

SI-4: Supplemental Descriptions of Aquatic Chemistry Methods and Results

(in French)

accompanying the article : « **A long-term copper exposure on a freshwater ecosystem using lotic mesocosms: Invertebrate community responses** » by Sandrine Joachim et al.

Descriptions supplémentaires des méthodes et des résultats de la chimie aquatique

Introduction

Contexte

L'utilisation de produits phytosanitaires à base de sulfate de cuivre est courante depuis de nombreuses années pour traiter les vignes contre l'attaque de plusieurs espèces de champignons tel que le mildiou (*Peronospora viticola*). L'usage répété de produits phytosanitaires, tel que la bouillie bordelaise ($\text{CuSO}_4 + \text{Ca}(\text{OH})_2$), a entraîné une accumulation de cuivre dans les couches superficielles des sols viticoles. Les concentrations en cuivre observées sont comprises entre 200 et 1000 mg kg⁻¹. Sur une année, il a été estimé que la quantité moyenne de cuivre apportée était de l'ordre de 4 à 5 mg kg⁻¹ de terre. De plus dans le cadre de l'agriculture biologique en plein essor, les traitements à base de cuivre sont largement utilisés (bouillie bordelaise ou bourguignonne : $\text{CuSO}_4 + \text{CO}_3\text{Na}_2$). La quantité de cuivre apportée au sol devrait donc encore s'accroître dans les années à venir. Par ailleurs, les sols viticoles européens sont parmi les sols les plus pollués en cuivre en raison de l'âge des vignobles. L'érosion et le lessivage des sols engendrent le transfert du cuivre vers le réseau hydrologique. Par conséquent, les écosystèmes aquatiques sont menacés.

Toxicité et spéciation du cuivre

La concentration n'entraînant pas d'effets à long terme sur une espèce donnée est généralement exprimée sous forme d'une NOEC (No Observed Effect Concentration). Dans un bioessai, cette concentration est la plus forte concentration testée n'ayant pas entraîné d'effets significatifs pendant la durée de l'expérimentation. La concentration prévue jusqu'à laquelle aucun effet n'est observé est exprimée sous forme d'une PNEC (Predicted No effect Concentration). Cette concentration correspond au cinquième percentile de la distribution des NOEC, c'est à dire, la concentration protégeant au moins 95% des espèces d'un écosystème (E.C., 1996). A partir de l'ensemble des données écotoxicologiques existantes, le GRNC (Groupe Radioécologie Nord Cotentin) propose une PNEC de 1,6 µg L⁻¹ (GRNC, 2002). Dans 96% des cas où les concentrations en cuivre ont été mesurées dans les eaux de surfaces françaises (4254 échantillons), les concentrations ont été supérieures à la PNEC : 1,6 µg L⁻¹. Dans ce

contexte et en raison du caractère toxique du cuivre, une surveillance accrue des pollutions par ce métal s'impose et doit être mise en oeuvre.

Le cuivre est présent dans les milieux aquatiques sous différentes formes. La phase dissoute comprend des ions hydratés, des complexes inorganiques et organiques ainsi que des espèces associées à la phase colloïdale. Dans la phase particulaire, le cuivre est également présents sous diverses formes chimiques, depuis l'adsorption faible jusqu'à leur liaison au sein même de la matrice minérale. Il est couramment admis que le cuivre particulaire n'est pas toxique car difficilement assimilable. En revanche le cuivre dissous est toxique. Sa toxicité vis à vis des organismes est directement liée à la concentration en ion libre (Cu^{2+}) dans l'eau. D'autres formes inorganiques du cuivre telles que les complexes avec les groupements hydroxydes et carbonates peuvent également être biodisponibles. Pour une évaluation rigoureuse des risques liés à la présence du cuivre dans les milieux aquatiques, la connaissance de la concentration totale en cuivre dissous n'est donc pas suffisante. Il est nécessaire de prendre en compte la spéciation du métal.

La spéciation du cuivre est directement liée aux paramètres physico-chimiques de l'eau (pH, matière organique, dureté, alcalinité, matière en suspension...). Les variations de ces paramètres peuvent modifier de façon significative les proportions des différentes formes de cuivre dans le milieu via des phénomènes de complexation, de précipitation et d'adsorption. Ces phénomènes doivent être pris en compte pour mieux connaître l'incidence des formes toxiques du cuivre sur l'environnement et donc sa toxicité vis à vis des organismes. Par ailleurs, le compartiment sédimentaire doit aussi être pris en compte car il joue un rôle important dans le stockage et le recyclage des métaux. En outre, il abrite de nombreux organismes vivants.

Finalement, La question fondamentale à la frontière entre l'écotoxicologie et la chimie de l'environnement est donc d'identifier la fraction biodisponible du cuivre pour les organismes vivants. Il s'agit aussi de déterminer l'influence des conditions du milieu sur cette fraction. L'objectif principal de cette étude est donc d'apporter des connaissances nouvelles sur la relation entre l'écotoxicité des différentes formes chimiques du cuivre envers les écosystèmes aquatiques et sa bio disponibilité dans le milieu. Les mésocosmes constitue un outil original et innovant puisqu'ils reproduisent des conditions naturelles contrôlées et définies par les expérimentateurs. Ils peuvent donc permettre de déterminer le type de relation entre les impacts sur le biota et les formes chimiques responsables de ces effets.

Prélèvements

Les mésocosmes sont constitués de 12 canaux rectilignes de vingt mètres de long et de 1 mètre de large. Chaque canal est composé de deux zones de même longueur mais de profondeurs différentes : en amont 30 cm et en aval 70 cm.

Colonne d'eau

Les mésocosmes sont échantillonnés de deux façons. La première méthode consiste à prélever simplement, à 20 cm en dessous de la surface, un volume d'eau à différents endroits du canal (5, 10, 15 et 19 m). Cette opération est réalisée dans les canaux 2, 4, 7 et 9. La seconde méthode est identique à la première hormis le fait que les différents échantillons sont réunis pour former un échantillon dit « composite » représentatif de l'intégralité du canal. Cette opération est réalisée dans l'ensemble des canaux. La fréquence de prélèvement a été hebdomadaire au cours des premiers mois de l'expérience. Les échantillons sont ensuite prélevés tous les mois.

Sédiment

Le sédiment est prélevé sous forme de carottes par deux méthodes différentes (échantillon séparé et composite). Dans le cas des échantillons séparés, les prélèvements sont effectués à 11, 13, 15, 17 et 19 mètres. Cette opération est réalisée dans les canaux 2, 4, 7 et 9. La même méthode est utilisée pour les échantillons composites, mais les échantillons prélevés sont réunis et homogénéisés. Cette opération est réalisée dans l'ensemble des canaux. La fréquence des mesures pour le sédiment a été trimestrielle en début d'expérimentation. Une surveillance semestrielle est ensuite mise en œuvre.

Eau interstitielle

Les eaux interstitielles sont obtenues après centrifugation et filtration des échantillons de sédiment prélevés à 15 mètres dans chaque canal. Les prélèvements sont réalisés dans chaque canal. La fréquence de mesure est similaire à celle des sédiments.

Qualité de l'eau

Les résultats des analyses sur les principaux paramètres physico-chimiques sont présentés dans le tableau 1 sous forme de moyennes pour la période avril 2002 - juin 2003. Les moyennes ont été calculées à partir des résultats de mesures obtenus sur les échantillons composites et séparés de chaque canal.

Tableau 1 : Valeurs moyennes des principaux paramètres physico-chimiques de l'eau des canaux expérimentaux d'avril 2002 à juin 2003

Paramètres	Moyenne	± Ecart-type	Intervalle de confiance à 95%	Coefficient de variation (%)	Min - Max
Température (°C)	13,1	± 3,9	0,9	29,7	4,3 - 21,6
Oxygène dissous (mg L ⁻¹)	11,6	± 2,3	0,5	19,8	6,3 - 22,5
pH	7,7	± 0,2	0,0	2,1	6,6 - 8,4
Conductivité (µohm cm ⁻¹)	682,9	± 67,4	16,5	9,9	509,5 - 799,5
Carbonate (mmol H ⁺ L ⁻¹)	4,9	± 0,5	0,3	10,3	3,7 - 6,3
Phosphate (mg L ⁻¹)	<0,05				<0,05 - 0,2
Ammonium (mgL ⁻¹)	0,1	± 0,1	0,1	192,7	<0,05 - 0,9
Aluminium (mg L ⁻¹)	<0,01				
Fer (mg L ⁻¹)	<0,02				
Silice (mg L ⁻¹)	5,3	± 0,5	0,3	9,0	4,4 - 6,2
Calcium (mg L ⁻¹)	115,6	± 10,1	7,4	8,7	102,7 - 164,2
Sodium (mg L ⁻¹)	11,2	± 1,3	0,9	11,5	8,5 - 13,6
Magnésium (mg L ⁻¹)	11,5	± 0,5	0,4	4,3	10,7 - 12,7
Potassium (mg L ⁻¹)	3,1	± 0,5	0,3	15,0	2,5 - 4,2
MES(mg L ⁻¹)*	4,8	± 9,9	4,5	211,5	< 2 - 98,9
COD (mg L ⁻¹)	1,8	± 0,9	0,7	48,0	0,6 - 6,9
COT (mg L ⁻¹)	2,1	± 1,0	0,8	47,0	0,6 - 6,8
Nitrate (mg L ⁻¹)**	0,8	± 1,3	0,6	156,3	< 0,05 - 9,6
Chlorure (mg L ⁻¹)**	69,1	± 20,3	10,4	29,5	26,4 - 107,0
Sulfate (mg L ⁻¹)**	7,1	± 7,1	3,6	100	0,5 - 35,5

* les valeurs en dessous de la limite de détection (2 mg L⁻¹) ont été considérées nulles pour le calcul de la moyenne

** la variabilité importante sur ces paramètres est liée aux variations qualité de l'eau qui alimente les mésocosmes

Aucune variation significative des paramètres physico-chimiques de l'eau n'a été observée entre les canaux après une contamination en cuivre de près de 60 semaines. Aucune variation significative n'a également été observée entre les points de prélèvement (5, 10, 15 et 19 m) des canaux. Comparé à la période avril-septembre 2002 (Bonzom et Morin, 2002), l'intégration des nouvelles données (Oct. 2002-Juin 2003) dans le calcul des moyennes ne permet pas de déterminer de nettes variations des paramètres physico-chimique en fonction du temps.

Concentrations moyennes d'exposition

Les concentrations moyennes d'exposition (CME) ont été calculées pour chacun des canaux en utilisant les résultats des mesures en cuivre dissous acquises entre avril 2002 et juin 2003. Une méthode d'intégration qui conduit à la formule suivante pour le calcul de la CME est utilisée pour chacun des canaux :

$$CME = \frac{\sum_{i=1}^n \bar{c}_i \times \Delta t_i}{\sum_{i=1}^n \Delta t_i}$$

où $\bar{c}_i = (c_i + c_{i-1})/2$, $\Delta t_i = t_i - t_{i-1}$ et c_i = concentration en cuivre à t_i

Le tableau 2 présente pour chaque canal, les concentrations nominales (CN), les concentrations moyennes, les concentrations moyennes d'expositions (CME) ainsi que l'écart-type, l'intervalle de confiance et le pourcentage d'écart de la CME par rapport à CN.

Tableau 2 : Concentrations moyennes d'exposition (cuivre dissous en $\mu\text{g L}^{-1}$) dans les différents canaux d'avril 2002 à juin 2003

Canal	Conc. Nominale CN ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Conc. moyenne d'Exposition CME ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Conc. moyenne \pm Ecart-type ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Intervalle de confiance à 95 %	Ecart (%) (CN-CME)/CN
4*	0	0,4	0,3 \pm 0,6	0,2	nd
8*	0	0,4	0,2 \pm 0,8	0,3	nd
12*	0	0,4	0,3 \pm 0,5	0,2	nd
3	5	4,0	3,9 \pm 1,8	0,7	20
7	5	3,7	3,4 \pm 1,9	0,7	26
11	5	3,3	3,3 \pm 1,7	0,6	34
1	25	21,2	21,4 \pm 7,9	3,1	15
5	25	20,9	20,6 \pm 6,8	2,7	16
9	25	21,5	21,2 \pm 14,0	5,5	14
2	75	60,0	58,8 \pm 24,1	9,5	20
6	75	61,6	63 \pm 19,8	7,8	18
10	75	62,3	62,1 \pm 22,0	8,6	17

* les concentrations en dessous de la limite de quantification ($0,5 \mu\text{g L}^{-1}$) ont été considérées nulles pour le calcul de la moyenne

Les concentrations moyennes en cuivre dans les canaux des mésocosmes sont très proches des concentrations moyennes d'expositions. En outre, ces valeurs sont toujours en dessous des concentrations nominales souhaitées. Cet écart varie entre 14 et 34 %.

Spéciation

Il est aujourd'hui reconnu que la toxicité du cuivre est fortement liée aux différentes formes sous lesquelles ce métal se trouve dans le milieu. Des expérimentations ont été réalisées dans le but de quantifier la fraction dite « biodisponible ». Cette fraction est généralement constituée des ions métalliques labiles, mais aussi des complexes métalliques avec les groupements hydroxydes et carbonatés. Tout autre complexe capable de se dissocier à la surface des cellules des organismes peut être potentiellement biodisponible. Les expérimentations réalisées au printemps (mai 2002) et en hiver (février 2003) avaient pour but d'estimer la fraction biodisponible dans les eaux des mésocosmes. Pour cela, une colonne chélatante a été utilisée pour séparer et mesurer, dans les échantillons d'eau des mésocosmes, la fraction labile du cuivre. Les formes chimiques isolées dans cette fraction sont très similaires à celles de la fraction biodisponible. Les résultats de ces expérimentations sont présentés sur la figure 1.

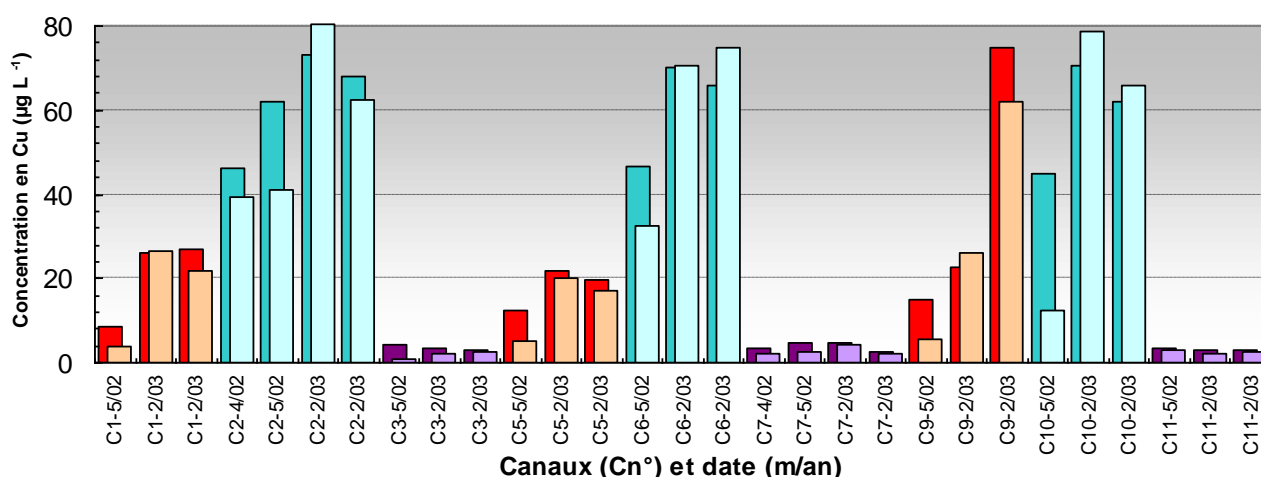


Figure 1 : Concentrations en cuivre total (■ canaux 1-5-9 ; ■ 2-6-10 ; ■ 3-7-11) et en cuivre labile (■ canaux 1-5-9 ; ■ 2-6-10 ; ■ 3-7-11) dans les différents canaux

Descriptions supplémentaires des méthodes et des résultats de la chimie aquatique

Tableau 3 : Concentrations en cuivre total et en cuivre labile dans les différents canaux expérimentaux contaminés en cuivre

Canal	1	2	3	5	6	7	9	10	11
Cuivre dissous (total)	20,5	62,4	3,6	18,1	60,8	3,8	37,5	59,2	3,1
Cuivre dissous (labile)	17,4	55,8	1,8	14,2	59,3	2,7	31,2	52,3	2,6
% de cuivre dissous labile	75	87	53	73	95	70	79	82	84

La fraction en cuivre labile est comprise entre 53 et 95 %. Les canaux les plus contaminés en cuivre (2/6/10, CN=75 $\mu\text{g L}^{-1}$) présentent les fractions en cuivre labile les plus importantes. A l'inverse, les canaux moins dopés en cuivre (1/5/9, CN=25 $\mu\text{g L}^{-1}$ et 3/7/11, CN= 5 $\mu\text{g L}^{-1}$) sont caractérisés par de plus faibles fractions en cuivre labile. Les paramètres physico-chimiques sont relativement similaires d'un

canal à l'autre (données détaillées non présentées). Ceci suggère que l'enrichissement croissant des canaux tend logiquement à augmenter de façon significative la proportion en cuivre labile dans l'eau par rapport à la concentration en métal total.

Par ailleurs sur l'ensemble des canaux, la fraction en cuivre labile est environ deux fois moins importante au cours du printemps (53 % en moyenne) qu'en période hivernale (93 % en moyenne). La teneur moyenne en matière organique dissoute est deux fois plus importante au printemps ($0,9 \text{ mg L}^{-1}$) qu'en hiver ($2,0 \text{ mg L}^{-1}$). Ces résultats suggèrent que la distribution en cuivre labile serait étroitement liée à celle de la matière organique. La complexation de ce métal avec la matière organique a largement été étudié et des résultats similaires ont déjà été mis en évidence (Paulson et al., 1994 ; Gerringa et al., 1998). Toutefois dans le cadre de notre étude, les concentrations en matière organique sont très faibles ($< 2,0 \text{ mg L}^{-1}$ en général) et proches de la limite de détection. Des expérimentations supplémentaires sont donc nécessaires pour vérifier et confirmer cette tendance. En outre, des processus de complexation avec d'autres ligands, ainsi que des phénomènes d'adsorption et précipitation sont vraisemblablement impliqués à différents degrés dans la distribution du cuivre labile. Actuellement de nouvelles expérimentations, en outre via l'utilisation de DGT (Diffusive Gradient in Thin film, Davison et Zhang (1994)) sont en cours de développement afin d'optimiser la quantification du cuivre labile.

Des essais de modélisation ont par ailleurs été réalisés dans les eaux des mésocosmes sur la fraction inorganique du cuivre à l'aide du logiciel MINEQL+. Ces résultats sont présentés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Pourcentage des différentes formes de cuivre inorganique dans les mésocosmes

Canaux (5, 25 et $75 \mu\text{g L}^{-1}$)	2002									2003	
	Fév.	Mars	Avril	Mai	Juin	Juil.	Août	Sept.	Oct.	Janv.	Mars
Cu^{2+}	4,0	2,1	1,9	2,6	2,6	2,1	2,2	2,6	2,8	4,1	3,6
$\text{Cu}(\text{OH})^+$	1,9	1,6	1,8	2,0	2,3	19,0	1,9	1,9	1,9	1,7	1,6
CuCO_3	91,1	91,4	91,0	91,3	90,9	91,1	91,2	91,3	91,4	91,2	91,3
$\text{Cu}(\text{CO}_3)_2^{2-}$	2,1	4,1	4,4	3,3	3,3	4,2	3,9	3,4	3,1	2,1	2,5

Les simulations montrent la proportion de cuivre inorganique est largement dominée par les mono complexes cuivre/carbonate. La proportion de cuivre sous forme d'ion libre est faible. En moyenne sur l'ensemble des simulations, elle représente de 2,8 % de la fraction total de cuivre inorganique. Des simulations incluant la fraction organique du cuivre sont en cours de réalisation.

Qualité des sédiments

Les sédiments sont suivis chaque trimestre puisqu'ils peuvent être le siège de mécanismes de transformation et de transfert important pour les espèces métalliques. La surveillance est réalisée sur le cuivre, le fer, le manganèse, le phosphore, ainsi que sur le carbone, l'hydrogène et l'azote. Les méthodes utilisées pour la mesure de ces différents paramètres sont présentées en annexe X. A noter qu'une caractérisation complète du sédiment par ICP optique (Al, Si, Ca, Mg, Ti, Na, K, S, et As, Cd, Cr, Ni, Pb, Zn) a été réalisée en début d'expérience ; une autre caractérisation complète sera réalisée en fin d'expérimentation. Les résultats seront présentés dans le rapport final.

Le tableau 5 présente les concentrations moyennes (calculés sur l'ensemble des canaux) pour les différents paramètres (fer, manganèse, phosphore, carbone, hydrogène et azote) pour la période avril 2002-juin 2003.

Tableau 5 : Teneur moyenne en fer, manganèse, phosphore, carbone, hydrogène et azote dans les sédiments des canaux expérimentaux (février 2002-juin 2003) ; coefficient de variation (CVR)

Paramètre	Moyenne	CVR (%)
Fer (mg kg ⁻¹)	27103	10
Manganèse (mg kg ⁻¹)	210	10
Phosphore (mg kg ⁻¹)	285	15
C %	3,7	15
H %	0,7	15
N %	0,2	15

Les mesures ont été effectuées avec la même fréquence que pour les mesures de cuivre dans le sédiment. La variabilité observée sur ces paramètres est relativement importante. Elle est du même ordre de grandeur entre les différents canaux sujets à une même contamination, mais aussi entre les différents canaux sujets à différents degrés de contamination. Une analyse multivariée sera réalisée à l'issue de la phase expérimentale afin d'identifier des tendances.

La figure 2 (a, b, c et d) présente les variations des concentrations moyennes du cuivre dans les sédiments. Les données des différents canaux sont regroupées en fonction de leur degré de contamination en cuivre dans la colonne d'eau :

- (a) canaux 4, 8 et 12 sans contamination,
- (b) canaux 3, 7 et 11 à 5 µg L⁻¹ de cuivre,
- (c) canaux 1, 5 et 9 à 25 µg L⁻¹ de cuivre,
- (d) canaux 2, 6 et 10 à 75 µg L⁻¹ de cuivre.

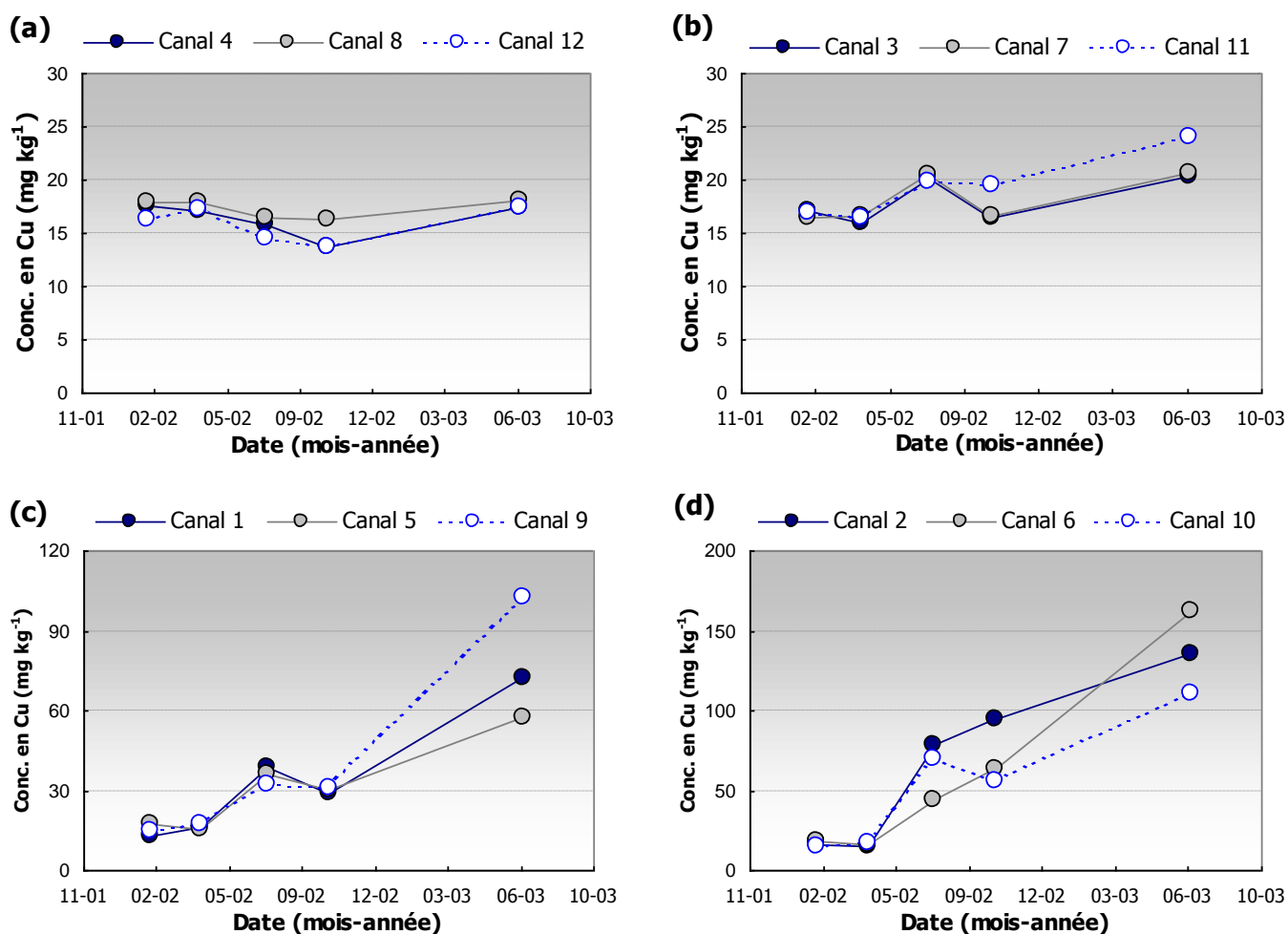


Figure 2 : Variations des concentrations en cuivre dans les sédiments des différents canaux expérimentaux (février 2002-juin 2003) : 0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (a), 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ (b), 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ (c), 75 $\mu\text{g L}^{-1}$ (d)

Excepté pour les canaux non contaminés, et dans une moindre mesure pour les canaux contaminés à 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, les concentrations en cuivre augmentent sensiblement en fonction du temps. La figure 2 montre que les concentrations minimales observées sont généralement comprises entre 15 et 20 mg kg^{-1} . Ces concentrations sont en accord avec les travaux de Salomons et Förstner (1984) qui estiment la concentration en cuivre dans les sédiments considérés comme naturels comprise entre 20 et 50 mg kg^{-1} . Dans les canaux les plus contaminés (1 / 5 / 11) et (2 / 6 / 10), les concentrations atteignent près de 100 à 170 mg kg^{-1} respectivement lors des derniers prélèvements (juin 2003). Ce résultat montre l'influence de la contamination de la colonne d'eau sur le sédiment. En outre, l'augmentation croissante des concentrations en fonction du temps suggère qu'un état d'équilibre n'est vraisemblablement toujours pas atteint.

Les variations des concentrations moyennes en cuivre dans les eaux interstitielles sont présentées sur la figure 3 (a, b, c et d) pour les canaux contaminés à hauteur de 0, 5, 25 et 75 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivement.

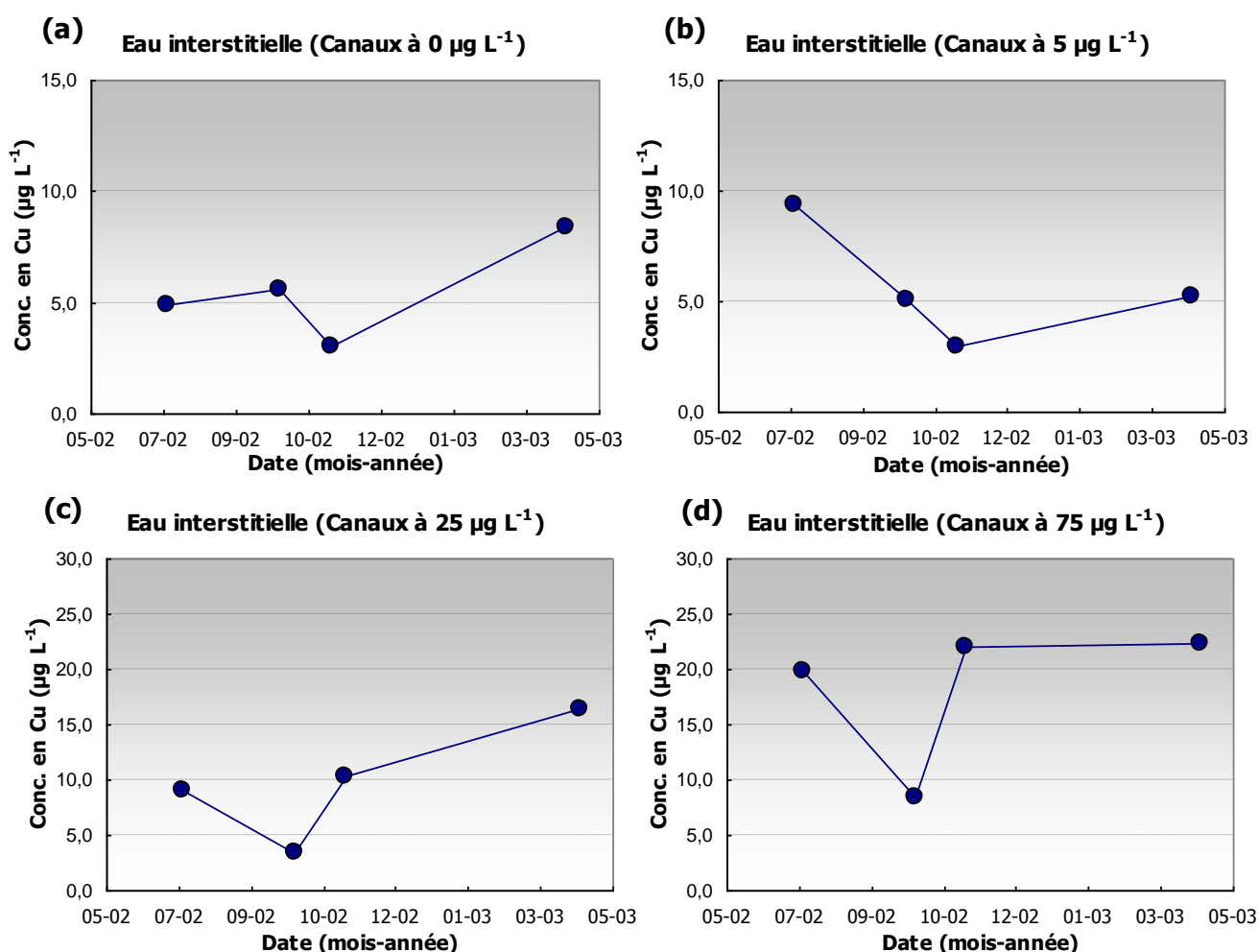


Figure 3 : Variations des concentrations en cuivre (µg L⁻¹) dans les eaux interstitielles des différents canaux expérimentaux (juillet 2002-avril 2003)

Les concentrations en cuivre dans les eaux interstitielles sont comprises entre 2,9 et 22,4 µg L⁻¹. La concentration minimale a été mesurée dans les canaux témoins (non contaminés) et dans les canaux à 5 µg L⁻¹ en octobre 2002. La concentration maximale est observée en avril 2003 dans les canaux contaminés par la plus forte concentration en cuivre (75 µg L⁻¹).

Les variations au cours du temps sont faibles dans les canaux témoins. La concentration en cuivre augmente toutefois sensiblement en avril 2003. Dans les canaux à 5 µg L⁻¹, les concentrations en cuivre dans les eaux interstitielles diminuent assez rapidement de février à octobre 2002 où elles atteignent un minimum (2,9 µg L⁻¹). Une augmentation est ensuite observée jusqu'en avril 2003. Dans les autres canaux (25 et 75 µg L⁻¹), les variations saisonnières sont quasi similaires. Les concentrations sont comprises entre 9,1 et 19,8 µg L⁻¹ en juillet 2002 et atteignent un minimum en octobre (≈ 3,4 et 8,4 µg L⁻¹ respectivement). La concentration en cuivre dans l'eau interstitielle augmente ensuite rapidement jusqu'en avril dans le canal contaminé à 25 µg L⁻¹. Elle augmente jusqu'en novembre 2002 dans le canal à 75 µg L⁻¹ et reste constante jusqu'en avril 2003.

Annexe X

Méthodes d'analyses physico-chimiques

Qualité de l'eau

Chlorures, nitrates, sulfates, phosphates : méthode d'analyse par chromatographie d'échange d'ions selon **NF EN ISO 10304**

Aluminium, fer, silicium, calcium, sodium, potassium : méthode d'analyse par spectrométrie d'émission atomique selon **NF EN ISO 11885** (ICP-AES)

Carbone organique dissous et total (COD, COT) : oxydation du carbone organique en dioxyde de carbone par combustion (le carbone inorganique doit être au préalable éliminé par acidification et purgé) puis dosage de CO₂ selon **NF EN 1484**.

Alcalinité (dosage des carbonates) : : titrage à l'acide chlorhydrique avec élimination simultanée du dioxyde de carbone selon **NF EN ISO 9963**

Matières en suspension (MES) : pesée après filtration selon **NF 872**

Cuivre dissous, particulaire et total : l'eau est filtrée sur une membrane de 0,45 µm , la phase particulaire si elle existe est extraite par minéralisation par voie acide de la membrane. L'eau filtrée est dosée par spectrométrie d'absorption atomique selon le protocole AFNOR **FDT 90-119** de manière à atteindre des limites de quantification de l'ordre de 0,5 µg/L (plus faible que celle qui pourrait être atteinte par ICP-AES (1 µg/L)
Le cuivre « total » est la somme des 2 phases précédentes.

Cuivre labile : la méthode en cours de développement est basée sur le couplage de la chromatographie d'échange d'ions (IC) avec un spectromètre de masse à plasma induit (ICP/MS). L'échantillon est envoyé via une boucle dans une résine chélatante capable de fixer les cations « libres » pendant que les autres constituants (y compris les complexes les plus gros du cuivre) passent au travers. Cette résine a donc la capacité de fixer et de concentrer (par voie de conséquence) en particulier les ions cuivriques les complexes labiles de ce métal. L'acide nitrique permet ensuite d'éluer l'analyte qui est envoyé vers l'ICP/MS pour une analyse transitoire des signaux de masse 63 et 65 (isotopes du cuivre).

Qualité des sédiments

Cuivre dans les eaux interstitielles : Les échantillons de sédiments sont centrifugés. Le surnageant est ensuite filtré sur membrane 0,45 µm et acidifié. L'échantillon est alors traité comme l'eau (cuivre dissous).

Métaux et Phosphore dans les sédiments : les échantillons de sédiments sont tamisés à 0,9 mm avec de l'eau d'un des canaux témoins. Après décantation, la partie solide est récupérée pour être lyophilisée et broyée au mortier en agathe (granulométrie < 200 µm). Les échantillons sont ensuite minéralisés par attaque acide (mise en solution totale selon NF X 31-147) et analysés par ICP-AES selon NF EN ISO 11885.

Carbone, Hydrogène, Azote (C,H,N) : analyse élémentaire après combustion du solide sous oxygène et analyse par spectrométrie Infra-rouge de CO₂ et H₂O, et analyse par conductibilité thermique de N₂O.

Suivi du cuivre « total » dans le compartiment biologique

Gammarès, limnées et autres végétaux : les végétaux prélevés sont séchés à l'étuve. Les gammarès et les limnées sont lyophilisés. Les échantillons ainsi exempts d'humidité sont minéralisés par attaque à l'acide nitrique et chlorhydrique puis dosés par spectrométrie d'émission atomique (ICP-AES) selon NF EN ISO 11885.

Foies de poisson (épinoches) : les foies de poisson sont récupérés après dissection, ils sont homogénéisés dans une solution tampon pour une analyse biochimique (biomarqueurs). Une partie de ces homogénats subie une digestion à l'acide nitrique et est analysée directement par ICP-AES selon NF EN ISO 11885.

Références bibliographiques

BONZOM J. M. & MORIN A. (2002)

La spéciation du cuivre et les effets sur l'écosystème aquatique d'eau douce : une étude en mésocosme. *BCRD Ministère de l'écologie et du développement durable, rapport d'avancement 1^{ère} année*, 70 p.

DAVISON W & ZHANG H. (1994)

In situ speciation measurements of trace components in natural waters using thin-film gels. *Nature* **367**, 546-548.

E.C. (1996)

Technical guidance document in support of Commission Directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances and Commission Regulation (EC) No 1488/94 on risk assessment for existing substances. Luxembourg, Office for Official Publications of the European Communities.

GERRINGA L. J. A., HUMMEL H. & MOERDIJK-POORTVLIET T. C. W. (1998)

Relations between free copper and salinity, dissolved and particulate organic carbon in the Oosterschelde and Westerschelde, Netherlands. *Netherlands Journal of Sea Research* **40**, 193-203.

GROUPE RADIOECOLOGIE NORD COTENTIN (1994)

Risques pour l'environnement. *Volume 3*, 210 p.

PAULSON A. J., CURL H. C. & GENDRON J. F. (1994)

Partitioning of Cu in estuarine waters, I. Partitioning in a poisoned system. *Marine Chemistry* **45**, 67-80.

SALOMONS W. & FÖRSTNER U. (1984)

Metals in the hydrocycle. Berlin. Springer-Verlag, 349 p.