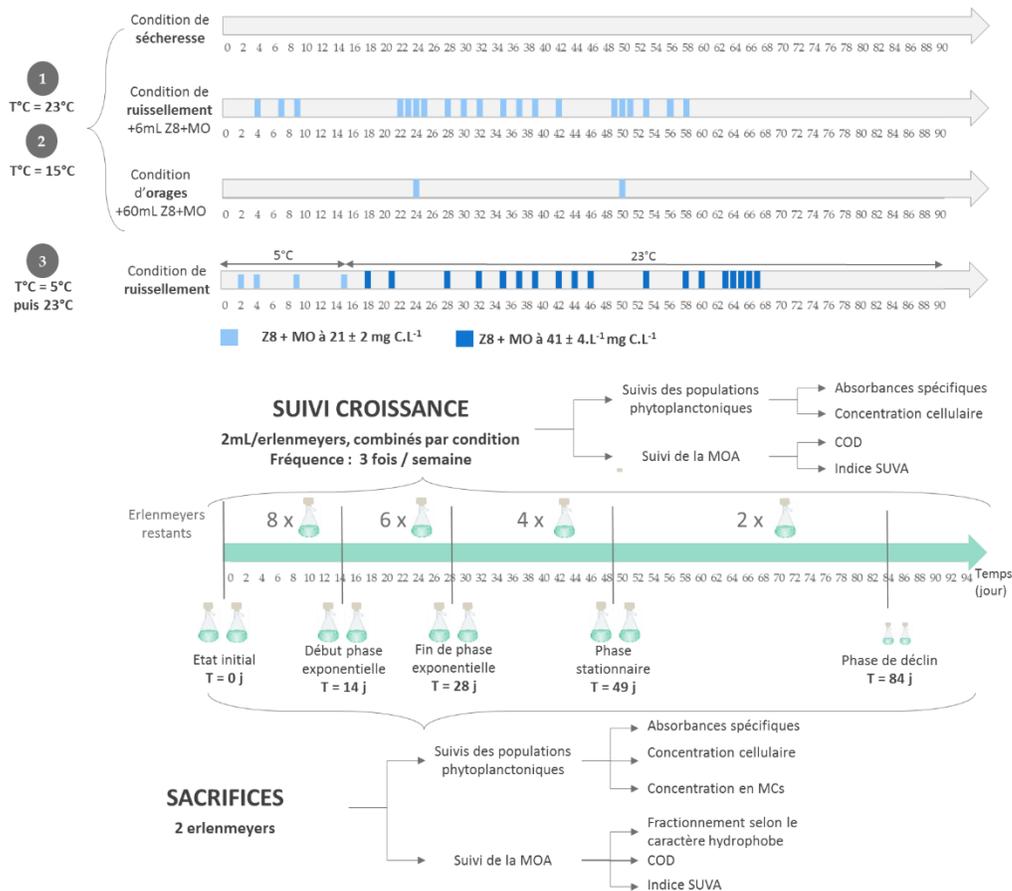


Figure 48: Conditions expérimentales des cultures de laboratoire et suivi des populations phytoplanctoniques et des caractéristiques de la MO

- Condition 1 : simulation d'un état de sécheresse (S)

Le volume dans l'erenmeyer diminue progressivement sous l'effet de prélèvements fréquents et de l'évaporation - aucun apport de matière dans le milieu.

- Condition 2 : simulation de ruissellement (R)

La diminution du volume dans l'erenmeyer est compensée par 20 apports de 6 mL (120 mL au total) de milieu de culture enrichi en MO (20 mg C.L⁻¹) ; tous les 2/3 jours jusqu'au jour 60.

- Condition 3 : simulation d'orage (O)

Le volume dans l'erenmeyer diminue progressivement sous l'effet de prélèvements fréquents et de l'évaporation. Cette diminution est compensée par deux apports d'un volume de 60 mL (soit 120 mL) de milieu enrichi en MO (20 mg C.L⁻¹) ; aux jours 24 et 50.

Cette étude de l'impact de la pluviométrie est réalisée sous trois conditions de température simulant la température moyenne annuelle de l'eau dans les trois pays de l'étude : le Togo, la France et la Suède, soit respectivement 23°C (expérience 1), 15°C (expérience 2) et 5°C (expérience 3). Les paramètres intensité et durée de la lumière sont identiques pour les trois expériences.

Le volume total et la quantité totale de MO apportés lors des conditions « Ruissellement » et « Orages » sont identiques, seule la fréquence diffère. Pour les expériences 1 et 2, dans la condition « Ruissellement », 120 mL de milieu Z8 enrichi en MO sont apportés en vingt fois (6 mL/ajout) contre deux ajouts de 60mL dans la condition « Orage ». La MO apportée correspond à des acides fulviques (fourni par l'IHSS Suwanee River, Fulvic Acid Standard 11, 2S101F). Dans les expériences 1 et 2, la concentration de la solution est de 21 ± 2 mg C.L⁻¹, soit un apport total de $2,5 \pm 0,3$ mg C.

La troisième expérience, simulant la température de la Suède, est réalisée en deux temps : pendant 15 jours, les cultures sont soumises à une température de 5°C, puis elles sont soumises à une température de 23°C jusqu'à la fin de l'expérience. Seule la condition « ruissellement » a été réalisée. Pendant les 15 premiers jours, 4 apports par ruissellement de 6 mL à 21 ± 2 mg C.L⁻¹ sont effectués. Par la suite, afin de renforcer l'effet de la pluviométrie, le volume des apports par ruissellement et la concentration en carbone organique d'origine allochtone sont doublés (18 apports de 12 mL à 40 ± 4 mgC.L⁻¹). Ainsi, dans l'expérience 3, 9 ± 1 mg C ont été apportés contre $2,5 \pm 0,3$ mg C.

3.2. Etude in-situ

Le suivi *in-situ* est réalisé sur trois ressources soumises à des conditions climatiques différentes afin d'évaluer l'impact des variations de température et de pluviométrie sur les proliférations d'algues et de cyanobactéries et par conséquent sur la qualité de la ressource en eau et notamment les caractéristiques de la MON.

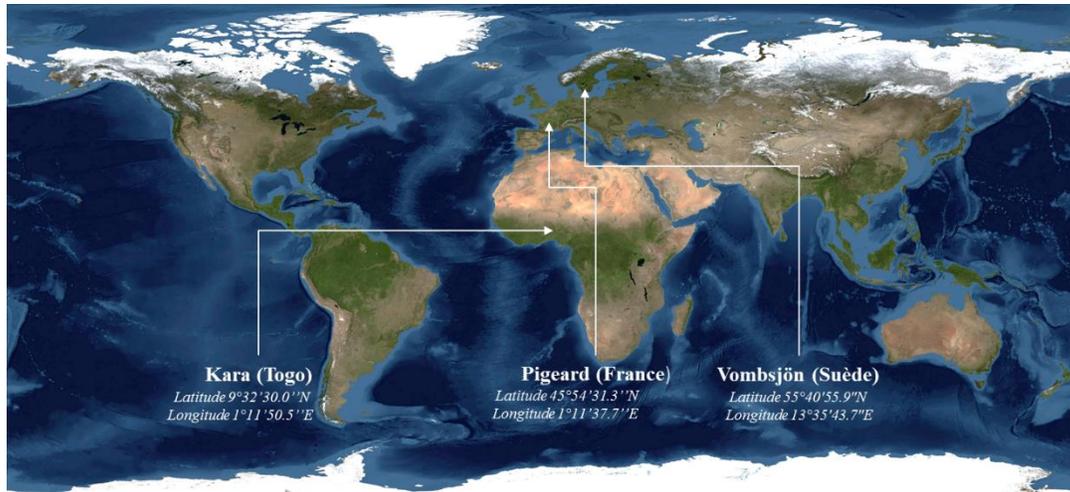


Figure 49: Localisation des trois sites d'étude (source : <http://www.atlas-monde.net/>)

Les sites d'étude sont choisis sur un axe géographique Nord-Sud : Suède, France et Togo (Figure 49). Leurs conditions climatiques propres sont précisées Tableau 27.

Tableau 27: Description des climats des trois pays d'étude. (Au Togo, la T°C de l'air moyenne est basée sur les années 1980-2010, la T°C maximale sur les années 1981-1998 et la T°C minimale sur les années 1977-1998, les précipitations sont basées sur les années 1960-2008. En France, les moyennes sont basées sur les années 1981-2010. En Suède, les moyennes sont basées sur les années 2010-2017).

Zone d'étude	SUEDE	France	TOGO
	Lac Vombsjön	Étang de Pigeard	Rivière Kara
	Latitude 55°40'55.9"N Longitude 13°35'43.7"E	Latitude 45°54'31.3''N Longitude 1°11'37.7''E	Latitude 9°32'30.0''N Longitude 1°11'50.5''E
Climat	Océanique	Tempéré océanique avec une tendance montagnarde	Equatorial
T°C moyenne annuelle	9,3°C	11,6 ± 0,9°C	27,4 ± 0,4°C
T°C maximale annuelle	10,8°C	15,2 ± 0,6°C	33,5 ± 0,4°C
T°C minimale annuelle	4,8 °C	7,6 ± 0,8°C	20,9 ± 0,6°C
Précipitation moyenne annuelle (mm)	810	975 ± 42	1328 ± 222
Répartition des pluies	Toute l'année, minimum en février (35mm) et maximum en juillet/août (68mm).	Toute l'année, minimum en juillet-août (30 mm) et maximum en décembre-janvier (110 mm).	2 saisons : - Pluvieuse d'avril à octobre (1 200 mm) - Sèche de novembre à mars (70 mm)

3.2.1. Présentation des sites d'études

Outre leur climat différent, les trois sites d'études présentent des caractéristiques morphologiques (taille, surface, profondeur, taux de renouvellement), d'occupations et d'usages variées (Tableau 28):

Tableau 28 : Principaux usages de l'eau des sites d'étude

Usages	Lac Vombsjön	Étang de Pigeard	Rivière Kara
Ressource en eau potable	×		×
Pêche		×	×
Ressource pour l'irrigation			×

3.2.1.1. Le Lac Vombsjön en Suède

Le lac Vombsjön (Figure 50 – A) situé en Scanie à 20 km à l’est de Lund, est une ressource en eau pour la production d’eau potable. Son bassin versant, d’une surface de 445 km², est essentiellement occupé par des terres cultivées, pâturages, forêts et prairies. Localisé à la latitude 55°40'55.9"N et longitude 13°35'43.7"E, il est alimenté par trois cours d’eau : Björkaån, Torpsbäcken et Boestbäcken et est drainé par la rivière Kävlingeån. Les caractéristiques physiques du plan d’eau sont présentées Figure 50 (B et C).

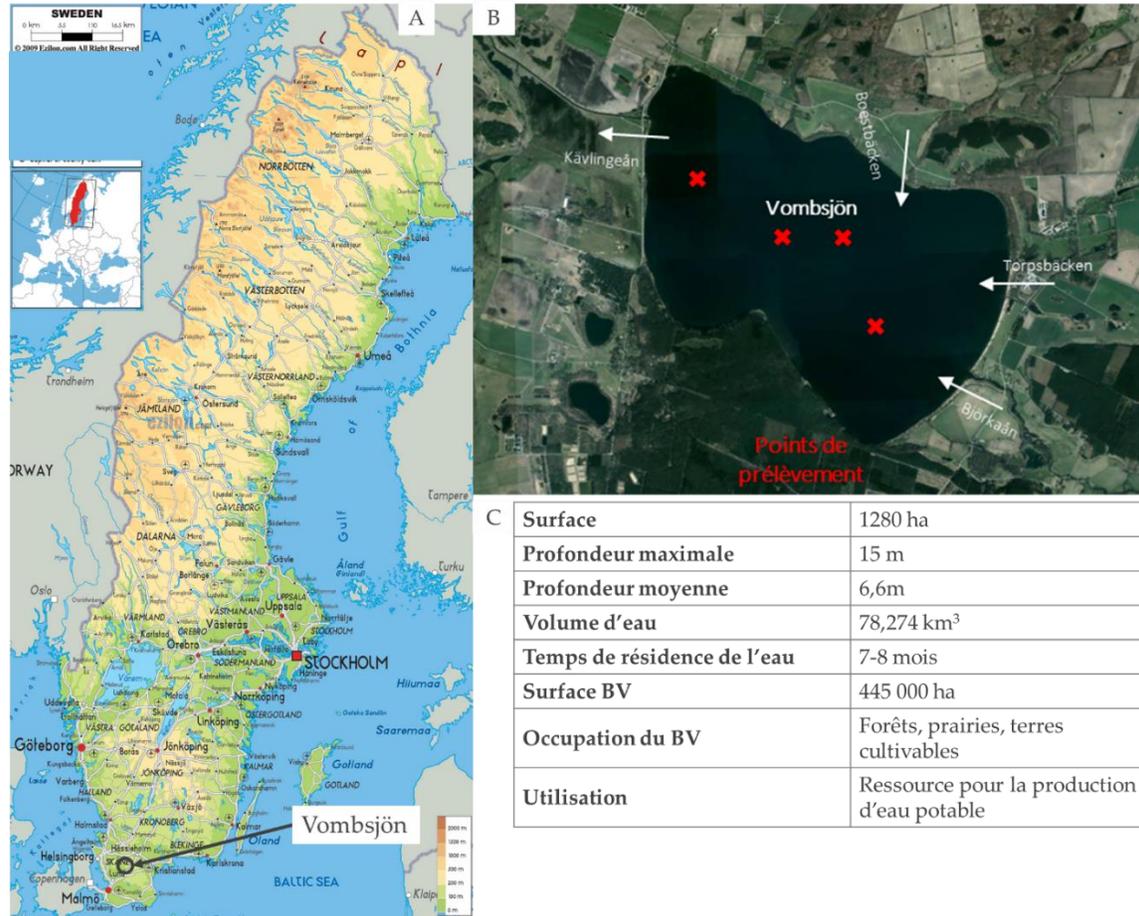


Figure 50: A) Localisation géographique du plan d’eau (source : <https://www.ezilon.com/maps/europe/sweden-physical-maps.html>). B) Vue aérienne du lac Vombsjön (Suède) (source : kartor.eniro.se) et localisation des points de prélèvement. C) Caractéristiques du plan d’eau

La qualité physico-chimique de l’eau est suivie deux fois par semaine par le personnel de Sydsvatten (en charge de la production d’eau potable pour 900 000 habitants). En quatre points du plan d’eau (Figure 50-B), un profil et un prélèvement de surface sont réalisés. Ces mesures ont permis de mettre en évidence une stratification de la masse d’eau en été, accompagnée d’une anoxie en profondeur. De fréquentes proliférations de *Microcystis* ont conduit, lors de l’été 2015, à une pré-étude sur la concentration en microcystines en fonction des conditions hydrologiques.

Les prélèvements d’eau ont été réalisés *in situ* et transporté ou envoyé en France pour caractérisation.

3.2.1.2. Etang de Pigeard, France

L'étang de Pigeard, à 20 km au Nord-Ouest de Limoges (87), est un étang artificiel privé (Figure 51 – A). Son bassin versant, d'une surface de 697 ha, est essentiellement occupé par de l'agriculture : prairies et surfaces agricoles discontinues (données Corine Land Cover 2012 (<https://www.geoportail.gouv.fr/>)). Localisé à la latitude 45°54'31.3''N et la longitude 1°11'37.7''E, il est alimenté par la Valette, un affluent de la Glane. D'une surface de 3,2 ha et d'une profondeur maximale de 2,30 m, l'étang de Pigeard est utilisé pour des activités de pêche. Le plan d'eau est chaulé 1 fois par an (en décembre pour l'année 2017). Cet étang a été choisi car il connaît des blooms annuels de cyanobactéries. La qualité de l'eau est régulièrement suivie depuis 8 ans et une étude préalable sur l'évolution des caractéristiques de la MON suite à des blooms récurrents a été réalisé en 2012 (Leloup, 2013). Au regard des résultats (1,9 – 3,1 mg N.L⁻¹ ; 20 – 430 µg P.L⁻¹ ; 20 – 460 µg.L⁻¹ en chlorophylle-a), ce plan d'eau est classé en état d'hypereutrophisation. Lors des périodes estivales, la concentration en phytoplancton, représentée à 80% par des cyanobactéries, est en moyenne de 1,4.10⁵ cellules.mL⁻¹ mais connaît des blooms à plus de 6.10⁵ cellules.mL⁻¹. En conséquence des développements phytoplanctoniques, la concentration en COD augmente en période estivale (+ 2,5 mg C.L⁻¹). Alors que la MON du plan d'eau présente des caractéristiques similaires à celles de la rivière Valette en hiver, ses caractéristiques se rapprochent de celle de la MOA lors des périodes estivales ; soit une diminution du caractère aromatique (-33%) et une augmentation de la fraction la plus hydrophile (+68% de HPI) (Leloup, 2013).

La qualité de l'eau est suivie sur une période de 21 mois, d'avril 2017 à janvier 2019. Une mesure des paramètres physiques (T°C, O₂ dissous, conductivité, potentiel redox et pH) ainsi qu'un prélèvement sont réalisés mensuellement ou bimensuellement, en fonction des conditions climatiques, entre 10h et 14h, au point de prélèvement présenté Figure 51 – B. Les mesures et l'échantillonnage sont effectués en surface (à une dizaine de centimètres de profondeur) depuis la berge. Les sondes et tuyau de pompage sont fixés à une perche qui permet d'aller chercher l'eau à deux mètres du bord. Les échantillons sont collectés dans des bidons de 6L en polyéthylène, préalablement rincés à l'eau ultra pure et avec l'échantillon le jour du prélèvement. L'échantillon pour le dosage des cyanotoxines est collecté dans une bouteille en verre de 1L après rinçage avec l'eau du plan d'eau. Les échantillons sont conservés à l'obscurité à 4°C avant analyse.

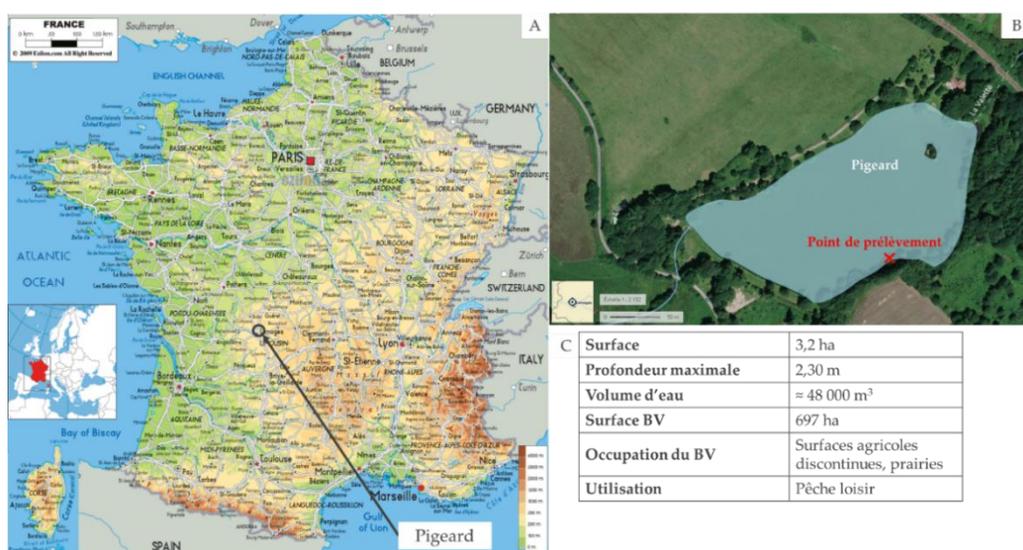


Figure 51: A) Localisation géographique du plan d'eau (source : <http://e-sushi.fr/map-of-france>). B) Vue aérienne de l'étang de Pigeard (France) (source : géoportail) et localisation du point de prélèvement. C) Caractéristiques du plan d'eau

3.2.1.3. Rivière Kara, Togo

La rivière Kara, qui traverse la ville portant le même nom, est située à 420 km au nord de Lomé (Figure 52 – A). Cette zone d'étude est choisie pour des raisons de simplicité par rapport aux collaborateurs sur place et car elle a déjà fait lieu à des suivis *in-situ* de qualité de l'eau. Elle prend sa source dans le Binah et se jette dans l'Oti. Depuis les années 2000, elle connaît un tarissement annuel lors de la saison sèche. L'eau de la rivière Kara est utilisée pour la pêche, l'agriculture (irrigation de maraîchage) ainsi que pour la production d'eau potable.

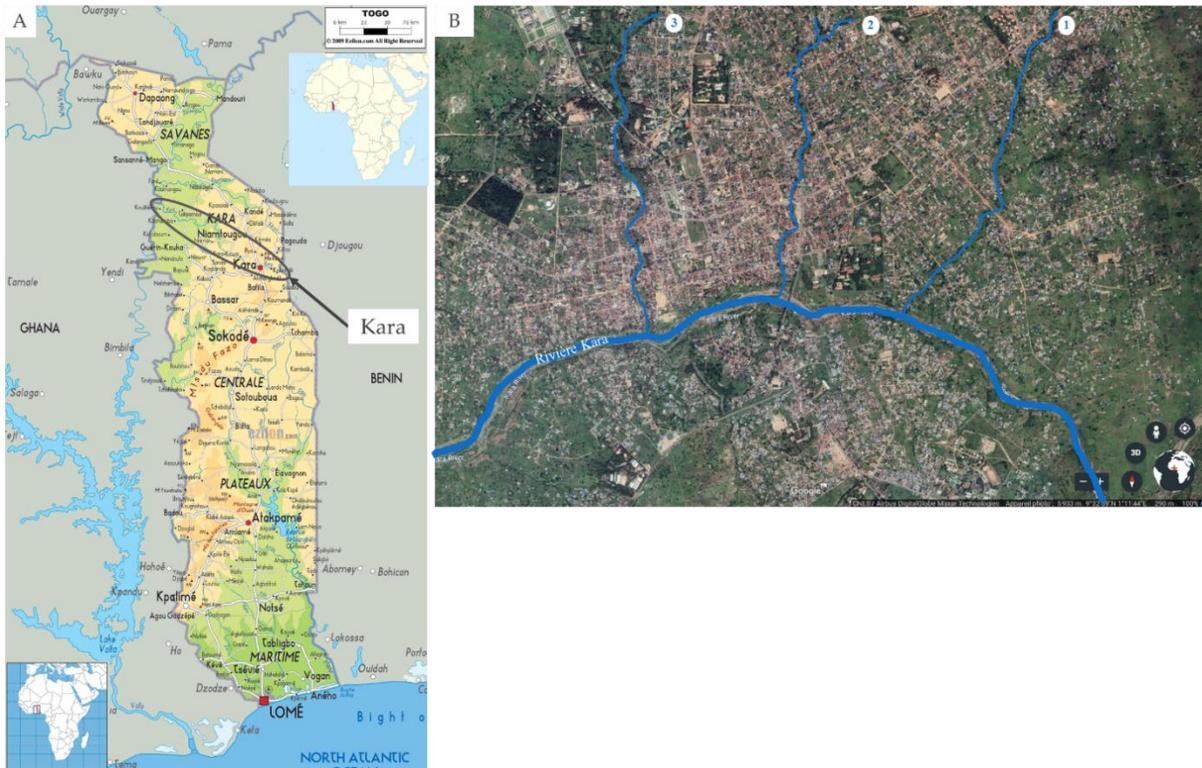


Figure 52: A) Localisation géographique de la rivière (source : <https://www.actualitix.com/carte-togo.html>). B) Vue aérienne de la rivière Kara, 1-2 et 3 sont 3 ruisseaux qui alimentent la rivière (source : <https://earth.google.com/>)

La ville de Kara est implantée dans le bassin versant de la rivière Kara. Durant la saison des pluies, les eaux de ruissellement de la ville entraînent ses déchets solides et liquides et les déversent directement dans la rivière. Les déchets solides et liquides sont d'origines et de caractéristiques diverses (Djahini *et al.*, 2016 ; 2017):

- Domestiques : ordures ménagères, eaux usées domestiques, cendre, lessive, solution électrolytique de piles
- Agricoles/horticoles : fertilisants minérales, organiques (composte, boues de STEP, fumier)
- Industrielles

Ces déchets participent à la dégradation de la qualité de l'eau des ruisseaux qui alimentent la rivière Kara et par conséquent à la dégradation de la qualité de la rivière. Un suivi *in situ* est réalisé sur les trois ruisseaux (R1, R2, R3) qui traversent les différents quartiers de Kara au cours de la saison pluvieuse de 2013 (mois de juin, juillet et août). Le ruisseau R1 traverse les quartiers périphériques de la ville, le R2 et R3 traversent respectivement le centre urbain et les vieux quartiers de Kara. D'une manière globale, la

qualité de l'eau se dégrade entre R1 et R3 : la concentration en nutriments (azote ammoniacal, nitrite, nitrate et phosphate) augmente, ainsi que le caractère aromatique (UV_{254}) de la MO. Il est également observé une qualité des eaux moins bonne en juin. Lors de la saison sèche, les déchets s'accumulent. Les premières pluies de juin (début de la saison pluvieuse) drainent les déchets vers les ruisseaux. Les concentrations moyennes des R ruisseaux sur les 3 mois de suivi sont présentées Tableau 29.

Tableau 29 : Qualité physico-chimiques et concentrations en nutriments ($mg.L^{-1}$) moyens dans les ruisseaux alimentant la rivière Kara

	NH_4^+	NO_2^-	NO_3^-	PO_4^{3-}	pH	T°C _{eau}	UV_{254}
Valeurs min - max	2,5-13,7	0-7,1	0,9-4,7	0,2-7,7	7,4-8,4	26,5-32,3	0,02-0,70

Les concentrations en N et P sont largement supérieures aux teneurs naturelles et sont suffisantes pour initier des développements phytoplanctoniques.

3.2.2. Analyses effectuées

Par la mesure de paramètres bio-physico-chimiques et climatiques, la dynamique de fonctionnement des plans d'eau, le développement du phytoplancton et les caractéristiques de la MO sont corrélés (Figure 53). L'étude bibliographique a mis en évidence les paramètres pertinents à mesurer pour suivre et comprendre le développement du phytoplancton. En effet, une variation du pH, de la concentration en oxygène dissous ou encore du caractère hydrophobe de la MO témoigne de la présence d'un bloom. D'autres paramètres tels que la température de l'air et de l'eau, les précipitations, la turbidité ou bien la concentration en nutriments peuvent être utilisés pour prédire une prolifération de cyanobactéries ou au contraire une déperdition. La Figure 53 détaille les dates de prélèvement dans les différents sites d'étude et les analyses effectuées.

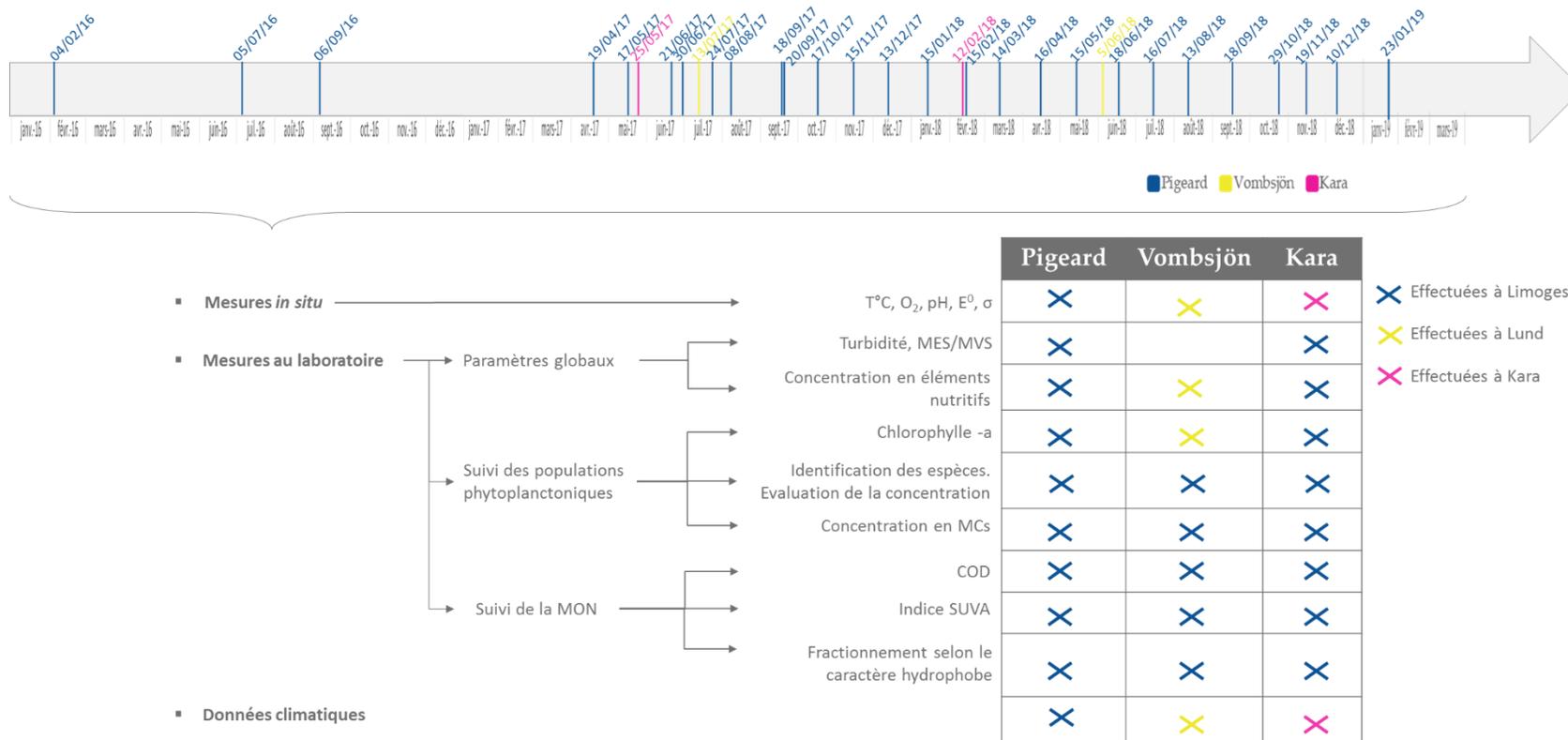


Figure 53 : Frise chronologique des prélèvements et mesures in-situ et des analyses sur l'eau en laboratoire associées.

4. Impact des modifications des caractéristiques physico-chimiques de la ressource en eau sur l'efficacité de l'adsorption sur Charbon Actif en Poudre : Etude spécifique de la réactivité de la MON et des microcystines MC-LR

Afin d'étudier l'élimination des MC-LR par adsorption sur charbon actif en poudre et évaluer l'impact de MO d'origines diverses sur l'efficacité du procédé, deux types de tests d'adsorption sont réalisés sur des échantillons de nature différente. La Figure 54 synthétise la méthodologie employée.

4.1. Les échantillons testés

Trois types d'échantillons sont choisis afin de comprendre la réactivité des MC-LR et de MO d'origines diverses: une culture de laboratoire de *M. aeruginosa* (MA), une eau synthétique (ES) et l'eau naturelle de Pigeard (EN). Chacun des échantillons est testé brut et dopé en MOA et/ou en MC-LR (Tableau 30).

Tableau 30: Résumé des 17 échantillons étudiés

		Brute	+ MOA	+ MC-LR	+ MOA + MC-LR
Echantillons issus de cultures de laboratoire de MA	23°C	×			
	15°C	×			
Eau naturelle : Pigeard	Mars	×	×	×	×
	Avril	×	×	×	×
	Mai	×	×	×	×
Eau synthétique			×	×	×

4.1.1. Cultures de laboratoire de *M. aeruginosa*

4.1.1.1. Tests sur culture pure

Des tests sont effectués sur des cultures de laboratoire de MA soumises à deux températures : 23°C et 15°C. Les souches sont sacrifiées en phase de croissance stationnaire, lorsque la population atteint son maximum de croissance et que la MOA produite résulte essentiellement de l'activité métabolique des cellules vivantes. Les cultures sont filtrées sur filtre en nitrate de cellulose de diamètre 0,45 µm en amont des tests d'adsorption.

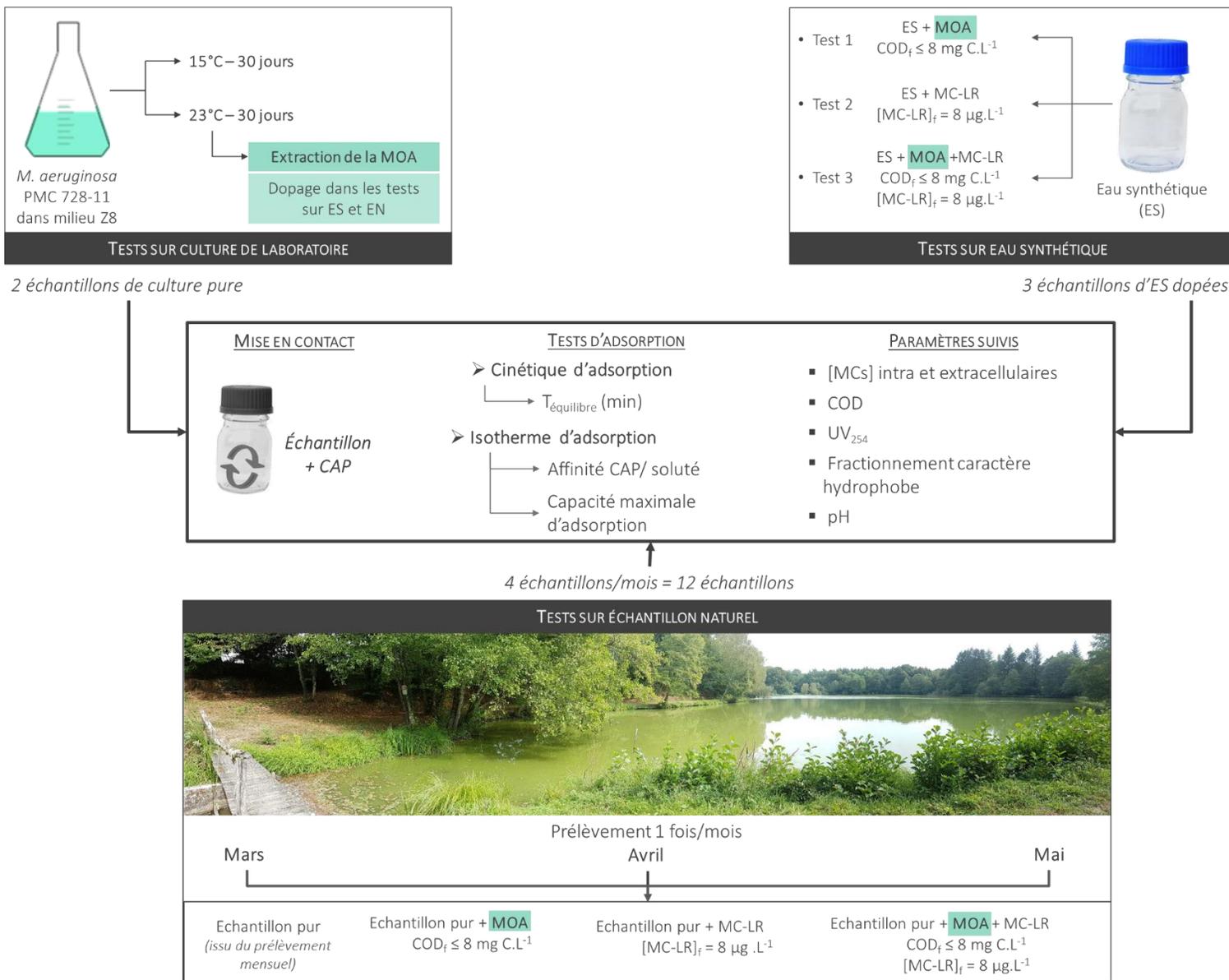


Figure 54: Méthodologie d'étude de l'efficacité d'adsorption sur CAP

4.1.1.2. Extraction de la MOA des cultures de laboratoire de *M. aeruginosa*

La MOA est extraite de la culture de MA cultivée à 23°C pendant une trentaine de jours. L'extraction s'opère selon le même principe que le fractionnement selon le caractère hydrophobe (Aiken *et al.*, 1992; Malcolm et MacCarthy, 1992). Le volume d'échantillon conditionne le volume de résine à introduire dans la colonne selon l'Equation XVII:

$$\text{Equation XVII : } V_{\text{résine}} = \frac{V_{\text{éch}}}{2 \times 0.6 \times (1 + k')}$$

Avec $V_{\text{résine}}$, volume de résine (mL) (16 mL dans l'étude)
 $V_{\text{éch}}$, volume de culture (mL) (980 mL dans l'étude)
 k' , facteur de capacité ($k' = 50$)

Après filtration de la culture sur les résines DAX-8 et XAD-4, la MO est désorbée selon le protocole présenté Figure 55. Les résines sont tout d'abord rincées à l'acide formique à pH 2 afin d'éliminer les ions. La purification est vérifiée par un test au nitrate d'argent (100 μL AgNO_3 à 2.10^{-2} M dans 20 mL de sortie de colonne). Si un précipité blanc qui noircit à la lumière (AgCl) se forme, des ions Cl^- sont encore présents et la purification doit être poursuivie. En revanche, en absence de précipité, la purification est terminée. Les fractions HPO et TPH sont alors désorbées par un mélange ACN : ED (75 : 25, en v/v), à un débit de 25 mL.h^{-1} jusqu'à absence de couleur du filtrat. Une évaporation sous vide, effectuée grâce à un évaporateur rotatif (Heidolph WB2000 et VV2000 – pompe Alcatel 2008AC, $T^\circ\text{C} = 40 - 60^\circ\text{C}$, 90 trs.min^{-1}) permet d'éliminer les résidus d'acide formique et d'acétonitrile et de concentrer les fractions obtenues. Les fractions extraites sont conservées à 4°C.

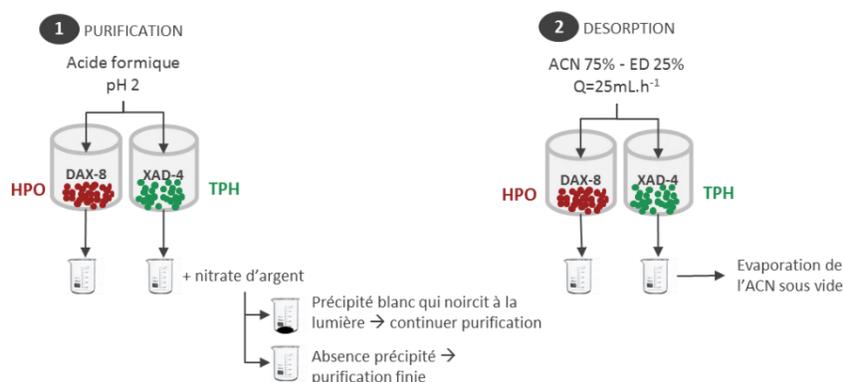


Figure 55: Protocole d'extraction des fractions de la MO par désorption des résines DAX-8 et XAD-4

4.1.2. Eau synthétique dopée en fractions de MOA et MC-LR

La réactivité des fractions HPO, TPH et HPI extraites de MOA des cultures de laboratoire de *M. aeruginosa* et des MC-LR, seuls ou en mélange, est étudiée dans de l'ES. L'ES (Lenoble *et al.*, 2004) présente des caractéristiques proches des eaux de l'ex-région Limousin, un pH acide et une faible minéralisation.

La MOA est ajoutée de manière à obtenir un COD final de $8,0 \pm 0,8$ mg C.L^{-1} . Un fractionnement sur résines DAX-8 et XAD-4 permet de valider la proportion de chaque fraction de MOA dans la solution finale. La MC-LR provient d'un standard à 10 mg.L^{-1} (de Novakits) et est ajoutée de manière à obtenir une concentration finale de $8,0 \pm 0,8$ $\mu\text{g.L}^{-1}$. Cette concentration est validée par mesure par HPLC-UV/PDA.

Tableau 31 : Caractéristiques de l'eau synthétique (concentrations en mg.L⁻¹)

Calcium	3,6 ± 0,2	Sulfates	4,0 ± 0,4
Magnésium	1,5 ± 0,1	Chlorures	8,6 ± 0,6
Sodium	7,0 ± 0,5	Nitrates	10,9 ± 0,5
Potassium	0,9 ± 0,1	Hydrogénocarbonates	10,35
pH	6,5	Turbidité	0,6 ± 0,1 NTU
COD	< 0,5 mg C.L ⁻¹		

4.1.3. Eau naturelle : eau de Pigeard

Les échantillons d'eau naturelle (EN) de l'étang de Pigeard sont prélevés à trois dates: le 14 mars 2018, le 16 avril 2018 et le 15 mai 2018. Il a été préalablement observé une évolution des caractéristiques de la MON (Leloup, 2013). En effet, en raison du développement du phytoplancton avec l'augmentation de la température, le caractère hydrophile de la MON augmente (36 – 38% en hiver contre 45 – 55 % en été) et son caractère aromatique diminue (42 L.cm⁻¹.g C⁻¹ en hiver contre 28 L.cm⁻¹.gC⁻¹ en été). Pour chaque mois, quatre conditions expérimentales sont testées :

- Test sur échantillon d'EN brute
- Test sur échantillon d'EN dopée en MOA
- Test sur échantillon d'EN dopée en MC-LR
- Test sur échantillon d'EN dopée en MOA et MC-LR

La MOA provient de la souche de MA cultivée à 23°C pendant 30 jours (fin de phase exponentielle). Le protocole d'extraction est détaillé dans la partie 4.1.1.2. La MOA est ajoutée de manière à avoir une concentration finale en COD de 8,0 ± 0,8 mg C.L⁻¹.

Un standard de MC-LR à 10 mg.L⁻¹ (de Novakits) est utilisé pour le dopage de l'échantillon en cyanotoxine. La concentration finale attendue est de 8,0 ± 0,8 µg.L⁻¹ et est contrôlée par mesure par HPLC-UV/PDA.

4.2. Les tests d'adsorption sur Charbon Actif en Poudre

Le pouvoir adsorbant d'un CAP se caractérise au moyen de courbes de cinétique et d'isotherme d'adsorption du charbon vis-à-vis d'un ou des soluté(s) déterminé(s). La cinétique d'adsorption établit la relation entre la concentration à l'équilibre en soluté et le temps de contact avec une quantité connue de CAP. Elle permet de déterminer le temps d'équilibre (T_{éq}), temps de contact à partir duquel il y a équilibre entre adsorbant et molécule à adsorber. L'isotherme d'adsorption établit la relation entre la masse de soluté retenue et la masse de CAP lors d'une mise en contact à un temps > T_{éq}.

4.2.1. Conditions expérimentales des essais d'adsorption

Pour chaque échantillon, des cinétiques et des isothermes d'adsorption sont tracées. Les conditions expérimentales de chacun des tests sont présentées dans le Tableau 32.

Tableau 32: Conditions expérimentales des cinétiques et isothermes d'adsorption.

N° test	Tests réalisés sur chaque échantillon	Volume	Concentration en CAP	Temps de contact	pH
1	Cinétique d'adsorption	100 mL	150 mg.L ⁻¹	0 – 96h	5,5 – 6,5
2	Isotherme d'adsorption	100 mL	75 – 800 mg.L ⁻¹	T _{équilibre}	

Les tests de cinétique et isotherme d'adsorption sont réalisés dans des flacons en pyrex, à l'aide d'une table d'agitation rotative (Edmund Bühler SM30C) réglée à 150 rpm. Cette vitesse est représentative des conditions d'agitation dans un bassin d'ajout de CAP. Le mode opératoire, présenté Figure 56, est identique pour chacun des tests. Un volume d'échantillon est mis en contact avec une quantité déterminée de CAP et placé sur une table d'agitation. Après un temps défini, l'échantillon est filtré sur GF/C. Le filtre est récupéré pour mesurer la concentration en toxines intracellulaires selon le protocole présenté en partie 2.4. Une partie du filtrat est utilisée pour le dosage des toxines extracellulaires (protocole présenté en partie 2.4). Le filtrat restant est filtré sur nitrate de cellulose de diamètre de pores 0,45µm et utilisé pour la caractérisation de la MO : COD, aromaticité (UV₂₅₄) et fractionnement selon le caractère hydrophobe (protocoles présentés en partie 2.2.2.2), ainsi que pour le contrôle du pH (WTW multi 9430, électrode SenTIX 940, précision ± 0,004).

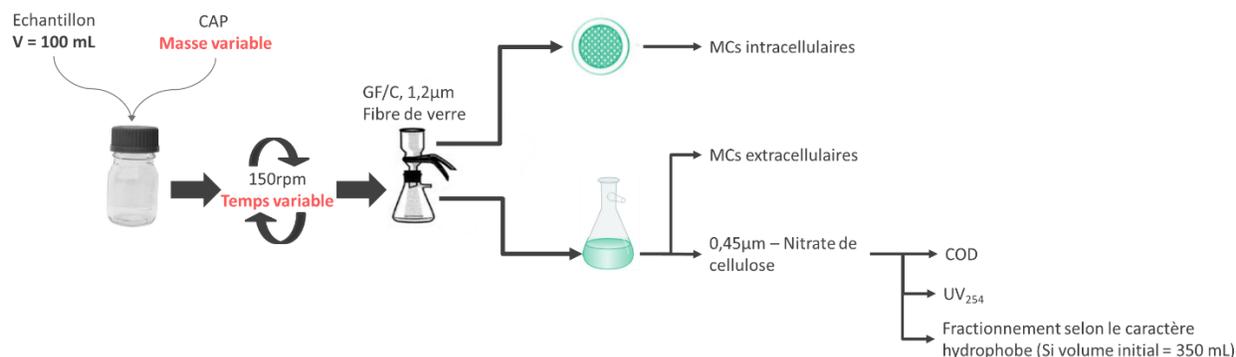


Figure 56: Protocole des tests d'adsorption de la MO et de MC-LR sur CAP

A partir des paramètres suivis, l'abattement de la concentration en MO, du caractère aromatique des molécules organiques et de la concentration en MCs est calculé. Les paramètres d'affinité et de capacité maximale d'adsorption du soluté sur le CAP sont déterminés via les modèles de Langmuir et Freundlich.

4.2.2. Interprétation de l'adsorption sur Charbon Actif en Poudre

La modélisation des équilibres d'adsorption permet de représenter, par des lois mathématiques, la relation à l'équilibre entre la quantité de soluté en phase liquide (C_e) et celle adsorbée sur le CAP (Q_e). Dans cette étude, l'équilibre d'adsorption est interprété par application des modèles de Langmuir et Freundlich ; modèles couramment utilisés pour l'étude des systèmes adsorbant/adsorbât.

4.2.2.1. Equation de Langmuir

L'isotherme de Langmuir suppose que l'adsorption est monocouche et a lieu sur les sites homogènes spécifiques du CAP. De nombreuses représentations existent, il a été choisi de travailler avec celle de Stumm et Morgan (1981). Cette représentation à 2 paramètres (Q_{\max} et K_L), ne permet de décrire que l'équilibre de l'adsorption d'un seul soluté sur le CAP. L'équation de Langmuir traduite par l'Equation XVIII.

$$\text{Equation XVIII : } Q_e = \frac{Q_{\max} \times K_L \times C_e}{1 + (K_L \times C)}$$

Avec

- Q_e : quantité de soluté adsorbée par unité de masse d'adsorbant (mg.g^{-1})
- Q_{\max} : capacité maximale d'adsorption (mg.g^{-1})
- K_L : constante d'équilibre de l'adsorption pour le couple soluté/CAP (L.mg^{-1})
- C_e : concentration à l'équilibre du soluté en phase liquide (mg.L^{-1})

Le passage aux inverses de l'équation XVIII permet d'obtenir une forme linéarisée de la fonction de saturation (l'équation XIX). En traçant la droite $1/Q_e = f(1/C_e)$, il est obtenu une droite de pente $1/(Q_{\max} \times K_L)$ et d'ordonnée à l'origine $1/Q_{\max}$, permettant de déterminer la capacité maximale d'adsorption (Q_{\max}) et la constante d'adsorption de Langmuir (K_L).

$$\text{Équation XIX : } \frac{1}{Q_e} = \frac{1+(K_L \times C_e)}{Q_{\max} \times K_L \times C_e} = \frac{1}{Q_{\max}} + \frac{1}{Q_{\max} \times K_L \times C_e}$$

4.2.2.2. Equation de Freundlich

L'isotherme de Freundlich suppose que l'adsorption est multicouche et que la surface du CAP est hétérogène. L'équation s'écrit selon l'équation XX :

$$\text{Équation XX : } Q_e = K_F \times C_e^{1/n}$$

Avec Q_e : quantité de soluté adsorbée par unité de masse d'adsorbant (mg.g^{-1})
 C_e : concentration à l'équilibre du soluté en phase liquide (mg.L^{-1})
 K_F : capacité d'adsorption
 n : inverse de l'affinité d'adsorption

L'expression logarithmique permet d'obtenir l'équation XXI dont la fonction $\log Q_e = f(\log C_e)$ permet de tracer une droite de pente $1/n$ et d'ordonnée à l'origine $\log(K_F)$. On en déduit les deux paramètres caractéristiques de l'adsorption : la constante d'adsorption de Freundlich (K_F) et l'affinité adsorbant-adsorbât ($1/n$).

$$\text{Équation XXI : } \log Q_e = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_e$$

4.2.3. Choix du Charbon Actif en Poudre

Deux Charbons Actifs en Poudre (CAP) issus des stations de production d'eau potable de l'agglomération de Limoges sont testés : le CAP 1 provient de l'unité de production d'eau potable de la ville de Limoges (87) et le CAP 2 est fourni par la station de Lanaud (Panazol, 87). Les caractéristiques de chaque CAP sont détaillées dans le Tableau 33.

Tableau 33: Spécificités des CAP testés

	CAP 1 : station de Limoges	CAP 2 : station de Lanaud
Nom (Fabriquant)	AquaSorb MP 25 (Société Jacobi Carbons France SASU)	Dacarb PB 150B (Dacarb)
Matière première	Houille bitumineuse	<i>Non communiqué par le fournisseur</i>
Méthode d'activation	Haute température	<i>Non communiqué par le fournisseur</i>
Indice d'iode	> 950 mg.g^{-1}	900 mg.g^{-1}
Porosité	Micro- et méso-poreux	Méso-poreux Volume micropores = 0.40 $\text{cm}^3.\text{g}^{-1}$ Volume mésopores = 0.40 $\text{cm}^3.\text{g}^{-1}$
Domaines d'application	Réduction de la MO, des pesticides, du goût et odeur	Réduction de la MO, des pesticides, des hydrocarbures, des MIB et géosmine et des MCs

Les performances des deux CAP sont comparées à l'aide d'un échantillon d'eau naturelle (prélèvement de mars 2017). Le CAP 2 (Dacarb PB150B) présente de meilleurs rendements d'élimination que le CAP 1 (AquaSorb MP 25) (Figure 57) : 47 % d'élimination du COD après un temps de contact de 240 min contre 21 % et respectivement 56 % et 42 % d'élimination de l'UV_{254nm} ; il a par conséquent été choisi pour toutes les autres expériences.

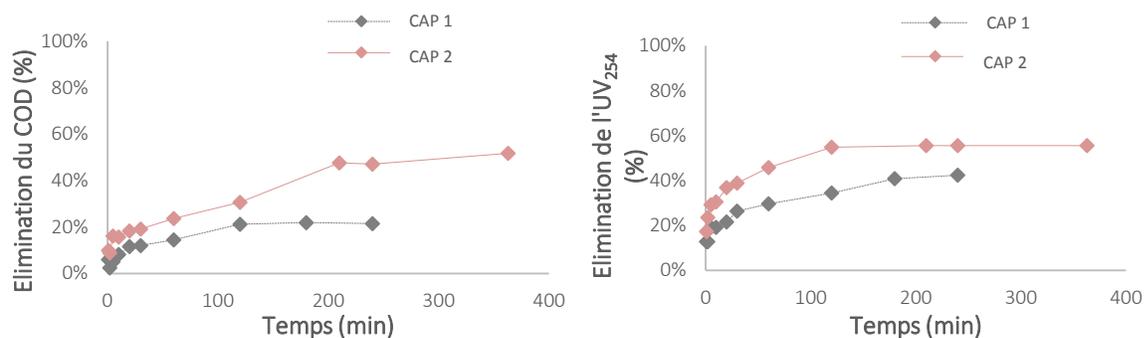


Figure 57 : Performances des deux CAP de l'agglomération de Limoges sur l'élimination de l'absorbance à 254 nm et du COD d'un échantillon du milieu naturel

PARTIE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION

Cette partie 3 présente les principaux résultats obtenus au cours de ce travail de thèse. Elle est subdivisée en trois chapitres, correspondant aux trois grands axes de recherche menés en parallèle au cours de l'étude :

- Le chapitre 1 s'intitule « Identification et quantification des Microcystines (MCs) par HPLC-UV/PDA et pré concentration sur SPE : optimisation de la méthode et analyse des interférences ». Il a pour objectifs d'optimiser une méthode d'analyse des MCs intracellulaires et extracellulaires par Chromatographie Liquide à détection UV/PDA (HPLC-UV/PDA), de développer un protocole de concentration des toxines extracellulaires par Extraction en Phase Solide (SPE) et d'étudier les interférences de la matrice (pH, conductivité, charge organique) sur cette étape de concentration avant dosage par HPLC-UV/PDA. La méthode est validée sur des échantillons naturels prélevés aux 4 saisons sur l'Etang de Pigeard.

- Le chapitre 2 s'intitule « Effets des variations climatiques sur la réponse des espèces phytoplanctoniques en conditions d'eutrophisation : étude qualitative et quantitative de la Matière Organique Algale (MOA) et suivi de la production de Microcystines (MCs) ». Ce chapitre se divise en deux axes.

Le premier axe vise à évaluer en conditions contrôlées l'impact de conditions climatiques variables sur la croissance de deux espèces phytoplanctoniques, une algue et une cyanobactérie, sur la quantité et les caractéristiques de la matière organique algale générée et sur la production de MCs. Les espèces choisies, *Chlorella vulgaris* et *Microcystis aeruginosa* sont cultivées sous différents couples température/pluviométrie, simulant les conditions climatiques des trois pays de l'étude (La France, la Suède et le Togo).

Le second axe s'intéresse aux impacts de blooms récurrents de phytoplancton sur la dynamique de la MON et des MCs d'un plan d'eau eutrophe, l'étang de Pigeard. Un suivi *in situ* des paramètres bio-physico-chimiques est réalisé mensuellement : chlorophylle-a, espèces phytoplanctoniques, concentration cellulaire, concentrations en MCs, quantité et qualité de la MO, température, oxygène dissous, pH, conductivité, potentiel redox, turbidité, nutriments. Les résultats du suivi sont comparés, dans un premier temps, aux résultats du suivi de la ressource en eau de la retenue d'eau de Vombsjön en Suède et de la rivière Kara au Togo afin d'évaluer l'impact des conditions climatiques sur les caractéristiques chimiques, physico-chimiques et biologiques de la ressource. Dans un deuxième temps, les résultats du suivi de la qualité de la ressource en eau de l'étang de Pigeard sont comparés aux résultats du suivi réalisé dans le cadre du projet CYAME (2010-2013), afin d'identifier l'impact de blooms récurrents sur les caractéristiques de la MON.

- Le chapitre 3 intitulé « Impacts des variations de la qualité de la ressource en eau suite à des phénomènes d'eutrophisation sur les performances du traitement par Charbon Actif en Poudre (CAP) », vise à étudier la réactivité de la MOA et de ses fractions hydrophobes, ainsi que l'élimination des MCs par adsorption sur CAP. Différents tests sont réalisés sur des cultures de laboratoire, de l'ES enrichie avec des fractions de MO extraites et des MCs et de l'eau naturelle afin de comprendre la réactivité de la MOA et des MCs et d'étudier les compétitivités d'adsorption.

CHAPITRE 1

IDENTIFICATION ET QUANTIFICATION DES MICROCYSTINES (MCs) PAR HPLC-UV/PDA ET PRE CONCENTRATION SUR SPE : OPTIMISATION DE LA METHODE ET ANALYSE DES INTERFERENCES.

Au regard des risques sanitaires liés aux microcystines, l'Organisation Mondiale pour la santé (OMS) a fixé en 1998 une concentration maximale de $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ en équivalent MC-LR dans l'eau potable. Cette valeur guide a par la suite été reprise dans plusieurs pays, notamment la France par l'arrêté du 11/01/2017. De nombreuses méthodes de détection et de quantification des MCs ont donc été développées et optimisées et les outils analytiques aujourd'hui disponibles sont capables de séparer les variants d'une même toxine, de quantifier les cyanotoxines présentes dans un échantillon à quelques $\mu\text{g.L}^{-1}$ voire ng.L^{-1} et de les doser directement sur le terrain à l'aide de kit (Chorus et Bartram, 1999 ; Merel *et al.*, 2013 b).

Cependant, la détection des MCs dans les eaux naturelles restent fastidieuse, car les outils analytiques développés (HPLC-UV, HPLC-MS, ...) présentent une limite de quantification parfois supérieure à la concentration de l'échantillon et la qualité de l'analyse dépend de la matrice de l'échantillon (turbidité, charge organique, pH, force ionique, salinité...). Une étape de préparation est alors fondamentale pour optimiser le dosage des MCs et en 1966, la technique d'extraction sur phase solide (SPE) est utilisée pour la première fois pour la concentration des cyanotoxines. Cet outil est depuis les années 80 en perpétuel développement : format, sorbants, taille, automatisation, ... (Andrade-Eiroa *et al.*, 2016) et cette méthode est recommandée par l'EPA depuis 1996 et par la norme ISO 20179 : 2005. Il est cependant impératif de s'assurer du rendement de cette étape de préparation de l'échantillon. Les objectifs de cette étude sont donc triples :

- 1) Développer et optimiser une méthode de quantification des MCs dans les eaux naturelles par HPLC-UV/PDA. La méthode est validée par détermination de la spécificité, la linéarité, la précision, la répétabilité et la robustesse ;
- 2) Améliorer la limite de détection par pré-concentration et purification de l'échantillon sur SPE avant analyse. La précision, la spécificité et la répétabilité de l'extraction sont évaluées par analyse par HPLC-UV/PDA ;
- 3) Tester les interférences de la matrice de l'échantillon (pH, conductivité et MO) sur la concentration et la détection des MCs afin de s'assurer de la précision et de la reproductibilité de la mesure.

1. Optimisation de la méthode d'analyse des Microcystines par HPLC-UV/PDA

1.1. Optimisation de la méthode d'analyse par HPLC-UV/PDA

Inspiré par le protocole de la norme ISO 20179 : 2005, l'analyse par HPLC-UV/PDA est optimisée afin de permettre la quantification de micro voire nano-concentrations en un temps réduit. L'optimisation est réalisée avec de l'eau ultra pure (EUP) dopée en standards de MCs et les paramètres optimisés dépendent

des caractéristiques du matériel, notamment la colonne : le gradient d'élution le débit d'élution (0,3 à 1,0 mL.min⁻¹) et le volume d'injection (10 à 30 µL).

Le gradient d'élution est défini comme l'évolution des proportions des phases mobiles A et B. Le gradient proposé par la norme ISO 20179 : 2005 est modifié dans le but de séparer correctement et en un temps réduit les trois variants de MCs (i.e. MC-LR, -RR et -YR). La composition des phases mobiles respecte la norme ISO 20179 : 2005 : la phase mobile A est composée d'acétonitrile (ACN) supplémenté avec 0,05% d'acide trifluoroacétique (TFA) et la phase mobile B est composée de 0,05% de TFA dans de l'EUP. Dans les conditions de la norme ISO 20179 : 2005 (matériel et méthode), les variants de MCs ont un temps de rétention autour de 9,9 et 12,5 min pour une durée de totale de la méthode de 55min. Les durées des phases du gradient sont progressivement diminuées pour accentuer la pente de l'augmentation en phase A afin de désorber plus rapidement les molécules d'intérêt, tout en conservant leurs séparations. Ainsi, des méthodes de durées variables sont testées (entre 15 et 35 min), avec un pourcentage de phase A initiale entre 10 et 30% et une durée de l'étape d'augmentation de la phase A entre 5 et 20 min. Certaines de ces méthodes sont illustrées Figure 58. Le volume d'injection puis le débit d'élution sont ensuite modulés. Le Tableau 34 présente le nombre de tests réalisés ainsi que les différentes valeurs testées. Les méthodes les plus courtes (15 – 20min) ou ayant une augmentation trop rapide de la phase mobile A ne permettent pas de séparer et doser correctement les MCs.

Tableau 34 : Optimisation de la méthode d'analyse des MCs par HPLC-UV/PDA

	Nombre de tests et valeurs associées
GRADIENT D'ELUTION :	Méthode ISO 20179 : 2005
- Durée de l'étape d'augmentation de la phase A	+ 11 tests (durée entre 5-20min ;
- %A initiale	%A initiale entre 10-30%)
VOLUME D'INJECTION	3 volumes : 10 – 15 – 30 µL
DEBIT D'INJECTION	3 débits : 0,3 – 0,6 et 1,0 mL.min ⁻¹

De nombreuses combinaisons de paramètres ne présentent pas de pics de détection (méthodes 5 et 3) et/ou une mauvaise séparation des trois variants de MCs (méthodes 2 et 4) (Figure 58). Ces combinaisons ne sont par conséquent pas retenues. Le gradient de la méthode 1 offre le meilleur compromis entre durée de la méthode et efficacité de séparation des variants (Figure 59). Ce gradient, d'une durée de 30 min, soit près de deux fois plus rapide que celui de la norme ISO, est sélectionné. Combiné à un débit de 0,6 mL.min⁻¹ et un volume d'injection de 15 µL, il permet l'obtention du chromatogramme présenté en Figure 61. Les temps de rétention, dans l'EUP, sont de 8,77 min, 9,93 min et 10,28 min respectivement pour la MC-RR, -YR et -LR.

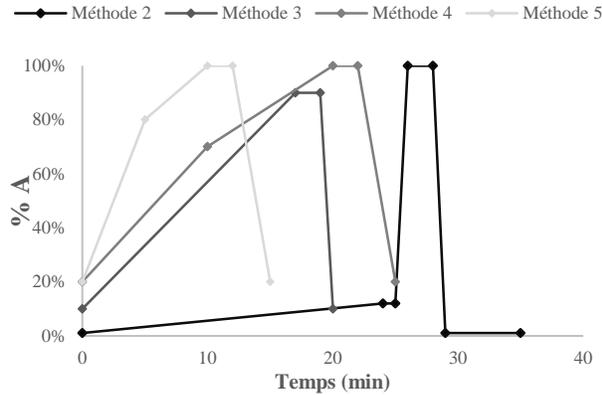


Figure 58 : Quelques exemples de gradients testés

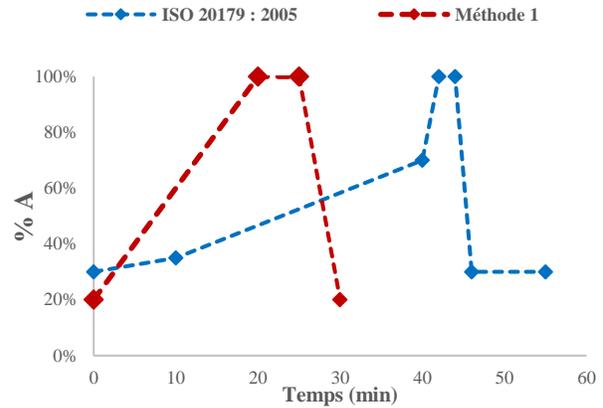


Figure 59 : Comparaison du gradient de phases mobiles de la norme ISO 20179 : 2005 et de la méthode optimisée (1)

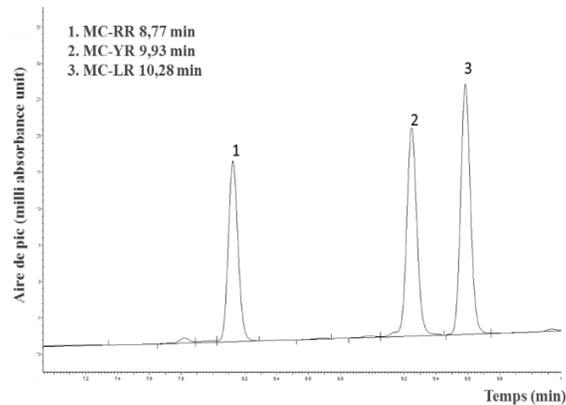


Figure 60 : Séparation de MC-RR, -YR et -LR présentes dans de l'eau ultra pure par HPLC-UV/PDA. Données mesurées à 238 nm.

1.2. Validité et performances de la méthode

La reproductibilité de la méthode, vérifiée par analyse de dix réplicats d'un même échantillon de MC-LR à $450 \mu\text{g.L}^{-1}$, est confirmée par obtention d'un facteur de variation inférieure à 10% (variation = 7,7%, et $[\text{MC-LR}] = 460 \pm 35 \mu\text{g.L}^{-1}$).

Les limites de détection et de quantification sont déterminées par analyse de dilutions successives de solutions standards jusqu'à une concentration présentant un chromatogramme au pic plat. La limite de quantification de l'HPLC-UV/PDA (LQ_{HPLC}) est alors calculée par analyse de dix réplicats d'une solution contenant cette concentration en MCs. Les performances de la méthode chromatographique sont listées dans le Tableau 35. Les caractéristiques sont comparables pour les trois MCs étudiées et les coefficients de corrélation sont supérieurs à 0,990. Les limites de détection de l'HPLC-UV/PDA (LD_{HPLC}) obtenues pour des standards analytiques dans l'EUP sont bien inférieures à ceux obtenus par Aranda-Rodriguez *et al.*, 2003 ($\text{LD}_{\text{HPLC}} = 80 - 40$ et $30 \mu\text{g/L}$ respectivement pour MC-RR, -YR and -LR).

Tableau 35 : Performances de l'HPLC-UV/PDA utilisant une colonne XBridge C18 (3.5 μ m – 4.6x100mm) et le gradient d'élution optimisé (LQ = Limite de Quantification ; LD = Limite de Détection)

	MC		
	RR	YR	LR
Pente (a)	42.87	51.57	59.733
Interception avec l'axe y (b)	-2175	-1852	0
RSD	0.7	0.8	0.9
R ²	0.996	0.998	0.998
LQ _{HPLC} (μ g.L ⁻¹)	9	13	12
LD _{HPLC} (μ g.L ⁻¹)	3	4	4

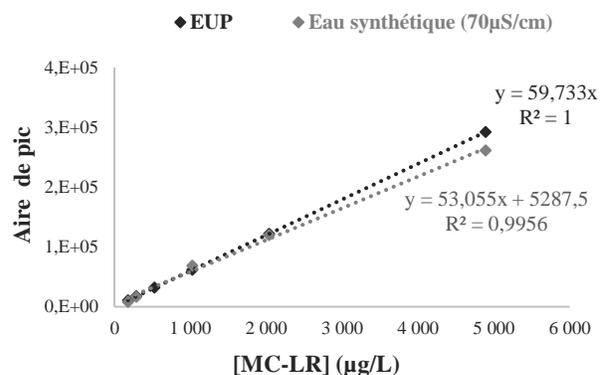


Figure 61 : Comparaison de la courbe de calibration de MC-LR dans de l'EUP et dans de l'ES. Analyses par HPLC-UV/PDA à 238

1.3. Linéarité et interférence

Les gammes de calibration sont construites par analyse de solutions standards de concentrations comprises entre 20 et 5000 μ g.L⁻¹, dans l'EUP (18 μ S.cm⁻¹) et dans une ES, caractéristique des eaux de l'ex-Région Limousin, dont la conductivité est faible et égale à 70 μ S.cm⁻¹. La pente de la courbe de calibration obtenue dans l'ES est identique à celle obtenue dans l'EUP (moins de 10% de différence) (Figure 61).

2. Pré concentration des MCs sur SPE, optimisation du protocole et étude des interférences

2.1. Optimisation du protocole de pré concentration sur SPE

Le protocole initial de concentration des MCs sur OASIS HLB est fourni par Waters. Cependant, plusieurs paramètres sont optimisés afin d'assurer une bonne récupération des toxines en un temps réduit: le volume d'échantillon (10 à 100 mL), le pourcentage de méthanol (MeOH) utilisé lors de l'étape de lavage (entre 0 et 30%), la durée de séchage de la cartouche (entre 10 et 45 min), l'étape finale de transfert dans un vial (volume de récupération, étape de rinçage) et les débits d'extraction, de nettoyage, d'élution qui ne sont pas indiqués dans le protocole.

L'automate GX-271 ASPEC[®] assure une reproductibilité des durées des étapes et des débits utilisés. Les débits sont fixés de manière à avoir une extraction, un lavage et une élution au goutte-à-goutte, reproductible d'un échantillon à l'autre. Selon le volume de la cartouche (3 mL), il est conseillé de filtrer un volume d'échantillon compris entre 1 et 250 mL (Sigma-Aldrich, 1998). Les premiers tests sont réalisés à partir d'un volume de 10 mL. Ce volume initial, relativement faible, limite la concentration de l'échantillon ou nécessite de reprendre l'échantillon dans un très faible volume. Or, l'objectif de la SPE est de concentrer les MCs, afin de doser des faibles concentrations, avec un rendement correct et reproductible. Le volume d'échantillon est donc augmenté afin de gagner en concentration et en précision. Cependant, une eau issue d'un milieu eutrophe peut être concentrée en COD. Pour éviter un colmatage de la résine par la MO, et perdre en efficacité d'extraction sur SPE (Aranda-Rodriguez *et al.*, 2003), un volume de 50 mL est utilisé. Ce volume se situe dans la moyenne des volumes définis dans la littérature (Poon *et al.*, 2001; Aranda-Rodriguez *et al.*, 2003; ISO 20179, 2005; Cong *et al.*, 2006). Après l'étape d'extraction, une étape de lavage permet d'éliminer les composés indésirables non ou peu retenus sur la résine sans perdre les molécules

d'intérêt. Une solution de lavage contenant plus de 25% de MeOH n'est pas appropriée pour cause d'éluion des MCs et diminution du %RE (Tableau 36). Ainsi, pour purifier l'échantillon sans éluer les MCs, une solution de MeOH à 20% est choisie (%RE = 98%).

Tableau 36 : Pourcentage de récupération de MC-LR en fonction de la teneur en MeOH dans l'étape 2 du nettoyage

	% de MeOH	%RE
	MeOH à 50%	< 50%
[MCs] = 1 µg.L ⁻¹ de	MeOH à 30%	72%
chaque variant dans de l'EUP	MeOH à 25%	89%
	MeOH à 20%	98%

Afin de limiter le temps de préparation de l'échantillon, différents temps de séchage sont testés, entre 10 et 45 min. Une appréciation visuelle permet de déterminer si la résine de la cartouche est sèche ou non ; une résine sèche est blanche/jaune alors qu'une résine encore humide est jaune/orange. Une durée de 20 min avec un débit de 30 mL.min⁻¹ permet l'obtention d'une cartouche totalement sèche, nécessaire pour sa conservation au congélateur. A la fin de la méthode, une fois les MCs éluées par 5 mL de MeOH pur, le 1^{er} protocole consiste à évaporer à sec puis reprendre dans 100 µL d'EUP avant de transférer dans un vial. Ce protocole donne des %RE faibles et peu reproductibles (%RE = 35 – 110%). Le protocole est optimisé en ajoutant une étape de rinçage : 4,5 mL de MeOH du tube sont évaporés et les 0,5 mL restants sont transférés dans un vial. Le tube est rincé avec 0,5 mL de MeOH et ce volume est ajouté dans le même vial. La solution est alors évaporée à sec et les MCs sont reprises dans un volume de 100 µL d'EUP. Un volume de reprise de 100 µL est choisi car il est suffisamment grand pour éviter une perte de composés d'intérêt et il permet d'avoir un facteur de concentration de 500, dans la moyenne de ce qui est retrouvé dans la littérature (Poon *et al.*, 2001; Aranda-Rodriguez *et al.*, 2003; ISO 20179, 2005; Cong *et al.*, 2006). Le Tableau 37 présente le protocole de Waters et les optimisations.

Tableau 37 : Protocole fourni par Waters et optimisations

	Conditionnement	Echantillon	Nettoyage	Séchage	Elution	Evaporation à sec	Reprise dans l'EUP
Waters	3mL MeOH – 6 mL EUP	V = 10 mL Q = 1mL/min	3mL EUP – 5 mL MeOH 20%	1 min	5 mL MeOH	50°C sous azote	1 mL dans MeOH 50%
Optimisation	Identique	pH Volume et débit supérieurs	Identique (après tests de différents % de MeOH)	Durée plus grande	Identique	Identique	Méthode optimisée

Cette méthode de concentration sur SPE optimisée permet d'analyser les MCs extracellulaires présentes dans l'eau à des concentrations comprises entre 0,1 et 10 µg.L⁻¹ (Tableau 38). La limite de détection de la méthode (LD_{Méthode}) est comparable à celle d'Aranda-Rodriguez *et al.*, (2003) et Triantis *et al.*, (2010) et meilleure que celle de Yu *et al.*, 2015 (0,7 µg.L⁻¹). Sur la gamme de concentration 0,1 – 10 µg.L⁻¹, le %RE des standards analytiques de MCs (-RR, -YR et -LR) présents dans l'EUP est supérieur ou égal à 95% (Tableau 38). Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par Cong *et al.*, (2006): 95,4 ± 4,7 % pour MC-RR et 98,7 ± 5,6 % pour MC-LR et 10% supérieurs à ceux obtenus par Rapala *et al.*, (2002) et Aranda-Rodriguez *et al.*, (2003). Cette différence entre les résultats peut être attribuée aux caractéristiques différentes des échantillons testés. Dans cette étude, de l'EUP est utilisée contrairement à Rapala *et al.*, (2002) et Aranda-Rodriguez *et al.*, (2003) qui ont utilisé des échantillons du milieu naturel.

Tableau 38 : Performances de la méthode d'analyse des MCs extracellulaires dans l'EUP. Pré-concentration de l'échantillon sur OASIS HLB et analyse par HPLC-UV/PDA à 238 nm.

	Gamme ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	LD _{Méthode} ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	%RE	RSD (%)
MC-RR	0,1 - 10	0,1	95	3
MC-YR	0,1 - 10	0,1	98	3
MC-LR	0,1 - 10	0,1	97	4

Le protocole optimisé de concentration et purification par SPE est présenté en Figure 62. 100 mL d'échantillon sont filtrés sur GF/C 1,2 μm et le pH est ajusté entre 6 et 8. 50 mL de l'échantillon filtré passe ensuite sur la cartouche OASIS-HLB, préalablement conditionnée avec 3 mL de MeOH (15 mL.min^{-1}) et 6 mL d'EUP (40 mL.min^{-1}), à un débit de 40 mL.min^{-1} . Après l'étape d'extraction, la cartouche est rincée avec 3 mL d'EUP (6 mL.min^{-1}) suivi de 5 mL de MeOH à 20% (15 mL.min^{-1}), séchée pendant 20 min (30 mL.min^{-1}) sous flux d'azote. Enfin, les composés d'intérêt sont élués avec 5 mL de MeOH (15 mL.min^{-1}) avant d'être repris dans 100 μL d'EUP. Ce protocole est validé par étude de la spécificité aux MCs, la précision, la répétabilité et la justesse des résultats et il répond aux critères de validation pour l'analyse d'échantillons de faibles concentrations en MCs extracellulaires.

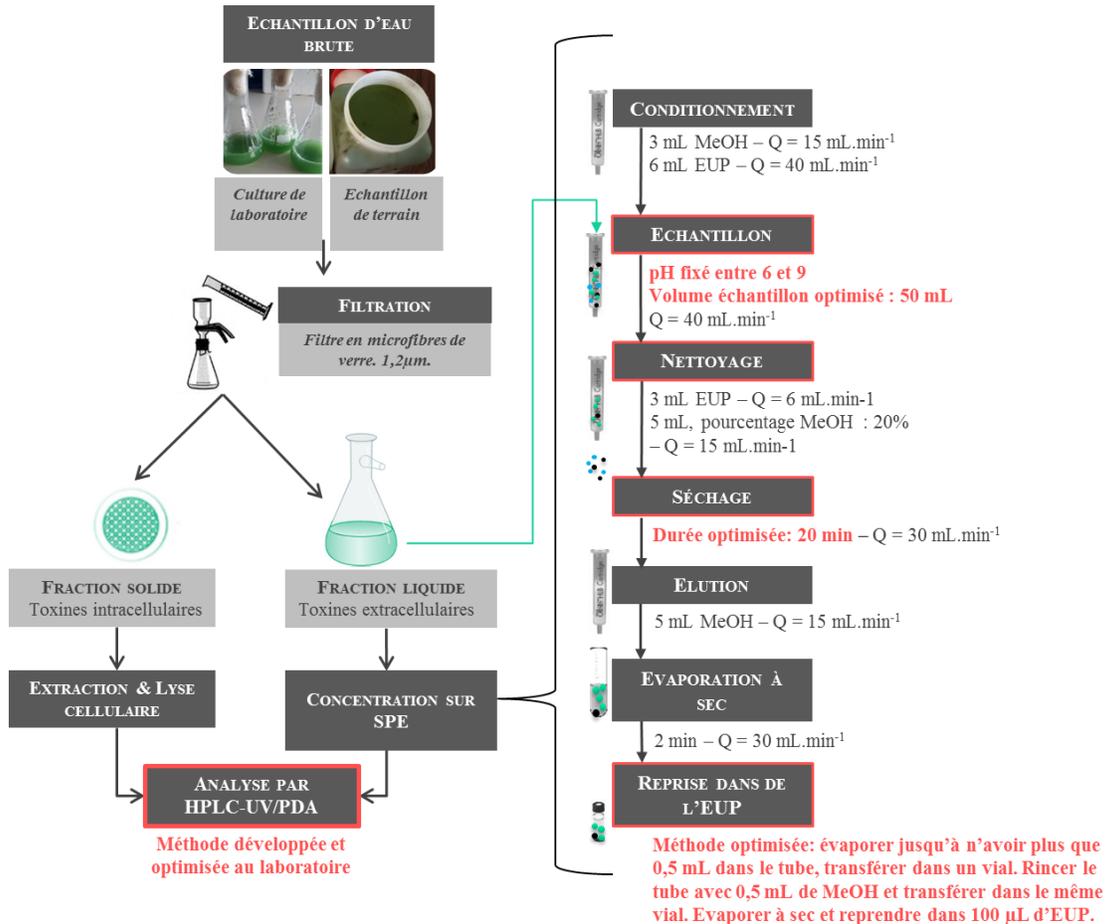


Figure 62 : Protocole de pré-concentration sur SPE adapté depuis la littérature. En rouge, les étapes optimisées

2.2. Etude des interférences de la matrice sur l'étape de préconcentration sur SPE

Les caractéristiques des eaux naturelles évoluent au cours de l'année sous l'effet du climat et du développement de phytoplancton. En effet, ces proliférations augmentent la charge organique, modifient les caractéristiques de la MO (Leloup *et al.*, 2013) et conduisent à l'augmentation du pH par consommation du CO₂ et assimilation du NO₃⁻ (Granum & Mykkestad, 2002). De plus, les eaux de ruissellement contribuent à augmenter la concentration en sels et donc la conductivité. Ainsi, les paramètres physico-chimiques d'une eau (pH, conductivité, COD) évoluent au cours des saisons, pouvant affecter l'analyse des MCs. Ainsi, une fois les méthodes de préparation et d'analyse développées et optimisées, les interférences de la matrice sur la concentration sur SPE sont évaluées. Ces tests d'interférences sont réalisés dans de l'EUP dopée en MC-LR, -RR et -YR, avec un pH (5 – 6,8 – 9), une conductivité (18 – 70 – 200 µS.cm⁻¹) ou une charge organique (<0,5 – 2,5 – 5 mg C.L⁻¹) variables. Les solutions préparées sont mélangées pendant 12h avant l'extraction et cinq réplicats sont effectués pour chaque test (

Tableau 39).

Tableau 39 : Tests d'interférences de la matrice sur la récupération des MCs après pré concentration sur SPE

EUP + [MCs] à 1 µg.L ⁻¹			
pH	Conductivité	Matières Organiques	
6,8	18 µS.cm ⁻¹	< 0,5 mg C.L ⁻¹	
5	200 µS.cm ⁻¹	HPO <i>M. aeruginosa</i>	2,5 mg C.L ⁻¹
9	70 µS.cm ⁻¹	AF 2S101F	2,5 mg C.L ⁻¹
	(eau synthétique)	Suwanee river (IHSS)	5 mg C.L ⁻¹

2.2.1. Impact du pH de l'échantillon sur l'efficacité de l'étape de pré concentration

Le pH des eaux naturelles varie en fonction des caractéristiques du sol sur lequel elles percolent (granitique ou calcaire) et des activités et phénomènes naturels et anthropiques. En région Limousin, les sols granitiques confèrent aux eaux une acidité naturelle ; mais le pH tend à augmenter sous l'effet des proliférations cyanobactériennes. Alors que le pH d'une eau en sortie de station de potabilisation doit être compris entre 6,5 et 9, le pH des eaux naturelles varie en moyenne entre 6,2 et 8,2 l'hiver et peut atteindre des valeurs de 10,4 sous l'effet des proliférations algales et cyanobactériennes en été. Les interférences du pH sont donc évaluées pour des valeurs de pH de 5 et 9 par ajout d'HCl ou de NaOH à 0,1M dans 250 mL d'EUP et les %RE sont comparés aux résultats au pH de l'EUP (6,8).

La Figure 63 présente l'évolution des %RE en fonction du pH. Un pH de 5 présente un %RE compris entre 66 et 81%, significativement inférieur à celui obtenu au pH de l'EUP (*test de Student*, $p\text{-value}=2.10^{-4} < 5\%$). Au contraire, un pH de 9 présente un %RE compris entre 104 et 109%, significativement supérieur à celui obtenu au pH de l'EUP ($p\text{-value} = 0,015 < 5\%$ (*test de Student*)).

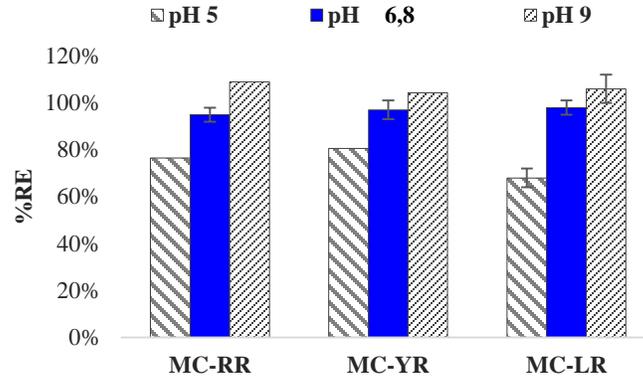


Figure 63 : %RE de MCs dans un mélange contenant $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ de chaque variant (i.e. MC-RR, -YR et -LR). Extraction opérée sur OASIS HLB et analyse par HPLC-UV/PDA à 238 nm.

Afin de limiter l'effet du pH, il est recommandé de le fixer entre 6 et 8 avant l'extraction sur SPE. Ces résultats sont en accord avec ceux de Kaloudis *et al.* (2013) qui recommandent de fixer le pH entre 5 et 8 et de Zervou *et al.* (2017) qui recommandent un pH neutre pour l'extraction des MCs sur OASIS HLB.

2.2.2. Impact de la conductivité de l'échantillon sur l'efficacité de l'étape de pré concentration

Les interférences liées à la minéralisation et à la salinité de l'échantillon sont testées pour deux conductivités : 200 et $70 \mu\text{S.cm}^{-1}$. Une conductivité de $200 \mu\text{S.cm}^{-1}$ correspond à la conductivité minimale requise pour l'eau traitée en sortie de station de potabilisation à 25°C ; et une conductivité de $70 \mu\text{S.cm}^{-1}$ est une valeur moyenne de conductivité pour une eau naturelle de la région Limousin, acide et faiblement minéralisées ($50 - 120 \mu\text{S.cm}^{-1}$). Ces tests sont donc conduits sur deux types d'eau : une EUP dont la conductivité a été fixée à $200 \mu\text{S.cm}^{-1}$ avec du NaNO_3 et une ES de conductivité égale à $70 \mu\text{S.cm}^{-1}$ (Lenoble *et al.*, 2004).

Les %RE de ces deux tests sont évalués et comparés à celui obtenu dans l'EUP (Figure 64). Pour une conductivité de $200 \mu\text{S.cm}^{-1}$, les %RE - 101%, 99% et 100% - respectivement pour la MC-RR, -YR et -LR - ne sont pas significativement différents de ceux obtenus dans l'EUP ($p\text{-value} = 0,13$ (test de Student)).

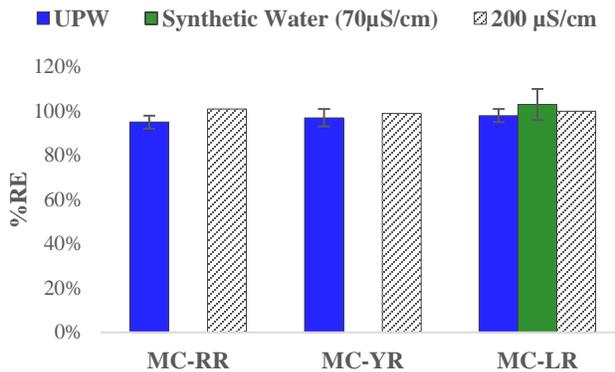


Figure 64 : %RE de MCs depuis un mélange contenant $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ de chaque variant (i.e. MC-RR, -YR et -LR). Extraction opérée sur OASIS HLB et analyse sur HPLC-UV/PDA à 238 nm

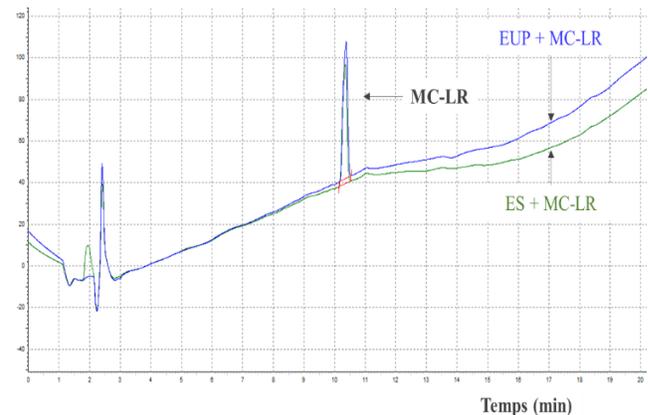


Figure 65 : Comparaison des chromatogrammes de MC-LR ($1 \mu\text{g.L}^{-1}$) contenue dans de l'EUP et de l'ES après pré-concentration sur SPE.

Un résultat comparable est obtenu avec l'ES, qui présente un %RE de $103 \pm 7\%$ pour MC-LR (Figure 64). La Figure 65 compare les chromatogrammes obtenus, par HPLC-UV/PDA après SPE, pour une EUP dopée en MC-LR ($1 \mu\text{g.L}^{-1}$) et une ES dopée en MC-LR ($1 \mu\text{g.L}^{-1}$). Les chromatogrammes sont superposables et les amplitudes des pics sont comparables. L'augmentation de la force ionique n'impacte ni le %RE de l'extraction de MC-LR par SPE ($p\text{-value} = 0,067$ (*test de Student*)), ni l'analyse par HPLC-UV/PDA. Ainsi, il n'est pas nécessaire de contrôler la conductivité pour l'analyse des MCs.

2.2.3. Impact des concentrations et des caractéristiques de la Matière Organique sur l'efficacité de l'étape de pré concentration sur SPE

La charge organique et les caractéristiques de la MO d'une ressource en eau évoluent sous l'effet du climat. La concentration augmente par l'apport des eaux de ruissellement et lors des développements de phytoplancton. Le COD des eaux naturelles varie entre $3,9$ et $6,1 \text{ mgC.L}^{-1}$ l'hiver et peut atteindre des valeurs maximales de 7 mg C.L^{-1} sous l'effet des proliférations algales et cyanobactériennes (Leloup, 2013). De plus, les caractéristiques de la MON évoluent au cours de l'année. En hiver, elle est composée en moyenne de $41\% \pm 3\%$ de HPO et $33\% \pm 4\%$ de HPI et elle présente un indice SUVA de $35,4 \pm 3,5 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$. En été, sous l'effet des proliférations phytoplanctoniques, le pourcentage de la fraction HPO diminue pour atteindre $36\% \pm 2\%$ alors que le pourcentage de la fraction HPI augmente et atteint $40\% \pm 4\%$ de la MON. En conséquence de la diminution de la fraction HPO, l'indice SUVA diminue et atteint $31,6 \pm 3,1 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$ (Weishaar et al., 2003 ; Croué, 2004 ; Leloup, 2013).

Les interférences liées à la MO sont donc testées par ajout d'une quantité connue ($2,5$ ou 5 mg C.L^{-1}) d'AF ou de HPO dans 250 mL d'EUP. Ces concentrations sont choisies en fonction des concentrations limites de la ressource en eau et de l'eau potable prévues par la législation française ; respectivement 8 mg C.L^{-1} et 2 mg C.L^{-1} , mais également en fonction des concentrations moyennes retrouvées dans les eaux naturelles de surface de la région ($\text{COD} = 5 \pm 1 \text{ mg C.L}^{-1}$). Les AF sont extraits depuis la Suwannee River et sont fournis par l'IHSS. Cette fraction est choisie car ses caractéristiques sont représentatives des caractéristiques de la MO des eaux naturelles. Les HPO sont extraits depuis une culture de *M. aeruginosa* selon le protocole de Aiken *et al.* (1992) et Malcolm & MacCarthy (1992), par utilisation de résines DAX-8 et XAD-4 en série (2.2.2.2). Cette espèce de cyanobactérie est fréquemment présente dans les plans d'eau eutrophe et la MOA qu'elle produit est caractéristique de la MON retrouvée dans les plans d'eau sujets aux proliférations phytoplanctoniques.

La préparation de l'échantillon sur SPE permet non seulement de concentrer l'échantillon mais également de le purifier. En effet, la présence de MO dans l'échantillon engendre une dérive de la ligne de base du chromatogramme (Rodriguez *et al.*, 2003) et la présence de pics parasites qui rendent difficiles l'exploitation du chromatogramme (Figure 66).

La Figure 67 présente les %RE de MC-LR obtenus dans l'EUP ($< 0,5 \text{ mg C.L}^{-1}$) et dans l'EUP dopée en MO (HPO ou AF à $2,5$ et 5 mg C.L^{-1}). En accord avec les résultats de Rodriguez *et al.* (2003), malgré la purification sur SPE, la présence de MO augmente significativement le %RE de MC-LR (*test de Student*, $p\text{-value} < 5\%$). Les différences entre les concentrations en MC-LR théorique et expérimentale sont de -2% , $+18\%$, $+15\%$ et $+24\%$ pour respectivement l'EUP, HPO à $2,5 \text{ mg C.L}^{-1}$ et AF à $2,5 \text{ mg C.L}^{-1}$ et 5 mg C.L^{-1} . En revanche, il n'y a pas d'effet significatif des caractéristiques de la MO (HPO et AF $2,5 \text{ mg C.L}^{-1}$; $p\text{-value} = 0,39$ (*test de Student*)).

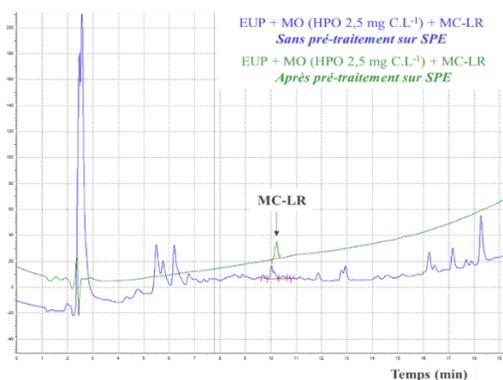


Figure 66 : Comparaison des chromatogrammes de MC-LR ($1 \mu\text{g.L}^{-1}$) contenue dans de l'EUP dopée en MO (HPO à $2,5 \text{ mg C.L}^{-1}$)¹ avec ou sans prétraitement sur SPE

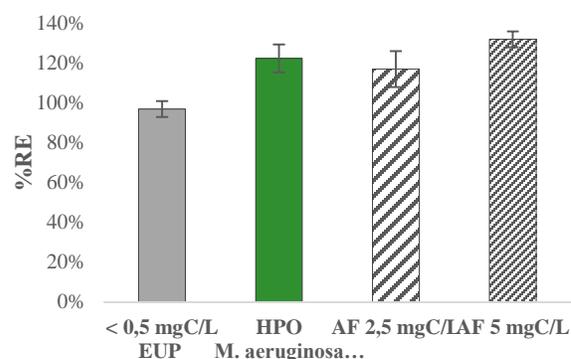


Figure 67 : %RE de MC-LR ($1 \mu\text{g.L}^{-1}$) présente dans des solutions d'EUP dopées ou non en MO. Extraction opérée sur OASIS HLB et analyse sur HPLC-UV/PDA à 238 nm

Pour un COD de $2,5 \text{ mg C.L}^{-1}$, la concentration mesurée après SPE/HPLC-UV/PDA est surestimée de $16,5 \pm 1,5\%$. Pour un COD deux fois plus grand (5 mg C.L^{-1}), elle est surestimée de 24%. Au regard des résultats, avec l'augmentation de la concentration en COD, le %RE augmente et par conséquent la concentration en MC est surestimée. Il serait alors nécessaire, de mesurer le COD de l'échantillon et adapté le %RE en fonction.

Bien qu'il subsiste une surestimation de la concentration en MC-LR après traitement sur OASIS HLB, cette étape améliore significativement l'interprétation du chromatogramme en réduisant les interférences et la dérive de la ligne de base. Les pics de MCs ne sont pas masqués et donc les faibles concentrations détectables.

3. Validation de la méthode sur des échantillons du milieu naturel

L'étang de Pigeard (Nieul, 87) est un plan d'eau, connu comme eutrophe, et sujet aux proliférations cyanobactériennes estivales, dont les caractéristiques sont détaillées au paragraphe (3.2.1.2). Les développements phytoplanctoniques augmentent la concentration en COD et la part de composés hydrophiles (HPI). En été, le COD est égal à $6,3 \pm 0,7 \text{ mg C.L}^{-1}$ avec $55 \pm 6\%$ de HPI alors qu'en hiver il est de $5,2 \pm 0,7 \text{ mg C.L}^{-1}$ avec $40 \pm 3\%$ de HPI. Pour confirmer la validité de la méthode, quatre échantillons (un par saison) issus de l'étang de Pigeard sont analysés, non dopés et dopés en MC-LR ($+2 \mu\text{g.L}^{-1}$). En accord avec les résultats de Yen *et al.*, (2011), les %RE varient entre 105 et 118% (Tableau 40). Ces %RE valident l'utilisation de la méthode pour des eaux du milieu naturel. Les concentrations en MCs mesurées, entre $< 0,1$ et $1,1 \mu\text{g.L}^{-1}$, sont très inférieures à la LQ_{HPLC} ($12 \mu\text{g MC-LR.L}^{-1}$) et confirment la nécessité de concentrer l'échantillon par SPE.

Tableau 40 : %RE à la suite du dopage avec MC-LR d'échantillons issus du milieu naturel

Saison	Concentration initiale ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Concentration de dopage ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Concentration ($\mu\text{g.L}^{-1}$)		Ecart théorique et expérimentale	%RE
			Théorique	Finale		
Été 2017	1,07	2	3,07	3,50	12%	114
Automne 2017	0,73	2	2,73	2,83	4%	104
Hiver 2017-2018	$< \text{LQ}_{\text{Méthode}}$	2	2	2,26	11%	113
Printemps 2018	1,04	2	3,04	3,57	15%	118

4. Conclusions du chapitre 1

Une méthode analytique couplant concentration des échantillons par SPE et analyse par HPLC-UV/PDA est développée et optimisée afin de concentrer et purifier les toxines extracellulaires et analyser les toxines intracellulaires et extracellulaires présentes dans des échantillons d'eaux naturelles. Après avoir optimisé les paramètres dans l'EUP, des tests d'interférences de la matrice de l'échantillon (pH, conductivité, quantité et qualité de MO) sont effectués.

Alors que le pH doit être fixé entre 6 et 8 pour limiter les interférences, aucun impact de la conductivité n'est observé. La MO, qu'elle soit d'origine allochtone ou autochtone, entraîne une surestimation de la concentration en MCs de l'ordre de 17 ± 2 % pour un COD de $2,5 \text{ mg C.L}^{-1}$ et de 24% pour un COD deux fois plus grand. Les %RE dans l'EUP et dans l'EUP dopée en MO varient respectivement de 92% à 101% et de 96% à 130%. Cependant, alors que la présence de MO génère des interférences, aucun effet lié à ses caractéristiques n'est observé. L'application de la méthode sur des échantillons d'eaux naturelles prélevés à l'étang de Pigeard (4 échantillons, un par saison) a permis sa validation. Après dopage de l'échantillon, l'écart entre la concentration théorique attendue et la concentration expérimentale varie entre 4 et 15%. La méthode SPE/HPLC-UV/PDA, développée et optimisée, est donc appropriée pour surveiller la concentration en MCs d'un plan d'eau eutrophe.

CHAPITRE 2

EFFETS DES VARIATIONS CLIMATIQUES SUR LA REPONSE DES ESPECES PHYTOPLANCTONIQUES EN CONDITIONS D'EUTROPHISATION : ETUDE QUALITATIVE ET QUANTITATIVE DE LA MATIERE ORGANIQUE ALGALE (MOA) ET SUIVI DE LA PRODUCTION DE MICROCYSTINES (MCs).

D'après l'étude bibliographique, le développement du phytoplancton est principalement contrôlé par les concentrations en nutriments, le climat (température, pluviométrie et luminosité favorables) et la stabilité de la masse d'eau. Ces facteurs conditionnent donc le développement des blooms mais également leur vitesse, leur intensité et par conséquent l'ampleur de leurs impacts (dégradation de la qualité de l'eau, augmentation de la charge organique, libération de métabolites toxiques).

D'ici la fin de 21^{ème} siècle, les scientifiques prédisent une augmentation du CO₂ atmosphérique, de la température de l'air et de l'eau et des épisodes pluvieux extrêmes (orages, sécheresses) (GIEC, 2013). Bien que l'évolution de ces facteurs convergent vers une accentuation de la fréquence, de l'intensité et de la durée des proliférations phytoplanctoniques (Visser *et al.*, 2016) et notamment vers une dominance des cyanobactéries (Paerl & Huisman, 2009 ; Carey *et al.*, 2012 ; Lürling *et al.*, 2013 ; Sandrini, 2016), les effets des variations climatiques sur la recrudescence et l'ampleur du phénomène ne sont que peu étudiés aujourd'hui. Peu de projets s'intéressent également aux effets des changements climatiques sur la quantité et les caractéristiques de la MON de la ressource en eau.

Quel va être l'impact des variations climatiques sur la dynamique et la recrudescence des phénomènes d'eutrophisation ? Quelles en seront les conséquences sur la dégradation de la qualité de l'eau et plus spécifiquement sur les caractéristiques de la matière organique naturelle, problème majeur dans les chaînes de traitement des eaux ? Quel va être l'impact des conditions de température et de pluviométrie sur la sélection des espèces algales et cyanobactériennes, leur développement et par conséquent la production de toxines ?

Ce chapitre 2 vise donc à étudier et comparer la croissance du phytoplancton et la production (quantité et qualité) de MOA et de MCs *via* une étude laboratoire (Axe 1), sur deux types d'espèces, *Chlorella vulgaris* et *Microcystis aeruginosa*, pour laquelle les conditions expérimentales simulent les conditions climatiques de trois pays, la France, la Suède et le Togo, pays répondant à l'étude *in-situ* (Axe 2).

Axe 1 : Comparaison de la croissance cellulaire, analyse quantitative et qualitative de la Matière Organique Algale et évaluation de la production de toxines de cultures de *Chlorella vulgaris* et de *Microcystis aeruginosa* sous conditions contrôlées : Etude en laboratoire, sous différentes conditions climatiques

La synthèse bibliographique a détaillé les facteurs de contrôle de la croissance phytoplanctonique. Pour leur métabolisme, les cellules requièrent des nutriments majeurs (C, H, O, N et P) ainsi que des macro- et micro-nutriments (Mg, K, Ca, S, Fe, B, Mn, Zn, Cu, Ni, Cl, Mo) (Chorus et Bartram, 1999 ; Reynolds, 2006), présents en quantité non limitante dans le milieu de culture. La température, l'intensité et durée lumineuse sont des paramètres déterminants de la vitesse de développement et sont choisies en fonction des espèces cultivées. La température stimule l'activité métabolique des cellules (activité enzymatique, photosynthétique, ...) (Raven & Geider, 1988), et la lumière leur procure l'énergie nécessaire à la photosynthèse (Hedger *et al.*, 2004). Le régime pluviométrique influence également le développement phytoplanctonique par apports de nutriments, perturbation de la stabilité de la masse d'eau (renouvellement).

La synthèse bibliographique a mis en évidence l'impact de l'âge de la culture (Henderson *et al.*, 2008 ; Leloup *et al.*, 2013), des espèces cultivées (Leloup *et al.*, 2013 ; Pivokonsky *et al.*, 2014) et des conditions de culture (milieu de culture, température, luminosité) (Pivokonsky *et al.*, 2006 ; Henderson *et al.*, 2008 ; Zhang *et al.*, 2011 ; Leloup *et al.*, 2013 ; Pivokonsky *et al.*, 2014) sur la production et les caractéristiques de la MOA. En conditions optimales de croissance, la production spécifique de MOA et ses propriétés en fonction des espèces, de la phase de latence à la phase de déclin avancé, ont été détaillées (Pivokonsky *et al.*, 2006 ; Henderson *et al.*, 2008 ; Leloup *et al.*, 2013). Cependant, ces études ont systématiquement été réalisées en conditions optimales et peu de données existent aujourd'hui sur l'impact des conditions de culture (température, pluviométrie) sur l'évolution quantitative et qualitative de la MOA et la production de toxines.

Cette partie de l'étude, réalisée au laboratoire sur des monocultures d'algue verte et de cyanobactérie dans un milieu de culture adapté à leur croissance, a trois objectifs majeurs. Elle vise à caractériser la croissance des deux espèces (durée des phases, concentration cellulaire), à évaluer les quantités de MOA générées tout en étudiant l'évolution des caractéristiques de cette MOA au cours des phases de croissance, et à suivre la production de MCs (concentration, répartition intra/extracellulaire) au cours de la croissance de la cyanobactérie, sous des conditions variables de température et de pluviométrie. Le choix des espèces étudiées s'est porté sur *Chlorella vulgaris* (CV), une algue verte, et *Microcystis aeruginosa* (MA), une cyanobactérie unicellulaire. Ces espèces sont choisies car elles sont très largement utilisées dans des expériences au laboratoire et sont toutes deux très fréquemment retrouvées dans les plans d'eau eutrophes. CV est notamment une des algues vertes les plus retrouvées dans les plans d'eau français (Lévi *et al.*, 2006 ; Antoine *et al.*, 2009) et des blooms de MA sont observés dans 108 pays (Harke *et al.*, 2016) ; *Microcystis* étant le genre dominant en France (présent dans 75% des sites) (Lévi *et al.*, 2006 ; Antoine *et al.*, 2009), mais également en Suède (Li *et al.*, 2017) et au Togo (Issifou *et al.*, 2014).

Trois conditions de température et de pluviométrie sont simulées afin d'évaluer et caractériser leurs effets respectifs sur les activités métaboliques du phytoplancton, la croissance des cultures et la quantité et la qualité de la MOA et des MCs produites. La MOA est quantifiée par suivi du COD et caractérisée par

fractionnement selon le caractère hydrophobe et par détermination de l'indice SUVA. Les MCs sont quantifiées par HPLC-UV/PDA après séparation des fractions intracellulaire et extracellulaire.

1. Impact des variations climatiques sur la croissance cellulaire et la production de MOA et de MCs générées d'une culture de *M. aeruginosa*

1.1. Analyse quantitative et qualitative sous les conditions de références : 23°C – sécheresse

La culture de *M. aeruginosa*, soumise à une température de 23°C sous une condition pluviométrique simulant un cas de sécheresse, est considérée comme référence. Cette température est choisie car elle représente la moyenne des températures optimales de croissance de cette espèce (Lévi, 2006) et elle est fréquemment retrouvée dans la littérature pour les cultures. De plus, les conditions expérimentales d'un cas de sécheresse sont préférées dans cette analyse référentielle car elles correspondent aux conditions expérimentales fréquemment retrouvées dans la littérature mais sans étude spécifique de leurs variations. En effet, en mode de culture batch, largement utilisée pour les cultures de laboratoire de phytoplancton, les éléments essentiels à la croissance (N, P, C, microéléments) sont apportés au temps zéro de la culture. Leur concentration va diminuer progressivement, suite à leur consommation par les cellules, et aucun apport n'est réalisé au cours de la culture.

1.1.1. Détermination des phases de croissance

L'évolution de l'absorbance au cours de la croissance de *M. aeruginosa* à une température de 23°C et sous un régime pluviométrique simulant un cas de sécheresse (aucun apport d'eau ni de MO allochtone, évaporation progressive de l'eau) est présentée en Figure 68. Les mesures d'absorbance sont interprétées pour déterminer les phases de croissance.

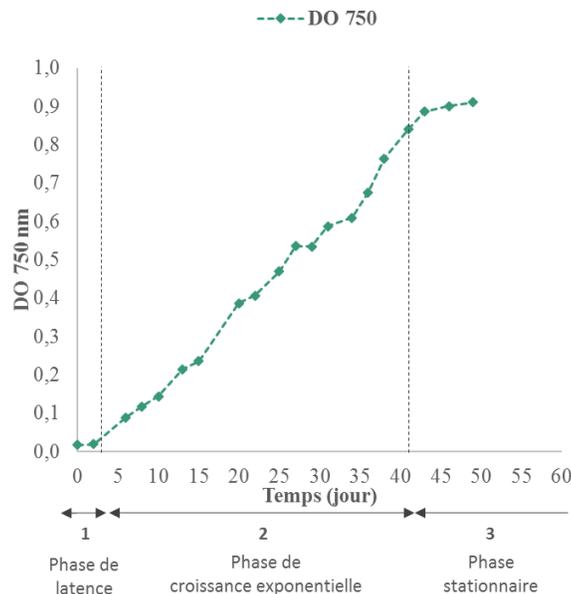


Figure 68 : Evolution de l'absorbance à 750 nm et détermination des phases de croissance pour la culture de *M. aeruginosa*.

Trois phases de croissance sont observées : une phase de latence en début d'expérience durant laquelle les cellules s'adaptent aux conditions, une phase de croissance exponentielle pendant laquelle la population augmente rapidement et une phase stationnaire caractérisée par un ralentissement de la

croissance lié au manque de nutriments. La phase de déclin symbolisée par la mort des cellules, n'apparaît pas sur la Figure 68. Elle se caractérise par un changement de couleur de la culture du vert vers le jaunemarron témoignant alors d'une dégradation de la santé des cellules. L'absorbance spécifique n'a plus de signification et ne peut plus être reliée au nombre de cellules au-delà de la phase stationnaire à cause de la turbidité due à la mortalité cellulaire et du fait de changement de couleur des pigments chez les cellules sénescents.

Dans les conditions expérimentales de l'étude, la souche de *M. aeruginosa* présente une phase de latence de 4 jours, une phase exponentielle de 37 jours (jours 4 à 41) et une phase stationnaire de 8 jours (jours 41 à 49) (Tableau 41). La phase stationnaire est déterminée grâce au suivi de la concentration en COD, elle intervient au 41^{ème} jour, lorsque l'augmentation de la concentration en COD devient constante dans la solution et correspond à la phase de plus forte production de COD. Pour une même espèce, la durée des phases de croissance diffère d'une étude à l'autre sous l'impact de conditions environnementales (température, milieu de culture, luminosité ; Tableau 41). Dans cette étude, la durée de la phase de latence est comparable aux études de Leloup *et al.* (2013) et Pivokonsky *et al.* (2014). Le milieu de culture choisi ne présente donc pas d'impact négatif sur l'adaptation et le développement des cellules. Au contraire, la phase exponentielle de 37 jours est plus de deux fois plus longue que dans les études de Leloup *et al.* (2013) et Pivokonsky *et al.* (2014), écart que peut expliquer la différence de milieu de culture ou de souche de *M. aeruginosa*. Des durées variables de la phase de croissance stationnaire sont également observées, seulement 5 jours dans l'étude de Pivokonsky *et al.* (2014) contre 11 jours dans l'étude de Leloup *et al.* (2013). Dans la présente étude, la durée de la phase stationnaire se situe dans la moyenne des autres études recensées dans la littérature. De la durée des phases de croissance dépend la concentration cellulaire et par conséquent, la production de MOA.

Tableau 41 : Durées des phases de croissance d'une culture de *M. aeruginosa* en fonction des conditions environnementales

Conditions environnementales	Phase de latence	Phase exponentielle	Phase stationnaire	Référence
Milieu Z8 – 23°C – 14h lumière	4	37	8	<i>Cette étude</i>
Milieu Chu 10 modifié – 23°C – 14h lumière	6	15	11	Leloup <i>et al.</i> , 2013
Milieu WC – 20°C – 16h lumière	3	12	5	Pivokonsky <i>et al.</i> , 2014

1.1.2. Evolution de la MOA générée au cours des phases de croissance

1.1.2.1. Evolution quantitative

L'évolution de la concentration en COD est présentée Figure 69-a. L'inoculation du milieu de culture par les souches entraîne une augmentation du COD du milieu Z8 pur. Au temps initial T_0 , il s'élève à 2,1 mg C.L⁻¹. Après 84 jours de croissance, il atteint 62,2 mg C.L⁻¹. Au cours des phases de croissance, la quantité et les caractéristiques de la MOA produite varient.

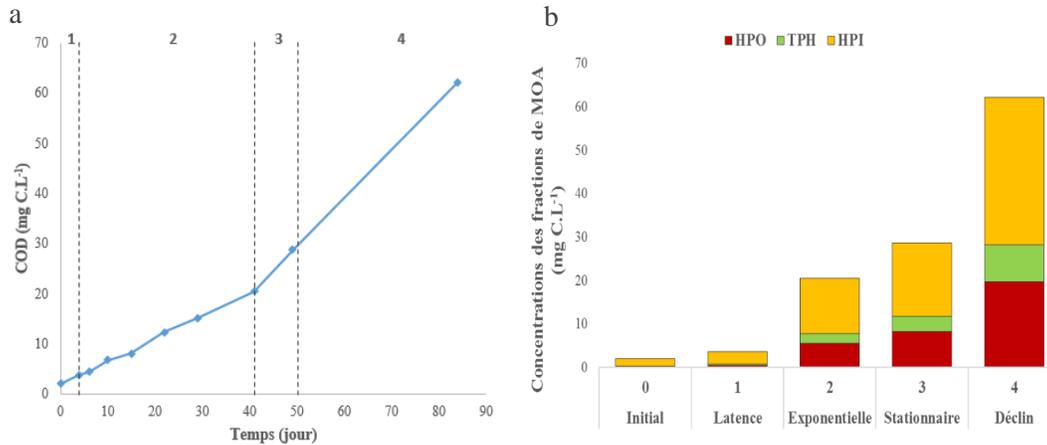


Figure 69 : Evolution de la concentration en COD (a) et des concentrations des fractions de MOA (b) au cours de la croissance de *M. aeruginosa*

La Figure 69-b présente l'évolution des concentrations des différentes fractions hydrophobes de la MOA en fonction des phases de croissance. Initialement, après inoculation des souches dans le milieu de culture, la concentration en COD est faible (2,1 mg C.L⁻¹) et la matière organique est majoritairement hydrophile (88%). Ce fort caractère hydrophile s'explique par l'apport de MOA lors de l'inoculation de la culture et par les caractéristiques intrinsèques du milieu Z8.

Au cours de la phase de latence (1), la quantité de COD produite est faible (+1,6 mg C.L⁻¹) et la matière organique se compose majoritairement de HPI (+1,1, mg C.L⁻¹). Les fractions HPO et TPH sont peu significatives (< 0,4 mg C.L⁻¹). Au cours de la phase exponentielle (2), la quantité de COD produite est plus de 10 fois supérieure à la phase de latence (+16,9 mg C.L⁻¹) et la matière produite est majoritairement hydrophile (+9,8 mg C.L⁻¹ de HPI contre +5,1 mg C.L⁻¹ de HPO et +2 mg C.L⁻¹ de TPH). Durant la phase stationnaire (3) l'augmentation du COD continue (+8,2 mg C.L⁻¹ avec +4,3 mg C.L⁻¹ de HPI, +2,7 mg C.L⁻¹ de HPO et +1,2 mg C.L⁻¹ de TPH). Enfin, au cours de la phase de déclin (4), le COD augmente très fortement (+33,4 mg C.L⁻¹) pour atteindre au 84ème jour une concentration de 62,2 mg C.L⁻¹ (+17,1 mg C.L⁻¹ de HPI, +11,4 mg C.L⁻¹ de HPO et +4,9 mg C.L⁻¹ de TPH).

L'augmentation du COD n'est pas linéaire. Les taux de production de MOA (mg C.L⁻¹.jour⁻¹) au cours des phases de croissance de la culture de *M. aeruginosa* sont présentés Tableau 42. La dynamique globale de production de MOA est comparable aux résultats de la littérature (Henderson *et al.*, 2008 ; Leloup *et al.*, 2013; Pivokonsky *et al.*, 2014). Le taux de production est minimum en phase de latence, 0,40 mg C.L⁻¹.jour⁻¹, et augmente progressivement au cours de la phase exponentielle avec la croissance cellulaire et l'augmentation de la concentration en COD. Au cours de cette phase, la MOA produite provient essentiellement du métabolisme cellulaire et s'assimile à la MOE (Pivokonsky *et al.*, 2006 ; Henderson *et al.*, 2008). En phase de croissance stationnaire, le taux de production atteint son maximum avec 1,03 mg C.L⁻¹.jour⁻¹. La MO produite lors de cette phase, provient du métabolisme des cellules vivantes (MOE) mais également de la MOI libérée par les cellules sénescents (Pivokonsky *et al.*, 2006 ; Henderson *et al.*, 2008 ; Villacorte, 2015). Puis, le taux de production diminue durant la phase de déclin avec la diminution du métabolisme cellulaire, et atteint 0,95 mg C.L⁻¹.jour⁻¹.

Tableau 42 : Taux de production de COD par phase et par fraction (mg C.L⁻¹.jour⁻¹)

Phases de croissance	COD	HPO	TPH	HPI
1. Latence	0,40	0,08	0,04	0,27
2. Exponentielle	0,46	0,14	0,05	0,26
3. Stationnaire	1,03	0,34	0,15	0,54
4. Déclin	0,95	0,33	0,14	0,49

Les taux de production observés sont très significativement inférieurs à ceux mesurés par Pivokonsky *et al.* (2014). Le milieu de culture utilisé, le WC, contient initialement un COD supérieur à 10 mg C.L⁻¹ pouvant expliquer les COD élevés. Les taux de production observés sont supérieurs à ceux mesurés par Leloup *et al.* (2013). Les concentrations en COD mesurées, 25-30 mg C.L⁻¹ dans cette étude contre 5-11 mg C.L⁻¹ dans l'étude de Leloup *et al.* (2013) et la concentration cellulaire (DO₇₅₀ = 0,9 dans cette étude contre DO₇₅₀ = 0,5 dans l'étude de Leloup *et al.* (2013)) expliquent ces différences. Les conditions (lumière, température) sont comparables entre les deux études. En revanche, le milieu de culture et la souche de *M. aeruginosa* sont différentes et peuvent expliquer ces variations. Pour une même espèce, les conditions environnementales impactent significativement la croissance et la production de MOA.

Tableau 43 : Disparités du taux de production de MOA et des concentrations en COD en chaque phase de croissance d'une culture de *M. aeruginosa* en fonction des conditions environnementales. (Durée en jour ; taux de production en mg C.L⁻¹.jour⁻¹ ; COD mesurée à la fin de la phase en mg C.L⁻¹)

PHASE DE LATENCE			PHASE EXPONENTIELLE			PHASE STATIONNAIRE			Référence
Durée	Taux de production	COD	Durée	Taux de production	COD	Durée	Taux de production	COD	
4	0,40	3,7	37	0,46	20,5	8	1,03	28,7	Cette étude
6	0,14	2,8	15	0,2	5	11	0,48	11	Leloup <i>et al.</i> , 2013
3	-	-	12	4,2	55	5	3,2	71	Pivokonsky <i>et al.</i> , 2014

Les taux de production spécifiques de chaque fraction varient en fonction des phases de croissance. Celui des HPI évolue de manière similaire au global avec un maximum en phase stationnaire. Son taux de production est, en chaque phase, supérieur à ceux des composés plus hydrophobes. Les taux de production de HPO et TPH évoluent de la même manière à savoir une augmentation progressive entre la phase de latence et stationnaire puis un taux stable. Les fractions TPH et HPO commencent à être produites en quantités importantes en phase exponentielle et sont toujours produites en phase de déclin en corrélation avec la mort des cellules et la libération de MOI. Ces résultats concordent avec ceux d'Henderson *et al.*, (2008) et Leloup *et al.*, (2013), qui ont observé une augmentation de la fraction HPO avec le vieillissement. Le ratio des taux de production des fractions entre les phases exponentielle et de déclin, 2,4 ; 2,6 et 1,8 respectivement pour HPO, TPH et HPI, est supérieure pour les composés HPO et TPH, témoignant de la formation prédominante de ces composés en fin de culture.

1.1.2.2. Evolution qualitative

La Figure 70 présente l'évolution de la répartition des fractions hydrophobes de la MOA entre les phases de latence et de déclin. Ces proportions sont comparables à la littérature (Henderson *et al.*, 2008 ; Leloup *et al.*, 2013 ; Pivokonsky *et al.*, 2014) (Tableau 12), avec un fort pourcentage de HPI (55 – 80%)

tout au long de la croissance de la culture (> 50%) (Her *et al.*, 2004, Zhang *et al.*, 2011 ; Li *et al.*, 2012, Leloup, 2013).

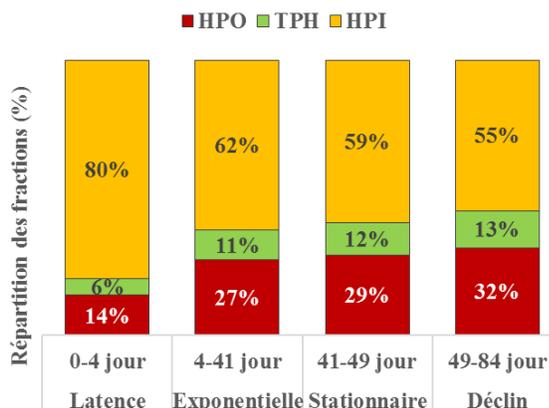


Figure 70 : Répartition des fractions hydrophobes dans la solution à la fin de chaque phase de croissance de *M. aeruginosa*

La production de composés hydrophiles diminue au cours de la croissance jusqu'à la phase stationnaire puis se stabilise. En parallèle, les proportions de composés hydrophobes et transphiliques augmentent. Ainsi, après 84 jours, la fraction HPI a diminué de 31% et les fractions HPO et TPH ont augmenté de 129% et 117%. Les caractéristiques de la MOA évoluent d'une manière comparable à la littérature (Henderson *et al.*, 2008 ; Leloup *et al.*, 2013 ; Pivokonsky *et al.*, 2014), à savoir une augmentation de la fraction HPO. Sous l'influence des conditions de culture (milieu, température, souche), les intensités d'évolution diffèrent d'un auteur à l'autre, avec par exemple une augmentation des HPO de 25% (Henderson *et al.*, 2008) à 1300% (Pivokonsky *et al.*, 2014).

La répartition des fractions évolue en accord avec le vieillissement et la sénescence cellulaire qui contribuent à la libération de composés intracellulaires. Or, plusieurs auteurs (Fang *et al.*, 2010 ; Qu *et al.*, 2012 ; Leloup *et al.*, 2013) ont montré que la MOE, générée en phases de latence et exponentielle, présente un caractère hydrophobe moins marqué que la MOI générée en phases stationnaire et de déclin. Ainsi, l'origine de la MOA contribuant à l'augmentation du COD évolue au cours de la croissance : la MOE est la principale source jusqu'à la fin de la phase exponentielle, la MOI, libérée lors de la sénescence cellulaire prend progressivement le relais en phase stationnaire et est majoritaire en phase de déclin. Leurs caractéristiques définissent les caractéristiques globales de la MOA.

Outre le fractionnement selon le caractère hydrophobe, la mesure de l'indice SUVA est largement utilisée pour caractériser la MO. L'indice SUVA est déterminé à chaque phase de croissance (Tableau 44). Cet indice est utilisé pour déterminer l'aromaticité de la MO produite par la culture. La MOA générée présente un faible caractère aromatique, en accord avec la littérature ($SUVA < 30 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$) (Nguyen *et al.*, 2005 ; Henderson *et al.*, 2008) et un faible caractère hydrophobe (Figure 70).

Tableau 44 : Indices SUVA mesurés à la fin de chaque phase de croissance

Référence	SUVA global ($\text{L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$)			
	Phase de latence	Phase exponentielle	Phase stationnaire	Phase de déclin
Cette étude	11,8	9,8	12,2 ± 0,9	14,2 ± 0,6
Henderson <i>et al.</i> , 2008	-	16,5	4,8	-
Leloup <i>et al.</i> , 2013	-	-	10,7 ± 1,3	10,4 ± 0,8
Pivokonsky <i>et al.</i> , 2014	-	16 ± 0,4	7 ± 0,3	-

Sous l'effet du développement cellulaire et de la composition initiale du milieu, l'indice SUVA atteint $11,8 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$ en fin de phase de latence. Cette observation est cohérente avec les caractéristiques de la MOA produite, composée à 69% de HPI, dont le caractère aromatique est faible (Tableau 45). Durant la phase exponentielle, la culture produit de la MOA, composée à 58% de HPI et 30% de HPO. Le faible indice SUVA de la fraction HPI explique la valeur du SUVA d'environ 10. Au cours de la phase stationnaire, la matière produite est composée de 52% de HPI et 33% de HPO. Leloup *et al.* (2013) ont observé une augmentation de l'indice SUVA de la fraction HPO au cours du vieillissement de la culture. L'augmentation de la part de HPO et l'augmentation du SUVA_{HPO} expliquent l'augmentation du SUVA global de la MOA. Au cours de la phase de déclin, l'indice SUVA augmente (+16%), en cohérence avec la dynamique des fractions de MOA ; notamment l'augmentation de la fraction HPO et l'augmentation du SUVA_{HPO} . Ces résultats diffèrent de ceux de la littérature (Henderson *et al.*, 2008 ; Leloup *et al.*, 2013 ; Pivokonsky *et al.*, 2014).

Tableau 45 : Indices SUVA des fractions de MOA produite par *M. aeruginosa* (Leloup *et al.*, 2013)

	HPO	TPH	HPI
Phase stationnaire	$12,0 \pm 0,4$	$7,3 \pm 0,6$	$11,9 \pm 0,5$
Phase de déclin	$19,0 \pm 2,7$	$4,0 \pm 1,0$	$11,6 \pm 0,4$

1.1.3. Analyse quantitative des MC produites

Au cours de la croissance de MA, les concentrations en toxines intracellulaires et extracellulaires sont évaluées afin d'identifier et comparer l'impact des conditions de température et de pluviométrie sur la production. De nombreux variants de MCs sont identifiés et observés dans les eaux du milieu naturel. Ces variants ne présentent pas tous les mêmes caractéristiques ni les mêmes toxicités. Dans cette étude, les résultats sont présentés en quantité totale de MCs, exprimé en équivalent MC-LR, comme préconisé dans les recommandations relatives à l'eau potable (arrêté du 11 janvier 2007) ou à l'eau de baignade (DGS/EA4 n° 2015-181).

La Figure 71-a présente l'évolution des concentrations en MCs aux différentes phases de croissance de la cyanobactérie. A la suite de l'inoculation du milieu par la culture, la concentration totale en MCs est égale à $21 \pm 1 \mu\text{g.L}^{-1}$. Au cours du vieillissement de la culture, la concentration augmente et atteint une valeur de $5906 \pm 194 \mu\text{g.L}^{-1}$ en phase de déclin.

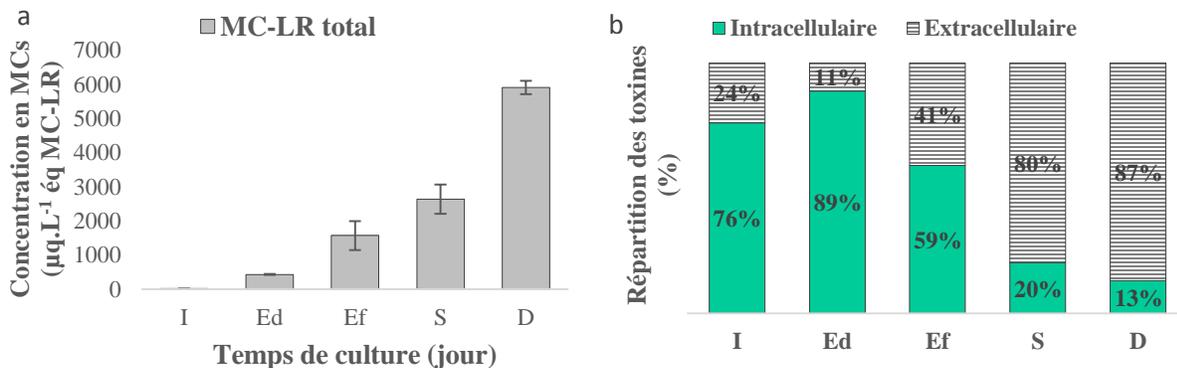


Figure 71 : (a) Evolution de la concentration totale en MCs au cours du vieillissement de la culture ; (b) Evolution des proportions en toxines intra et extracellulaires au cours du vieillissement. (I : Initial ; Ed : début phase Exponentielle ; Ef : fin phase Exponentielle ; S : Stationnaire ; D : déclin)

En accord avec la littérature (Chorus et Bartram, 1999 ; Meriluoto et Codd, 2005 ; Lévi *et al.*, 2006), les toxines intracellulaires sont majoritaires en début de croissance et leur proportion diminue au cours du vieillissement de la culture de *M. aeruginosa* (Figure 71-b). En effet, à partir de la phase stationnaire (41 jours), les cellules en sénescence libèrent leur contenu intracellulaire et les toxines se retrouvent libres dans le milieu.

1.2. Effets des variations climatiques sur la croissance de *M. aeruginosa*

1.2.1. Effet de la température

La température est un des principaux facteurs de contrôle du phytoplancton. Les faibles températures imposées sont susceptibles de limiter le développement des cultures et de perturber la production de MOA. Les cyanobactéries (ici *M. aeruginosa*) présentent un optimal de croissance pour une température autour de 25°C (Reynolds, 2006).

La Figure 72 présente l'évolution de l'absorbance (DO_{750}) et de la concentration cellulaire d'une culture de *M. aeruginosa* soumise à trois températures : 23°C, 15°C et 5°C. Ces paramètres permettent de déterminer les phases de croissance. Sous une température de 5°C, la croissance de *M. aeruginosa* est limitée et la concentration cellulaire n'augmente pas (Figure 72-b, e). Il est alors choisi d'augmenter la température à 23°C. Cette évolution permet d'observer la reprise de croissance de *M. aeruginosa*.

Avec la diminution de la température, la durée de la phase de latence et d'acclimatation des cellules aux conditions, augmente. En comparaison avec la condition de référence à 23°C, cette phase augmente de 4 jours sous une température de 15°C. A 5°C, même après 15 jours de culture, aucune croissance n'est observée mais dès lors que la température est augmentée à 23°C, la croissance est initiée. En fin de phase exponentielle, au jour 35 pour la condition de référence (23°C), la DO_{750} est significativement supérieure en comparaison à 15°C et 5°C-23°C (respectivement 0,698, 0,266 et 0,360). Ces résultats sont confirmés par la comparaison des taux de croissance ($DO.jour^{-1}$) en phase de latence et exponentielle pour chacune des températures (Tableau 46). Cependant, pour la condition 5°C-23°C, la croissance exponentielle se poursuit jusqu'au jour 45 et permet d'atteindre une DO_{750} maximale de 0,682, comparable à la DO_{750} pour la condition de référence (Figure 72-c). A 15°C, la croissance reste limitée, avec une concentration cellulaire maximale de $1,1.10^6$ cellules.mL⁻¹, inférieure la concentration cellulaire à 5°C-23°C ($7,1.10^6$ cellules.mL⁻¹) (Figure 72-d,e). Ainsi, une faible température limite et ralentit la croissance de *M. aeruginosa*. Cependant, dès que la température est augmentée à une valeur optimale, la croissance repart pour atteindre des concentrations similaires à la culture de référence. Une cyanobactérie en phase de latence est donc apte à conserver un état de dormance et à se développer dès que les conditions lui sont favorables. On peut imaginer qu'une ressource en eau contaminée par des cyanobactéries ne présentera pas de croissance cellulaire en hiver mais conservera un potentiel de développement qui s'exprimera dès que la température du milieu augmentera. Ce phénomène contribue certainement à l'effet mémoire des ressources en eau qui permet une reprise rapide d'efflorescences bactériennes au printemps.

Tableau 46 : Taux de croissance ($DO.jour^{-1}$) en fonction de la température de culture

Phases de croissance	23°C	15°C	5°C-23°C
1. Latence (0-4 jours)	0,0054	0,0031	0,0006
2. Exponentielle (4-35 jours)	0,0216	0,0075	0,0110

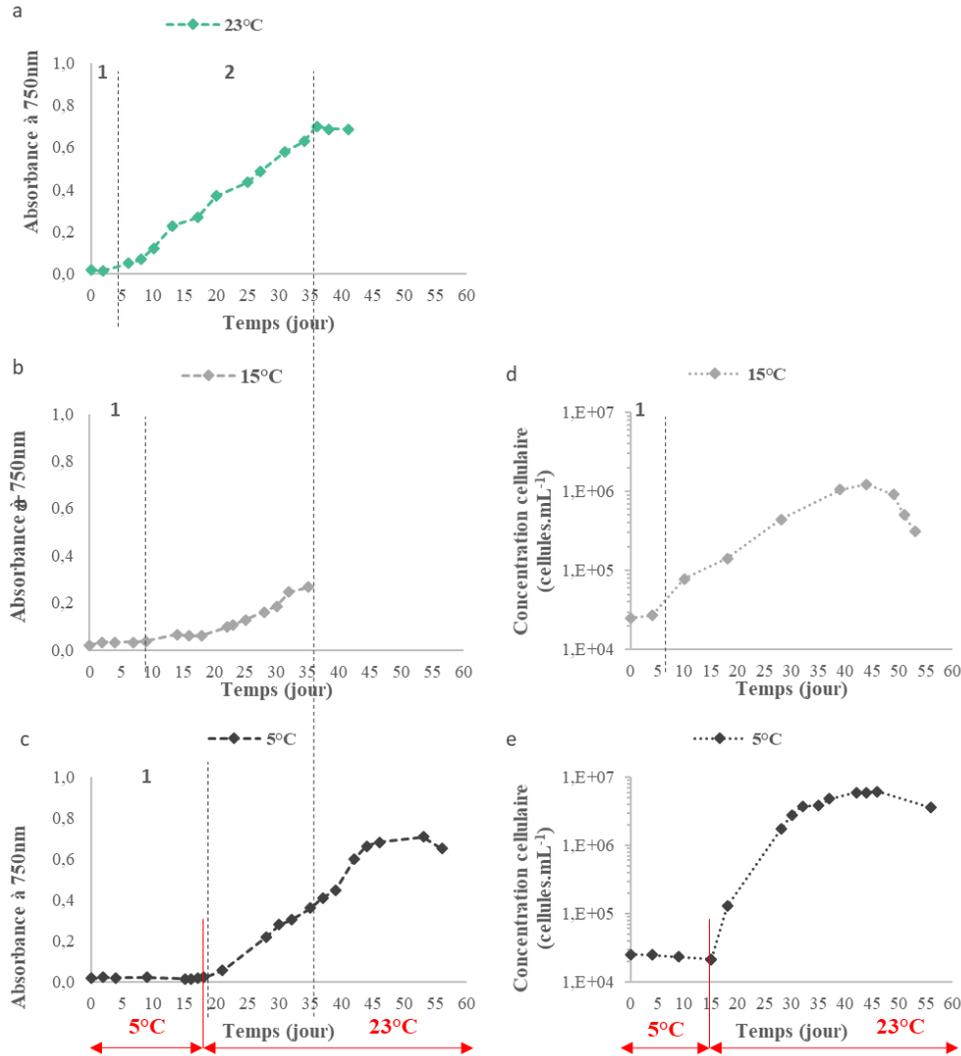


Figure 72 : Effet de la température sur la croissance de *M. aeruginosa*, suivi de (a, b, c) l'absorbance à 750 nm et (d, e) la concentration cellulaire (1 : phase de latence ; 2 : phase exponentielle)

1.2.2. Effet de la pluviométrie

Afin d'étudier les effets de la pluviométrie sur la croissance d'une culture de *M. aeruginosa* et sur la production de MOA, trois conditions pluviométriques sont simulées : la condition « sécheresse », aucun apport ; la condition « ruissellement », apports réguliers (3 fois par semaine pendant 7 semaines) de 6 mL de milieu Z8 enrichi en MO et la condition « orage », deux apports (aux jours 24 et 50) de 60 mL de milieu Z8 enrichi en MO. La MO apportée correspond à des AF de la Suwannee River dont les caractéristiques sont présentées dans le Tableau 47. La MO ainsi apportée se caractérise par un fort caractère hydrophobe ($\sim 71\%$ de HPO, $\sim 15\%$ de TPH) et un fort caractère aromatique ($SUVA \sim 48 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$) comparable aux valeurs de Leloup *et al.* (2013) ($47,4 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$) et spécifique aux valeurs des AF de rivières.

Tableau 47 : Concentrations et caractéristiques des apports simulant un ruissellement ou un orage

	Concentration (mg C.L ⁻¹)	Apport total (mg C)	Fraction de la MO (%)			SUVA global (L.cm ⁻¹ .g C ⁻¹)
			HPO	TPH	HPI	
Apports Z8 + MO	21 ± 1	2,5 ± 0,3	70,6 ± 0,7	14,8 ± 0,4	15 ± 1	48,5 ± 0,1

1.2.2.1. Sous une température de 23°C

Le Tableau 48 détaille les apports (volume et matière) réalisés pour chaque condition et à chaque phase de croissance. Les orages simulés ont lieu au jour 24 et 50. Aucun apport n'est réalisé au cours de la phase de latence.

Tableau 48 : Volume de milieu Z8 (mL) et quantité de MO (mg COD_{AF}) ajoutés dans les erlenmeyers au cours de chaque phase de croissance de *M. aeruginosa*. Durée des phases de croissance définie à partir de la culture à 23°C

	Exponentielle (jours 4 à 41)	Stationnaire (jours 41 à 49)	Déclin (jours 49 à 84)	TOTAL AJOUTE
Ruissellement	78 mL – 1,71 mg	18 mL – 0,40 mg	24 mL – 0,46 mg	120 mL – 2,57 mg
Orage	60 mL – 1,37 mg	-	60 mL – 1,19 mg	120 mL – 2,56 mg

Les évolutions de la DO₇₅₀ au cours de la croissance, en fonction des apports en pluviométrie sont présentées Figure 73.

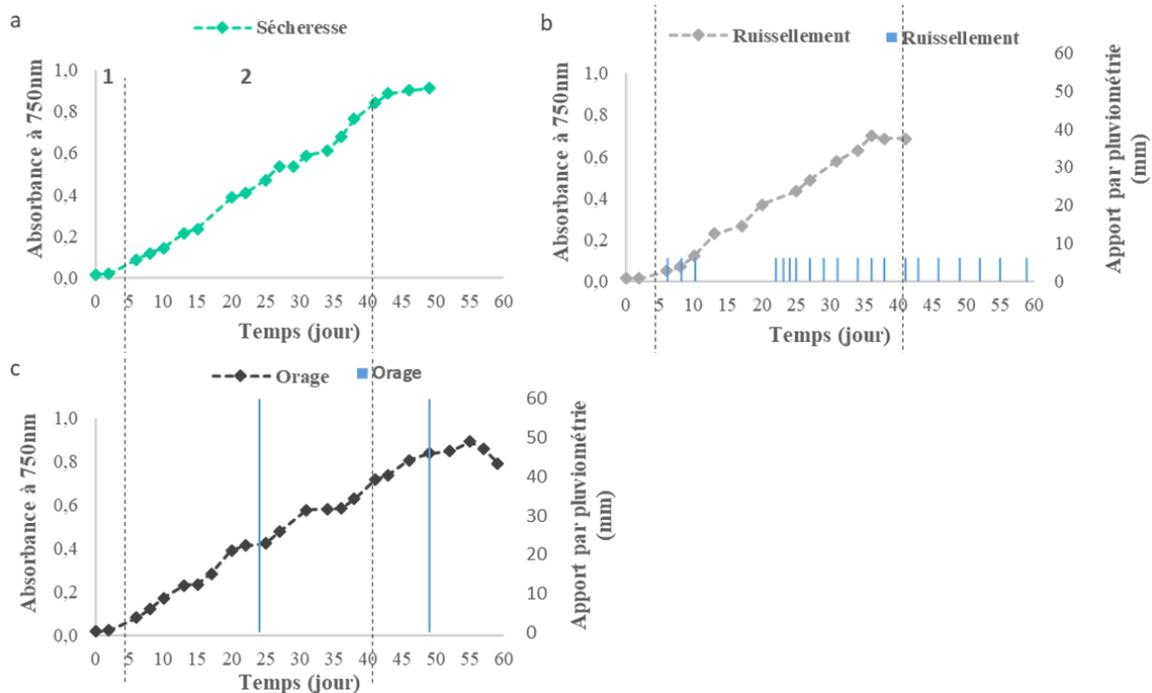


Figure 73 : Effet de la pluviométrie sur la croissance de *M. aeruginosa* cultivée à 23°C. Les apports sont simulés par ajout de milieu Z8 contenant des AF à une concentration moyenne de 21 ± 1 mg C.L-1

Au cours de la phase exponentielle, les 13 apports par ruissellement, soit 78 mL de milieu Z8 et 1,71 mg COD_{AF}, perturbent la croissance de *M. aeruginosa* qui présente alors un taux de croissance, entre les jours 4 et 41, de $0,0171 \text{ DO}_{750} \cdot \text{jour}^{-1}$ inférieur au $0,0210 \text{ DO}_{750} \cdot \text{jour}^{-1}$ de la condition de sécheresse. Ces apports ralentissent donc légèrement la croissance de *M. aeruginosa* et réduisent la durée de la phase exponentielle de 5 jours. La DO₇₅₀ maximale atteinte est alors inférieure à la référence (0,698 contre 0,840) (Figure 73-a,b). L'orage simulé durant la phase exponentielle perturbe légèrement la croissance, qui montre après 41 jours, une DO₇₅₀ de 0,718, inférieure à la DO₇₅₀ de la condition de référence (0,840). Il rallonge cependant la phase exponentielle de 16 jours et permet d'atteindre une DO₇₅₀ de 0,894, supérieure à la DO₇₅₀

de la condition de référence (Figure 73-a,c). La modalité orage semble donc avoir un rôle limitant dans un premier temps et promoteur dans un second temps sous une température de 23°C.

1.2.2.2. Sous une température de 15°C

Le Tableau 49 détaille les apports (volume et matière) réalisés pour chaque condition et à chaque phase de croissance. Les orages simulés ont lieu aux jours 24 et 50.

Tableau 49 : Volume de milieu Z8 (mL) et quantité de MO (mg COD_{AF}) ajoutés dans les erlenmeyers au cours de chaque phase de croissance de *M. aeruginosa*. Durée des phases de croissance définie à partir de la culture à 15°C

	Latence (jour 0 à 8)	Exponentielle (jour 8 à 44)	Stationnaire (jour 44 à 49)	Déclin (jour 49 à 84)	TOTAL AJOUTE
Ruisselement	12 mL – 0,24 mg	72 mL – 1,52 mg	6 mL – 0,14 mg	30 mL – 0,64 mg	120 mL – 2,54 mg
Orage		60 mL – 1,28 mg	-	60 mL – 1,27 mg	120 mL – 2,55 mg

La Figure 74 présente les évolutions de la DO₇₅₀ et de la concentration cellulaire au cours de la croissance d'une culture de *M. aeruginosa*, soumise à une température de 15°C sous différentes conditions pluviométriques.

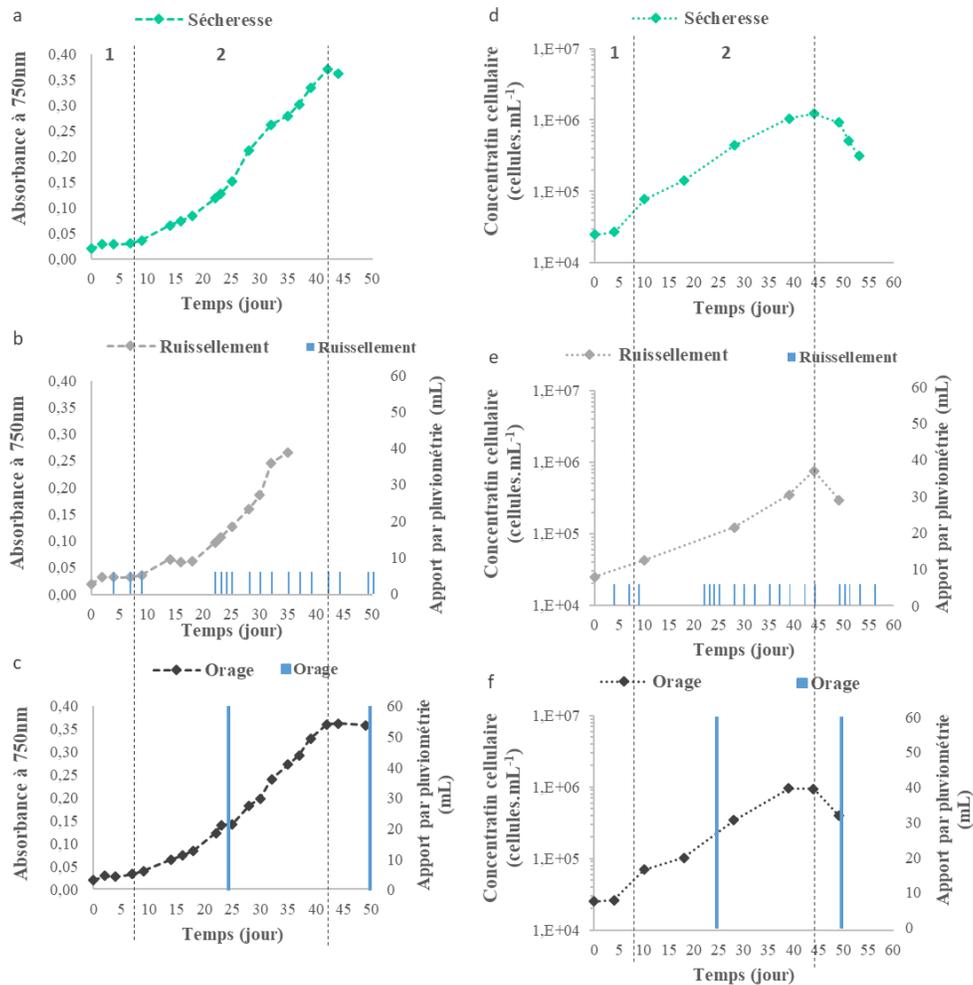


Figure 74 : Effet de la pluviométrie sur la croissance de *M. aeruginosa* cultivée à 15°C. Les apports sont simulés par ajout de milieu Z8 contenant des AF à une concentration moyenne de 21 ± 1 mg C.L⁻¹

Les apports simulés n'ont pas d'influence significative sur la durée des premières phases de croissance, avec une phase de latence de 8 jours et une phase exponentielle de 36 jours (jours 8 à 44). L'orage simulé au jour 24, n'impacte pas à 15°C la croissance cellulaire qui montre des valeurs de DO₇₅₀ et de taux de croissance comparables à la condition de référence (Tableau 50). En revanche, les apports par ruissellement, soit 12 mL en phase de latence et 72 mL en phase exponentielle, limitent légèrement la croissance comme le montre le taux de croissance cellulaire inférieur à celui de référence (Tableau 50).

Tableau 50 : Effet des apports sur la croissance de *M. aeruginosa* à 15°C

	DO ₇₅₀	A 44 jours	En phase exponentielle
		Concentration cellulaire (cellules.mL ⁻¹)	Taux de croissance cellulaire (cellules.jour ⁻¹)
Sécheresse	0,370	1,26.10 ⁶	0,0374
Ruissellement	-	0,76.10 ⁶	0,0343
Orage	0,360	0,95.10 ⁶	0,0368

Le bilan de l'effet des conditions climatiques (température et pluviométrie) sur la croissance de *M. aeruginosa* est présenté Tableau 51. Des effets non négligeables sont observés sur la croissance notamment avec la diminution de température. Une diminution de la température augmente la durée des phases de latence et exponentielle et impacte négativement la croissance de la culture en fin de phase exponentielle. Sous une température de 23°C, favorable à la croissance de *M. aeruginosa*, les apports par pluviométrie impactent également la croissance de la culture. Sous une température de 15°C, la croissance étant limitée par la faible température imposée, l'effet de la pluviométrie est diminué.

Tableau 51 : Effets de la température et de la pluviométrie sur la croissance de *M. aeruginosa*. Dans le cas de la température, les résultats sont comparés aux conditions 23°C-ruissellement. Dans le cas de la pluviométrie à 23°C, les résultats sont comparés aux conditions 23°C – sécheresse. Dans le cas de la pluviométrie à 15°C, les résultats sont comparés au cas 15°C – sécheresse. (R : ruissellement ; O : orage)

Durée des phases (jour)	Latence Exponentielle	Température		Pluviométrie à 23°C		Pluviométrie à 15°C	
		15°C	5°C	R	S	R	O
		+4	> +10	=	=	=	=
		+10	+10	-5	+16	=	=
DO ₇₅₀	En fin de phase exponentielle de la condition de référence	-62%	-48%	-18%	-15%	<	-2%
	Maximum	-62%	+1%	-17%	+6%		

1.3. Effets des variations climatiques sur la production de MOA d'une culture de *M. aeruginosa*

1.3.1. Effet de la température

Les quantités de MOA produite par la culture de *M. aeruginosa* sous différentes températures sont présentées Figure 75-a,b,c. Après inoculation, le COD atteint 2,12 mg C.L⁻¹, 4,1 mg C.L⁻¹ et 4,3 mg C.L⁻¹ respectivement pour les températures de 23°C, 15°C et 5°C-23°C. Bien que la culture mère soit en phase exponentielle lors de chaque inoculation, des variations liées au matériel biologique et instrumental peuvent expliquer ces différences de concentration initiale.

La concentration en COD augmente au cours de la croissance pour atteindre, respectivement à 23°C et 5°C-23°C, 69 mg C.L⁻¹ et 66,3 mg C.L⁻¹ après 84 jours de culture. Une contamination apparue au jour 50

dans la culture à 15°C ne permet pas de quantifier le COD après le jour 49. Au jour 49, la concentration en COD atteint 29,4 mg C.L⁻¹, 14,6 mg C.L⁻¹ et 41,2 mg C.L⁻¹ pour les températures de 23°C, 15°C et 5°C-23°C respectivement, soit une augmentation d'un facteur de 14 ; 3 et 10. La production de COD est donc fortement dépendante de la température.

Une étude du fractionnement de la MOA permet d'identifier la phase et la fraction principalement impactées. La Figure 75-d,e,f présente les évolutions des concentrations des fractions hydrophobes de la MOA. Le découpage temporel se base sur la durée des phases de croissance pour la condition 23°C-ruissellement. Les trois conditions montrent une augmentation progressive du COD au cours du vieillissement, mais une quantité générée par phase différente. La production de matière lors de la phase de latence est la principale impactée par la diminution de de température : sous une température optimale, 1,3 mg C.L⁻¹ est produit en phase de latence et cette quantité diminue de 67% à 15°C et de 83% à 5°C. La différence de production entre les conditions 23°C et 15°C s'agrandit avec le vieillissement et atteint jusqu'à -94% de matière produite en phase stationnaire. A 5°C-23°C, l'augmentation de température au jour 15 permet une reprise de la croissance caractérisée par une très forte production de MOA en phase exponentielle (+59% comparé à la production de référence). La production est donc fortement limitée pour une température de 15 °C par comparaison à une température constante et optimale de 23°. De plus, des fluctuations de température (5-23°C) impactent la croissance linéaire de la culture mais le retour à une température optimale permet de maintenir la croissance cellulaire. A 23°C, la culture produit majoritairement des HPI en phase de latence et exponentielle (> 50% de la matière produite), cette proportion diminue avec le vieillissement, et la libération de MOI, pour donner place aux composés hydrophobes. A 15°C, la matière produite est très majoritairement composée de HPI (>80%). Durant la phase de latence à 5°C, le développement de la culture est limité, la matière produite provient essentiellement des apports par ruissellement effectués, expliquant l'augmentation de la concentration des composés hydrophobes. La reprise du développement au changement de température engendre une production de MOA, au caractère hydrophile marqué, expliquant l'augmentation de la concentration en fraction HPI à partir de la fin de la phase exponentielle. La condition de référence est la plus favorable à la transformation des molécules en composés hydrophobes, avec le plus fort pourcentage de HPO en phase de déclin (41% contre et 34% 5°C-23°C).

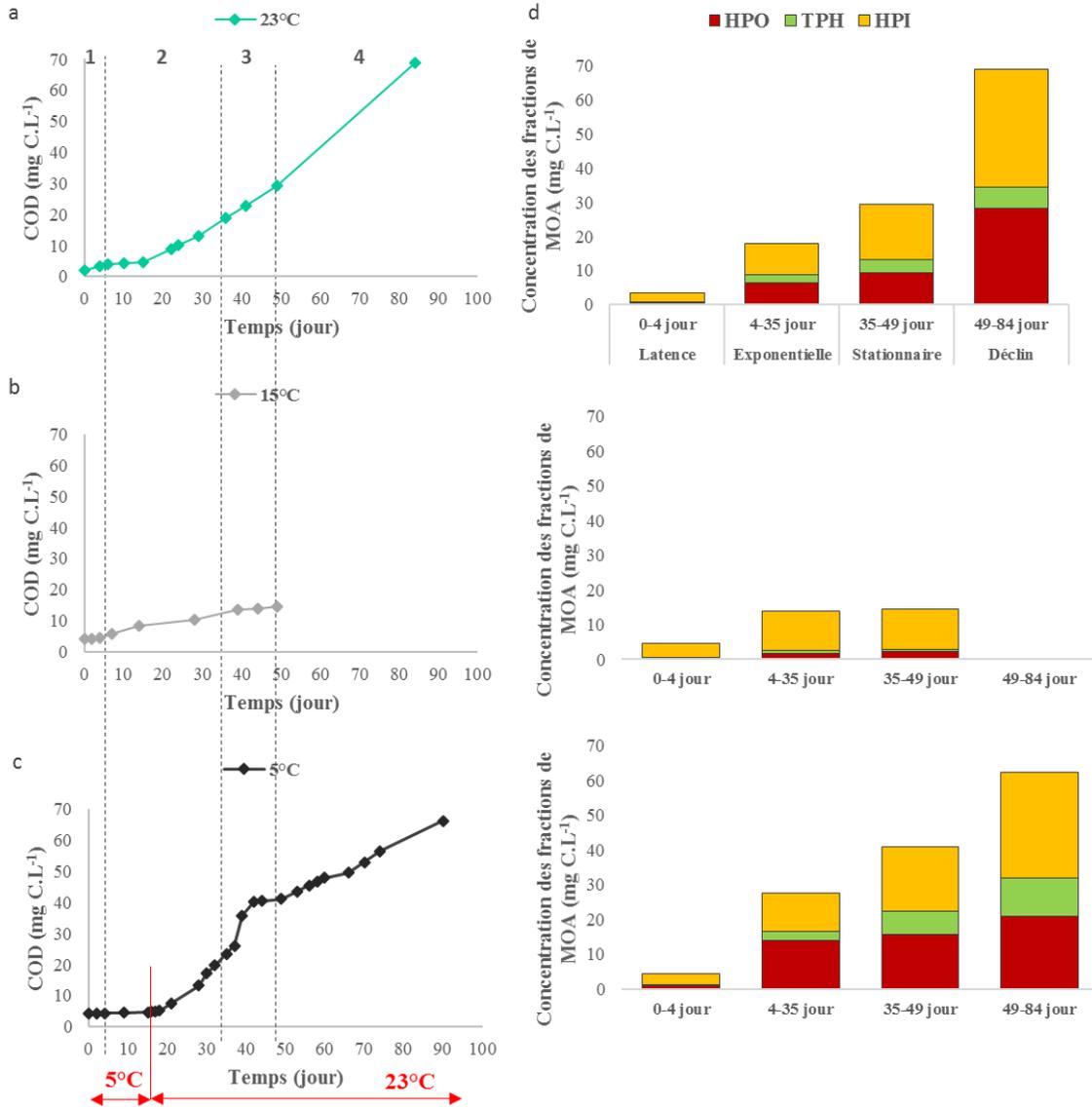


Figure 75 : Effets de la température sur la production de MOA (totale et par fractions hydrophobes) par une culture de *M. aeruginosa*

La variation de la dynamique de production de MOA au cours des phases de croissance en fonction de la température est présentée Figure 76. Avec la diminution de température, le taux de production de MOA diminue. Cet effet est très marqué dès la phase de latence, notamment à cause d'une augmentation de la durée d'adaptation des cellules. En phase de latence, le taux de production de COD est égal à $0,33 \text{ mg C.L}^{-1} \cdot \text{jour}^{-1}$ à 23°C et diminue de 70% à 15°C et 88% à 5°C . A 15°C , le taux de production reste très limité en phase exponentielle (-36% comparé à 23°C) et chute en phase stationnaire, probablement sous l'effet de la sénescence cellulaire. Pour la condition de température 5- 23°C , l'augmentation de la température au jour 15 entraîne une augmentation rapide du taux de production qui est alors comparable à la condition de référence en phase exponentielle et stationnaire.

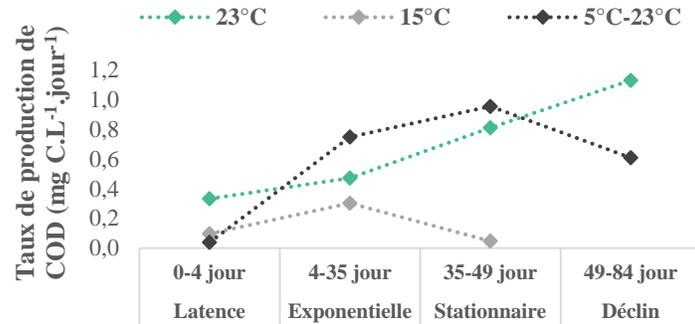


Figure 76 : Variations des taux de production de MOA en fonction de la température de culture

1.3.2. Effet de la pluviométrie

1.3.2.1. Sous une température de 23°C

La Figure 78-a,b,c présente les quantités de MOA produite par la culture de *M. aeruginosa* sous différentes conditions pluviométriques pour une température de 23°C. Après inoculation, le COD des cultures est égal à 2,1 mg C.L⁻¹ et augmente au cours de la croissance de la cyanobactérie pour atteindre, au bout de 84 jours, une concentration de 62,2 mg C.L⁻¹, 69,0 mg C.L⁻¹ et 38,8 mg C.L⁻¹ respectivement pour les conditions de sécheresse, ruissellement et orage, soit une augmentation d'un facteur de 27,5 ; 32,9 et 18,5. Au regard de ces premiers résultats, la pluviométrie impacte la production de MOA et son impact dépend de la fréquence et de l'intensité.

Si on considère l'apport de MO via les ajouts réguliers dans la modalité ruissellement et qu'on rapporte la masse ajoutée à la masse totale de COD dans la solution au temps *t* (Figure 77-a), ces ajouts représentent des apports en MO réguliers et faibles qui ne devraient pas impacter au temps *t* la concentration totale en MO dans le milieu (apport inférieur à 3,2% de la charge organique totale). Cumulés, ces ajouts représentent un apport de 6,2% de la quantité totale de COD. Ces apports ne peuvent donc pas expliquer des différences significatives d'évolution de la charge organique du milieu dans sa quantité et sa composition. Si l'on considère les apports en MO réalisés aux jours 24 et 50 pour la modalité orage (Figure 77-b), ils représentent un apport en MO ponctuel considérable au jour 24 au regard de la quantité totale en COD (respectivement 18% au jour 24 et 4% au jour 50). Cet apport, principalement au jour 24, peut expliquer des évolutions dans l'enrichissement en MO du milieu et dans la répartition de cette MO selon son caractère hydrophobe.

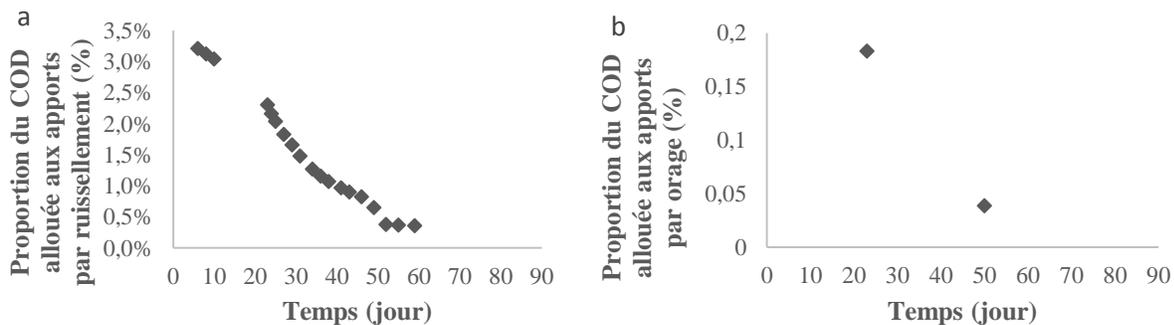


Figure 77 : Proportion du COD total allouée (a) aux apports par ruissellement et (b) aux apports par orage lors de la croissance de *C. vulgaris* sous une température de 23°C

La Figure 78-d,e,f présente l'évolution des concentrations des fractions hydrophobes de la MOA. Le découpage par phase est basé sur la condition de sécheresse ; considérée ici comme référence. Au bout de 84 jours, la quantité la plus élevée de COD est générée sous condition de ruissellement. Cette condition permet donc la plus forte production de MOA et elle est également la plus favorable à la transformation des molécules en composés hydrophobes. En effet, la proportion de HPO est maximale en phase de déclin (41% contre 36% en orage et 32% en sécheresse). Les apports réalisés n'expliquent pas à eux seuls ces différences, les apports par ruissellement modifient la dynamique de production de MOA par *M. aeruginosa*. Les orages simulés diminuent fortement la production de MOA. Malgré des apports en MO, les COD en fin de phase exponentielle et de déclin sont inférieurs à ceux de la condition de référence. De plus, il est constaté un enrichissement important en HPO suite à la simulation d'orage au jour 24 qui s'explique par l'apport des AF à hauteur de 18% du COD total.

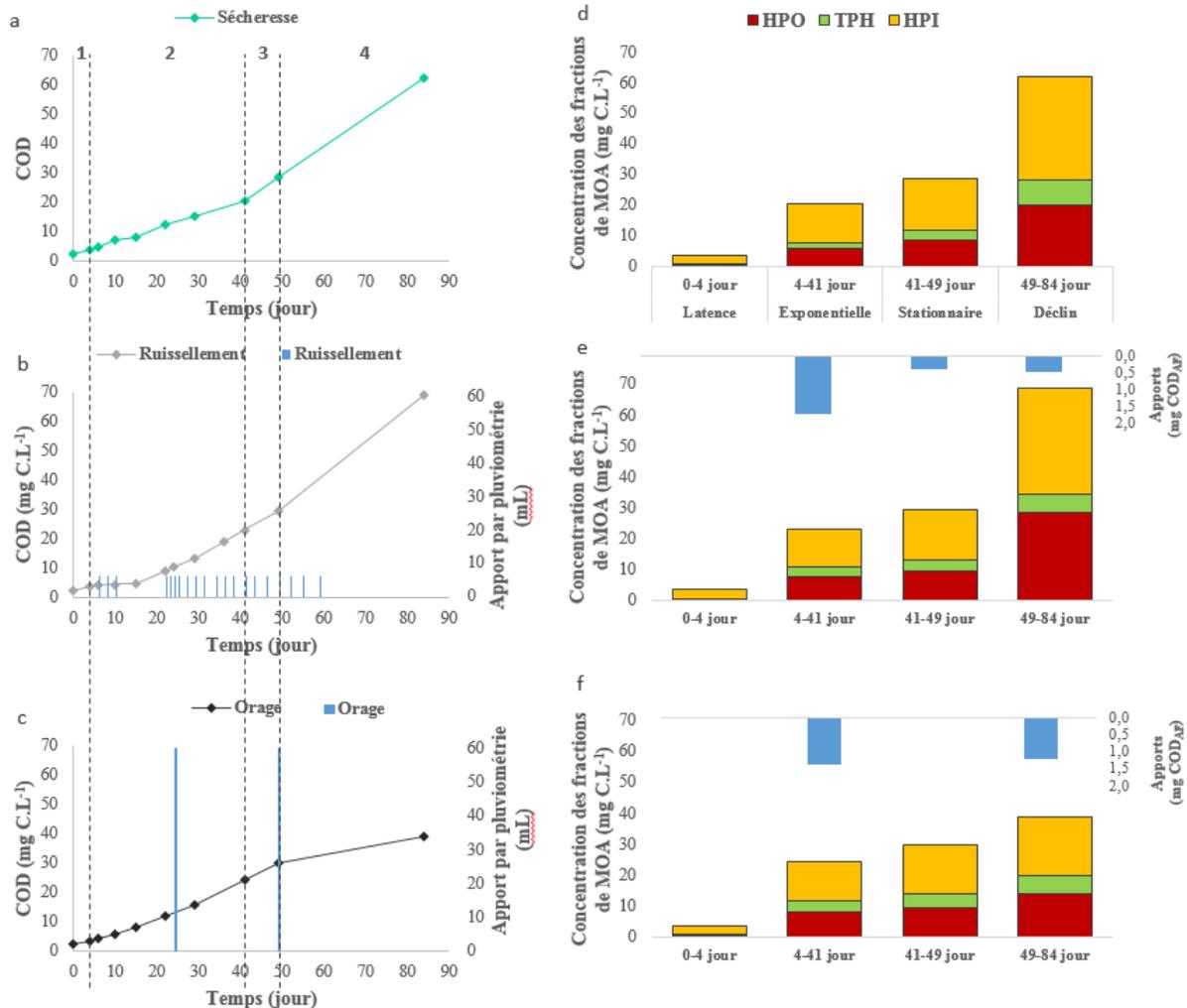


Figure 78 : Effets de la pluviométrie sur la quantité de MOA produite par *M. aeruginosa* soumise à une température de 23°C. Les apports sont simulés par ajout de milieu Z8 contenant des AF à une concentration moyenne de 21 ± 1 mg C.L⁻¹

Sous l'effet des apports, la production de COD par phase de croissance diffère de celle de la condition de sécheresse à compter de la phase exponentielle (Figure 79). Les apports par ruissellement perturbent la dynamique du taux de production de COD en l'augmentant. Ces types d'apports favorisent la production de MOA, notamment à partir de la phase stationnaire. En condition d'orage, le taux de production est diminué

avec seulement $0,70 \text{ mg C.L}^{-1}.\text{jour}^{-1}$ et $0,26 \text{ mg C.L}^{-1}.\text{jour}^{-1}$ en phase stationnaire et de déclin. Au regard des résultats de DO_{750} et de la dynamique du COD sous une modalité d'orage pour la température de 15°C et pour la culture de *C. vulgaris*, l'évolution du taux de production en phase de déclin sous la condition d'orage est à confirmer.

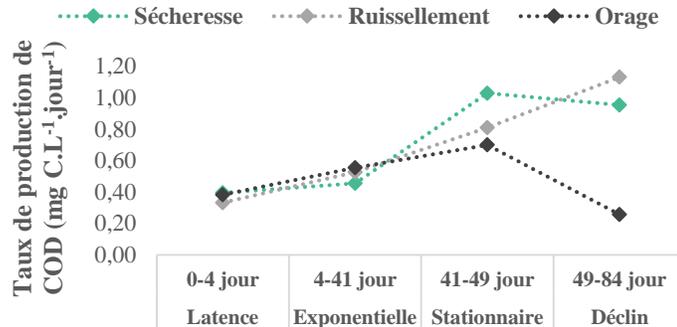


Figure 79 : Variations des taux de production de MOA en fonction des apports, sous une température de 23°C

1.3.2.2. Sous une température de 15°C

La Figure 80-a,b,c présente les quantités de MOA produite par la culture de *M. aeruginosa* sous différentes conditions pluviométriques pour une température de 15°C . Après inoculation, le COD des cultures est égal à $4,1 \text{ mg C.L}^{-1}$ et augmente au cours de la croissance de la culture pour atteindre, au bout de 84 jours, une concentration de $15,2 \text{ mg C.L}^{-1}$ et $19,5 \text{ mg C.L}^{-1}$ respectivement pour les conditions de sécheresse et orage. Au jour 49, la concentration en COD atteint $14,4 \text{ mg C.L}^{-1}$, $14,6 \text{ mg C.L}^{-1}$ et $13,8 \text{ mg C.L}^{-1}$ pour les modalités sécheresse, ruissellement et orage, soit une augmentation moyenne d'un facteur de $3,5 \pm 0,1$. La production de COD suit donc une évolution comparable quelle que soit la condition pluviométrique jusqu'au jour 49. A partir de ce jour, la concentration en COD est stable en condition de sécheresse ($\text{COD}_{\text{moyen}} = 14,7 \pm 0,4 \text{ mgC.L}^{-1}$) et elle continue d'augmenter en condition d'orage (+41%).

La Figure 80-d,e,f présente l'évolution des concentrations des fractions hydrophobes de la MOA. Le découpage par phase est basé sur la condition de sécheresse ; considérée ici comme référence. Sous cette température, la croissance de *M. aeruginosa* est fortement diminuée, ainsi que sa production de MOA comparée à 23°C .

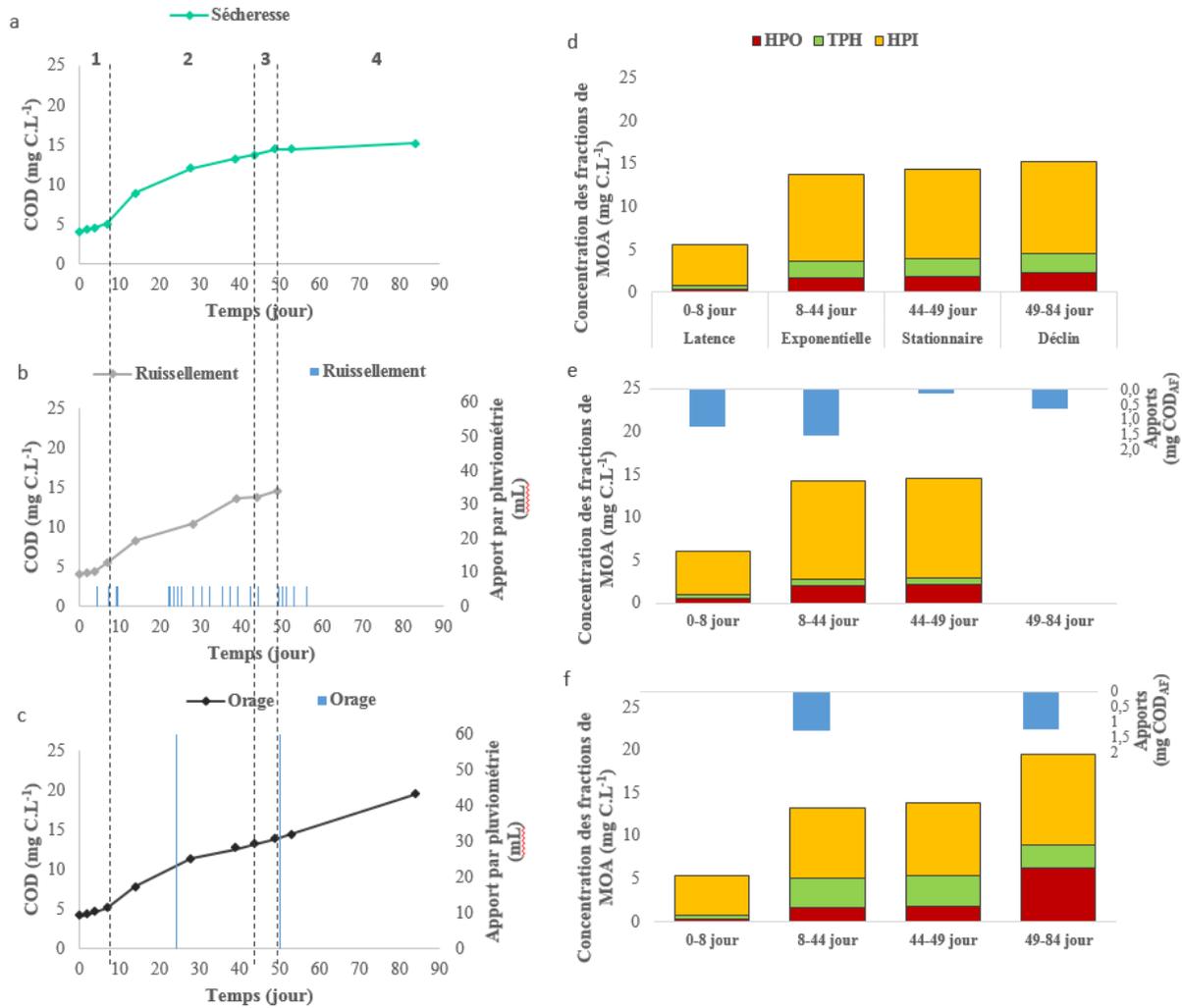


Figure 80 : Effets de la pluviométrie sur la quantité de MOA produite par *M. aeruginosa* soumise à une température de 15°C. Les apports sont simulés par ajout de milieu Z8 contenant des AF à une concentration moyenne de 21 ± 1 mg C.L⁻¹.

Sous ces conditions de température limitante, la répartition des fractions de MOA stagne en condition de sécheresse, à partir de la phase exponentielle. Bien qu'elle n'impacte que peu la production de MOA jusqu'en fin de phase exponentielle, les apports par ruissellement montrent un effet négatif sur le taux de production en phase stationnaire (-58%). Comme pour la condition de référence, les caractéristiques de la MOA évoluent peu malgré les apports d'AF. Ces ajouts représentent certes des apports en MO faibles et réguliers (maximum 2,7% du COD par ajout) (Figure 81-a), ils représentent en cumulé un apport de 23% de la quantité totale du COD. La condition permettant la plus forte production de MOA est la condition orage, notamment suite à la deuxième simulation. En effet, les apports par orage ne perturbent pas la production de MOA durant les 1^{ères} phases de croissance mais favorisent la production lors de la phase de déclin (+28%). De plus, il est constaté un enrichissement important en TPH suite à la simulation d'orage au jour 24 et un important enrichissement en HPO suite au 2nd orage. Les apports réalisés par orage aux jours 24 et 50 (Figure 81-b) représentent un apport en MO ponctuel considérable au jour 24 au regard de la quantité totale en COD (21%) et moindre au jour 50 (9%). Cette même condition est la plus favorable à la transformation des molécules organiques en composés hydrophobes, avec une proportion de HPO maximale en phase de déclin (32% contre 15% en sécheresse). Cette proportion supérieure provient d'une part d'une

variation de la matière produite en conséquence des apports et d'autre part des apports eux-mêmes, qui représentent 21,9% de la matière totale produite.

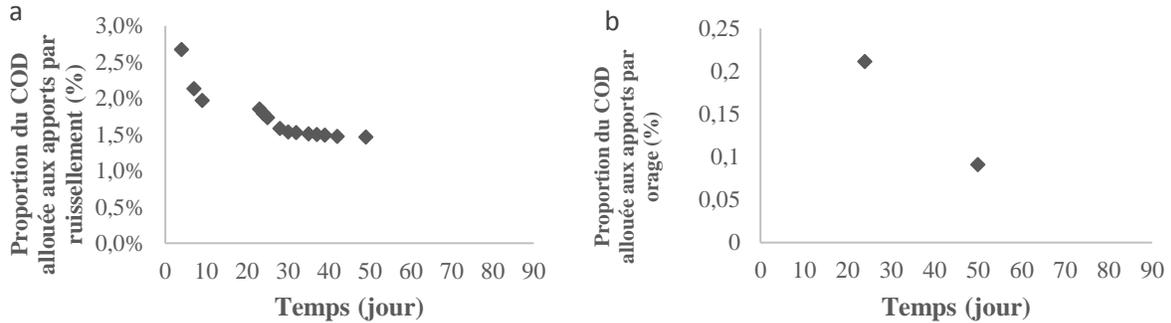


Figure 81 : Proportion du COD total allouée (a) aux apports par ruissellement et (b) aux apports par orage lors de la croissance de *C. vulgaris* sous une température de 23°C

Les apports par ruissellement montrent un effet négatif sur la production de MOA au cours du vieillissement de la culture, avec un taux plus faible de 58% par rapport à la condition de référence, en phase stationnaire. Les apports par orage ne perturbent pas la dynamique de la culture en début de croissance mais perturbe sa qualité. Au contraire, lorsque les cellules périssent, en phase de déclin, la production de MOA augmente, en partie en raison de l'orage simulé (Figure 82).

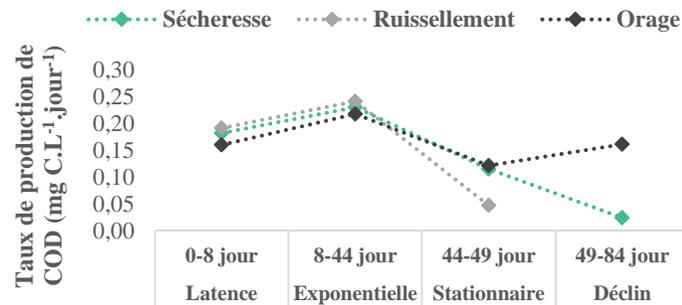


Figure 82 : Variations des taux de production de MOA par *M. aeruginosa* en fonction de la température de culture

Le bilan de l'effet des conditions climatiques (température et pluviométrie) sur la quantité de COD générée par *M. aeruginosa* est présenté Tableau 52. La diminution de la température impacte négativement la production de MOA, qui chute à 15°C. L'augmentation de la température à 23°C, après 4 jours à 5°C, permet une reprise immédiate de la croissance et une production supérieure à la condition de référence jusqu'à la phase stationnaire. Malgré cette reprise et cette production, la production totale reste bien inférieure à la condition de référence. A 23°C, les apports par ruissellement n'impactent pas significativement la production de MOA. A contrario, il semblerait que les orages simulés limitent la production, mais ce résultat reste à confirmer. Il est difficile de conclure quant à l'effet des ruissellements à 15°C à cause de la contamination. En revanche, les orages semblent favoriser la production de MOA en phase de déclin.

Tableau 52 : Effets de la température et de la pluviométrie sur la production de MOA par *M. aeruginosa*. Dans le cas de la température, les résultats sont comparés aux conditions 23°C-ruissellement. Dans le cas de la pluviométrie à 23°C, les résultats sont comparés aux conditions 23°C – sécheresse. Dans le cas de la pluviométrie à 15°C, les résultats sont comparés aux conditions 15°C – sécheresse. (S : sécheresse ; R : ruissellement ; O : orage)

		Température			Pluviométrie à 23°C			Pluviométrie à 15°C		
		23°C	15°C	5°C	S	R	O	S	R	O
Production totale de MOA	49 jours	14,0	3,6	9,6	14,0	14,0	14,2	3,6	3,6	3,4
	84 jours	32,9	-	14,5	30,3	32,9	18,5	3,7	-	4,8
Production réelle de MOA en fonction des phases de croissance	Latence		-67%	-83%	=	=		31%	-12%	
	Exponentielle		-36%	+59%	15%	22%		0%	-5%	
	Stationnaire		-94%	+19%	-22%	-32%		-59%	6%	
	Déclin		contamination	-46%	19%	-73%		-	582%	

1.4. Effets des variations climatiques sur les caractéristiques de la MOA produite par *M. aeruginosa*

1.4.1. Effet de la température

La Figure 83 présente l'évolution des proportions des fractions hydrophobes de la MOA produite par *M. aeruginosa* cultivée sous différentes températures.

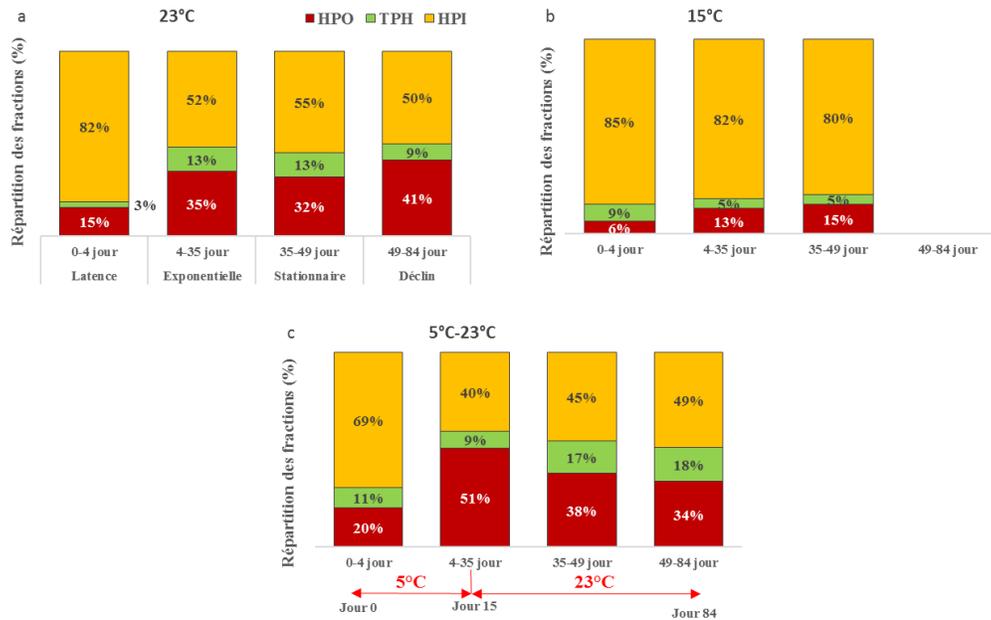


Figure 83 : Effets de la température sur les caractéristiques de la MOA produite par *M. aeruginosa*

A 15°C la processus d'humification ne s'enclenche pas contrairement à 23°C. La MOA produite par la culture à 23°C est significativement plus hydrophobe que celle produite à 15°C avec 41% de HPO en phase de stationnaire à 23°C contre seulement 15% à 15°C. Par contre, à 5°C la montée en température accompagne la production rapide de composés hydrophobes comme si les composés organiques étaient prématurés à 5°C puis qu'ils deviennent très vite hydrophobes quand la température augmente.

1.4.2. Effet de la pluviométrie sous une température de 15°C

L'évolution des proportions des fractions hydrophobes de la MOA produite par *M. aeruginosa* cultivée sous différentes modalités pluviométriques sous une température de 15°C est présentée Figure 84. Cette température est retenue car elle permet de mieux observer les évolutions. Il est observé un effet négatif de la pluviométrie sur la transformation en composés hydrophobes en modalité ruissellement malgré l'apport régulier en AF. En revanche, un effet promoteur de la transformation en HPO est observé en situation d'orage.

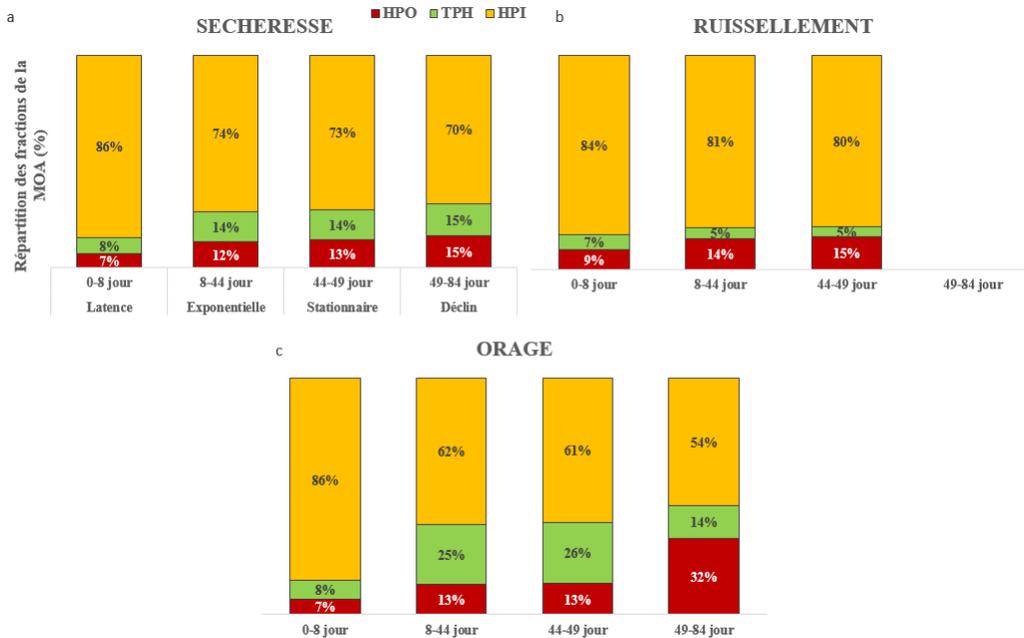


Figure 84 : Effets de la pluviométrie sur les caractéristiques de la MOA produite par *M. aeruginosa* sous une température de 15°C

1.5. Effets des variations climatiques sur les concentrations et la répartition des microcystines produites par *M. aeruginosa*

1.5.1. Effet de la température

La température impacte la croissance de *M. aeruginosa* et par conséquent, la concentration en MCs. Initialement, la concentration en MCs est égale à $23 \pm 4 \mu\text{g.L}^{-1}$ dans la culture et augmente au cours de la croissance pour atteindre, en fin de culture, des concentrations de $4779 \mu\text{g.L}^{-1}$; $375 \mu\text{g.L}^{-1}$ et $3700 \mu\text{g.L}^{-1}$ respectivement pour les températures de 23°C, 15°C et 5°C-23°C, soit des augmentations de facteurs 230, 13 et 178. En conséquence de la croissance très limitée à 15°C, la concentration en MCs est faible et évolue peu au cours du vieillissement (Figure 85-a). Sous une température de 5°C, la production de MCs est très limitée, en corrélation avec la longue période de latence. A l'augmentation de température, avec la reprise cellulaire, les MCs sont produites et leur concentration augmente sans atteindre la concentration finale de la condition de référence. La concentration en MCs augmente majoritairement pour la condition à 23°C. Ce résultat est cohérent avec la littérature où une production maximale de MCs est observée lorsque la température est proche de la température optimale de croissance de la culture (Gehring et Wannicke, 2014 ; Walls *et al.*, 2018).

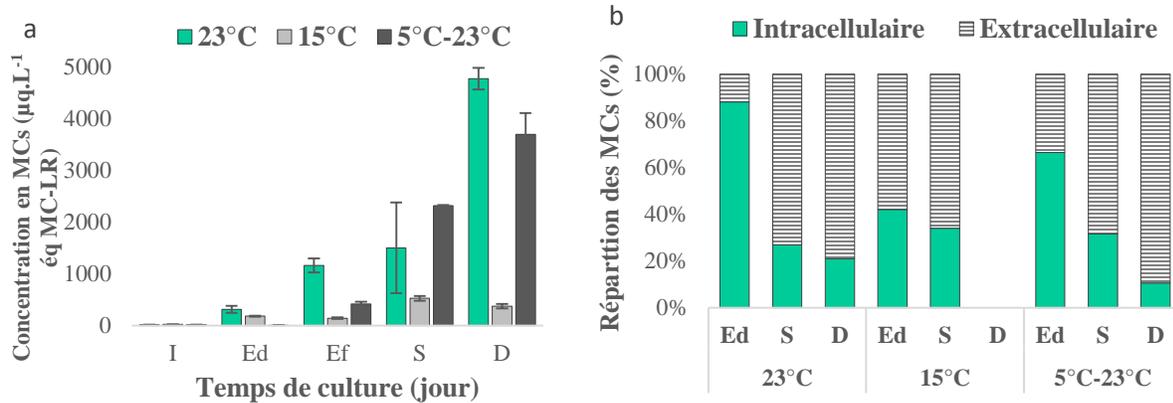


Figure 85 : Impact de la température sur (a) la concentration totale en MCs (b) la proportion en toxines intra et extracellulaires. (I : Initial ; Ed : début phase Exponentielle ; Ef : fin phase Exponentielle ; S : Stationnaire ; D : déclin)

La diminution de la température impactant la concentration cellulaire, il est intéressant de comparer la production de toxines à la concentration cellulaire. Le Tableau 53 présente la quantité totale de MCs produite par cellule. A 15°C, alors que la croissance cellulaire est limitée, la quantité de toxines produites par cellule est largement supérieure en comparaison à la condition 5-23°C.

Tableau 53 : Production de MCs totale par cellule de *M. aeruginosa* ($\mu\text{g MCs}\cdot\text{cellule}^{-1}$) en fonction de la température.

	15°C	5°C – 23°C
Phase de latence	$4,3\cdot 10^{-4}$	$2,2\cdot 10^{-4}$
Phase exponentielle	$11,9\cdot 10^{-4}$	$1,4\cdot 10^{-4}$
Phase stationnaire	$12,1\cdot 10^{-4}$	$0,87\cdot 10^{-4}$
Phase de déclin	-	$0,63\cdot 10^{-4}$

La Figure 85-b présente la répartition des fractions intra et extracellulaire des MCs au cours de la croissance de *M. aeruginosa* sous les trois températures. Quelle que soit la température, les MCs sont majoritairement intracellulaires (> 75%) en phase exponentielle et leur proportion diminue avec le vieillissement en corrélation avec la sénescence cellulaire. Après 15 jours de croissance, la concentration en toxines intracellulaires est maximum en condition de référence (88%). Le stress lié à la température favorise la libération des toxines et donc participe à l'augmentation de la fraction extracellulaire (Kaebernick et Neilan, 2001 ; Gehringer et Wannicke, 2014).

1.5.2.Effet de la pluviométrie

1.5.2.1. Sous une température de 23°C

Initialement, la concentration en MCs est égale à $21 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ dans la culture et augmente au cours de la croissance pour atteindre des concentrations finales de $5906 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; $4779 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ et $3693 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ respectivement pour les conditions de sécheresse, ruissellement et orage, soit une augmentation d'un facteur de 284, 230 et 178 (Figure 86-a). La concentration en condition de sécheresse est supérieure.

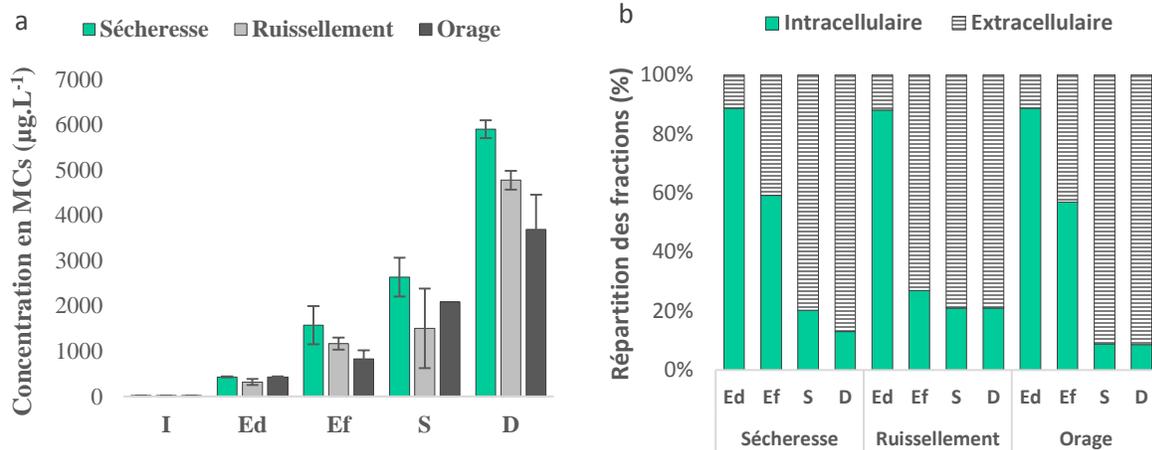


Figure 86 : Sous une température de 23°C, conséquences de la pluviométrie sur (a) Evolution de la concentration totale en MCs en fonction de la température de culture. (b) Evolution de la proportion en toxines intra et extracellulaires. (I : Initial ; Ed : début phase Exponentielle ; Ef : fin phase Exponentielle ; S : Stationnaire ; D : déclin)

Dans les trois conditions, la concentration en toxines extracellulaires augmente significativement au cours du temps. Une diminution plus rapide est observée au jour 15 en ruissellement et au jour 49 en orage comparé à la condition de référence (Figure 86-b). Les pluviométries simulées favorisent donc la libération de toxines dans le milieu mais montre une concentration moindre en corrélation avec une concentration cellulaire plus faible.

1.5.2.2. Sous une température de 15°C

La Figure 87-a présente l'évolution de la concentration totale en MCs en fonction de la pluviométrie pour une température de 15°C. Initialement, la concentration en MCs est égale à $21 \mu\text{g.L}^{-1}$ et augmente au cours de la croissance pour atteindre des concentrations à 49 jours (phase S) de $667 \mu\text{g.L}^{-1}$, $531 \mu\text{g.L}^{-1}$ et $592 \mu\text{g.L}^{-1}$ respectivement pour les conditions de sécheresse, ruissellement et orage, soit une augmentation d'un facteur de 24, 19 et 21. Au bout de 84 jours, la concentration s'élève à $911 \mu\text{g.L}^{-1}$ et $788 \mu\text{g.L}^{-1}$ respectivement pour les conditions de sécheresse et orage, soit une augmentation d'un facteur de 32 et 28. Sous une température de 15°C, limitante à la croissance, la pluviométrie limite légèrement la production de MCs. L'effet est plus marqué en condition de ruissellement, où la croissance cellulaire est également plus limitée.

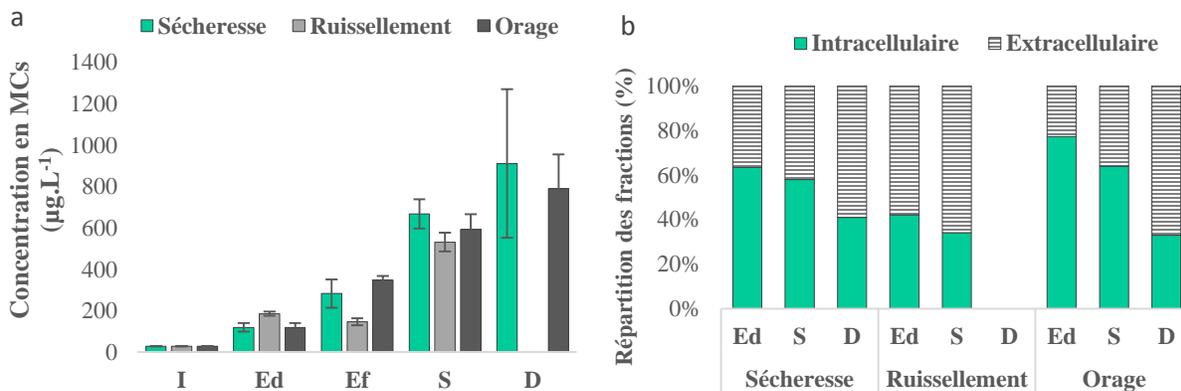


Figure 87: Sous une température de 15°C, conséquences de la pluviométrie sur (a) Evolution de la concentration totale en MCs en fonction de la température de culture. (b) Evolution de la proportion en toxines intra et extracellulaires. (I : Initial ; Ed : début phase Exponentielle ; Ef : fin phase Exponentielle ; S : Stationnaire ; D : déclin)

Comme observé précédemment, la concentration en toxines extracellulaires augmente significativement au cours du temps quelle que soit la pluviométrie (Figure 87-b). La répartition des toxines intra et extracellulaires suit la même dynamique qu'à 23°C à savoir une proportion plus importante de toxines extracellulaires en conditions pluvieuses, mais la différence est moins significative.

2. Impacts des variations climatiques sur la croissance cellulaire et la production de MOA générée par une culture de *C. vulgaris*

2.1. Analyse quantitative et qualitative sous les conditions de référence : 23°C – sécheresse

L'étude comparative de l'impact des variations climatiques est réalisée en considérant, comme référence, une culture soumise à une température de 23°C sous une condition pluviométrique simulant un cas de sécheresse (pas d'apports d'eau ni de MO allochtone, évaporation progressive de l'eau).

2.1.1. Détermination des phases de croissance

L'évolution de l'absorbance au cours de la croissance de *C. vulgaris* à une température de 23°C et sous un régime pluviométrique simulant un cas de sécheresse est présentée en Figure 88. Dans les conditions expérimentales testées, la souche de *C. vulgaris* présente une phase de latence de 3 jours et une phase exponentielle de 19 jours (jours 3 à 22). La phase stationnaire est déterminée grâce au suivi de la concentration en COD, elle intervient au 22^{ème} jour, lorsque l'augmentation de la concentration en COD devient constante dans la solution et correspond à la phase de plus forte production de COD. La concentration cellulaire maximale est atteinte en fin de phase exponentielle avec une densité optique à 685 nm (DO_{685}) de 0,655.

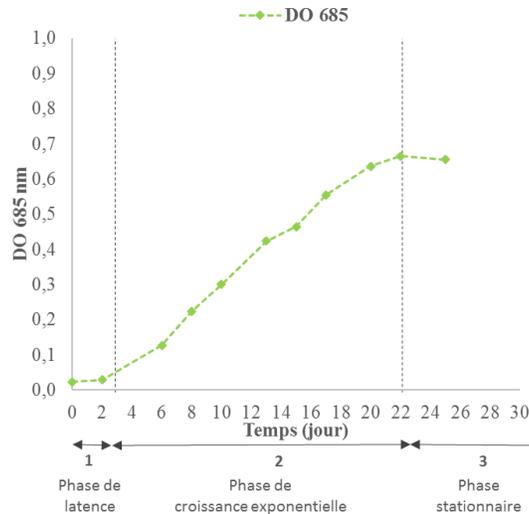


Figure 88 : Evolution de la concentration cellulaire et détermination des phases de croissance pour *C. vulgaris*

2.1.2. Evolution de la production de MOA au cours des phases de croissance

2.1.2.1. Evolution quantitative

L'évolution de la concentration en COD est présentée Figure 89-a. L'inoculation du milieu de culture par les souches entraîne une augmentation du COD du milieu Z8 pur. Au temps initial T_0 , le COD est égal à 2,2 mg C.L⁻¹ et il augmente jusqu'à atteindre 56,5 mg C.L⁻¹ après 84 jours de croissance. Au cours des phases de croissance, la quantité et les caractéristiques de la MOA produite varient.

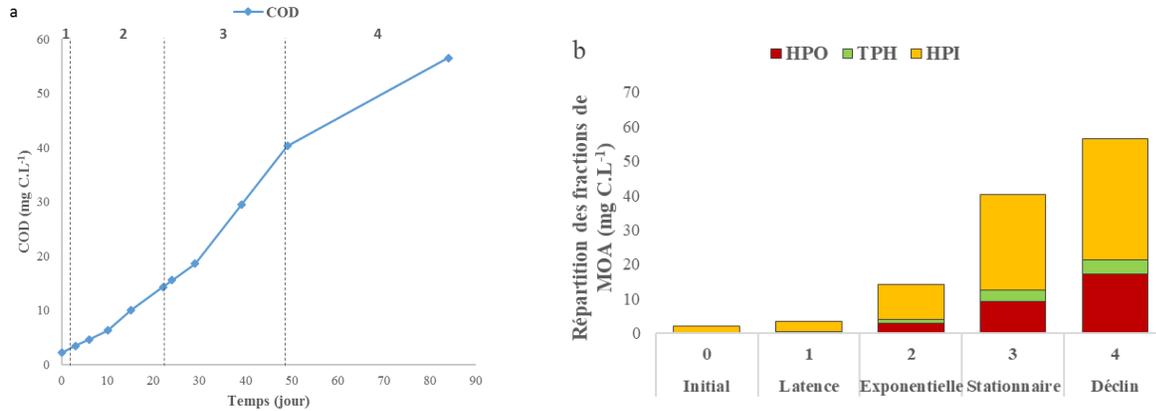


Figure 89 : Evolution de la concentration en COD (a) et des concentrations des fractions de MOA (b) au cours de la croissance de *C. vulgaris*

La Figure 89-b présente l'évolution des concentrations des différentes fractions de la MOA (HPO, TPH et HPI) en fonction des phases de croissance. Au cours de la phase de latence, une faible quantité de COD est produite ($+1,2 \text{ mg C.L}^{-1}$) et se compose majoritairement de HPI ($+0,9 \text{ mg C.L}^{-1}$). Au cours de la phase exponentielle, une quantité importante de COD, plus de sept fois celle produite en phase de latence, est générée ($+10,9 \text{ mg C.L}^{-1}$). La majeure partie de cette matière produite correspond à la fraction HPI ($+7,5 \text{ mg C.L}^{-1}$). Les fractions TPH et HPO augmentent, mais en quantité moindre: soit une augmentation de $+2,5 \text{ mg C.L}^{-1}$ de HPO et $+0,9 \text{ mg C.L}^{-1}$ de TPH. Durant la phase stationnaire (jours 22 à 49), l'augmentation du COD progresse fortement ($+26,0 \text{ mg C.L}^{-1}$). La fraction HPI continue d'être produite ($+17,5 \text{ mg C.L}^{-1}$) et les fractions HPO et TPH augmentent de manière plus significative (respectivement $+6,3 \text{ mg C.L}^{-1}$ et $+2,2 \text{ mg C.L}^{-1}$). Enfin, au cours de la phase de déclin, le COD augmente ($+16,2 \text{ mg C.L}^{-1}$) pour atteindre au 84^{ème} jour une concentration de $56,5 \text{ mg C.L}^{-1}$. La fraction HPI continue d'être produite ($+7,4 \text{ mg C.L}^{-1}$) et les fractions HPO et TPH continuent d'augmenter (respectivement $+8,0 \text{ mg C.L}^{-1}$ et $+0,8 \text{ mg C.L}^{-1}$).

L'augmentation du COD n'est pas linéaire au cours de la croissance. Le taux de production de MOA ($\text{mg C.L}^{-1}.\text{jour}^{-1}$) varie en fonction de la phase de croissance (Tableau 42).

Tableau 54 : Taux de production du COD par phase et par fraction ($\text{mg C.L}^{-1}.\text{jour}^{-1}$)

Phases de croissance	COD	HPO	TPH	HPI
1. Latence	0,41	0,08	0,02	0,31
2. Exponentielle	0,57	0,13	0,05	0,39
3. Stationnaire	0,96	0,23	0,08	0,65
4. Déclin	0,46	0,23	0,02	0,21

Ce taux est minimum en phase de latence, $0,41 \text{ mg C.L}^{-1}.\text{jour}^{-1}$, et il augmente progressivement au cours de la phase exponentielle pour atteindre $0,57 \text{ mg C.L}^{-1}.\text{jour}^{-1}$. En phase de croissance stationnaire, le taux de production atteint son maximum avec un taux de $0,96 \text{ mg C.L}^{-1}.\text{jour}^{-1}$. Enfin, durant la phase de déclin, le taux de production diminue et atteint $0,46 \text{ mg C.L}^{-1}.\text{jour}^{-1}$. Les taux de production spécifiques de chaque fraction varient également en fonction des phases de croissance. Celui des HPI évolue de manière similaire au global avec un maximum en phase stationnaire ; celui des TPH suit la même évolution mais reste très faible. Celui des HPO augmente progressivement au cours du vieillissement de la culture.

2.1.2.2. Evolution qualitative

Au cours du vieillissement, la quantité de MOA produite ainsi que le caractère hydrophobe de cette MO augmentent. Le Tableau 55 présente les caractéristiques hydrophobes de la MOA produite au cours de chaque phase (par exemple, la culture a enrichi le milieu en HPO, TPH et HPI de respectivement 21 ; 4 et 75% de l'enrichissement total en MOA au cours de la phase de latence). La part de fraction HPI produite diminue progressivement au cours du vieillissement de la culture alors que la part de fraction HPO augmente, davantage au cours de la fin de la phase de déclin. La part de TPH augmente en phase exponentielle puis diminue jusqu'à la phase de déclin, mais reste faible (< 10%). Le ratio des taux de production des fractions entre les phases exponentielle et de déclin, 1,8 ; 0,5 et 0,5 respectivement pour HPO, TPH et HPI (Tableau 54), augmente avec le caractère hydrophobe, confirmant la formation prédominante de HPO en fin de culture.

Tableau 55 : Apport en fraction organique généré par la culture au cours de chaque phase de croissance

	HPO	TPH	HPI
Latence	21%	4%	75%
Exponentielle	23%	8%	69%
Stationnaire	24%	9%	67%
Déclin	50%	5%	45%

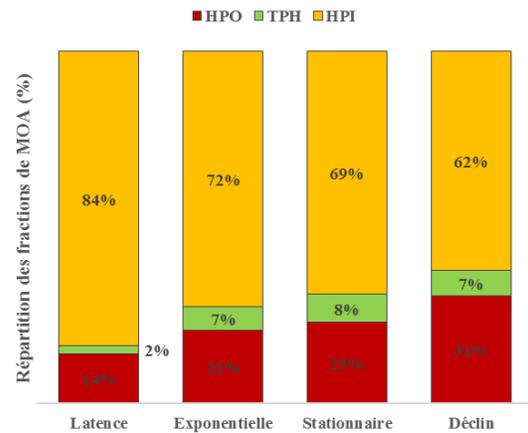


Figure 90 : Répartition des fractions hydrophobes dans la solution à la fin de chaque phase de croissance de *C. vulgaris*

La Figure 90 présente l'évolution de la répartition totale des fractions hydrophobes de la MOA pour chaque phase, de la phase de latence à la phase de déclin. Les résultats obtenus mettent en évidence un fort pourcentage de HPI (62 – 88%) tout au long de la croissance de la culture, en accord avec la littérature (> 50%) (Her *et al.*, 2004, Zhang *et al.*, 2011 ; Li *et al.*, 2012, Leloup, 2013). Initialement, après inoculation des souches dans le milieu de culture, l'étude de la MO montre une faible concentration en COD (2,2 mg C.L⁻¹) mais un fort caractère hydrophile (88%). En corrélation avec les caractéristiques de la MOA générée au cours de chaque phase (Tableau 55), la proportion de fraction HPI diminue au cours du vieillissement en faveur de la fraction HPO (Figure 90). Après 84 jours de culture, dans les conditions optimales de croissance, la fraction HPI a diminué de 26%, en parallèle les fractions HPO et TPH ont augmenté de 121% et 250%. Ces résultats sont contraires à ceux de Henderson *et al.* (2008), qui avaient observé, pour la même espèce, une augmentation de la fraction HPI entre la phase exponentielle et stationnaire (+15%) et par conséquent une diminution de la fraction HPO. Ils sont cependant cohérents avec une majorité d'auteurs qui ont observé, pour différentes espèces (*Asterionella formosa*, *Euglena gracilis*, *M. aeruginosa*) une diminution de la fraction HPI (Henderson *et al.*, 2008 ; Leloup *et al.*, 2013). Le caractère hydrophobe du milieu reste cependant peu marqué.

La mesure de l'indice SUVA à chacune des phases de croissance permet de compléter les observations (Tableau 56) faites sur le caractère hydrophobe. La MOA générée par les cultures présente un

faible caractère aromatique (Tableau 56), en accord avec la littérature ($SUVA < 30 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$) (Nguyen *et al.*, 2005 ; Henderson *et al.*, 2008).

Tableau 56 : Indices SUVA mesurés à la fin de chaque phase de croissance. (En grisé, les résultats de la présente étude).

Référence	SUVA global ($\text{L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$)			
	Phase de latence	Phase exponentielle	Phase stationnaire	Phase de déclin
<i>Cette étude</i>	9,6	7,8	$8,8 \pm 0,4$	$7,7 \pm 0,2$
Henderson <i>et al.</i> , 2008	-	12,9	5,4	-

Sous l'effet du développement cellulaire, l'indice SUVA atteint $9,6 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$ en fin de période de latence. Cette observation est cohérente avec les caractéristiques de la MOA produite, qui est composée à 76% de fraction HPI, dont le caractère aromatique est faible. Durant la phase exponentielle, la culture produit de la MOA, composée à 69% de fraction hydrophile et 23% de fraction hydrophobe. La fraction HPI présente un indice SUVA faible, expliquant la valeur du SUVA qui reste aux environs de 8. Malgré une évolution des caractéristiques de la MOA produite entre la phase exponentielle et de déclin (diminution de la proportion de HPI et augmentation de la proportion de HPO), l'indice SUVA de la MOA est relativement stable. Cette observation sur les cultures de *C. vulgaris* n'a pas été relevée sur les cultures de *M. aeruginosa*. Il y a donc une différence de dynamique de production du COD entre les deux espèces.

2.2. Effets des variations climatiques sur la croissance de *C. vulgaris*

2.2.1. Effet de la température

Les chlorophycées (ici *C. vulgaris*) présentent un optimal de croissance pour une température autour de 20°C (Reynolds, 2006). Les faibles températures imposées sont donc susceptibles de limiter le développement des cultures et de perturber la production de MOA.

La Figure 91 présente l'évolution de l'absorbance et de la concentration cellulaire d'une culture de *C. vulgaris* soumise à trois températures : 23°C , 15°C et 5°C . Sous une température de 5°C , la croissance de l'algue est limitée, comme l'illustre l'absence d'augmentation de la concentration cellulaire (Figure 91-e). Il est alors choisi d'augmenter la température à 23°C et de doubler les apports par ruissellement afin de simuler le passage de la saison hivernale, caractérisée par un climat froid et sec, à la saison estivale, caractérisée par des températures plus douces et des mois plus pluvieux. Cette évolution permet d'observer la reprise de la croissance de *C. vulgaris* et le suivi de la DO_{685} et de la concentration cellulaire permettent de déterminer les phases de croissance.

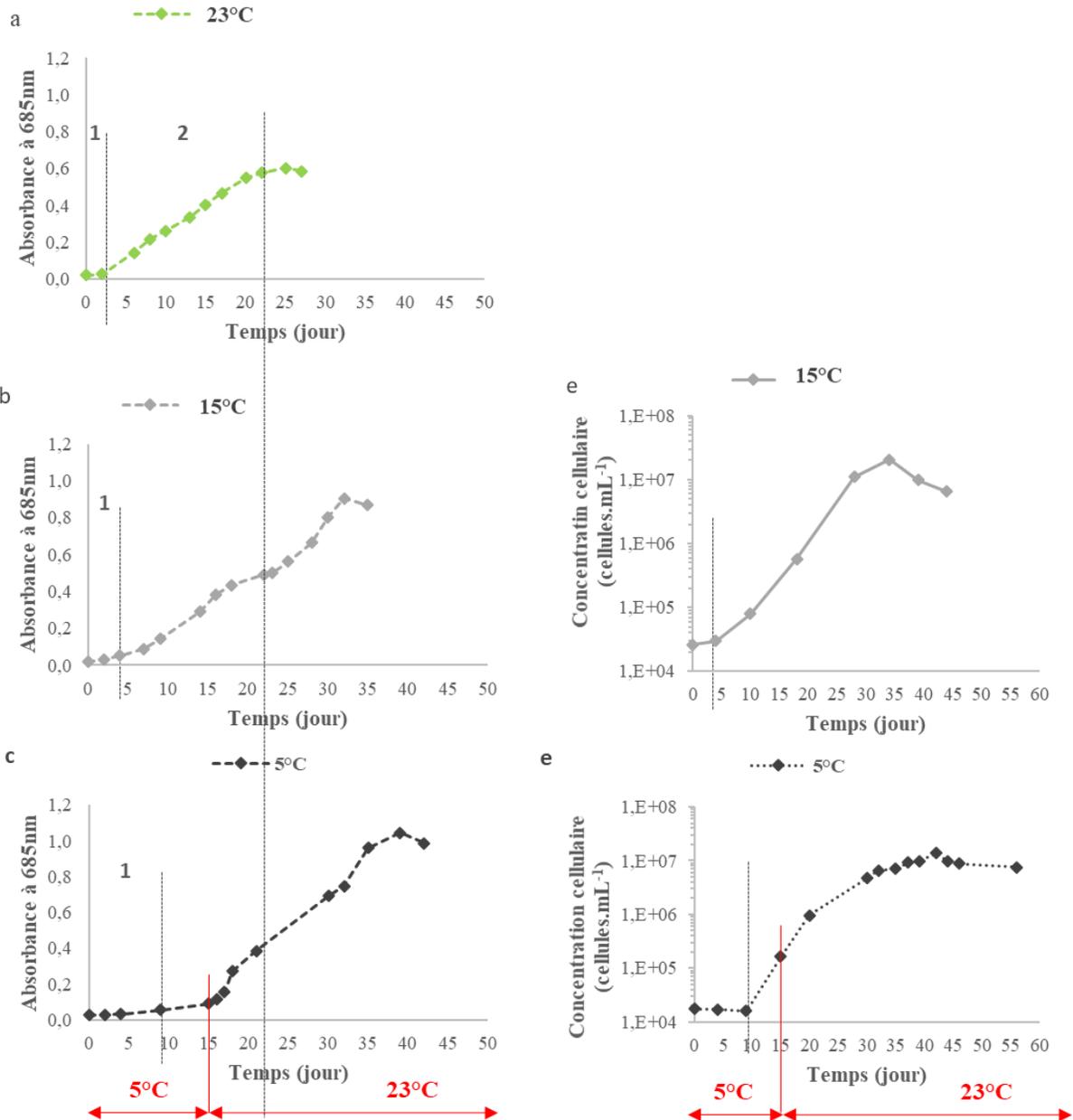


Figure 91 : Effet de la température sur la croissance de *C. vulgaris*, suivi de (a, b, c) l'absorbance à 685 nm et (d, e) la concentration cellulaire (1 : phase de latence ; 2 : phase exponentielle)

Avec la diminution de la température, la durée de la phase de latence augmente. En comparaison avec la température de référence (23°C), la phase de latence augmente de 1 jour sous une température de 15°C et de 9 jours sous une température de 5°C (Figure 91-a,b,c). De ce fait, au jour 22, c'est-à-dire à la fin de la phase exponentielle en condition de référence, la DO_{685} et donc la concentration cellulaire sont supérieures à 23°C comparé à 15°C et 5°C-23°C, avec respectivement des DO_{685} de 0,603, 0,562 et 0,540. Ces résultats sont confirmés par la comparaison des taux de croissance ($DO_{685} \cdot \text{jour}^{-1}$) en phase de latence et exponentielle pour chacune des températures (Tableau 57). Cependant, aux conditions de 15°C et 5°C-23°C, la phase de croissance exponentielle présente une durée plus longue, de respectivement +7 jours et +14 jours, qui permet aux cultures d'atteindre des concentrations plus élevées qu'à 23°C, avec des DO_{685} maximales de

respectivement 0,904 et 1,044 (Figure 91-a,b,c). Ainsi, les faibles températures simulées n'inhibent pas la croissance de *C. vulgaris* mais la ralentissent en raison d'une acclimatation plus longue.

Tableau 57 : Taux de croissance (DO_{685} , jour⁻¹) en fonction de la température de culture

Phases de croissance	23°C	15°C	5°C-23°C
1. Latence (0-3 jours)	0,007	0,003	0,002
2. Exponentielle (3-24 jours)	0,287	0,023	0,019

L'évolution de la concentration cellulaire suit la même dynamique, à savoir une diminution du taux de croissance avec la diminution de la température. En effet, il est de 0,099 jour⁻¹ à 15°C contre seulement 0,033 jour⁻¹ à 23°C après les 15 jours à 5°C. Cependant, la durée de la phase exponentielle plus longue à 23°C après les 15 jours à 5°C lui permet d'atteindre une concentration maximale comparable à celle à 15°C autour de $2,0 \cdot 10^7$ cellules.mL⁻¹ (Figure 91-d,e).

2.2.2. Effet de la pluviométrie

2.2.2.1. Sous une température de 23°C

Le Tableau 58 détaille les apports (volume et matière) réalisés pour chaque condition et à chaque phase de croissance. Les orages simulés ont lieu aux jours 24 et 50. Ainsi, jusqu'à la phase exponentielle, les conditions sécheresse et orage sont comparables. Les différences observées sont liées au matériel vivant cultivé. Au cours de ces simulations l'apport en MO se fait à partir d'acides fulviques, composés hydrophobes représentatifs de la MON.

Tableau 58 : Volume de milieu Z8 (mL) et quantité de MO (mg COD_{AF}) ajoutés dans les erlenmeyers au cours de chaque phase de croissance de *C. vulgaris*. Durée des phases de croissance définie à partir de la culture à 23°C

	Exponentielle (jours 3 à 22)	Stationnaire (jours 22 à 49)	Déclin (jours 49 à 84)	TOTAL AJOUTE
Ruissellement	24 mL – 0,48 mg	78 mL – 1,76 mg	18 mL – 0,33 mg	120 mL – 2,57 mg
Orage	-	60 mL – 1,19 mg	60 mL – 1,37 mg	120 mL – 2,56 mg

La Figure 92 présente l'évolution de la DO_{685} au cours du temps, en fonction des apports par pluviométrie.

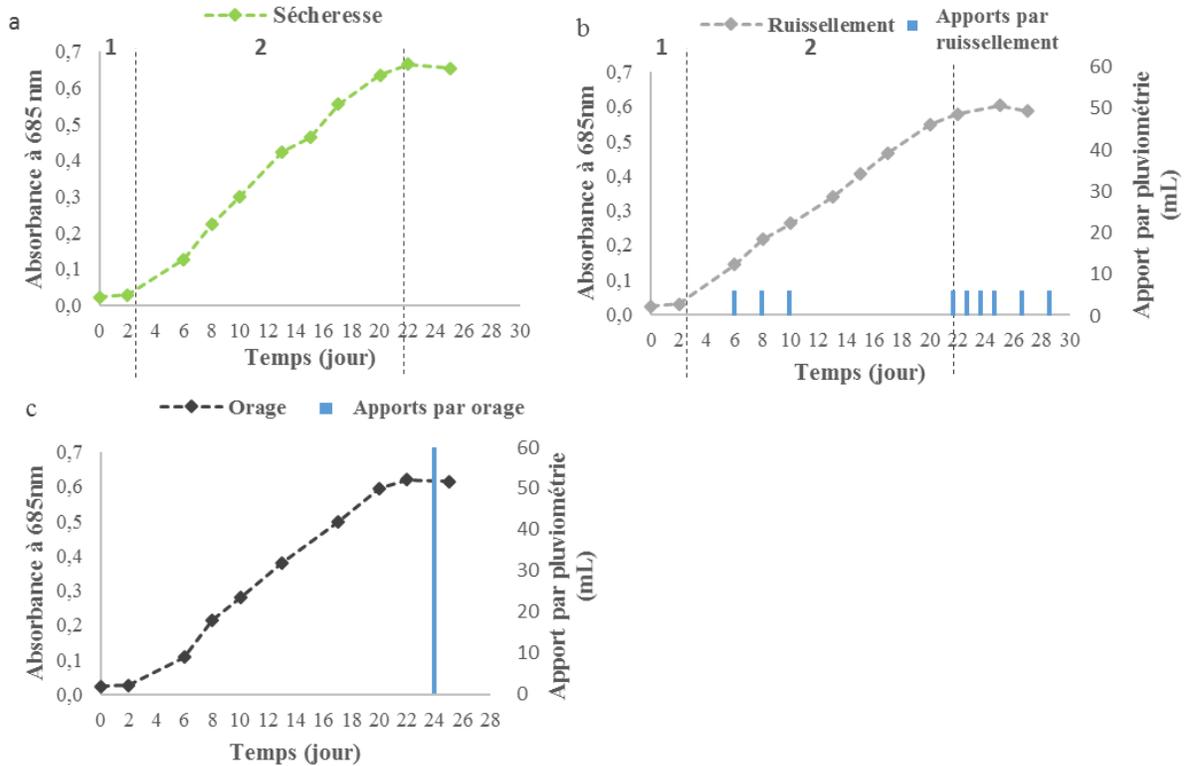


Figure 92 : Effet de la pluviométrie sur la croissance de *C. vulgaris* cultivée à 23°C. Les apports sont simulés par ajout de milieu Z8 contenant des AF à une concentration moyenne de $21 \pm 1 \text{ mg C.L}^{-1}$

Au cours de la phase exponentielle, les 4 apports par ruissellement, soit 24 mL de milieu Z8 et 0,48 mg COD d'AF, perturbent la croissance de *C. vulgaris* qui présente alors un taux de croissance, entre les jours 6 et 13, de $0,0277 \text{ DO}_{685}.\text{jour}^{-1}$ inférieure au $0,0424 \text{ DO}_{685}.\text{jour}^{-1}$ de la condition de sécheresse. En conséquence de ce taux plus faible, la DO_{685} en fin de phase exponentielle est inférieure (0,578 contre 0,665). Les apports impactent également la durée des phases et rallongent notamment la phase exponentielle, qui est atteinte au jour 25. Ce rallongement permet à la culture de se développer et d'atteindre une DO_{685} maximale de 0,603, inférieure à la DO_{685} de la sécheresse au même jour (0,655). Le 1^{er} orage est simulé après la phase exponentielle (jour 24), il n'impacte donc pas la durée des phases ni la croissance cellulaire, et la courbe de croissance est semblable à celle de sécheresse.

2.2.2.2. Sous une température de 15°C

Le Tableau 59 détaille les apports (volume et matière) réalisés pour chaque condition et à chaque phase de croissance. Les orages simulés ont lieu aux jours 24 et 50. Ainsi, les trois conditions diffèrent dès la phase exponentielle.

Tableau 59 : Volume de milieu Z8 (mL) et quantité de MO (mg COD_{AF}) ajoutés dans les erlenmeyers au cours de chaque phase de croissance de *C. vulgaris*. Durée des phases de croissance définie à partir de la culture à 15°C

	Exponentielle (jour 4 à 28)	Stationnaire (jour 28 à 49)	Déclin (jour 49 à 84)	TOTAL AJOUTE
Ruissellement	48 mL – 1,00 mg	42 mL – 0,89 mg	30 mL – 0,65 mg	120 mL – 2,54 mg
Orage	60 mL – 1,28 mg	-	60 mL – 1,27 mg	120 mL – 2,55 mg

La Figure 93 présente l'évolution de la DO_{685} au cours du temps, en fonction des apports par pluviométrie sous une température de 15°C .

Au cours de la phase exponentielle, les 8 apports par ruissellement, 48 mL de milieu Z8 et 1,00 mg COD d'AF, perturbent la croissance de *C. vulgaris* qui présente alors un taux de croissance, entre les jours 2 et 22, de $0,0275 DO_{685}.\text{jour}^{-1}$ contre $0,0313 DO_{685}.\text{jour}^{-1}$ pour la condition de sécheresse (Figure 93-a,b). Cette observation est confirmée par l'analyse des taux de croissance cellulaire avec un taux supérieur en condition sèche qu'en condition pluvieuse : $0,112 \text{ cellules}.\text{jour}^{-1}$ contre $0,107 \text{ cellules}.\text{jour}^{-1}$ (entre les jours 4 et 28) ; la concentration cellulaire au jour 28 est alors inférieure à celle en condition sèche. Cependant, un allongement de la durée de la phase exponentielle (+4 jours) permet à la culture d'atteindre une concentration maximale similaire à la condition de référence (Figure 93-d,e).

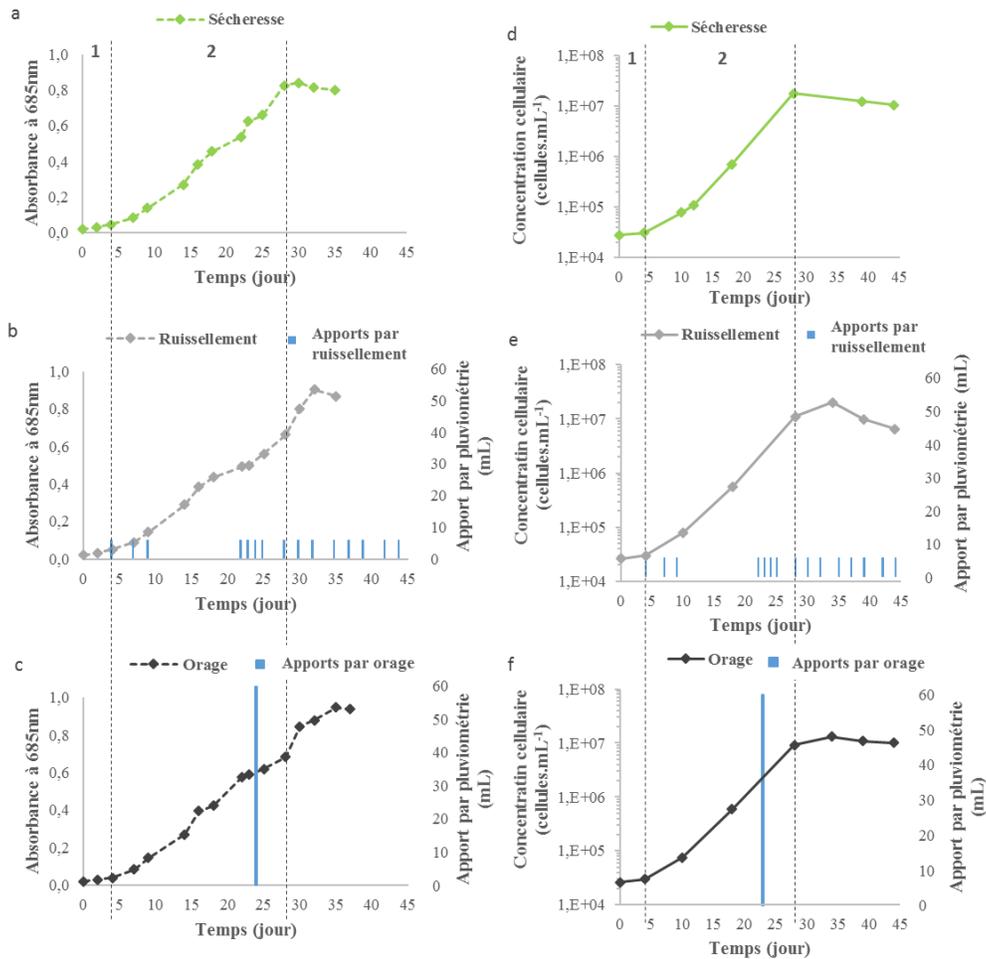


Figure 93 : Effet de la pluviométrie sur la croissance de *C. vulgaris* cultivée à 15°C . Les apports sont simulés par ajout de milieu Z8 contenant des AF à une concentration moyenne de $21 \pm 1 \text{ mg C.L}^{-1}$

Le 1^{er} orage est simulé au jour 24, en fin de phase de croissance exponentielle. Cet apport brusque de 60 mL de milieu et 1,26 mg COD d'AF impacte la croissance comme le montre la diminution du taux de production de DO_{685} par jour. En effet, jusqu'au jour de l'apport, les cultures présentent un taux de production similaire ($0,033 \pm 0,002 DO_{685}.\text{jour}^{-1}$ entre les jours 9 et 22), à la suite de l'apport il est inférieur en condition d'orage ($0,028 DO_{685}.\text{jour}^{-1}$ contre $0,036 DO_{685}.\text{jour}^{-1}$). Après cette diminution, la croissance exponentielle repart jusqu'au jour 35. Ainsi, la phase de croissance exponentielle est étendue de 7 jours et

permet à l'algue d'atteindre une DO_{685} maximale de 0,948, supérieure à celle en condition de sécheresse (0,840) (Figure 93-a,c). L'analyse de l'évolution de la concentration cellulaire permet d'accéder aux mêmes conclusions. La concentration cellulaire maximale est similaire entre les deux conditions, cependant, au jour 28, elle est double en condition de sécheresse (18.10^6 cellules.mL⁻¹) comparée à la condition d'orage ($9.2.10^6$ cellules.mL⁻¹). Le taux de croissance de 0,105 cellules.jour⁻¹ contre 0,112 cellules.jour⁻¹ confirme ces observations (Figure 93-d,f).

Le bilan de l'effet des conditions climatiques (température et pluviométrie) sur la croissance de *C. vulgaris* est présenté Tableau 60. L'effet de l'orage à 23°C n'est pas présenté car il est simulé après la phase de croissance exponentielle. Des effets non négligeables sont observés sur la croissance. Le sont-ils tout autant sur la quantité et qualité de la MOA produite ?

Tableau 60 : Effets de la température et de la pluviométrie sur la croissance de *C. vulgaris*. Dans le cas de la température, les résultats sont comparés aux conditions 23°C-ruissellement. Dans le cas de la pluviométrie à 23°C, les résultats sont comparés aux conditions 23°C – sécheresse. Dans le cas de la pluviométrie à 15°C, les résultats sont comparés au cas 15°C – sécheresse. (R : ruissellement ; O : orage)

Durée des phases (jour)	Latence	Température		Pluviométrie à 23°C	Pluviométrie à 15°C	
		15°C	5°C	R	R	O
	Exponentielle	+1	+9	=	=	=
		+7	+14	+3	+4	+7
DO_{685}	En fin de phase exponentielle de la condition de référence	-7%	-10%	Inférieure: développement limité par les apports aux jours 6,8,10	Inférieure : peu d'effet des apports en début de phase (jours 4 à 9) mais impact négatif des apports (jours 22 à 28) sur le développement	Inférieure : pas d'effet à très court terme, mais après 3 jours, diminution du taux de croissance
	Maximum	+50%	+73%	Inférieure	Supérieure	

2.3. Effets des variations climatiques sur la production de MOA par *C. vulgaris*

2.3.1. Effet de la température

Les évolutions de la quantité de MOA produite par la culture de *C. vulgaris* sous différentes températures (condition de ruissellement) sont présentées Figure 94-a,b,c. Après inoculation, le COD atteint 2,2 mg C.L⁻¹, 5,3 mg C.L⁻¹ et 3,4 mg C.L⁻¹ respectivement pour les températures de 23°C, 15°C et 5°C-23°C. Bien que la culture soit en phase exponentielle pour chaque inoculation, les variations peuvent être expliquées par le matériel biologique et instrumental.

La concentration en COD augmente au cours de la croissance pour atteindre respectivement 52,8 mg C.L⁻¹, 51,5 mg C.L⁻¹ et 46,7 mg C.L⁻¹ après 84 jours de culture soit une augmentation par rapport aux concentrations initiales d'un facteur 24,0 ; 9,8 et 12,3. La température impacte donc la production totale de MOA et une température de 15°C influence fortement la totalité de MOA produite comparée à la production à 23°C. Une étude plus approfondie par phase et par fractionnement de la MOA permet d'identifier la phase et la fraction principalement impactées.

Les Figure 94-d,e,f présentent les évolutions des concentrations des fractions hydrophobes de la MOA. Le découpage temporel se base sur la durée des phases de croissance pour la condition 23°C, condition de référence.

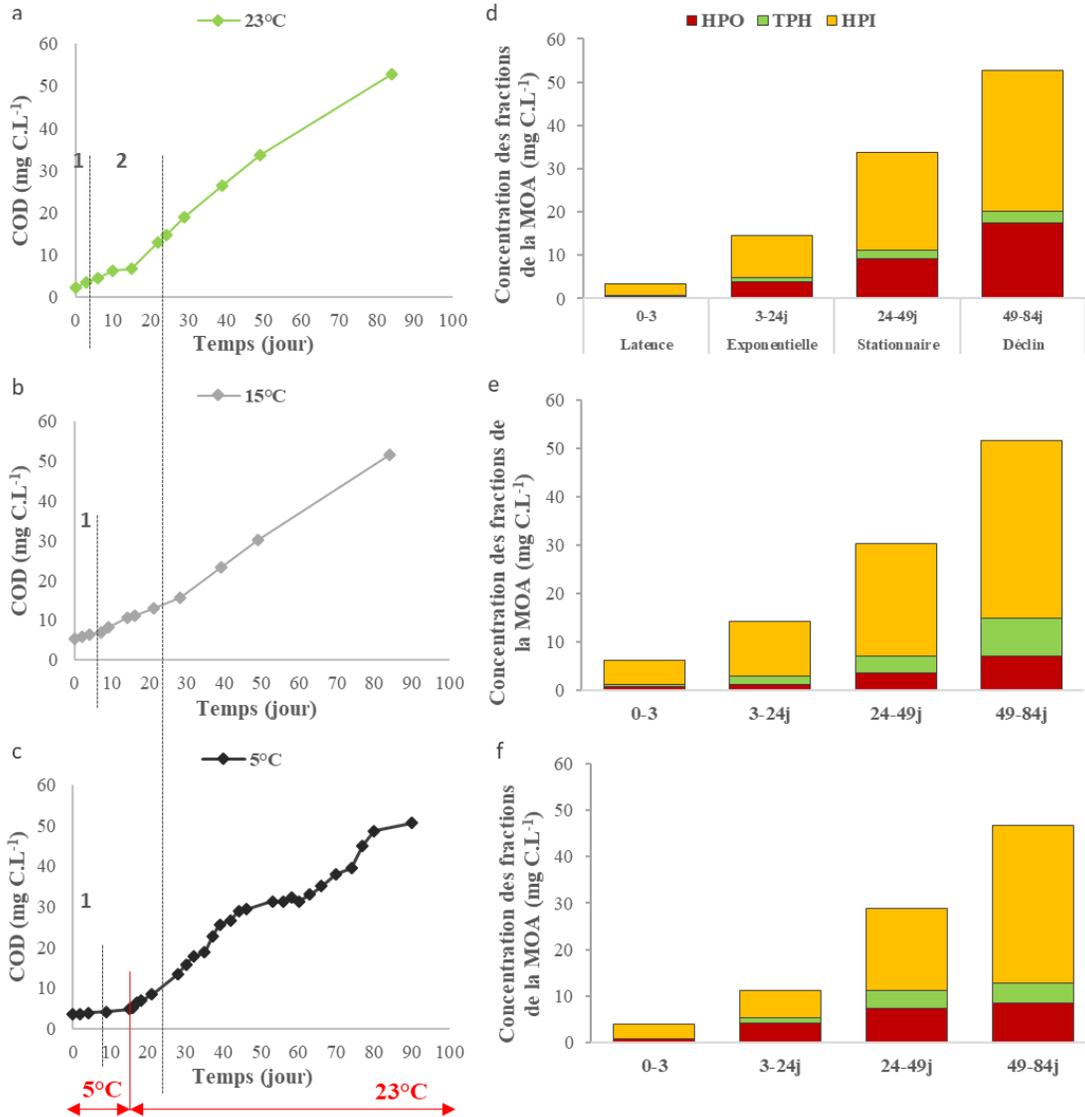


Figure 94 : Effets de la température sur la quantité de MOA produite par *C. vulgaris*

Les trois conditions montrent une augmentation progressive du COD au cours du vieillissement, mais une quantité générée par phase différente. La production de matière lors de la phase de latence est la principale impactée par la diminution de température : sous une température optimale, 1,2 mg C.L⁻¹ est produit en phase de latence et cette quantité diminue de 32% à 15°C et de 69% à 5°C. L'écart de production entre la condition optimale et les deux autres se resserrent au fur et à mesure du vieillissement, pour atteindre une production supplémentaire de 19 ± 2 mg C.L⁻¹ lors de la phase de déclin.

L'augmentation de COD se fait majoritairement pour la condition de référence à 23°C avec des évolutions régulières et quasi linéaires. Pour la condition 5°C-23°C, il est constaté une irrégularité dans l'évolution de la courbe Figure 94-c, liée à l'instabilité thermique. La condition de référence (Figure 94-d) permet la plus forte transformation des molécules en composés plus hydrophobes, puisque la fraction HPO présente le plus fort pourcentage en phase de déclin (33% contre 13% à 15°C et 18% à 5°C-23°C). Globalement, l'effet le plus positif est observé sur la condition de référence. Les autres conditions de plus

faibles températures ou de variations thermiques plus marquées sont moins favorables à la croissance et à l'humification.

Il est ainsi montré une variation de la production brute de MOA au cours des phases de croissance en fonction de la température malgré une dynamique similaire. Avec la diminution de température, le taux de production de MOA diminue. Cet effet est d'autant plus marqué en début de croissance, avec notamment une augmentation de la durée d'adaptation des cellules : en phase de latence, le taux de production vaut $0,39 \text{ mg C.L}^{-1}.\text{jour}^{-1}$ à 23°C et diminue de 32% à 15°C et 69% à 5°C ; en phase exponentielle, il est de $0,53 \text{ mg C.L}^{-1}.\text{jour}^{-1}$ à 23°C et diminue de 28% à 15°C et 36% à 5°C - 23°C . A partir de la phase stationnaire, les cellules rattrapent leur retard et présentent des taux de production de MOA similaires à la condition de référence (Figure 95).

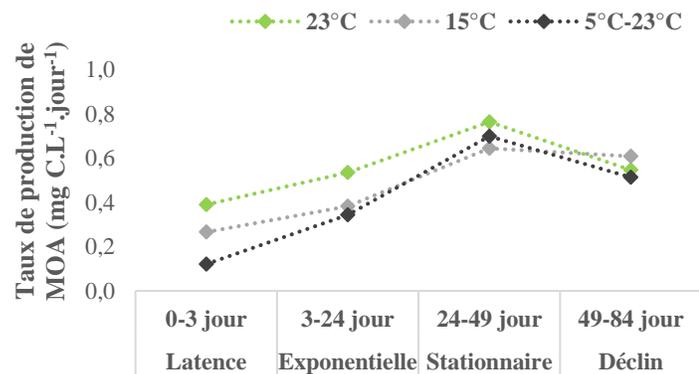


Figure 95 : Variations des taux de production de MOA en fonction de la température de culture

2.3.2. Effet de la pluviométrie

2.3.2.1. Sous une température de 23°C

Les Figure 96-a,b,c présentent les évolutions de la quantité de MOA produite par la culture de *C. vulgaris* sous différentes conditions pluviométriques sous une température de 23°C . Après inoculation, le COD des cultures s'élève à $2,2 \text{ mg C.L}^{-1}$ et augmente au cours de la croissance de l'algue pour atteindre, au bout de 84 jours, une concentration de $56,5 \text{ mg C.L}^{-1}$, $52,8 \text{ mg C.L}^{-1}$ et $60,3 \text{ mg C.L}^{-1}$ respectivement pour les conditions de sécheresse, ruissellement et orage, soit une augmentation d'un facteur 24,0 à 27,4. Au regard de ces premiers résultats, les pluviométries simulées n'impactent pas significativement la production globale de MOA mais des différences sont tout de mêmes observées. Si on considère l'apport de MO via les ajouts réguliers dans la modalité ruissellement et qu'on rapporte la masse ajoutée à la masse totale de COD dans la solution au temps t (Figure 97-a), ces ajouts représentent des apports en MO réguliers et faibles qui ne devraient pas impacter au temps t la concentration totale en MO dans le milieu (apport inférieur à 2,6% de la charge organique totale). Cumulés, ces ajouts représentent un apport de 8,1% de la quantité totale de COD. Ces apports ne peuvent donc pas expliquer des différences significatives d'évolution de la charge organique du milieu dans sa quantité et sa composition. Si l'on considère les apports en MO réalisés aux jours 24 et 50 pour la modalité orage (Figure 97-b), ils représentent un apport en MO ponctuel considérable au jour 24 au regard de la quantité totale en COD (respectivement 14% au jour 24 et 3% au jour 50). Cet apport, principalement au jour 24, peut expliquer des évolutions dans l'enrichissement en MO du milieu et dans la répartition de cette MO selon son caractère hydrophobe.

Les Figure 96-d,e,f présentent les évolutions des concentrations des fractions hydrophobes de la MOA. Le découpage par phase est basé sur la condition de sécheresse et l'impact des ajouts selon les

modalités ruissellement ou orage est comparé à cette modalité. La production de MOA est supérieure en condition d'orage, certainement lié à l'effet ponctuel de l'ajout de MO. De plus, il est constaté un enrichissement important en HPO suite à la simulation d'orage à J24 qui s'explique par l'apport des AF à hauteur de 14% du COD total. En condition de ruissellement et malgré des apports réguliers d'AF au caractère hydrophobe marqué, la fraction HPO augmente en moindre proportion et de façon similaire à la condition de sécheresse.

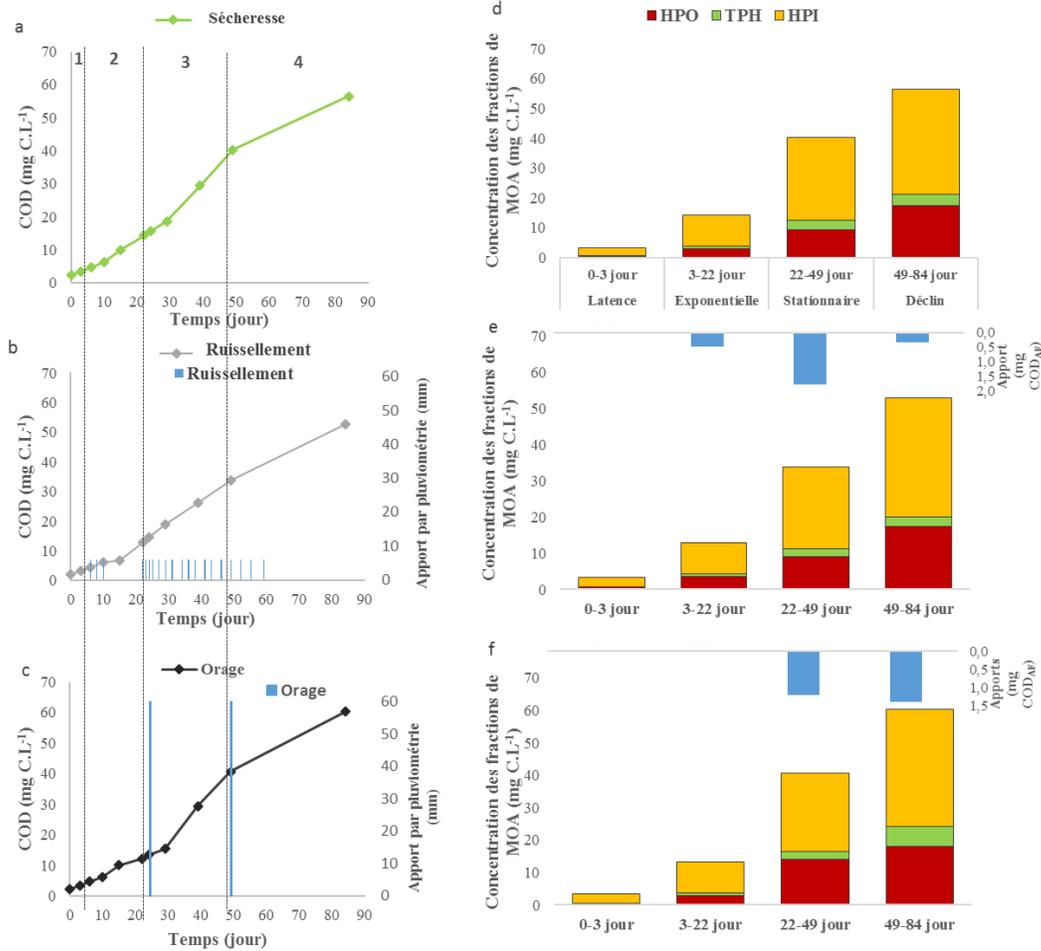


Figure 96 : Effets de la pluviométrie sur la quantité de MOA produite par *C. vulgaris* soumise à une température de 23°C. Les apports sont simulés par ajout de milieu Z8 contenant des AF à une concentration moyenne de 21 ± 1 mg C.L⁻¹

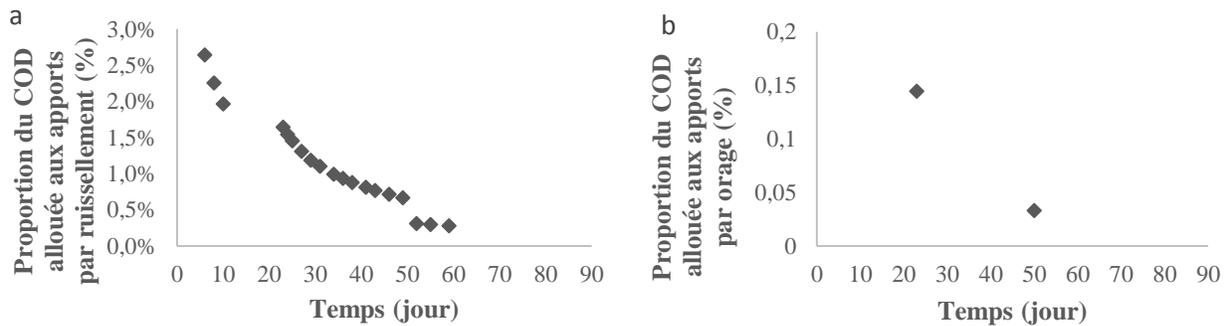


Figure 97 : Proportion du COD total allouée (a) aux apports par ruissellement et (b) aux apports par orage lors de la croissance de *C. vulgaris* sous une température de 23°C

La comparaison, à la condition sécheresse, des concentrations des fractions hydrophobes de la MOA produite en condition de ruissellement montre, pour toutes les phases de croissance, une production moindre des TPH. La fraction HPI est produite en plus faible concentration en condition de ruissellement pour les phases de latence, exponentielle et stationnaire. Inversement, au cours de la phase de déclin, les HPI sont produits en concentration plus importante (+38%). Sous l'effet des apports en AF, la fraction HPO est produite en plus grande concentration durant les deux premières phases mais reste similaire en concentration aux valeurs de la modalité sécheresse. La comparaison, à la condition sécheresse, de la modalité orage montre une production moindre des TPH et HPI de la phase de latence à la phase stationnaire et une production plus importante en phase de déclin. La fraction HPO est produite en plus faible concentration lors des deux 1^{ères} phases et augmente en phase stationnaire probablement sous l'effet de l'apport par orage comme discuté précédemment. En phase de déclin sa production est de nouveau inférieure.

Sous l'effet des apports, la production de COD brute par phase de croissance diffère de celle de la condition de sécheresse ; mais la dynamique reste similaire avec un maximum atteint en phase stationnaire (Figure 98). Les apports par ruissellement impactent négativement la production brute de MOA durant la phase exponentielle et stationnaire de *C. vulgaris* avec des taux inférieurs à ceux de la condition de sécheresse (0,59 mg C.L⁻¹.jour⁻¹ et 0,95 mg C.L⁻¹.jour⁻¹) de -15% et -19%. En fin de croissance, lorsque les cellules périssent, la tendance s'inverse avec un impact positif des apports (+18%). En condition d'orage, le taux de production est favorisé (1,02 mg C.L⁻¹.jour⁻¹ et 0,56 mg C.L⁻¹.jour⁻¹ en phase stationnaire et de déclin) en accord avec les observations précédentes.

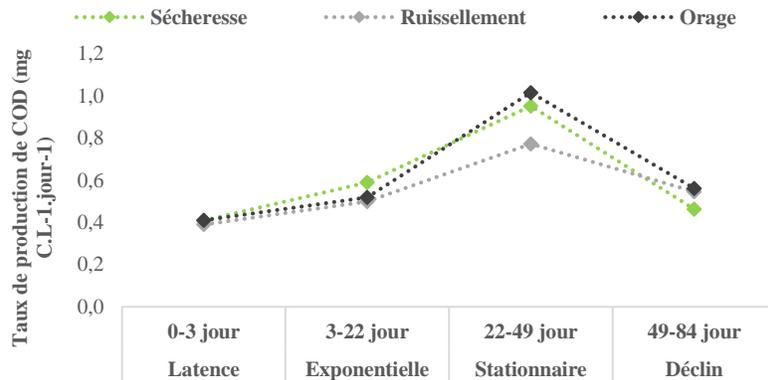


Figure 98 : Variations des taux de production de MOA en fonction des apports par pluviométrie sous une température de 23°C

2.3.2.2. Sous une température de 15°C

Les Figure 99-a,b,c présentent les évolutions de la quantité de MOA produite par la culture de *C. vulgaris* sous différentes conditions pluviométriques sous une température de 15°C. Après inoculation, le COD des cultures atteint 5,3 mg C.L⁻¹ et augmente au cours de la croissance de l'algue pour atteindre, au bout de 84 jours, une concentration de 58,8 mg C.L⁻¹, 51,5 mg C.L⁻¹ et 63,2 mg C.L⁻¹ respectivement pour la condition de sécheresse, ruissellement et orage, soit une augmentation d'un facteur compris entre 9,8 et 12,1. Les Figure 99-d,e,f présentent les évolutions des concentrations des fractions hydrophobes de la MOA. Le découpage par phase est basé sur la condition de sécheresse.

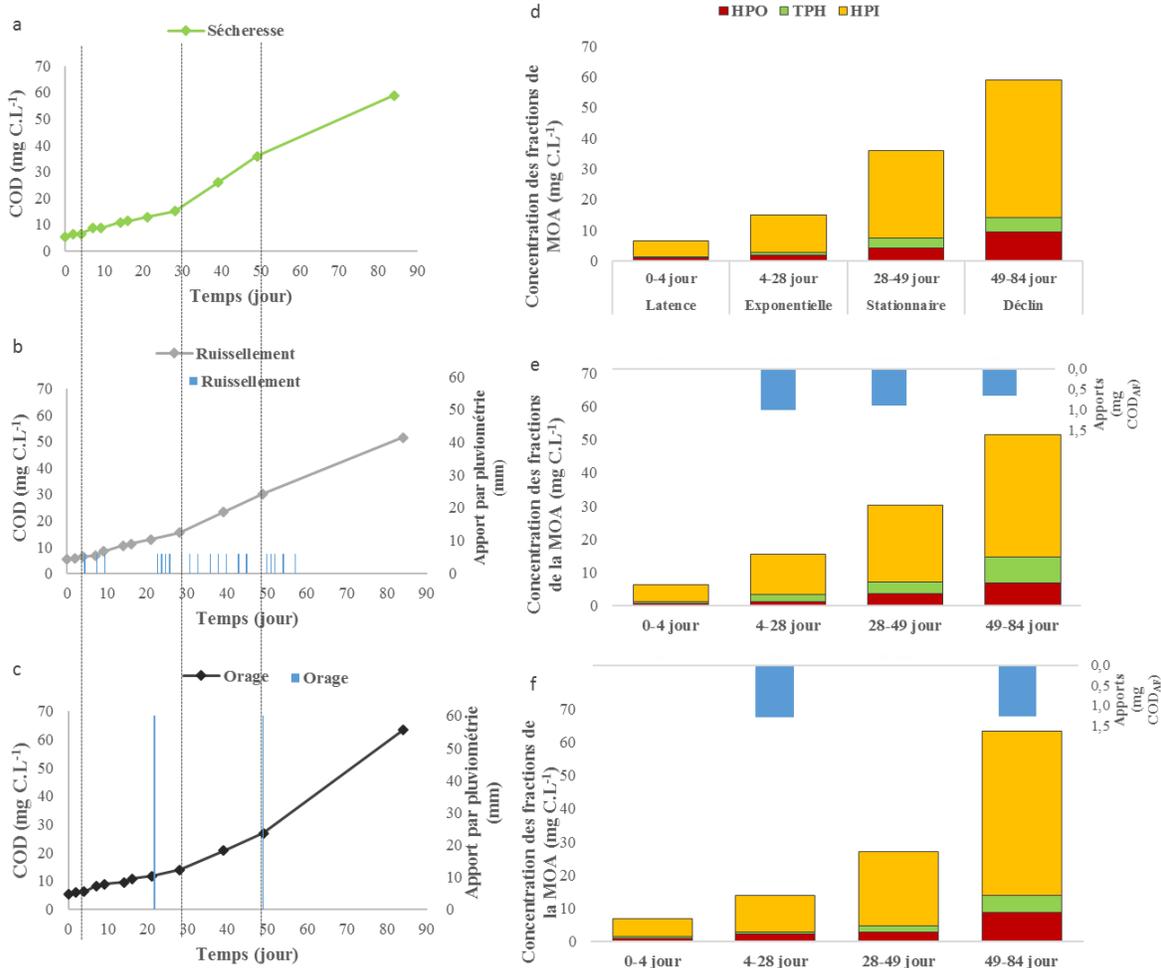


Figure 99 : Effets de la pluviométrie sur la quantité de MOA produite par *C. vulgaris* soumise à une température de 15°C. Les apports sont simulés par ajout de milieu Z8 contenant des AF à une concentration moyenne de 21 ± 1 mg C.L⁻¹

Bien qu'ils n'impactent que peu la production de MOA en début de croissance, les apports par ruissellement montrent un effet négatif sur la production de MOA au cours du vieillissement de la culture à 15°C, avec un taux plus faible de 30% et 7% par rapport à la condition de sécheresse, en phase stationnaire et de déclin. Les apports par orage perturbent la culture à 15°C en début de croissance et limite la production de MOA, notamment en phases exponentielle et stationnaire où le taux est inférieur à celui de la référence de 19% et 38%. A l'inverse, lorsque les cellules périssent, la production de MOA est augmentée (+58%), en partie liée à l'orage simulé. Si l'on considère les apports en MO liés à l'ajout d'AF lors des modalités ruissellement et orage (Figure 100-a, b), ces apports représentent au maximum un impact de 2,0% sur le COD ajouté pour la modalité ruissellement mais atteint 17% au jour 24 pour la modalité orage. Alors que l'effet sur la répartition des fractions de MOA était observé à 23°C dès les phases exponentielles et stationnaires, il semblerait que de plus faibles températures inhibent cet effet promoteur. Le taux de production (Figure 101) est ralenti jusqu'à la phase stationnaire et ce n'est qu'en phase de déclin que ce taux augmente. La faible température semble responsable d'un effet retardateur des évolutions.

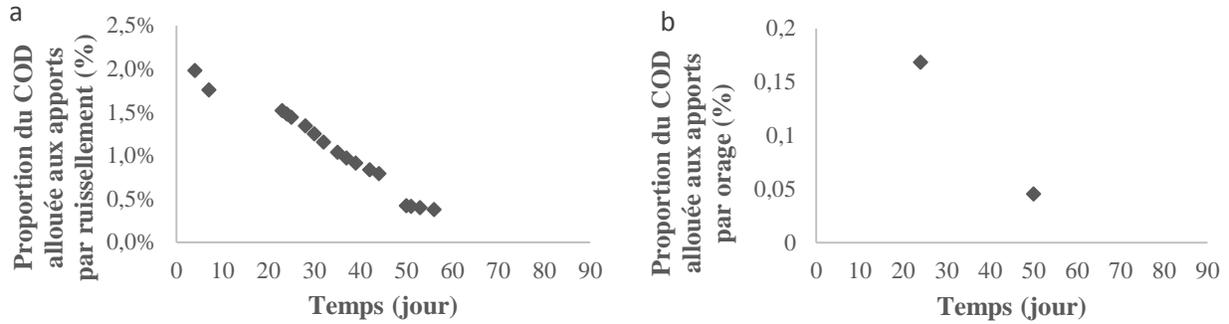


Figure 100 : Proportion du COD total allouée (a) aux apports par ruissellement et (b) aux apports par orage lors de la croissance de *C. vulgaris* sous une température de 15°C

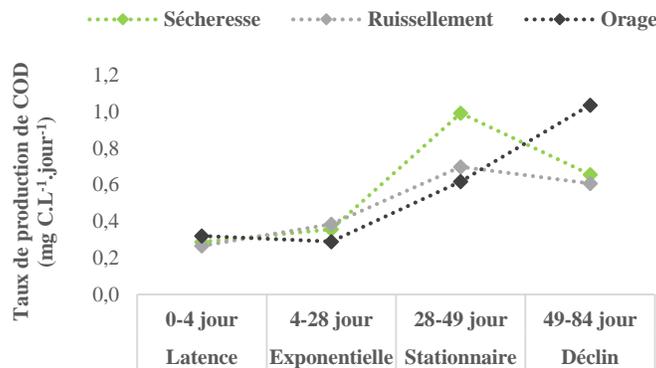


Figure 101: Variations des taux de production de MOA en fonction de la température de culture

La comparaison des concentrations des fractions hydrophobes de la MOA en condition de sécheresse et de ruissellement montre, pour toutes les phases de croissance en condition de ruissellement, une production supérieure des TPH et une production inférieure des HPI et HPO. La comparaison des conditions sécheresse et orage montre, en condition d'orage, une production légèrement supérieure des TPH et HPI en phases de latence et exponentielle et une production inférieure à partir de la phase stationnaire. La fraction HPO est produite en plus faible concentration en phases de latence et stationnaire et en plus forte concentration en phases exponentielle et de déclin, en corrélation avec les apports simulés.

Le bilan de l'effet des conditions climatiques (température et pluviométrie) sur la quantité de COD générée par *C. vulgaris* est présenté Tableau 61. La diminution de la température impacte négativement la production de MOA ; la différence du taux de production est davantage marquée en début de croissance. A 23°C et 15°C, la pluviométrie impacte la production par une diminution de celle-ci lorsque des apports faibles mais fréquents sont réalisés et par une augmentation lorsque des apports plus intenses mais ponctuels sont réalisés. Pour les deux températures (23°C et 15°C), la pluviométrie limite plus intensément la production en phases exponentielle et stationnaire. En phase de déclin, les différences avec la condition de référence diminuent ; excepté pour la condition d'orage à 15°C où le COD augmente fortement.

Tableau 61 : Effets de la température et de la pluviométrie sur la production de MOA par *C. vulgaris*. Dans le cas de la température, les résultats sont comparés aux conditions 23°C-ruissellement. Dans le cas de la pluviométrie à 23°C, les résultats sont comparés aux conditions 23°C – sécheresse. Dans le cas de la pluviométrie à 15°C, les résultats sont comparés au cas 15°C – sécheresse. (S : sécheresse ; R : ruissellement ; O : orage)

	Température			Pluviométrie à 23°C			Pluviométrie à 15°C		
	23°C	15°C	5°C	S	R	O	S	R	O
Production totale de MOA (ratio COD_r/COD_i)	24,0	9,8	12,3	25,6	24,0	27,4	11,2	9,8	12,1
Production réelle de MOA en fonction des phases de croissance									
Latence		-32%	-69%						
Exponentielle		-28%	-36%		-20%	-10%		-8%	-41%
Stationnaire		-16%	-9%		-31%	-2%		-37%	-38%
Déclin		12%	-6%		+15%	+7%		-12%	+49%

2.4. Comparaison de l'effet de la température sur les caractéristiques de la MOA pour la modalité ruissellement

La Figure 102 présente l'évolution des proportions des fractions hydrophobes de la MOA produites par *C. vulgaris* cultivée sous différentes températures et en mode ruissellement qui correspond aux conditions les plus fréquemment rencontrées sous un climat français et suédois. La comparaison entre les conditions de température de 23°C et 15°C (Figure 102-a,b) montre une dynamique similaire soit une diminution de la fraction HPI. Alors que cette fraction HPI diminue en faveur de la fraction HPO à 23°C, ce sont les composés TPH qui augmentent à 15°C. A partir de la phase exponentielle, la MOA produite par la culture à 23°C est significativement moins hydrophile (test de student, $p\text{-value} = 1,6.10^{-2}$) que celle produite à 15°C avec seulement 62% de HPI en phase de déclin à 23°C contre 71% à 15°C. A la fin de l'expérience, la fraction HPI a diminué de 23% à 23°C contre 12% à 15°C. Les fractions HPO et TPH ont quant à elles augmenté de 94% et 150% à 23°C contre 8% et 114% à 15°C. L'augmentation de la fraction HPO est significativement plus élevée à 23°C qu'à 15°C (test de student, $p\text{-value} = 2,3.10^{-2}$). Ces observations sont cohérentes vis-à-vis des caractéristiques de la MOA produite (Figure 94-d,e). La culture à 5°C-23°C présente une dynamique très différente. Durant les 15 jours à 5°C, les apports par ruissellement représentent une proportion non négligeable du COD produit (38%). Cette matière apportée contient une majorité de fraction HPO, qui impacte les caractéristiques de la matière. La fraction HPO augmente donc fortement, au détriment de la fraction HPI, en partie en raison des apports. L'augmentation de la température à 23°C permet à la culture de se développer, augmentant alors la proportion de HPI et avec le vieillissement, la fraction HPI augmente au profit de la fraction HPO.

Le fractionnement de la MOA produite par *C. vulgaris* sous différentes modalités de pluviométrie ne montre pas de différence dans la répartition des fractions hydrophobes.

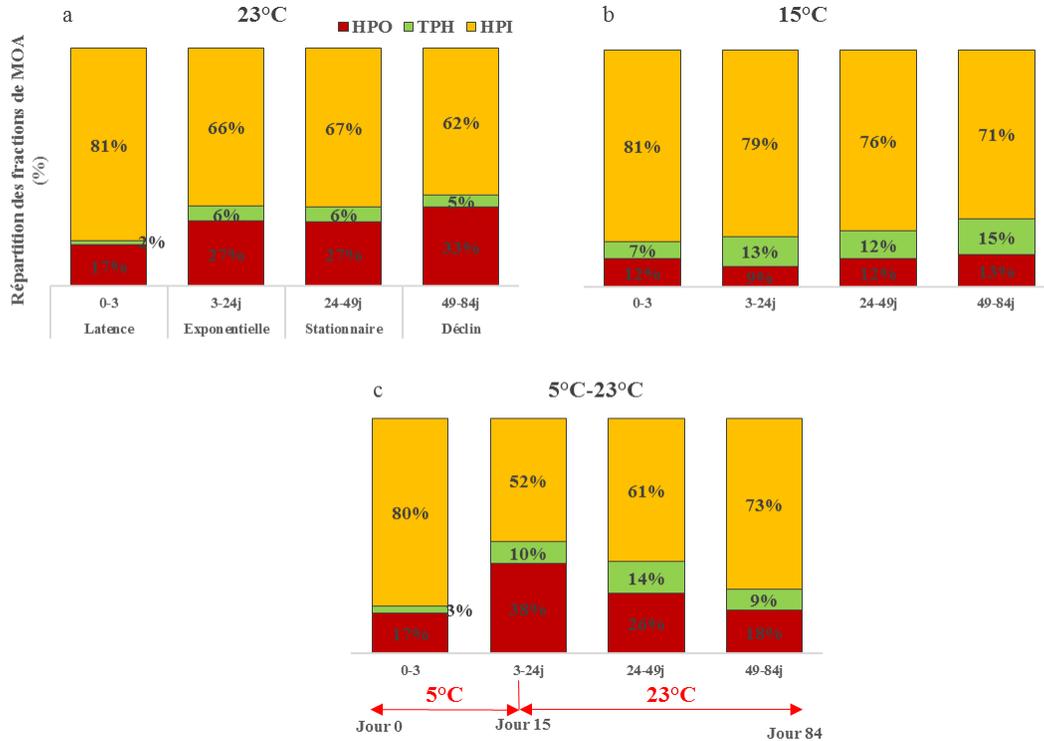


Figure 102 : Effets de la température sur les caractéristiques de la MOA produite par *C. vulgaris*

3. Conclusion de l'axe 1 du chapitre 2

Ces différences de dynamique liées à la température et aux conditions de pluviométrie impactent la croissance des cellules et la production de MO. Les conséquences sur la composition et la qualité de l'eau doivent être prises en considération sur le long terme, et plus particulièrement si cette eau doit servir de ressource pour la production d'eau potable. La prédominance des HPI dans la MOA produite par *C. vulgaris* et *M. aeruginosa* au cours de leurs croissances tend à rendre plus compliquée la rétention des composés organique dans les filières de traitement des eaux. Même à plus faible température (15°C versus 23°C), le système est en capacité de venir produire de la MOA, avec un effet de retardement par rapport aux comportements à des températures plus élevées pour *C. vulgaris* et avec une intensité moins élevée pour *M. aeruginosa*, mais toujours avec une proportion de HPI supérieure. L'évolution à très faible température (5°C), vers des composés plus hydrophobes, se rapproche des conditions d'évolution de la matière organique naturelle. Cependant, si cette température augmente jusqu'à 23°C après une phase de maintien à 5°C (effet saisonnier de fluctuations de la température couramment rencontré sous nos climats), alors la proportion de la fraction HPI devient importante et risque d'impacter fortement la qualité des eaux sur le long terme.

Les apports allochtones de MON liés au ruissellement et plus particulièrement à des situations d'orage tendent à augmenter sous le réchauffement climatique. Or, cette étude a montré que suite à une simulation d'orage, les taux de développement de *C. vulgaris* sont diminués et que la phase de croissance exponentielle est étendue. A l'issue de cette phase de croissance, la production d'algue est favorisée, lui permettant d'atteindre une DO_{685} maximale et supérieure aux conditions sans apport. Il y a donc après un orage, un bloom algal suivi d'un enrichissement en MOA du milieu. A contrario, les apports récurrents et en faible quantité limitent la production de MOA.

La croissance cellulaire de *M. aeruginosa* en phase exponentielle est diminuée suite à une simulation de pluie. A l'issue de cette phase, le taux de développement et la production de MOA par *M. aeruginosa* sont différemment impactés selon la température de culture et le type d'apport. A 23°C, les apports fréquents et peu intenses semblent promouvoir la production de MOA à l'inverse d'une simulation d'orage. Ce constat, étonnant vis-à-vis de l'évolution de la concentration cellulaire, des observations *in-situ* et de la dynamique de *M. aeruginosa* doit être confirmé. Lorsqu'elles sont cultivées sous une température limitante à leur développement, les simulations d'orage favorisent la production de MOA et notamment de composés hydrophobes, alors que des simulations de ruissellement semblent limiter la production et la transformation des composés hydrophiles.

En plus d'effets sur la croissance et la production de MOA, les variations climatiques impactent la production de MCs et sa répartition intra-/extracellulaire en régulant la libération des toxines. Avec le vieillissement de la culture, la concentration totale en MCs ainsi que sa proportion de MCs extracellulaires augmentent. La concentration totale en MCs est défavorisée à basse température et lorsque le milieu est régulièrement et ponctuellement renouvelé. Il est également observé une augmentation de la fraction extracellulaire lorsque les cellules ne sont pas en conditions optimales ; la diminution de température ou les apports par pluviométrie semblent stresser les cellules qui libèrent alors leurs cyanotoxines. Ainsi, durant les 1^{ères} phases de croissance, les toxines sont bien présentes mais sont « piégées » dans les cellules ; elles peuvent donc être retenues par des procédés physiques de séparation des cellules cyanobactériennes de l'eau. Par contre, un procédé oxydatif ne doit pas être appliqué pour éviter la libération des toxines dans l'eau. En phase de déclin (en fin de développement saisonnier des cyanobactéries) ou lorsqu'elles sont soumises à une variation climatique, les toxines sont libres en solution ce qui impose d'envisager leur traitement spécifique, par exemple via l'adsorption.

Axe 2 : Dynamique de la Matière Organique Naturelle et évolution des teneurs en Microcystines au cours des saisons dans différentes ressources en eau : étude *in-situ*.

L'intensité de l'eutrophisation d'une ressource en eau est régulée par de nombreux facteurs : les concentrations en nutriments, un climat favorable, une eau stagnante et une faible pression de prédateurs. Le suivi de certains paramètres, notamment les nutriments et le climat, permet de définir une période favorable au développement et des auteurs tentent même de modéliser voire de prédire les blooms par ces suivis (Beaulieu *et al.*, 2013 - 2014). Ces différents paramètres permettent également de caractériser la durée et l'intensité du phénomène. La mesure *in-situ* de paramètres physico-chimiques (oxygène dissous, pH), ou biologiques (chlorophylle, phycocyanine) confirme rapidement la présence d'un développement phytoplanctonique ainsi que sa profondeur si un profil vertical est effectué. Parallèlement, comme une quarantaine d'espèces de cyanobactéries peuvent produire des cyanotoxines (136 molécules sont actuellement recensées) telles que les microcystines (Briand *et al.*, 2003), leur identification et quantification évaluent la toxicité de la ressource en eau et permettent d'assurer la qualité sanitaire des eaux traitées.

De plus, les proliférations phytoplanctoniques augmentent la charge organique de la ressource en eau (COD = 2-3 mg C.L⁻¹ dans les plans d'eau oligotrophe contre 10-30 mg C.L⁻¹ dans les plans d'eau eutrophe ; Thurman, 1985) par génération de MOA dont les propriétés diffèrent de celles de la MON. La MOA présente un caractère majoritairement hydrophile et est faiblement aromatique. Les conséquences des proliférations et donc des apports récurrents en MOA sur les caractéristiques de la MON de la ressource en eau ont été encore peu étudiées. Pourtant, de la quantité et des caractéristiques de la MON dépendent l'efficacité des procédés de traitement des eaux. Il est donc nécessaire d'évaluer de manière quantitative et qualitative les impacts des apports récurrents de MOA sur la MON afin d'éviter un dysfonctionnement des procédés voire d'anticiper une optimisation.

Le climat englobe des facteurs primordiaux au contrôle de l'eutrophisation. La température est un des principaux paramètres car elle stimule les activités métaboliques des cellules. La pluviométrie joue un double rôle : d'un côté, elle favorise les proliférations par apports de nutriments par ruissellement des eaux du bassin versant et les épisodes de sécheresse favorise la stagnation de l'eau, d'un autre côté, les orages perturbent les développements par renouvellement de la masse d'eau. Afin de compléter les observations expérimentales au laboratoire (- 129 -) et de comprendre et comparer *in situ* l'impact des variations climatiques sur la dynamique du phénomène d'eutrophisation, un suivi des caractéristiques de différentes ressources en eau situées sur un axe géographique Nord-Sud (Suède, France et Togo) est réalisé. Ces trois pays présentent des climats variés avec des températures et des pluviométries hétérogènes. Un suivi des paramètres bio-physico-chimiques est réalisé sur une période de 21 mois sur le site de l'étang eutrophe de Pigeard (Haute-Vienne, France) et de manière ponctuelle sur le lac Vombsjön (Suède) et la rivière Kara (Togo). Ces suivis ont pour objectif de quantifier et caractériser la MON et les MCs au regard des paramètres climatiques et des développements phytoplanctoniques. Puis, afin d'évaluer l'impact de phénomènes d'eutrophisation récurrents sur la dynamique de la MO, les résultats obtenus dans le cadre du suivi de l'étang de Pigeard sont comparés à ceux obtenus lors de l'étude de 2012-2013 dans le cadre du projet CYAME (Leloup, 2013). Cette comparaison permet d'étudier l'évolution des paramètres bio-physico-chimiques de l'eau et la dynamique de la MON sur une échelle de sept ans et conclure quant à une éventuelle dégradation de la qualité de l'eau suite à des proliférations phytoplanctoniques récurrentes.

Les paramètres suivis incluent des paramètres de contrôle des développements (nutriments, pluviométrie, température de l'air, durée et intensité ensoleillement, vent), des paramètres globaux (pH, O₂ dissous, potentiel redox, conductivité), des paramètres biologiques permettant de quantifier le phénomène (chlorophylle-a, concentration cellulaire), d'en déterminer les espèces majoritaires (identification microscopique) et la toxicité (MCs) ainsi que la quantité de MON (COD) et ses propriétés (fractionnement selon le caractère hydrophobe, SUVA).

1. Etats des lieux de l'eutrophisation de l'étang de Pigeard (France) et conséquences sur la dynamique de la Matière Organique Naturelle et des Microcystines

1.1. Dynamique et évolution durant la période 2017-2019

Pendant 21 mois (entre avril 2017 et janvier 2019), la qualité de l'eau, la dynamique de la MON et la caractérisation du phytoplancton de l'étang de Pigeard ont été évaluées mensuellement.

1.1.1. Etat des lieux des facteurs de contrôle de l'eutrophisation

Les facteurs de contrôle des développements phytoplanctoniques ont tout d'abord été étudiés afin de déterminer les périodes de potentiel développement. Les concentrations en azote total et orthophosphates sont respectivement comprises entre 0,6 – 3,6 mg N.L⁻¹ et <50 et 169 µg.L⁻¹ (Figure 103), dans une gamme de concentrations comparables à l'année 2012-2013 (1,9 – 3,1 mg N.L⁻¹ et 20 et 430 µg.L⁻¹). Ainsi, tout au long de l'année, les concentrations en nutriments du plan d'eau sont suffisantes pour permettre le développement du phytoplancton. Le phytoplancton n'est donc pas limité par les concentrations en nutriments et sa dynamique est sous le contrôle des facteurs climatiques.

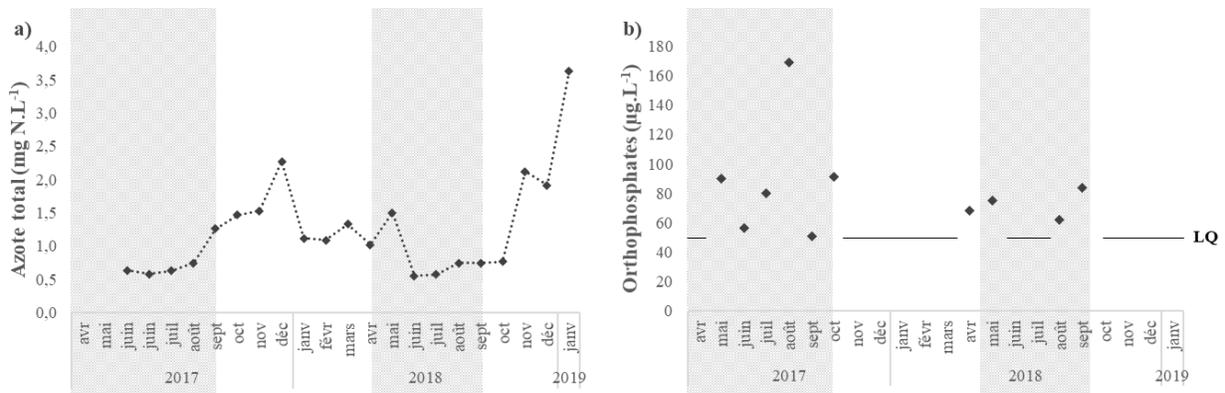


Figure 103 : Concentrations en a) azote total et b) orthophosphates (LQ : limite de quantification de l'appareil = 50 µg.L⁻¹) dans l'étang de Pigeard

Entre octobre 2016 et janvier 2019, la température de l'air moyenne s'élève à $12 \pm 6^\circ\text{C}$ avec un maximum de $28,2^\circ\text{C}$ atteint en août 2018 et un minimum de $-6,2^\circ\text{C}$ en février 2018. Les températures moyennes annuelles en 2016 et 2017 sont de $12 \pm 6^\circ\text{C}$ et elle augmente de 1°C en 2018 avec une moyenne de $13 \pm 7^\circ\text{C}$. La pluviométrie moyenne annuelle sur la période s'élève à 978 ± 48 mm, avec un maximum mensuel de 196 mm en janvier 2018 et un minimum mensuel de 15,3 mm lors du mois d'août 2018. Les années 2016 et 2017 ont connu une pluviométrie plus faible (959 mm et 943 mm) que l'année 2018 (1032 mm). Le rayonnement global moyen est de 1251 ± 20 J.cm⁻² avec un maximum de 3122 J.cm⁻² en juillet 2018 et un minimum de 24 J.cm⁻² en décembre 2018 (Figure 104). Les moyennes sur cette période d'étude sont comparables aux moyennes mesurées entre 1980 et 2010 (Tableau 27).

Compte tenu que les concentrations en nutriments ne sont pas limitantes pour le développement du phytoplancton, les périodes favorables aux développements sont déterminées à partir des données climatiques. Une température de l'air douce ($> 10^{\circ}\text{C}$) et une radiation solaire cumulée sur 24 heures supérieure à 1500 J.cm^{-2} est favorable à la croissance du phytoplancton (Reynolds, 2006 ; Jourdain, 2010 ; Leloup, 2013).

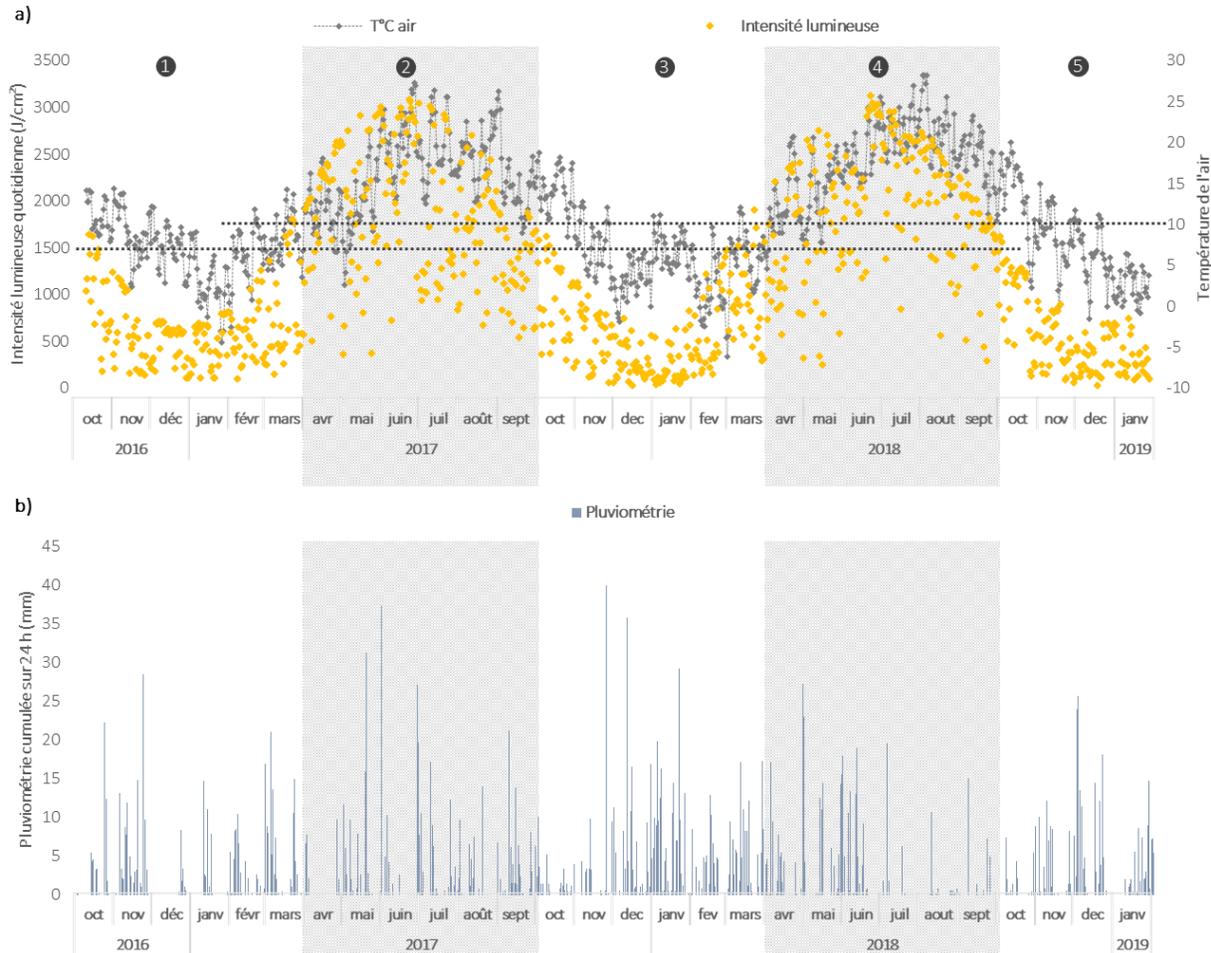


Figure 104 : Données météorologiques mesurées à la station de Limoges-Bellegarde (située à moins de 10 km de l'étang de Pigeard) : a) Intensité lumineuse (cumulée sur 24h) et température de l'air (météo France). B) Pluviométrie quotidienne. En ombré, les périodes favorables aux développements phytoplanctoniques (Intensité lumineuse $> 1500 \text{ J.cm}^{-2}$ et température de l'air $> 10^{\circ}\text{C}$)

Au regard des données climatiques, les périodes avril – septembre 2017 et avril – septembre 2018 (périodes grisées sur les figures) sont identifiées comme favorables et sont nommées « saison estivale » (Figure 104-a). Le Tableau 62 détaille les moyennes et extrêmes climatiques lors des cinq périodes identifiées. Bien qu'un suivi sur 2 ans ne permette pas de faire une généralité, les valeurs observées suivent la tendance des prévisions climatiques du GIEC. Depuis 2016, une tendance à l'augmentation des températures est observée : la température estivale moyenne est plus élevée de $2,4^{\circ}\text{C}$ en 2018 qu'en 2017 et les températures maximales atteintes en hiver augmentent ($+5,6^{\circ}\text{C}$). L'hiver 2017 – 2018 particulièrement froid, ne permet pas de montrer une tendance sur les trois années d'étude. Ces augmentations de températures estivales viennent favoriser et intensifier les développements de cyanobactéries et les augmentations des températures hivernales vont venir étendre la période favorable aux développements phytoplanctoniques. Aucune tendance significative n'est observée concernant l'intensité lumineuse en

période hivernale mais une tendance à la hausse est cependant remarquée entre l'été 2017 et 2018 (+207 L.cm⁻² sur la moyenne). L'année 2016-2017 est caractérisée par une pluviométrie de 427 mm en hiver et 443 mm en été. L'année 2017-2018 présente un hiver plus pluvieux (681 mm) et un été plus sec (372 mm). Il est également observé une augmentation du nombre de jours de fortes pluies (>10 mm en 24h) en hiver avec 14 jours en période 1 contre 20 en période 3 et en été, avec 13 jours en 2017 et 16 jours en 2018 ; ainsi qu'une augmentation du nombre consécutif de jours secs (<1 mm en 24h) en été, avec 26 en 2017 contre 28 en 2018.

Tableau 62 : Moyennes et extrêmes climatiques mesurées à chaque période identifiée sur l'étang de Pigeard

		PERIODES HIVERNALES			PERIODES ESTIVALES	
		Période 1	Période 3	Période 5	Période 2	Période 4
		10/16 – 03/17	10/17 – 03/18	10/18 – 01/19	04/17 – 09/17	04/18 – 09/18
Température (°C)	Max	14,4	18,2	20,0	27,3	28,2
	Moy	6,9	6,4	7,8	15,4	17,8
	Min	-4,4	-6,2	-1,5	2,6	6,8
Intensité lumineuse cumulée sur 24h (J.cm⁻²)	Max	1638	1904	1625	3087	3122
	Moy	557	605	540	1730	1937
	Min	100	31	24	145	248
Pluviométrie	Total mensuelle (mm)	427	681	332	443	372
	Nombre de jour de forte pluie (>10mm en 24h)	14	20	-	13	16
	Nombre consécutif de jours secs (<1mm en 24h)	-	-	-	26	28

Les pluies hivernales viennent enrichir le plan d'eau en nutriments et soutenir les développements phytoplanctoniques. Les développements sont également soutenus par les faibles pluies qui homogénéisent la masse d'eau ainsi que par les jours secs qui favorisent la stagnation de l'eau et son réchauffement.

1.1.2. Evolution des paramètres physico-chimiques

Le suivi continu *in-situ* de l'étang Pigeard démarre en avril 2017 et se termine en janvier 2019. Au cours de ces 21 mois, mensuellement, les paramètres physico-chimiques mesurés *in situ* sont la température de l'eau, l'oxygène dissous, le pH, le potentiel redox et la conductivité. Ces paramètres *in situ* sont complétés au laboratoire par la mesure de la turbidité et des MES/MVS. En période estivale, sous l'effet de l'augmentation de la température de l'air et de l'intensité et de la durée de l'ensoleillement, la température de l'eau augmente (Figure 105-a) : elle varie entre 14 et 29°C en périodes estivales et entre 4 et 10°C en périodes hivernales. En conséquence de ces conditions favorables, le phytoplancton se développe dégradant alors la qualité de l'eau.

La consommation du CO₂ pour la photosynthèse et l'assimilation du NO₃⁻ pour le métabolisme du phytoplancton, conduisent à une augmentation du pH de l'eau en saison estivale. Le pH atteint 9,3 ± 0,2 et 8,6 ± 0,9 lors des périodes favorables contre 7,4 ± 0,1 lors de l'hiver 2017 (Figure 105-b). Une condition d'élévation du pH est favorable à la désorption des orthophosphates des oxydes de fer sédimentaire. Les concentrations en orthophosphates sont donc plus élevées en saison estivale, alors que la concentration est inférieure à la limite de quantification (50 µg.L⁻¹) en saison hivernale (Figure 103-b). Les orthophosphates

sont alors de nouveau disponibles pour le métabolisme du phytoplancton. Les algues et cyanobactéries consomment également de l'azote (principalement sous forme de NH_4^+ et NO_3^-). Ainsi, la dynamique de l'azote total est fortement corrélée aux développements phytoplanctoniques : la concentration diminue en période estivale ($0,84 \text{ mg N.L}^{-1}$ en moyenne) et augmente en période hivernale ($1,73 \text{ mg N.L}^{-1}$ en moyenne) grâce à l'apport par ruissellement (Figure 103-a). La saturation en oxygène est également un bon indicateur du développement phytoplanctonique. En effet, l'activité photosynthétique du phytoplancton libère de l'oxygène dans l'eau. Ainsi, une saturation supérieure à 100 % est corrélée à un développement phytoplanctonique (Figure 105-c) ; et des sursaturations moyennes autour de $148 \pm 33 \%$ sont observées en période estivale. Le suivi de paramètres globaux, tels que le pH et l'oxygène dissous, permet donc de constater rapidement et facilement une prolifération cyanobactérienne.

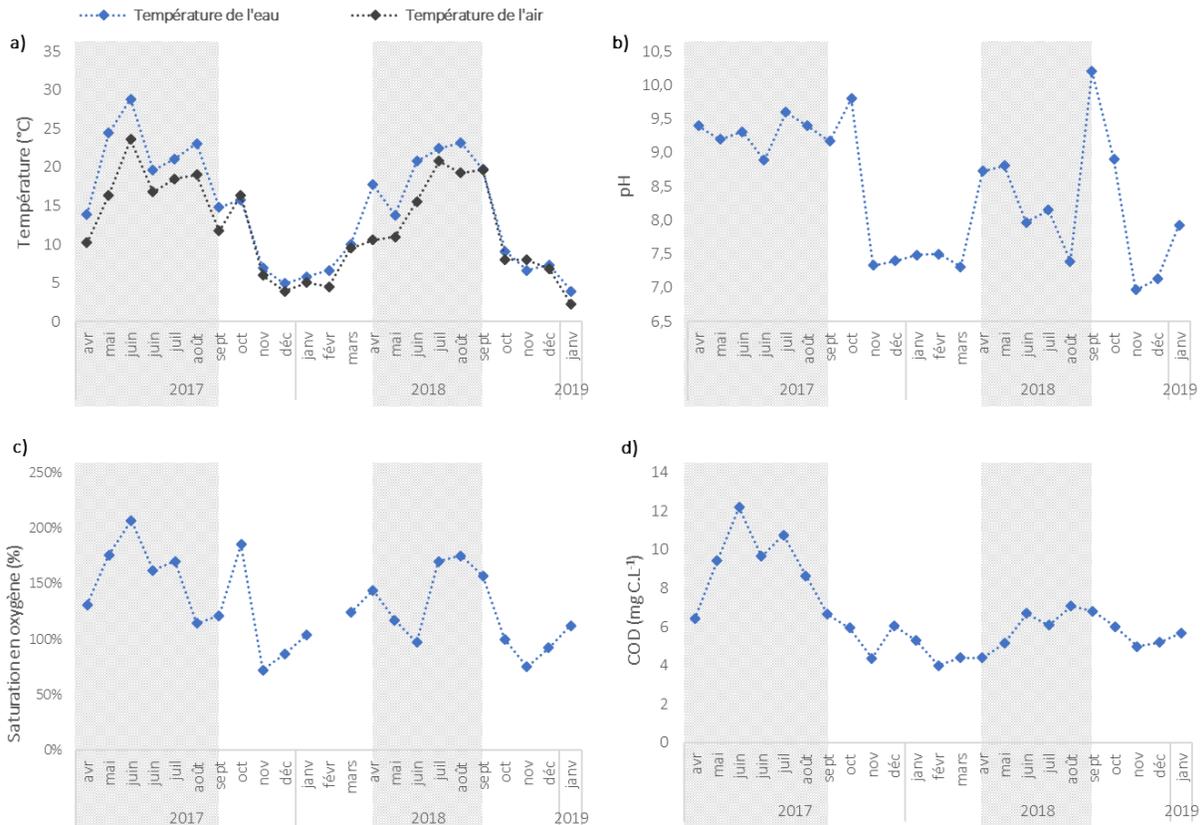


Figure 105 : Evolution des paramètres durant les 21 mois de suivi : a) Température de l'air et de l'eau ; b) pH ; c) Saturation en oxygène dissous ; d) Carbone Organique Dissous. Les aires grisées représentent les périodes favorables aux proliférations phytoplanctoniques.

En conséquence des développements, une augmentation de la concentration en COD est observée et des concentrations moyennes de $8,2 \pm 2,2 \text{ mg C.L}^{-1}$ sont quantifiées en période estivale. A partir d'octobre, lorsque les conditions climatiques sont défavorables aux développements phytoplanctoniques, les matières organiques sont consommées par les bactéries hétérotrophes, le COD diminue progressivement, pour atteindre une valeur minimale de $4,0 \text{ mg C.L}^{-1}$ en novembre 2017 (Figure 105-d).

Dans le plan d'eau de Pigeard, la dynamique de la MON est, par conséquent, sous le contrôle des proliférations phytoplanctoniques et donc du climat ; ce phénomène est favorisé par la faible profondeur du plan d'eau ($< 1,5 \text{ m}$). La Figure 106 présente l'évolution de la turbidité et de la concentration en matières en suspension dans le plan d'eau. La part organique, résultant de la production primaire, prédomine

largement (> 50% toute l'année). La turbidité de l'eau est supérieure en période estivale à celle en période hivernale. En effet, il existe une forte corrélation entre la turbidité et la concentration en chlorophylle-a : la présence de cellules phytoplanctoniques participe à l'augmentation de la turbidité et à la diminution de la transparence de l'eau. Une forte turbidité (141 NTU) est mesurée en octobre 2018 et la part de matières minérales est élevée (34 %) en comparaison aux autres prélèvements. La forte pluviométrie du jour de prélèvement et de la veille (8,9 mm et 5,4 mm) confirme des apports d'eaux du bassin versant par ruissellement.

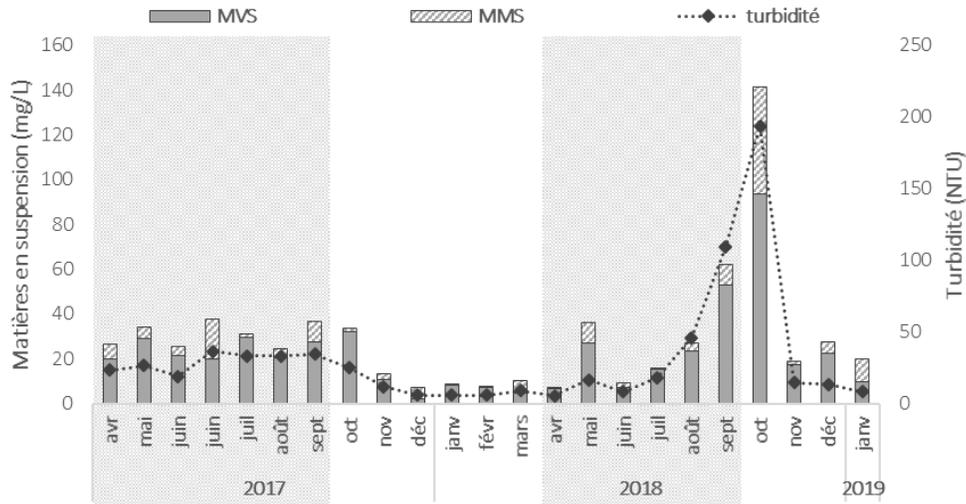


Figure 106 : Evolution entre avril 2017 et janvier 2019 de la turbidité et des matières en suspension (part organique (MVS) et part minérale (MMS))

1.1.3. Dynamique du phytoplancton : concentration cellulaire et espèces

Les proliférations phytoplanctoniques sont évaluées par la mesure de la concentration en chlorophylle-a. Bien qu'une corrélation soit observée entre la concentration en chlorophylle-a et celle en phytoplancton, il n'y a pas proportionnalité entre ces deux grandeurs (Figure 107). En effet, la concentration en chlorophylle-a dépend de la concentration cellulaire mais également des espèces présentes – les algues vertes contiennent plus de Chl-a que les cyanobactéries (Chorus et Bartram, 1999 ; Reynolds, 2006) – de leurs phases de croissance et des conditions environnementales – les cyanobactéries adaptent leur contenu en pigments photosynthétiques en fonction de la qualité de la lumière (Reynolds, 2006 ; Dubinsky et Stambler, 2008). En présence de nutriments en quantités suffisantes et sous des conditions climatiques favorables, la chlorophylle-a augmente pour atteindre des concentrations moyennes de $136 \pm 46 \mu\text{g.L}^{-1}$ alors qu'elle est égale à $62 \pm 23 \mu\text{g.L}^{-1}$ en période hivernale. Au regard des concentrations en nutriments et chlorophylle, le plan d'eau de Pigéard se classe dans la catégorie eutrophe voire hyper-eutrophe (Tableau 2).

Parallèlement à ces fortes concentrations en chlorophylle-a, la concentration en phytoplancton est élevée (Figure 107): lors de la période estivale de 2017, il est observé une moyenne de $21.10^5 \pm 3.10^5$ cellules.mL⁻¹. Cette concentration diminue progressivement en octobre et novembre avec la diminution de l'intensité lumineuse et de la température, pour atteindre un minimum de $0,14.10^5 \pm 0,05.10^5$ cellules.mL⁻¹ entre décembre et mars 2017. Le retour de conditions climatiques favorables, à partir de fin mars-début avril 2018, s'accompagne d'une augmentation de la concentration cellulaire. Il y a ainsi, au fil de l'année, une alternance de mois propices au développement, où les concentrations en Chl-a et les concentrations cellulaires augmentent, et des mois au climat défavorable, où les concentrations diminuent.

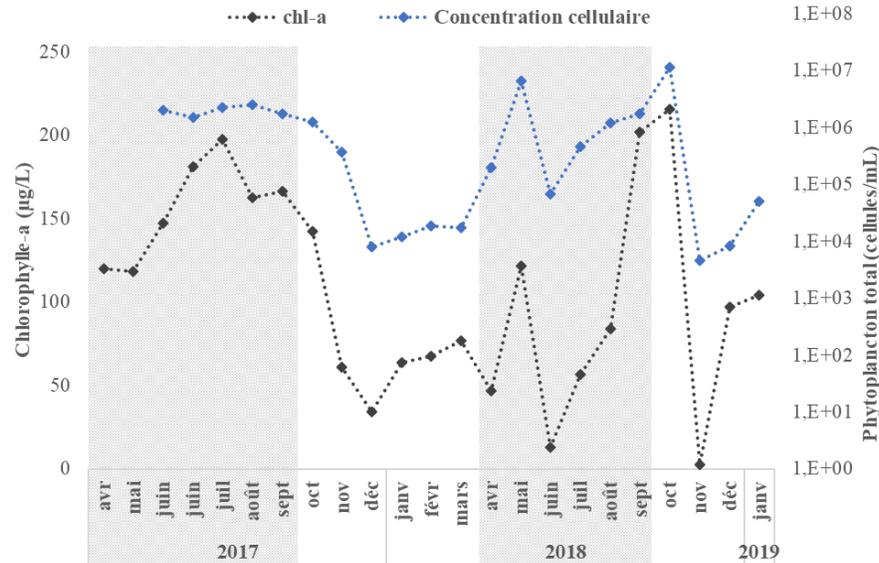


Figure 107 : Evolution entre avril 2017 et janvier 2019 de la chlorophylle-a et de la concentration en phytoplancton total

La température élevée d'avril 2018 (12,6°C pour une normale de 10,0°C) initie un développement phytoplanctonique ($2,0 \cdot 10^5$ cellules.mL⁻¹). Il est rapidement déstabilisé par une dégradation des conditions et de fortes pluviométries début mai 2018 (38,4 mm cumulée durant les 7 jours précédant le prélèvement, T°C moyenne à 7 jours = 11,0°C, I_{lumineuse} moyenne à 7 jours = 1120 J.cm⁻²; Figure 104), qui bouleversent la stabilité de la masse d'eau et la population phytoplanctonique. En conséquence de ces conditions climatiques, il est tout d'abord observé des amas flottants de *Planktolyngbia*, poussés au gré du vent, appelés fleurs d'eau ou bloom, puis une diminution rapide de la concentration cellulaire ($0,68 \cdot 10^5$ cellules.mL⁻¹) et de la concentration en Chl-a (13 µg.L⁻¹; Figure 107). L'amélioration des conditions climatiques à partir du 18 mai et jusqu'à la mi-septembre (T°C = 20 ± 3,°C ; I_{lumineuse} = 2116 ± 595 J.cm⁻²; Figure 104) soutient progressivement le développement phytoplanctonique qui atteint une concentration de $17 \cdot 10^5$ cellules.mL⁻¹ au mois de septembre. Sous l'effet des fortes pluviosités d'octobre ainsi que de la baisse de la température (14 ± 5°C de moyenne sur le mois) et de la lumière (1021 ± 403 J.cm⁻²; Figure 104), la stabilité de la masse d'eau est perturbée, troublant la dynamique des cellules. Elles se retrouvent alors à la surface de la masse d'eau. Ce bloom, visible en octobre 2018, est formé en majorité (> 99%) de l'espèce *Microcystis wesenbergii*. Par la suite, les cellules périssent rapidement (Figure 107), sous l'effet de la dégradation des conditions climatiques (Figure 104). Aucune cyanobactérie n'est alors observée à partir du mois de novembre 2018, et ce jusqu'en janvier 2019.

L'observation des prélèvements au microscope permet d'identifier et compter les espèces. Durant les 21 mois du suivi, la succession du phytoplancton est semblable à la théorie (Boumnick *et al.*, 1990 ; Chorus et Bartram, 1999 ; Leitao et Couté, 2005 ; Reynolds, 2006 ; Paerl et Huisman, 2008). Au cours des périodes estivales (mars – septembre 2017 et avril – septembre 2018), les cyanobactéries dominent (> 90 %) et sont complétées avec les algues vertes. Lorsque les conditions se dégradent, les cyanobactéries laissent progressivement la place aux algues vertes puis jaunes et brunes. Ces dernières dominent en hiver (70%). Lorsque les conditions climatiques s'améliorent, les algues jaunes et brunes laissent place aux vertes puis aux cyanobactéries (Figure 108).

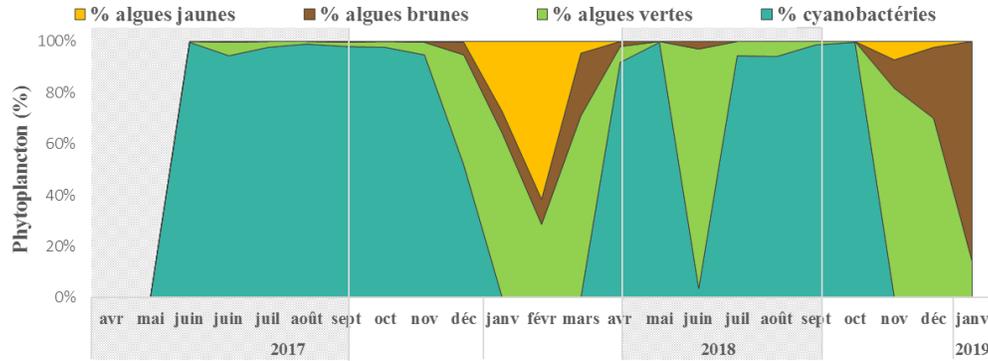


Figure 108 : Répartition saisonnière du phytoplancton dans le plan d'eau de Pigeard

L'évolution de la concentration cellulaire en phytoplancton s'explique principalement par l'évolution de la concentration en cyanobactéries. Les concentrations maximales sont observées en périodes estivales (20.10^5 cellules.mL⁻¹ en été 2017, pic à 60.10^5 cellules.mL⁻¹ en mai 2018), bien qu'un important bloom (115.10^5 cellules.mL⁻¹) soit observé courant octobre 2018 (Figure 109). Ces concentrations sont largement supérieures au niveau d'alerte 2 (1.10^5 cellules.mL⁻¹) préconisé par l'ARS dans le cadre des suivis de baignade. En hiver, la concentration est bien inférieure, avec une densité autour de 10 000 – 20 000 cellules.mL⁻¹. A chaque période estivale, 3 – 4 espèces de cyanobactéries dominent la population phytoplanctonique. Elles représentent 99% de la population. Ces espèces dominantes ont évolué entre l'été 2017 et l'été 2018 (Figure 109). Au cours de l'été 2017, les espèces majoritaires sont les espèces filamenteuses *Dolichospermum heterospora*, *Limnothrix redekei*, *Planktolyngbia* et *Planktothrix agardhii*. Une efflorescence, contenant principalement *Planktolyngbia*, est observée durant le mois d'août 2017 et ce, jusqu'au prélèvement de septembre 2017. En début d'été 2018, la population est dominée (> 95%) par *Planktolyngbia*. A partir de juillet 2018, cette espèce a laissé la place à des cyanobactéries coloniales : *Microcystis aeruginosa*, *M. wesenbergii* et *Woronichinia*. Une efflorescence est observée durant les mois d'août et septembre 2018. Elle s'intensifie en octobre, avec une domination du genre *M. wesenbergii*, avec la dégradation des conditions climatiques et le brassage de la masse d'eau à la suite des fortes intempéries.

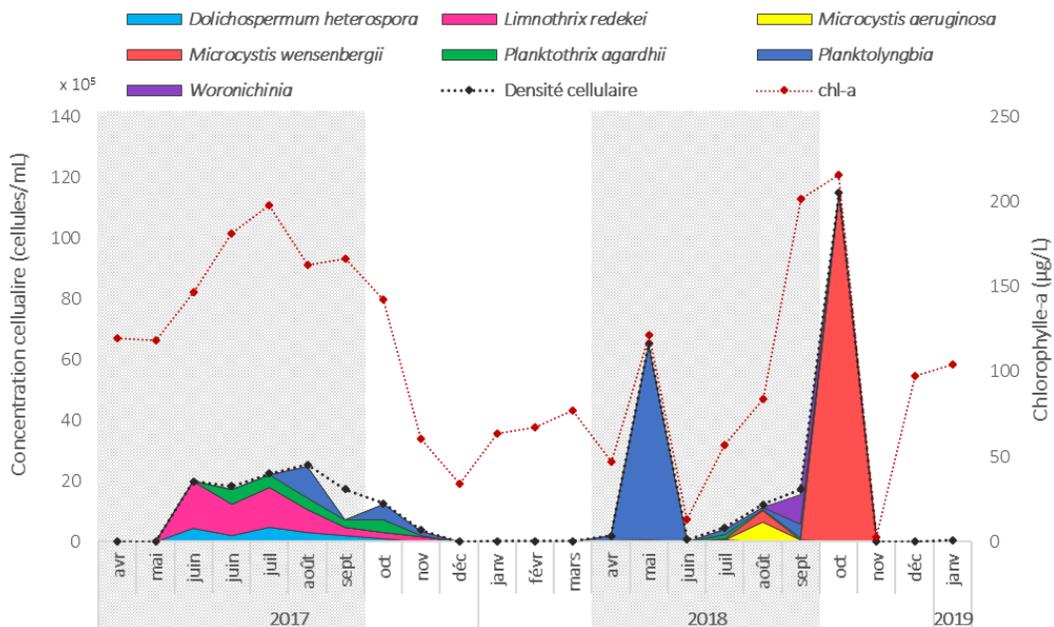


Figure 109 : Evolution saisonnière des concentrations des 7 espèces majoritaires de cyanobactéries dans l'étang de Pigeard

1.1.4. Toxicité des proliférations

Parmi les différentes espèces de cyanobactéries présentes dans le plan d'eau de Pigeard, certaines sont recensées comme productrices de MCs : *D. heterospora*, *M. aeruginosa*, *M. wesenbergii* et *P. agardhii*. La Figure 110 présente l'évolution de la concentration en MCs totale et la répartition en MCs intracellulaires et extracellulaires, en corrélation avec la concentration en cyanobactéries potentiellement productrices. Les MCs sont retrouvées principalement en périodes estivales, lorsque les cyanobactéries productrices de toxines sont présentes. En revanche, il n'existe aucune corrélation entre la concentration cellulaire et la concentration en MCs (Chorus and Bartram, 1999). Au cours de l'été 2017, seule la MC-LR est observée avec une concentration maximale de 24 μg éq MC-LR.L⁻¹. Jusqu'au mois de juin, les toxines sont principalement intracellulaires (> 90%) en accord avec la bibliographie (Chorus & Bartram, 1999 ; Meriluoto et Codd, 2005, Lévi *et al.*, 2006). A la fin de l'été, lorsque les conditions climatiques favorables à l'eutrophisation se dégradent (diminution de l'ensoleillement et de la température ; Figure 104), les cyanobactéries périssent, en accord avec la diminution du COD (Figure 105-d) et de la concentration cellulaire (Figure 107) et libèrent les toxines contenues dans leurs cellules. Les MC-LR extracellulaires sont donc retrouvées dans le milieu jusqu'en décembre 2017 avec une concentration moyenne de $0,85 \pm 0,24$ éq MC-LR.L⁻¹ entre septembre et décembre 2017.

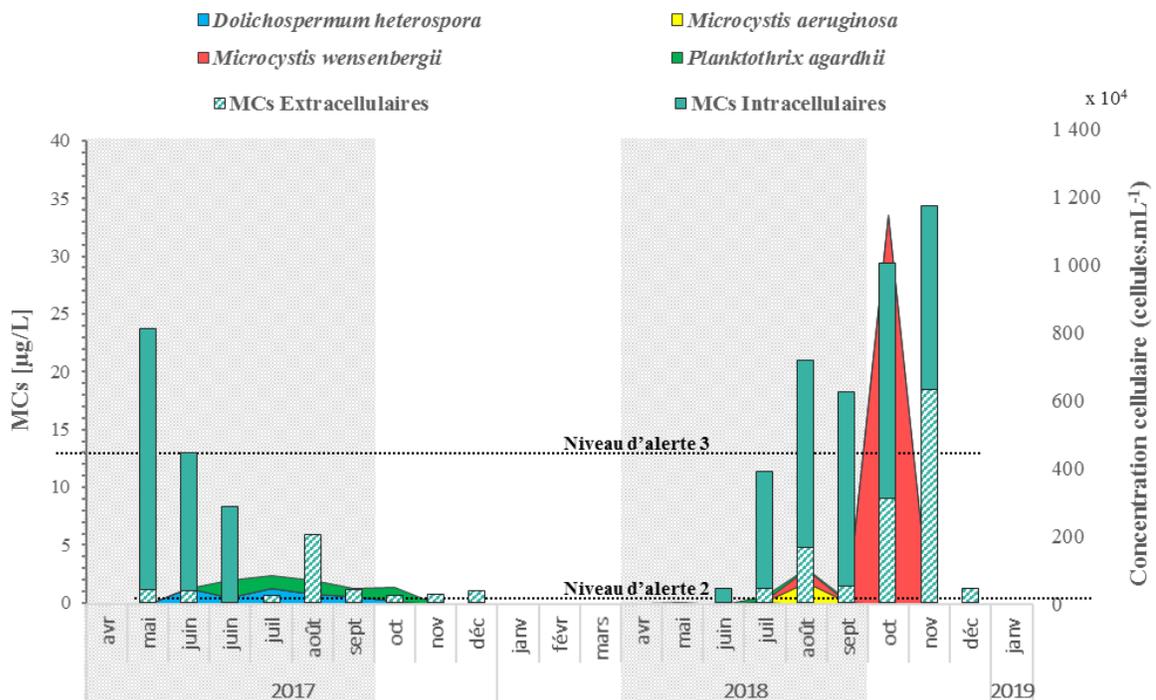


Figure 110 : Corrélation entre la concentration en MCs totale répartie entre MCs intracellulaires et MCs extracellulaires et la concentration en cyanobactéries potentiellement productrices de MCs.
Niveau d'alerte 1 > 2.10^4 cellules.mL⁻¹ ; Niveau d'alerte 2 > 10.10^4 cellules.mL⁻¹ ; Niveau d'alerte 3 : [MCs] > $13 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Les cyanotoxines sont de nouveau mesurées dans le plan d'eau à partir de mai 2018. Au cours de cette année, la concentration maximale atteint 34 μg éq MC-LR.L⁻¹ (novembre 2018). Les trois MCs recherchées, MC-LR, MC-RR et MC-YR sont retrouvées dans les échantillons ; MC-LR étant majoritaire (> 90%). Durant la période estivale, tant que les conditions climatiques sont favorables, les toxines retrouvées sont principalement intracellulaires (> 70%). La dégradation des conditions à partir de début

octobre provoque une lyse cellulaire et une libération des toxines dans le milieu. La proportion de toxines extracellulaires augmente à partir d'octobre 2018 (31% en octobre, 54% en novembre) et elles persistent dans le milieu jusqu'en décembre 2018 avec une concentration moyenne de $1,0 \pm 0,1 \mu\text{g éq MC-LR.L}^{-1}$ (Figure 110).

Dans les zones de baignade, trois niveaux d'alerte sont identifiés selon la concentration en cellules de cyanobactéries (alerte 1 $> 2.10^4 \text{ cellules.mL}^{-1}$; alerte 2 $> 10.10^4 \text{ cellules.mL}^{-1}$) et en MCs (alerte 3 $> 13 \mu\text{g éq MC-LR.L}^{-1}$) et les usages sont adaptés. Dès lors que la concentration en cyanobactéries dépasse $2.10^4 \text{ cellules.mL}^{-1}$, la réglementation demande la recherche des MCs. Si la concentration est supérieure à $13 \mu\text{g éq MC-LR.L}^{-1}$, la baignade, les activités nautiques et la consommation de poisson est interdite. Sur la période d'étude, la concentration cellulaire est inférieure au niveau d'alerte 1 en saison hivernale (décembre 2017 – avril 2018 et novembre 2018 – janvier 2019). L'alerte 1 est dépassée à 2 reprises en novembre 2017 et juillet 2018. La concentration en cellules de cyanobactérie dépasse régulièrement l'alerte 2 (5 fois en 2017 entre juin et octobre, 4 fois en 2018 en mai puis entre août et octobre). Les concentrations en MCs dépassent fréquemment la limite des $13 \mu\text{g.L}^{-1}$, plus particulièrement en 2018 avec 4 dépassements contre deux en 2017. Dans le cas d'un plan d'eau à usage de pêche privé, cette donnée est primordiale pour protéger la santé humaine.

1.1.5. Impacts de l'eutrophisation sur la dynamique de la Matière Organique Naturelle

1.1.5.1. Impact sur la quantité de Matière Organique Naturelle

La Figure 111 présente l'évolution de la concentration en COD de chacune des fractions hydrophobes de la MON sur la période avril 2017 – janvier 2019. En période hivernale (octobre 2017 – mars 2018 et octobre 2018 – janvier 2019), la concentration est peu variable et atteint une valeur minimale de $5,2 \pm 0,7 \text{ mg C.L}^{-1}$. Cette matière est constituée de HPO, TPH et HPI, avec des concentrations moyennes respectives de $2,2 \pm 0,7 \text{ mg C.L}^{-1}$, $1,0 \pm 0,4 \text{ mg C.L}^{-1}$ et $2,0 \pm 0,2 \text{ mg C.L}^{-1}$ (Figure 111).

En comparaison avec la période hivernale, une augmentation de la concentration en COD de +98 % et de +25 %, respectivement pour les périodes mai à août 2017 et juin à septembre 2018, est observée (Figure 105-d). Sur les saisons estivales de 2017-2018, la MON estivale présente une concentration moyenne en HPO de $1,7 \pm 1,1 \text{ mg .L}^{-1}$, en TPH de $1,7 \pm 1,3 \text{ mg C.L}^{-1}$ et en HPI de $4,2 \pm 1,8 \text{ mg C.L}^{-1}$ (Figure 111). Ainsi, entre l'hiver et l'été, la concentration de la fraction HPO diminue de 33% alors que les proportions des fractions TPH et HPI augmentent de 69% et 114%.

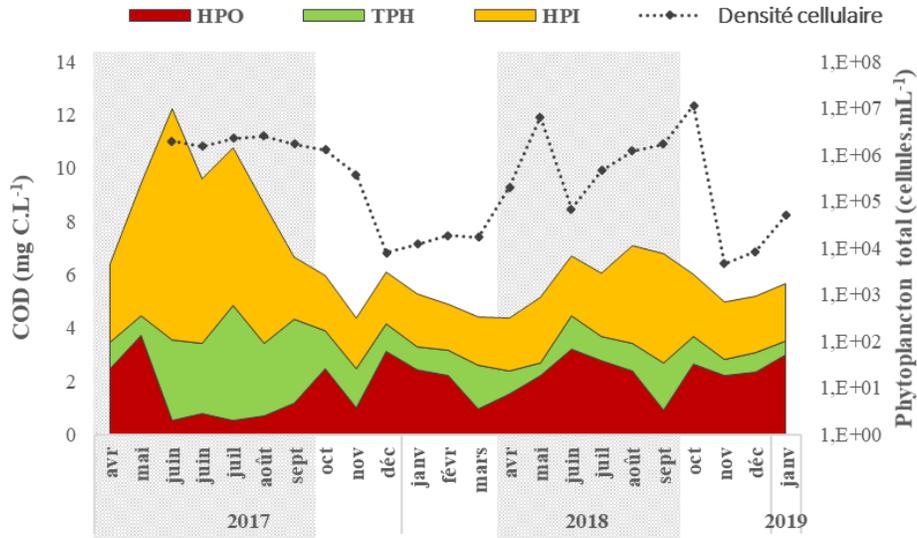


Figure 111 : Evolution entre avril 2017 et janvier 2019 de la concentration des fractions HPO, TPH et HPI de la MON de l'étang de Pigeard et concentration totale en phytoplancton

La dynamique de la MON dans l'étang de Pigeard, et plus généralement dans un plan d'eau eutrophe, est fortement liée aux développements phytoplanctoniques (Leloup, 2013 ; Ye *et al.*, 2015). En saison hivernale, la concentration cellulaire et la concentration en COD sont minimales ($0,139.10^5 \pm 0,048.10^5$ cellules.mL⁻¹ ; $5,2 \pm 0,7$ mg C.L⁻¹). Les développements phytoplanctoniques en saison estivale engendrent une augmentation du COD : sur la période mai – septembre 2017, la densité phytoplanctonique varie de $17,2.10^5$ à $25,3.10^5$ cellules.mL⁻¹ (soit une moyenne de $21.10^5 \pm 3.10^5$ cellules.mL⁻¹) pour un COD de 10 ± 1 mg C.L⁻¹ et en juin – septembre 2018, la concentration en phytoplancton varie entre $0,68.10^5$ et $17,2.10^5$ cellules.mL⁻¹ pour un COD de $6,3 \pm 0,7$ mg C.L⁻¹. Cependant, des différences significatives de la concentration en COD peuvent être observées (58% du COD) malgré des concentrations cellulaires non significativement différentes (test de student, p -value = 0,985). De plus, les efflorescences de mai 2018 et octobre 2018, avec respectivement 65.10^5 et 115.10^5 cellules.mL⁻¹, ne sont pas accompagnées d'un pic de COD. Ainsi, en accord avec la littérature (Leloup *et al.*, 2013 ; Griffin *et al.*, 2018), il n'y a pas de proportionnalité entre ces deux paramètres et il n'est pas possible de prédire une concentration cellulaire à partir d'une valeur de COD. La production de COD est dépendante de l'espèce et de la phase de croissance (Pivokonsky *et al.*, 2006 ; Henderson *et al.*, 2008 ; Leloup *et al.*, 2013). Or, il a été observé un changement des populations de cyanobactéries entre l'été 2017 et 2018, les cyanobactéries coloniales ayant remplacé les filamenteuses, pouvant expliquer la diminution du COD entre 2017 et 2018. Des cultures de laboratoire de *M. aeruginosa* (coloniale) et de *Planktothrix agardhii* (filamenteuse) en début de phase stationnaire présentent des COD différents avec $9,5$ mg C.L⁻¹ pour la coloniale contre $12,9$ mg C.L⁻¹ pour la filamenteuse (Leloup, 2013), confirmant les observations *in situ*. De plus, un décalage est observé entre l'augmentation de la densité cellulaire et l'augmentation du COD. Il peut s'apparenter au phénomène de latence observé dans les cultures de laboratoire (Leloup *et al.*, 2013).

1.1.5.2. Evolution des caractéristiques de la MON

Outre une évolution de la quantité de MON entre les périodes hivernales et estivales, les caractéristiques de cette MON évoluent. Le fractionnement selon le caractère hydrophobe et la mesure de l'indice SUVA ont permis de mettre en évidence ces évolutions (Figure 112). En période hivernale, la concentration en HPO est égale à $2,5 \pm 0,5$ mg C.L⁻¹, soit $46 \pm 6\%$ de la MON, et la concentration en HPI à

$2,0 \pm 0,1 \text{ mg C.L}^{-1}$, soit $39 \pm 4\%$. Ces pourcentages sont caractéristiques d'une origine allochtone (Labanowski et Feuillade, 2009 ; Imai *et al.*, 2013 ; Leloup, 2013).

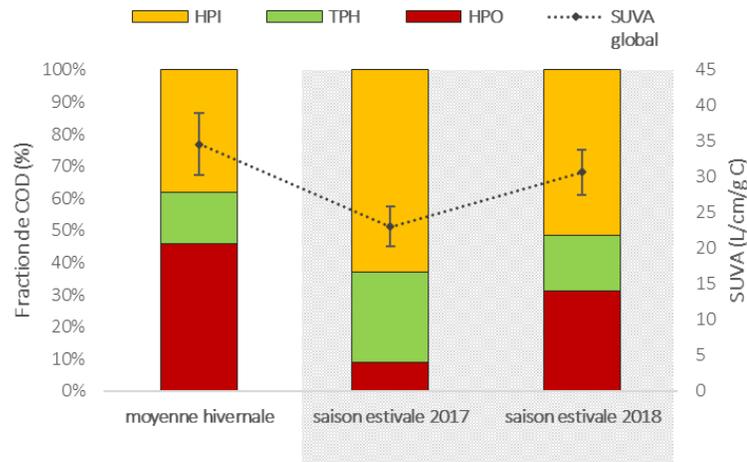


Figure 112 : Comparaison des répartitions des fractions de HPO, TPH et HPI et évolution de l'indice SUVA dans l'étang de Pigeard en fonction des saisons (moyenne hivernale et estivales)

Lors de la période estivale de 2017, l'augmentation du COD (+98 %) provient majoritairement de l'augmentation de la fraction HPI. Cette fraction augmente de 59% et atteint une concentration moyenne de $6 \pm 2 \text{ mg C.L}^{-1}$ et représente $62 \pm 8 \%$ de la MON ; la fraction HPO ne représentant plus que $9 \pm 6\%$ de la MON. Lors de la 2nde période estivale, l'augmentation du COD (+25 %) provient également majoritairement de l'augmentation de la fraction HPI. La concentration de cette fraction augmente de 48% pour atteindre une moyenne de $2,9 \pm 0,8 \text{ mg C.L}^{-1}$; soit $49 \pm 9 \%$ de la MON, la fraction HPO représentant $34 \pm 13 \%$ de la MON.

La fraction HPI augmente donc en saison estivale, en plus grande proportion en 2017 (+59 %) qu'en 2018 (+26 %) en défaveur de la fraction HPO (-76 % et -25 %). Ces résultats sont étonnants car sous un effet de récurrence des proliférations, il serait attendu une augmentation de la fraction HPI comme l'avait supposé Leloup, (2013). Cependant, les proportions des fractions de la MOA sont dépendantes des espèces et des conditions climatiques (Henderson *et al.*, 2008 ; Zhang *et al.*, 2011 ; Leloup *et al.*, 2013; Pivokonsky *et al.*, 2014). Les variations du climat (température et intensité lumineuse plus élevées, pluviométrie plus faible en 2018) et le changement de population phytoplanctonique (filamenteuses remplacées par des coloniales), certainement lié à une dynamique du climat (dont le vent qui joue sur la stabilité de la masse d'eau) et des nutriments différents, peuvent expliquer ces variations de proportions de HPI entre l'été 2017 et 2018. L'étude laboratoire de Leloup (2013) a montré une proportion de HPI plus élevée chez *P. agardhii* (69%) que chez *M. aeruginosa* (55%) en début de phase stationnaire, en cohérence avec les observations *in situ*.

En période estivale, la fraction HPI est le principal constituant du COD apporté, rapprochant alors les caractéristiques de la MON à celles de la MOA (Her *et al.*, 2004, Zhang *et al.*, 2011 ; Li *et al.*, 2012 ; Leloup *et al.*, 2013). Ainsi, la dynamique de la MON dans le plan d'eau est dépendante des produits du métabolisme des algues et cyanobactéries et l'importante proportion de HPI dans la MON estivale confirme un apport autochtone.

Ces observations sont confirmées par la mesure de l'indice SUVA, qui tend à diminuer en période estivale, davantage en 2017 qu'en 2018. En effet, la MO autochtone, provenant du phytoplancton, présente

un faible caractère aromatique ($SUVA < 30 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$) (Nguyen *et al.*, 2005 ; Henderson *et al.*, 2008 ; Leloup *et al.*, 2013).

1.1.5.3. Dynamique des fractions de la Matière Organique Naturelle

De nombreuses méthodes existent pour caractériser la MO. Le fractionnement de la MON selon le caractère hydrophobe permet de discriminer la MO d'origine autochtone et allochtone et d'apprécier les conséquences des épisodes récurrents de proliférations phytoplanctoniques sur les caractéristiques de la MON. Dans un contexte de traitement de l'eau, cette information permet de prédire et anticiper la réactivité de la MO dans les procédés de potabilisation de l'eau.

A de nombreuses reprises (4 en 2017 et 2 en 2018), le pourcentage en HPI est supérieur à 50 % (jusqu'à 71 % le 21 juin 2017), caractéristique de la présence de MOA et donc d'un apport autochtone important. Ces fortes proportions en HPI sont observées lorsque les conditions climatiques sont favorables (température et ensoleillement élevés) pour les développements d'algues et de cyanobactéries (Figure 113). Le nombre de cellules ainsi que la phase de croissance où elles se trouvent impactent la proportion de HPI. La fraction HPI reste stable tant que la densité cellulaire est élevée, c'est-à-dire, tant que les conditions climatiques restent favorables. Les fortes concentrations en cyanobactéries : $22.10^5 \pm 3.10^5$ cellules.mL⁻¹ entre juin et août 2017 et $15.10^5 \pm 4.10^5$ cellules.mL⁻¹ entre août et septembre 2018 concordent avec les fortes proportions de HPI ($60 \pm 8\%$ et $56 \pm 6\%$). Il est également observé, que la proportion de HPI augmente avec le développement cellulaire (mars – avril 2018 et mai – septembre 2018) et le maximum de HPI est produit en phase exponentielle par le phytoplancton (Henderson *et al.*, 2008 ; Leloup *et al.*, 2013).

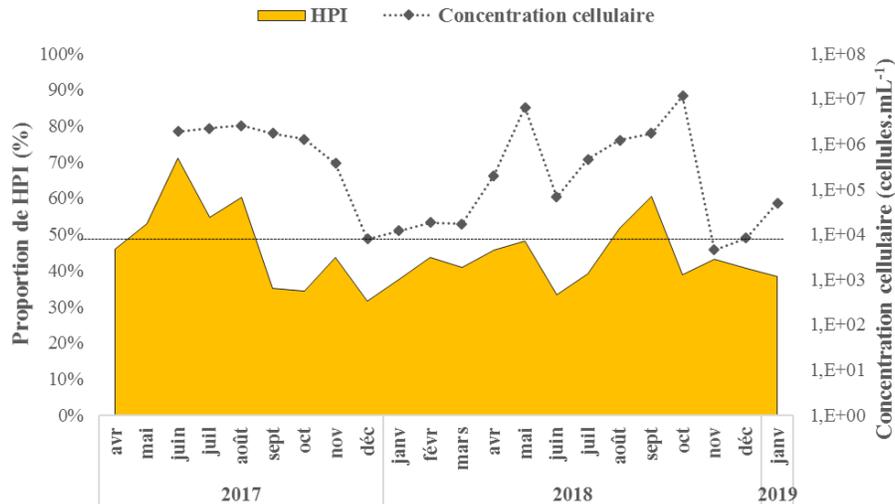


Figure 113 : Evolution de la proportion de HPI en fonction de la concentration cellulaire.

L'apparition de conditions climatiques défavorables au phytoplancton peut, en un temps relativement court, impacter la quantité et la qualité de la MON présente dans le plan d'eau. Alors que les conditions climatiques sont favorables au développement du phytoplancton les 7 jours précédant le prélèvement du 21 juin 2017, favorisant le développement de cyanobactéries, l'augmentation du COD et de la proportion de HPI, de fortes pluviométries combinées à une chute de température et d'ensoleillement (Tableau 63) perturbent la MON et ces caractéristiques.

Tableau 63 : Relation entre climat, qualité physico-chimique de l'eau et proportion des fractions HPI, HPO.

	Sur les 7 jours précédents le prélèvement			Le jour du prélèvement				
	Pluviométrie cumulée	T°C de l'air moyenne	Ensoleillement moyen	T°C de l'eau	Turbidité	COD	HPI	% HPO
SAISON ESTIVALE								
21 juin 2017	0 mm	23,6°C	2 896 J.cm ⁻²	28,8°C	19 NTU 84% MO	9,9	79	4
30 juin 2017	65 mm	16,8°C	1 603 J.cm ⁻²	19,6°C	36,3 NTU 52% MO	12,2	63	7
SAISON HIVERNALE								
15 novembre 2017	16,4 mm	6°C	404 J.cm ⁻²	6,9°C	11,7 NTU 80% MO	4,4	44	23
13 décembre 2017	62,6 mm	3,9°C	299 J.cm ⁻²	4,9°C	5,8 NTU 32% MO	6,1	32	52

Au 21 juin 2017, la concentration en COD est égale à 9,9 mg C.L⁻¹ et se compose à 79 % de HPI, 17% de TPH et 4 % de HPO. Une semaine plus tard, sous l'effet de la dégradation des conditions météorologiques présentées dans le Tableau 63, le COD augmente pour atteindre 12,2 mg C.L⁻¹. Il se compose de 63 % de HPI, 30 % de TPH et 7 % de HPO. L'augmentation du COD peut s'expliquer par l'apport de MO allochtones par ruissellement mais également par libération de MOI lors de la sénescence cellulaire illustrée par une diminution de la concentration cellulaire (20,2.10⁵ cellules.mL⁻¹ le 21/06 contre 14,8.10⁵ cellules.mL⁻¹ le 30/06). La variation du caractère hydrophile de la MON peut alors s'expliquer par la caractéristique plus hydrophobe de ces matières apportées. En effet, la MOI présente un caractère hydrophobe plus important que la MOE (Henderson et al., 2008 ; Qu *et al.*, 2012 ; Leloup *et al.*, 2013). En hiver, la dynamique est davantage régulée par les pluviométries. Dans les 7 jours précédents le prélèvement de novembre 2017, la pluviométrie est de 16,4 mm avec une concentration en COD de 4,4 mg C.L⁻¹ constituée à 23% de HPO et 44% de HPI (Tableau 63). Un mois plus tard, dans les 7 jours précédents le prélèvement de décembre 2017, la pluviométrie est de 62,6 mm et le COD augmente (+39 %) et atteint 6,1 mg C.L⁻¹ constituée à 52% de HPO et 32% de HPI (Tableau 63).

En périodes estivales, sous des conditions climatiques favorables, les algues et cyanobactéries se développent, participant à l'augmentation de la charge organique, notamment par l'apport de HPI. Des conditions défavorables provoquent un stress voire une lyse cellulaire qui engendrent une libération de MOI plus hydrophobe, d'où une diminution de la fraction HPI de la MON. En périodes hivernales, les fortes pluies génèrent une augmentation de la charge organique par apports dans les eaux de ruissellement de MO allochtone. Cet apport étant principalement constitué de la fraction HPO.

Une diminution du SUVA est observée entre les périodes hivernales et estivales, avec respectivement $34 \pm 6 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$, $25 \pm 4 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$ en 2017 et $32 \pm 2 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$, $30 \pm 3 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$ en 2018 (Tableau 64). Cette diminution provient d'une part de la diminution de la fraction HPO au profit de la fraction HPI en période estivale et d'autre part, d'un caractère aromatique des fractions de la MON plus faible en période estivale qu'en période hivernale. En effet, les fractions HPO, TPH et HPI présente un indice SUVA de 28

$\text{L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$, $20 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$ et $17 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$ en hiver 2017 contre $21 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$, $12 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$ et $8 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$ en été 2017. Bien que le SUVA diminue en été sous l'effet de l'apport de MO autochtones, il reste supérieur à ceux obtenus pour les cultures de laboratoire cultivées à 15°C et 23°C (Tableau 64).

Tableau 64 : Indices SUVA globaux et des fractions de la MON de 2017, 2018 comparés aux indices SUVA de la MOA produite par les cultures de laboratoires

M.	2017		2018		<i>C. vulgaris</i>	<i>M. aeruginosa</i>
	Hiver	Eté	Hiver	Eté		
Global	34 ± 6	25 ± 4	32 ± 2	30 ± 3	7,7 – 9,6	9,8 – 14 ;2

Le SUVA de l'été 2017 est inférieur à celui de 2018, en accord avec les proportions de HPI (62% et 49%). L'indice SUVA en hiver est inférieur en 2018 comparé à 2017, corrélée à une proportion de HPO inférieur (41% contre 39% en 2017) mais également conséquence des proliférations estivales. Il semble alors que les proliférations phytoplanktoniques estivales marquent, d'une année sur l'autre, les caractéristiques de la MON hivernale.

1.2. Evolution de la qualité de l'eau sur le court terme

1.2.1. Climat

Pendant 18 mois entre janvier 2012 et juillet 2013, le programme CYAME 2010-2013 visait notamment à suivre la qualité bio-physico-chimique de l'étang de Pigeard afin d'identifier l'impact des phénomènes d'eutrophisation sur les caractéristiques de la MON. La comparaison des résultats de ces deux suivis (2012-2013 et 2017-2019) permet d'avoir une évolution, à court terme, de l'impact des apports de MOA récurrents, sur les caractéristiques de la MON de la ressource en eau.

Les conditions climatiques (température, intensité lumineuse et pluviométrie cumulée sur 24h) ne sont pas significativement différentes entre 2012-2013 et 2017-2019, et sont dans les moyennes climatiques de la période 1980-2010 (Figure 114). L'année 2012 a connu une pluviométrie totale de 1006 mm, supérieure à celle de 2017 (943 mm) mais inférieure à celle de 2018 (1032 mm). Sur les deux périodes de 16 mois (entre avril et juillet), la pluviométrie totale est supérieure en 2012-2013 (1506 mm) par rapport à 2017-2018 (1448 mm) (Figure 114-a), les moyennes de température et d'ensoleillement sont inférieures en 2012-2013 ($11,8^\circ\text{C}$; 1355 J.cm^{-2}) comparées à 2017-2018 ($12,8^\circ\text{C}$; 1416 J.cm^{-2}), en accord avec les variations climatiques observées (GIEC, 2013) (Figure 114-b, c).

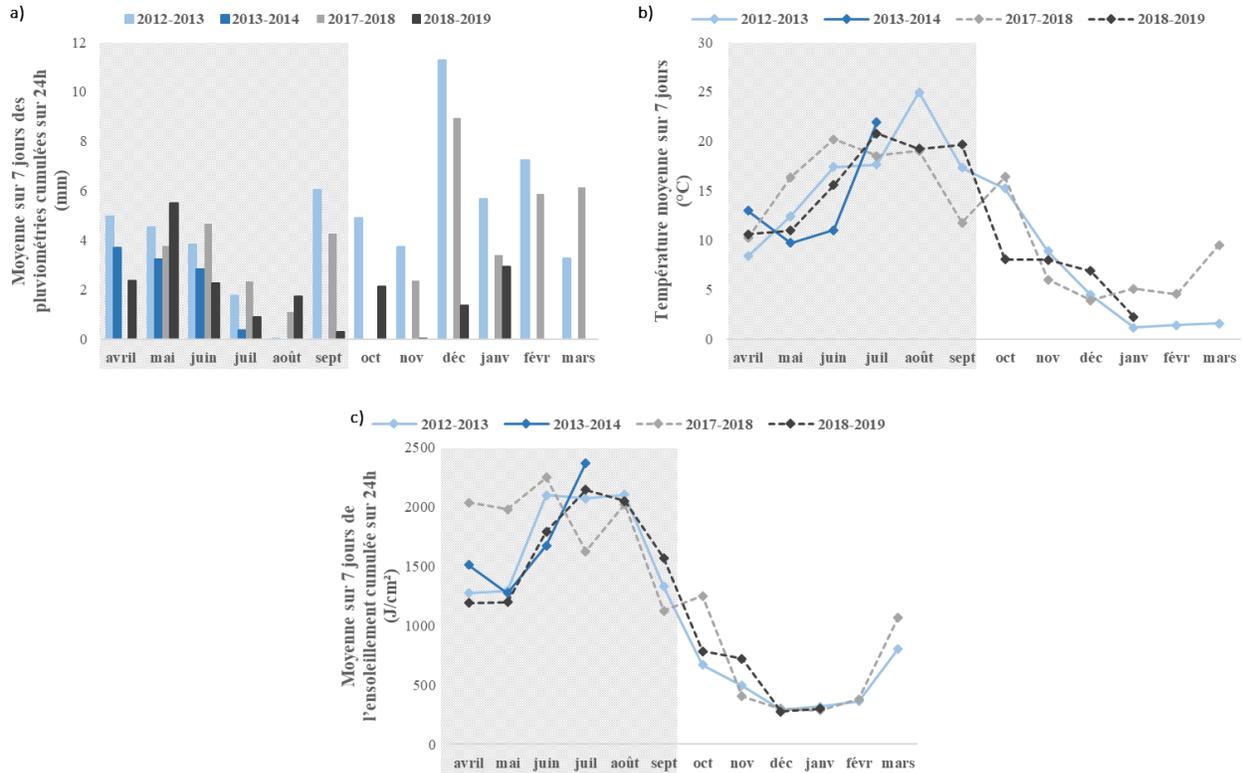


Figure 114 : Comparaison des données climatiques (moyenne sur les 7 jours précédents le prélèvement) entre les années 2012-2014 et 2017-2019. a) Moyenne des pluviométries cumulées sur 24h. b) Moyenne de la température de l'air et c) de l'ensoleillement cumulé sur 24h. En gris, les périodes favorables aux développements de phytoplancton

1.2.2. Etat de trophie et caractéristiques physico-chimiques

Le statut trophique de l'étang de Pigeard n'évolue pas : il était et demeure classé en statut hyper-eutrophe. La concentration en nutriments varie entre 0,4 - 2,15 mg N.L⁻¹ et 20 - 430 µg P.L⁻¹ en 2012-2013 contre 0,6 et 3,6 mg N.L⁻¹ < 50 - 169 µg P.L⁻¹ aujourd'hui. Pour chacune des études, les périodes favorables au développement sont identifiées à partir de la température de l'air (> 10°C) et du cumul sur 24h de l'intensité lumineuse (favorable si > 1500 J.cm⁻²) et les données climatiques, sur chacune des périodes (hivernale et estivale), sont comparées. La période favorable aux développements phytoplanctoniques est identifiée entre avril à septembre.

Le plan d'eau présente donc une concentration en nutriments similaires entre les deux périodes d'étude et un climat à tendance plus favorable pour les développements phytoplanctoniques en 2017-2019.

Durant ces périodes, les températures moyennes de l'eau présentent une tendance à la hausse en corrélation avec l'augmentation de la température de l'air et en accord avec la littérature (ONEMA, 2011 ; GIEC, 2013 ; Beaufort, 2015). Les températures sont en moyenne de 18 ± 7°C en été 2012, 18 ± 5°C en 2013, 20 ± 5°C en 2017 et 20 ± 3°C en 2018. En période hivernale, cette température chute à 6 ± 2°C en 2012-2013 contre 7 ± 2°C en 2017-2018 et 2018-2019 (Figure 115-a). La température hivernale tend également à augmenter.

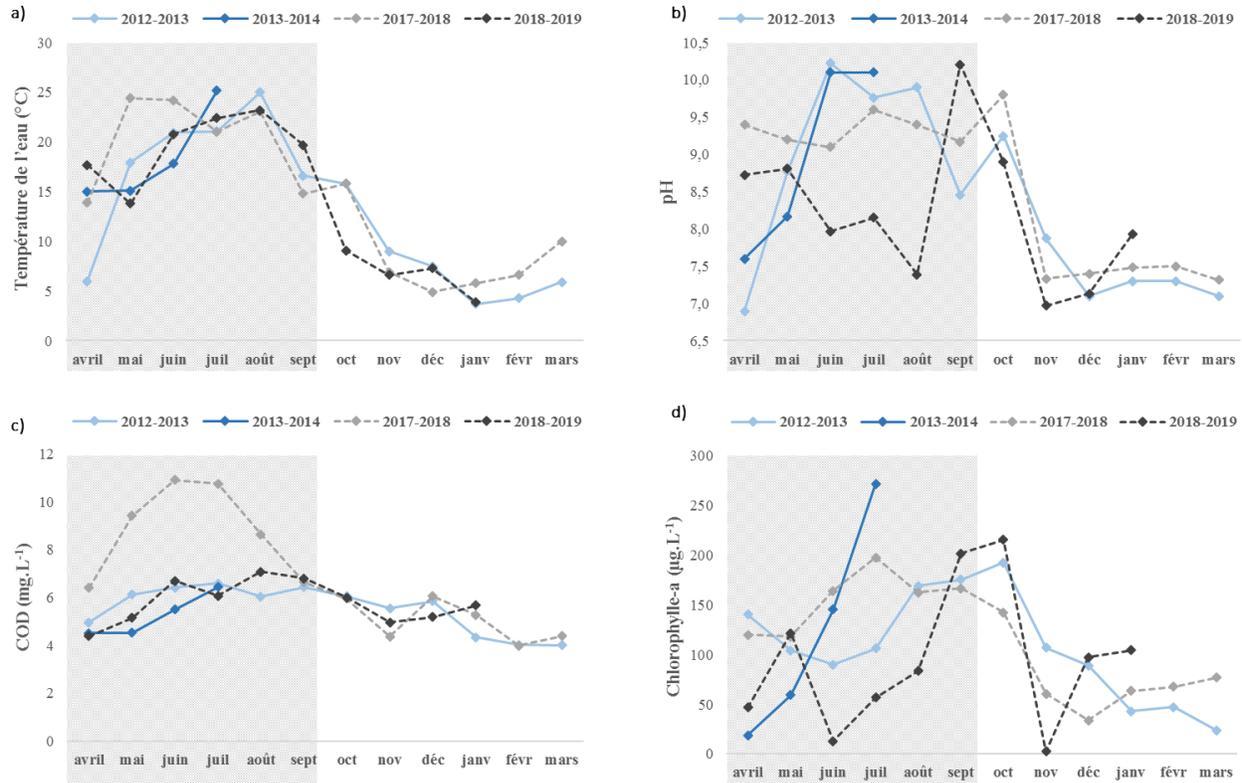


Figure 115 : Comparaison entre les années 2012-2014 et 2017-2019 a) de la température de l'eau, b) du pH, c) de la concentration en COD et d) de la concentration en chlorophylle-a

Sous l'effet des développements de phytoplancton, une variation du pH est mesurée. En période hivernale, le pH moyen est de $7,5 \pm 0,5$ pour les deux périodes d'étude. Il augmente en période estivale pour atteindre une valeur de $9,0 \pm 1,0$ en 2012, $9,0 \pm 0,6$ en 2013, $9,3 \pm 0,2$ en 2017 et $8,5 \pm 1,0$ en 2018, en conséquence des développements de phytoplancton (Figure 115-b). Parallèlement à l'augmentation du pH, les proliférations sont observées par l'augmentation du COD et de la chlorophylle-a. L'évolution de la concentration en COD est présentée Figure 115-c. Sur la période hivernale, considérée comme ligne de base, les concentrations montrent une tendance à la hausse avec $4,8 \pm 0,9$ mg C.L⁻¹ en 2012-2013 contre $5,0 \pm 0,7$ mg C.L⁻¹ en 2017-2019. Sur la période estivale (avril – septembre), le COD est significativement plus faible en 2012-2013 avec une moyenne de $5,8 \pm 0,8$ mg C.L⁻¹ contre 8 ± 2 mg C.L⁻¹ en 2017-2019, soit une augmentation de 41%. Il n'y a en revanche, pas de différence significative de la concentration en chlorophylle en période estivale, 128 ± 70 µg.L⁻¹ et 121 ± 61 µg.L⁻¹, et en période hivernale, 62 ± 34 µg.L⁻¹ et 63 ± 33 µg.L⁻¹, respectivement pour le 1^{er} et 2nd suivi (Figure 115-d).

Au cours des années, il est observé une augmentation du COD et du pH du milieu comparé aux valeurs à la même période (saisons estivales) les années précédentes. Ceci n'est pas observé pour la Chl-a, indicatrice du cycle de vie, espèces et concentration du phytoplancton. Il semble y avoir une mémoire « chimique ». Les concentrations en COD sont supérieures de 41% lors de la seconde étude (2017-2019), significatives de développements estivaux plus importants ou d'un effet mémoire des proliférations passées (Leloup *et al.*, 2013 ; Griffin *et al.*, 2018). Au regard des concentrations en période hivernale, il semblerait en effet, que les concentrations en COD aient augmenté depuis 2012 (+15% entre 2012-2013 et 2018-2019).

1.2.3. Développements du phytoplancton

La Figure 116 présente les concentrations en cyanobactéries et algues dans le plan d'eau de Pigéard entre avril 2012 et juillet 2013 et entre juin 2017 et janvier 2019. Ces suivis mettent en évidence une forte domination des cyanobactéries en saison estivale, avec une proportion de 81% et 98%, respectivement pour le 1^{er} et 2nd suivi. En saison hivernale, la tendance est inversée en 2012-2013 avec une domination des algues (58%) ; en 2017-2019, la proportion d'algues augmente mais elles ne dominent pas la population (42%). D'une manière globale, les concentrations en phytoplancton sont inférieures en 2012-2013 qu'en 2017-2019 : la concentration totale moyenne estivale vaut $1,7.10^5$ cellules.mL⁻¹ sur la 1^{ère} étude contre 19.10^5 cellules.mL⁻¹ sur cette étude. De même, la concentration totale moyenne hivernale vaut $0,3.10^5$ cellules.mL⁻¹ contre 13.10^5 cellules.mL⁻¹. Cependant, la technique de dénombrement diffère d'une étude à l'autre : alors que la première a utilisé la cytométrie en flux, la seconde a utilisé un dénombrement au microscope, sur cellule de Malassez. L'augmentation de la concentration cellulaire provient essentiellement de l'augmentation de la concentration en cyanobactéries. En effet, les concentrations moyennes estivale et hivernale des algues, entre 2012-2013 et 2017-2019, sont dans le même ordre de grandeur avec $3,1.10^4$ cellules.mL⁻¹ et $3,8.10^4$ cellules.mL⁻¹ en été et $1,2.10^4$ cellules.mL⁻¹ et $1,7.10^4$ cellules.mL⁻¹ en hiver. Les variations climatiques précédemment observées entre ces deux périodes semblent donc être en faveur du développement de cyanobactéries, en accord avec la littérature (Visser *et al.*, 2016). De la saison estivale 2012-2013 à la saison 2017-2018, la concentration en cyanobactéries a plus que doublé.

L'étude précédente n'avait que très peu cherché à identifier les espèces de cyanobactéries. Il a néanmoins été précisé que les espèces *Microcystis*, *Anabaena* et *Planktothrix* étaient présentes dans le plan d'eau. Ces espèces ont de nouveau été retrouvées en 2017 pour les filamenteuses et en 2018 pour les coloniales.

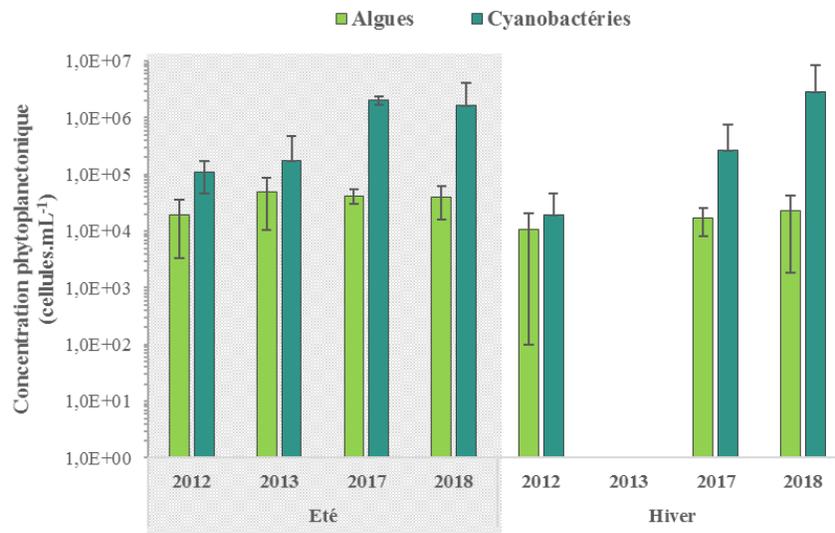


Figure 116 : Concentration en phytoplancton total, répartie en cyanobactéries et algues, entre les années 2012-2013 et 2017-2018.

1.2.4. Evolution des caractéristiques de la MON

La Figure 117 compare les caractéristiques de la MON hivernale et estivale de l'étang de Pigéard dans les études de 2012-2013 et 2017-2019, aux caractéristiques de la rivière Valette, qui alimente l'étang de Pigéard. Les caractéristiques de la MON de la rivière Valette ne sont pas influencées par les

développements phytoplanctoniques (Leloup, 2013). En revanche, les fortes pluies engendrent une augmentation de la fraction HPO du fait des apports de MO allochtone au caractère hydrophobe élevé. L'indice d'aromaticité de la MON reste constant autour de $37 \pm 4 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$, spécifique d'une stabilité des caractéristiques de la MON de la rivière Valette au cours de l'année 2012-2013 (Leloup, 2013).

En considérant la période hivernale comme ligne de base, une diminution de la fraction HPO (-15% environ) en faveur de la fraction HPI (+15%) est observée entre l'étude de 2012-2013 et celle de 2017-2018 (Figure 117). Ces résultats démontrent un effet mémoire des proliférations estivales récurrentes, avec notamment une diminution du caractère hydrophobe de la MON hivernale, comme l'avait suggéré Leloup (2013).

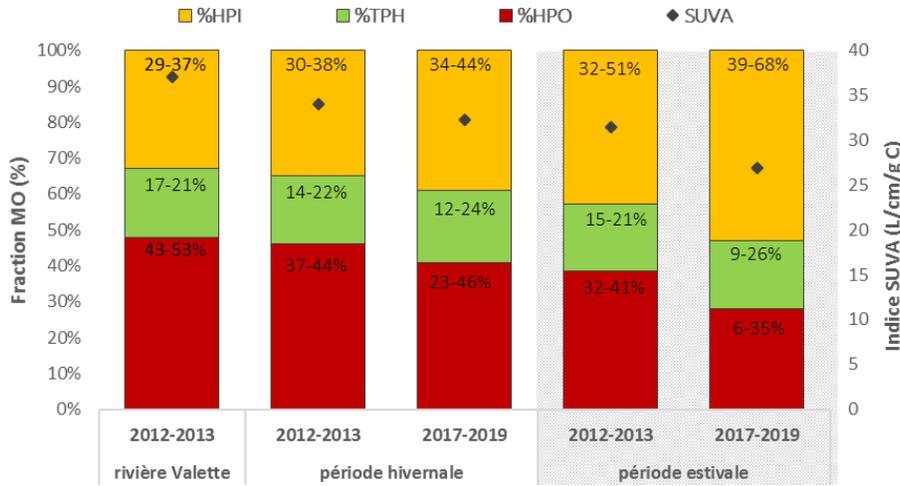


Figure 117 : Comparaison des proportions des fractions de la MON et de l'indice SUVA entre la rivière Valette et les moyennes en saisons hivernale et estivale dans l'étang de Pigeard. Comparaison entre les années 2012-2013 et 2017-2018.

En période estivale, en corrélation avec le développement phytoplanctonique, le COD et la proportion de la fraction HPI augmentent. Cette fraction augmente de façon moins importante en 2012-2013 qu'en 2017-2019 (en moyenne +22% contre +37%) pour atteindre en moyenne, respectivement $42 \pm 5\%$ et $54 \pm 6\%$ de la MON. De plus, une proportion de HPI supérieure à 50% est plus fréquemment retrouvée en 2017-2018 (6 fois) qu'en 2012-2013 (2 fois). En parallèle de l'augmentation de la fraction HPI, la fraction HPO diminue (-11% et -68%) pour atteindre en moyenne en été $37 \pm 3\%$ et $21 \pm 6\%$. La fraction TPH reste constante autour de $19 \pm 9\%$. Ainsi, entre les deux périodes d'étude, la fraction HPI a augmenté de 29% et la fraction HPO a diminué de 44%.

L'évolution des indices SUVA de la MON et des fractions de la MON en fonction de la saison (hivernale et estivale) et de l'année d'étude (2012-2013 et 2017-2019) est présentée dans le Tableau 65. En corrélation avec l'augmentation de la fraction HPI en période estivale, l'aromaticité des molécules organiques est plus faible en saison estivale ; elle diminue de 6% sur la période 2012-2013 et de 13% sur la seconde période. Quelle que soit la période, l'aromaticité globale des molécules organiques a diminué entre les deux périodes d'étude, confirmant les résultats de fractionnement. L'indice SUVA diminue de 9% entre les saisons hivernales et de 16% entre les saisons estivales sur les deux périodes.

Tableau 65 : Evolution des indices SUVA de l'étang de Pigeard en fonction des saisons

SUVA (L.cm ⁻¹ .g C ⁻¹)	Hiver		Eté	
	2012-2013	2017-2019	2012-2013	2017-2019
SUVA global	34 ± 4	32 ± 5	31 ± 3	27 ± 5
HPO	44 ± 5	28	42 ± 6	21
TPH	23 ± 5	20	23 ± 4	12
HPI	18 ± 5	17	13 ± 2	8

En cohérence avec les résultats de Labanowski et Feuillade (2009) et Leloup (2013), la fraction HPI présente une aromaticité moins importante que les fractions TPH et HPO. Il est également observé, une diminution de l'indice SUVA de chacune des fractions entre l'hiver et l'été et entre les années 2012-2013 et 2017-2019. Les indices SUVA des fractions de MON d'aujourd'hui, se rapprochent de plus en plus de ceux de la MOA. Ces évolutions des indices SUVA témoignent d'un effet mémoire des blooms sur les caractéristiques de la MON.

Ainsi, sur une échelle de temps courte (5 ans), il n'y a pas d'évolution significative de la concentration en nutriments. Les données climatiques montrent une tendance à l'augmentation de la température – plus marquée en été qu'en hiver, à l'augmentation de l'ensoleillement et à la diminution des pluviométries annuelles. En conséquence d'un climat plus favorable aux développements du phytoplancton, la concentration totale en phytoplancton augmente de manière significative en été avec notamment une augmentation de la concentration en cyanobactéries ; celle des algues étant similaire entre les deux suivis. En conséquence de ces développements phytoplanctoniques, la qualité de l'eau est modifiée avec notamment une augmentation de sa température, de son pH et de sa charge organique (+41% en été et +4% en hiver). Outre la quantité, la qualité de la MON a évolué et tend vers une matière au caractère hydrophile et moins aromatique plus marqué. D'une part, les fractions de la MON évoluent différemment entre la saison hivernale et estivale d'une même étude. En 2012-2013, la fraction HPI augmente de 22%, la fraction HPO diminue de 11% et le SUVA diminue de 9%. En 2017-2019, la fraction HPI augmente de 37%, la fraction HPO diminue de 68% et le SUVA diminue de 16%. D'autre part, la comparaison de la MON entre les deux périodes montre, en hiver une diminution de la fraction HPO (-15%), une augmentation de la fraction HPI (+15%) et une diminution du SUVA (-6%) ; en été, ces variations s'amplifient avec une diminution de 44% des HPO, une augmentation de 29% des HPI et une diminution de 13% du SUVA.

A l'échelle d'une année, l'évolution du caractère hydrophobe et de l'indice d'aromaticité témoigne d'un impact immédiat des proliférations de phytoplancton sur les caractéristiques de la MON. La comparaison d'une étude de 2012-2013 et de 2017-2019 montre un impact durable des développements avec une diminution du caractère hydrophobe et aromatique de la MON en période hivernale et une évolution plus intense en période estivale. Sous l'effet des blooms récurrents, les caractéristiques de la MON tendent vers celles de la MOA.

1.3. Et demain ?

Sur la problématique du changement climatique, les experts prédisent une augmentation des températures, des épisodes de sécheresses et d'orages (GIEC, 2014). Au regard de ces prédictions, il est estimé une augmentation de la dominance des cyanobactéries, de la fréquence, de l'intensité et de la durée des blooms (Paerl et Huisman, 2009 ; Paerl *et al.*, 2011 ; Visser *et al.*, 2016). Ces conséquences sont

susceptibles d'augmenter la charge organique hydrophile et faiblement aromatique dans les plans d'eau. La comparaison de la quantité et de la qualité de la MON au sein de l'étang de Pigeard, classé en statut hypereutrophe, entre les années 2012 et 2018, ont montré une augmentation de la charge organique, du caractère hydrophile et une diminution du caractère aromatique. Ces observations sont visibles en période estivale mais également en période hivernale, témoignant d'un effet mémoire des impacts des proliférations récurrentes. Sous l'effet du changement climatique et des proliférations plus fréquentes et plus intenses, la MON se rapprochera de plus en plus de la MOA. Ces changements de caractéristiques et de compositions, affecteront la qualité de l'eau, ses usages et ses traitements.

2. Comparaison des dynamiques de la MON dans trois plans d'eau soumis à des climats variés

2.1. Des climats différents

Les pays étudiés présentent une répartition, des quantités de pluie et des températures variables (Figure 118). Les températures moyennes mensuelles à Lund sont systématiquement inférieures à celles à Limoges. Les écarts entre ces deux villes sont d'autant plus importants en période hivernale ($3,6 \pm 2,0^\circ\text{C}$ en Suède et $5,6 \pm 2,2^\circ\text{C}$ en France). Le régime pluviométrique diffère également avec des pluviométries inférieures en période hivernale et printanière (novembre – juin) (52 ± 16 mm à Lund contre 98 ± 15 mm à Limoges) mais supérieures en été (85 ± 28 mm à Lund contre 47 ± 24 mm à Limoges). La pluviométrie totale annuelle est toutefois inférieure à Lund (757 mm contre 975 mm).

Les températures moyennes mensuelles à Kara sont très largement supérieures à celles de Limoges ($+5,4^\circ\text{C}$ en août à $+26,6^\circ\text{C}$ en février). La température minimale, atteinte en juillet – août à Kara ($25,9 \pm 0,2^\circ\text{C}$), est supérieure au maximum de température de Limoges (août avec $24,4^\circ\text{C}$). Kara se situe dans l'hémisphère sud, et connaît deux saisons : une saison sèche et une saison pluvieuse. Lors de la saison sèche (novembre – avril), la pluviométrie à Kara (138 mm cumulés sur ces 6 mois) est inférieure à celle de Limoges aux mêmes mois (579 mm cumulés) ; elle est en revanche largement supérieure en saison humide (1133 mm cumulés à Kara contre 396 mm à Limoges).

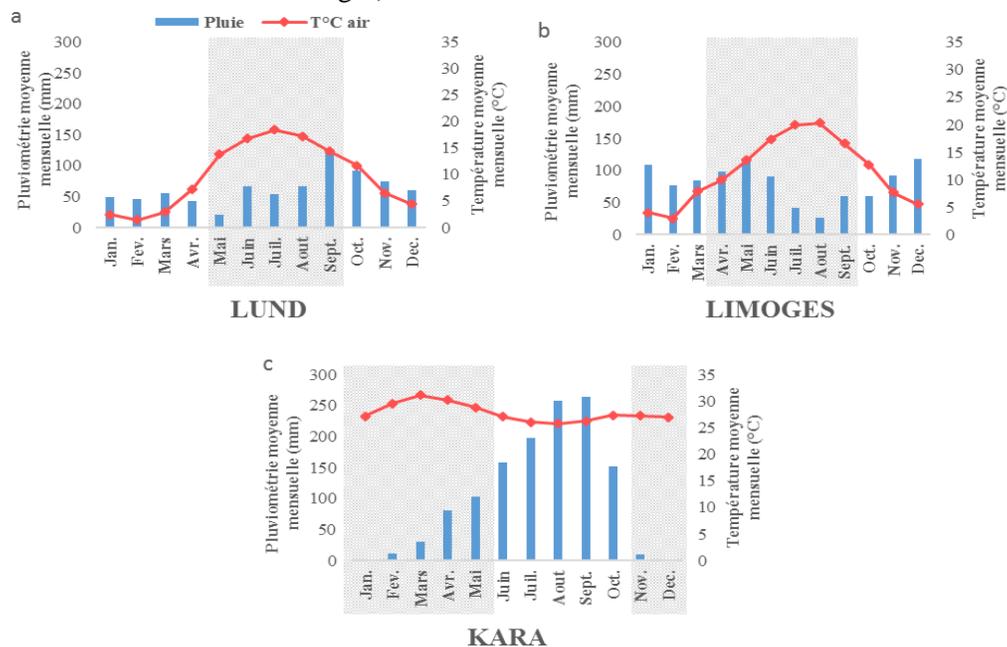


Figure 118: Pluviométrie et température de l'air moyenne mensuelle (a) à Lund (Suède) (moyenne sur les années 2016-2019), (b) à Limoges (France) (moyennes sur les années 2012-2019) et (c) à Kara (Togo) (moyennes sur les années 2010-2016)

Au regard des données climatiques, il est possible de déterminer, de manière hypothétique, les périodes favorables aux développements phytoplanctoniques. La période favorable se situe entre avril et septembre à Limoges ($16 \pm 4^\circ\text{C}$; 72 ± 35 mm en moyenne mensuelle). La température sera limitante à Lund (température moyenne $< 10^\circ\text{C}$) avec une période favorable de mai à septembre ($16,2 \pm 2,0^\circ\text{C}$; 67 ± 38 mm en moyenne mensuelle). A Kara, les fortes pluies entre mai et octobre, avec une moyenne mensuelle de 189 ± 63 mm, pourraient perturber les développements, une période favorable de novembre à avril est alors identifiée ($29 \pm 2^\circ\text{C}$; pluviométrie mensuelle comprise entre 1,7 mm et 80 mm).

2.2. Etats de trophie et caractéristiques physico-chimiques

Les trois sites d'études diffèrent par leur densité de suivi *in situ*, les moyens techniques et l'accessibilité des données. Le lac Pigeard a été suivi mensuellement avec des mesures *in situ* et une caractérisation complète du phytoplancton et de la MON. Des profils verticaux en différents points du lac Vombsjön sont réalisés tous les quinze jours en périodes estivales et mensuellement en périodes hivernales ; la conductivité, l'oxygène dissous, le potentiel rédox, le pH et la température de l'eau sont mesurés. Ces données ont été complétées à deux reprises (13 juillet 2017 et 05 juin 2018) par un prélèvement d'eau à 1 m de profondeur, dont les caractéristiques sont présentées Tableau 66. La rivière Kara a fait l'objet d'études en 2012-2013 sur la problématique des pollutions azotée et phosphatée dues aux déchets des activités humaines (Djahini *et al.*, 2016-2017), puis en 2017-2018 sur la caractérisation de la qualité de l'eau avant et après installation d'un pilote d'assainissement collectif (LASEE, 2018). Ces données sont complétées par deux prélèvements, le 25 mai 2017 (saison pluvieuse) et le 12 février 2018 (Tableau 66).

Tableau 66 : Qualité physico-chimique et concentrations en nutriments dans les échantillons

Date	Vombsjön (Suède)		Kara (Togo)	
	13/07/17	05/06/18	25/05/17	12/02/18
T°C eau	18,8	21,3	28,4	23,1
pH	8,7	8,9	7,2	7,3
O₂ (mg.L⁻¹)	12,1	9,9	-	-
MES (mg.L⁻¹)	-	12	211	7
NO₃⁻ (mg N.L⁻¹)	1,04	9,9	2,20	0,06
PO₄³⁻ (µg P.L⁻¹)	47	< LQ	1850	347

A la surface du lac Vombsjön (1 m de profondeur), la température moyenne estivale est de $19 \pm 3^\circ\text{C}$ et elle varie entre $3,4$ et $8,4^\circ\text{C}$ en saison hivernale. Les profils réalisés au point le plus profond (15 m), montre des stratifications, en termes d'oxygène et de température, récurrentes en saison estivale (Figure 119-a,b). Les profils de la concentration en oxygène dissous laissent apparaître une stratification à une profondeur de 8 m en juillet 2017 et 6 m en juin 2018. La couche supérieure, l'épilimnion, est une zone favorable aux développements phytoplanctoniques. Les profils de pH confirment ces développements, avec un pH supérieur dans l'épilimnion ($8,7 \pm 0,1$) comparée à l'hypolimnion ($7,8 \pm 0,1$), conséquence de l'activité photosynthétique.

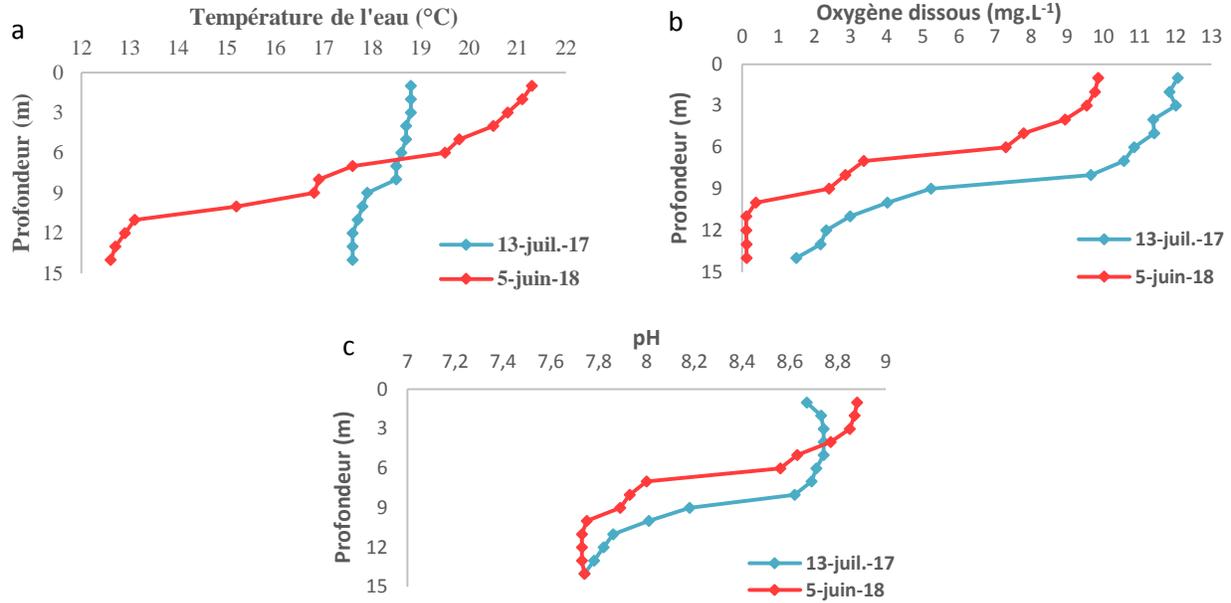


Figure 119 : Profils (a) de température ; (b) d'oxygène dissous et (c) de pH aux dates de prélèvements

2.3. Développements phytoplanctoniques

2.3.1. Lac Vombsjön

Aux deux dates de prélèvements, les conditions climatiques sont favorables aux développements phytoplanctoniques (Tableau 67). En juillet 2017, la concentration en phytoplancton est de $3,7 \cdot 10^4$ cellules.mL⁻¹, dont 36% sont des cyanobactéries. Les espèces principalement observées sont : *Dolichospermum flos aquae*, *Limnothrix sp.*, *Microcystis aeruginosa*, *Planktothrix agardhii*. Une efflorescence de surface est observée au niveau de l'embarcadère ; ces fleurs d'eau y sont poussées par le vent. En juin 2018, la concentration en chlorophylle-a et en phytoplancton sont inférieures. En revanche, la proportion de cyanobactéries est plus importante (79%) avec une majorité de *Microcystis* (*M. aeruginosa*, *M. wesenbergii*, *M. flos aquae*). Les concentrations trouvées sont bien inférieures à celles mesurées à l'étang de Pigeard en France lors des périodes climatiques favorables aux développements (moyenne de $130 \cdot 10^4$ cellules.mL⁻¹ sur la saison estivale 2017-2018).

Tableau 67 : Caractéristiques du phytoplancton dans les échantillons

Date	Vombsjön (Suède)		Kara (Togo)	
	13/07/17	05/06/18	25/05/17	12/02/18
Chl-a (µg.L⁻¹)	30	5,6	20,6	18,9
Cyanobactéries	Cellules.mL ⁻¹	$1,3 \cdot 10^4$	$8,3 \cdot 10^3$	-
	%	36%	79%	-
Autres algues	Cellules.mL ⁻¹	$2,4 \cdot 10^4$	$2,2 \cdot 10^3$	$5,6 \cdot 10^3$
	%	64%	21%	-

2.3.2. Rivière Kara

Le mois de mai est transitoire entre la saison sèche et la saison pluvieuse. Le prélèvement a été réalisé le lendemain d'un orage, expliquant alors la forte concentration en MES dans l'échantillon (211 mg.L^{-1}) dont 75% de matières minérales. La forte turbidité et la présence de débris rend l'identification et le

comptage des cellules fastidieuses ; des oscillaires ont cependant été observées. Dans le second échantillon, prélevé en saison sèche, une concentration totale de $5,0.10^4$ cellules.mL⁻¹, dont 89% de cyanobactéries, est quantifiée (Tableau 67). Les espèces majoritairement présentes sont les filamenteuses *Oscillatoria sp.* et *Planktolyngia sp.*. La concentration cellulaire observée est également bien inférieure aux concentrations obtenues en France en période estivale, mais est équivalente à celles obtenues en période hivernale ($1,7.10^4$ cellules.mL⁻¹). La recherche de MCs dans les échantillons de Kara donne un résultat négatif.

2.4. Quantité et caractéristiques de la MON

2.4.1. Quantité de MON

Dans le lac Vombsjön, la concentration en MON est supérieure en juillet 2017 comparée à celle de juin 2018 (Tableau 68). Cette différence est corrélée d'une part à une concentration en phytoplancton supérieure et d'autre part à une pluviométrie plus importante. En effet, dans les 7 jours précédents le prélèvement, il est tombé 0,6 mm en juillet 2017 contre 0 mm en juin 2018 ; sur une durée plus longue (30 jours), il est tombé 84,5 mm en juillet 2017 contre 5,4 mm en juin 2018. Les deux concentrations mesurées sont dans la moyenne des concentrations mesurées sur les saisons estivales 2017-2018 à l'étang de Pigeard (8 ± 2 m C.L⁻¹).

Tableau 68 : Concentrations en COD dans les échantillons

Date	Vombsjön (Suède)		Kara (Togo)		Pigeard (France)	
	13/07/17	05/06/18	25/05/17	12/02/18	Moyenne 2017-2019	
					Saisons estivales	Saisons hivernales
COD	10	6,8	11,9	4,7	8 ± 2	$5,0 \pm 0,7$

Dans la rivière Kara, les COD mesurés sont cohérents avec les moyennes mensuelles de pluie. En effet, au Togo, l'insuffisance des systèmes de collecte des déchets entraîne leur exutoire dans les ruisseaux puis dans la rivière Kara. Ces déchets urbains, drainés par la pluie, influencent les teneurs en composés organiques des eaux (Djahini *et al.*, 2016-2017). En saison sèche, la concentration en COD est expliquée majoritairement par des apports autochtones et elle est comparable à celle retrouvée en saison hivernale dans l'étang de Pigeard. En saison pluvieuse, la concentration est supérieure à celle retrouvée dans l'étang de Pigeard et dans le lac Vombsjön. Un suivi régulier permettrait de caractériser la dynamique du COD en fonction de la concentration en phytoplancton pour la saison sèche et de la pluviométrie en saison pluvieuse.

2.4.2. Caractérisation de la MON

Au lac Vombsjön, en corrélation avec une concentration cellulaire plus élevée, la MON de juillet 2017 est plus hydrophile en comparaison à juin 2018 (+26 %) et son caractère aromatique est moins marqué (-46 %). La proportion de HPI est comparable à celle de l'étang de Pigeard à la même période, malgré une concentration cellulaire inférieure ; le SUVA est en revanche, près de 2 fois plus faible. L'année suivante, en juin 2018, les caractéristiques de la MON se rapproche de celles de la MON hivernale de Pigeard, avec un caractère hydrophobe plus marqué (42%) et un caractère aromatique plus élevé ($30,4$ L.cm⁻¹.g C⁻¹ contre $16,4$ L.cm⁻¹.g C⁻¹ en juillet 2017).

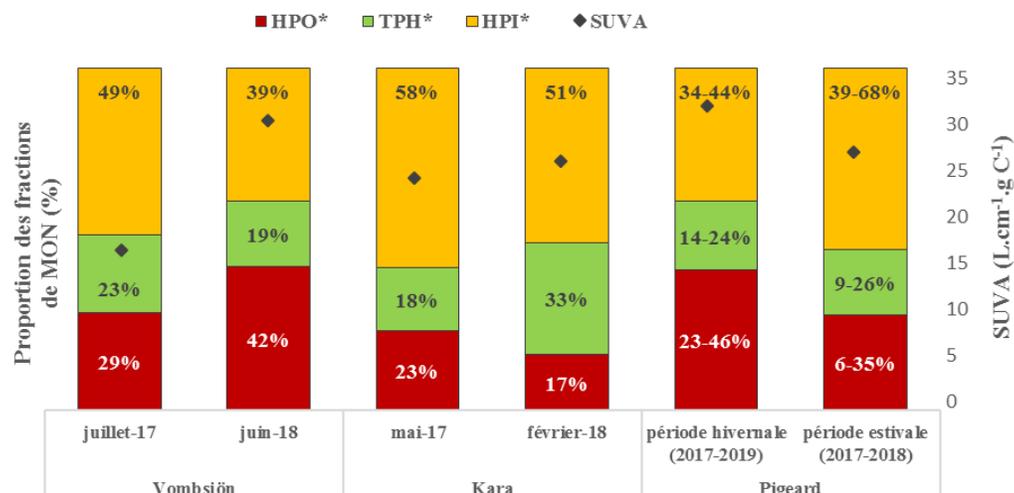


Figure 120 : Caractéristiques de la MON présentes dans les échantillons de Vombsjön, Kara et Pigeard

La MON issue de la rivière Kara présente un fort caractère hydrophile, avec une proportion de HPI supérieure à 50% aussi bien en saison pluvieuse que sèche ; et ce, malgré une concentration en phytoplancton bien inférieure. De plus, le caractère aromatique est peu marqué, avec un indice SUVA moyen de $25 \pm 1 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$. Les valeurs d'absorbance UV_{254} sont comparables à celles de Djahini *et al.* (2016). Les caractéristiques hydrophiles et faiblement aromatique de la MON de Kara peuvent provenir des déchets ; en effet la caractérisation des lixiviats de déchets ménagers et assimilés (L_{DMA}) (Labanowski et Feuillade, 2009) ; Baccot, 2016) a montré un indice SUVA faible ($< 10 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$) et une proportion d'HPI élevé ($> 50\%$) pour les L_{DMA} jeunes (moins de 5 ans). Ainsi, dans la rivière Kara, la saison semble impacter fortement la quantité de COD mais la MON reste à dominante hydrophile.

Un suivi régulier permettrait d'accéder à l'évolution temporelle des caractéristiques de la MON et de les corrélérer aux conditions climatiques et aux habitudes locales.

3. Conclusion de l'axe 2 du chapitre 2

Le suivi des paramètres de contrôle de l'eutrophisation a permis de conclure au caractère hypereutrophe de l'étang de Pigeard. Les nutriments sont, par conséquent, non limitants et les développements phytoplanctoniques sont sous le contrôle des conditions climatiques (température et intensité de l'ensoleillement). Des mesures sur le terrain comme le pH ou l'oxygène dissous et des mesures au laboratoire comme la Chl-a et la concentration cellulaire sont pertinents pour suivre les développements phytoplanctoniques. L'étang de Pigeard est concerné par des proliférations cyanobactériennes récurrentes en saison estivale (avril-septembre). Ces espèces succèdent aux algues vertes au printemps et aux diatomées et chrysophycées en hiver. Sur la première saison estivale (2017), des cyanobactéries filamenteuses (*Limnothrix redekei*, *Planktolybia sp.*, *Planktothrix agardhii* et *Dolichospermum heterospora*) ont été observées et ont laissé place aux coloniales *Microcystis (aeruginosa et wensenbergii)* et *Woronichinia sp.* lors de la seconde saison (2018). Ces espèces avaient auparavant été observées lors du suivi de 2012-2013 dans le cadre du projet CYAME, mais en concentrations significativement inférieures. En corrélation avec les développements de cyanobactéries potentiellement toxiques, des concentrations en MCs supérieures au niveau d'alerte 2 et 3 sont recensées chaque année en saison estivale.

Parallèlement aux suivis phytoplanctoniques, la dynamique annuelle de la MON du plan d'eau est caractérisée par un suivi quantitatif et qualitatif puis comparée aux observations de 2012-2013 afin d'évaluer l'impact des proliférations récurrentes sur la MON sur une échelle de 7 ans. Ce suivi permet également de confirmer les observations et hypothèses de l'étude de la MOA sur des cultures de laboratoire.

Dans le plan d'eau, la dynamique de la MON est directement liée aux développements d'algues et de cyanobactéries, eux-mêmes sous l'influence du climat. La concentration minimale en COD est observée en saison hivernale, lorsque la concentration en phytoplancton est à son minimum. En saison estivale, l'augmentation de la concentration cellulaire induit, avec un retard, assimilé à la phase de latence des cultures de laboratoire, une augmentation de la concentration en COD (+50%). Il n'est pas possible de déterminer la concentration cellulaire à partir de la charge organique, ces deux paramètres n'étant pas proportionnels. En effet, comme il a été observé au laboratoire et dans l'étude bibliographique, la concentration en COD est dépendante des espèces phytoplanctoniques présentes, de sa phase de croissance et des conditions climatiques, notamment température et pluviométrie. D'un point de vue quantitatif, la concentration en COD est supérieure dans cette présente étude comparée à celle de 2012-2013. L'augmentation en saison estivale (+41%) est liée à une densité cellulaire supérieure mais l'augmentation en saison hivernale (+20%) est liée aux développements annuels récurrents qui marquent de manière durable la MON.

En conséquence de ces apports de MO produite par le phytoplancton, la MOA, la proportion de la fraction HPI augmente de 36% et celle de la fraction HPO diminue de 32% entre les saisons hivernale et estivale. Conjointement, le SUVA global de la MON diminue de 16%. Cette diminution provient d'une part de l'augmentation de la fraction HPI ($SUVA_{HPI} < SUVA_{HPO}$) et d'autre part de la diminution du SUVA de chaque fraction hydrophobe. Par conséquent, la MON de Pigeard en période estivale voit ses caractéristiques tendre vers celles de la MOA. Les proliférations récurrentes de phytoplancton marquent durablement la MON de Pigeard. La MON présente un caractère hydrophile plus marqué et un caractère aromatique plus faible en 2017-2019 comparé à 2012-2013 : la fraction HPI augmente de 15% et de 29% et l'indice SUVA diminue de 6% et 13%, respectivement en hiver et en été. Conjointement, la fraction HPO diminue (-15% et -44%) alors que celle des TPH reste stable.

En saison estivale, la quantité et qualité de la MON peut évoluer très rapidement sous l'effet d'une brusque variation climatique. Un orage estival perturbe la stabilité du phytoplancton ; les cellules périssent libérant leur MOI. Cette matière, à laquelle s'ajoute la MON allochtone apportée par les eaux de ruissellement, engendre une augmentation du COD et de la proportion de HPO.

Dans un dernier temps, les dynamiques du phytoplancton et de la MON observées à Limoges sont comparées à des données ponctuelles d'un plan d'eau situé à Lund (Suède) et d'une rivière située à Kara (Togo). Au regard des résultats des expériences de laboratoire, le climat et notamment la température et la pluviométrie impactent la croissance phytoplanctonique et la production de MOA. L'absence d'un suivi régulier ne permet pas de conclure quant à la dynamique du phytoplancton et de la MON dans ces zones d'étude. Il a cependant été observé en Suède, des développements estivaux de phytoplancton dont la concentration influence positivement la concentration en COD, la proportion de HPI et négativement l'aromaticité. Dans la rivière Kara, la concentration en COD est sous l'influence de la saison ; les importantes pluies drainent les déchets urbains augmentant la charge organique et la proportion de HPI.

CHAPITRE 3

IMPACTS DES PHENOMENES D'EUTROPHISATION SUR LES PERFORMANCES DU TRAITEMENT PAR CHARBON ACTIF EN POUDRE (PAC)

Les apports en nutriments des activités humaines combinés au changement climatique causent des proliférations récurrentes de cyanobactéries dans les plans d'eau douce mondiaux. Ces proliférations détériorent la qualité de l'eau (mauvaise odeur, mauvais goût ; Henderson *et al.*, 2008) et par conséquent impactent l'efficacité des procédés de traitement de l'eau. Elles sont à l'origine de deux problèmes majeurs. D'une part, elles modifient quantitativement et qualitativement la dynamique de la MO au sein des ressources eutrophes. En effet, le phytoplancton produit une grande quantité de MOA dont les caractéristiques diffèrent de celles de la MON. Le développement de phytoplancton conduit donc à une augmentation de la fraction hydrophile et une diminution de l'aromaticité de la MO. D'autre part, elles peuvent conduire à la présence de cyanotoxines dont les risques sur la santé humaine sont avérés (Chorus et Bartram, 1999 ; Codd *et al.*, 2005 ; Lévi *et al.*, 2006 ; Merel *et al.*, 2013 a).

Dans le procédé de potabilisation de l'eau, la coagulation-floculation est la principale étape pour l'élimination des cellules phytoplanctoniques et de la MO. Cependant, la littérature a montré que ce procédé ne permettait pas d'éliminer la totalité de la matière organique, d'autant plus si la ressource est soumise aux développements algaux. En effet, bien que l'abattement soit différent d'une espèce à l'autre, la MOA est globalement difficilement éliminée (20-50%). La MOA générée par les proliférations récurrentes de phytoplancton impacte durablement la composition de la MON (Leloup, 2013). L'élimination de la MON varie donc selon l'état de trophie de la ressource en eau. D'autres méthodes de traitement sont envisageables comme la filtration membranaire. Cependant, la présence de MO réfractaire engendre un colmatage accéléré des membranes. Il est alors impératif d'optimiser l'élimination de la MO afin d'éviter les dysfonctionnements ultérieurs et l'adsorption sur CAP peut présenter plusieurs avantages. Ce procédé d'adsorption permet, notamment, l'élimination simultanée de la matière organique et des microcystines, non éliminées par coagulation-floculation. Les objectifs de l'étude sont donc doubles : évaluer les conséquences des modifications saisonnières des caractéristiques de la MON induites par les phénomènes d'eutrophisation sur le procédé d'adsorption sur CAP et identifier les interactions de la MON dans l'élimination des MCs.

Pour répondre à cette problématique, une étude de l'adsorption sur CAP a été menée pour estimer la capacité du procédé à éliminer d'une part la MON impactée par des proliférations et d'autre part les MCs. Pour cela, des essais ont été effectués en laboratoire sur des échantillons issus de cultures de *M. aeruginosa* (en phase stationnaire) cultivées à 15°C et 23°C. Des essais ont également été réalisés sur des échantillons naturels prélevés sur une ressource eutrophe, l'étang de Pigeard. Enfin, des essais ont été réalisés sur de l'eau synthétique ayant les caractéristiques d'une eau de l'ex-région Limousin et dopée avec une fraction de MOA extraites et/ou des MC-LR. Les performances du procédé sur l'élimination de la MO ont été suivies par mesure du COD, fractionnement selon le caractère hydrophobe et calcul de l'indice SUVA. Les performances du procédé sur l'élimination de MC-LR ont été évaluées par HPLC-UV/PDA après pré-concentration sur SPE.

1. Détermination des paramètres d'étude : concentration et type de CAP

Des essais préliminaires sont menés, sur un échantillon d'eau naturelle prélevé en mars, afin de déterminer les paramètres d'étude, à savoir la concentration et le type de CAP. Deux doses sont testées : 30 mg CAP.L⁻¹ et 150 mg CAP.L⁻¹. (Donati *et al.*, (1994) ; He *et al.*, (2016) préconisent des doses élevées, entre 20 et 200 mg.L⁻¹ pour atteindre les concentrations réglementaires. Deux CAP, issus des stations de production d'eau potable de la ville de Limoges, dont les caractéristiques sont détaillées (Tableau 33), sont expérimentés. Les performances sont suivies par mesure de l'absorbance à 254 nm et du COD. Le Tableau 69 et le Tableau 70 présentent les rendements d'élimination obtenus.

Tableau 69 : Elimination de l'UV_{254nm} et du COD en fonction de la concentration après 60 min de contact. Condition : CAP 1

	30 mg CAP.L ⁻¹	150 mg CAP.L ⁻¹
UV _{254nm} (%)	5,7%	29,6%
COD (%)	8,4%	11,2%

Tableau 70 : Elimination de l'UV_{254nm} et du COD en fonction du CAP après 60 min de contact. Condition : 150 mg.L⁻¹

	CAP 1	CAP 2
UV _{254nm} (%)	29,6%	45,8%
COD (%)	11,2%	22,5%

Pour un temps de contact de 60 min, l'élimination de l'UV₂₅₄ n'atteint que 5,7% pour une concentration de 30 mg CAP.L⁻¹ contre 29,6% à 150 mg CAP.L⁻¹. Le rendement d'élimination du COD atteint 11% pour la concentration haute contre 8,4% pour la concentration basse. Bien qu'une concentration de 150 mg CAP.L⁻¹ soit élevée et non représentative des concentrations utilisées dans les stations de traitement, elle est sélectionnée pour les essais. En effet, il est nécessaire d'avoir des rendements suffisamment élevés pour l'interprétation des tests de cinétique et d'isotherme.

Pour un même temps de contact, les performances d'élimination de deux CAP sont comparées. Le CAP 2 présente 45,8% d'élimination de l'UV₂₅₄ contre seulement 29,6% pour le CAP 1. Le rendement d'élimination du COD est également supérieur pour le CAP 2 avec 22,5% contre 11% pour le CAP 1. Les expériences suivantes sont menées avec le CAP 2 à une concentration initiale de 150 mg CAP.L⁻¹.

2. Réactivité de la Matière Organique lors de l'adsorption sur Charbon Actif en Poudre

2.1. Réactivité de la Matière Organique Algale

Une souche de *M. aeruginosa* est cultivée au laboratoire sous deux températures (15°C et 23°C) et sous la condition de sécheresse, jusqu'à ce qu'elle atteigne le début de la phase de croissance stationnaire. Il a été montré précédemment, que la diminution de température impacte la croissance de *M. aeruginosa*. Tout d'abord, la quantité de MO produite à 15°C est inférieure à celle produite à 23°C (9,2 contre 38,1 mg C.L⁻¹). Ensuite, ses caractéristiques diffèrent : à 15°C, la matière présente un caractère hydrophile plus marqué qu'à 23°C (Tableau 71 ; Figure 124-a,b).

Tableau 71 : Quantité et caractéristiques de la MOA issue des cultures de *M. aeruginosa* cultivées à 15°C et 23°C

	<i>M. aeruginosa</i> 15°C	<i>M. aeruginosa</i> 23°C
COD (mg C.L ⁻¹)	9,2	38,1
SUVA (L.cm ⁻¹ .gC ⁻¹)	10,0 ± 0,4	4,4 ± 0,7
HPI (%)	73%	59%

Des tests d'adsorption sur CAP sont conduits sur ces deux échantillons et l'efficacité d'élimination est mesurée et comparée au regard de la quantité et des caractéristiques de la MO. Le COD résiduel est élevé pour les deux températures avec 6,4 mg C.L⁻¹ et 23,1 mg C.L⁻¹, respectivement à 15°C et 23°C (Figure 121).

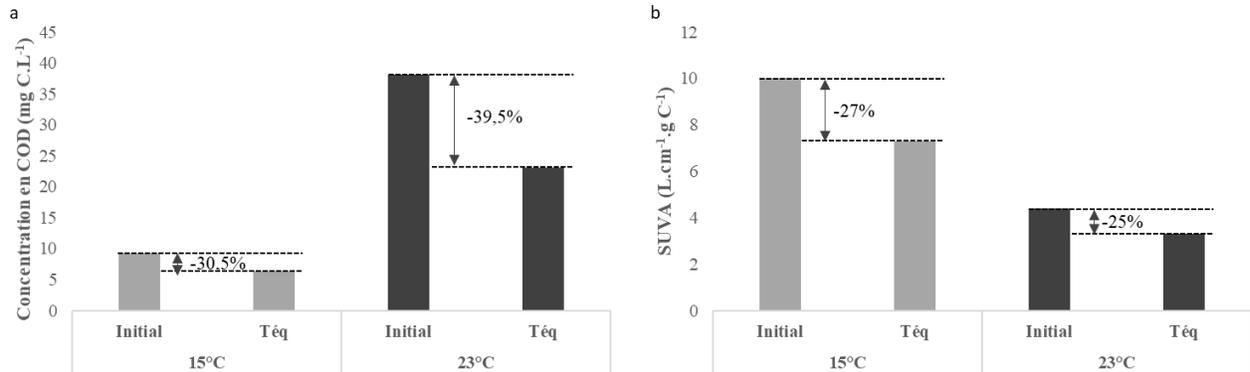


Figure 121 : (a) COD et (b) SUVA initial et final en fonction de la température de culture de la souche de MA

Pour chacun des échantillons, le rendement d'élimination du COD est inférieur à 40%, même après 24h de temps de contact. L'abattement est comparable à ceux observés par Li *et al.* (2014) et Park *et al.* (2019) : 49% et 41% respectivement pour une concentration en CAP de 150 mg.L⁻¹, des temps de contact de 12h et 24h et des COD initiaux de 3,5 mg C.L⁻¹ et 4,5 mg C.L⁻¹. Le rendement maximal d'élimination du COD est supérieur pour l'échantillon à 23°C (39,4%) comparé à celui à 15°C (30,4%) en cohérence avec sa proportion de HPI inférieure (Tableau 71).

Jusqu'à 8h de temps de contact, le rendement d'élimination de l'UV₂₅₄ est supérieur à 15°C qu'à 23°C. La fraction HPO est facilement adsorbée sur le CAP. Dans la MOA_{15°C}, elle est initialement présente en faible concentration (2,5 mg C.L⁻¹) son élimination impacte rapidement l'aromaticité de la matière restante. L'élimination de l'UV₂₅₄ est équivalente au bout de 24h avec un maximum de 51 ± 1% (Figure 122). L'élimination de l'UV₂₅₄ est supérieure à celle du COD, en accord avec la littérature (Cai *et al.*, 2008 ; Campinas et Rosa, 2010 ; Li *et al.*, 2014 ; Park *et al.*, 2019). Ces différences traduisent une sélectivité dans l'adsorption de la MOA, avec une rétention préférentielle de molécules plus aromatiques à la surface du CAP bien qu'elles soient en faibles quantités dans la MOA (Cai *et al.*, 2008 ; Park *et al.*, 2019). Par conséquent, l'indice SUVA de la MO diminue en fonction du temps de traitement, avec une diminution moyenne de 26 ± 1% (Figure 121-b).

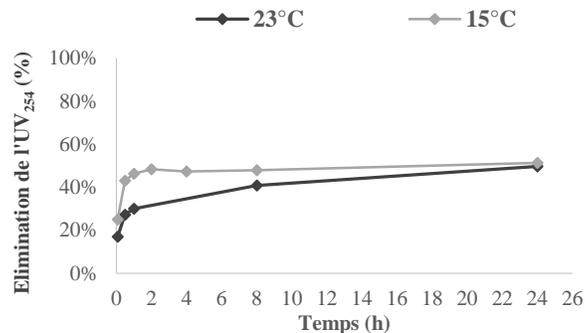


Figure 122 : Élimination de l'UV₂₅₄ lors du traitement par le CAP 2 à une dose de 150 mg.L⁻¹ en fonction du temps de contact

A partir des cinétiques d'adsorption tracées, le temps d'équilibre ($T_{\text{éq}}$) est défini et est utilisé pour les tests complémentaires. Des temps de 4h et 8h sont respectivement choisis pour les échantillons à 15°C et 23°C. Au temps d'équilibre défini, l'évolution de l'élimination de la MO en fonction de la concentration en CAP est suivie ; pour une dose allant jusqu'à 800 mg CAP.L⁻¹. Les pourcentages d'élimination du COD et de l'UV₂₅₄ augmentent avec l'augmentation de la dose. Un abattement maximal de ces deux paramètres est néanmoins atteint pour une concentration de 450 mg.L⁻¹ (Figure 123). De manière similaire à la cinétique, pour les deux températures considérées, le pourcentage d'élimination de l'UV₂₅₄ (maximum 74%) est supérieur à celui du COD (maximum 49%). Le pourcentage d'élimination du COD de la culture à 23°C est, pour toutes concentrations, supérieur à celui de la culture à 15°C et l'abattement maximal obtenu est de 49% pour la culture à 23°C contre 42% pour la culture à 15°C.

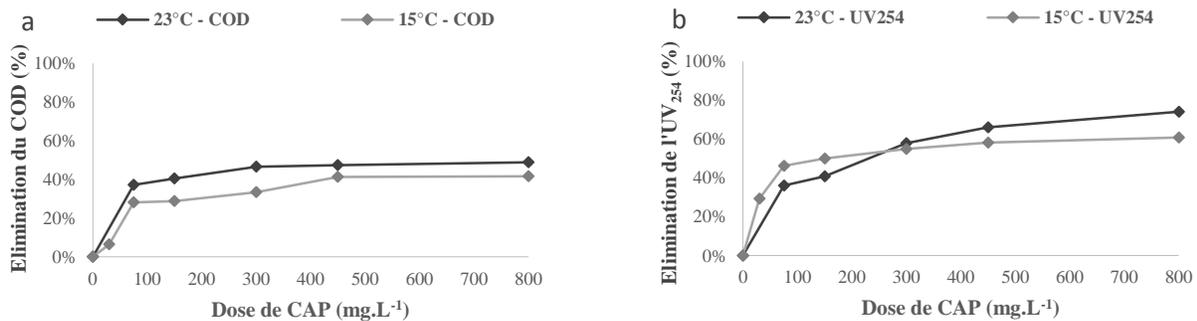


Figure 123 : Élimination (a) du COD et (b) de l'UV₂₅₄ en fonction de la dose de CAP appliquée ($T_{23^{\circ}\text{C}}=480\text{min}$; $T_{15^{\circ}\text{C}}=240\text{min}$)

L'application des modèles de Langmuir et Freundlich ne permettent pas d'accéder à une fonction linéaire avec un bon coefficient de corrélation. L'affinité entre les molécules et le CAP semblent plus importante à 23°C. En accord avec les résultats précédents, le COD est plus retenu à 23°C et l'UV₂₅₄ est plus éliminé aux faibles concentrations en CAP pour la culture à 15°C.

Les caractéristiques de la MOA produite par *M. aeruginosa* à chacune des températures, avant traitement, sont présentées en Figure 124-a,b. En accord avec la littérature (Henderson *et al.*, 2008 ; Her *et al.*, 2004 ; Leloup *et al.*, 2013 ; Pivokonsky *et al.*, 2014), la MOA est principalement hydrophile, surtout à 15°C, avec la fraction HPI qui représente plus de 60% du COD. Ainsi, la culture à 23°C présente davantage de fractions HPO (+15%) et TPH (+100%). Or, la littérature montre que la fraction HPI est difficilement éliminée par le CAP (Cai *et al.*, 2008 ; Alvarez-Uriarte *et al.*, 2010 ; Campinas et Rosa, 2010 ; Leloup, 2013 ; Li *et al.*, 2014 ; Cermakova *et al.*, 2017 ; Park *et al.*, 2017 - 2019), expliquant alors les différences de performances d'élimination obtenues pour chacun des échantillons.

La Figure 124-c,d présente l'élimination spécifique de chaque fraction. Il est observé, au bout de 5 minutes de temps de contact, qu'une très faible proportion de HPI est éliminée (1 – 6%) malgré sa prédominance dans la MOA. L'augmentation du temps de contact au $T_{\text{éq}}$, permet d'augmenter l'élimination, bien qu'elle reste limitée pour la fraction HPI (14 – 16%), en accord avec les résultats de Li *et al.*, (2014) qui obtenaient 10% d'élimination pour une dose de 50 mg.L⁻¹ et un temps de contact de 30 min. La fraction HPO est plus efficacement éliminée (17 – 27% après 5 min de contact et 54 – 70% au $T_{\text{éq}}$) en comparaison avec les autres fractions qui atteignent au maximum 25% et 16%, respectivement pour TPH et HPI, au $T_{\text{éq}}$. Ainsi, l'élimination de la fraction HPO explique à 69% et 55%, respectivement pour les cultures à 23°C et 15°C, la diminution du COD de l'échantillon. Ces résultats sont en accords avec ceux de Li *et al.* (2014), qui avaient observé que 82,8% du COD éliminé était expliqué par la fraction HPO. La meilleure élimination

du COD de la culture à 23°C s'explique donc par sa plus forte teneur en HPO, plus réactive à l'adsorption sur CAP.

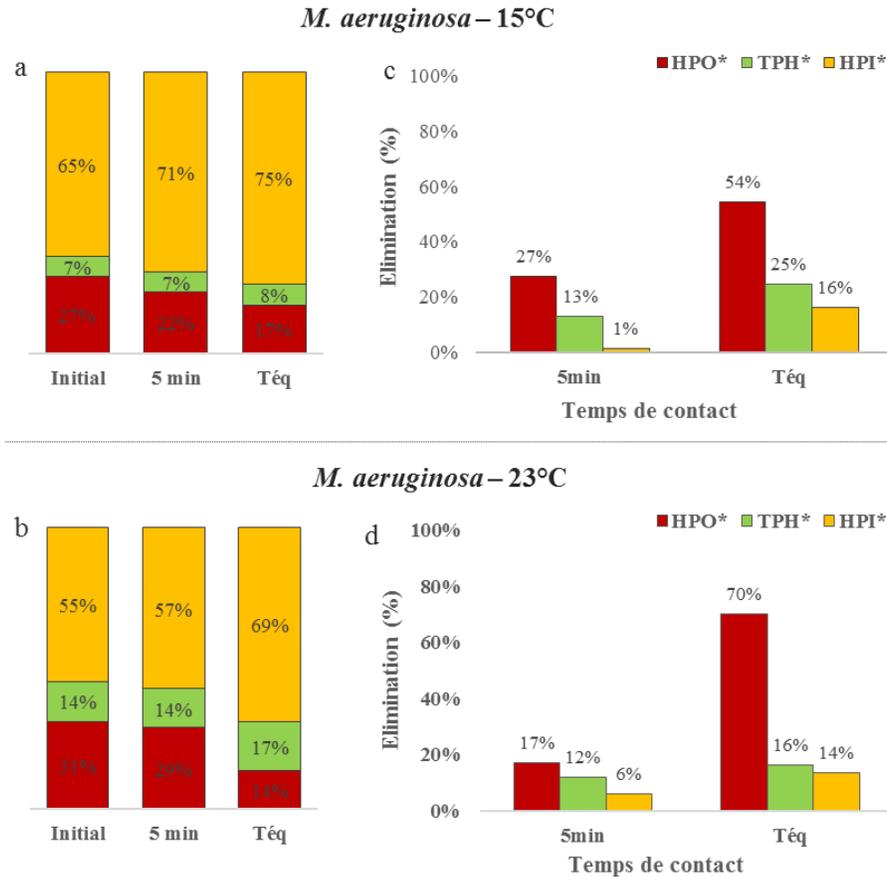


Figure 124 : (a) et (b) Répartition des fractions HPO, TPH et HPI dans les cultures de *M. aeruginosa* avant et après traitement.. (c) et (d) Élimination des fractions HPO, TPH et HPI pour un temps de contact de 5min et au Ték. Les résultats des cultures à 15°C sont sur la ligne du haut, ceux des cultures à 23°C sont sur la ligne du bas.

Le traitement a certes permis d'éliminer une partie de la MO mais il en a cependant modifié ses caractéristiques. Le fractionnement de la MO après traitement (Figure 124-a,b) montre une augmentation de la proportion de la fraction HPI qui atteint, au temps d'équilibre, 75% et 69% respectivement pour les cultures à 15°C et 23°C. La fraction éliminée étant essentiellement la fraction HPO, dont le caractère aromatique est élevé, l'indice SUVA de la MO diminue à la suite du traitement pour atteindre au Ték $5,4 \pm 0,1 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$ à 15°C et $6,1 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$ à 23°C. La MO ainsi traitée est moins concentrée mais plus hydrophile et moins aromatique. Les modifications des caractéristiques de la MOA sont d'autant plus marquées pour la culture à 23°C que celle à 15°C avec respectivement une augmentation de la fraction de HPI de +26% et +15% et une diminution du SUVA de 50% et 22%.

2.2. Réactivité de la Matière Organique Naturelle

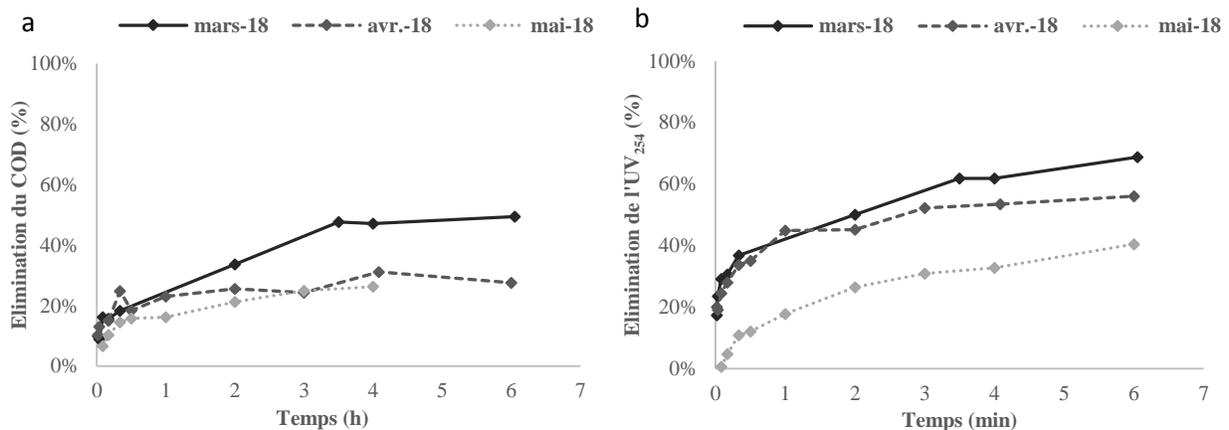
2.2.1. Etude de la réactivité d'échantillons naturels en fonction du climat

L'augmentation de la température et de la lumière à partir d'avril 2018 permet le développement de phytoplancton qui engendre une augmentation du COD et une modification des caractéristiques de la MO (Tableau 72). Il a en effet été vu précédemment, une forte corrélation entre la dynamique du phytoplancton et celle de la MO.

Tableau 72 : Climat et caractéristiques des échantillons de Pigeard aux trois mois de prélèvement (année 2018)

	Mars	Avril	Mai	
Température de l'air (moyenne mensuelle) (°C)	6 ± 3	13 ± 4	15 ± 3	
Ensoleillement cumulé sur 24h (moyenne mensuelle) (J.cm ⁻²)	945 ± 419	1510 ± 627	1789 ± 717	
Concentration cellulaire (cellules.mL ⁻¹)	1,7.10 ⁴	2,0.10 ⁵	6,5.10 ⁶	
COD (mg C.L ⁻¹)	4,3 ± 0,1	4,4 ± 0,1	5,4 ± 0,5	
SUVA (L.cm ⁻¹ . gC ⁻¹)	Global	35 ± 3	35 ± 1	32 ± 3
	HPO	29,1	27,4	21,3
	TPH	16,2	14,6	14,0
	HPI	11,0	10,4	7,8

Des tests d'adsorption sur CAP sont conduits sur ces trois échantillons afin de comparer l'efficacité d'élimination de la MO d'une eau au statut trophique croissant. Pour chacun des échantillons, le rendement d'élimination du COD est inférieur à 50%. Ce pourcentage est supérieur à celui obtenu avec la MOA (< 40%) et dans l'ordre de grandeur de ceux trouvés dans la littérature (Leloup, 2013 (32%) ; Park *et al.*, 2019 (31,7 – 46,8%)). Le rendement maximal d'élimination du COD diminue au cours de l'année, avec la modification des conditions climatiques (augmentation de la température et de l'ensoleillement) au regard des développements phytoplanctoniques. Des rendements de 49,4%, 37,9% et 33,1% sont respectivement atteints pour les mois de mars, avril et mai (Figure 125-a). Le COD résiduel augmente conjointement et varie entre 2,2 et 3,4 mg C.L⁻¹. Il semble alors que les apports de MOA dus au phénomène d'eutrophisation affectent l'efficacité d'élimination du COD du plan d'eau, expliquant alors le rendement plus élevé en mars, lorsque le phytoplancton est présent en faible concentration. L'élimination de l'UV₂₅₄ suit une tendance similaire au COD, avec des taux supérieurs (68,8% à 50,4%) (Figure 125-b), en accord avec la littérature (Caï *et al.*, 2008 ; Park *et al.*, 2019). L'indice SUVA des composés organiques diminue et atteint un abattement de 39 ± 1% après 360 minutes de temps de contact. En accord avec la littérature, l'indice SUVA diminue plus fortement lorsque l'échantillon est concentré en phytoplancton (Park *et al.*, 2019). Pour chacun de ces échantillons, un T_{eq} de 4h est défini pour les expériences complémentaires.

Figure 125 : Élimination (a) du COD et (b) de l'UV₂₅₄ lors du traitement par le CAP 2 à une dose de 150 mg.L⁻¹ d'eaux naturelles prélevées aux mois de mars, avril et mai 2018

Pour un temps de contact de 4h, l'élimination du COD et de l'UV₂₅₄ est évaluée pour des concentrations allant de 15 à 800 mg CAP.L⁻¹. Le pourcentage d'élimination de ces deux paramètres augmente avec l'augmentation de la concentration en CAP. En accord avec les résultats précédents, l'abattement maximal obtenu diminue de mars à avril (800 mg.L⁻¹ : 81%, 80% et 72% respectivement en mars, avril et mai). Pour les échantillons de mars et avril, une dose minimale de 300 mg.L⁻¹ est nécessaire pour obtenir un COD résiduel inférieur à 2 mg.L⁻¹ alors qu'elle est de 800 mg.L⁻¹ au mois de mai.

Les résultats de l'adsorption sont modélisés en s'appuyant sur les équations de Langmuir et Freundlich (Tableau 73). La modélisation montre une bonne concordance avec les modèles comme le prouve les coefficients de corrélation compris entre 0,9 et 1, avec néanmoins, un coefficient plus faible en mai lorsque le phytoplancton est établi (Annexe 1). En corrélation avec les observations précédentes, la modélisation de Langmuir montre une diminution de la capacité maximale d'adsorption (Q_{\max}) avec le développement de phytoplancton et l'apport de MOA. En revanche, la constante d'équilibre (K_L) est faible, caractéristiques de faibles interactions entre la MON et le CAP, et peu variable d'un échantillon à l'autre. Le modèle de Freundlich montre une diminution non significative de l'affinité ($1/n$) et de la constante d'équilibre (K_F). L'évolution des caractéristiques de la MON au cours des saisons impacte d'une part la quantité maximale de MON adsorbée et d'autre part la rapidité d'adsorption de cette matière sur le CAP, induisant une variation de l'efficacité du traitement.

Tableau 73 : Comparaison des paramètres caractéristiques des isothermes de Langmuir et Freundlich entre les échantillons de Pigeard prélevés à différents mois de l'année 2018

	Langmuir			Freundlich		
	Q_{\max} (mg COD.g ⁻¹)	K_L	R^2	$1/n$	K_F	R^2
Mars	79,5	0,080	0,980	0,81	5,6	0,981
Avril	34,8	0,17	0,987	0,73	5,2	0,982
Mai	26,9	0,020	0,943	0,78	4,06	0,921

La MON présente dans chacun des échantillons est fractionnée selon le caractère hydrophobe afin de comprendre et interpréter les différences d'abattement, d'affinité et de capacité maximale entre les différences mois. La Figure 126 présente la réactivité d'élimination de chacune des fractions de la MON. Pour chaque test, les fractions HPO et TPH sont plus efficacement éliminées (35 – 64% et 45 – 71%) que la fraction HPI (14 – 22%). Contrairement aux résultats obtenus sur la MOA, la fraction TPH montre ici une grande affinité avec le CAP, lui conférant alors une élimination supérieure à 45% au $T_{\text{éq}}$ (élimination de 25% au maximum pour la MOA). Ces rendements d'élimination sont corrélés aux indices SUVA plus élevés des fractions HPO et TPH (26 ± 4 et 15 ± 1 L.cm⁻¹.g C⁻¹) que HPI (10 ± 2 L.cm⁻¹.g C⁻¹) (Tableau 72). En effet, le CAP a une meilleure affinité pour les composés au caractère hydrophobe et aromatique élevés (Cai *et al.*, 2008 ; Li *et al.*, 2014 ; Park *et al.*, 2017). Il est également observé une diminution de l'élimination des fractions HPO et TPH entre mars et mai (Figure 126), en corrélation avec la diminution de l'indice SUVA de ces fractions (Tableau 72).

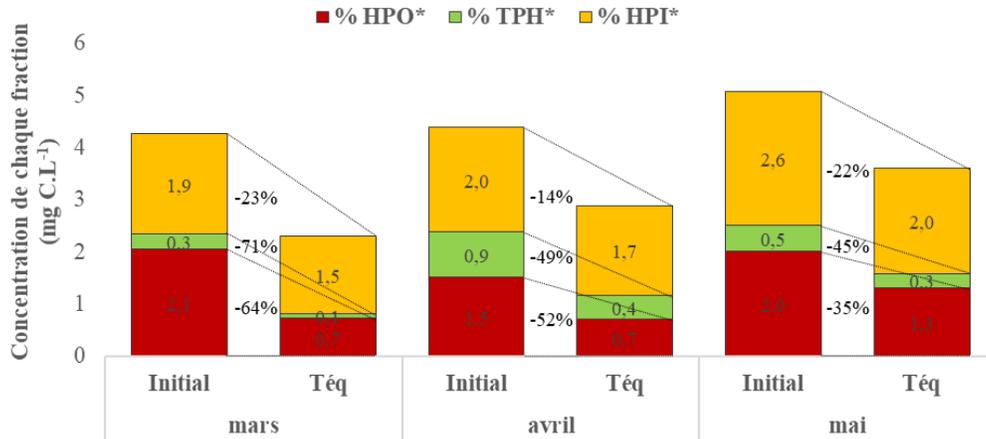


Figure 126 : Evolution des concentrations des fractions de la MON avant et après traitement aux trois mois de prélèvement

Le développement de phytoplancton au cours des mois de mars à mai 2018 conduit progressivement à une augmentation de la proportion de HPI (+18%) et une diminution de la fraction HPO (-19%) (Figure 127) en accord avec les conclusions de *Leloup et al.*, (2013). En conséquence, il est observé une diminution de l'indice SUVA global, expliquée par une diminution de l'indice SUVA des fractions de la MON (Tableau 72). En concordance avec les résultats précédents et ceux de la littérature (*Leloup et al.*, 2013), les fractions HPI et HPO sont les principales affectées par les proliférations phytoplanctoniques, avec une diminution respective de 29% et 27% de leur indice SUVA contre 14% pour la fraction TPH (Tableau 72).

Les différences d'élimination observées sont cohérentes avec les caractéristiques de la MON. Les proliférations phytoplanctoniques saisonnières modifient rapidement la quantité de COD mais également les caractéristiques intrinsèques de la MO. Ces modifications diminuent l'efficacité d'élimination de la MON par le CAP. Ainsi, le rendement de ce procédé de traitement dépend de la quantité de matière organique à traiter mais également de ses caractéristiques.

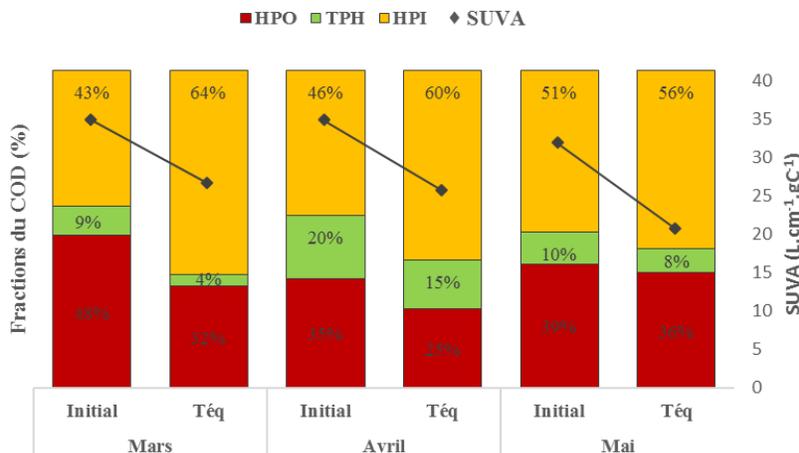


Tableau 74 : Indice SUVA des fractions HPO, TPH et HPI avant et après traitement ($T = T_{eq}$) (cas du mois de mars)

	HPO	TPH	HPI
Blanc	28,3	16,7	11
Tég	22,3	14,4	9,4

Figure 127 : Répartition des fractions HPO, TPH et HPI dans les échantillons de Pigeard avant traitement et après traitement ($T = T_{eq}$)

Aux quantités et caractéristiques de l'étude, le traitement sur CAP élimine entre 33% et 50% du COD. La matière réfractaire voit son caractère hydrophile augmenter et son caractère aromatique diminuer. Les fractions TPH et HPO, très réactives, diminuent alors que la fraction HPI augmente ; de 49%, 30% et 10% respectivement pour les échantillons de mars, avril et mai (Figure 127). Parallèlement, l'indice SUVA des fractions diminue (Tableau 74), de façon plus marquée pour la fraction HPO (-21%). L'indice SUVA de la matière atteint, après le traitement, $25 \pm 2 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$; $23,6 \pm 0,2 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$ et $22 \pm 5 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$ respectivement pour les mois de mars, avril et mai. La matière réfractaire, en concentration non négligeable est fortement hydrophile et faiblement aromatique. Un traitement adapté doit être apporté afin de l'éliminer.

2.2.2. Impacts de l'eutrophisation sur la réactivité d'échantillons naturels : étude d'une eau naturelle dopée en MOA

Pour confirmer les observations précédentes et évaluer l'impact de l'eutrophisation et plus particulièrement des apports de MO hydrophiles, sur l'efficacité du traitement, des échantillons du milieu naturel sont dopés. Une solution contenant essentiellement la fraction HPI (88%) extraite d'une culture de *M. aeruginosa* (23°C, phase stationnaire) est utilisée pour le dopage (Figure 128). L'arrêté du 11 janvier 2017, concernant la qualité de la ressource en eau utilisée pour la production d'eau potable et de l'eau potable, requiert une concentration en COD maximale de 10 mg C.L⁻¹ dans la ressource en eau et de 2 mg C.L⁻¹ dans l'eau potable. Ainsi, pour respecter cette réglementation, il est choisi de doper l'eau naturelle à une concentration d'environ 8 mg C.L⁻¹.

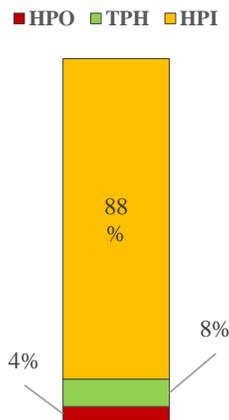


Figure 128 : Répartition des fractions HPO, TPH et HPI de la solution de dopage

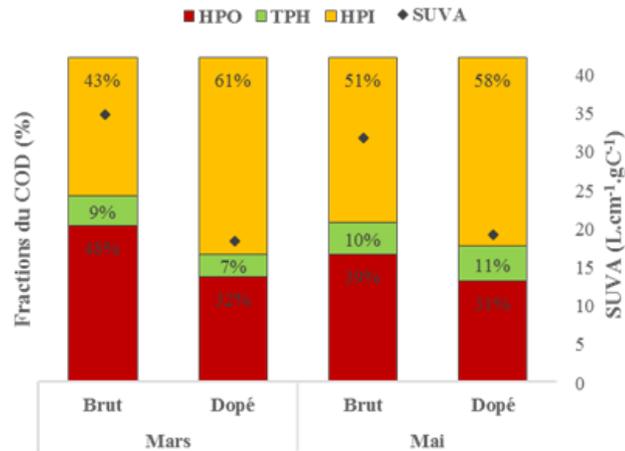


Figure 129 : Caractéristiques de la MON des échantillons bruts et dopés. Etude réalisée sur les échantillons d'eaux naturelles de mars et avril 2018.

La Figure 129 compare les caractéristiques des eaux naturelles avant et après dopage. L'apport de MOA augmente le COD de l'échantillon, qui atteint la concentration souhaitée, vérifiée par mesure du COD. En mars, la concentration en COD est de $4,3 \pm 0,1 \text{ mg C.L}^{-1}$ dans l'eau brute contre $7 \pm 1 \text{ mg C.L}^{-1}$ dans l'eau dopée ; en mai elle vaut $5,4 \pm 0,5 \text{ mg C.L}^{-1}$ dans l'eau brute contre $8,4 \pm 0,4 \text{ mg C.L}^{-1}$ dans l'eau dopée. Le très faible caractère aromatique de la matière ajoutée ($< 3 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$) engendre une très nette diminution du SUVA de l'échantillon dopé. Le fractionnement selon le caractère hydrophobe de l'échantillon dopé montre une augmentation de la proportion de la fraction HPI (+42% et +14% respectivement pour mars et mai) et une diminution de la fraction HPO (-33% et -21%) (Figure 129). L'évolution est plus marquée pour l'échantillon de mars car une plus grande quantité de MOA doit être

ajoutée pour atteindre le COD désiré. La fraction TPH, quant à elle, est relativement stable en accord avec les conclusions de Leloup *et al.* (2013).

Des tests d'adsorption sur CAP sont conduits sur ces échantillons afin d'évaluer l'efficacité d'élimination de la MO d'une eau hyper-eutrophe et de s'assurer du respect de la réglementation en sortie de station. La Figure 130-a,b présente le pourcentage d'élimination du COD en fonction du temps de contact. Pour les deux échantillons considérés (mars et mai), l'ajout de MOA diminue l'efficacité du traitement. L'élimination du COD, entre brut et dopé, diminue davantage en mars, où une plus grande quantité de MOA, et donc de HPI, est ajoutée. Les COD résiduels des échantillons dopés sont de $6,3 \text{ mg C.L}^{-1}$ et $5,7 \text{ mg C.L}^{-1}$, bien supérieurs à la réglementation en sortie de station. L'élimination de l'absorbance UV_{254} n'est pas impactée par l'apport de MOA. La MO hydrophobe et aromatique, initialement présente dans les échantillons, est toujours éliminée. Au temps d'équivalence, elle atteint $55 \pm 1\%$ pour mars et mars dopé et $45 \pm 1\%$ pour avril et avril dopé (Figure 130-c,d).

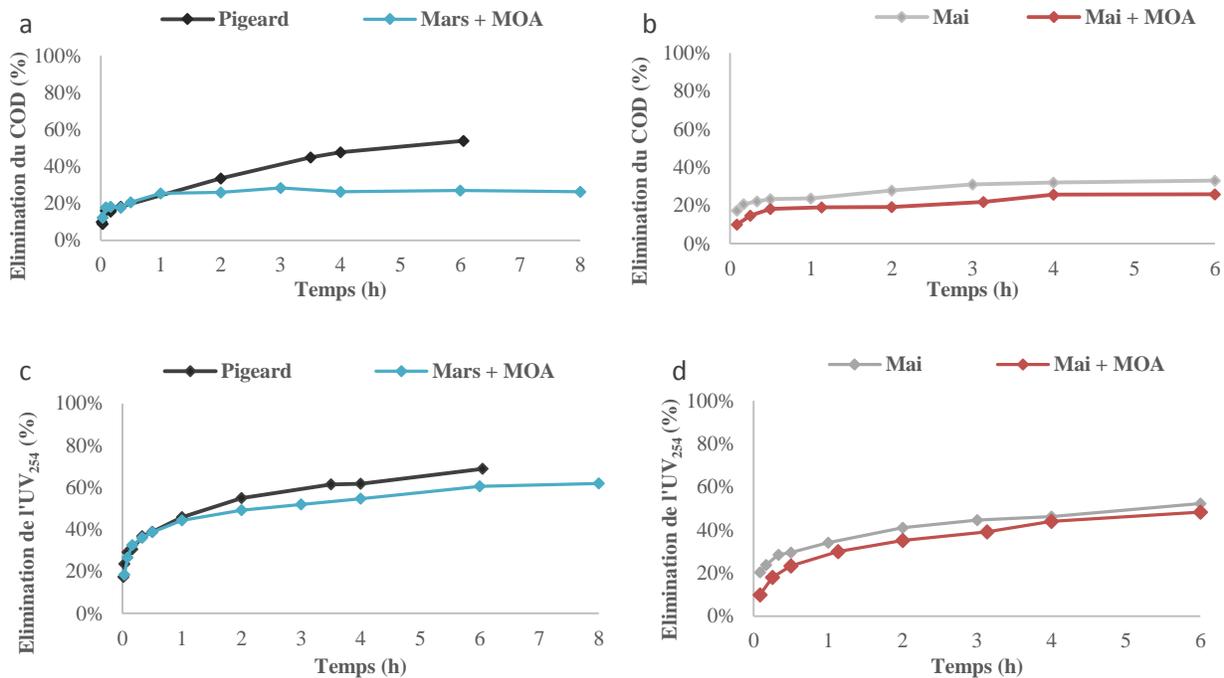


Figure 130 : (a) et (b) élimination du COD ; (c) et (d) élimination de l'UV₂₅₄ lors du traitement par le CAP 2 à une dose de 150 mg.L^{-1} . Comparaison de l'efficacité en fonction des apports de matières hydrophiles. A gauche, l'échantillon de mars et à droite celui de mai.

Au temps d'équilibre (240 min), l'élimination du COD et de l'UV₂₅₄ est observée pour des concentrations allant de 15 à $800 \text{ mg CAP.L}^{-1}$. Le pourcentage d'élimination de ces deux paramètres augmente avec l'augmentation de la concentration en CAP. L'augmentation est importante jusqu'à 450 mg.L^{-1} et s'atténue entre 450 et 800 mg.L^{-1} . Contrairement aux eaux brutes où l'abattement est supérieur en mars, l'élimination pour l'échantillon de mai dopé est légèrement supérieure par rapport à mars dopé ($54,5\%$ contre $57,5\%$ à 800 mg.L^{-1}), en cohérence avec la concentration en HPI supérieure au mois de mars. La concentration en HPI conditionne fortement l'efficacité du procédé d'adsorption sur CAP ; son augmentation engendre une diminution du rendement d'élimination du COD. Pour l'échantillon brut de mars, une dose de $300 \text{ mg CAP.L}^{-1}$ suffisait pour atteindre la norme de 2 mg.L^{-1} de COD résiduel. Avec

l'augmentation du COD et de la concentration en HPI, une dose de 800 mg CAP.L⁻¹ n'est pas suffisante ; comme l'illustre le COD résiduel de 6,3 mg C.L⁻¹.

Les résultats des isothermes d'adsorption sont modélisés en s'appuyant sur les équations de Langmuir et Freundlich (Tableau 75). Alors que Langmuir et Freundlich permettaient de décrire les isothermes des eaux brutes, des coefficients de corrélation inférieurs à 0,9 sont obtenus sur les eaux dopés pour Langmuir. Ce modèle n'est par conséquent, pas utilisé pour comparer les échantillons. La modélisation montre une bonne concordance avec le modèle de Freundlich comme le prouve les coefficients de corrélation compris entre 0,9 et 1. La constante d'équilibre (K_F) est divisée par 10 entre l'échantillon non dopé et dopé, prouvant une diminution de l'adsorption avec l'augmentation de la proportion de HPI et/ou l'augmentation de la charge organique.

Tableau 75 : Comparaison des paramètres caractéristiques des isothermes de Langmuir et Freundlich entre les échantillons de Pigeard non dopés et dopés en MOA.

		Langmuir			Freundlich		
		Q_{max} (mg.g ⁻¹)	K_L	R^2	1/n	K_F	R^2
Mars	Brut	79,5	0,080	0,980	0,81	5,6	0,981
	Dopé	-	-	< 0,9	2,74	0,5	0,968
Mai	Brut	26,9	0,020	0,943	0,78	4,06	0,921
	Dopé	-	-	< 0,9	3,07	0,4	0,983

Après un temps de contact équivalent au T_{eq} , le traitement sur CAP a permis d'éliminer environ 26% du COD ; il reste alors en solution près de 5,9 mg C.L⁻¹ dans les échantillons dopés. Sans apport additionnel de MOA, l'élimination atteint 49% pour mars et 33% pour mai permettant de descendre à des concentrations respectives de 2,8 mg C.L⁻¹ et 3,4 mg C.L⁻¹. Outre ces différences de concentration, les caractéristiques de la matière réfractaire diffèrent également. Avant traitement, la proportion de HPI augmente de 30% en mars et 12% en mai suite à l'ajout de MOA. Bien que très minoritaires, les fractions HPO et TPH restent les plus réactives, avec des pourcentages d'élimination, respectivement compris entre 64 – 77 % et 24 – 29%, bien supérieures à ceux de la fraction HPI (5 – 11%). La fraction HPI, très réfractaire, est concentrée dans l'échantillon post-traitement. Sa proportion augmente de 51% dans l'échantillon de mars, 34% dans l'échantillon de mars dopé, 11% dans celui de mai et 28% dans celui de mai dopé. Aucune proportionnalité entre l'ajout de HPI et sa proportion finale après traitement n'est observée. En corrélation avec l'augmentation de la concentration en HPI, l'indice SUVA diminue entre l'échantillon brut et dopé et atteint un minimum après traitement.

Il découle de cette étude, que l'état eutrophe conditionne l'apport en MOA qui induit un enrichissement de la charge organique et que cette nouvelle charge organique algale présente des caractéristiques très hydrophiles ne permettant pas sa rétention sur des supports adsorbants tels que le CAP utilisé usuellement dans les unités de production d'eau potable. L'étude de l'adsorption de la fraction hydrophile a été menée en présence d'une MO plus hydrophobe et des phénomènes de compétition peuvent apparaître. Afin de bien comprendre le comportement de la fraction hydrophile sur le CAP, une étude est réalisée avec cette fraction HPI seule.

2.2.3. Réactivité de la fraction HPI

Les fractions HPO et TPH ont montré une forte affinité avec le CAP sélectionné. L'abattement de ces fractions varie sensiblement selon l'origine de la MO. Présente en mélange, et malgré une proportion majoritaire, la fraction HPI est continuellement peu éliminée lors du procédé d'adsorption sur CAP. De l'eau synthétique, présentant des caractéristiques comparables à des eaux souterraines de l'ex-Région Limousin, est dopée en HPI afin de conclure quant à sa réactivité lorsqu'elle est seule en solution. La solution initiale contient $7,3 \text{ mg C.L}^{-1}$ dont 88% correspond à la fraction HPI (soit $6,15 \text{ mg C.L}^{-1}$), 8% à la fraction TPH et 4% à la fraction HPO. L'indice SUVA est très faible avec une valeur de $0,53 \text{ L.cm}^{-1}.\text{g C}^{-1}$.

La Figure 131 présente l'élimination du COD et de l' UV_{254} . Le caractère aromatique, déjà très faible, diminue rapidement. En effet, dès les premières minutes de temps de contact, un abattement de 70% est observé et évolue peu avec l'augmentation du temps de contact. Ce résultat est cohérent avec les observations précédentes ; la faible quantité de HPO contenue dans l'échantillon ($0,29 \text{ mg C.L}^{-1}$) est rapidement éliminée. En revanche, l'abattement global du COD est très faible : il n'atteint que 8% après 2h de temps de contact et seulement 13% après 48h en corrélation avec la faible proportion de HPO et TPH (12%).

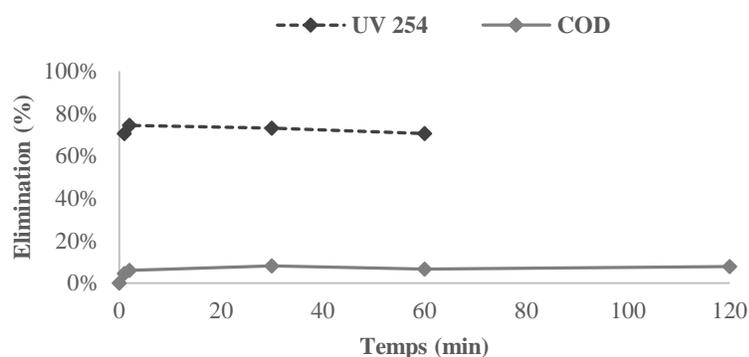


Figure 131 : Élimination du COD et de l' UV_{254} lors du traitement de la fraction HPI contenue dans de l'eau synthétique, par le CAP 2 à une dose de 150 mg.L^{-1} .

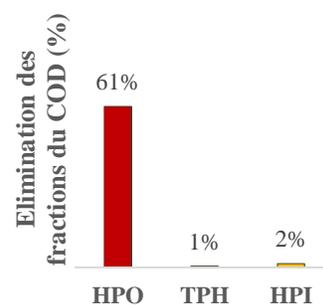


Figure 132 : Élimination des fractions HPO, TPH et HPI dans l'eau synthétique pour un temps de contact de 30 min..

Le fractionnement de la MO après adsorption sur CAP pendant 30 minutes montre une élimination de seulement 2% de la fraction HPI (soit $1,3 \text{ mg C.L}^{-1}$) contre 61% d'élimination de la fraction HPO (soit $0,18 \text{ mg C.L}^{-1}$), pourtant en faible proportion initialement (Figure 132). Quel que soit l'origine de l'échantillon traité (milieu naturel, culture de laboratoire), la fraction HPI est plus efficacement éliminée en présence des autres fractions. En effet, au temps d'équilibre, les essais avec la MOA montrent une élimination de $15 \pm 1\%$; de $19 \pm 5\%$ avec les échantillons de Pigeard et de $11 \pm 7\%$ pour les échantillons dopés en MOA contre seulement 2% pour l'eau synthétique dopée en HPI. Ces résultats laissent penser que la fraction HPI bénéficie d'un effet synergique des autres fractions, mais reste difficilement adsorbable sur le CAP.

3. Réactivité des MCs lors de l'adsorption sur Charbon Actif en Poudre

3.1. Elimination des MCs

L'eau synthétique est dopée en MC-LR à hauteur de $8,1 \pm 0,3 \mu\text{g.L}^{-1}$ (concentration vérifiée par analyse par SPE-HPLC-UV/PDA). L'expérience est conduite à une concentration en CAP de 150 mg.L^{-1} , concentration élevée au regard de la littérature. Donati *et al.* (1994) et Cook et Newcombe (2007) ont montré que l'adsorption de la MC-LR était corrélée au volume de mésopores ; or, le CAP utilisé présente un fort volume de mésopores ($0,40 \text{ cm}^3.\text{g}^{-1}$), en adéquation avec les volumes trouvés dans la littérature (Donati *et al.*, 1994 ; Huang *et al.*, 2007). La Figure 133 présente le pourcentage d'élimination de la toxine lors du procédé d'adsorption sur CAP. La MC-LR est très réactive au CAP sélectionné. En effet, 61% d'abattement sont obtenus au bout de 5 minutes et plus de 90% après 2h. Ces résultats d'élimination sont cohérents avec la littérature, qui observe une forte affinité entre le CAP, notamment ceux à l'important volume de mésopores, et la MC-LR (Donati *et al.*, 1994 ; Lambert *et al.*, 1996 ; Campinas et Rosa, 2006 ; Huang *et al.*, 2007 ; Cook et Newcombe, 2008 ; Ho *et al.*, 2011 ; Merel *et al.*, 2013 ; Li *et al.*, 2014).

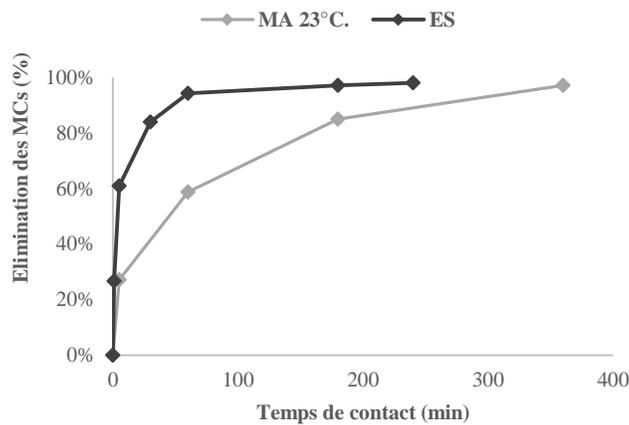


Figure 133 : Elimination de la MC-LR contenue dans un échantillon d'eau synthétique ($C_i = 8,1 \pm 0,3 \mu\text{g.L}^{-1}$; $[\text{CAP}] = 150 \text{ mg.L}^{-1}$) et d'une culture de *M. aeruginosa* (23°C) ($C_i = 1204 \mu\text{g.L}^{-1}$; $[\text{CAP}] = 150 \text{ mg.L}^{-1}$)

A la concentration initiale de MC-LR ($8 \mu\text{g.L}^{-1}$) et à la dose de CAP considérée, la concentration finale après traitement est inférieure à $1 \mu\text{g.L}^{-1}$, pour des temps de contact de 30 et 60 minutes.

3.2. Effet de la MO sur l'adsorption de la MC-LR

La MC-LR présente une très forte affinité avec le CAP utilisée lorsqu'elle est seule en solution. Il se pose alors la question de la compétition avec la MO. La Figure 133 présente l'élimination de la MC-LR dans un échantillon de culture de *M. aeruginosa* (23°C). Elle est comparée à l'élimination dans l'ES. Malgré la forte concentration en MC-LR dans l'échantillon initial ($1204 \mu\text{g.L}^{-1}$) et la présence de MO, plus particulièrement les fractions HPO et TPH, les plus réactives, la concentration en MC-LR diminue rapidement dans l'échantillon : 27% d'élimination sont observées après seulement 5 minutes de temps de contact et près de 60% après 1h. Une élimination de 97% est obtenue après 6h de contact, pour atteindre une concentration finale de $34,8 \mu\text{g.L}^{-1}$.

L'élimination de la MC-LR reste donc importante mais la vitesse d'élimination est diminuée par rapport à l'eau exemptée de MO. Deux hypothèses peuvent expliquer ce résultat : l'effet de la très forte concentration en MC-LR, la compétition avec la MO comme le montrent de nombreux auteurs (Donati *et al.*, 1994 ; Camponas et Rosa, 2010 ; Cook et Newcombe, 2008).

3.3. Effets de la présence de MC-LR sur l'élimination de la MO

Afin de vérifier que la présence de MC-LR n'affecte pas l'efficacité d'adsorption de la MO sur le CAP, l'eau naturelle, prélevée en mars et mai, est dans un cas, dopée en MOA et dans l'autre cas dopée en MOA et en MC-LR. Les toxines sont présentes en période estivale, lorsque les cyanobactéries se développent, par conséquent, lorsque de la MOA est apportée dans la masse d'eau. La Figure 134 présente l'élimination du COD et de l'UV₂₅₄ dans chacun des échantillons. Après 360 minutes de temps de contact, les pourcentages d'élimination du COD et de l'UV₂₅₄ ne sont pas significativement impactés par la présence de MC-LR.

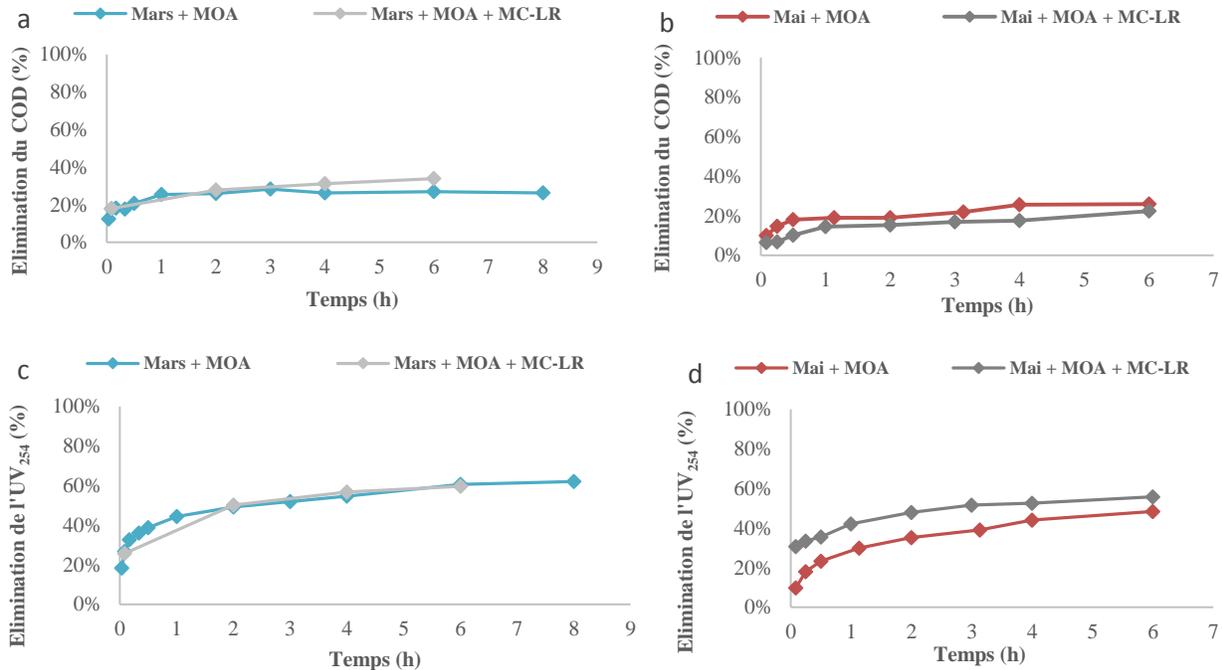


Figure 134 : (a) et (b) Elimination du COD ; (c) et (d) Elimination de l'UV₂₅₄ lors du traitement par le CAP 2 à une dose de 150 mg.L⁻¹. Comparaison de l'efficacité en fonction des apports de matières hydrophiles et des apports de matières hydrophiles et de MC-LR. A gauche, l'échantillon de mars et à droite celui de mai

Le fractionnement de la MO montre une dynamique identique des fractions avec et sans MC-LR (Figure 135). Le dopage avec la MC-LR (8 µg.L⁻¹) n'a pas d'effet sur la répartition des fractions de la MO.

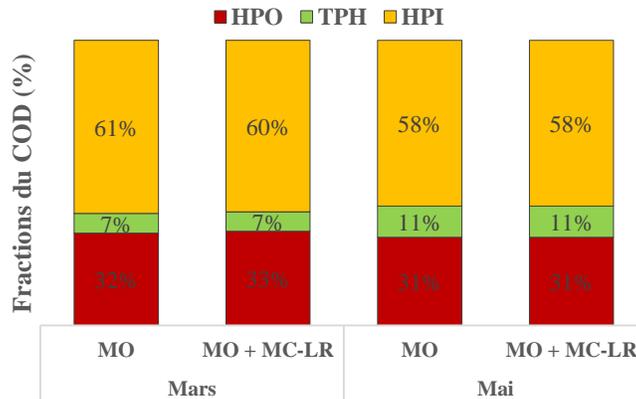


Figure 135 : Répartition des fractions HPO, TPH et HPI dans les échantillons de Pigeard de mars et mai dopés en MOA ou dopés en MOA et MC-LR

4. Conclusions du chapitre 3

La MOA est difficilement éliminée par adsorption sur CAP (30 – 39% au temps d'équilibre), à cause de la part importante de composés hydrophiles, très peu adsorbés (14 – 16%). Pour une culture pure de laboratoire, la fraction HPO présente un meilleur abattement (54 – 70%) que la fraction TPH (16 – 25%). L'abattement obtenu pour la culture à 23°C de *M. aeruginosa* est supérieur à celui de la culture à 15°C. En effet, la culture à 23°C présente une proportion de HPO et TPH (45%) plus élevée que celle à 15°C (34%), expliquant ces meilleures performances.

L'élimination de la MON au sein d'échantillon du milieu naturel est largement impactée par les phénomènes d'eutrophisation, et ce quelle que soit la saison. En effet, au temps d'équilibre, l'adsorption obtenue sur l'étang eutrophe de Pigeard est supérieur en fin d'hiver – mars – (49%) comparativement à l'échantillon du printemps – mai – (33%). Cependant, les comportements des fractions diffèrent. Alors que pour la MOA, la fraction HPO présente les meilleurs pourcentages d'élimination, la fraction TPH présente un abattement comparable à la fraction HPO pour la MON. L'abattement de ces fractions hydrophobes diminue entre mars et mai. L'élimination des fractions semble donc largement dépendante des propriétés et de la composition intrinsèque de chacune des fractions. Lorsque les échantillons du milieu naturel sont enrichis en fraction HPI issue de la MOA, la dynamique d'élimination des fractions de la MO se rapproche de celle de la MOA pure.

D'une manière globale, le procédé de traitement par CAP a l'avantage d'éliminer une partie du COD. Le pourcentage d'élimination dépend d'une part de la concentration initiale mais également des caractéristiques de la MO. La matière réfractaire est alors un concentré de la fraction hydrophile et après traitement, la matière présente un très fort caractère hydrophile et un caractère aromatique faible. Les propriétés du CAP utilisé dans cette étude lui permettent d'offrir d'excellentes performances vis-à-vis d'une MO hydrophobe. Ces performances sont limitées vis-à-vis des composés hydrophiles, qui deviennent prédominants dans des sources d'eau eutrophes. Les unités de production d'eau potable doivent donc envisager l'adaptation saisonnière d'un CAP si elles veulent maintenir des capacités de traitement identiques quelles que soient les saisons.

Le CAP présente un important volume de mésopores permettant alors une très grande réactivité vis-à-vis de la MC-LR. Son élimination est cependant impactée par la présence de MO. En effet, alors que l'abattement à 5 minutes est de 61% dans l'eau synthétique, il n'est que de 27 % en présence de MOA. Si le CAP doit être réadapté pour répondre aux évolutions saisonnières et climatiques de la MO des ressources en eaux, il faudra valider que les performances restent similaires sur les cyanotoxines.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Ce travail de thèse a permis dans un premier temps de développer au sein du laboratoire une méthode robuste de préparation et d'analyse par HPLC-UV/PDA des MCs présentes dans les échantillons d'eau naturelle et potable. Pour les eaux destinées à la consommation humaine, une méthode optimisée de pré-concentration sur SPE permet de détecter et quantifier des concentrations jusqu'à $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$ (éq MC-LR), soit une concentration dix fois plus faible que celle imposée par la réglementation. Pour les eaux du milieu naturel, ce même protocole de préparation par SPE permet de purifier et de concentrer les toxines afin de limiter les interférences liées à la matrice et d'obtenir une concentration ni surestimée ni sous-estimée. Parmi les interférences testées, la conductivité de l'échantillon ne perturbe ni la préparation ni l'analyse chromatographique. Le pH impacte la récupération des toxines sur SPE avec une diminution à pH acide et une augmentation à pH basique. Ainsi, pour éviter une surestimation ou sous-estimation de la concentration, le pH du filtrat est fixé entre 6 et 8, juste après la filtration sur GF/C. Il est important de contrôler le pH notamment en saison estivale où le développement algal l'augmente. La MO, allochtone ou autochtone, engendre une surestimation de la concentration. Il est observé une surestimation croissante avec l'augmentation de la charge organique. Il n'est cependant pas observé de différence liée à ses caractéristiques hydrophobe et aromatique. Cette méthode développée et optimisée est alors utilisée tout au long de ce travail de thèse pour suivre les MCs produites par une culture de laboratoire de *M. aeruginosa*, la concentration en MCs dans les plans d'eau étudiés et pour évaluer l'efficacité d'élimination de ces composés par adsorption sur CAP.

Dans un deuxième temps, ce travail de thèse a confirmé la carte d'identité de la MOA, à savoir un caractère hydrophile très marqué et un faible caractère aromatique, ainsi que son évolution au cours du vieillissement de la culture sous une condition optimale de croissance, à savoir une augmentation de la fraction HPO et de l'aromaticité. Les expériences au laboratoire ont ensuite cherché à décrire les caractéristiques de cette MOA lorsque la culture est soumise à différentes conditions thermiques et pluviométriques. Les réponses des deux souches, l'algue verte *C. vulgaris* et la cyanobactérie *M. aeruginosa*, montrent des similarités et des différences. Les variations climatiques impactent à la fois le développement cellulaire et la production de MOA. La diminution de température est le principal facteur limitant : elle limite et retarde la croissance cellulaire ainsi que la production de MOA, davantage pour *M. aeruginosa*. Sous cette température, la MOA présente un caractère hydrophile significativement supérieur à celui de la MOA générée à 23°C . L'augmentation de température après une période à très faible température favorise la production de composés hydrophiles. Chez *C. vulgaris*, les apports par ruissellements et orages impactent négativement la culture en début de croissance ; les écarts entre les conditions diminuent ensuite au cours du vieillissement et la quantité de MOA produite est même supérieure sous la modalité orage. Les apports par pluviométrie impactent négativement la croissance de *M. aeruginosa*. A l'issue de la phase exponentielle, des variations sont observées selon la température et le type de pluie. Des expériences complémentaires doivent être réalisées pour confirmation de ces effets. La production de MCs et la concentration en MCs extracellulaires sont régulées par les conditions climatiques. Les variations par rapport à la condition optimale limitent la concentration totale mais favorisent la proportion des MCs libres dans la ressource en eau. Ces différences sur la composition et la qualité de l'eau doivent être prises en considération sur le long terme, et plus particulièrement si cette eau doit servir de ressource pour la production d'eau potable. Ces premiers résultats montrent un effet du climat sur la MOA générée par le phytoplancton. Pour compléter ces observations, des suivis terrain dans des plans d'eau localisés sur un axe Nord-Sud ont été réalisés.

Le suivi *in-situ* à Pigeard a observé une saisonnalité de la dynamique de la MON au sein du plan d'eau. Cette dynamique est très réactive aux variations du climat qui conditionnent les développements

phytoplanctoniques. Ceux-ci ont montré des conséquences qualitatives et quantitatives sur la MON. Sous l'effet des proliférations la concentration en COD augmente. La matière autochtone produite impacte plus spécifiquement la fraction HPO, qui diminue, et la fraction HPI qui augmente. Une perturbation climatique, telle qu'un orage ou une diminution de température, perturbe, à l'échelle de quelques jours, la concentration en MON du plan d'eau et ses caractéristiques. Outre l'apport en MO allochtone, le déclin des cellules et la libération de leurs composés intracellulaires impactent la MON. Ces proliférations estivales impactent la MON fraîche de l'année mais leurs conséquences sont durables. Un effet mémoire sur une échelle de 7 ans a été observé. La MON hivernale actuelle montre une charge organique et un caractère hydrophile supérieurs, conséquences des apports récurrents annuels en MOA. Il n'a pas été observé de rallongement de la période favorable aux développements, en revanche les concentrations cellulaires atteintes en saison estivale sont supérieures. Durant cette saison, la charge organique ainsi que le caractère hydrophile ont également augmenté. Les blooms annuels ont modifié le caractère aromatique intrinsèque des fractions de la MON. Le suivi de Pigeard a également mis en évidence, pour la 1^{ère} fois sur ce plan d'eau, la présence de cyanobactéries toxiques, puisque des MCs ont été quantifiées. Ces toxines sont principalement intracellulaires en saison estivale et se retrouvent libres dans la masse d'eau lors de la sénescence cellulaire, lorsque les conditions climatiques sont défavorables à leur survie.

Ces problématiques de développements phytoplanctoniques et de MON se retrouvent sous tous les climats. Au lac Vombsjön, en Suède, il a été mesuré une charge en MON importante sur les deux prélèvements. La MON présentait un caractère hydrophile marqué probablement lié aux températures plus faibles dans ce plan d'eau qu'en France. La charge organique de la rivière Kara, au Togo, est sous l'influence des pluies. La MON montre un caractère hydrophile très marqué malgré un développement algale faible. Ces caractéristiques sont alors sous le contrôle du climat ; avec une forte influence des développements du phytoplancton à Pigeard (probablement à Vombsjön aussi) et une forte influence des apports par ruissellement dans le cas de Kara. Il apparaît nécessaire de poursuivre et compléter ces suivis afin d'évaluer l'évolution annuelle et pluriannuelle des caractéristiques de la MON dans les milieux eutrophes.

Enfin, cette étude a également montré que le procédé d'adsorption sur CAP est fortement affecté par les modifications des caractéristiques de la MON induites par les proliférations phytoplanctoniques. Les performances du procédé sur une MON issue d'une ressource eutrophe sont diminuées à cause des composés hydrophiles très réfractaires. En effet, cette fraction, qu'elle soit seule ou en mélange, est très mal éliminée. L'adsorption sur CAP permet d'éliminer de l'eau une quantité de COD mais à l'inconvénient de modifier les caractéristiques de la matière réfractaire. Pour pallier les évolutions saisonnières de la MON, le traitement ou le type de CAP doivent être adaptés afin de maintenir des rendements identiques toute l'année. En revanche, une grande réactivité des MCs a été observée, malgré une diminution liée à la compétition avec la MO.

Ce travail a permis de répondre à de nombreuses questions sur les effets du climat sur la MOA et les impacts durables des proliférations récurrentes de cyanobactéries et d'algues sur la MON. Il a également mis en lumière la problématique de la MO aussi bien sur l'analyse des MCs que sur la qualité de la ressource en eau ou sur l'efficacité de traitement par CAP. Il a aussi effleuré la problématique de la MON dans les pays du Nord et du Sud, où le climat diffère. Les réponses apportées ont ouvert de nouvelles questions auxquelles des études complémentaires devront répondre.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Adewi, E., Badamelli, K.M.S., Dubreuil, V. (2010). Evolution des saisons des pluies potentiellement utiles au Togo de 1950 à 2000. *Climatologie*, 7.
- Aiken, G.R., McKnight, D.M., Thorn, K.A., Thurman, E.M. (1992). Isolation of hydrophilic organic acids from water using nonionic macroporous resins. *Org. Geochem.* 18, p. 567– 573.
- Anderson, D. M., Glibert, P. M., Burkholder, J. M. (2002). Harmful algal blooms and eutrophication: nutrient sources, composition and consequences. *Estuaries*, 25, p. 704-726.
- Andrade-Eiroa, A., Canle, M., Leroy-Cancellieri, V. and Cerdà, V. (2016). Solid-Phase Extraction of Organic Compounds: A Critical Review. Part II. *Trends in Analytical Chemistry* 80, p.655–67.
- Antoine, M., Marsaudon, M., Brizard, Y., (2009). Contribution au suivi et à l'analyse de cyanobactéries sur le bassin versant de la Glane.
- Aranda-Rodriguez, R., Kubwabo, C., Benoit, F. M. (2003). Extraction of 15 Microcystins and Nodularin Using Immunoaffinity Columns. *Toxicon* 42(6), p. 587–99.
- Arunbabu, E., S. Ravichandran, and P. Sreeja. (2014). Sedimentation and internal phosphorus load in Krishnagiri reservoir, India. *Lakes & Reservoirs: Research & Management* 19 (3), p. 161– 73.
- ARS Nouvelle-Aquitaine. (2017). Qualité des eaux de baignade en Haute-Vienne, saison touristique 2017.
- Aslan, S., & Kapdan, I. K. (2006). Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. *Ecological Engineering*, 28(1), p. 64–70.
- Assougnon, D.L., Agadjihouede, H., Kokou, K., Laleye, A.P. (2017). Caractérisation physico-chimique et diversité du peuplement phytoplanctonique des mares au sud de la réserve de faune de Togodo (sud-Togo). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(4), p. 1920-1936.
- Atanle, K., Bawa, L.M., Kokou, K., Djaneye-Boundjou, G, Edorh, M.T. (2013). Distribution saisonnière du phytoplancton en fonction des caractéristiques physico-chimiques du lac de Zowla (Lac Boko) dans le Sud- Est du Togo : cas de la petite saison sèche et de la grande saison sèche. *Journal of Applied Biosciences* 64, p. 4847 – 485.

B

- Baccot, C. (2016). Etude du potentiel de valorisation énergétique et matière de composés organiques extraits de lixiviats de déchets ménagers. Thèse de doctorat, Université de Limoges, France.
- Bajracharya, A., Liu, Y.L., Lenhart, J.J. (2018). The influence of natural organic matter on the adsorption of microcystin-LR by powdered activated carbon. *Environmental Science Water Research and Technology*.
- Barroin, G. (2007). Face à l'eutrophisation, seul le phosphore compte. *Perspectives agricoles*, 336.
- Bates, C., Kundzewicz, Z.W., Wu, s. and Palutikof, J.P. (2008). Climate Change and Water. technical Paper of the intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). Geneva, switzerland, IPCC secretariat.
- Beaufort, A. (2015). Température des cours d'eau : analyse des données et modélisation : application au bassin de la Loire. Université François-Rabelais de Tours, Laboratoire GéHCO – GéoHydrosystèmes Continentaux – EA 6293
- Beusen, A.W., Bouwman, A.F., Van Beek, L.P.H., Loggion, J.š., Middelburg, J.J. (2015). Global riverine N and P transport to ocean increased during the twentieth century despite increased retention along the aquatic continuum. *Biogeosciences Discuss.*, 12, p. 20123-20148.
- Bormans, M., B. Maršálek, and D. Jančula. (2016). Controlling internal phosphorus loading in lakes by physical methods to reduce cyanobacterial blooms: a review. *Aquatic Ecology* 50 (3), p.407– 22.
- Boumnick, I., Dauta, A., Devaux, J., Romagoux, J.C. (1990). Influence de la lumière et de la température sur la croissance de quatre espèces d'algues d'un lac eutrophe (lac d'Aydat, Puy de Dôme, France). *Annls Limnol*, 26, p. 3-10.

- Boyer, G.L., Gillam, A.H. et Trick, C. (1987). Ion chelation and uptake. In P. Fay and C. Van Baale [eds.], *The cyanobacteria*. Elsevier, p. 415-436.
- Brias, A., Mathias, J.D., Deffuant, G. (2018). Inter-annual rainfall variability may foster lake regime shifts: An example from Lake Bourget in France. *Ecological modelling* 389, p. 11-18.
- Briand, J.-F., Jacquet, S., Bernard, C., Humbert, J.-F. (2003). Health hazards for terrestrial vertebrates from toxic cyanobacteria in surface water ecosystems. *Vet. Res.* 34, 361 – 377.
- Broecker, W. S., and T. H. Peng. (1982). *Tracers in the sea*. Eldigio Press, New York, 1-690.

C

- Campinas, M. and Rosa, M.J. (2006). The ionic strength effect on microcystin and natural organic matter surrogate adsorption onto PAC. *Journal of Colloid and Interface Science*, 299, p.520-529.
- Campinas, M. and Rosa, M.J. (2010). Removal of microcystins by PAC/UF. *Sep Purif Technology*, 71, p. 114-120.
- Carey, C.C., Ibelings, B.W., Hoffmann, E.P., Hamilton, D.P., Brookes, J.D., (2012). Ecophysiological adaptations that favour freshwater cyanobacteria in a changing climate. *Water Res.* 46, p. 1394–1407.
- Carpenter, S., Chair, Caraco, N. F., Correll, D. L., Howarth, R. W., Sharpley, A., Smith, V. H. (1998). Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Issues in Ecology*, 3.
- Chen, J., Gu, B., Le Boeuf, E.J., Pan, H. Dai, S. (2002). Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions. *Chemosphere* 48(1), p. 59-68.
- Chapman, D. (1996). *Water Quality Assessments - A Guide to Use of Biota, Sediments and Water in Environmental Monitoring - Second Edition*. F & FN Spon, 651 p.
- Cheng, W.P. et Chi, F.-H. (2003). Influence of eutrophication on the coagulation efficiency in reservoir water. *Chemosphere* 53, p.773–778.
- Cheshire, M. V., Russel, J. D., Fraser, A. R., Bracewell, J. M., Robertson, G. W., Benzingpurdie, L. M., Ratcliffe, C. I., Pipmeester, J. A., Goodman, B. A. (1992). Nature of soil carbohydrate and its association with soil humic substances. *J. Soil Sci.* 43 (2), p. 359 – 373.
- Chin, Y.-P., Aiken, G., O’Loughlin, E. (1994). Molecular weight, polydispersity, and spectroscopic properties of aquatic humic substances. *Environ. Sci. Technol.* 28, p. 1853–1858.
- Chorus, I. (2012). *Current approaches to Cyanotoxin risk assessment, risk management and regulations in different countries*. Federal environment Agency, Germany.
- Chorus, I., et Bartram, J. (1999). *Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management Determination of Organic Compounds in Natural and Treated Waters*. Taylor and Francis.
- Chow, A.T., Guo, F., Gao, S. , Breuer, R.S. (2006). Size and XAD fractionations of trihalomethane precursors from soils. *Chemosphere* 62, p. 1636–1646.
- Chow, C.W.K, Drikas, M., House, J., Burch, M.D., Velzeboer, M.A. (1999). The impact of conventional water treatment processes on cells of the cyanobacterium *Mircocystis aeruginosa*. *Wat. Res.*, 33, p. 3253-3262.
- Chow, C.W.K., House, J., Velzeboer, R.M.A., Drikas, M., Burch, M.D., Steffensen, D.A., (1998). The effect of ferric chloride flocculation on cyanobacterial cells. *Water Res.* 32, p. 808–814.
- Chow, C.W.K., Panglish, S., House, J., Drikas, M., Burch, M.D., Gimbel, R. (1997). A study of membrane filtration for the removal of cyanobacterial cells. *Journal of Water Supply: Research and Technology - AQUA*, 46(6), p. 324-334.
- Clark, J.M., Bottrell, S.H., Evans, C.D., Monteith, D.T., Bartlett, R., Rose, R., Newton, R.J., Chapman, P.J. (2010). The importance of the relationship between scale and process in understanding long-term DOC dynamics. *Science of the Total Environment*, 408, p. 2768-2775.
- Clement-Larosi, B. (2012). Etude de la croissance de *Chlorella vulgaris* en photobioréacteur batch et continu, en

présence de concentration élevées de CO₂. Thèse de doctorat, Ecole Centrale Paris, France.

- Cong, L., Huang, B., Chen, Q., Lu, B., Zhang, J., & Ren, Y. (2006). Determination of trace amount of microcystins in water samples using liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 569(1–2), p. 157–168.
- Codd, G. A., Morrison, L. F., and Metcalf, J. S. (2005). Cyanobacterial Toxins: Risk Management for Health Protection. *Toxicology and Applied Pharmacology* 203(3 SPEC. ISS.), p. 264–72.
- Cook, D., Newcombe, G., Sztajn bok, P. (2001). The application of powdered activated carbon for MIB and geosmin removal: predicting PAC doses in four raw waters. *Wat. Res.*, 35(5), p. 1325-1333.
- Cook, D. and Newcombe, G. (2002 a). Effect of natural organic matter concentration and character on the adsorption of microcystin analogues onto PAC. American Water Works Association-Water Quality Technology Science and Technology Conference. Seattle, Washington, USA.
- Cook, D. and Newcombe, G. (2002 b). Removal of microcystin variants with powdered activated carbon. *Water Science and Technology: Water Supply*, 2(5-6), p. 201-207.
- Cook, D. and Newcombe, G. (2008). Comparison and modeling of the adsorption of two microcystin analogues onto powdered activated carbon. *Environmental Technology*, 29(5), p. 525-534.
- Coudert, L., Rolland, D., Blais, J.-F., Laurion, I., Mercier, G. (2014). État De L'Art En Matière D'Analyse Des Cyanobactéries Et Des Cyanotoxines. Québec.
- Cracraft, J. and Donoghue, M.J. (2004). Assembling the Tree of Life: Where We Stand at the Beginning of the 21st Century: 553-561.
- Croué, J. P. (2004). Isolation of humic and non-humic NOM fractions: Structural characterizations. *Environmental Monitoring and Assessment*, 92(1–3), p. 193–207.
- Croué, J.-P., Martin, B., Deguin, A., Legube, B (1993). Isolation and characterization of dissolved hydrophobic and hydrophilic organic substances of a water reservoir. Presented at the Proceedings of Workshop on NOM in Drinking Water, Chamonix France, p. 43–51.

D

- Davis, T.W., Berry, D/L., Boyer, G.L., Gobler, C.J. (2009). The Effects of Temperature and Nutrients on the Growth and Dynamics of Toxic and Non-Toxic Strains of Microcystis during Cyanobacteria Blooms. *Harmful algae*, 8, p. 715-725.
- Deblois, C.P. et Juneau, P., (2010). Relationship between photosynthetic processes and microcystin in *Microcystis aeruginosa* grown under different photon irradiances. *Harmful Algae* 9, p. 18–24
- Devasurendra, A. M., Palagama, D. S. W., Rohanifar A., Isailovic D., Kirchhoff J. R., Anderson J. (2018). Solid-Phase Extraction, Quantification, and Selective Determination of Microcystins in Water with a Gold-Polypyrrole Nanocomposite Sorbent Material. *Journal of Chromatography A* 1560, p. 1–9.
- DGAL, SDSSA. (2018). Instruction technique: Cyanobactéries en eau douce.
- Delpla, I. (2011). Facteurs climatiques et dégradation de la qualité physico-chimique des eaux de surface destinées à la consommation humaine en zone agricole. Thèse de doctorat, Université de Rennes 1, France.
- Diaz, R. J., Nestlerode, J., Diaz, M. L. (2004). A global perspective on the effects of eutrophication and hypoxia on aquatic biota. In G. L. Rupp and M. D. White, eds. Proceedings of the 7th International Symposium on Fish Physiology, Toxicology, and Water Quality, Tallinn, Estonia, May 12-15, 2003. Athens, Georgia: U.S. Environmental Protection Agency, Ecosystems Research Division (EPA 600/R-04/049)
- Dignac, M.F. (1998). Caractérisation chimique de la matière organique au cours du traitement des eaux usées par boues activées. Centre International de recherche sur l'eau et l'environnement, thèse de doctorat, Université de Paris VI, 303 p.
- Dittmann E, Neilan BA, Erhard M, von Döhren H, Börner T. (1997). Insertional mutagenesis of a peptide synthetase gene that is responsible for hepatotoxin production in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* PCC 7806. *Mol Microbiol*; 26, p. 779–787.

- Dittmann E. and Wiegand C. (2006) Cyanobacterial toxins— occurrence, biosynthesis and impact on human affairs. *Mol Nutr Food Res*, 50, p. 7– 17
- Donald, D.B., B.R. Parker, J.M. Davies, and P.R. Leavitt. (2015). Nutrient sequestration in the lake Winnipeg watershed. *Journal of Great Lakes Research* 41 (2), p.630–42.
- Donati C, Drikas M, Hayes R, Newcombe G. (1994). Microcystin-LR adsorption by powdered activated carbon. *Water Res*, 28, p. 1735–42.
- Drikas, M., Chow, C.W.K., House, J., Burch, M.D. (2001). Using coagulation, and settling to remove toxic cyanobacteria. *J. Am. Water Works Assoc.* 93, p. 100–111.
- Dubinsky, Z. et Stambler, N., (2009). Photoacclimation processes in phytoplankton: mechanisms, consequences, and applications, in: Aquatic Microbial Ecology. Presented at the International Workshop of the Group for Aquatic Primary Productivity (GAP), *Inter-Research*, p. 163–176.
- Dumoutier, N., Baudin, I., Anselme, C., Manem, J. (2005). Elimination de la matière organique biodégradable par ultrafiltration. *Revue des sciences de l'eau*, 5, p. 177-188.
- Durand-Dastès, F. (2005) A propos de la géographie de l'eau : temporalités et échelles spatiales. *L'Information géographique*, Armand Colin, 69, pp.69-84.

E

- Eau France (2015). L'état des eaux de surface et des eaux souterraines. Les synthèses, 12.
- Edzwald, J.K. (1993). Coagulation in drinking water treatment: Particles, organics and coagulants. *Water Sci. Technol.* 27, p. 21–35.
- EEA (European Environment Agency). (2012). European waters - assessment of status and pressures. EEA report No 8/2012.
- Ekholm, P. (2008). N:P ratios estimating nutrient limitation in aquatic ecosystems. *Finnish Environment Institute*.
- Esteves, V.I. et Duarte, A.C. (1999). Thermogravimetric properties of aquatic humic substances. *Mar. Chem.* 63, p. 225–233.
- Evans, C.D., Monteith, D.T., Cooper, D.M. (2005). Long-term increases in surface water dissolved organic carbon: Observations, possible causes and environmental impacts. *Environmental pollution*, 137, p. 55-71.

F

- Falconer, I. R. (1999). An Overview of Problems Caused by Toxic Blue – Green Algae Cyanobacteria in Drinking and Recreational Water. *Environmental Toxicology* 14, p. 5-12.
- Falconer, I.R., Runnegar, M.T.C., Buckley, T., Huyn, Y.L., Bradshaw, P. (1989). Using activated carbon to remove toxicity from drinking water containing cyanobacterial blooms. *Journal of the American Water Works Association* 81, p. 102-105.
- Fang, J., Yang, X., Ma, J., Shang, C., Zhao, Q. (2010). Characterization of algal organic matter and formation of DBPs from chlor(am)ination. *Water Res.* 44, p. 5897–5906.
- FAO (2006). Base de données AQUASTAT. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Farnworth, J.J. (1995). Comparisons of the sorption from solution of a humic acid by Supelite DAX-8 and by XAD-8 resins. *IHSS Newsl.* 13, p. 8-9.
- Fastner, J., Cood, G. A., Metcalf, J.S., Woitke, P. Wiedner, C. & Utkilen, H. (2002). An international intercomparison exercise for the determination of purified microcystin-LR and microcystins in cyanobacterial field material. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 374, p. 437–444.
- Fawell, J.K., Hart, J., James, H.A. and Parr, W. (1993). Blue-green algae and their toxins- analysis, toxicity, treatment and environmental control. *Water Supply*, 11(3/4), p. 109-121.
- Fearing, D.A., Goslan, E.H., Banks, J., Wilson, D., Hillis, P., Campbell, A.T., Parsons, S.A. (2004). Staged

coagulation for treatment of refractory organics. *J. Environ. Eng.* 130, p. 975–982.

Ferber, L.R., Levine, S.N., Lini, A., Livingston, G.P. (2004). Do cyanobacteria dominate in eutrophic lake because they fix atmospheric nitrogen? *Freshwater Biology* 49, p. 690-708.

Filella, M. et Rodriguez-Murillo, J.C. (2014). Long-term Trends of Organic Carbon Concentrations in Freshwaters: Strengths and Weaknesses of Existing Evidence. *Water*, 6, p. 1360-1418.

Fölster, J., Johnson, R.K., Futter, M.N., Wilander, A. (2014). The Swedish monitoring of surface waters: 50 years of adaptive monitoring. *AMBIO*, 43, p. 3- 18.

Francis, G. (1878). Poisonous Australian Lake. *Nature*

Froelich, P. N., M. L. Bender, N. A. Luedtke, G. R. Heath, and T. DeVries. (1982). The marine phosphorus cycle. *American Journal of Science* 282 (4), p.474–511.

G

Garon-Lardiere, S., (2004). Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales). Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale.

Gead, P., Pereira, R. N., Vasconcelos, V., Vicente, A. A., & Fernandes, B. D. (2017). Assessment of synergistic interactions between environmental factors on *Microcystis aeruginosa* growth and microcystin production. *Algal Research*, 27, p. 235–243

Gehring, M.M and Wannicke, N. (2014). Climate change and regulation of hepatotoxin production in Cyanobacteria. *FEMS Microbial Ecol*, 88, p. 1-25.

GIEC. (2013). Résumé à l'intention des décideurs, Changements climatiques 2013 : les éléments scientifiques. Contribution du Groupe de travail I au cinquième Rapport d'évaluation du Groupes d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat [sous la direction de Stocker, T.F., D. Qin, G.-K. Plattner, Q.K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex et P.M. Midgley]. Cambridge University Press, Cambridge, Royaume-Uni et New York (Etat de New York), Etats-Unis d'Amérique.

Golterman, H.L. (2004). The Chemistry of Phosphate and Nitrogen Compounds in Sediments. Kluwer Academic Publishers.

Gosse, P. et Hendricks, F. (2009). Changement climatique: constat et prévision d'évolution des températures des rivières. EDF R&D - LNHE

Graham, J.L., Loftin, K.A., Meyer, M.T., Ziegler, A.C. (2010). Cyanotoxin mixtures and taste -and -odor compounds in cyanobacterial blooms from the midwestern united states. *Environ. Sci. Technol.* 44, p. 7361–7368.

Graham, D., Kish, H., Lawton, L.A., Roberston, P.K. (2010). The degradation of microcystin-LR using doped visible light absorbing photocatalysts. *Chemosphere*, 78, p. 1182-1185.

Gray, S.R., Ritchie, C.B., Tran, T., Bolto, B.A. (2007). Effect of NOM characteristics and membrane type on microfiltration performance. *Water Research*, 41, p. 3833-3841.

Griffin, C.G., Finlay, J.C., Brezonik, P.L., Olmanson, L., Hozalski, R.M. (2018). Limitation as using CDOM as a proxy for DOC in temperate lakes. *Water research*, 144, p. 719-727.

Guiry, M.D., 2012. How Many Species of Algae Are There? *J. Phycol.* 48, 1057–1063.

H

Hadjoudja, S., Vignoles, C., Deluchat, V., Lenain, J.-F. O., Le Jeune, A.-H., & Baudu, M. (2009). Short term copper toxicity on *Microcystis aeruginosa* and *Chlorella vulgaris* using flow cytometry. *Aquatic Toxicology*, 94, p. 255–264.

Harke, M.J., Steffen, M.M., Gobler, C.J., Otten, T.G., Wilhelm, S.W., Wood, S.A., Paerl, H.W. (2016). A review of the global ecology, genomics, and biogeography of the toxic cyanobacterium, *Microcystis* spp. *Harmful Algae*, 54, p. 4-20.

Health Canada. (2016). Les toxines cyanobactériennes dans l'eau potable: document de consultation publique.

- He, X., Pelaez, M., Westrick, J.A., O'Shea, K.E., Hiskia, A., Triantis, T., Kaloudis, T., Stefan, M.I., De la Cruz, A.A., Dionysiou, D.D. (2012). Efficient removal of microcystin-LR by UV-C/H₂O₂ in synthetic and natural water samples. *Water Research*, 46, p. 1501-1510.
- Hedger, R.D., Olsen, N.R.B., George, D.G., Malthus, T.J., Atkinson, P.M. (2004). Modelling spatial distribution of *Ceratium hirundinella* and *Microcystis* in a small productive British lake. *Hydrobiologia*, 528, p. 217-227.
- Henderson, R.K., Baker, A., Parsons, S.A., Jefferson, B. (2008). Characterisation of algal organic matter extracted from cyanobacteria, green algae and diatoms. *Water Res.* 42, p. 3435-3445.
- Henderson, R.K., Parsons, S.A., Jefferson, B. (2010). The impact of differing cell and algal organic matter (AOM) characteristics on the coagulation and flotation of algae. *Water Res.* 44, p. 3617-3624.
- Her, N., Amy, G., Park, H.-R., Song, M. (2004). Characterizing algal organic matter (AOM) and evaluating associated NF membrane fouling. *Water Res.* 38, p. 1427-1438.
- Himberg K, Keijola AM, Hiisvirta L, Pyysalo H, Sivonen K. (1989). The effect of water treatment processes on the removal of hepatotoxins from *Microcystis* and *Oscillatoria* cyanobacteria: a laboratory study. *Water Res*, 23, p. 979-84.
- Hiradate, S., Nakadai, T., Shindo, H., Yoneyama, T. (2004). Carbon source of humic substances in some Japanese volcanic ash soils determined by carbon stable isotopic ratio, $\delta^{13}C$. *Geoderma* 119, p. 133-141
- Hnatukova, P., Kopecka, I., Pivokonsky, M. (2011). Adsorption of cellular peptides of *Microcystis aeruginosa* and two herbicides onto activated carbon: Effect of surface charge and interactions. *Water Research*, 45, p. 3359-3368.
- Ho, L., Onstad, G., Von Gunter, U., Rinck-Pfeiffer, S., Craig, K., Newcombe, G. (2006). Differences in the chlorine reactivity of four microcystin analogues. *Water Research*, 40(6), p. 1200-1209.
- Ho L., Lambling P, Bustamante H, Duker P, Newcombe G. (2011). Application of powdered activated carbon for the adsorption of cylindrospermopsin and microcystin toxins from drinking water supplies. *Water Res*, 45, p. 2954-64.
- Hoeger S.J., Hitzfeld, B.C., Diestrich, D.R. (2005). Occurrence and elimination of cyanobacterial toxins in drinking water treatment plants. *Toxicol. Appl. Pharm.*, 203, p. 31-242.
- Honti, M.; Istvánovics, V.; Osztoics, A. (2007) Stability and change of phytoplankton communities in a highly dynamic environment ? the case of large, shallow Lake Balaton (Hungary). *Hydrobiologia*, 581, p. 225-240.
- Huang, W.J., Cheng, B.L., Cheng, Y.L. (2007). Adsorption of microcystin-LR by three types of activated carbon. *Journal of Hazardous Materials*, 141, p. 115-122.
- Huisman, F., Sharples, J., Stroom, J.M., Visser, P.M., Kardinaal, W.E.A., Verspagen, J.M.H., Sommeijer, B. (2004). Changes in turbulent mixing shift competition for light between phytoplankton species. *Ecology*, 85 (11), p. 2960-2970.

I

- Imai, A., Fukushima, T., Matsushige, K., Hwan Kim, Y., (2001). Fractionation and characterization of dissolved organic matter in a shallow eutrophic lake, its inflowing rivers, and other organic matter sources. *Water Res.* 35, p. 4019-4028.
- ISO 20179 2005. (2005). Water Quality – Determination of Microcystins – Method Using Solid Phase Extraction (SPE) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with Ultraviolet (UV) Detection.
- Issifou, L., Atanlé, K., Radji, R., Lawson, H.L., Adjonou, K., Edorh, M.T., Kokutse, A.D., Mensah, A.A., Kokou, K. (2014). Checklist of tropical algae of Togo in the Guinean Gulf of West-Africa. *Academic Journals*, 9(22), p. 932-958.

J

- Jacquín, C., Teychene, B., Lemee, L., Lesage, G., Heran, M. (2018). Characteristics and fouling behaviors of Dissolved Organic Matter fractions in a full-scale submerged membrane bioreactor for municipal wastewater treatment. *Biochemical Engineering Journal*, 132, p. 169-181.

- Jensen, H.S., and F.O. Andersen. (1992). Importance of temperature, nitrate, and pH for phosphate release from aerobic sediments of four shallow, eutrophic lakes. *Limnology & Oceanography* 37 (3), p.577–89.
- Jöhnk, K.D., Huisman, J., Sharples, J., Sommeijer, B., Visser, P.M., Stroom, J.M. (2008). Summer heatwaves promote blooms of harmful cyanobacteria. *Global change biology*, 14, P; 495-512.
- Jourafphy, A., Amir, S., Winterton, P., El Gharous, M., Revel, J.-C., Hafidi, M. (2008). Structural study of the fulvic fraction during composting of activated sludge-plant matter: Elemental analysis, FTIR and ¹³C NMR. *Bioresour. Technol.* 99, p. 1066–1072.

K

- Kaebernick, M. and Neilan, B. (2001). Ecological et molecular investigations of cyanotoxin production. *FEMS Microbiology Ecology*, 35, p. 1-9.
- Kardinaal, W.E.A., Janse, I., Kamst-van Agterveld, M., Meima, M., Snoek, J., Mur, L.R., Huisman, J., Zwart, G., Visser, P.M. (2007). Microcystis genotype succession in relation to microcystin concentrations in freshwater laeilankes. *Aquatic microbial ecology*, 48(1)n, p. 1-12.
- Kaloudis, T., Zervou, S. K., Tsimeli, K., Triantis, T. M., Fotiou, T., Hiskia, A. (2013). Determination of Microcystins and Nodularin (Cyanobacterial Toxins) in Water by LC-MS/MS. Monitoring of Lake Marathonas, a Water Reservoir of Athens, Greece. *Journal of Hazardous Materials* 263, p. 105–115.
- Khan, M.H., Ha, D.H., Jung, J. (2013). Optimizing the industrial wastewater pretreatment by activated carbon and coagulation: Effects of hydrophobicity/hydrophilicity and molecular weights of dissolved organics? *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 48(5), p 534-542.
- Kim, J., Lingaraju, B.P., Rheume, R., Lee, J.-Y., Siddiqui, K.F. (2010). Removal of ammonia from wastewater effluent by *Chlorella vulgaris*. *Tsinghua Sci. Technol.* 15, p. 391-396.
- Kolmakov, V. I. (2006). Methods for prevention of mass development of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* Kutz emend. *Elenk. in aquatic ecosystems. Mikrobiologiya*, 75(2), p. 149–153.
- Kosten S., Huszar V.L.M., Be´cares E., Costa L.S., Van Donk E. & Hansson L.-A. et al. (2012) Warmer climates boost cyanobacterial dominance in shallow lakes. *Global Change Biology* 18, p. 118–126.
- Kotai J (1972) Instructions for preparation of modified nutrient solution Z8 for algae. Norwegian Institute for Water Research, publication B-11/69. Blindern, Oslo, 5 pp.
- Kumar, M. S., Miao, Z. H., & Wyatt, S. K. (2010). Influence of nutrient loads, feeding frequency and inoculum source on growth of *Chlorella vulgaris* in digested piggery effluent culture medium. *Bioresource Technology*, 101(15), 6012–6018.

L

- Labanowski, J., 2004. Matière organique naturelle et anthropique : vers une meilleure compréhension de sa réactivité et de sa caractérisation. Thèse de doctorat, Université de Limoges.
- Labanowski, J., & Feuillade, G. (2009). Combination of biodegradable organic matter quantification and XAD-fractionation as effective working parameter for the study of biodegradability in environmental and anthropic samples. *Chemosphere*, 74(4), 605–611.
- Labanowski, J., & Feuillade, G. (2011). Dissolved organic matter: Precautions for the study of hydrophilic substances using XAD resins. *Water Research*, 45(1), p. 315–327.
- Lacoste Y. (2003). L'eau dans le monde, les batailles pour la vie . Larousse, 128 p.
- Lagier, T., Feuillade, G., Matejka, G. (2000). Interactions between copper and organic macromolecules: Determination of conditional complexation constants. *Agronomie* 20, p. 537–546.
- Lambert, T.W., Holmes, C.F.B., Hrudey, S.E. (1996). Adsorption of Microcystin-LR by activated carbon and removal in full scale water treatment. *Wat. Res*, 30(6), p. 1411-1422.

- Lawton, L.A. and Roberston, P.K.J. (1999). Physico-chemical treatment methods for the removal of microcystins (cyanobacterial hepatotoxins) from potable waters. *Chemical Society Reviews*, 4.
- Lawton, L.A., Robertson, P.K.J., Cornish, J.P.A., Jaspars, M. (1999). Detoxification of Microcystins (Cyanobacterial Hepatotoxins) Using TiO₂ Photocatalytic Oxidation. *Environ. Sci. Technol.*
- Leenheer, J.A. (1981). Comprehensive approach to preparative isolation and fractionation of dissolved organic carbon from natural waters and wastewaters. *Environ. Sci. Technol.* 15, 578-587.
- Leenheer, J.A. et Croué, J.-P., (2003). Characterizing aquatic dissolved organic matter. *Environ. Sci. Technol.*, 37.
- Leloup, M. (2013). Evaluation de l'impact des blooms algaux et d'efflorescences bactériennes sur les caractéristiques de la matière organique des eaux naturelles. Thèse de doctorat, Université de Limoges, France.
- Leloup, M., Nicolau, R., Pallier, V., Yéprémian, C., Feuillade-Cathalifaud, G. (2013). Organic matter produced by algae and cyanobacteria : quantitative and qualitative characterization. *Journal of environmental sciences*, 25 (6), p. 1089-1097.
- Leitão, M. et Couté, A. (2005). Guide pratique des cyanobactéries planctoniques du Grand Ouest de la France. Manuel pour les prélèvements et la reconnaissance à l'usage des gestionnaires des eaux de surface: caractéristiques, échantillonnage, identification. Agence de l'eau Seine-Normandie. ISBN 2-9523536-0-3
- Levi, Y. , Harvey M., and Cervantès, P. (2006). Risques sanitaires liés à La Présence de Cyanobactéries dans l'eau. AFSSA-AFSSET
- Li, L., Gao, N., Deng, Y., Yao, J., Zhang, K. (2012). Characterization of intracellular & extracellular algae organic matters (AOM) of *Microcystis aeruginosa* and formation of AOM-associated disinfection byproducts and odor & taste compounds. *Water Res.* 46, p. 1233–1240.
- Li, K., Qu, F., Liang, H., Shao, S., Han, Z.S., Chang, H., Du, X., Li, G. (2014). Performance of mesoporous adsorbent resin and powdered activated carbon in mitigating ultrafiltration membrane fouling caused by algal extracellular organic matter. *Desalination*, 336, p. 129-137.
- Li, J., Parkefelt, L., Persson, K.M., Pekar, H. (2017). Improving cyanobacteria and cyanotoxin monitoring in surface waters for drinking water supply. *Journal of Water Security*, 3.
- Liu, X., Lu, X., Chen, Y. (2011). The effects of temperature and nutrient ratios on *Microcystis* blooms in Lake Taihu, China: An 11-year investigation. *Harmful Algae* 10, p. 337-343.
- Lu, X., Lu, Y., Chen, D., Su, C., Song, S., Wang, T., Tian, H., Liang, R., Zhang, M., Khan, K. (2019). Climate change induced eutrophication of cold-water lake in an ecologically fragile nature reserve. *Journal of environmental sciences*, 75, p. 359-369.
- Lukac, M., Aegerter, R., (1993). Influence of trace metals on growth and toxin production of *Microcystis aeruginosa*. *Toxicon* 31, 293–305.
- Lürling, M., Eshetu, F., Faassen, E.J., Kosten, S. & Huszar, V.L.M. (2013). Comparison of cyanobacterial and green algal growth rates at different temperatures. *Freshwater Biology*, 58(3), p.552- 559

M

- Mahmoud, G. S., Hassan, T. H., Othman, R., & Messikh, A. (2016). Simulation of absorption spectrum of photosynthetic pigments of *Chlorella vulgaris* B algae. *Malaysian Journal of Mathematical Sciences*, 10, p. 123–130.
- Malcolm, R.L., & MacCarthy, P. (1992). Quantitative evaluation of XAD-8 and XAD-4 resins used in tandem for removing organic solutes from water. *Environ. Int.* 18, p. 597–607
- Marsily G. de, sous la dir. (2006), Académie des Sciences. Les eaux continentales . Rapport sur la Science et la Technologie n° 25. Paris : EDP sciences. 328 p.
- Maurel A. (2006). Dessalement de l'eau de mer et des eaux saumâtres et autres procédés non conventionnels d'approvisionnement en eau douce. 2ème édition. Paris : TEC & DOC. 286 p.
- Maurice, P.A., Pullin, M.J., Cabaniss, S.E., Zhou, Q., Namjesnik-Dejanovic, K., Aiken, G.R. (2002). A comparison

- of surface water natural organic matter in raw filtered water samples, XAD, and reverse osmosis isolates. *Water Res.* 36, p. 2357–2371.
- McDonald, S., Bishop, A. G., Prenzler, P. D., Robards, K. (2004). Analytical chemistry of freshwater humic substances. *Anal. Chim. Acta* 527, p. 105-124
- McKnight, D.M., Boyer, E.W., Westerhoff, P.K., Doran, P.T., Kulbe, T., Andersen, D.T. (2001). Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity. *Limnol. Ocean.* 46, p.38–48.
- Mercier, F., Moulin, V., Guittet, M.J., Barré, N., Gautier-Soyer, M., Trocellier, P., Toulhoat, P. (2002). Applications of new surface analysis techniques (NMA and XPS) to humic substances. *Org. Geochem.* 33, p. 247–255.
- Merel, S., Walker, D., Chicana, R., Snyder, S., Baurès, E., & Thomas, O. (2013 a). State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins. *Environment International* 59, 303–327.
- Merel, S., Villarín, M., Chung, K., Snyder, S. (2013 b). Spatial and thematic distribution of research on cyanotoxins. *Toxicon* 76, 118-131
- Meriluoto, J. et Spoof, L. (2005). Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis. Åbo :Åbo Akademi University Press, Acta Academiae Aboensis. Ser. B, *Mathematica etphysica*, ISSN 0001-5105 ; vol.65, no.1
- Meriluoto, J. et Spoof, L. (2008). Cyanotoxins: sampling, sample processing and toxin uptake, in: H.K. Hudnell (Ed.), *Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of the Science and Research Needs*, Springer New York, New York, NY, p. 483–499
- Metcalf, J.S. and Codd, G.A. (2000). Microwave oven and boiling waterbath extraction of hepatotoxins from cyanobacterial cells. *FEMS Microbiology letters*, 184, p. 241-246.
- Monteith D.T., Stoddard J.L., Evans C.D., de Wit H. A., Forsius M., Høgåsen T., Wilander A., Skjelkvåle B.L., Jeffries D.S., Vuorenmaa J., Keller B., Kopáček J., Vesely J. (2007). Dissolved organic carbon trends resulting from changes in atmospheric deposition chemistry. *Nature*, 450, p. 537-541
- Montginoul M. « La consommation d'eau en France : historique, tendances contemporaines, déterminants », *Sciences Eaux & Territoires* 2013/1 (Numéro 10), p. 68-73.
- Moisselin, J.M. et Dubuisson, B. (2006). Evolution des valeurs extrêmes de température et de précipitations au cours du XX^{ème} siècle en France. *La météorologie*, 54.
- Monteil-Rivera, F., Brouwer, E.B., Masset, S., Deslandes, Y., Dumonceau, J. (2000). Combination of X-ray photoelectron and solid-state ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy in the structural characterisation of humic acids. *Anal. Chim. Acta* 424, p. 243–255.
- Mooij, W.M., Hülsmann, S., De Senerpont Domis, L.N., Nolet, B.A., Bodelier, P.L.E., Boers, P.C.M., Miguel Dionisio Pires, L., Gons, H.J., Ibelings, B.W., Noodhuis, R., Portielje, R., Wolfstein, K., Lammens, E.H.R.R. (2005). The impact of climate change on lakes in the Netherlands: a review. *Aquatic Ecology*, 39, p. 281-400.
- Morel, J. (2007) Les ressources en eau sur Terre: origine, utilisation et perspectives dans le contexte du changement climatique – un tour d’horizon de la littérature. *Cahier de recherche LEPII*; 2/2007.
- Morris D.P . & Lewis W.M., Jr. (1988) Phytoplankton nutrient limitation in Colorado mountain lakes. *Fresh-water Biology*, 19, 315–327
- Mugo, S.M. et Bottaro, C.S. (2004). Characterization of humic substances by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 18, p. 2375–2382.
- Mur, L.R., Skulberg, M.O., Utkilen, H. (1999). Cyanobacteria in the environment. In: Chorus, I. and Bartram, J., editors. *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management*. London, UK: E & FN Spon, p. 15-40.
- N**
- Navalon, S., Alvaro, M., Alcaina, I., Garcia, H. (2010). Multi-method characterization of DOM from the Turia river (Spain). *Appl. Geochem.* 25, p. 1632–1643.

- Newcombe G, Cook D, Brooke S, Ho L, Slyman N. (2003). Treatment options for microcystin toxins: similarities and differences between variants. *Environ Technol*, 24, p. 299–308.
- Newcombe G et Nicholson B. (2004). Water treatment options for dissolved cyanotoxins. *J Water Supply Res Technol-AQUA*, 53, p. 227–39.
- Nguyen, M.-L., Westerhoff, P., Baker, L., Hu, Q., Esparza-Soto, M., Sommerfeld, M. (2005). Characteristics and Reactivity of Algae-Produced Dissolved Organic Carbon. *J. Environ. Eng.* 131, p. 1574–1582.
- Nguyen, N.Q. (2015). Reactivity of algal organic matter in water treatment processes: application to the combination of coagulation/flocculation and adsorption on PAC. Comparison to the reactivity of natural organic matter. Master thesis, Université de Limoges, France.
- Nicholson, B.C. and Burch, M.D. (2001). Evaluation of Analytical Methods for Detection and Quantification of Cyanotoxins in Relation to Australian Drinking Water Guidelines. National Health and Medical Research Council of Australia
- Nikolai, Stephen J., and Andrew R. Dzialowski. (2014). Effects of internal phosphorus loading on nutrient limitation in a eutrophic reservoir. *Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters* 49, p.33–41.
- North, R., J. Johansson, D. Vandergucht, L. Doig, K. Liber, K. Lindenschmidt, H. Baulch, and J. Hudson. (2015). Evidence for internal phosphorus loading in a large prairie reservoir (Lake Diefenbaker, Saskatchewan). *Journal of Great Lakes Research* 41 (Suppl. 2), p. 91–99

O

- Oberhaus, L., Briand, J.F., Leboulanger, C., Jacquet, S., Humbert, J.F., (2007). Comparative effects of the quality and quantity of light and temperature on the growth of *Planktothrix agardhii* and *P. rubescens*. *J. Phycol.* 43, p. 1191–1199.
- Oh, Y. H., Lee, Y.-W., Kim, T.-H. (2018) In situ production of dissolved organic carbon (DOC) by phytoplankton blooms (*Cochlodinium polykrikoides*) in the southern sea of Korea. *Journal of sea research*, 138, p. 19-23.
- Oliver, R.L. et Ganf, G.G. (2000). Freshwater blooms, p. 149-194, dans B.A. Whitton et M. Potts (éd.), *The Ecology of Cyanobacteria: their diversity in time and space*, Dordrecht, Kluwer Academic Publishers.
- ONEMA. (2011). La température des cours d'eau sous haute surveillance. Les fiches de l'ONEMA.
- ONEMA. (2016). L'eau et les milieux aquatiques: chiffres clefs. Service de l'observation et des statistiques.

P

- Paerl, H.W. and Huisman J. (2008). Blooms like it hot. *Science*, 320, p. 57–58.
- Paerl, H.W. and Huisman, J., (2009). Climate change: A catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. *Environ. Microbiol. Reports* 1, p. 27–37.
- Paerl, H. W., Xu, H., McCarthy, M. J., Zhu, G., Qin, B., Li, Y., & Gardner, W. S. (2011). Controlling harmful cyanobacterial blooms in a hyper-eutrophic lake (Lake Taihu, China): The need for a dual nutrient (N & P) management strategy. *Water Research*, 45(5), 1973–1983.
- Palagama D.S.W., West, R.E., Isailovic, D. (2017). Improved solid-phase extraction protocol and sensitive quantification of six microcystins in water using an HPLC-orbitrap mass spectrometry system. *Anal. Methods* 9, p. 2021–2030.
- Parlanti, E., Morin, B., Vacher, L. (2002). Combined 3D-spectrofluorometry, high performance liquid chromatography and capillary electrophoresis for the characterization of dissolved organic matter in natural waters. *Org. Geochem.* 33, p. 221–236.
- Patrick R. (1971). The effect of increasing light and temperature on structure of diatom communities. *Limnology and Oceanography*, 16.
- Peeters, F., Straile, D., Lorke, A., Livingstone, D.M. (2007). Earlier onset of the spring phytoplankton bloom in lakes of the temperate zone in a warmer climate. *Global change biology*, 13, p. 1898-1909.

- Pernet-Coudrier, B. (2008). Influence de la matière organique dissoute sur la spéciation et la biodisponibilité des métaux : cas de la Seine, un milieu sous forte pression urbaine, 292p.
- PetitJean, P., Henin, O., Gruau, G. (2004). Dosage du carbone organique dissous dans les eaux douces naturelles: Intérêt, principe, Mise en œuvre et précautions opératoires. Cahiers techniques de Géosciences Rennes.
- Peuravuori, Ingman, P., Pihlaja, K., Koivikko, R. (2001). Comparisons of sorption of aquatic humic matter by DAX-8 and XAD-8 resins from solid-state ^{13}C NMR spectroscopy's point of view. *Talanta*, 55, p. 733-742.
- Peuravuori, J., Lehtonen, T., 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, p. 219–226
- Peuravuori J., Monteiro A., Eglite L., Pihlaja K. (2005). Comparative study for separation of aquatic humic-type organic constituents by DAX-8, PVP and DEAE sorbing solids and tangential ultrafiltration: elemental composition, size-exclusion chromatography, UV-vis and FT-IR. *Talanta* 65 (2), p. 408-422
- Pinay, G., Gascuel, C., Ménesguen, A., Souchon, Y. (2017). Eutrophication: manifestations, causes, conséquences et prédictibilité.
- Pitois, F., Thomas, O., Thoraval, I., Baurès, E. (2014). Learning from 8 years of regional cyanobacteria observation in Brittany in view of sanitary survey improvement. *Environment International*, 62, p.113-118.
- Pitois, F., Vezie, C., Thoraval, I., Baurès, E. (2016). Improving microcystin monitoring relevance in recreative waters: A regional case-study (Brittany, Western France, Europe). *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 219, p. 288–293.
- Pekar, H., Westergerg, E., Bruno, O., Lääne, A., Persson, K.M., Sundström, L.F., Thim, A.M. (2016). Fast, rugged and sensitive ultra high pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry method for analysis of cyanotoxins in raw water and drinking water—First findings of anatoxins, cylindrospermopsins and microcystin variants in Swedish source waters and infiltration ponds. *Journal of Chromatography A*, 1429, p. 265-276.
- Piccolo, A. (2002). The supramolecular structure of humic substances: A novel understanding of humus chemistry and implications in soil science.
- Pivokonsky, M., Kloucek, O., Pivokonska, L., (2006). Evaluation of the production, composition and aluminum and iron complexation of algal organic matter. *Water Res.* 40, p. 3045–3052.
- Pivokonsky, M., Safarikova, J., Baresova, M., Pivokonska, L., Kopecka, I. (2014). A comparison of the character of algal extracellular versus cellular organic matter produced by cyanobacterium, diatom and green algae. *Water Research*, 51, p. 37-46.
- Poon, K F, Mh- W Lam, P K S Lam, and B S F Wong. (2001). Determination of Microcystins in Cyanobacterial Blooms by Solid-Phase Microextraction: High-Performance Liquid Chromatography. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20 (8), p. 1648–1655.
- Pourriot, R. et Meybeck, M.. (1995). Limnologie générale. Collection d'écologie 25. Edition Masson.

Q

- Qu, F., Liang, H., He, J., Ma, J., Wang, Z., Yu, H., Li, G. (2012). Characterization of dissolved extracellular organic matter (dEOM) and bound extracellular organic matter (bEOM) of *Microcystis aeruginosa* and their impacts on UF membrane fouling. *Water Res.* 46, p. 2881–2890.

R

- Radji, R., Bandje, A., Issifou, L., Etorh, M.T., Kokou, K. (2013). Diversité et dynamique des assemblages phytoplanctoniques dans les écosystèmes aquatiques au Sud du Togo. *Afrique Science*, 09(2), p. 67-77.
- Rapala, J., Erkomaa, K., Kukkonen, J., Sivonen, K., & Lahti, K. (2002). Detection of microcystins with protein phosphatase inhibition assay, high-performance liquid chromatography-UV detection and enzyme-linked immunosorbent assay: Comparison of methods. *Analytica Chimica Acta*, 466(2), p. 213–231.
- Rapin, A. (2017). Mobilité du phosphore sédimentaire en contexte de retenues de barrage hydroélectrique. Thèse de doctorat, Université de Limoges, France.

- Raven, J. A. and Geider, R. J. (1988). Temperature and algal growth. *New Phytol.* 110, p. 441–61.
- Redfield, A.C., Ketchum, B.H., Richards, F.A., (1963) The influence of organisms on the composition of sea-water, pp. 26-77. in M.N. Hill ed. *The Sea*. Vol.2, pp.554. John Wiley & Sons, New York
- République Togolaise (2010). Deuxième communication nationale sur les changements climatiques.
- Reynolds, C.S. (1984). *The ecology of freshwater phytoplankton*. Cambridge, Cambridge University Press.
- Reynolds, C.S., Oliver, R.L., Walsby, A.E. (1987). Cyanobacterial dominance: the role of buoyancy regulation in dynamic lake environments. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 21, p. 379-390.
- Reynolds, C.S., (2006). *Ecology of phytoplankton*. Cambridge University Press
- Rippka, R. (1988) Isolation and purification of cyanobacteria. In: *Methods in Enzymology*, Vol. 167. Packer, L., and Glazer, N. (eds). New York, UK: Academic Press, p. 3–27.
- Rissik, D., Ho Shon, E., Newell, B., Baird, M.E., Suthers, I.M. (2009). Plankton dynamics due to rainfall, eutrophication, dilution, grazing and assimilation in an urbanized coastal lagoon. *Estuarine, Coastal and Shelf science*, 84, p. 99-107.
- Ruttenberg, K.C., and D.J. Sulak. (2011). Sorption and desorption of dissolved organic phosphorus onto iron (oxyhydr)oxides in seawater. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 75 (15), p.4095–4112.

S

- Sandrini, G. (2016). *Effects of Rising CO₂ on the Harmful Cyanobacterium Microcystis*. University of Amsterdam.
- Sandrini G, Matthijs HCP, Verspagen JMH, Muyzer G, Huisman J. (2014). Genetic diversity of inorganic carbon uptake systems causes variation in CO₂ response of the cyanobacterium *Microcystis*. *ISME Journal*, 8, p. 589 – 600.
- Sandrini G, Cunsolo S, Schuurmans JM, Matthijs HCP, Huisman J. (2015 a). Changes in gene expression, cell physiology and toxicity of the harmful cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* at elevated CO₂. *Frontiers in Microbiology*, 6: 401.
- Sandrini G, Jakupovic D, Matthijs HCP, Huisman J. (2015 b). Strains of the harmful cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* differ in gene expression and activity of inorganic carbon uptake systems at elevated CO₂ levels. *Applied and Environmental Microbiology*, 81, p. 7730–7739
- Sanseverino, I., Conduto, D., Pozzoli, L., Dobricic, S., Lettieri, T. (2016). Algal bloom and its economic impact; EUR 27905 EN; doi:10.2788/660478
- Servais, P., Billen, G., Hascoet, M.-C. (1987). Determination of the biodegradable fraction of dissolved organic matter in waters. *Water Res.* 21, p. 445–450.
- Schenk, P.M., Thomas-Hall, S.R., Stephens, E., Marx, U.C., Mussgnug, J.H., Posten, C., Kruse, O., Hankamer, B. (2008). Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. *BioEnergy Res.* 1, p. 20-43.
- Schindler, D. W., R. E. Hecky, D. L. Findlay, M. P. Stainton, B. R. Parker, M. J. Paterson, K. G. Beaty, M. Lyng, and S. E. M. Kasian. (2008). Eutrophication of lakes cannot be controlled by reducing nitrogen input: results of a 37-year whole-ecosystem experiment. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105 (32), p. 11254–58.
- Selman M., Greenhalgh S., Diaz R., Sugg Z. (2008). Eutrophication and hypoxia in coastal areas: a global assessment of the state of knowledge. World Resources Institute policy note, 1.
- Sengül, A.B., Ersan, G., Tüfekçi, N. (2018). Removal of intra- and extracellular microcystin by submerged ultrafiltration (UF) membrane combined with coagulation/flocculation and powdered activated carbon (PAC) adsorption. *Journal of hazardous materials*, 343, p. 29-35.
- Seo, D.-J., Kim, Y.-J., Ham, S.-Y., Lee, D.-H., (2007). Characterization of dissolved organic matter in leachate discharged from final disposal sites which contained municipal solid waste incineration residues. *J. Hazard. Mater.* 148, p. 679–692.

- Sharp, E.L., Parsons, S.A., Jefferson, B. (2006). Seasonal variations in natural organic matter and its impact on coagulation in water treatment. *Sci. Total Environ.* 363, p. 183–194.
- Shiklomanov I.A. (1999). Summary of the monograph « World Water Resources at the beginning of the 21st century » prepared in the framework of the IHP UNESCO. Saint Petersburg: State Hydrological Institute (SHI).
- Shiklomanov I. A., Rodda J. C. (2003). *World Water Resources at the Beginning of the 21st Century*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Sinha, E., Michalak., A.M., Balaji, V. (2017). Eutrophication will increase during the 21st century as a result of precipitation changes. *Science*, 357, P. 405-408.
- Sivonen, K. (1990). Effects of Light, Temperature, Nitrate, Orthophosphate, and Bacteria on Growth of and Hepatotoxin Production by *Oscillatoria agardhii* Strains. *Applied and Environmental Microbiology*, p. 2658-2666
- Sivonen, K., and Jones, G. (1999). Cyanobacterial toxins. In *Toxic cyanobacteria in water*. Edited by I. Chorus and J. Bartram. E & FN Spon, London. pp. 41–112
- Sjövall, O. & Meriluoto J.A.O. (2005). SOP: Analysis of microcystins by liquid chromatography – mass spectrometry. SOP_TOXIC_AAU_10F. In Meriluoto J. & Cood, G.A. (Ed.), *Toxic Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxins Analysis*, Acta Academiae Aboensis, 65(1), p. 105-110.
- Smith, V. H., Tilman, G. D., & Nekola, J. C. (1998). Eutrophication: Impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems. *Environmental Pollution*, Vol. 100, p. 179–196.
- Smith, V.H. et Schindler, D.W. (2009). Eutrophication science: where do we go from here? *Trends in Ecology and Evolution*, 24 (4).
- Song, L., Sano, T., Li, R., Watanabe, M., Liu, Y., Kaya, K. (1998) Microcystin production of *Microcystis viridis* (cyano- bacteria) under different culture conditions. *PhycolRes* 46: p. 19–23.
- Song, H., Reichwaldt, E. S., & Ghadouani, A. (2014). Contribution of sediments in the removal of microcystin-LR from water. *Toxicon*, 83, p. 84–90.
- Song, K., Wen, Z., Shang, Y., Yang, H., Lyu, L., Liu, G., Fang, C., Du, J., Zhao, Y. (2018). Quantification of dissolved organic carbon (DOC) storage in lakes and reservoirs of mainland China. *Journal of Environmental Management*, 217, p. 391-402.
- Stevenson, F. J. (1994). *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. John Wiley & Sons ed, New York, p. 512
- Sunda, W. G. (1989) Trace Metal Interactions with Marine Phytoplankton, *Biological Oceanography*, 6:5-6, p. 411-442.
- Swedish Government Official Reports (2007). Sweden facing climate change - threats and opportunities. Final report from the Swedish Commission on Climate and Vulnerability.
- Świetlik, J., & Sikorska, E. (2004). Application of fluorescence spectroscopy in the studies of natural organic matter fractions reactivity with chlorine dioxide and ozone. *Water Research*, 38(17), 3791–3799.

T

- Taranu, Z. E.; Gregpry-Eaves, I.; Leavitt, P. R; Bunting, L.; Buchaca, T.; Catalan, J.; Domaizon I.; Guilizzoni P., Lami A., McGowan S.; Moorhouse, H., Morabito G., Pick, F. R.; Stevenson M. A.; Thompson P. L. and Vinebrooke R. D. (2015). Acceleration of cyanobacterial dominance in north temperate-subarctic lakes during the Anthropocene. *Ecology Letters*, 18(4), p. 375–384.
- Teixeira, M.R., Rosa, M.J., (2006). Comparing dissolved air flotation and conventional sedimentation to remove cyanobacterial cells of *Microcystis aeruginosa*: Part I: The key operating conditions. *Sep. Purif. Technol.* 52, 84–94.
- Teixeira, M.R., Rosa, M.J., (2007). Comparing dissolved air flotation and conventional sedimentation to remove cyanobacterial cells of *Microcystis aeruginosa*: Part II. The effect of water background organics. *Sep. Purif. Technol.* 53, p. 126–134.

Teixeira, M.R., Sousa, V., Rosa, M.J., (2010). Investigating dissolved air flotation performance with cyanobacterial cells and filaments. *Water Res.* 44, p. 3337–3344.

Thurman, E., & Malcolm, R.L. (1981). Preparative isolation of aquatic humic substances. *Environ. Sci. Technol.* 15, 463-466

Thurman, E.M. (1985). Organic geochemistry of natural waters. Martinus Nijhoff / Dr W. Junk, Dordrecht, Netherlands, 497 p.

Toming, K., Kutser, T., Tuvikene, L., Viik, M., Nõges, T. (2016). Dissolved organic carbon and its potential predictors in eutrophic lakes. *Water Research*, 102, p. 32-40.

Tsuji K., Watanuki T., Kondo F., Watanabe M.F., Suzuki S., Nakazawa H., Suzuki M., Uchida H., Harada K.I., (1995). Stability of microcystins from cyanobacteria II. Effect of UV light on decomposition and isomerization. *Toxicon*, 33(12), p. 1619-1631.

V

Van der Kooij, D., Visser, A., Hijnen, W.A.M. (1982). Determining the concentration of easily assimilable organic carbon in drinking water. *J. Am. Water Works Assoc*, 74, p. 540 – 545.

Velten, S., Knappe, D.R.U., Traber, J., Kaiser, H.P., Von Gunten, U., Boller, M., Meylan, S. (2011). Characterization of natural activated carbon adsorbers. *Water Research*, 45, p. 3951-3989.

Via-Ordorika, L., Fastner, J., Kurmayer, R., Hisbergues, M., Dittmann, E., Komarek, J., Chorus, I. (2004). Distribution of microcystin-producing and non-microcystin-producing *Microcystis sp.* in European freshwater bodies: Detection of microcystins and microcystin genes in individual colonies. *Systematic and Applied Microbiology*, 27(5), p. 592–602.

Villacorte, L.O., Ekowati, Y., Neu, T.R., Kleijn, J.M., Winters, H., Amy, G., Schippers, J.C., Kennedy, M.D. (2015). Characterisation of algal organic matter produced by bloom-forming marine and freshwater algae. *Water research*, 73, p. 216-230.

Vinçon-Leite, B. et Casenave, C. (2019). Modelling eutrophication in lake ecosystems: a review. *Science of the total environment*, 651, p. 2985-3001.

Visser, P.M., Ibelings, B.W., Van Der Veer, B., Koedood, J., Mur, L.R. (1996). Artificial mixing prevents nuisance blooms of the cyanobacterium *Microcystis* in Lake Nieuwe Meer, the Netherlands. *Freshwater Biology*, 36, p. 435-450.

Visser, P.M., Verspagen, J.M.H., Sandrini, G., Stal, L.J., Matthijs, H.C.P., Davis, T.W., Paerl, H.W., Huisman, J. (2016). How rising CO₂ and global warming may stimulate harmful cyanobacterial blooms. *Harmful algae*, 54, p. 145-159.

Volk, C., Bell, K., Ibrahim, E., Verges, D., Amy, G., LeChevallier, M. (2000). Impact of enhanced and optimized coagulation on removal of organic matter and its biodegradable fraction in drinking water. *Water Res.*, 34, p. 3247–3257

Vrede, T., Ballantyne, A., Mille-Lindblom, C., Algesten, G., Gudas, C., Lindahl, S., Brunberg, A.K. (2008). Effects of N : P loading ratios on phytoplankton community composition, primary production and N fixation in a eutrophic lake. *Freshwater Biology*.

W

Wagner, C. and Adrian, R. (2009). Cyanobacteria dominance: Quantifying the effects of climate change. *Limnology and Oceanography*, 54 (6 part 2), p. 2460-2468.

Walls, J.T., Wyatt, K.H., Doll, J.C., Rubenstein, E.M., Rober, A.R. (2018). Hot and toxic: Temperature regulates microcystin release from cyanobacteria. *Science of the total environment*, 610-611, p. 786-795.

Wang, L., Wu, F., Zhang, R., Li, W., Liao, H. (2009). Characterization of dissolved organic matter fractions from Lake Hongfeng, Southwestern China Plateau. *J. Environ. Sci.* 21, p. 581–588.

- Weishaar, J.L., Aiken, G.R., Bergamaschi, B.A., Fram, M.S., Fujii, R., Mopper, K., (2003). Evaluation of specific ultraviolet absorbance as an indicator of the chemical composition and reactivity of dissolved organic carbon. *Environ. Sci. Technol.*, 37, p. 4702–4708.
- Widrig, D.L., Kimberly, A.G., McAuliffe, K.S. (1996). Removal of algal-derived organic material by preozonation and coagulation: monitoring changes in organic quality by pyrolysis-GC-MS. *Water Res.* 30, p. 2621-2632.
- Wiedner C., Rücker J., Brüggemann R. and Nixdorf B. (2007). Climate change affects timing and size of populations of an invasive cyanobacterium in temperate regions. *Oecologia*, 152(3), p. 473-484.
- Willén E. 2001. Phytoplankton and water quality characterization: experiences from Swedish large lakes Mälaren, Hjälmaren, Vättern and Vänern. *Ambio*. 30, p.529–537.
- Willén E, Ahlgren G, Söderhielm A-C. 2000. Toxic cyanophytes in three Swedish lakes. *Verh Internat Verein Limnol.* 27, p.560–564.
- Willén, T. et Mattsson, R. (1997). Water-blooming and toxin-producing cyanobacteria in Swedish fresh and brackish waters, 1981-1995. *Hydrobiologia*, 353, p. 181-192.
- Wilson, A.E., Sarnelle, O., Neilan, B.A., Salmon, T.P., Gehring, M.M., Hay, M.E. (2005). Genetic variation of the bloom-forming Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* within and among lakes: implications for harmful algal blooms. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, p. 6126–6133.
- WWAP (United Nations World Water Assessment Programme). 2015. The United Nations World Water Development Report 2015: Water for a Sustainable World. Paris, UNESCO

X

- Xu, J., Zhao, Y., Gao, B., Han, S., Zhao, Q., Liu, X. (2018). The influence of algal organic matter produced by *Microcystis aeruginosa* on coagulation-ultrafiltration treatment of natural organic matter. *Chemosphere*, 196, p. 418-428.

Y

- Yamamoto, Y. et Nakahara, H., (2005). The formation and degradation of cyanobacterium *Aphanizomenon flos-aquae* blooms: the importance of pH, water temperature, and day length. *Limnology* 6, p. 1–6.
- Ye, L., Shi, X., Wu, X., Kong, F. (2012). Nitrate limitation and accumulation of dissolved organic carbon during a spring-summer cyanobacterial bloom in Lake Taihu (China). *J. Limnol.* 71(1), p. 67-71.
- Ye, L., Wu, X., Liu, B., Yan, D., Kong, F. (2018). Dynamics and sources of dissolved organic carbon during phytoplankton bloom in hypereutrophic Lake Taihu (China). *Limnologica*, 54, p. 5-13.
- Yen, H. K., Lin, T. F., Liao, P. C. (2011). Simultaneous detection of nine cyanotoxins in drinking water using dual solid-phase extraction and liquid chromatography– mass spectrometry. *Toxicon* 58, p. 209-218.
- Yu, H., Clark, K. D, and Anderson, J. L. (2015). Rapid and Sensitive Analysis of Microcystins Using Ionic Liquid-Based in Situ Dispersive Liquid-Liquid Microextraction. *Journal of Chromatography A*, 1406, p. 10-18.

Z

- Zamyadi, A., Ho, L., Newcombe, G., Bustamante, H., Prévost, M. (2013). Fate of toxic cyanobacterial cells and disinfection by-products formation after chlorination. *Water Res.* 47, p. 2689–2700.
- Zervou, S. K., Christophoros, C., Kaloudis, T., Triantis, T. M., Hiskia, A. (2017). New SPE-LC-MS/MS method for simultaneous determination of multi-class cyanobacterial and algal toxins. *Journal of hazardous materials* 323, p. 56-66.
- Zhang, Y., Tian, J., Nan, J., Gao, S., Liang, H., Wang, M., Li, G. (2011). Effect of PAC addition on immersed ultrafiltration for the treatment of algal-rich water. *J. Hazard. Mater.* 186, p. 1415–1424.
- Zhang, M., Duan, H., Shi, X., Yu, Y., & Kong, F. (2012). Contributions of meteorology to the phenology of cyanobacterial blooms: Implications for future climate change. *Water Research*, 46(2), p. 442–452.

Zhang M., Yang Z., Shi X. (2016). Effects of temperature fluctuation on the development of cyanobacterial dominance in spring: implication of future climate change. *Hydrobiologia* 763, p. 135-146.

Zhou, S., Shao, Y., Gao, N., Deng, Y., Li, L., Deng, J., Tan, C. (2014). Characterization of algal matters of *Microcystis aeruginosa*: biodegradability, DBP formation and membrane fouling potential. *Water research*, 52, p. 199-207.

Ziegmann, M., Abert, M., Müller, M., Frimmel, F.H. (2010). Use of fluorescence fingerprints for the estimation of bloom formation and toxin production of *Microcystis aeruginosa*. *Water Res.* 44, p. 195–204.

Zingone, A., Philips, E.J., Harrison, P.J. (2010). Multiscale variability of twenty-two coastal phytoplankton time series: a global scale comparison. *Estuaries and coasts*, 33, p. 224-229.

SITES INTERNET

www.meteofrance.fr (consulté le 11/11/2018)

http://www.fao.org/nr/water/aquastat/countries_regions/TGO/TGO-CP_fra.pdf (consulté le 17/04/2019)

https://www.scb.se/contentassets/bcb304eb5e154bdf9aad3fbc063a0d3/mi0902_2015a01_br_miftbr1701.pdf
(consulté le 17/04/2019)

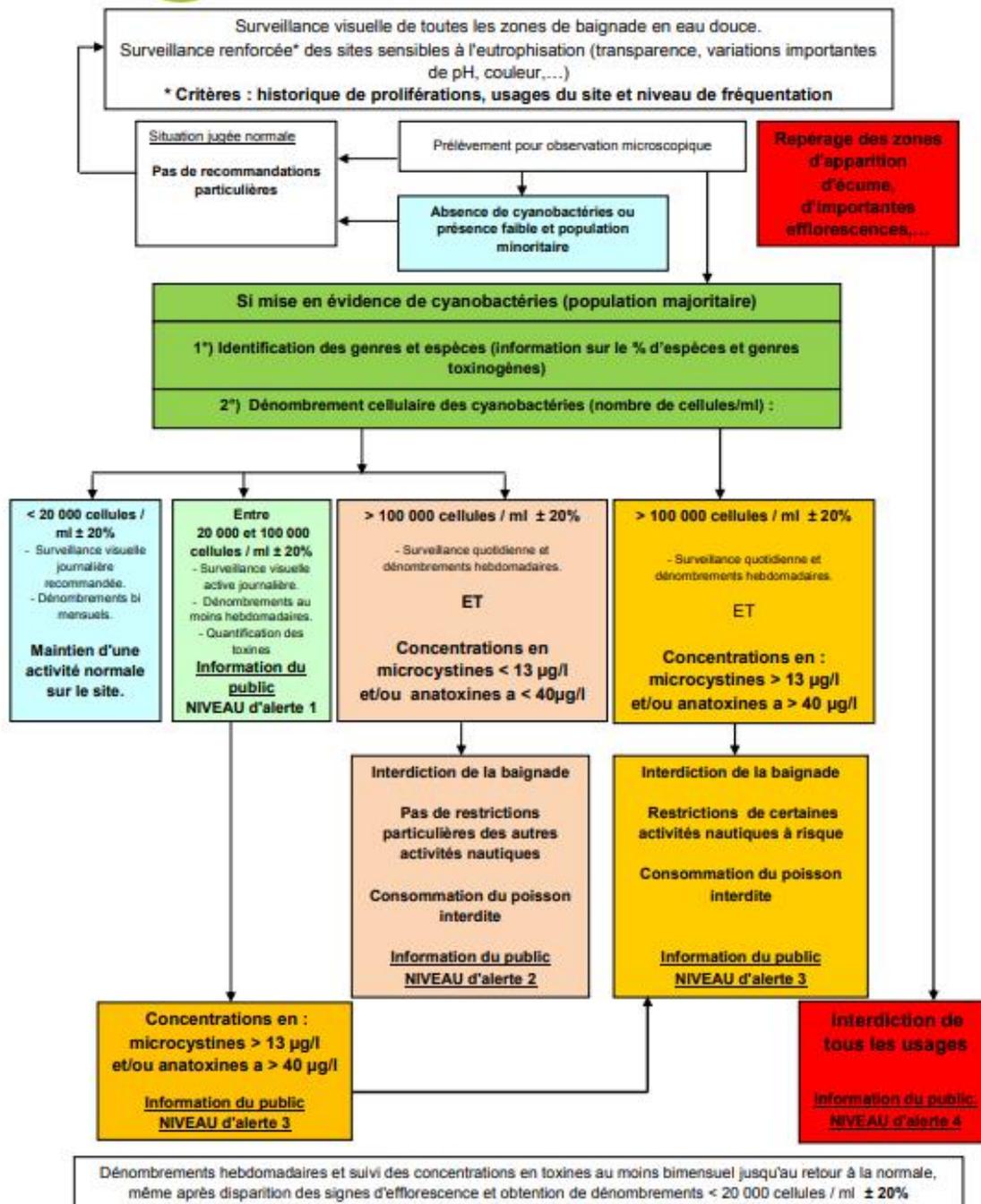
ANNEXES

ANNEXE 1

Annexe 1 : Arbre décisionnel relatif à la gestion des cyanobactéries dans les plans d'eau à vocation récréative (ARS Bretagne, Juin 2016 adapté de la note d'information de la DGC/EA4 n° 2015-181 du 2 juin 2015).

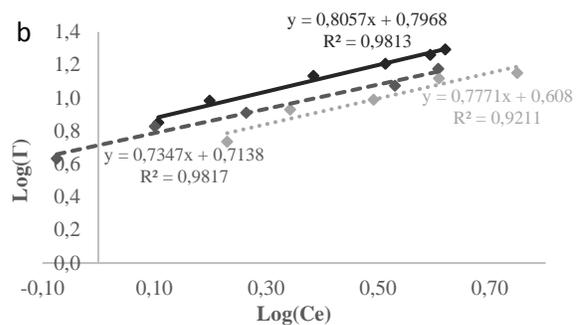
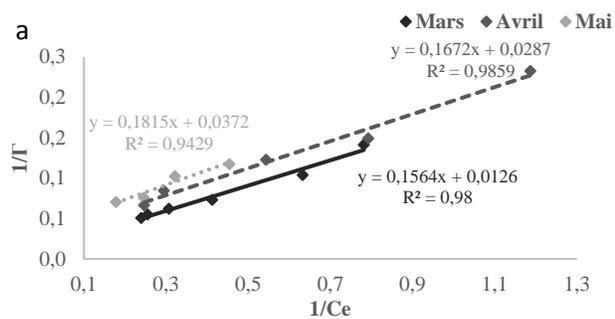


Arbre décisionnel de la surveillance des cyanobactéries en eau douce



ANNEXE 2

Annexe 2 Représentations graphiques des linéarisations de Langmuir (a) et de Freundlich (b) appliquées aux échantillons de l'étang de Pigeard aux mois de mars, avril et mai



RESUME

Les phénomènes d'eutrophisation caractérisés par la prolifération de phytoplancton sont à l'origine d'impacts négatifs sur les écosystèmes aquatiques et les usages de la ressource en eau. Lors de son développement, le phytoplancton génère de la Matière Organique Algale (MOA) qui augmente la concentration et modifie les caractéristiques et la réactivité de la Matière Organique Naturelle (MON) du plan d'eau. Des cyanotoxines peuvent également être générées si des cyanobactéries productrices sont présentes. Le climat futur, prévu par les experts, vient soutenir ces proliférations et en aggraver les conséquences.

L'optimisation d'une méthode d'identification et de quantification des microcystines (MCs) extracellulaires par HPLC-UV/PDA après concentration par SPE permet l'analyse à des concentrations jusqu'à $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$. Cependant, un pH basique et une charge organique dans l'échantillon surestiment la concentration.

La croissance cellulaire et la production de MOA et de MCs sous différents couples température/pluviométrie sont étudiées sur des cultures mono-spécifiques d'algue et de cyanobactérie. Les variations climatiques impactent le développement cellulaire, la quantité et la répartition des fractions hydrophobes de la MOA, la concentration totale en MCs et la proportion de la fraction extracellulaire.

L'étude *in-situ* menée pendant 21 mois sur le plan d'eau hypereutrophe de Pigeard (87) est comparée au suivi de 18 mois de 2012-2013. Les apports récurrents de MOA perturbent annuellement et durablement la dynamique de la MON du plan d'eau, en modifiant ses caractéristiques et augmentant la charge organique et la part de composés hydrophiles. Les évolutions observées pour des ressources en eau sous des climats différents (Suède et Togo) corroborent les observations au laboratoire.

Ces évolutions quantitatives et qualitatives de la MON affectent l'efficacité des procédés de traitement des eaux et notamment l'adsorption sur CAP. Les performances du procédé sont diminuées en présence de composés hydrophiles. Un bon rendement a été observé pour l'élimination des MCs malgré une diminution par compétition avec la MO.

Mots clefs : eutrophisation, matière organique, cyanobactéries, microcystines, changement climatique, adsorption sur CAP.

ABSTRACT

Eutrophication phenomena are characterized by phytoplankton proliferation and as a consequence negatively impacts aquatic ecosystem and natural water uses. During its development, phytoplankton produces Algal Organic Matter (AOM) which increases the organic content of the water resource and modifies the Natural Organic Matter (NOM) characteristics and reactivity. When toxic cyanobacteria are present, cyanotoxins can be produced. The future climate, predicted by experts, will support these proliferations and promote their consequences.

The optimization of a HPLC-UV/PDA method to identify and quantify extracellular Microcystins (MCs) after SPE decreased the quantification limit to $0,1 \mu\text{g/L}$. However, a basic pH and the OM content of the sample over-estimated the concentration.

Under variable temperature and rainfall conditions, the cells growth and the AOM and MCs production were studied on laboratory cultures of mono-specific species of algae and cyanobacteria. The cellular growth, the concentration and proportion of hydrophobic fractions of AOM, the total concentration of MCs and the proportion of extracellular MCs were impacted by climate changes.

An *in-situ* monitoring program was conducted during 21 months on the hypertrophic Pigeard pond (87) and the results were compared to the 18 months monitoring of 2012-2013. Recurrent inputs of AOM annually and sustainably disturbed NOM dynamics and modified its characteristics by increasing the OM content and the hydrophilic proportion. The observed evolutions in water resources under various climates (Sweden and Togo) confirmed the laboratory observations.

These quantitative and qualitative NOM changes also affect the efficiency of water treatment processes and especially adsorption on PAC. The efficiency was reduced in the presence of hydrophilic fraction and high MCs adsorption yields were observed for MCs despite a competition with OM.

Key words: eutrophication, organic matter, cyanobacteria, microcystins, climate changes, PAC adsorption.