



HAL
open science

Développement et validation d'une méthode d'analyse in situ des phosphates échantillonnés par DGT (Diffusive Gradient in Thin film) dans les eaux de surfaces : application dans des plans d'eau aquitains

K. Gery, Nicolas Mazzella, Mélissa Eon, G. Jan, Sylvia Moreira, Christophe Laplace-Treyture

► To cite this version:

K. Gery, Nicolas Mazzella, Mélissa Eon, G. Jan, Sylvia Moreira, et al.. Développement et validation d'une méthode d'analyse in situ des phosphates échantillonnés par DGT (Diffusive Gradient in Thin film) dans les eaux de surfaces : application dans des plans d'eau aquitains. [Rapport de recherche] irstea. 2017, pp.52. hal-02606154

HAL Id: hal-02606154

<https://hal.inrae.fr/hal-02606154>

Submitted on 16 May 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.

Développement et validation d'une méthode d'analyse in situ des phosphates échantillonnés par DGT (Diffusive Gradient in Thin film) dans les eaux de surfaces

Application dans des plans d'eau aquitains

Février 2017



Développement et validation d'une méthode d'analyse
in situ des phosphates échantillonnés par DGT (Diffusive
Gradient in Thin film) dans les eaux de surfaces

Rapport final

K. Gery, N. Mazzella, M. Eon, G. Jan, S. Moreira,
C. Laplace-Treytore

Février 2017

Ce rapport d'étude fait la synthèse des travaux menés en 2015 et 2016, relatifs aux développements en laboratoire ainsi que les premiers déploiements *in situ*, sur les lacs aquitains, de la technique DGT pour l'échantillonnage passif des phosphates.

Sommaire

Liste des figures.....	5
Liste des tableaux.....	6
Liste des abréviations.....	7
Introduction :.....	8
I- Généralités.....	9
I-1 Intérêts des échantillonneurs passifs pour la surveillance des milieux aquatiques	9
I-2 Les phosphates.....	11
II- Matériels et méthodes.....	13
II-1 Dosage par spectrophotométrie UV-Visible	13
II-2 Dosage par chromatographie ionique	14
II-3 Stratégie d'échantillonnage	15
III- Présentation du DGT	16
III-1 La théorie du DGT.....	17
III-2 Préparation et montage des DGT	19
Fabrication des Gels de diffusion.....	19
Fabrication des résines Titane	20
Elution	21
III-3 Développement et validation de la méthode d'analyse	21
Adaptation du protocole pour la formation du complexe.....	22
Test de linéarité.....	23
Etude des limites de quantifications	24
III-4 Développement de la technique DGT	24
Contamination et étape de purification de la résine Titane.....	24
Caractérisation des résines Titane	25
IV- Application in situ	29
IV-1 Présentation des différents sites d'études.....	29
Parentis-Biscarrosse	29
Cazaux-Sanguinet	30
Hourtin-Carcans.....	31
Lacanau.....	31
IV-2 Présentation des campagnes de terrain	32
Campagnes de terrain 2015	32

Campagnes de terrain 2016	32
Déroulement d'une campagne.....	32
Contrôle qualité.....	33
IV-3 Résultats de terrain	33
Campagnes 2015.....	33
Campagnes 2016.....	35
Résultats issus des prélèvements ponctuels d'eau lors des campagnes 2015 et 2016	36
V- Perspectives.....	38
Conclusion	39
Références Bibliographiques	41
Annexe N°1 : Etapes de préparation des gels diffusifs et des résines Titane.....	42
Annexe N°2 : Réactifs utilisés lors de la fabrication des DGT ou lors de son analyse	43
Annexe N°3 : fabrication des différentes couches et montage du DGT.....	45
Annexe N°4 : Dosage des orthophosphates captés par le DGT	47

Liste des figures

Figure 1 : Evaluation de l'état écologique	10
Figure 2 : Evolution de la concentration d'un contaminant dans un milieu aquatique	11
Figure 3 : Spectrophotomètre Shimadzu UV-1800	14
Figure 4 : Exemple d'un chromatographe obtenu pour un étalon à 0,5 mg.L ⁻¹ de NO ₂ ⁻ , PO ₄ ³⁻ , SO ₄ ²⁻ et 1 mg.L ⁻¹ de Cl, NO ₃ ²⁻	15
Figure 5 : Chromatographie Ionique 881 Compact IC	15
Figure 6 : Flacons de prélèvement	16
Figure 7 : Schéma du dispositif d'un DGT	16
Figure 8 : Phénomène de diffusion des phosphates libres	17
Figure 9 : Moule utilisé pour la fabrication des gels diffusif et des résines Titane	20
Figure 10 : Découpe des résines à l'aide d'un emporte-pièce	21
Figure 11 : les étapes de l'élution : (1) tube en PE, (2) ajout de 10 mL de NaOH, (3) ajout de la résine récupérée après déploiement et élution pendant 24 h sous agitation, (4) retrait de la résine, (5) échantillon prêt pour l'analyse UV)	21
Figure 12 : A cuve de 1 cm, B cuve de 5 cm	23
Figure 13 : Résultats du test de linéarité et droite d'étalonnage	23
Figure 14 : Masse de phosphate retrouvée dans la résine de titane selon sa purification	25
Figure 15 : Suivi au cours du temps de la quantité de PO ₄ ³⁻ dans la solution de dopage	25
Figure 16 : Masse de phosphate retrouvée après élution de chaque résine de titane	26
Figure 17 : Quantité maximale de phosphate accumulée dans chaque résine	27
Figure 18 : Evolution de la masse de phosphate dans les DGT au cours du temps (Calibration dans l'eau déminéralisée)	27
Figure 19 : Localisation des quatre lacs étudiés	29
Figure 20 : Localisation du point d'exposition sur le lac de Parentis-Biscarrosse	30
Figure 21 : Localisation du point d'exposition des DGT sur le lac de Cazaux-Sanguinet	30
Figure 22 : Localisation du point d'exposition des DGT sur le lac d'Hourtin-Carcans	31
Figure 23 : Localisation du point d'exposition des DGT sur le lac de Lacanau	31
Figure 24 : Déploiement des DGT	33
Figure 25 : Contamination des DGT terrains de Lacanau en 2015	33
Figure 26 : Résultats semi-quantitatifs obtenus lors des différentes campagnes 2015 à partir des DGT	34
Figure 27 : Résultats semi-quantitatifs obtenus lors des différentes campagnes 2016 à partir des DGT	36
Figure 28 : Résultats des analyses de phosphore total (analyse ponctuelle en rouge) et des phosphates (analyse DGT en bleu). Concentrations en µg.L ⁻¹ selon une échelle logarithmique au cours des campagnes 2016	38

Liste des tableaux

Tableau 1 : Différentes résines utilisées pour la technique du DGT (¹ Docekalova, 2005 ; ² Teasdale, Hayward, Davison, Science, & La, 1999 ; ³ Garmo, Røyset, Steinnes, & Flaten, 2003; ⁴ Zhang et al., 1998; ⁵ Panther et al., 2010)	17
Tableau 2 : Préparation de la solution des réactifs combinés pour la formation du complexe	22
Tableau 3 : Comparaison des volumes des réactifs pour la formation du complexe phosphomolydique.....	22
Tableau 4 : Comparaison des points de gammes (mg.L ⁻¹) pour l'analyses des eaux et analyses DGT	23
Tableau 5 : Résumé des différentes campagnes de terrain.....	32
Tableau 6 : Comparaisons des deux méthodes d'échantillonnage.....	37

Liste des abréviations

ADN	Acide DésoxyriboNucléique
ATP	Adénosine TriPhosphate
DBL	Diffusive Boundary Layer
DCE	Directive Cadre sur l'Eau
DET	Diffusion Equilibrium in Thin films
DGT	Diffusive Gradients in Thin films
DRP	Dissolved Reactive Phosphorus
ED	Eau Déminéralisée
EUP	Eau Ultra-Pure
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry
LQ	Limite de Quantification
mL	millilitre
PE	PolyEthylène
TiO ₂	Dioxyde de Titane
TEMED	N,N,N',N'-TEtraMethylEthane-1,2-Diamine
TPPS	TriPolyPhosphates de Sodium

Introduction :

Le phosphore est un composé essentiel à la vie, en milieu aquatique le phosphore se présente sous différentes formes, dont les orthophosphates. C'est sous cette forme (PO_4^{3-}), association de phosphore et d'oxygène que le phosphore est directement assimilable par les plantes. Tout comme les nitrates, les phosphates sont des nutriments pour les plantes. Ils sont indispensables à leurs développements notamment pour la croissance des racines et la maturation des fruits et des graines. Non toxique en eux-mêmes pour la vie animale et végétale, ils portent atteinte à l'environnement dès lors qu'ils sont présents en trop fortes concentrations. En effet, un apport excessif de phosphore dans les eaux peut provoquer une croissance importante de la végétation. Par conséquent l'excès des phosphates combinés à une teneur élevée en nitrates est une des causes majeures d'eutrophisation accélérée des plans d'eaux. Cette dernière peut être définie par la dégradation ou la modification d'un milieu aquatique qui est liée en général à un apport excessif de substances nutritives qui augmente la production d'algues et d'espèces aquatiques. Dans les eaux de surface, le phosphore est présent en très faible quantité, ainsi lorsque qu'il arrive dans les eaux, il est directement assimilé par les algues et les plantes pour leurs propres besoins.

Les phosphates sont présents dans les produits d'entretien pour ses propriétés tensio-actives. Ils se retrouvent dans les eaux de surface par le biais des eaux usées. Les phosphates sont également présents dans les engrais utilisés pour les jardins et se retrouvent ainsi dans les eaux souterraines après lessivage et infiltration.

Actuellement, il existe un nombre limité de techniques qui permettent de détecter et de quantifier des phosphates (PO_4^{3-}) dans des eaux de surface avec des concentrations de l'ordre du $\mu\text{g.L}^{-1}$. Généralement dans les laboratoires d'analyses, la spectrophotométrie est la technique la plus utilisée, car elle est relativement simple à mettre en place et la méthode est normalisée (NF EN ISO 6878). Il est également possible de réaliser des mesures par ICP-MS, mais cela nécessite un appareillage de haute résolution et qui induit des coûts démesurés par rapport à la technique colorimétrique précédente. La technique de la chromatographie ionique couplée avec un conductimètre peut être une bonne alternative.

Les techniques d'échantillonnages des phosphates utilisées par les réseaux de surveillances pour mesurer le niveau de contamination dans les eaux de surfaces sont réduites à de simples prélèvements ponctuels d'eau à l'aide de flaconnage en polypropylène. Ce type de prélèvement permet la mesure de la dose de contaminants d'un échantillon prélevé à un endroit et un instant donnés. Ce type d'échantillonnage n'est pas représentatif de la variation du niveau de la concentration d'un contaminant dans le milieu au cours du temps. Les limites de quantification issues des méthodes d'analyse associées à ces types de prélèvements ponctuels sont parfois insuffisantes pour pouvoir mettre en évidence les PO_4^{3-} dissous dans l'eau. Pour finir, cette technique ne permet pas d'évaluer des niveaux de contaminations faible et sur une longue période.

La présente étude vise à développer et tester un échantillonneur intégratif, nommé DGT (Diffusive Gradients in Thin films) pour la détection et la quantification des ions phosphates dans les eaux de quatre lacs du bassin aquitain.

I- Généralités

L'évolution de l'activité industrielle, domestique et agricole, conduit non seulement à une augmentation importante de la demande en eau à travers le monde, mais également à des rejets considérables de composés chimiques divers et variés dans l'environnement (Ansanay-alex, 2013). De par son cycle biogéochimique, l'eau est présente à travers tous les écosystèmes et représente ainsi le réceptacle majeur de ces composés chimiques (Ansanay-alex, 2013). Ainsi une véritable problématique environnementale est née, concernant la qualité globale de l'eau présente sur Terre, limitant ainsi sa potabilisation et la préservation du biote aquatique. C'est ainsi que la Directive cadre sur l'eau (DCE, 2000/60/EC), a été instaurée en octobre 2000 dans le but de préserver l'état des milieux aquatiques.

I-1 Intérêts des échantillonneurs passifs pour la surveillance des milieux aquatiques

Aujourd'hui la surveillance des milieux aquatiques est devenue un enjeu important au niveau international, national et local. Mais les différents contextes réglementaires corrélés aux différentes catégories de masses d'eau à étudier (eau potable, effluents, eaux de surface comme les lacs et les rivières) montrent la complexité de l'homogénéisation des méthodes à mettre en place pour le suivi des différents polluants dans l'eau. Dans le cadre de l'étude de l'état écologique, le bon état d'une masse d'eau de surface résulte de l'appréciation de la structure et du fonctionnement des écosystèmes aquatiques intégrés à cette masse d'eau. Comme il est indiqué dans la DCE/2000/EC, le bon état écologique est déterminé à l'aide d'éléments de qualité : biologiques (espèces végétales et animales), hydromorphologiques et physico-chimiques déterminés par des indicateurs. Pour chaque type de masse d'eau, il se caractérise par un écart aux conditions de référence de ce type, qui est désigné par l'une des cinq classes suivantes : très bon, bon, moyen, médiocre et mauvais. Les conditions de référence d'un type de masse d'eau sont les conditions représentatives d'une eau de surface de ce type, pas ou très peu influencée par l'activité humaine.

L'arrêté du 27 juillet 2015 modifie l'arrêté du 25 janvier 2010 relatif aux méthodes et critères d'évaluation de l'état écologique, de l'état chimique et du potentiel écologique des eaux de surface. De nouveaux critères sont à appliquer pour l'élaboration des cartes d'état qui vont figurer dans les schémas directeurs d'aménagement et de gestion des eaux.

La Figure 1 ci-dessous présente l'évaluation de l'état écologique issu de l'arrêté du 27 juillet 2015.

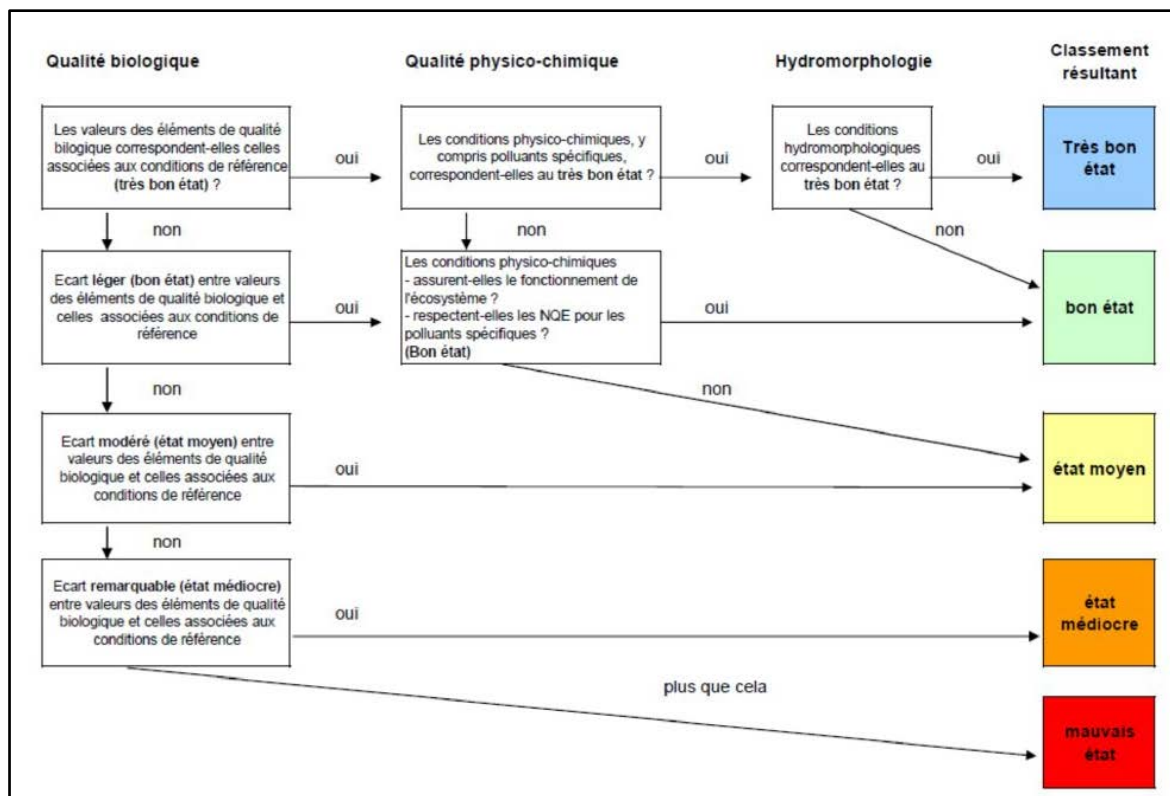


Figure 1 : Evaluation de l'état écologique

Dans cette optique, des organismes tels que les Agence de l'Eau sont chargés d'assurer la surveillance de la qualité des eaux par des suivis environnementaux, constitués de prélèvements d'eau réalisés 4 à 12 fois par an. Dans un lacs, les nutriments sont vitaux pour le développement des plantes, des algues et de la vie animale, ils influencent ainsi directement la base du réseau trophique soutenant l'ensemble de l'écosystème aquatique. A cause de leurs niveaux de concentration parfois très faibles dans les milieux, il est de plus en plus difficile d'obtenir des résultats sur le niveau de la qualité des eaux dans l'environnement à partir des prélèvements ponctuels. Il devient alors indispensable de développer de nouvelles techniques analytiques permettant de les quantifier.

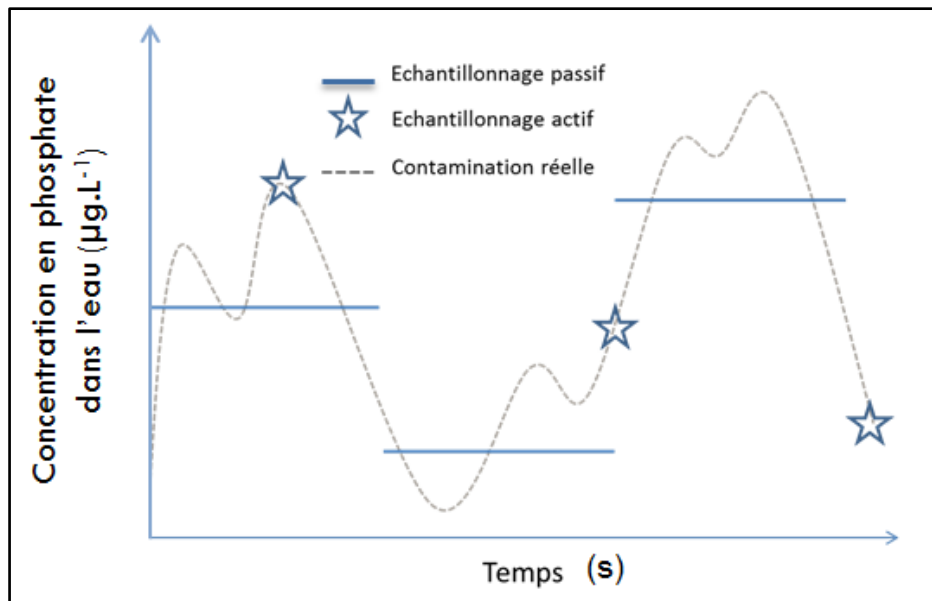


Figure 2 : Evolution de la concentration d'un contaminant dans un milieu aquatique

Comme il est représenté en pointillée sur Figure 2, le niveau de contamination dans un milieu aquatique peut varier en fonction des saisons et de l'hydrologie du moment. Ainsi les résultats obtenus à partir des prélèvements ponctuels ne sont pas représentatifs de l'évolution de la concentration du contaminant dans l'eau. De plus des pics de contaminations peuvent passer inaperçus dans les réseaux de mesures ce qui provoque une image partielle de la qualité des milieux aquatiques.

Afin de répondre en partie aux problèmes précédents, des techniques d'échantillonnages passifs, considérées comme complémentaires à celles utilisées dans le cadre de la DCE, sont développées continuellement. Ce type d'échantillonnage présente de nombreux avantages dont la possibilité de mesurer la fraction libre dissoute d'une espèce donnée (généralement la partie la plus biodisponible) ainsi que la capacité à pré-concentrer l'espèce recherchée, ce qui permet d'abaisser les limites de quantifications. De plus les méthodes d'analyses pour un échantillonneur passif sont les mêmes que celles utilisées pour un échantillon d'eau issu d'un prélèvement ponctuel. Les échantillonneurs passifs (DGT) pour les métaux et les nutriments existent déjà et se sont maintenant largement démocratisés dans le monde de la recherche.

I-2 Les phosphates

Les phosphates sont des composés phosphorés présents dans le milieu naturel, le phosphore (P) se retrouve généralement sous la forme de molécules de phosphates.

Parmi les phosphates présents dans l'eau, il existe trois familles souvent distinguées :

- Orthophosphates : qui sont les sels minéraux de l'acide phosphorique (H_3PO_4). Cette forme notée o-P, représente la forme inorganique du phosphore présente dans la phase dissoute de l'eau appelé DRP « Dissolved Reactive Phosphorus » (Panther et al., 2010).

- Polyphosphates (ou phosphates condensés) : ils correspondent à des molécules plus complexes de phosphates minéraux.

- Phosphates organiques : ils correspondent à des molécules de phosphates qui sont associées à des bases carbonées comme dans la matière organique vivante ou morte (animaux, végétaux, microorganismes).

Dans l'eau, les phosphates inorganiques (orthophosphates et polyphosphates) et les phosphates organiques peuvent se retrouver sous formes dissoutes et/ou sous forme particulaire (associés aux particules en suspension, de sédiment ou du sol).

Contrairement à l'azote, les composés gazeux du phosphore n'existent pas ou très peu dans l'atmosphère. Il n'existe donc pas de réservoir atmosphérique important de phosphore. En milieu terrestre, pratiquement tout le phosphore est dérivé de l'altération des phosphates de calcium des roches de la surface de la lithosphère. Le lessivage de celles-ci par les processus naturel d'érosion conduit à sa solubilisation dans les milieux aquatiques. Le phosphore est donc un élément limitant dans plusieurs écosystèmes terrestre, à cause de l'absence de réservoir atmosphérique et sa disponibilité qui est directement liée à l'altération superficielle des roches. Sans la présence de l'activité humaine, les eaux de surface contiennent que très peu de phosphates, Meybeck & Helmer (1989) estiment que la teneur naturel en phosphate dans les cours d'eau est inférieur à $0,025 \text{ mg.L}^{-1}$, cela dépend principalement de la nature de la phase géologique présente dans les cours d'eaux.

Le phosphore est un élément minéral nutritif qui est essentiel pour les végétaux, il est présent principalement dans l'ADN et les molécules type ATP. Les orthophosphates dissous dans la colonne d'eau vont être absorbés par les végétaux et cela va être l'élément moteur de la croissance de ces derniers. Donc les orthophosphates sont couramment associés à des éléments « biodisponibles » pour les végétaux. Lors de la décomposition de la matière organique phosphorée, les bactéries présentes dans les eaux, les sédiments et les sols les transforment en phosphates minéraux dissous selon le processus de minéralisation. A contrario des nitrates, les phosphates sont moins facilement lessivables. Ils s'adsorbent plus facilement sur les particules du sol, de sédiment et aux particules qui peuvent se trouver en suspension dans le milieu pour former des complexes organiques ou minéraux. Ce qui explique que lors de l'infiltration de l'eau dans les sols, une fraction des phosphates initialement dissous dans l'eau va être retenue par les particules du sol. Une partie va être entraînée et va contaminer les eaux superficielles et les nappes phréatiques.

Les principales sources de contamination des eaux par les phosphates proviennent des rejets d'eaux domestiques et de l'agriculture. En 2003, le rapport de Miquel & Revol indique qu'en France, les rejets de phosphore sont estimés à environ 70 000 tonnes par an, dont 51 % sont d'origine urbaine. L'utilisation de tripolyphosphates (TPPS) comme additifs dans les lessives textiles et dans les produits de lave-vaisselle constitue, entre autre, une source de contamination des eaux de rejets. Cette source de pollution a été réglementée dans divers pays (Etats-Unis, Japon, certains pays Européens) et est en cours de diminution effective. Dans les pays où la production agricole intensive est particulièrement développée, l'utilisation d'engrais phosphatés peut constituer la principale source artificielle d'enrichissement des eaux en phosphate. Le phosphore utilisé comme engrais, est principalement dispersé sous forme d'orthophosphates soluble, et donc sous forme « biodisponible ».

Tout comme l'azote, le phosphore est un nutriment indispensable pour les organismes vivants, sauf qu'il peut être considéré comme un polluant lorsqu'il est présent à de trop hautes

concentrations dans l'environnement. L'un des problèmes environnementaux les plus sérieux constituent les rejets de phosphore dans les écosystèmes aquatiques, car ils contribuent à accélérer l'eutrophisation de ces milieux. La pollution en phosphate est à l'origine de la prolifération végétale excessive dans les milieux aquatiques. Dans les eaux douces, en particulier en tête de bassin versant, les apports de phosphore sont généralement à l'origine d'un dysfonctionnement des écosystèmes. Dans ces milieux, c'est le phosphore qui est l'élément limitant de la prolifération végétale. Les algues ont besoin, entre autres pour leur croissance, de carbone (C), d'azote (N) et de phosphore (P). Elles ont besoin de ces trois éléments selon le ratio suivant : C:N:P correspondant à 106:16:1 (exprimée en nombres d'atomes). Dans les eaux naturelles, le ratio entre les quantités d'azote et de phosphore est généralement supérieur à 16. Par conséquent, en cas de pollution du milieu par l'azote, si aucun apport de phosphore n'est réalisé, les algues ne pourront pas se développer. La contamination des eaux par le phosphore est donc très souvent à l'origine de développements algaux importants et conduit à la dystrophisation (eutrophisation accélérée des lacs et des rivières).

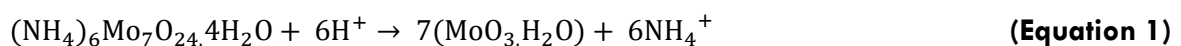
II- Matériels et méthodes

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées afin de détecter et de quantifier les phosphates présents dans les milieux aquatiques, elles peuvent être appliquées à partir d'échantillons issus d'échantillonnages classiques ou après un déploiement d'échantillonneurs passifs. Généralement ces méthodes sont la spectrophotométrie (basée sur la formation d'un complexe bleu), la chromatographie ionique et la spectroscopie atomique. Chacune de ses méthodes présentes des avantages et/ou des inconvénients à prendre en compte pour l'analyse de routine des phosphates dans les milieux aquatiques. Par exemple, la stabilité des échantillons après prélèvements, le coût des analyses, la simplicité d'exécution de la méthode analytique ou le temps de traitement des échantillons avant analyse sont des informations à prendre en compte.

Dans ce rapport, les deux techniques utilisées au laboratoire pour analyser les échantillons d'eau issus des prélèvements ponctuels ou des DGT déployés dans les différents lacs seront présentées. Soit la chromatographie ionique et la spectrophotométrie UV-Visible.

II-1 Dosage par spectrophotométrie UV-Visible

Cette méthode consiste à faire réagir en milieu acide les ions phosphates présents dans l'échantillon avec le molybdate d'ammonium (équation 1 et 2). Après la réduction de ce complexe par l'acide ascorbique, un complexe bleu vif de molybdène va se former (équation 3).



L'échantillon est alors dosé par spectrophotométrie dans le visible à une longueur d'onde de 880 nm. La mesure de l'absorbance de ce complexe va permettre la détermination de la concentration en phosphate de l'échantillon. Celle-ci est directement proportionnelle à l'absorbance (loi de Beer Lambert). Cette technique couramment utilisée est la méthode de référence pour l'analyse des orthophosphates dans les milieux aquatiques. Le spectrophotomètre Shimadzu UV-1800 (Figure 3) a été utilisé avec des cuves de trajet optique de 5 cm. Une méthode analytique a été développée avec une limite de quantification s'élevant à $15 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ pour les PO_4^{3-} . Cette technique d'analyse a été utilisée pour détecter et quantifier les phosphates présents dans les DGT exposés dans les différents lacs étudiés.



Figure 3 : Spectrophotomètre Shimadzu UV-1800

II-2 Dosage par chromatographie ionique

Les phosphates présents le milieu aquatique peuvent également être quantifiés par chromatographie ionique. Cette technique est basée sur la séparation des ions, via un échange ionique avec une colonne chromatographique. Les parois de cette colonne sont recouvertes d'une phase stationnaire constituée d'une matrice d'alcool polyvinylique sur laquelle est greffé un groupe fonctionnel. Pour l'étude, les phosphates étant des anions, le groupe fonctionnel utilisé est un ammonium quaternaire dont la stabilité de la charge permet une liaison par coordination avec un anion, en général un ion hydroxyde. L'éluant (phase mobile : $3,2 \text{ mM Na}_2\text{CO}_3 + 1 \text{ mM NaHCO}_3$) va transporter l'échantillon dans la colonne, et la variation du pH de l'éluant va permettre l'échange anionique entre les ions hydroxydes de la phase stationnaire et les phosphates présents dans l'échantillon. Par conséquent, c'est avec ce processus d'échange que les phosphates vont être retenus sur la colonne. Après un certain temps, les ions phosphates vont finir par se décrocher et quitter la colonne, ce temps est appelé « temps de rétention ». Cette composante est une donnée importante car c'est elle qui définit l'ordre de sortie de la colonne des différents ions présent dans l'échantillon. En sortie de colonne, un conductimètre va permettre de détecter chacun de ces ions. A la fin de l'analyse, un chromatogramme est obtenu. Celui-ci est constitué de plusieurs pics de conductivité appelés « pic chromatographique » dont la surface est proportionnelle à la concentration massique de l'ion analysé (exprimé en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$). La Figure 4 présente un exemple de chromatographe obtenu lors d'une analyse d'un étalon contenant plusieurs anions.

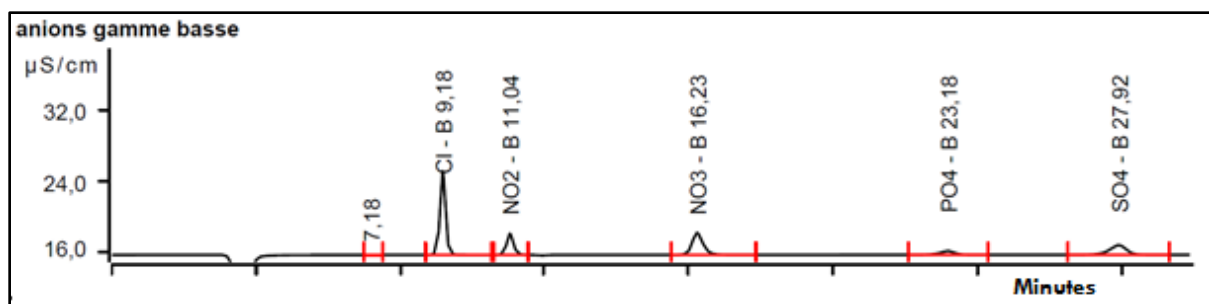


Figure 4 : Exemple d'un chromatographe obtenu pour un étalon à 0,5 mg.L⁻¹ de NO₂⁻, PO₄³⁻, SO₄²⁻ et 1 mg.L⁻¹ de Cl, NO₃²⁻

Ainsi, avec l'utilisation d'un étalonnage externe, il est possible de corrélérer la surface du pic chromatographique de l'ion étudié avec sa concentration massique présent dans l'échantillon. Au laboratoire, la chromatographie ionique de type 881 Compact IC pro Metrohm (Figure 5) avec une colonne (Metrosep A Supp 5 µm-(250x40) mm, « Metrohm ») et une précolonne (Metrosep A Supp 1 Guard 5 µm (4x5) mm, « Metrohm ») est utilisée pour analyser les prélèvements d'eau. Avant injection, tous les échantillons sont filtrés sur une membrane de filtration à 0,2 µm. Une méthode d'analyse pour les phosphates présents dans les eaux a été développée avec une limite de quantification de 4 µg.L⁻¹ pour les PO₄³⁻. Lors des différentes campagnes terrains, tous les prélèvements ponctuels d'eau réalisés dans les différents lacs ont été analysés avec cette technique.

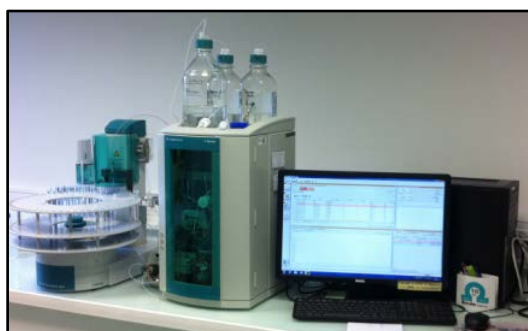


Figure 5 : Chromatographie Ionique 881 Compact IC

II-3 Stratégie d'échantillonnage

Prélèvements ponctuels eau : les prélèvements d'eau ont été réalisés à une profondeur de deux mètres à l'aide d'une bouteille d'échantillonnage d'eau Kemmerer à messageur. Par la suite, ceux-ci ont été transférés dans des flacons (Figure 6) en HDPE (PolyEthylène Haute Densité) d'un litre. Ces échantillons d'eau ponctuels ont été prélevés lors de chaque pose et récupération des DGT sur les différents lacs.



Figure 6 : Flacons de prélèvement

Echantillonneurs passifs : les DGT ont été déployés en duplicat ou en triplicat à une profondeur de deux mètres dans les différents lacs sur une période de temps variant entre une et deux semaines. Un Tinytag®, qui est un enregistreur de température submersible, a été également déployé avec les DGT, cela a permis de suivre l'évolution de la température au cours de l'exposition. Durant le transport vers le laboratoire les DGT ont été maintenus à 4°C dans une glacière.

III- Présentation du DGT

L'échantillonneur DGT (Diffusive Gradients in Thin films) a été développé par Zhang et al. (1998) sur les bases d'un échantillonneur similaire qui était le DET (Diffusion Equilibrium in Thin films). Le principe de la technique DGT repose sur la diffusion des espèces provenant de la colonne d'eau au travers d'un gel de diffusion d'épaisseur connue avant de se fixer sur une résine adsorbante. Le gel de diffusion et la résine sont protégés par une membrane en polyethersulfone. L'ensemble est déposé sur un support en Téflon® et maintenu par une bague scellante (Figure 7).

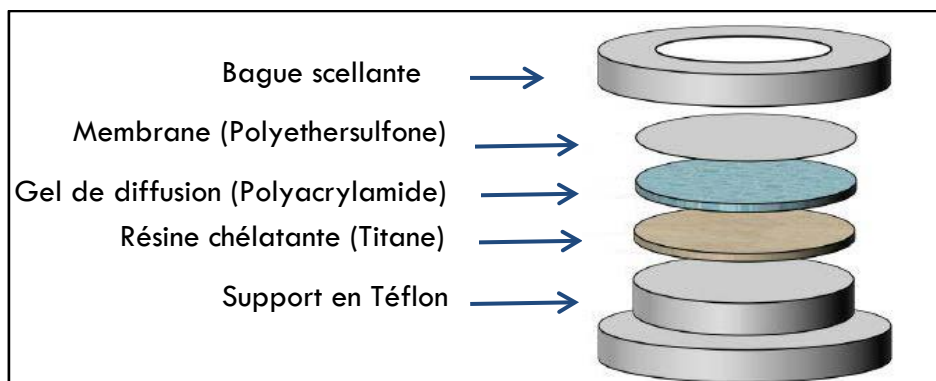


Figure 7 : Schéma du dispositif d'un DGT

Le premier échantillonneur DGT mesurant la concentration en DRP est apparu en 1998 (Zhang et al., 1998). Le DRP correspond au phosphate de la phase dissoute de l'eau, et se trouve essentiellement sous forme d'ion libre. C'est ce composé qui va être piégé par le DGT, mais pas seulement. Il est supposé qu'une petite fraction de phosphate complexé à des métaux, va également diffuser à travers la membrane et le gel de diffusion. Par la suite, ces complexes vont se dissocier et les ions phosphates vont pouvoir former un complexe plus stable avec le Titane. Ces formes de phosphate (complexes peu stables) représentent la « fraction

labile » de la colonne d'eau. Ainsi le DRP est constitué de la fraction labile et du phosphate libre présents dans la colonne d'eau étudiée (Zhang et al., 1998).

Le Tableau 1 présente les différentes résines (phases réceptrices) pouvant être utilisées dans les DGT et les espèces qui leurs sont spécifiques.

Tableau 1 : Différentes résines utilisées pour la technique du DGT (¹Docekalova, 2005 ; ²Teasdale, Hayward, Davison, Science, & La, 1999 ; ³Garmo, Røyset, Steinnes, & Flaten, 2003; ⁴Zhang et al., 1998; ⁵Panther et al., 2010)

Espèces étudiées	Mercure ¹	Sulfures ²	Metaux (As, Cd, Ni, Cr,Zn) ³	Phosphate ^{4,5}
Résines	Spheron-Diol	Agl	Chelex	FeOOH ou TiO ₂

Dans l'étude, pour l'analyse des DRP, la phase réceptrice utilisée dans les DGT est une résine composée de dioxyde de Titane (TiO₂).

III-1 La théorie du DGT

La technique du DGT est utilisée pour la mesure quantitative d'espèces labiles dans un système aquatique. Le dispositif va accumuler *in situ* les espèces étudiées présents dans le milieu. Le fonctionnement du DGT est régi par les lois expliquant le phénomène de diffusion. En effet, la diffusion de la matière désigne la tendance naturelle d'un système à rendre homogène les concentrations des espèces chimiques en son sein. La diffusion du phosphate dissous dans la colonne d'eau est possible grâce à l'agitation thermique qui est appelée habituellement le « mouvement Brownien ».

Les phosphates libres présents sous différentes formes, en fonction du pH de la colonne d'eau étudiée, vont diffuser à travers la membrane et le gel de diffusion pour aller s'adsorber sur la résine Titane. La Figure 8 présente le gradient de concentration observé dans chaque compartiment du DGT lors de la diffusion des phosphates présents sous forme d'ions libres dans la colonne d'eau.

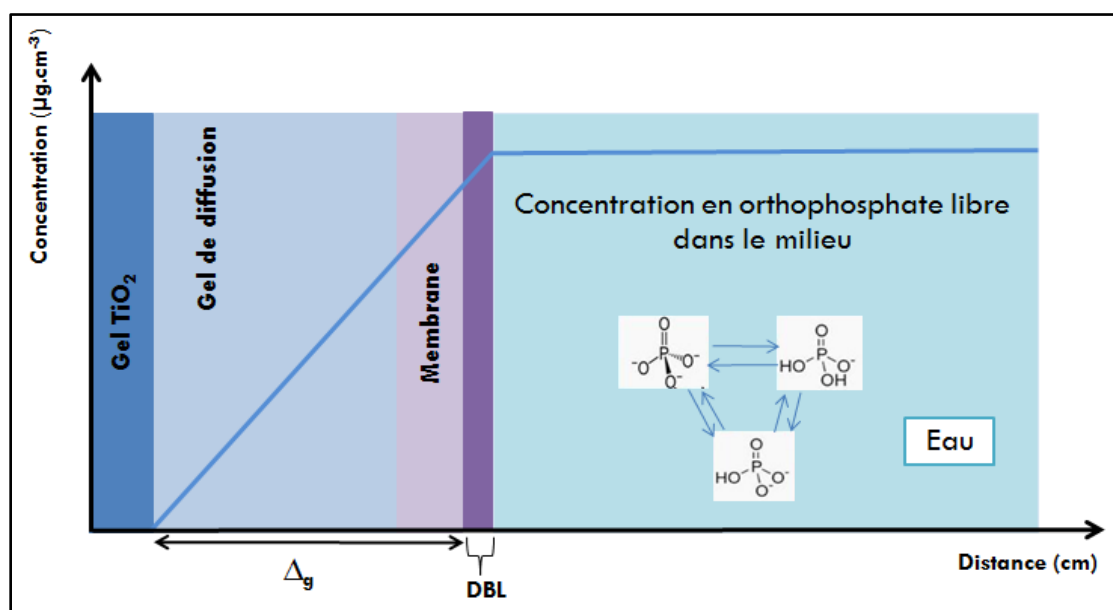


Figure 8 : Phénomène de diffusion des phosphates libres

La courbe bleue représentée sur la Figure 8 correspond au gradient de concentration, qui est plus ou moins important selon la concentration initiale de DRP présent dans l'eau. Le gel de diffusion joue un rôle important dans ce mécanisme, il permet de réguler une différence de concentration entre les deux milieux séparés par la membrane. Une fois le régime stationnaire atteint, il permet d'installer un flux entre ces deux compartiments, dans le sens opposé au gradient de concentration. Ce processus, s'explique par la diffusion de la matière qui va rendre homogène la concentration en DRP dans l'ensemble de compartiment du DGT.

Par ailleurs, il existe une couche limite de diffusion, elle est représentée en violet foncé sur la Figure 8, elle correspond à la DBL « Diffusive Boundary Layer ». Cette couche représente un film d'eau d'épaisseur variable dans laquelle peuvent s'accumuler des phosphates en présence d'un milieu non agité. L'épaisseur de la couche est d'autant plus faible que le milieu est agité. En effet, l'épaisseur de la couche limite peut varier de 0,05 mm (milieu agité) à 0,8 mm (milieu statique) alors que le gel diffusif a une épaisseur constante de 0,8 mm. Cela signifie que le DGT peut être déployé en milieu même légèrement agité. Gimpel et al. (2001) précisent qu'une vitesse de courant comprise entre 1 et 2 cm.s⁻¹ suffit à rendre négligeable l'épaisseur de la couche limite, par rapport à celle du gel diffusif.

Le gel de diffusion est protégé des bactéries et des abrasions éventuelles par la membrane. Il a un rôle très important, car sans lui, les phosphates libres dans le milieu étudié se fixeraient directement par adsorption et/ou chélation sur la résine de Titane. Ces deux processus sont rapides et ne permettraient pas d'avoir un échantillonnage intégratif sur des périodes suffisamment longues (quelques jours à semaines). La membrane a une épaisseur négligeable (~0,1 mm) face à celle du gel de diffusion, elle ne sera donc pas prise en compte dans les calculs évoqués ci-dessous (équation 4 et 5) et Δ_g correspond donc uniquement à l'épaisseur du gel de diffusion.

De manière générale, l'accumulation du DRP dans le DGT suit la loi de Fick qui peut être présentée comme dans l'équation 4 ci-dessous (Rivera, 2003):

$$\frac{m}{t \times A} = D \times \frac{\Delta_C}{\Delta_g} \quad \text{(Equation 4)}$$

m : Masse de DRP libre diffusant (µg)

t : Temps correspondant à la diffusion de la masse de DRP (s)

A : Surface du gel diffusif traversé par le DRP (cm²)

D : Coefficient de diffusion de DRP (cm².s⁻¹)

Δ_C : Gradient de concentration en DRP dans le gel diffusif (µg.cm⁻³)

Δ_g : Epaisseur du gel de diffusion traversé par le DRP (cm)

Cette loi représente le fondement de l'équation qui est associée à la technique du DGT, pour calculer la concentration en DRP présent dans le milieu à partir de la masse de DRP retrouvée dans le DGT à la fin de son exposition. Ce temps final est plus couramment appelé temps de déploiement ou d'exposition du DGT. En effectuant l'hypothèse que pour tous les temps de déploiement, la masse de phosphate retrouvée dans la résine Titane est faible et loin de la capacité maximale d'adsorption de cette dernière, alors il est possible de faire

l'approximation qu'on se trouve dans un gradient de concentration constant (Panther et al., 2010). Dans ce cas, l'équation 4 peut s'écrire de la façon suivante afin d'estimer les concentrations dans les milieux aquatiques :

$$C_{\text{DRP}} = \frac{m \times \Delta_g}{D \times A \times t} \quad (\text{Equation 5})$$

C_{DRP} : Concentration en DRP dans l'eau échantillonnée ($\mu\text{g.L}^{-1}$)
 m : Masse de DRP libre diffusant (μg)
 t : Temps correspondant à la diffusion de la masse de DRP (s)
 A : Surface du gel de diffusion traversé par le DRP ($3,14 \text{ cm}^2$)
 D : Coefficient de diffusion de DRP ($6,87 \times 10^{-6} \text{ cm}^2.\text{s}^{-1}$ à 25°C)
 Δ_g : Epaisseur du gel de diffusion traversé par le DRP ($0,08 \text{ cm}$)

Il est important de souligner que dans l'équation 5 « C_{DRP} » représente la concentration moyenne (sur la durée d'exposition) dans l'eau estimée avec le DGT. Cette équation ne reste valable que si la concentration dans le gel diffusif au voisinage de la résine reste constante, c'est-à-dire si la résine Titane n'a pas atteint sa saturation maximale. Il faut donc tenir compte du niveau de concentration et de la durée d'exposition du DGT avant l'exposition. Il est donc important de trouver un compromis en fonction de la concentration en DRP dans le milieu et le temps d'exposition afin de ne pas saturer la résine chélatante. Généralement les DGT sont exposés une à deux semaines.

Dans l'équation 5, tous les termes sont des constantes, sauf le terme « m » qui correspond à la masse de DRP retrouvée dans la phase réceptrice. Cette masse est obtenue après analyse à l'UV de la solution d'élution de la résine Titane.

Enfin, la constante de diffusion D varie avec la température du milieu, aussi il existe différents approches pour la corriger tel que le modèle empirique suivant :

$$\log D_{(T)} = \frac{1,37023 \times (T-25) + 8,36 \times 10^{-4} \times (T-25)^2}{109+T} + \log \frac{D_{(298)}(273+T)}{298} \quad (\text{Equation 6})$$

où D_T est estimé par extrapolation, à partir de la mesure de $D_{(298)}$ à 25°C .

III-2 Préparation et montage des DGT

Toutes les résines Titane et les gels de diffusion sont fabriqués au laboratoire, les membranes quant à elles sont achetées déjà prêtes à l'utilisation (membranes en polyethersulfone, $\varnothing 25 \text{ mm}$ « Sartorius »). Comme présenté sur la Figure 7, l'ensemble est monté sur un socle et maintenu par une bague scellante « DGT® Research Ltd », le DGT est monté sous la forme d'un piston. C'est ce type de DGT qui a été exposés dans les différents lacs étudiés.

Fabrication des Gels de diffusion

Les gels de diffusion sont préparés à partir d'une solution de monomère appelée la solution stock (mélange d'une solution d'acrylamide « Sigma » à 40 %, d'une solution de Cross Linker (DGT® Research Ltd) et de l'eau ultra-pure (étapes de préparation en annexe 1 et réactifs employés en annexe 2). A cette solution stock sont ajoutés un initiateur (TEMED, Alfa

Aesar) et un catalyseur (Persulfate de Sodium à 10 %, Chem-Lab). A l'aide d'une micropipette, le mélange est coulé dans un moule constitué de deux plaques de verres séparées par un joint blanc d'épaisseur contrôlée (0,05 cm), le tout maintenu à l'aide de quatre pinces (Figure 9). Le moule est ensuite placé dans une étuve à 45°C pendant 60 minutes pour la polymérisation. Le moule est ensuite retiré de l'étuve et démonté. La plaque de gel est rincée dans plusieurs bains d'eau ultra-pure. Après une hydratation de 24 heures, l'épaisseur de la plaque du gel diffusif est de 0,08 cm. La plaque est ensuite déposée soigneusement à plat sur une paille et les gels diffusifs sont découpés en disque à l'aide d'un emporte-pièce de diamètre 2,5 cm. Les gels diffusifs obtenus sont stockés dans un tube en polyéthylène (PE) contenant de l'eau ultra-pure. Ces derniers sont prêts à être installés dans les DGT. Le protocole de la fabrication des gels diffusifs est présenté dans l'annexe 3.



Figure 9 : Moule utilisé pour la fabrication des gels diffusif et des résines Titane

Fabrication des résines Titane

La résine Titane est préparée à partir d'une poudre nano-cristalline TiO_2 (Titanium (IV) oxide 99,999 %, Acros Organics). Cette poudre blanche est mélangée à la solution stock citée précédemment (1 g de poudre pour 10 mL de solution stock). Comme pour la préparation du gel de diffusion, l'initiateur et le catalyseur sont ajoutés au mélange, puis la solution est coulée dans un moule et placée à l'étuve pour l'étape de polymérisation (voir les étapes de préparation en annexe 1). Le moule utilisé pour la fabrication de la résine Titane, repose sur le même principe que celui utilisé pour la fabrication des gels diffusifs à une différence près, l'épaisseur du joint blanc est plus faible (0,025 cm). Le moule est retirée de l'étuve et la plaque de résine est soigneusement récupérée et plongée dans un flacon PE contenant une solution d'acide sulfurique pour la purifier. La plaque de résine est ensuite rincée avec de l'eau ultra-pure. L'épaisseur finale de la résine Titane après une hydratation de 24 heures est de 0,04 cm (Panther et al., 2010). La plaque de résine est ensuite déposée soigneusement à plat sur une paille et les résines sont découpées en disque à l'aide d'un emporte-pièce de diamètre 2,5 cm (Figure 10). Le protocole de la fabrication des résines Titane est détaillé dans l'annexe 3.



Figure 10 : Découpe des résines à l'aide d'un emporte-pièce

Les protocoles pour la fabrication des gels de diffusion et des résines Titane sont présentés en Annexe n°3.

Elution

Après avoir été déployés dans le milieu étudié durant le temps d'exposition (1 ou 2 semaines), les DGT sont récupérés et ramenés au laboratoire. Ils sont rincés avec de l'eau l'ultra-pure avant d'être soigneusement démontés. La résine Titane est retirée délicatement et insérée dans une solution de NaOH à 2 mol.L⁻¹. Cette étape s'appelle l'éluion, elle se déroule pendant 24 heures sous agitation afin de désorber la totalité des DRP qui se sont accumulés sur la résine durant l'exposition dans le milieu. La Figure 11 ci-dessous illustre les différentes étapes de l'éluion. Ainsi un éluat de 10 mL est obtenu, il correspond à l'échantillon qui va ensuite être analysé par spectroscopie UV.

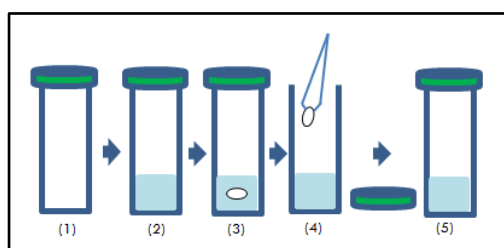


Figure 11 : les étapes de l'éluion : (1) tube en PE, (2) ajout de 10 mL de NaOH, (3) ajout de la résine récupérée après déploiement et éluion pendant 24 h sous agitation, (4) retrait de la résine, (5) échantillon prêt pour l'analyse UV).

La masse (m) de DRP accumulée dans le DGT est déduite après analyse de l'échantillon issue de l'éluion de la résine Titane. Il est ainsi possible de remonter à la concentration en DRP présente dans le milieu étudié avec l'application de l'équation 5.

III-3 Développement et validation de la méthode d'analyse

Dans le but de quantifier les phosphates présents dans les eaux, des études antérieures réalisées au sein du laboratoire ont permis la validation d'un protocole et d'une gamme d'étalonnage à partir de la norme NF EN ISO 6878. Dans le protocole, le volume de prise d'essai mentionné est de 20 mL. La première étape du développement de méthode a consisté à réduire et ajuster ce volume afin d'obtenir des limites de quantification les plus basses possibles. Le protocole et la gamme déjà validés et mis en place ont constitué le point de

départ pour le développement de la méthode d'analyse, d'éluion et pour la réalisation des tests de linéarité.

Adaptation du protocole pour la formation du complexe

Pour pouvoir analyser l'échantillon, un mélange de plusieurs réactifs nommé « réactifs combinés » (dont la composition est indiquée dans le Tableau 2) et une solution d'acide ascorbique à 2 % sont ajoutés à la prise d'essai (10 mL de NaOH à 2 mol.L⁻¹) afin de permettre la formation du complexe Phosphomolydique bleu qui sera ensuite dosé en UV (annexe 2 pour la liste des réactifs employés).

Tableau 2 : Préparation de la solution des réactifs combinés pour la formation du complexe

Nom	Préparation	Volume utilisé pour préparer la solution de réactifs combinés
Molybdate d'ammonium Pureté 99 % « Chem-Lab »	9,88 g dans 250 mL EUP	6 mL
Antimonytartrate de potassium Pureté 99 % « Acros Organics »	0,28 g dans 100 mL EUP	2 mL
EUP		20 mL

Il est important de noter que la solution de réactifs combinés et la solution d'acide ascorbique à 2 % ne se conservent qu'une seule journée. Ainsi, ces deux solutions doivent être renouvelées lors de chaque journée d'analyse.

Le protocole initialement validé au laboratoire est associé à une prise d'essai de 20 mL d'eau, avec un pH neutre alors que la nouvelle prise d'essai correspond aux 10 mL (NaOH) d'éluat de la résine Titane ; il est donc à un pH très basique. N'étant pas du tout dans les mêmes volumes de prises d'essais et ni dans les mêmes conditions, la première étape a été d'adapter le protocole dans le but de pouvoir réaliser la formation du complexe et donc d'analyser l'éluat de la résine Titane.

Plusieurs tests ont été réalisés dans le but de valider les différents volumes de mélange combiné et d'acide ascorbique à ajouter dans les échantillons issus de l'éluion des résines DGT. Après plusieurs essais, les conditions optimisées pour la formation du complexe dans l'échantillon ont été validées et sont répertoriées dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Comparaison des volumes des réactifs pour la formation du complexe phosphomolydique

Type d'analyse	Volume d'échantillon	Volume de mélange combiné	Volume d'acide ascorbique
Echantillon d'eau (prélèvement ponctuel)	20 mL	4 mL	1 mL
Eluat de DGT	10 mL	1,4 mL	0,6 mL

La méthode initialement mise en place au laboratoire, pour doser les phosphates dans les eaux en UV, utilisait des cuves de trajet optique de 1 cm. Dans cette étude, les phosphates échantillonnés par les DGT sont analysés avec des cuves de trajet optique de 5 cm (Figure 12) dans le but d'abaisser au maximum les limites de quantifications. L'ensemble du protocole a été ensuite validé selon la norme NF T 90-210.

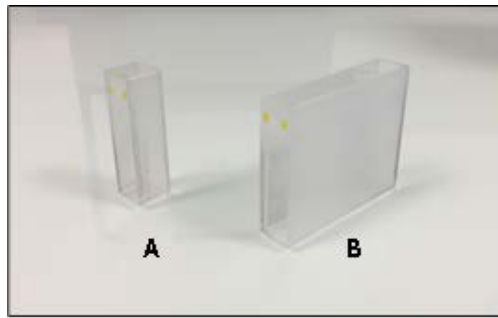


Figure 12 : A cuve de 1 cm, B cuve de 5 cm

Test de linéarité

Le protocole pour la formation du complexe phosphomolybdique étant optimisé, un nouveau domaine linéaire a pu être étudié. Au laboratoire, pour l'analyse des phosphates dans les eaux, une gamme d'étalonnage était déjà mise au point suivant la norme NF EN ISO 6878, avec une plage de concentration allant de 0,15 à 3 mg.L⁻¹ de PO₄³⁻. Celle-ci est préparée à partir d'une solution mère de phosphate (phosphate standard for IC, 99,99 % « Sigma-Aldrich ») à 1000 mg.L⁻¹. Pour l'analyse des DGT, le domaine de linéarité a été réduit de 0,05 à 1 mg.L⁻¹ de PO₄³⁻ et de nouveaux points ont été validés comme indiqué dans le Tableau 4. Les concentrations données dans le tableau ci-dessous sont toutes exprimées en mg.L⁻¹ de PO₄³⁻.

Tableau 4 : Comparaison des points de gammes (mg.L⁻¹) pour l'analyses des eaux et analyses DGT

Gamme pour l'analyse de l'eau	0	0,15	0,76	1,50	2,30	3,00
Gamme pour l'analyse des DGT	0	0,05	0,10	0,20	0,40	1,00

La Figure 13 ci-dessous présente les résultats du test de linéarité ainsi que la courbe d'absorbance en fonction de la concentration en phosphate des étalons.

Concentration des étalons exprimés en PO ₄ ³⁻ (ppm)	Absorbances
0	0.000
0.05	0.039
0.10	0.076
0.20	0.145
0.40	0.315
1.00	0.800

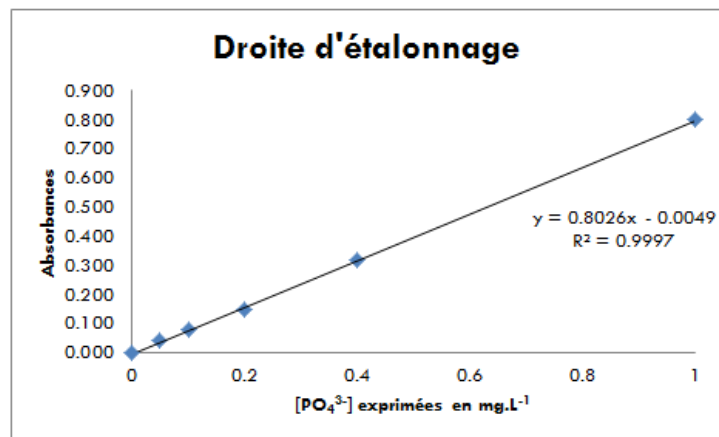


Figure 13 : Résultats du test de linéarité et droite d'étalonnage

Pour le test de la linéarité, une droite d'équation $y = 0,8026x - 0,0049$ a été obtenue avec un coefficient de variation de 0,9997. Pour la suite des travaux, cette droite d'étalonnage sera utilisée pour remonter à la concentration en phosphate dans les échantillons lors des analyses en UV. Cette gamme est généralement stable pendant 1 mois et vérifiée au moyen de contrôles qualité (2 points de gamme 0,1 et 0,4 mg.L⁻¹) analysés lors de chaque nouvelle série d'échantillons.

Etude des limites de quantifications

L'intérêt de cette étude est de déterminer la concentration la plus basse pour l'analyte étudié pouvant fournir un signal détectable avec une bonne fiabilité. Le principe de cette étude est de doper une matrice dépourvue d'analyte recherché avec une quantité connue correspondant à la limite de quantification supposée. Ici, deux matrices ont été utilisées pour déterminer ces limites, à savoir, de l'eau déminéralisée et de l'eau du lac de Cazaux-Sanguinet. Après analyses des 2 matrices dopées, la limite de quantification validée dans les éluats est de 0,04 mg.L⁻¹, ce qui correspond à une masse en phosphate de 0,16 µg par DGT. En considérant ce résultat dans l'équation 5, la limite de quantification pour un DGT exposé 2 semaines est estimée à 1 µg.L⁻¹.

III-4 Développement de la technique DGT

Contamination et étape de purification de la résine Titane

Un nouveau domaine linéaire a été validé et de nouvelles limites de quantification ont été déterminées. L'étape suivante a été de caractériser la résine Titane disponible commercialement. Après les premières analyses de plusieurs résines Titane non exposées, il s'est avéré que ces dernières étaient initialement contaminées en phosphate (Figure 14). Ce résultat a été confirmé lors des analyses des blancs terrains de DGT et des DGT exposés sur les différents lacs au cours des premières campagnes. En effet, la masse de phosphate dans les blancs était du même ordre de grandeur que celle retrouvée dans les DGT déployés dans les lacs (environ 6 µg par résine TiO₂ contenue dans un DGT).

Après avoir pris connaissance de ce problème, la première étape a été de rechercher la source de contamination en phosphate. Après plusieurs tests, il s'est avéré que le dioxyde de Titane en poudre, utilisé pour la fabrication des résines Titane, était fortement contaminé en phosphate. De ce fait, un nouveau protocole a dû être développé dans le but de décontaminer et purifier la résine Titane afin d'obtenir des résines adsorbantes sans phosphate (Annexe 3). L'histogramme présenté dans la Figure 14 compare les masses de phosphate retrouvées dans les résines avant et après purification de la résine de Titane. La masse moyenne de phosphate retrouvée dans les résines Titane non purifiées est représentée en bleu clair. En bleu foncé est représentée la masse moyenne de phosphate retrouvée dans les résines Titane purifiées. Ces résultats mettent en évidence que le protocole utilisé pour purifier les résines Titane est efficace puisque la quantité résiduelle, estimée à 0,1 µg, devient inférieure à la limite de quantification (0,16 µg par résine TiO₂) et voisine de la limite de détection (0,08 µg). L'étape de purification de la résine Titane est donc très importante et surtout indispensable pour obtenir des résines adsorbantes de bonne qualité et qui puissent être utilisées par la suite pour déterminer la concentration de phosphates échantillonnés dans les eaux.

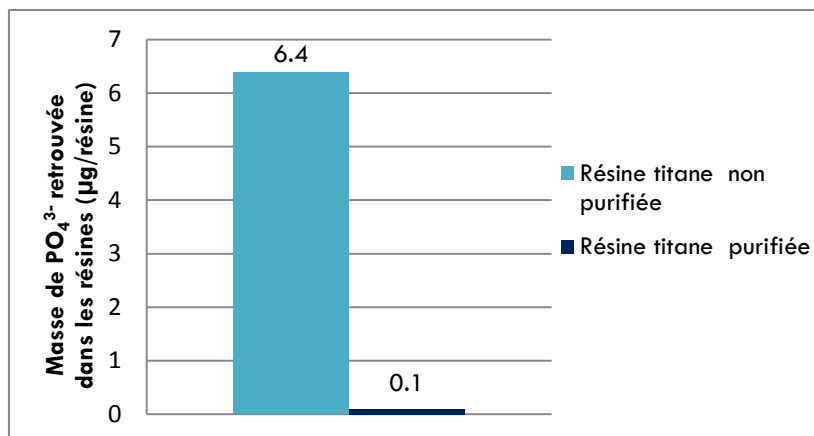


Figure 14 : Masse de phosphate retrouvée dans la résine de titane selon sa purification

Caractérisation des résines Titane

Il est important de savoir si les résines Titane purifiées adsorbent correctement les phosphates qui sont présents dans la colonne d'eau et si la totalité des phosphates sont désorbés lors de l'étape de l'élution. De plus, il est nécessaire de connaître la capacité maximale des résines car à partir de cette donnée, il sera possible de déterminer le temps d'exposition des DGT sur le terrain.

Etude de l'adsorption et de l'efficacité de l'élution

L'étude de l'adsorption et de l'efficacité de l'élution ont été réalisées au cours de la même manipulation. Pour cela cinq résines ont été plongées dans un flacon PE d'un litre contenant une solution d'eau déminéralisée dopée à une masse en PO_4^{3-} connue (environ 5 μg). Le flacon a été déposé sur une table d'homogénéisation (70 rotations par minutes) pendant 120 heures. Les résines ont été ensuite récupérées et éluées. Des prélèvements d'eau dans le flacon ont été réalisés dans le but de suivre l'évolution de la concentration au cours du temps. Les résultats de ses deux études sont présentés séparément.

Les résultats sur l'étude de l'adsorption des résines sont rassemblés dans le graphique de la Figure 15.

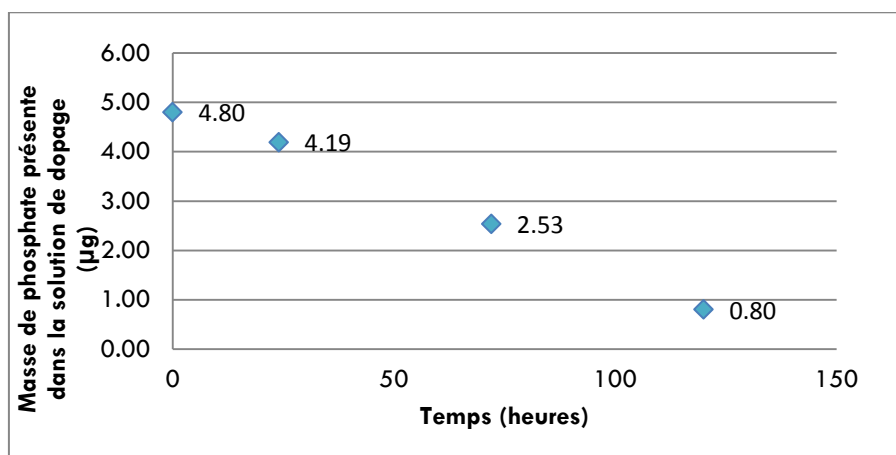


Figure 15 : Suivi au cours du temps de la quantité de PO_4^{3-} dans la solution de dopage

Au début de la manipulation, la masse de phosphate présente initialement dans la solution de dopage est de 4,80 μg ; après 120 heures, elle a diminué et se retrouve à une

valeur de 0,80 µg. Il est possible d'en déduire que tous les phosphates initialement présents dans la solution de dopage ont été piégés à plus de 80 % par les résines, par rapport à la quantité initiale. Ces premiers résultats permettent de conclure que les résines adsorbent correctement les phosphates présents dans la solution de dopage.

Les résultats de l'efficacité d'éluion de la résine de Titane sont rassemblés dans la Figure 16. L'histogramme représente la masse de phosphate quantifiée dans l'éluion de chaque résine. La masse totale de phosphate retrouvée dans l'éluion des cinq résines est de 4,68 µg. Cela fait une moyenne de 0,94 µg de phosphate par résines.

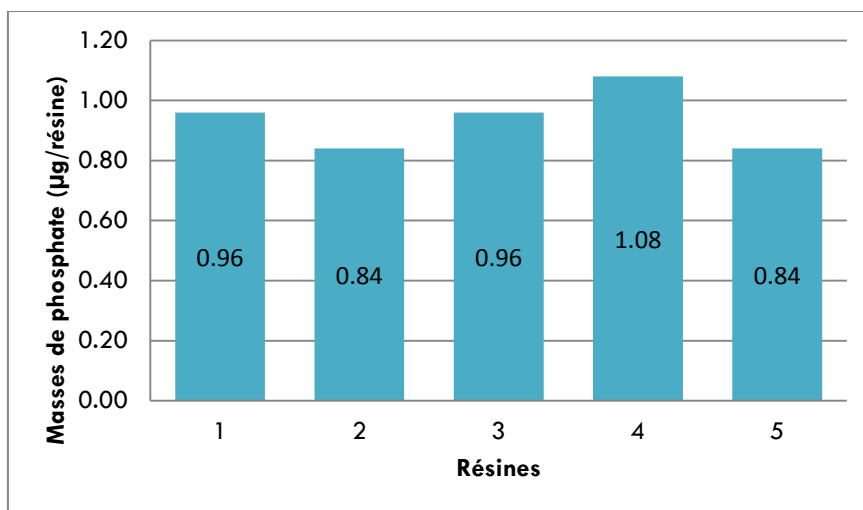


Figure 16 : Masse de phosphate retrouvée après éluion de chaque résine de titane

Pour rappel la masse de phosphate initialement présente dans la solution de dopage était de 4,80 µg (Figure 15), ce qui permet de boucler le bilan massique. Le calcul du rendement de l'étape d'éluion a été calculé de la façon suivante, la masse totale de phosphate retrouvée dans la somme des éluats des cinq résines Titane (4,68 µg) est divisée par la masse de phosphates initialement présente dans la solution de dopage (4,80 µg). Le rendement de l'étape d'éluion des résines Titane est ainsi estimé à $98 \pm 10 \%$.

Les résultats obtenus lors de l'étude de l'adsorption des phosphates sur la résine Titane et de l'efficacité de l'étape d'éluion permettent de conclure que les résines Titane adsorbent correctement les phosphates, et lors de l'étape de l'éluion, elles libèrent la totalité des phosphates adsorbés.

Capacité maximale d'accumulation

L'étude de la capacité maximale d'accumulation des résines a été réalisée de la façon suivante. Trois résines de Titane ont été plongées séparément dans un flacon PE contenant une solution d'eau déminéralisée dopée à une masse en phosphate connue (125 µg). Les trois flacons ont été déposés sur une table d'homogénéisation (70 rotations par minutes) pendant 120 heures. Les résines ont ensuite été récupérées et éluées. Les histogrammes de la Figure 17 rassemblent les résultats de cette étude, ils représentent les masses de phosphate retrouvées dans le triplicat de résines. Les résultats obtenus montrent que les résines de Titane ont une capacité maximale d'accumulation moyenne de 43 µg. Cette donnée est très importante, elle permet de savoir que les DGT peuvent par exemple être exposés pendant deux semaines dans un milieu ayant une concentration moyenne en phosphate de 0,2 mg.L⁻¹. Au-delà de ce

temps d'exposition et à ce niveau de concentration, la résine aura atteint sa saturation maximale et le gradient de concentration, n'aura dès lors plus lieu dans le gel diffusif. Dans ces conditions, il ne serait plus possible d'appliquer l'équation 5 pour remonter à la concentration en phosphate dans les eaux.

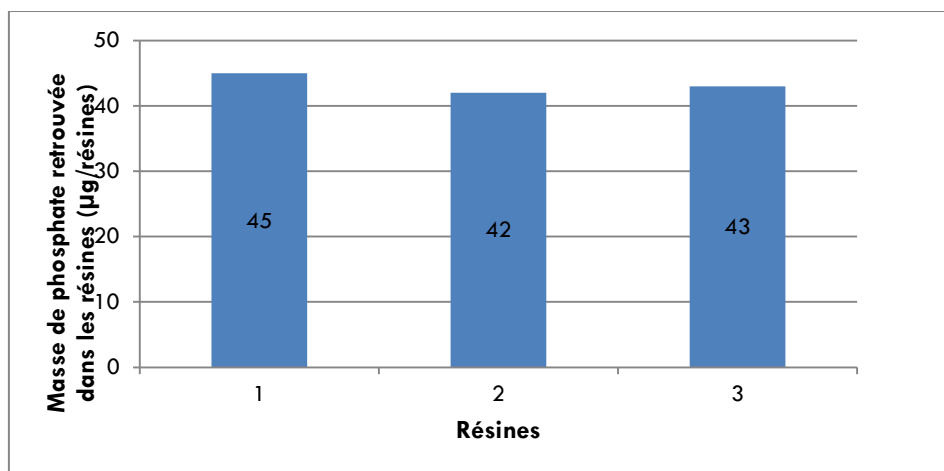


Figure 17 : Quantité maximale de phosphate accumulée dans chaque résine

Calibration dans l'eau ultra pure

Pour finir avec la caractérisation de la résine, une dernière étude a été menée, c'est un étalonnage en laboratoire à $21 \pm 1^\circ\text{C}$ dans de l'eau ultra-pure dans le but d'obtenir une représentation graphique de la masse de phosphate accumulée dans la résine Titane en fonction du temps d'exposition. Théoriquement la représentation graphique doit être une droite. Pour cela dix-huit DGT assemblées (résine Titane, gel diffusif et membrane) ont été déployés pendant deux semaines dans un bac PE contenant vingt litres d'eau déminéralisée dopées à une concentration connue ($0,1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Six dates bien précises ont été déterminées et à chacune d'elle, trois DGT ont été retirés de l'eau. Des prélèvements d'eau ont été également réalisés tous les jours dans le but de suivre l'évolution de la concentration en phosphate au cours du temps ($\text{CV} < 10\%$). Les résultats de la calibration sont présentés dans la Figure 18, ils confirment que les DGT adsorbent les phosphates de façon linéaire au cours du temps.

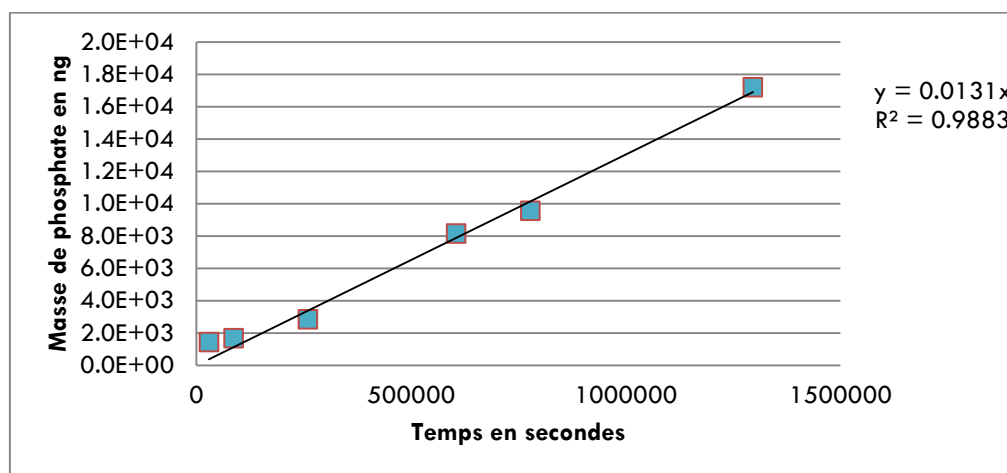


Figure 18 : Evolution de la masse de phosphate dans les DGT au cours du temps (Calibration dans l'eau déminéralisée)

A partir de ces résultats et de l'équation de la droite, il est possible de déterminer expérimentalement la constante de la diffusion des phosphates dans le gel diffusif.

La pente de la droite correspond à : $0,0131 = \frac{C_W \times A \times D_{\text{exp}}}{\Delta_g}$

Connaissant l'aire ($A=3,14 \text{ cm}^2$), l'épaisseur du gel ($\Delta_g = 0,08 \text{ cm}$) et la concentration moyenne dans l'eau ($C_W=100 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$), il est possible de déduire la constante de diffusion expérimentale :

$$D_{\text{exp}} = \frac{\Delta_g \times 0,0131}{C_W \times A} = 3,3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2.\text{s}^{-1}$$

Les résultats issus de la calibration ont permis de déterminer la constante expérimentale de diffusion des phosphates dans le gel de diffusion selon nos conditions expérimentales. Cette constante obtenue lors de l'étalonnage de DGT est inférieure de moitié à celle déterminée lors d'une étude antérieure avec une cellule de diffusion ($D=6,87 \times 10^{-6} \text{ cm}^2.\text{s}^{-1}$ à 22°C) (Bernard, 2014). La différence provient du fait que durant l'expérimentation en cellule de diffusion, seul le gel diffusif en polyacrylamide était pris en compte. Aussi, par la suite, nous utiliserons la constante D_{exp} obtenue durant cette étude, afin d'estimer les concentrations en DRP, lors de déploiement de DGT dans les lacs au cours des campagnes 2016.

Problèmes techniques rencontrés

L'étape de purification de La résine a duré plusieurs mois. Il y a eu plusieurs tentatives avant d'arriver au protocole final. En mai 2015, une première série de protocoles visait à purifier directement le Titane solide avant qu'il soit coulé en résine. Il était déposé dans un bécher et il était lavé successivement avec des bains de soude à 1 mol.L^{-1} . Les résines Titane obtenues n'étaient pas homogènes et n'adsorbaient que peu de phosphate (rendements 10-20 %). Très vite, un second protocole a ensuite été développé en octobre 2015. Dans ce protocole, la plaque de résine Titane était placée dans plusieurs bains de soude à 1 mol.L^{-1} . Ce protocole était satisfaisant, les analyses montraient que les résines étaient bien purifiées. Cependant les résines de Titanes se dilatent fortement au contact de l'eau (surface du disque doublée), ce qui peut fausser l'épaisseur du gel diffusif ($0,08 \text{ mm}$ en théorie après hydratation, Panther et al., 2010) et donc l'estimation des concentrations dans l'eau. De plus, les résines sont très sensibles, se cassent très facilement et pour finir les rendements d'élution demeuraient assez variables (50-80 %). Au début 2016 un troisième protocole a été développé en plaçant la résine Titane dans plusieurs bains d'acide sulfurique (Annexe 3). Il a donné des résultats satisfaisants (pas de dilatation aussi forte qu'avec un rinçage basique dans la soude) et forte répétabilité ($98 \pm 10 \%$). Ce protocole de préparation et traitement des DGT a été finalisé durant l'été 2016. Aussi, connaissant la constante de diffusion ($3,3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2.\text{s}^{-1}$), cela a permis l'exploitation quantitative des résultats d'analyse pour les campagnes de terrain à partir du mois d'août de la 2nde année de l'étude (2016).

IV-Application in situ

IV-1 Présentation des différents sites d'études

Les quatre lacs étudiés (Figure 19) ont une origine naturelle et sont tous localisés dans la région Aquitaine. Les quatre sites d'études sont Parentis-Biscarrosse, Cazaux-Sanguinet, Hourtin-Carcans et Lacanau. Chaque paire de lacs est connectée par un canal (Hourtin-Lacanau et Cazaux-Parentis). Les lacs étudiés ont une origine relativement récente, ils se sont formés après des mouvements tectoniques et des variations du niveau de la mer il y a moins de 20 000 ans.



Figure 19 : Localisation des quatre lacs étudiés

Parentis-Biscarrosse

Le lac de Parentis-Biscarrosse fait partie des grands lacs landais du littoral aquitain. Il se situe sur les communes de Biscarrosse au Nord, Parentis à l'Est, Gastes au Sud-Est et Sainte Eulalie au Sud. Ce lac doit sa célébrité au pétrole qui y fut découvert en 1954, c'est pour cela que le lac accueille des plates-formes et des puits de production pétrolière. Les aménagements d'une ancienne base d'hydravion sont toujours visibles (site Latécoère) et la rive Ouest est occupée dans sa totalité par le Centre d'Essais des Landes. Le plan d'eau reçoit les eaux du lac de Cazaux-Sanguinet par un canal qui comporte un barrage de régulation et une écluse qui permettent le passage des bateaux de plaisance d'un plan d'eau à l'autre. La superficie du plan d'eau est de 35 km² et celle de son bassin versant est de 275 km². Le lac de Parentis a une profondeur moyenne de 6,7 m et maximale de 20 m. Le point de prélèvement et d'exposition des DGT se situe à l'endroit où le lac est le plus profond. A cet endroit se trouve le puit de pétrole n°31 (Figure 20), pour l'exposition des DGT, l'ancienne échelle qui permet d'accéder à la plateforme a été utilisée comme point de fixation.



Figure 20 : Localisation du point d'exposition sur le lac de Parentis-Biscarrosse

Cazaux-Sanguinet

Le lac de Cazaux-Sanguinet (Figure 21) est situé sur deux départements, il est localisé sur les départements de la Gironde et des Landes. Ce lac s'est formé par accumulation des eaux venant de la plaine landaise. Le lac est aussi relié au lac de Parentis-Biscarrosse par un canal qui contourne le petit étang de Biscarrosse. Sur le lac, plusieurs zones des rives ont été fortement aménagées pour la mise en place d'activités nautiques et l'agencement de plusieurs plages. Sur la rive du Nord, se trouve la base militaire de Cazaux (BA 120) qui occupe les $\frac{2}{3}$ de la superficie du plan d'eau. La superficie du lac est de 58 km² et celle de son bassin versant est de 200 km². La profondeur moyenne est de 8,6 m et la profondeur maximale est de 23 m. Ce lac possède un volume total de 500 millions de m³ et son volume entrant annuel est de 120 millions de m³. Les DGT sont exposés à l'endroit où la profondeur est la plus importante. A ce point-là est installée une bouée jaune numérotée 22, elle est utilisée pour délimiter la zone militaire. Vu qu'elle est présente toute l'année, les DGT ont été accrochés et déployés à la chaîne qui maintient cette bouée dans l'eau.



Figure 21 : Localisation du point d'exposition des DGT sur le lac de Cazaux-Sanguinet

Hourtin-Carcans

Ce lac se trouve dans le département de la Gironde (Figure 22), il est le plus grand lac naturel entièrement français avec une superficie totale de 62 km² et un bassin versant qui s'étend sur 360 km². Il se situe, parallèlement à la côte de l'océan Atlantique sur une longueur maximale de 18 km pour une largeur maximale de 5 km. Sa profondeur moyenne est de 3,4 m et le point le plus profond se trouve à 11 m. Il a un volume moyen de 210 millions de m³ et son volume entrant est de 177 millions de m³. Les DGT ont été déployés au point où la profondeur est la plus importante. A ce point-là, se trouve une bouée de signalisation qui est présente toute l'année, donc les DGT ont pu être accrochés à la chaîne qui maintient cette bouée.



Figure 22 : Localisation du point d'exposition des DGT sur le lac d'Hourtin-Carcans

Lacanau

Le lac de Lacanau est localisé dans le département de la Gironde (Figure 23) sur le littoral aquitain, il reçoit les eaux du lac d'Hourtin-Carcans par un canal situé au Nord. Avec sa superficie totale de 20 km² et son bassin versant qui s'étend sur 285 km² il est classé dans les grands lacs Landais. Il présente une profondeur moyenne de 2,6 m et une profondeur maximale de 8 m. Il a un volume moyen de 53 millions de m³ avec un volume entrant de 124 millions de m³ par an. Pour l'exposition des DGT comme dans les trois autres lacs, l'emplacement choisi se situe où le lac est le plus profond. Contrairement aux lacs de Parentis-Biscarrosse, Cazaux-Sanguinet et Hourtin-Carcans il n'y a pas de structure (échelle du puit de pétrole ou bouées) sur laquelle il était possible d'accrocher les DGT. Il a donc été déployé une bouée (Figure 23) comme support pour attacher les DGT, elle servait également de balisage afin de pouvoir retrouver facilement les DGT. La bouée était installée et retirée lors de chaque pose et récupération des DGT.

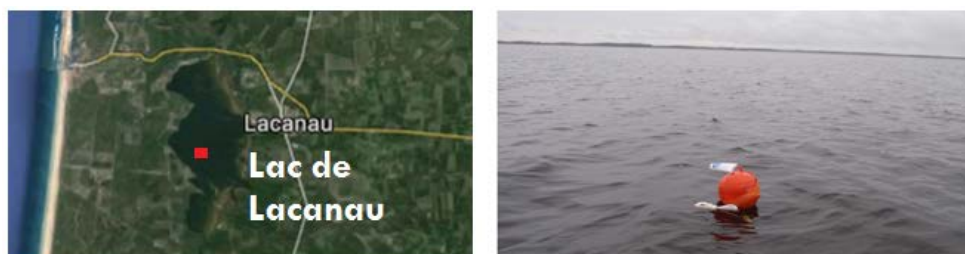


Figure 23 : Localisation du point d'exposition des DGT sur le lac de Lacanau

IV-2 Présentation des campagnes de terrain

Campagnes de terrain 2015

Les échantillonneurs passifs ont été déployés dans les quatre lacs sur une période allant de mars à décembre 2015. Pour les premières campagnes (mars à octobre), les DGT ont été déployés uniquement sur le lac de Lacanau sur une durée de sept jours. Les échantillonneurs ont été déployés dans l'ensemble des quatre lacs sur une durée d'exposition de sept jours, de mai à octobre. Pour finir, les deux dernières campagnes (novembre à décembre), les DGT ont été déployés uniquement sur le lac de Lacanau pendant deux semaines. Le Tableau 5 résume les différentes campagnes qui ont été réalisées et le nombre de jours où les échantillonneurs passifs ont été exposés.

Tableau 5 : Résumé des différentes campagnes de terrain

Lacs étudiés	Périodes	Nombres de jours d'exposition des DGT
Parentis/Cazaux/Hourtin	mai-octobre	7
Lacanau	mars-octobre	7
Lacanau	novembre-décembre	14

Pour résumer, la première campagne terrain a commencé en mars et la dernière s'est déroulée en décembre 2015. A raison d'une campagne terrain par mois, il y a donc eu dix campagnes au cours de l'année 2015.

Campagnes de terrain 2016

Pour les campagnes 2016, les échantillonneurs passifs ont été déployés uniquement sur les lacs de Cazaux-Sanguinet et de Parentis-Biscarrosse afin de suivre le planning terrain des campagnes du suivi du phytoplancton qui s'est focalisé uniquement sur ces deux lacs. En 2016, sept campagnes terrains se sont déroulées dans les deux lacs (mars, mai, juin, juillet, août, septembre, novembre). Lors de ces campagnes de terrain 2016, tous les échantillonneurs passifs ont été exposés dans les lacs pendant deux semaines en triplicat.

Déroulement d'une campagne

Une campagne de terrain se déroule de la façon suivante. Le premier jour correspond à la pose des échantillonneurs passifs. Les campagnes commencent toujours par la journée de pose des échantillonneurs passifs. Pour cela le personnel scientifique se rendait en bateau au point de prélèvement de chaque lacs. Un duplicat ou triplicat de DGT était déployé sur un grillage lesté avec un poids en présence d'un Tinytag® (Figure 24). L'ensemble était accroché (à l'échelle du puit de pétrole ou à une bouée) à une profondeur de 2 mètres. Après la durée d'exposition (sept ou quatorze jours suivants les campagnes), les DGT étaient récupérés sur chaque lacs, ceci correspond à la journée de récupération. Pour toutes les campagnes et sur tous les lacs étudiés, un prélèvement d'eau était réalisé à la pose et à la récupération des DGT ainsi que des mesures de pH et de conductivité. Les prélèvements d'eau représentent ainsi les prélèvements ponctuels qui ont été analysés par chromatographie ionique. En 2015, la pose/la récupération des DGT sur les quatre lacs se déroulaient sur deux jours. Généralement les DGT étaient déployés ou récupérés le lundi sur les lacs du Sud (Parentis-Biscarrosse, Cazaux-Sanguinet) et le mardi pour les lacs du Nord (Hourtin-Carcans, Lacanau). Pour les campagnes 2016, les DGT étaient posés/récupérés sur les deux lacs du sud le lundi. Sur

l'ensemble des campagnes 2015 et 2016, respectivement trente-deux et quatorze sorties terrains ont été réalisées. Les échantillonneurs passifs et les bouteilles de prélèvements d'eau étaient maintenus au frais dans des glacières lors du transport. A l'arrivée au laboratoire, l'ensemble des échantillons était conservé à 4°C avant d'être analysé dans les 48 h pour les eaux (les résines TiO₂ des DGT, après désassemblage, peuvent se conserver congelées pendant quelques mois).



Figure 24 : Déploiement des DGT

Contrôle qualité

Lors de chaque campagne, un DGT nommé « Blanc terrain » était transporté en présence des autres échantillonneurs passifs qui allaient être déployés dans les différents lacs. Au point de prélèvement il était exposé à l'air libre pendant la durée de la pose ou de la récupération des autres DGT. Il a permis de contrôler la présence ou non de contamination lors du transport ; il était analysé en même temps que les autres DGT qui ont été déployés dans les différents lacs.

IV-3 Résultats de terrain

Campagnes 2015

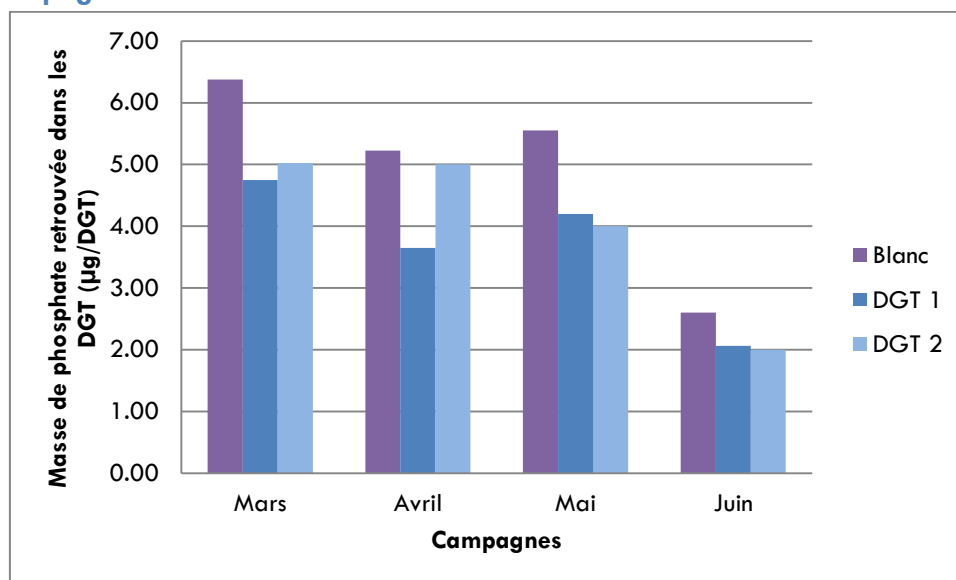


Figure 25 : Contamination des DGT terrains de Lacanau en 2015

Contamination des DGT déployés

Comme il l'a été indiqué dans la partie III-4, l'adsorbant TiO_2 était apparu comme déjà fortement contaminé en phosphate. Dans un premier temps, tous les DGT déployés dans les différents lacs lors des quatre premières campagnes étaient munis d'une résine Titane contaminée. La Figure 25 ci-dessus rassemble les résultats obtenus lors de ces premières campagnes sur le lac de Lacanau. Les masses de DRP retrouvées dans les Blancs-terrain sont représentées en violet et les masses retrouvées dans les DGT exposés dans le lac sont représentées en bleu. Les masses de DRP retrouvées dans les Blanc-terrains sont semblables à celles retrouvées dans les DGT exposés dans le lac. Les résultats de ces premières campagnes sont donc inexploitable, ce qui a nécessité la mise au point d'un protocole de purification de la résine Titane avant assemblage des DGT par la suite.

Ce problème de contamination des résines n'a été observé qu'à partir du mois de mai. Ce délai s'explique par le fait que les campagnes terrain 2015 devaient commencer dès le mois de mars, en même temps que les campagnes pour le suivi du phytoplancton. Le déploiement des DGT a été anticipé avant que la mise au point méthodologique et analytique soit mise en place au laboratoire. Suite à l'observation de cette contamination initiale des résines Titane, des essais ont été mis en place rapidement dans le but de purifier l'adsorbant TiO_2 , puis ont nécessité plusieurs mois avant finalisation du protocole (Annexe 3).

Résultats issus des échantillonneurs passifs

A partir de la campagne de juillet (Figure 26), les DGT qui ont été déployés sur les différents lacs contenaient des résines Titane purifiées avec un protocole initialement basé sur un rinçage basique (1 M de NaOH), comme mentionné dans la section III-4. Le niveau de contamination dans les DGT blanc-terrain était nettement plus faible (0,1 μg contre 3-6 μg par DGT, initialement). Les limitations de ce nouveau protocole résidait toutefois dans le fait que ces résines rincées en milieu basique n'accumulaient ensuite qu'assez peu de phosphate avec un rendement d'environ 10-20 %. La méthode de dosage des orthophosphates venant des DGT est détaillée en annexe 4.

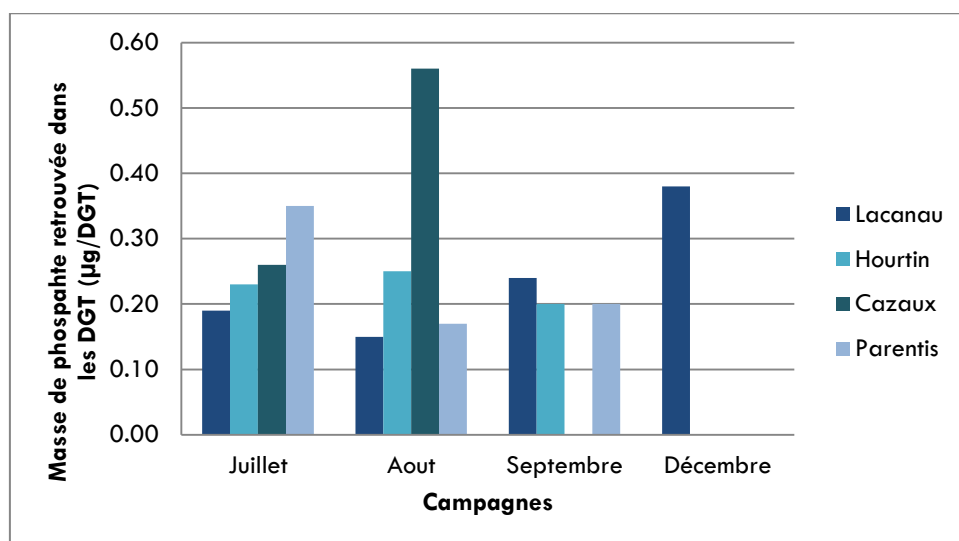


Figure 26 : Résultats semi-quantitatifs obtenus lors des différentes campagnes 2015 à partir des DGT

Le graphique de la Figure 26, représente les masses de phosphate retrouvées dans les DGT exposés dans les quatre lacs lors des quatre campagnes. Ces résultats sont exprimés en $\mu\text{g}/\text{DGT}$, il faut donc les considérer comme semi-quantitatifs en 2015. Dans ce graphique, la moyenne des masses retrouvées dans les DGT du lac de Lacanau est représentée en bleu foncé, en bleu clair celle retrouvée dans les DGT du lac d'Hourtin-Carcans, en vert foncé celle du lac de Cazaux-Sanguinet et en bleu pastel celle du lac de Parentis-Biscarrosse. Ces premiers résultats montrent que des phosphates ont été détectés avec les DGT déployés dans les quatre lacs lors des différentes campagnes. Cependant, ces valeurs des différentes masses retrouvées dans les quatre lacs sont très faibles.

Les résultats des campagnes d'octobre et de novembre n'apparaissent pas sur le graphique car les résultats obtenus se trouvent tous en-dessous des limites de quantification dans l'extrait de DGT. Sur le graphique il est également possible de relever l'absence de résultat pour le lac de Cazaux-Sanguinet au mois de septembre. Cela s'explique par le fait qu'il a été impossible de retrouver le triplicat de DGT, exposé dans le lac, sept jours plus tard. A noter que pour l'ensemble des dix campagnes, ce type de perte est arrivé qu'une seule fois, sur un seul lac.

Pour finir, il n'y a que les résultats du lac de Lacanau qui sont présentés pour la dernière campagne, car c'est l'unique lac dans lequel les échantillonneurs passifs ont été déployés durant ce mois-là.

Campagnes 2016

Les résultats des campagnes 2016 sont présentés dans la Figure 27. Les histogrammes représentent les masses de phosphate retrouvées dans les DGT exposés dans les deux lacs. Comme pour les résultats de la campagne 2015, les résultats sont exprimés en $\mu\text{g}/\text{DGT}$ dans un premier temps. La moyenne des masses retrouvée dans les DGT (triplicat) du lac de Cazaux-Sanguinet est représentée en bleu foncé et en bleu pastel celle du lac de Parentis-Biscarrosse. Cette série de résultats pour les campagnes 2016 montre que les résines Titane ont adsorbé des phosphates sur les deux lacs lors des différentes campagnes. Cependant, les valeurs des différentes masses retrouvées dans les deux lacs demeurent basses. De plus les résultats des campagnes de mars et de mai ne sont pas présentés car les valeurs sont toutes en dessous de la limite de quantification ($0,16 \mu\text{g}$ dans l'extrait de DGT).

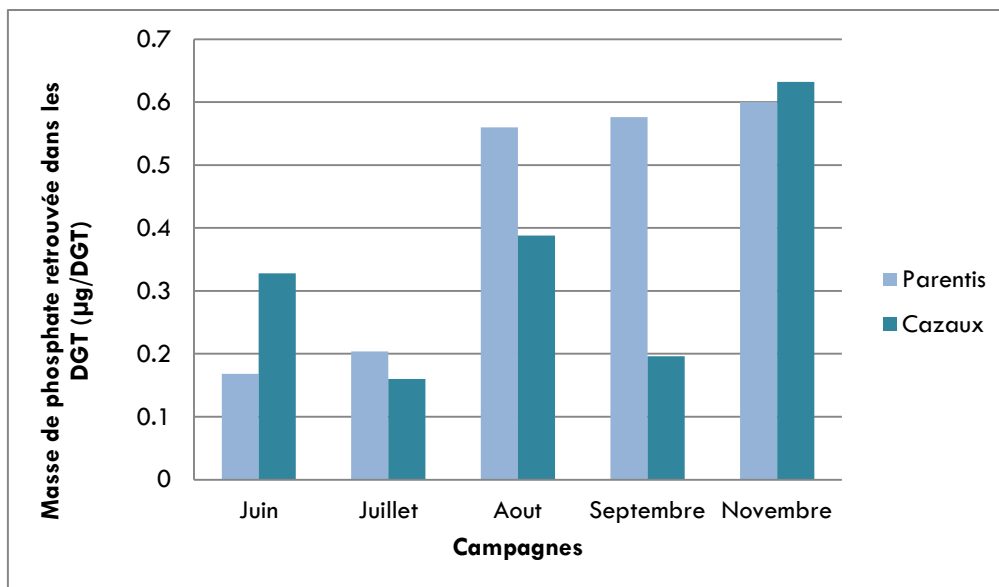


Figure 27 : Résultats semi-quantitatifs obtenus lors des différentes campagnes 2016 à partir des DGT

Résultats issus des prélèvements ponctuels d'eau lors des campagnes 2015 et 2016

Les échantillons d'eau de toutes les campagnes 2015 et 2016 ont été analysés. Aucune quantification d'orthophosphates dissous n'a été observée car tous les résultats se situaient en dessous de la limite de quantification de la méthode analytique pour les prélèvements d'eau.

Pour rappel, un prélèvement ponctuel d'eau a été réalisé lors de chaque campagne, sur chaque lac et lors de toutes les poses et récupération des DGT. Ces prélèvements d'eau ont été analysés au laboratoire par la technique de la chromatographie ionique. D'après le SEQ-EAU, la qualité de l'eau d'un plan d'eau est considérée comme très bonne si la concentration en phosphate retrouvée dans les eaux est inférieure à $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ or la chromatographie ionique a une limite de quantification de 4 µg.L^{-1} . Cela signifie que la méthode d'analyse des orthophosphates dans les eaux par la chromatographie ionique utilisée au laboratoire est compatible avec les exigences de quantification de la physico-chimie, par rapport à l'état écologique des eaux douces de surface. Toutefois, ce seuil de quantification paraît insuffisant pour mettre en évidence les niveaux de concentration en orthophosphate dissous et supposé biodisponible pour le phytoplancton sur les quatre lacs étudiés.

Comparaison des méthodes d'analyse des phosphates (prélèvement ponctuel d'eau vs échantillonneur passif)

Dans les prélèvements ponctuels d'eau il n'a pas été possible de quantifier la présence de phosphate lors des différentes campagnes de 2015 et 2016. Les analyses des échantillons provenant des échantillonneurs passifs ont en revanche montrées la présence de phosphate sur plusieurs campagnes en 2016 et dans les différents lacs. Les caractéristiques de chaque méthode de prélèvements sont résumées dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Comparaisons des deux méthodes d'échantillonnage.

	Prélèvements ponctuels	Echantillonneurs passifs
Echantillons	Eau filtrée	DGT
Instrumentation	chromatographie ionique ou Spectrométrie UV-visible	Spectrométrie UV-visible
LQ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	4 (chromatographie) ou 50 (spectrophotométrie)	1
Avantages	Pas de préparation d'échantillon	- LQ plus basse (pré-concentration) - intégration sur 7 ou 14 jours
Inconvénients	- Données ponctuelles - Instabilité/faible durée de conservation des échantillons	- Préparation dispositifs - Exposition de 14 jours maximum qui peut doubler les déplacements terrain (pose et récupération) par rapport à un prélèvement ponctuel mensuel

Les DGT exposés à partir du mois d'août 2016 ont été traités avec le protocole final (nettoyage de la résine en milieu acide, section III-4 et annexe 3), ce qui a fourni des premiers résultats pouvant être exprimés en $\mu\text{g.L}^{-1}$ d'orthophosphates dissous pour les campagnes d'août, septembre et novembre 2016.

En parallèle de l'analyse des phosphates dissous par chromatographie ionique, l'analyse du phosphore total était également réalisée dans les prélèvements ponctuels. Quelques résultats sont présentés dans la Figure 28 ci-dessous et montrent la présence de phosphore dans la fraction totale (résultats exprimés en $\mu\text{g.L}^{-1}$ de P). Les concentrations en phosphore total retrouvées dans les eaux du lac de Cazaux-Sanguinet et Parentis-Biscarrosse sont représentées respectivement par un carré et un triangle rouge. Sur cette figure sont représentées également, avec les histogrammes bleu clair et bleu clair, les concentrations en orthophosphates dissous (exprimées en $\mu\text{g.L}^{-1}$ de P), retrouvés dans les deux lacs, au moyen des DGT. Ces résultats montrent que du phosphore est effectivement présent dans les deux lacs, dans la fraction totale (comprenant la contribution du phosphore particulaire) et que les DGT, exposés durant ces campagnes, ont permis d'échantillonner une partie (quelques %) de ce phosphore total. A ce stade de l'étude, cette fraction dissoute du phosphore piégée par la DGT, par rapport au phosphore total, pourrait permettre d'accéder à la fraction assimilée par le plancton (Panther et al., 2010).

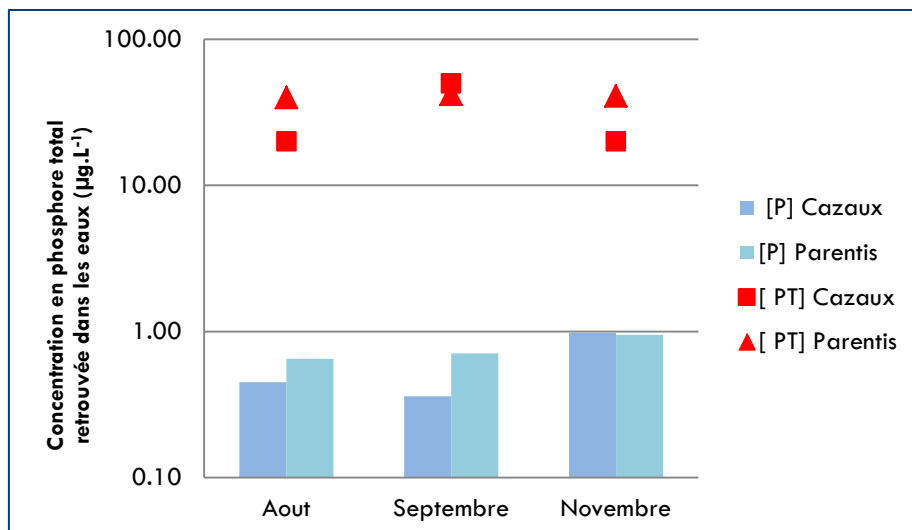


Figure 28 : Résultats des analyses de phosphore total (analyse ponctuelle en rouge) et des phosphates (analyse DGT en bleu). Concentrations en $\mu\text{g.L}^{-1}$ selon une échelle logarithmique au cours des campagnes 2016

L'intérêt des échantillonneurs passifs est ainsi démontré avec ses premiers résultats. Dans les différents lacs, le niveau de concentration en phosphate dissous est a priori très faible et n'a pu être quantifié dans les prélèvements ponctuels d'eau, malgré des limites de quantification de $4 \mu\text{g.L}^{-1}$. De plus, les orthophosphates dissous faiblement présents dans la colonne d'eau sont probablement assimilés assez rapidement par les producteurs primaires (dont le phytoplancton). La technique DGT peut ainsi constituer un appui complémentaire à l'analyse des prélèvements ponctuels d'eau, afin de mettre en évidence les orthophosphates dissous biodisponibles.

V- Perspectives

Le protocole de fabrication des résines Titane non contaminées ainsi que la méthode de l'analyse des phosphates échantillonnés dans les DGT ont été développés, puis validés au cours de cette étude. Par ailleurs, les derniers résultats des campagnes 2016 se sont montrés assez concluants et prometteurs. Ils ont permis de mettre en évidence la fraction de DRP au moyen de DGT déployés dans les deux lacs, fournissant une estimation des concentrations en orthophosphates dissous actuellement inaccessibles avec les prélèvements ponctuels d'eau.

Il resterait à réaliser par la suite un étalonnage des DGT dans des conditions variables de pH et force ionique afin d'en étudier maintenant la robustesse, en fonction des conditions physico-chimiques du milieu d'exposition. Enfin, il conviendrait de déployer des DGT sur les différents lacs afin de relier les concentrations en DRP, et non plus seulement le phosphore total, avec l'évolution saisonnière des communautés phytoplanctoniques.

Conclusion

Dans le but de comprendre et d'identifier le processus d'eutrophisation, la détection et la quantification des phosphates dans les eaux y jouent un rôle important. La présence de phosphore et d'autres nutriments sont à l'origine de la prolifération d'algues. Il existe de nombreuses techniques d'analyses des phosphates dans les eaux, mais les plus couramment utilisées en routine dans les laboratoires sont la spectroscopie UV-visible et la chromatographie ionique. Dans cette étude, une méthode a été développée à partir d'échantillonneurs passif (DGT) dans le but de détecter et de quantifier des phosphates présents dans les eaux. En 2015 et 2016, plusieurs campagnes ont été réalisées. Les DGT ont été déployés dans différents lacs et lors de chaque pose/récupération, un prélèvement ponctuel d'eau été réalisé. Les échantillons issus des DGT ont été analysés par la méthode de la spectroscopie UV-Visible et les prélèvements ponctuels ont été analysés par la méthode de la chromatographie ionique. Le but était de comparer les résultats obtenus à partir des échantillonneurs passifs à ceux obtenus par les prélèvements ponctuels.

Suite à l'observation de la contamination initiale par des phosphates de l'adsorbant TiO_2 utilisé en tant que phase réceptrice dans les DGT, plusieurs étapes de purification ont dû être mises au point dans le but de limiter cette contamination affectant les limites de quantification de la méthode. Ce n'est que durant l'été 2016 que l'obtention de résines non contaminées, et de taux de récupération suffisamment élevés des orthophosphates piégés par la DGT, a pu aboutir. La capacité maximale d'adsorption a été également étudiée et optimisée. Enfin, un étalonnage en laboratoire des DGT a pu être réalisé dans l'eau déminéralisée. Cette étude a permis de déterminer la constante expérimentale de diffusion des phosphates dans le gel diffusif et de mettre en évidence que les DGT adsorbent les phosphates de façon linéaire en fonction du temps.

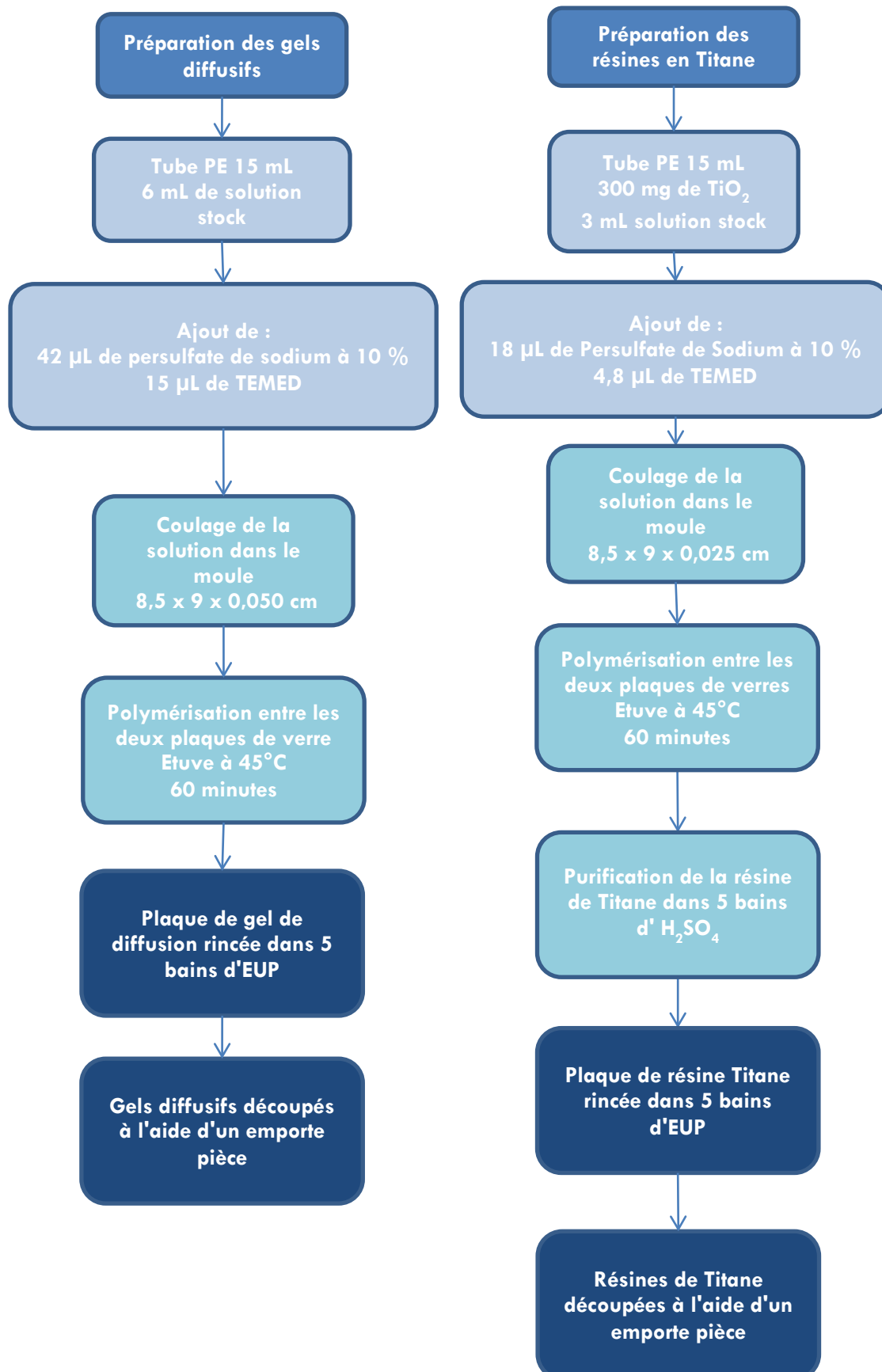
Les derniers résultats issus des analyses des DGT exposés dans les lacs ont permis de mettre en évidence la présence très faible de phosphate dans les lacs alors qu'aucune quantification de phosphate n'a été relevée dans l'analyse des différents prélèvements ponctuels. Les résultats des campagnes d'été et automne 2016 ont également montré que la fraction dissoute isolée par la DGT ne représentait qu'une part réduite (1-2 %) du phosphore total présent dans les eaux. Les très faibles niveaux de concentration mis en évidence dans la fraction dissoute expliquent probablement l'absence de quantification avec les méthodes conventionnelles d'échantillonnage ponctuel, malgré des limites de quantification déjà très basse de $4 \mu\text{g.L}^{-1}$ dans les eaux.

Cette étude sur les échantillonneurs passifs DGT a montrée l'intérêt d'utiliser ce type d'échantillonnage dans des milieux où les phosphates se trouvent à l'état de trace. Le fait d'utiliser des échantillonneurs passifs permet d'accumuler des phosphates tout au long de la phase d'exposition dans les milieux aquatiques, permettant ainsi d'abaisser la limite de quantification. Ce type d'échantillonnage pourrait constituer un appui complémentaire aux prélèvements ponctuels utilisés pour les mesures dans les réseaux de surveillance des masses d'eau. La donnée fournie par le DGT pourrait également s'avérer utile pour mieux estimer la fraction assimilée au cours du temps par les producteurs primaires, notamment le phytoplancton.

Références Bibliographiques

- NF T90-210 - Qualité de l'eau - Protocole d'évaluation initiale des performances d'une méthode dans un laboratoire (2009).
- NF EN ISO 6878 - Qualité de l'eau - Dosage du phosphore - Méthode spectrométrique au molybdate d'ammonium (2005).
- Ansanay-alex, G. (2013). Estimating Occupancy Using Indoor Carbon Dioxide Concentrations Only in an Office Building: a Method and Qualitative Assessment (January). 11th REHVA World Congress "Energy efficient, smart and healthy buildings": Clima 2013, At Prague.
- Arrêté du 27 juillet 2015 modifiant l'arrêté du 25 janvier 2010 relatif aux méthodes et critères d'évaluation de l'état écologique, de l'état chimique et du potentiel écologique des eaux de surface pris en application des articles R. 212-10, R. 212-11 et R. 212-18 du code de l'environnement. JORF n°0198 du 28 août 2015 page 15032, texte n°4.
- Bernard, C. 2014. Gradient de diffusion en couche mince appliqué aux phosphates. Rapport de stage licence 3 mention chimie, université de bordeaux, 20 p.
- Docekalova, H. (2005). Application of diffusive gradient in thin films technique (DGT) to measurement of mercury in aquatic systems, 65, 1174–1178. <http://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.08.054>
- Garmo, Ø. A., Røyset, O., Steinnes, E., & Flaten, T. P. (2003). Performance Study of Diffusive Gradients in Thin Films for 55 Elements, 75(14), 3573–3580.
- Gimpel, J., Zhang, H., Hutchinson, W., & Davison, W. (2001). Effect of solution composition , flow and deployment time on the measurement of trace metals by the diffusive gradient in thin films technique, 448, 93–103.
- Meybeck, M., & Helmer, R. (1989). THE QUALITY OF RIVERS: FROM PRISTINE STAGE TO GLOBAL POLLUTION, 75, 283–309.
- Miquel, G., Revol, H., 2003. La qualité de l'eau et de l'assainissement en France. Sénat-Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques. Paris. Rapport législatif 215, tome 1, www.senat.fr. p. 195.
- Panther, J. G., Teasdale, P. R., Bennett, W. W., Welsh, D. T., Centre, E. F., & Coast, G. (2010). Titanium Dioxide-Based DGT Technique for In Situ Measurement of Dissolved Reactive Phosphorus in Fresh and Marine Waters, 44 (24), 9419–9424.
- Rivera, C. (2003). Performance of a passive sampler system for nitrate and phosphate monitoring.
- Teasdale, P. R., Hayward, S., Davison, W., Science, E., & La, L. (1999). In situ , High-Resolution Measurement of Dissolved Sulfide Using Diffusive Gradients in Thin Films with Computer-Imaging Densitometry, 71(11), 2186–2191.
- Zhang, H., Davison, W., Gadi, R., & Kobayashi, T. (1998). In situ measurement of dissolved phosphorus in natural waters using DGT, 370, 29–38.

Annexe N°1 : Etapes de préparation des gels diffusifs et des résines Titane



Annexe N°2 : Réactifs utilisés lors de la fabrication des DGT ou lors de son analyse

- **Solution d'acide sulfurique à 49,5 %** : (H₂SO₄)

Introduire 50 mL d'ED dans une fiole jaugée de 100 mL. Avec précaution, ajouter 50 mL d'acide sulfurique à 99 %.

- **Solution d'acrylamide à 40 %** : (C₃H₅NO)

Dissoudre 4 g de poudre d'acrylamide dans 10 mL d'EUP.

NOTE : la solution reste stable pendant 6 mois si elle est conservée au réfrigérateur

- **Solution d'hydroxyde de sodium à 2 mol.L⁻¹** : (NaOH)

Dissoudre 40 g de cristaux d'hydroxyde de sodium dans 500 mL d'ED.

- **Solution d'acide sulfurique à 25 %** : (H₂SO₄)

Introduire 750 mL d'ED dans une fiole jaugée de 1000 mL. Avec précaution, ajouter 250 mL d'acide sulfurique à 99 %.

- **Solution de persulfate d'ammonium à 10 %** : (NH₄)₂S₂O₈

Dissoudre 100 mg de poudre de persulfate d'ammonium dans un tube PE de 15 mL avec 1 mL d'EUP.

NOTE : Solution stable une journée

- **Solution d'acide ascorbique à 2 %** : (C₆H₈O₆)

Dissoudre 1 g d'acide ascorbique dans une fiole jaugée de 50 mL avec de l'ED et compléter jusqu'au trait de jauge.

NOTE : Solution stable une journée

- **Solution de molybdate à 40 g.L⁻¹** : [(NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O]

Dissoudre 2 g d'heptamolybdate d'ammonium tétrahydraté dans 50 mL d'ED.

NOTE : Solution stable une semaine si elle est conservée au réfrigérateur

- **Solution d'antimoine à 2,8 g.L⁻¹** : [C₈H₄K₂O₁₂Sb₂.3H₂O]

Dissoudre 0,14 g de tartrate de potassium et d'antimoine trihydraté dans 50 mL d'ED.

NOTE : Solution stable une semaine si elle est conservée au réfrigérateur

- **Solution mère d'étalon d'orthophosphate à 1000 mg.L⁻¹** : [PO₄³⁻]

- **Solution fille d'étalon d'orthophosphate à 191 mg.L⁻¹ : [PO₄³⁻]**

Insérer 19 mL de solution mère d'étalon (2.9) dans 100 mL d'EUP.

NOTE : Solution stable quatre mois si elle est conservée au réfrigérateur

- **Solution stock :**

Dans un tube PE de 50 mL, ajouter 1,5 mL de Cross Linker ; 3,75 mL de solution d'acrylamide à 40 % et 4,75 mL EUP. Agiter vigoureusement.

NOTE : Solution stable une journée

- **Solution de réactif :**

Dans un tube PE de 50 mL, ajouter 10 mL d'ED, 3 mL de la solution de molybdate et 1 mL de la solution d'antimoine. Agiter vigoureusement.

NOTE : Solution stable une journée

Annexe N°3 : fabrication des différentes couches et montage du DGT

1. Polymérisation et coulée de la résine Titane

Dans un tube PE de 15 mL, identifié « résine de Titane », insérer 300 mg de Titane et ajouter 3 mL de solution stock. Agiter fortement pendant 10 minutes. Passer le tube aux ultrasons durant 5 minutes. Agiter de nouveau durant 10 minutes. Vérifier visuellement que tout le Titane soit dissout. Préparer le moule avec des spacers de 0,25 mm et le maintenir à l'aide de quatre pinces.

Dans le tube « résine de Titane » ajouter 18 µL de la solution de persulfate d'ammonium à 10 % et 4,8 µL de TEMED. Agiter rapidement et couler la solution obtenue dans le moule à l'aide d'une micropipette de 1000 µL. Faire attention aux bulles.

Mettre le moule à plat dans une étuve à 45°C pendant 1 heure.

2. Purification, rinçage et découpage des résines Titane

Récupérer le moule dans l'étuve, retirer les pinces du moule, démouler la résine Titane à l'aide d'une spatule et l'insérer dans un flacon PE d'un litre contenant 200 mL de la solution d'acide sulfurique à 25 %. Déposer le flacon sur la table d'agitation (100 rpm) pendant 25 minutes. Récupérer la résine et répéter quatre fois le lavage. Rincer la résine dans un flacon PE de 250 mL rempli d'EUP. Répéter ce rinçage plusieurs fois sur une période de 24 heures. Vérifier que le pH du dernier bain de rinçage soit à 7. Déposer délicatement la résine de Titane sur la table DGT et découper des disques de résine avec un emporte-pièce (tube plastique DGT-research). Les disques de résine Titane découpés sont conservés dans l'EUP à 4 °C dans un tube PE de 50 mL.

3. Polymérisation et coulée du gel de diffusion

Dans un tube PE de 15 mL identifié « gel de diffusion », insérer 6 mL de solution stock. Préparer le moule avec des spacers de 0,50 mm et le maintenir à l'aide des pinces.

Dans le tube « gel de diffusion » ajouter 42 µL de la solution de persulfate d'ammonium à 10 % et 15 µL de TEMED. Agiter rapidement et couler la solution obtenue dans le moule à l'aide d'une micropipette de 1000 µL. (attention aux bulles)

Mettre le moule à plat dans une étuve à 45 °C pendant 1 heure.

4. Rinçage et découper des gels de diffusion

Récupérer le moule dans l'étuve, retirer les pinces du moule, démouler le gel de diffusion à l'aide d'une spatule et l'insérer dans un flacon PE de 250 mL rempli d'EUP pour le rincer. Répéter l'étape de rinçage cinq fois sur une période de trois heures. Déposer délicatement le gel de diffusion sur la table DGT et découper des disques de gel de diffusion avec un emporte-pièce (tube plastique DGT-research). Les disques de gel de diffusion découpés sont conservés dans l'EUP à 4 °C dans un tube PE de 50 mL.

5. Assemblage d'un DGT

Sur la table DGT, placer à plat le socle DGT, y déposer une résine Titane, un gel de diffusion et une membrane PES de 0,45 μm préalablement humidifiée dans de l'EUP. Maintenir et fermer le dispositif avec la bague DGT.

NOTE : les DGT sont à conserver dans une pochette plastique humidifiée avec un peu d'EUP, à l'abri de la lumière et au réfrigérateur avant ou après exposition.

Annexe N°4 : Dosage des orthophosphates captés par le DGT

1. Démontage et élution des DGT

Récupérer la pochette des DGT dans le réfrigérateur, sortir un DGT et le rincer avec de l'EUP si présence de biofilm. Sécher l'extérieur du DGT avec du papier et ôter la bague à l'aide d'une pince Becro. Retirer la membrane et le gel de diffusion et les mettre à la poubelle. Récupérer délicatement la résine Titane et la placer dans un tube en plastique PE de 50 mL contenant 10 mL de NaOH à 2 mol.L⁻¹ (2.3). Déposer le tube contenant la résine sur la table d'agitation (80 rpm) pendant 24 heures. Retirer délicatement la résine en l'essorant au maximum avant de la jeter à la poubelle.

NOTE : L'éluât final représente l'échantillon qui va être analysés en spectrophotométrie UV-Visible après réaction de complexation avec le molybdate d'ammonium et l'acide ascorbique.

2. Mise à pH de l'échantillon

L'échantillon se compose d'une élution de 10 mL de NaOH à 2 mol.L⁻¹ se trouvant dans un tube PE de 50 mL. Dans le tube, ajouter 1,5 mL de solution d'acide sulfurique à 49,5 % et vérifier à l'aide d'un pH-mètre que le pH soit compris en 1,3 et 1,4.

3. Développement de la coloration

Tout en agitant, insérer 1,4 mL du mélange de réactif et 0,6 mL d'acide ascorbique à 2 %. Laisser réagir pendant 30 minutes. L'intensité de la coloration bleue de l'échantillon va dépendre de sa concentration en orthophosphate.

4. Mesures spectrométriques

À l'aide du spectromètre, mesurer l'absorbance de chaque étalon à 880 nm avec des cuves de trajet optique de 5 cm. Utiliser de l'eau dans la cuve de référence.

5. Essai à blanc

Parallèlement au dosage, effectuer un essai à blanc en suivant le même mode opératoire et en utilisant les mêmes quantités de réactifs que pour le dosage.

