

## Proposition pour l'appel d'offre interne ECCOREV 2011

### MARHONE

#### Caractérisation de la matière organique particulaire du Rhône et de contaminants inorganiques associés

##### Contexte de la recherche

Le Rhône constitue la plus importante source de matière en suspension fluviale (MES) à la méditerranée. A l'échelle du Golfe du Lion il apporte 85 à 90% du flux de MES fluviale et en fait par ses apports en nutriments une des zones les plus productives de la Méditerranée. Malgré cette importance, les flux de matière qui transitent dans le Rhône ne sont correctement évalués que depuis 4 à 5 ans grâce à la mise en place d'une station de prélèvement automatique en Arles (station SORA). En effet, la difficulté d'étude de ce fleuve réside dans l'importance des crues qui peuvent charrier en moins de 10% du temps la moitié du flux dissous annuel et 80-90% du flux de MES. Cette station gérée par l'IRSN de Cadarache en partenariat avec l'Agence de l'eau RMC et le COM de Marseille permet d'effectuer des prélèvements automatisés tout au long de l'année. Elle a été utilisée par plusieurs programmes de recherche qui ont montré que le flux annuel de MES est totalement dépendant des crues et de leur typologie : il varie de 1 à 1,5 millions de tonnes pour les années sans crue (comme 2005 et 2007) jusqu'à 8-9 millions de tonnes en cas de crue exceptionnelle (2008).

Ces apports de MES sont aussi une source majeure de contaminants et de matière organique particulaire (MOP) et ont à ce titre un rôle direct sur l'écosystème benthique marin, aussi bien sur la macrofaune que sur les poissons de fond comme la sole (Salen-picard et al., 2002 ; Bourgeois et al, submitted). Ils doivent être connus et quantifiés pour préciser leur influence sur l'écosystème du Golfe du Lion. Grâce aux précédents travaux certaines caractéristiques de ces paramètres sont maintenant bien évaluées :

- les concentrations particulières de contaminants métalliques et de radioéléments artificiels sont relativement stables en débit normal mais tendent à diminuer lors des crues par effet de mélange avec des particules anciennes moins contaminées (Ollivier et al., in press).

- Les concentrations annuelles en carbone organique particulaire varient de 2 à 10 %, celles de l'azote de 0,2 à 2.5% (données ANR-Chaccra-P. Raimbault). Elles tendent elles aussi à diminuer lorsque la charge en MES augmente (comme pour les contaminants), mais les relations ne sont pas aussi statistiquement significatives que pour les contaminants. Le lien entre ces nutriments particuliers et les MES est donc variable et reste mal contraint.

- Les signatures isotopiques  $\delta^{13}\text{C}$  et  $\delta^{15}\text{N}$  de la MOP sont relativement stables sur plusieurs années (données ANR Chaccra – P Kerhervé). Celles du  $\delta^{13}\text{C}$  montrent cependant des variations saisonnières (Harmelin-Vivien et al., 2010) inversement reliées aux quantités de carbone, azote et chlorophylle, elles-mêmes influencées par le pourcentage de phytoplancton. Ce dernier se développe au printemps - été lors d'épisodes de bloom de diatomées et chlorophytes mais il est dilué au printemps par les apports plus importants de matière organique terrigène issue du bassin versant. Ce phytoplancton ne représente en fait que 10% en moyenne de la MOP (jusqu'à 50% en été lors des blooms et en étiage). 90% de la MOP sont donc issus des sols et de la litière végétale du bassin, et ses caractéristiques restent inconnues.

Malgré ces connaissances, le devenir de ce matériel en mer reste mal compris à cause de deux points particulièrement méconnus: 1) les mécanismes qui le transforment et le font circuler dans la chaîne trophique marine et 2) la variation temporelle de ces composés et plus particulièrement l'état de dégradabilité de la MOP et les liens contaminants - MOP. Ce dernier point est un verrou majeur d'autant plus important qu'il régle justement les mécanismes de transfert.

##### Objectifs de la demande incluant la description de la suite prévue pour le projet

***Le projet présenté à ECCOREV vise spécifiquement à améliorer nos connaissances sur la MOP du Rhône avant son débouché en mer et à relier ces données avec celles de contaminants particuliers.*** Cette caractérisation est destinée à mieux connaître la qualité de cette MOP, son état de dégradation et son lien avec des contaminants, ceci pour mieux pour appréhender son devenir en mer et son rôle sur l'écosystème benthique. L'étude s'attachera aussi à voir si le type de MOP en transit à Arles peut être relié à des origines diverses dans le bassin versant en termes soit de saisonnalité, soit de sources et d'affluents contributeurs (Alpes, Massif central, zone nord). Pour ceci des prélèvements seront réalisés à Arles et sur

quelques affluents majeurs. Les relations MOP-contaminants organiques seront étudiées en parallèle dans le cadre d'un autre financement (Observatoire des sédiments du Rhône en charge de la mesure des contaminants par le CEMAGREF et l'IFREMER).

Ces questions s'inscrivent dans les axes 2 et 3 de la fédération ECCOREV. Pour y répondre, nous proposons de développer une approche analytique novatrice réunissant 3 équipes de recherche de la fédération :

- Le Centre Européen de Recherche et d'Enseignement des Géosciences de l'Environnement (CEREGE),
- Le Laboratoire ISM2-AD2EM de l'université Paul Cézanne Aix-Marseille III
- l'IRSN, Institut de Radioprotection et de Sécurité Nucléaire, DEI, Service d'Etude et de Surveillance de la Radioactivité de l'Environnement, Laboratoire d'Etude Radioécologique du milieu Continental et Marin, Centre de Cadarache.

Le groupement crée et les résultats obtenus constitueront la base nécessaire pour répondre à un appel d'offre national type ANR (Contaminants-Écosystème et Santé) ou CNRS-INSU (EC2CO-CYTRIX) dont les problématiques recoupent ce sujet. Il est à noter qu'aucun laboratoire ou groupement de laboratoire en France n'est spécialisé dans ce type d'étude, les approches sur la MOP fluviale portant généralement sur l'analyse du carbone, de l'azote et de leurs isotopes stables. Ce groupe sera le premier à notre connaissance à développer ce type de techniques.

## **Planning et méthodologie proposés :**

Le premier point sera la réalisation d'une dizaine de prélèvements de matière en suspension dans le Rhône et sur quelques affluents à l'aide de technique adaptées pour obtenir la quantité nécessaire (centrifugeuse et ou filtration). Ces prélèvements seront réalisés autant que possible pour des caractéristiques hydrologiques différentes : crue, étiage, débit normal. Ce matériel sera redistribué aux équipes impliquées afin de réaliser les analyses suivantes :

### **1) Caractérisation de la MOP :**

a) Les teneurs en carbone et azote organique particulaires et les signatures isotopiques  $\delta^{13}\text{C}$  et  $\delta^{15}\text{N}$  seront mesurées au CEFREM, Univ. Perpignan par Philippe Kerhervé (analyste carbone et azote Leco Cn 2000 et analyste élémentaire couplé à un spectromètre de masse).

b) La spectroscopie RMN du C-13 est une méthode qualitative et quantitative qui renseigne sur le type et le nombre de C (alkyl, O-alkyl, insaturés, alcool, acide carboxylique....) par laquelle on peut obtenir les proportions des différentes fonctions organiques. C'est une méthode spécifique (l'observation n'est pas gênée par d'autres éléments tant qu'ils ne sont pas paramagnétiques). Dans ce cas, un lavage "doux" à l'HF permet de restaurer le signal RMN, sans pertes majeures de MO. L'application de protocoles de séparation permet d'observer des fractions spécifiques. Ainsi en suivant les protocoles standards de l'IHSS, on peut isoler les fractions "classiques" de la matière organique naturelle, à savoir les fractions fulviques, humiques, hydrophobes et hydrophiles. Par RMN, les proportions des différentes fonctions organiques sont déterminées avec une précision de  $\pm 5\%$ .

c) La Pyrolyse couplée à la chromatographie gazeuse-Spectrométrie de masse (Py-GC-MS) et la thermochemolyse (Py-THM-GC/MS) sont des méthodes qualitatives et semi-quantitatives utilisées pour caractériser les matières organiques complexes polymériques. La pyrolyse consiste en une décomposition des macro-molécules par la chaleur, afin d'obtenir des fragments plus petits et donc plus facilement analysables. La thermochemolyse est un développement de la pyrolyse qui consiste à réaliser une alkylation "in situ" permettant une dérivatisation qui rend moins polaires les composés très polaires comme les sucres ou les protéines, et rend plus volatils les composés initialement réfractaires, tels que les lipides. La pyrolyse permet de caractériser les macromolécules majeures présentes dans la matière organique.

### **2) Caractérisation des contaminants particuliers:**

d) Activités en  $^{14}\text{C}$  et tritium lié (TOL) dans les matières en suspension du Rhône

Le Rhône est soumis aux rejets liquides réglementés de l'industrie nucléaire implantée dans la vallée depuis cinquante ans. Le tritium et le carbone 14 y figurent parmi les radionucléides les plus rejetés, mais ils sont aussi produits naturellement dans l'atmosphère ou issus des retombées des tirs jusqu'en 1980. Ils présentent de manière générale une faible radiotoxicité mais il s'intègre totalement à la matière vivante via le cycle du carbone ( $^{14}\text{C}$ ) ou de l'eau ( $^3\text{H}$ ). Les principales formes de  $^{14}\text{C}$  se répartissent entre carbone organique et inorganique et peuvent être donc très variées: détritiques allochtones, organismes vivants et composés issus de leur dégradation. La production végétale dans le fleuve permet également le transfert du

$^{14}\text{C}$  de la phase minérale dissoute à la matière organique particulaire. Cette diversité de source est tout particulièrement importante dans les zones d'interface continent/océan et explique qu'on y observe des activités en  $^{14}\text{C}$  très différentes, allant de 1 à plusieurs fois l'activité naturelle ou rémanente. Il est donc important de caractériser, d'identifier les différentes composantes du stock de matière organique afin d'expliquer les niveaux enregistrés. Les activités observées peuvent être également exploitées comme signature de l'origine ou de la nature des composés organiques. Le  $^{14}\text{C}$  sera mesuré par accélérateur (AMS).

Le tritium a un comportement analogue à celui de l'hydrogène et est donc un constituant majeur des molécules organiques (Tritium Organiquement Lié ; TOL). L'abondance et le devenir de ce TOL et son risque de bioaccumulation dans les compartiments de l'environnement sont particulièrement méconnus, en particulier au sein des hydrosystèmes. Les quantités de tritium liées à la matière organique particulaire dans les eaux du Rhône sont à déterminer afin d'appréhender ses mécanismes de transfert dans la chaîne trophique dulçaquicole. De même que pour le  $^{14}\text{C}$ , les quantités de TOL enregistrées dans les matières en suspension du Rhône peuvent permettre dans une certaine mesure de connaître l'origine des particules. Le tritium sera mesuré par spectrométrie de masse (spectromètre VG-3000 de chez Micromass ou MAP 215-50 spécialement équipé d'un filtre électrostatique permettant d'obtenir un très bas bruit de fond).

e) les teneurs en métaux (Cu, Pb, Zn, Ni, Co, Cr, Fe, Al, seront obtenues par extraction totale et comptage sur ICP-MS.

Les techniques proposées ci-dessus sont complémentaires et permettront de préciser le type de MOP transitant dans le bassin versant du Rhône. Elles fourniront les premières informations de ce type et compléteront d'autres analyses réalisées dans le cadre de L'Observatoire des Sédiments du Rhône. L'ensemble de ces travaux permettra à terme de comprendre l'origine et l'évolution de la MOP au sein d'un bassin versant de cette taille.

## **Réalisations et mode d'interaction prévus entre les équipes :**

**Avril 2011** : Réunion pour définir les protocoles de collecte et de préparation des échantillons. Démarrage de prélèvement à la station d'Arles puis sur quelques affluents du Rhône.

**Juin 2011** : Premières analyses sur phase brute. Adaptation des pré-traitements du matériel en fonction de la qualité des résultats obtenus.

**Octobre 2011** : Traitement des premiers résultats et réunion de discussion inter-équipes. Modifications du prélèvement ou du traitement à prendre en compte si besoin. Deuxième série de prélèvements : une attention particulière sera portée aux prélèvements lors d'une crue à cette période.

**Décembre 2011** : fin des prélèvements et des analyses.

## **Rôle des participants :**

**CEREGE** : le CEREGE est responsable de l'ensemble des prélèvements ainsi que de l'analyse des métaux particuliers et de la RMN. Il est aussi responsable des analyses de carbone et azote particulaire et des isotopes stables qui seront sous-traités au CEFREM, Univ. Perpignan.

**ISM2/AD2EM**: analyses de pyrolyse couplée à la GC-MS sur les échantillons de MES.

**IRSN**: détermination des activités en carbone 14 et en tritium lié (TOL) sur les échantillons de MES.

## Plan financier de la demande :

<b>ÉQUIPE</b>	<b>Montant HT</b>	<b>Justifications</b>
CEREGE	3000 euros	Prélèvements. Analyses POC-PON, 13C et 15N, RMN et métaux particuliers
ISM2/AD2EM	3000 euros	Analyses Py-GC/SM
IRSN	2000 euros	analyses 14C et 3H
<b>TOTAL DEMANDÉ ECCOREV</b>	<b>8000 euros</b>	

## Description du consortium:

### Liste des participants : (\* porteurs du projet par équipe, \*\* porteur principal)

<b>Équipe</b>	<b>Participant</b>	<b>Statut</b>	<b>Pourcentage d'implication</b>
CEREGE	RADAKOVITCH Olivier**	MCF	10 %
CEREGE	MAYER Adriano	IE	15 %
CEREGE	MASION Armand	CR	10 %
CEFREM (UNIV PERPIGNAN)	KERHERVE PHILIPPE	MCF	5 %
IRSN	EYROLLE FREDERIQUE*	CR	5%
IRSN	ANTONELLI CHRISTELLE	CR	5%
IRSN	CHARMASSON SABINE	CR	5%
ISM2	DOUMENQ PIERRE	Pr	5%
ISM2	MALLERET LAURE	MCF	5%
ISM2	ASIA LAURENCE	IGE	10%

### Radakovitch Olivier, 43 ans, Porteur du projet

**Maître de conférences Hors CI**, section 35 CNU, CEREGE-UMR 6635, CNRS-Univ Paul Cézanne aix-marseille III, BP 80, Europole de l'arbois, 13545 Aix-en-provence. 36 publications rang A.

**Compétence** : géochimie, pollution par les métaux dans l'environnement, transfert de matière en domaine aquatique.

O. Radakovitch a porté en 2008-2009 une demande de financement ECCOREV sur la toxicité des sédiments de l'étang de Berre (CEREGE-IMEP-ISM2-LBME). Cette demande a abouti à l'obtention en 2009-2011 du projet BERTOX financé pour 80 k€ par l'INSU-EC2CO, projet contenant toutes les équipes impliquées dans le projet initial ECCOREV. 2 articles tirés de ce travail sont soumis, un autre est en préparation.

### Publications récentes en rapport avec le sujet:

Radakovitch O., Roussiez V., Ollivier P., Ludwig W., Grenz C., Probst, J.L. (2008) Particulate heavy metals input from rivers and associated sedimentary deposits on the Gulf of Lion continental shelf. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 77, 285-295.

Ollivier P., Hamelin B., Radakovitch O. (2010) Seasonal variations of physical and chemical erosion: a three year survey of the Rhone River France. *Geochemica Cosmochimica Acta*. 74, 3, 907-927.

Ollivier P., Radakovitch O., Hamelin B. (En Révision). Major and trace partition and fluxes in the Rhone river. *Applied geochemistry*.

Roussiez V., Ludwig W., **Radakovitch O.**, Monaco A., Probst J.L., Charrière B., Buscail R. (En révision) Fate of heavy metals in coastal sediments of a flood-dominated system: an approach based on total and labile fractions. *Marine Pollution Bulletin*.

**EYROLLE Frédérique, 44 ans**

---

*Chercheuse, Institut de Radioprotection et de Sécurité Nucléaire/ Direction de l'Environnement et de l'Intervention/Service d'Etude et de Surveillance de la Radioactivité de l'Environnement /Laboratoire d'Etude Radioécologique en milieu Continental et Marin, Centre de Cadarache.*

**Compétence** : comportement et devenir des radioéléments en milieu aquatique continental.

**Publications récentes en rapport avec le sujet:**

Eyrolle F., Louvat D., Metivier J.M. and Rolland,, 2005, Origins and levels of artificial radionuclides within the Rhône River waters (France) for the last Forty years: Towards an evaluation of the radioecological sensitivity of river systems, Radioprotection, 40, 4, 435-446.

Eyrolle F., Rolland B. and Antonelli C., 2006, Artificial radioactivity within the Rhône river waters - Consequences of floods on activity levels and fluxes toward the Sea, Environnement Risques et santé, 5, 2, 83-92.

Eyrolle F., Duffa C., Rolland B., Antonelli C. and Leprieur F., 2006, Radiological consequences of the extreme flooding of the Rhône valley area (South east France, December 2003), The Science of the Total Environment, 366, 427-438.

Eyrolle F., Claval D., Gontier G., Antonelli C., 2008, Radioactivity level in major French rivers: summary of monitoring chronicles acquired over the past thirty years and current status, Journal of Environmental Monitoring, 10, 80 0-811.

**DOUMENQ Pierre 50 ans**

---

*Professeur, Université Paul Cézanne, UMR ISM2 "Institut des Sciences Moléculaires de Marseille" 6263. Responsable Equipe AD2EM (Analyse, Développement Durable, Environnement et Méthodologie).*

**Compétence** : analyse des contaminants organiques et de leur sous-produit dans l'environnement.

**Publications récentes en rapport avec le sujet:**

S. Bucu, M. Moragues, M. Sergent, P. Doumenq, G. Mille, 2007, An experimental design approach for optimizing polycyclic aromatic hydrocarbon analysis in contaminated soil by pyrolyser-gas chromatography-mass spectrometry Environ. Res. 104 (2007) 209–215

A. Vergnoux, R. Di Rocco, M. Domeizel, M. Guiliano, P. Domenq, F. Théraulaz, 2011, Effects of forest fires on water extractable organic matter and humic substances from Mediterranean soils: UV–vis and fluorescence spectroscopy approaches, Geoderma, 2011,111(2):193-198.

A. Vergnoux, L; Malleret, L. Asia, P. Doumenq, f. Théraulaz, Impact of forest fires on PAH level and distribution in soils Environ. Res, 2011, acceptée DOI 00139351.