Impact des oxydes de fer naturels et des nanoparticules manufacturées sur la dynamique des éléments traces dans les sols de zones humides

Maya Al-Sid-Cheikh

▶ **To cite this version:**

Maya Al-Sid-Cheikh. Impact des oxydes de fer naturels et des nanoparticules manufacturées sur la dynamique des éléments traces dans les sols de zones humides. Géochimie. université de Rennes 1, 2015. Français. NNT : . tel-01244610

HAL Id: tel-01244610

https://insu.hal.science/tel-01244610

Submitted on 16 Dec 2015

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.

THÈSE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1

sous le sceau de l'Université Européenne de Bretagne

Pour le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1

Mention : Sciences de laTerre

Ecole doctorale sciences de la matière

Présentée par

Maya AL-SID-CHEIKH

Préparée à l'unité de recherche UMR 6118
Géosciences Rennes
Observatoire des Sciences de l'Univers de Rennes

Impact des oxydes de fer naturels et des nanoparticules manufacturées sur la dynamique des éléments traces dans les sols de zones humides

Thèse soutenue à Rennes

le 2 octobre 2015

Devant le jury composé de :

Christian GAGNON
Chercheur, Environnement Canada, *Rapporteur*

Laura SIGG
Professeure EAWAG-ETHz, *Rapporteur*

Khalil HANNA
Professeur Ecole de Chimie Rennes, *Examinateur*

Mathieu PEDROT
Maitre de Conférences, Géosciences Rennes,
Co-*directeur de thèse*

Aline DIA
Directrice de Recherche CNRS, Géosciences Rennes,
Directrice de thèse

'The whole problem with the world is that fools and fanatics are always so certain of themselves, and wiser people so full of doubts.'

Bertrand Russell

Remerciements

Ce manuscrit sanctionne la fin d'un projet de recherche que j'ai entrepris il y a 3 ans. Par cette section, je souhaite remercier les gens qui ont compté pour moi et qui mon aidé que ce soit au point de vue moral, scientifique, technique et/ou humain.

Le point les plus importants pour moi est le côté humain des gens que je rencontre et avec lesquels je travaille. J'aimerais donc dans un premier temps remercier mon jury pour l'attention qu'ils ont portée à mon travail et leurs commentaires constructifs qui n'ont fait que bonifier ce que j'ai entrepris : Christian GAGNON, Laura SIGG qui m'ont fait l'honneur d'être rapporteur de mes travaux, Khalil HANNA et Armand MASION qui ont assuré l'examen attentif de mes résultats. J'ai pu apprécier votre esprit scientifique et votre gentillesse qui sont pour moi des gages de grands chercheurs.

Je voulais également remercier Aline DIA d'avoir été la directrice de ma thèse et Mathieu PEDROT le codirecteur. Merci, Aline, de me soutenir. D'autre part, je voulais remercier Mélanie DAVRANCHE d'avoir soutenu financièrement les analyses de laboratoire sans quoi le projet n'aurait pu être possible.

D'autre part, je voulais remercier Delphine VANTELON, responsable de la ligne LUCIA au synchrotron SOLEIL pour sa gentillesse, sa bienveillence et son accessibilité lors de mes passages. Merci pour ta considération et toutes tes explications. J'aimerais également remercier Jérôme ROSE qui m'a appris à utiliser et à traiter mes données de μXRF. Mes passages au CEREGE ont été très enrichissants et l'équipe est vraiment agréable. Quel plaisir de travailler dans cette ambiance agréable et sympatique. Merci d'avoir partager avec moi tes connaissances sur la fluorscence des rayons X. Merci pour ta considération et ta disponibilité malgré ton agenda très chargé. C'est vraiment enrichissant de rencontrer des chercheurs comme toi aussi bien riche de connaissances que riche d'humanité. C'est également l'occasion de remercier Perrine CHAURAND qui a été là lorsque j'ai eu des soucis avec mes analyses ou traitement de données. Merci pour ta gentillesse et ta disponibilité, j'ai eu beaucoup de plaisir à partager ces moments. Mes séjours au CEREGE ont vraiment été un réel plaisir et me donnait le gout de rester parmi vous. J'ai pu partager et recevoir avec une équipe comme la votre. Cela a été une réelle bouffé d'air frais. Merci à toute l'équipe.

Les projets de recherche, quels qu'ils soient ne seraient pas possibles sans l'aide technique que nous avons. Je tenais donc à remercier toutes les personnes avec qui j'ai pu travailler et particulèrement :

Patricia MADEC, merci pour ta gentillesse et ta fraîcheur. Tu as toujours été là quand j'avais besoin de toi. Tu as su mettre en place la méthode de mesure des lactactes et acétate alors que c'était loin d'être facile, mais tu as tenu bon et réussi ! Merci pour ta qualité scientifique et surtout humaine. Certaines personnes peuvent croire que la gentillesse est une faiblesse, mais ce n'est pas vrai ! Alors continue comme cela. Tu as fait le choix courageux de la réorientation professionnelle. Peu de gens en seraient capables ! Tu as fait le bon choix ! Tu es faite pour être avec les enfants !

Patrice PETITJEAN, que dire … Ah, je me suis bien marrée avec toi ! On avait une excellente entente, ce qui nous permettait de pouvoir nous dire les choses franchement et avancer sereinement dans notre travail. Merci d'avoir été là surtout sur la fin pour finaliser mes dernières analyses. Merci de m'avoir aidée et soutenue ! Merci pour ta coopérativité, ta débrouillardise et ton pragmatisme. Ceux sont des qualités importantes chez un scientifique, car ça lui permet d'être créatif, ce qui ne s'invente pas et surtout ne s'apprend pas. Merci pour ton dévouement durant ces 3 années passées avec toi. Merci pour le miel de tes abeilles, je me suis régalée.

Martine BOUHNIK-LE COZ, merci pour ton assistance sur l'ICPMS.

Xavier Le COZ, merci pour ta bonne humeur, ton esprit pragmatique et ton franc-parler. J'adore ! Reste comme cela ! C'est à cela que l'on reconnaît les gens vrais et c'est comme cela qu'on réussit à faire de la vraie science. Une chose est sûre, on sait où l'on s'en va avec toi et j'adore ! La qualité de préparation pour mes échantillons a toujours été au rendez-vous, ce qui donne des résultats de qualités ! Quant on sait ce que l'on veut, on obtient une qualité de résultat en conséquence. Merci pour ton dévouement. J'ai vraiment beaucoup aimé travailler avec toi. Merci, pour ton accessibilité, ta conscience professionnelle, et ta gaité.

Je tenais aussi à remercier les personnes de la plateforme MRIC, Agnès BUREL et Marie-Thèrese LAVAULT. J'ai beaucoup aimé travailler avec vous. Ma formation sur l'ultramicrotomie sera valorisée ! J'en suis certaine. Merci, Marie-Thérèse, pour ta gentillesse et patience. C'est vraiment agréable de travailler avec des gens calmes. Merci, Agnès, pour les images TEM que nous avons pu faire.

Thomas DELHAYE, merci pour toute ton expérience sur la nanoSIMS. Dommage que l'aventure ne continue pas ! Prends soin de toi ! J'ai vraiment apprécié notre collaboration qui a été très fructueuse ! Merci encore pour tout ! J'espère que tu te trouves mieux maintenant !

Je voulais surtout remercier les stagiaires que j'ai pu encadrer durant ma thèse : Arielle ARISTE, Emmanuelle MARIA et Laura Martinez. Mes deux premiers petits poulains (Arielle et Emmanuelle) ont toutes les deux trouvé une thèse de doctorat

que ce soit au Canada ou à Pau en France. Je suis très fière de cela, car je me sens un peu responsable de votre avenir. Je ferais toujours tout ce que je peux pour vous aider. J'ai vraiment aimé travailler avec vous. Des personnes, drôles, gentilles, aimables et surtout travailleuses ! Même dans les moments les moins faciles, vous avez su me faire confiance et je vous en serais toujours reconnaissante.

Ma reconnaissance la plus sincère ira à mon conjoint et futur mari, Marc-André CORMIER. Il a pris le temps nécessaire pour m'aider, me soutenir, m'encourager et me corriger. Il a été le plus grand soutien que j'ai pu avoir durant cette thèse. Grâce à toi j'ai pu écrire de très belles histoires qui ont été appréciées par nos paires ! Quelle équipe de choc ! Dès le premier jour de ce projet, tu m'as fait garder le cap. Ton enthousiasme et ta bonne humeur sont un réel bonheur. Tu as su trouver les mots pour me faire voir les bons côtés des choses, ce qui est un atout dans les moments durs.

Ma deuxième plus grande reconnaissance va à Marie OLIVIER. Mon amie avec qui j'ai pu tout partager et qui m'a toujours comprise ! Que ce soit notre passion commune pour le Rugby ou pour Game of Thrones avec la « mort » de John SNOW. Rassure-toi, je suis certaine qu'il n'est pas mort ! Il y avait aussi Kaamelot ! Qu'est-ce que l'on a pu rire avec cela ! Heureusement que tu étais là, toi aussi dans les moments durs ! J'aime les gens VRAIS et tu l'es à 100 %. Reste comme cela ma chérie, les gens comme toi se font rares. Tu auras à jamais une autre vision des Kinder surprises, j'en suis certaine. Avec les kinders surprise, on a toujours un (dé)-goût innimitable et en prime une surprise de pacotille que l'on préfèrerait ne pas avoir, mais les enfants en rafolle !

J'aimerais également remercier ma sœur, car elle a été là dès mon retour du Canada et m'a énormément aidée. Si elle n'avait pas été là, je pense que cela aurait été beaucoup plus difficile que cela n'a été! Merci ma petite sœur ! Nous sommes fortes et c'est ce qui nous fait réussir et avancer dans la vie ! Ne change pas !

J'aimerais remercier tous les thésards avec qui j'ai eu beaucoup d'fun : Sedimentilogues et Hydros ! Vous allez tous me manquer !!!

Christian, tu seras toujours mon mentor ! Merci d'être toujours là pour moi ! Tim, merci d'avoir su me dire les choses quand il le fallait ! Je t'adore ! Merci pour ta bienveillance, ta gentillesse et ton enthousiasme ! Toi et Christian avez réussi à me faire rire avec notre Johnny boy ! Je n'aurais jamais cru rire un jour sur les têtes à claques ! Merci de m'offrir une vision des choses plus drôle !

A CŒUR VAILLANT RIEN D'IMPOSSIBLE !

Résumé étendu

La nanoscience est basée sur les changements de propriétés des particules lorsque leur diamètre est inférieur à 100 nm (i.e. nanoparticules, NPs). Devant l'utilisation croissante de telles NPs, et leur déversement probable dans l'environnement, l'évaluation des risques induits sur la santé humaine et l'environnement est un enjeu majeur. Dans le cadre de la protection des eaux et des sols, l'évaluation de la qualité des eaux de surface est particulièrement importante, notamment dans les zones humides (ZHs), où la dynamique des métaux toxique (i.e. As, Pb, Ni, Cr, Hg) est complexe et dépend des conditions redox du milieu. Comme les NPs de magnétite (nano-Fe_3O_4), naturelles ou manufacturées, sont reconnues pour leur capacité d'adsorption importante face aux métaux lourds, leurs interactions dans les ZHs ripariennes (ZHRs) avec les ETMs restent critiques quant à leurs impacts directs ou indirects. Ainsi, l'objectif de cette thèse était d'étudier le rôle des nano-Fe_3O_4 manufacturées (~10nm) et des oxydes de fer naturels sur la dynamique des ETMs dans les eaux de surfaces et les sols de ZHRs.

Ainsi, dans un premier volet portant sur des précipités colloïdaux naturels provenant de produits de reoxydation en milieu riparian (soumis à des oscillations redox), l'analyse de la distribution spatiale des éléments a été effectuée par cartographie isotopique nanoSIMS (i.e. $^{75}As^-$, $^{56}Fe^{16}O^-$, le soufre ($^{32}S^-$) et la matière organique ($^{12}C^{14}N^-$), alors que la spéciation du soufre a été évaluée par adsorption des rayons X au seuil K du soufre (S) (XANES). Ces analyses ont permis de mettre en évidences les interactions entre les oxydes de fer naturels, la matière organique naturelle (MON) et un métalloïde toxique, l'arsenic. Nos résultats suggèrent, par colocalisation statistique des images nanoSIMS, l'existence de deux types d'interaction : (1) $^{12}C^{14}N^-$, $^{32}S^-$, $^{56}Fe^{16}O^-$ et $^{75}As^-$, et (2) $^{12}C^{14}N^-$, $^{32}S^-$ et $^{75}As^-$. La coexistence des formes de S oxydées et réduites, confirmées par les analyses XANES, pourrait être attribuée à la lente cinétique d'oxydation de la MON. Ainsi, ce premier volet montre qu'en plus des interactions MON, oxydes de fer et As, de possibles interactions directes entre As et NOM à travers des groupements fonctionnels soufrés (e.g. thiols) sont aussi possibles en milieu oxydé. Dans un second volet, l'effet des nano-Fe_3O_4 (~ 10 nm) sur la mobilité des éléments traces (ETs) et des colloïdes, dans l'horizon organominéral d'un sol naturel de ZHR, a été évalué à l'aide de colonnes de sol. Nos résultats montrent que l'enrobage des nanoparticules semble influencer la mobilité de la MON et des ETs du sol. En effet, la mobilité des ETs semble augmenter en présence de nano-Fe_3O_4 nus, suggérant des associations où la MON stabiliserait les nanoparticules et augmenterait leur mobilité ainsi que celle des ETs associés. Ce mécanisme semble par contre moins possible avec le nano-Fe_3O_4 enrobées où la MON bloquerait les sites d'adsorption de l'enrobage et par conséquent l'adsorption de métaux. Dans le troisième volet, un couplage entre une nouvelle génération de colonne chromatographique d'exclusion de taille (SEC) et la spectrométrie de masse à troche plasma (ICP-MS) a permis de mesurer quantitativement les interactions directes entre les NPs et les TMs dans des matrices naturelles complexes (i.e. boues d'épuration, les eaux souterraines, l'eau du robinet) et différents échantillons artificiels contenant différentes concentrations d'acide humique et de métaux toxiques (i.e. As, Pb, Th). L'application de cette méthode a permis d'observer que la stabilité des nano-Fe_3O_4 nues est plus fortement affectée par la concentration en métaux (i.e. As et Pb) et le pH que celles enrobées. Des isothermes d'adsorption ont pu également être possibles grâce à cette méthode. Finalement, dans un dernier volet, un suivi de la bioréduction des nano-Fe_3O_4 par une bactérie modèle *Shewanella oneidensis* a montré des vitesses de bioréduction du fer très différentes pour deux types de nanoparticules, nano-Fe_3O_4 et d'hématite (nano-Fe_2O_3). Les différentes vitesses de bioréduction, potentiellement expliquées par les différentes cristallographies des deux nanoparticules, soulignent encore l'importance de la configuration de surface sur la réactivité et le comportement des nanoparticules.

Globalement, ce projet a mis en évidence comment est influencé le potentiel des nano-Fe_3O_4 à séquestrer les métaux toxiques, non seulement par la matrice du sol et la MON, mais aussi par leur propre configuration de surface. Par exemple, la dissolution très rapide (i.e. 8j) de nano-Fe_3O_4 non enrobées par l'activité bactérienne illustre l'importance de leur configuration de surface dans la subséquente mobilité des métaux. Est-ce que l'enrobage pourrait ralentir cette réduction des nanoparticules et par conséquent influencer différemment le transfert des métaux toxiques vers le compartiment aquatique ?

Extended abstract

Nanoscience is based on changes in particle properties when their diameter is below 100 nm (ie nanoparticles, NPs). Considering the increasing use of such NPs and their discharge into the environment, the assessment of their risks to human health and the environment is a major issue. Underneath the protection of waters and soils, the surface water assessment quality is particularly important, especially in wetlands, where the toxic metals dynamics (e.g. As, Pb, Ni, Cr, Hg) is complex and depends on the redox conditions of the environment. As magnetite (nano-Fe_3O_4), a natural or manufactured NP, is known for its significant adsorption capacity with heavy metals, their interactions in riparian wetlands with trace metals (TMs) remain critical concerning their direct of indirect impact on trace metals (TMs) mobility. The objective of this thesis was to study the role of manufactured nano-Fe_3O_4 (~ 10nm) and natural iron oxides on the TMs dynamics in wetland surface waters and soils.

Therefore, in a first part considering natural colloidal precipitates from reoxidation products from riparian areas (subject to redox oscillations), an analysis of the spatial distribution of elements was performed using nanoSIMS isotope mapping (i.e. $^{75}As^-$, $^{56}Fe^{16}O^-$, sulfur ($^{32}S^-$) and organic matter ($^{12}C^{14}N$), while the sulfur speciation was evaluated X-ray adsorption at K edge of the sulfur (S) (XANES). These analyzes allowed to highlight the interactions between natural iron oxides, natural organic matter (NOM) and a toxic metalloid, As. Our results suggest, with a statistical colocalization of nanoSIMS images, the existence of two interaction types: (1) $^{12}C^{14}N^-$, $^{32}S^-$, $^{56}Fe^{16}O^-$ and $^{75}As^-$, and (2) $^{12}C^{14}N^-$, $^{32}S^-$ and $^{75}As^-$. The coexistence of the oxidized and reduced forms of S, confirmed by the XANES analyses might be attributed to the slow oxidation kinetic of MON. Thus, this first part shows that in addition to the known interactions between MON, iron oxides and As, a possible direct interaction between As and NOM through sulfur functional groups (e.g. thiols) is also possible in oxidized environment. In a second part, the effect of nano-Fe_3O_4 (~ 10 nm) on trace elements (TEs) and colloids mobility in the organomineral horizon of a natural wetland soil was assessed using soil columns. Our results show that the nanoparticles coating influences the mobility of NOM and TMs. Indeed, the TMs mobility increases in presence of naked nano-Fe_3O_4, suggesting associations where NOM stabilizes the nanoparticles and increases the nanoparticles and associated TMs mobility. This mechanism seems less possible with coated nano-Fe_3O_4 where MON blocks the coating adsorption sites and therefore the adsorption of metals. In the third part, a coupling between a new generation of size exclusion chromatography (SEC) column and the induced coupled plasma mass spectrometry (ICPMS) allowed quantitative measurements of the direct interactions between NPs and TMs in complex natural matrices (i.e. sewage sludge, groundwater, tap water) and different artificial samples containing different concentrations of humic acid and toxic metals (eg As, Pb, Th). The application of this method allowed to observe that the naked nano-Fe_3O_4 stability is more affected by the metal content (ie As and Pb) and pH as those coated. Adsorption isotherms could also be possible with this method. Finally, in a last part, a nano-Fe_3O_4 bioreduction monitoring by *Shewanella oneidensis* showed very different bioreduction speeds for two nanoparticle types, nano-Fe_3O_4 and hematite (nano-Fe_2O_3). The different speeds might be explained by the different crystallography, still emphasizing the importance of the surface configuration in regard to the reactivity and behavior of nanoparticles.

Overall, this project has highlighted how is influenced the potential of nano-Fe_3O_4 to sequester toxic metals, not only by the soil matrix and NOM, but also by their own surface configuration. For example, the very fast nano-Fe_3O_4 uncoated dissolution (i.e. 8 days) by bacterial activity illustrates the importance of their surface configuration in the subsequent metal mobility. Indeed, such dissolution leads to significant release of Fe^{2+} able to complex and mobilize toxic metals. Nano-Fe_3O_4 could a coating slow this nanoparticle reduction and therefore differently affect the TMs transfer into the aquatic compartment?

Liste des abréviations

ENPs : Nanoparticules manufacturées

TM : Métaux toxiques

Nano-Fe_3O_4 : Nanoparticules de magnétite

Nano-Fe_2O_3 : Nanoparticules d'hématite

TEM / MET : Microscopie électronique à transmission

BET : Brunnauer, Emmet, Teller

DLS : Dynamic light scattering

DMSA : Acide dimercaptosuccinique

DRX : Diffraction des rayons X

EXAFS : Extended X-ray absorption fine structure

FI : Force ionique

ICP-MS : *Inductively coupled plasma mass spectrometry*

SSA : *Specific surface area*

XANES : *X-ray absorption near edge structure*

XAS : *X-ray absorption spectroscopy*

ZH : Zone humide

ZHR : Zone humide riparienne

ETM : Eléments traces métalliques

Table des matières

CHAPITRE I -INTRODUCTION GÉNÉRALE 1

PARTIE I - LES NANOPARTICULES (NPS) ET LEUR CONTEXTE DANS LES SOLS 3

I.1 LES NANOPARTICULES 3
I.1.1 CONTEXTE 3
I.1.2 ORIGINE 4
I.1.3 PROPRIÉTÉS PHYSIQUES ET CHIMIQUES 8
I.1.3.1 Réactivité 8
I.1.3.2 Dissolution et libération d'ions 10
I.1.3.3 Agrégation 10
I.2 LES NANOPARTICULES D'OXYDES DE FER 11
I.2.1 LES OXYDES DE FER ET LEURS APPLICATIONS 11
I.2.1.1 La magnétite (nano-Fe_3O_4) - Un nanoadsorbant inorganique 12
I.2.2 MODIFICATION DE SURFACE POUR UNE PERFORMANCE ACCRUE 14
I.3 LES ZONES HUMIDES RIPARIENNES : MODÈLE DE L'ÉTUDE 17
I.3.1 LES ZONES HUMIDES (ZHS) – DÉFINITION 17
I.3.2 LES ZH RIPARIENNES (ZHRS) DANS LE MONDE 19
I.3.2.1 Hydrologie des ZHRs 19
I.3.2.2 Sol de ZHR – l'horizon organique 20
I.3.2.3 Les ZHR ; de véritables réacteurs biogéochimiques 21
I.4 OBJECTIFS 22
I.4.1 OBJECTIF GÉNÉRAL 22
I.4.1.1 Objectifs spécifiques 23

PARTIE II - APPROCHE MÉTHODOLOGIQUE 25

II.1 PRÉAMBULE 25
II.2 LES COLLOÏDES NATURELS 26
II.2.1 COLLECTE DES PRODUITS DE RÉOXYDATION DES SOLS IN SITU 26
II.2.1.1 Site d'étude – Zone d'étude Armorique Kervidy-Naizin (ORE AgrHys) 26
II.2.1.2 Système de collecte des produits de réoxydation du sol et préparation des échantillons 27
II.2.2 ANALYSE DE LA DISTRIBUTION DE LA MON, AS, S, ET FEO 28
II.2.2.1 Préparation des échantillons 28
II.2.2.2 Microscopie électronique à balayage (MEB) 29
II.2.2.3 Distribution des éléments par nanoSIMS 30
II.2.3 LA SPÉCIATION DU SOUFRE PAR SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DES RAYONS X. 34
II.2.3.1 Énergie incidente - synchrotron 34
II.2.3.2 Principe 35
II.3 IMPACT DES NANOPARTICULES MANUFACTURÉES 37

II.3.1 PRÉPARATION DES NANOPARTICULES DE MAGNÉTITE (NANO-Fe_3O_4). 37
II.3.1.1 Synthèse par co-précipitation 37
II.3.1.2 Enrobage des nano-Fe_3O_4 38
II.3.2 CARACTÉRISATION DES NANOPARTICULES MANUFACTURÉES PAR MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE À TRANSMISSION (MET) 39
II.4 IMPACT DES NANO-Fe_3O_4 SUR LA MOBILITÉ DES ETM DANS LES SOLS DE ZHR 40
II.4.1 EXPÉRIENCE DE LESSIVAGE DE SOL NATUREL 40
II.4.1.1 Site d'étude, Pleine-Fougères, modèle pour les ZHRs 40
II.4.1.2 Analyses en phase liquide 42
II.4.1.2.1 La matière organique naturelle. 42
II.4.1.2.2 Analyse des éléments traces par spectrométrie de masse à torche plasma (ICP-MS). 47
II.4.1.3 Distribution des éléments en phase solide par microfluorescence X (µXRF) 47
II.4.2 INTERACTION DES NANOPARTICULES AVEC L'ARSENIC ET LE PLOMB PAR COUPLAGE SEC/UV/ICP-MS 48
II.5 LA BIORÉDUCTION DES NANO-Fe_3O_4 49
II.5.1 LE FER 49
II.5.2 LES BACTÉRIES FERRO-RÉDUCTRICES 49
II.5.3 LES ENPS DE FE ET LA BIORÉDUCTION 50
II.5.4 BACTÉRIE MODÈLE - SHEWANELLA ONEIDENSIS 51

ORGANISATION DE LA THÈSE 52

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES II

CHAPITRE II – ARTICLE 1 59

INTERACTIONS BETWEEN NATURAL ORGANIC MATTER, SULFUR, ARSENIC AND IRON OXIDES IN RE-OXIDATION COMPOUNDS WITHIN RIPARIAN WETLANDS: NANOSIMS AND X-RAY ADSORPTION SPECTROSCOPY EVIDENCES 61

RÉSUMÉ 63
ABSTRACT 65
II.1. INTRODUCTION 67
II.2. EXPERIMENTAL SECTION 69
II.2.1 FIELD EXPERIMENT WITH ELEMENTAL SCAVENGERS 69
II.2.2. PASSIVE SAMPLING 69
II.2.3. TOTAL ELEMENTAL ANALYSIS 70
II.2.3.1. Total elemental analysis in the soil 70
II.2.3.2. Total elements on the PTFE sheet and surface water 70
II.2.4. PREPARATION, ANALYSIS AND DATA TREATMENT FOR NANOSIMS 71
II.2.5. NANOSIMS RUN CONDITIONS 72
II.2.6. STATISTICAL TREATMENT ON NANOSIMS IMAGE 72
II.2.6.1. Pearson's and Manders's coefficient 72
II.2.6.2. Principal component analysis (PCA) 73

II.2.7. X-RAY ADSORPTION SPECTROSCOPY 74
II.2.7.1. Data collection 74
II.2.7.2. Data analysis 74
II.3. RESULTS AND DISCUSSION 75
II.3.1. BULK CHARACTERIZATION 75
II.3.1.1. Origin of re-oxidation compounds onto PTFE collector 75
II.3.1.2. Performance of the PTFE sheet 78
II.3.2. ARSENIC FATE AND SULFUR CYCLING 80
II.3.2.1. High resolution mapping of the distribution of NOM, S, FeO, As 80
II.3.2.1.1. Scanning electronic microscopy (SEM) and nanoSIMS analyses 80
II.3.2.1.2. Colocalization of arsenic, NOM, iron oxide, and sulfur 82
II.3.2.1.3. PCA analysis 86
II.3.2.2. X-Ray adsorption spectroscopy of sulfur 87
II.4. CONCLUSION 89
REFERENCES 91

CHAPITRE III – ARTICLE 2 99

IMPACT OF Fe_3O_4-NANOPARTICLES SURFACE COMPOSITION ON NATURAL ORGANIC MATTER AND TRACE METAL MOBILITY WITHIN WETLAND SOIL: NEW INSIGHTS FROM A SET OF WETLAND SOIL LEACHING EXPERIMENTS 101

RÉSUMÉ 103
ABSTRACT 105
III.1 INTRODUCTION 107
III.2 EXPERIMENTAL SECTION 109
III.2.1 MAGNETITE NANOPARTICLES (NANO-Fe_3O_4) 109
III.2.1.1 Synthesis of bare nano-Fe_3O_4 109
III.2.1.2 Surface modification by organic coating (nano-Fe3O4@DMSA) 109
III.2.2 NANO-Fe_3O_4 LEACHING SOIL EXPERIMENTS 109
III.2.2.1 Column 109
III.2.2.2 Packing 110
III.2.2.3 Packing procedure 110
III.2.2.4 Pore volume (PV) measurement 110
III.2.2.5 Leaching experiment set-up 111
III.2.3 FRACTIONATION 111
III.2.4 CHEMICAL PARAMETERS 111
III.2.5 DEPTH PROFILE BY MICRO-XRF ANALYSES 112
III.2.6 TOTAL QUANTIFICATION ANALYSES 112
III.2.6.1 Characterization of organic molecules 112
III.2.6.2 Molecular characterization by Pyrolysis - Gas Chromatography - Mass Spectrometry (Py-GC-MS) 113
III.2.6.3 Major and trace elements 113
III.3 RESULTS AND DISCUSSION 113

III.3.1 IMPACT OF NANO-Fe_3O_4 ON NOM 113
III.3.1.1 Blank leaching soil experiment 113
III.3.1.2 Nano-Fe_3O_4 leaching experiment 115
III.3.1.3 Molecular characterization of the leached NOM on the fraction <3 kDa 116
III.3.2 IRON BEHAVIOR 117
III.3.2.1 Iron (Fe) behavior during the leaching experiments 117
III.3.2.2 Iron distribution within solid soil phase 118
III.3.3 NANO-Fe_3O_4 IMPACT ON THE TES 119
III.3.3.1 3.2.1. Distribution of TE in size fraction 119
III.3.3.2 Distribution during the leaching experiments 122
III.4 CONCLUSION 123
REFERENCES 125

CHAPITRE IV – ARTICLES 3 ET 4 129

ARTICLE 3 131

RÉSUMÉ 133

ARTICLE 4 149

RÉSUMÉ 151
ABSTRACT 153
1. INTRODUCTION 157
2. MATERIAL AND METHODS 158
2.1. NANO-Fe_3O_4 SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION 158
2.2. ADSORPTION EXPERIMENTS 159
2.3. SEC-ICPMS COUPLING 159
3. RESULTS AND DISCUSSION 160
3.1. SIZE CHARACTERIZATION AND DISPERSITY 160
3.2. EFFECT OF PH 161
Uncoated nano-Fe_3O_4 . 161
Coated nano-Fe_3O_4. 162
3.3. TMS ADSORPTIONS 164
Adsorption behavior 164
Adsorption isotherms. 165
3.4. CONCENTRATION AFFECT 169
4. CONCLUSION 170
REFERENCES 172

CHAPITRE V - BIORÉDUCTION DES NANOPARTICULES D'OXYDES DE FER PAR *SHEWANELLA ONEIDENSIS* 175

RÉSUMÉ **177**
ABSTRACT **179**
V.1 INTRODUCTION **181**
V.2 MATÉRIELS ET MÉTHODES **183**
V.2.1 ENPS – SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION 183
V.2.1.1 Synthèse des ENPs 183
V.2.1.2 Caractérisation des ENPs 183
V.2.2 MATÉRIEL BIOLOGIQUE 184
V.2.2.1 Culture bactérienne 184
V.2.2.2 Densité cellulaire 186
V.2.2.3 Microscopie électronique à balayage (MEB) 186
V.2.3 BIORÉDUCTION 187
V.2.3.1 Protocole expérimental 187
V.2.3.2 Analyses et mesures réalisées 187
V.3 RÉSULTATS ET DISCUSSION **189**
V.3.1 ENPS-SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION 189
V.3.2 SUIVI DE LA BIORÉDUCTION 190
V.3.2.1 Densité cellulaire 190
V.3.2.2 Suivi des concentrations en lactate et acétate 191
V.3.2.3 Suivi de la bioréduction des ENPs de Fe par la méthode à la ferrozine 192
V.3.2.4 Suivi de la concentration en orthophosphates 193
V.3.2.5 Suivi pH/Eh 194
V.4 DISCUSSION **195**
V.4.1 SYNTHÈSE DES ENPS 195
V.4.2 BIORÉDUCTION 196
V.5 CONCLUSION **199**
BIBLIOGRAPHIE **201**
CHAPITRE VI - CONCLUSION ET PERSPECTIVES **203**
PARTIE I - CONCLUSION **205**
PARTIE II - PERSPECTIVES **208**
RÉFÉRENCES **210**
ANNEXE **211**
ANNEXE - I. SUPPORTING INFORMATION TO ARTICLE 1 **213**
ANNEXE - II. ARTICLE CO-AUTEUR **219**
ANNEXE - III. ABSTRACT GOLDSCHMIDT CONFERENCE IN SACRAMENTO (2014) **231**
ANNEXE - IV. SUPPORTING INFORMATION – ARTICLE 2 **233**
ANNEXE - V. ABSTRACT FOR GOLDSCHMDIT CONFERENCE IN SACRAMENTO (2014) **241**
ANNEXE - VI. SUPPORTING INFORMATION – ARTICLE 3 **243**
ANNEXE - VII. SUPPORTING INFORMATION TO ARTICLE 4 **253**
ANNEXE - VI. SUPPLEMENTARY INFORMATION CHAPITRE V **257**

Liste des figures

Chapitre I – Introduction générale.

Partie I - Les nanoparticules naturelles et manufacturées : Leur contexte dans les sols

Figure I - 1 définition des NPs , adaptée de (www.wichhlab.com). 4
Figure I - 2 Variation du pourcentage d'atomes en surface en fonction de la taille de la nanoparticule. Les NPs ultrafines (i.e. d < 25 nm) ont le pourcentage le plus élevé d'atomes localisés à la surface, tirée de Auffan et al. (2009). 8
Figure I - 3 Classification des matériaux nanostructurés d'un point de vue de dimension des nanostructures, morphologique, composition, uniformité et état d'agglomération. Buzea et al. (2007). AVS The Science & Technology Society. 9
Figure I- 4 Agrégation de nanoparticules de maghémite γ-Fe_2O_3 (diamètre = 6 nm) dans l'eau déminéralisée à pH < ZPC and pH ~ZPC et dans une solution nutritive, extrait de [17]. 11
Figure I - 5 Schéma de ZHs localisées (a) entre les systèmes terrestres secs et les systèmes aquatiques constamment inondés ou (b) dans un bassin isolé (adapté de Mitsch and Gosselink [56]). 17
Figure I - 6 Définition d'une zone humide (extrait de Mitsch and Gosselink [56]). 19
Figure I - 7 Distribution des différentes phases (organique, minérale) en fonction de la teneur en argile dans des sols de zones humides. (extrait de Mitsch and Gosselink [56]). 21
Figure I - 8 Séquence des transformations des éléments dans le sol en fonction du temps après saturation en eau d'après Reddy and Delaune [60]. 22
Figure I - 9 Problématique des NPs dans l'environnement inspiré de Auffan, et al. [18]. 24

Partie II - Approche méthodologique

Figure II - 1 Schéma illustrant l'approche scientifique pour la caractérisation des échantillons et des impacts des NPs manufacturées de magnétites et des oxydes de fer naturels sur les éléments traces dans les sols de zones humides. 26
Figure II - 2 Site d'étude zone de Kervidy-Nayzin, Bretagne, France. 27
Figure II - 5 Teintes et abaques de détermination de la biréfringence d'après le diagramme de A. Michel-Levy et A. Lacroix, Michel-Levy color Chart, utilisé pour les sections d'ultramicrotome, DRUKKER INTERNATIONAL. 29
Figure II - 6 Schéma de la microsonde ionique, le NanoSIMS 50L, Cameca, Paris, France, d'après Hoppe, et al. [63]. 31
Figure II - 7 Principe de l'analyse nanoSIMS. 32
Figure II - 8 Schéma de la ligne LUCIA, Synchrotron SOLEIL (http://www.synchrotron-soleil.fr). 35
Figure II - 9 Spectre d'absorption des colloïdes naturels enregistré au seuil K du soufre. 36
Figure II - 10 Squelette de l'acide dimercaptosuccinique (DMSA) composé de groupement thiols (SH) et carboxyliques (COOH). 38
Figure II - 11 Solution As-NPs ; a) image MEB ; b) images MET (l'image en miniature représente la même zone, mais à un zoom moins important ; c) spectre XEDS associé. 40
Figure II - 12 Zone d'étude Armorique - Site de Pleine Fougères, Bretagne, France. 41

Figure II - 13 Spectre d'émission à la longueur d'onde d'excitation de 254nm utilisé pour le calcul de l'indice HIX [99].....45
Figure II - 14 Vue schématique de la chambre de mesure du μXRF XGT-5000XRF (Horiba–Jobin-Yvon) au CEREGE. Le faisceau incident bombarde la surface de l'échantillon perpendiculairement, tandis que le détecteur est à un angle de 45° de la surface de l'échantillon. L'image n'est pas à l'échelle , d'après Böning, et al. [105]. 48

Chapitre II – Interactions between natural organic matter, sulfur, arsenic and iron oxides in re-oxidation compounds within riparian wetlands: nanoSIMS and X-ray adsorption spectroscopy evidences.

Figure-II- 1 Hydrological and geochemical parameters of wetland soil in the location of the insertion of the PTFE sheets. Present in a) the water level (blue line), pH (dash dot black line), and water temperature (red line) between 2009 and 2014. The grey dot line is the sampling for P1 to P4; b) a zoom on oscillation period in the uppermost soil horizon (A) (10-cm-deep) for Eh (dash dot pink line), Fe(II) (yellow line), SO_4^{2-} (dash dot green line) and DOC (dash brown line) concentrations between 2009 and 2011, the exposure time of the PTFE sheets. 76
Figure-II- 2 Variation of REE patterns, normalized with respect to the Upper Continental Crust (UCC) (Taylor and McLennann, 1985), in the Kervidy-Naizin wetland for surface water (SW) and different PTFE collectors (P1, P2, P4, P5 and P6). 77
Figure-II- 3. A) Scanning electronic microscopy (SEM) characterization of ultra-thin section of sample P4 in epoxy resin and deposited on silicium wafer, B) nanoSIMS characterization of the area in red square on SEM image for natural organic matter (NOM) ($^{12}C^{14}N$), sulfur (^{32}S), iron oxide ($^{56}Fe^{16}O$) and arsenic (^{75}As); C) line scans of P4 sample follow the arrows on the total ion counts (TIC) image for each elements analyzed C1) compares $^{12}C^{14}N$ with ^{75}As, C2) compares $^{12}C^{14}N$ with ^{32}S and $^{56}Fe^{16}O$, whereas C3) compares ^{32}S with $^{56}Fe^{16}O$ and ^{75}As. The spot I, II, III are indicated for a better comparison of the different levels of element distribution...81
Figure-II- 4. Colocalization of elements in nanoSIMS mapping for Pearson's coefficient (PC) and for each dual-channel Mander's coefficient (M1 and M2). 84
Figure-II- 5 PCA results for five ROI on UF section of ferric oxide from PTFE scavenger. A1) Percentage of the variance explained by each component; A2) example of PCA (ROI2) for components 1 and 2; A3) Example of PCA (ROI3) for components 2 and 3; B) Correlation of each element with components 1, 2 and 3. s.d. refers to standard deviation. 86
Figure-II- 6. Deconvolution of normalized bulk S K-edge XANES spectra into several Gaussians and two arctangent curves of A horizon samples bulk of P2. Data is shown as solid blue lines, fit envelopes as symbols, fit components as dashed lines, and arctangent functions as solid black lines. Parameter values and fit results are summarized in Tables A3, SI.....87

Chapitre III - Impact of Fe_3O_4-nanoparticles surface composition on natural organic matter and trace metal mobility within wetland soil: new insights from a set of wetland soil leaching experiments

Figure-III- 1. Behavior of the natural organic matter (DOC, aromaticity and HIX) during the different leaching soil experiments with (a)Synthetic water, (b) bare nano-Fe_3O_4 and, (c) nano-Fe_3O_4 coated with dimercaptosulfate succinic acid (nano-Fe_3O_4@DMSA). All leaching have been settled with an ionic strength of $5•10^{-3}$ in NaCl. Several cut-off were used to monitor the elements: 0.22μm in yellow, 30 kDa in green, 5 kDa in red and, 2 kDa in black. (1) Display the behavior of the DOC concentration throughout the leaching experiment. DOC characterization is here presented by (2) the aromaticity and (3) HIX fluorescence index extract from the EEM

*measurement. *NS is nano-Fe_3O_4 suspension (with or without DMSA coating), which is for approximatively 6 PV. The blue dot lines on c-1, c-2 and c-3 were the inflection points in aromaticity change for the NOM characterization (i.e. ~12 PV).* *115*
Figure-III- 2. The first part is the molecular characterization of the NOM by Py-GC-MS through the different leaching for five sampling which are indicated on the Fe concentration graph: (a-1) blank leaching, (b-1) nano-Fe_3O_4 and (c-1) nano-Fe_3O_4 leaching organic characterization. The different bars illustrate in: black the lignin compounds, red the carohydrates, green the fatty acids, yellow the DMSA, blue DNA, and pink small acids compounds. All scales are similar to allow a best comparison of the results. The second part illustrates the Fe concentration leaching for synthetic waterwith IS at $5 \bullet 10^{-3}$ M in NaCl (i.e. blank), bare nano-Fe_3O_4 leaching and nano-Fe_3O_4@DMSA leaching, (a-2), (b-2) and (c-2), respectively. *118*
Figure-III- 3. Behavior of iron in the soil column as evidenced by µXRF analysis. a) Blank leaching with gray area corresponding to a topography crack; b) bare nano-Fe_3O_4 leaching and; c) nano-Fe_3O_4 coated with DMSA. *119*
Figure-III- 4. In major colloidal phase (i.e. > 2 kDa), the distribution of elements were determined for the last sampling of each leaching soil experiment (i.e. S12). Three groups are identified with respect to contrasted behavior with regard to colloidal phase: (i) 'Truly' dissolved group (ii) 'Intermediate' group, and (iii) Colloidal group. The distribution is illustrated for (a) blank (grey), (b) bare nano-Fe_3O_4 (orange), and (c) nano-Fe_3O_4 coated with DMSA polymer (blue). The distribution of elements is determined with their respective proportion. An element is considered in the 'truly' dissolved group when its proportion is below 40% and in the colloidal group when its proportion is above 80%. Finally, the intermediate group is considered for the elements which have a proportion ranging in between 40 and 80 %. *121*
Figure-III- 5. Illustration of the behavior of Sr (i.e 1), Cu (i.e. 2) and U (i.e. 3) for the 'truly' dissolved, intermediate and colloidal fractions, respectively. Trace elements mobility throughout the leaching experiment is presented for (a) the blank (circle), (b) bare nano-Fe_3O_4 (square) and (c) nano-Fe_3O_4@DMSA (diamond). The behavior of each fractionation is illustrated in yellow, green, red, black for > 0.22µm, >30kDa, >5kDa and >2kDa, respectively. *123*

Chapitre IV – Interaction entre les nanoparticules de magnétite et les métaux toxique.

A robust methodology using online steric exclusion chromatography-Uv-ICPMS to investigate nanoparticle fate and behavior in environmental samples.

SEC-ICP-MS shows different arsenic and lead adsorption patterns on magnetite nanoparticles.

Figure- 1 pH effect on the adsorption of (a, b) As (C= 0.05mM) , and (c, d) Pb (C= 0.05mM), onto uncoated nano-Fe_3O_4. ..... *162*
Figure- 2pH effect on the adsorption of (a, b) As (C= 0.05mM) , and (c, d) Pb (C= 0.05mM), onto coated nano-Fe_3O_4 by DMSA. *163*
Figure- 3 a) As(V) uptake capacity of uncoated nano-Fe3O4, pH range 3.5–8; b) Pb(II) uptake capacity of uncoated nano-Fe3O4, pH range 3.5–8; c) Pb(II) uptake capacity of coated nano-Fe3O4, pH range 3.5–8; d) Freundlich isotherm *165*
Figure- 4. Concentration effect of (a,b) As (pH 5) and (c,d) Pb (pH 5), on uncoated nano-Fe_3O_4. ..... *169*

Figure- 5 Concentration effect of (a,b) As (pH 5) and (c,d) Pb (pH 5), on coated nano-Fe_3O_4 by DMSA. 170

Chapitre V- Bioréduction des nanoparticules de magnetite par *Shewanella oneidensis.*

Figure V- 1 Modèle conceptuel de la réduction de colloïdes d'oxyde de Fe (III) par le genre Shewanella. Le procédé de réduction est constitué de deux étapes consécutives: (1) fixation des colloïdes d'oxydes de Fe(III) par les organismes ferro-réducteur et (2) la réduction de Fe (III) à la surface des colloïdes fixés par transfert d'électrons à partir de Fe (III) réductases lié à la membrane (indiquée comme "Reduct.") (tirée de Bonneville, et al. [214]). 185

Figure V- 2 Images MET des nano-Fe_2O_3 189

Figure V- 3 Images MET des nano-Fe_3O_4 189

Figure V- 4 Comparaisons de la densité cellulaire obtenue par cytomètre en flux et par l'OD_{600} : a) nano-Fe_2O_3 et b) nano-Fe_3O_4 190

Figure V- 5 Evolution de la densité cellulaire dans les échantillons avec nano-Fe_2O_3 (rouge) et dans les échantillons avec nano-Fe3O4 (noir). Les valeurs affichées sont celles mesurées par cytomètre en flux. 191

Figure V- 6 Evolution de la concentration en acétate pour les échantillons avec nano-Fe_2O_3 (rouge) et ceux avec nano-Fe_3O_4 (noir). 191

Figure V- 7 Suivi du fer(II) dissous dans le cas (a) des nano-Fe2O3 et pour (b) les nano-Fe3O4 par la méthode de dosage colorimétrique à la ferrozine. La ligne en pointillés verte indique le changement de protocole du dosage du fer(II). 192

Figure V- 8 Pourcentage de fer sous forme de Fe(II) dissous pour les nano-Fe_3O_4 (noir) et nano-Fe_2O_3 (rouge). 193

Figure V- 9 Concentrations en orthophosphates des échantillons de nano-Fe_2O_3 (Rouge) (a) abiotique et (b) biotique et des échantillons de nano-Fe_3O_4 (noir) (c) abiotique et (d) biotique. 194

Figure V- 10 Suivi du potentiel redox au cours du temps, pour (a) les nano-Fe_2O_3 (rouge) et pour (b) les nano-Fe_3O_4 (noir). En pointillés était représentée l'évolution du potentiel pour les échantillons sans bactéries et en trait continu était représentée l'évolution du potentiel pour les échantillons exposés aux bactéries. Les différentes zones de couleur représentent la zone de dominance d'un couple d'oxydoréduction. En bleu l'oxygène, en orange les nitrates, en vert les oxydes de manganèse, en rouge les oxydes de fer et en violet les sulfates. 195

Liste des tableaux

Chapitre I – Introduction générale

Partie I - Les nanoparticules naturelles et manufacturées : Leur contexte dans les sols

Tableau I - 1 Classification des NPs, tirée de [8] 5
Tableau I - 2 exemples de productions de Nps naturelles adapté de Handy et al. (2008) 7
Tableau I - 3 Capacité de rétention d'As(III) et Co(II) sur différents oxydes et oxyhydroxydes tirés de Bottero et al. [17]. 14
Tableau I - 4 Fe_3O_4 Nanoadsorbants utilisés pour le traitement des métaux lourds, adapté de Ray and Shipley [52] 16

Partie II - Approche méthodologique

Tableau II - 1 Caractéristiques de la nanoSIMS Cameca 50/50L 33
Tableaux II - 2 Principales bandes de fluorescence de la MOD[92-97], avec les deux types de notations utilisées dans la littérature. 44

Chapitre II - Interactions between natural organic matter, sulfur, arsenic and iron oxides in re-oxidation compounds within riparian wetlands: nanoSIMS and X-ray adsorption spectroscopy evidences.

Table-II- 1 Geochemical composition of a wetland soil sample, surface water and four PTFE sheets in major and trace elements 79

Chapitre IV - SEC-ICP-MS shows different arsenic and lead adsorption patterns on magnetite nanoparticles.

Table- 1. Dispersity of nano-Fe_3O_4 in separation run. 160
Table- 2. Maximum As(V) and Pb(II) adsorption, the isotherm parameter and the surface area based Q (µmol/m²), on uncoated and coated nano-Fe_3O_4 at pH 3.5, 5, 6.5 and 8. 167
Table- 3. Physical parameter of the nano-Fe_3O_4. 254

Chapitre I -Introduction générale

Partie I - Les nanoparticules (NPs) et leur contexte dans les sols

I.1 Les nanoparticules

I.1.1 Contexte

Selon la *BBC Research* (www.bccresearch.com), le marché global des nanoparticules manufacturées (ENPs) est estimé à plus de 29.6 billions de $ en 2014. Il est également prévu que ce marché augmentera à plus de 79.8 billions de $ en 2019, avec un taux de croissance annuel (*compound annual growth rate*, CAGR) positif de 22%. Ainsi, la *UK Royal society* et la *Royal academy of engineering* prévoient que la production annuelle totale des nanomatériaux sera approximativement de 58 000 tonnes/an pour la période 2011-2020 [1]. L'engouement de notre société pour cette nouvelle technologie est basé sur le fait que les propriétés des matériaux changent en fonction de leur dimension. Le changement de comportement des matériaux apparaît lorsque le diamètre des particules est inférieur à 100 nm[2] (**Figure I – 1**). À cette échelle, les matériaux montrent souvent de nouvelles propriétés dépendant de leur taille comparativement à celles d'échelle micrométrique [3]. Classiquement, la définition donnée pour les NPs fait appel à une échelle de taille. Ainsi, un matériau est une nanoparticule lorsqu'il possède au moins une dimension inférieure à 100 nm. Les nanoparticules s'inscrivent donc de par cette définition, dans la fraction colloïdale classique définie comme étant comprise entre le particulaire (i.e. d >0.45µm ou 0.22µm) et le dissous. Ainsi, l'origine des NPs peut être aussi bien naturelle qu'anthropique. Par conséquent, en se basant sur une telle définition, tous les matériaux à l'état atomique, moléculaire ou macromoléculaire tels que l'ADN, les argiles, les protéines, etc. (Figure I – 1) sont considérés comme étant des NPs.

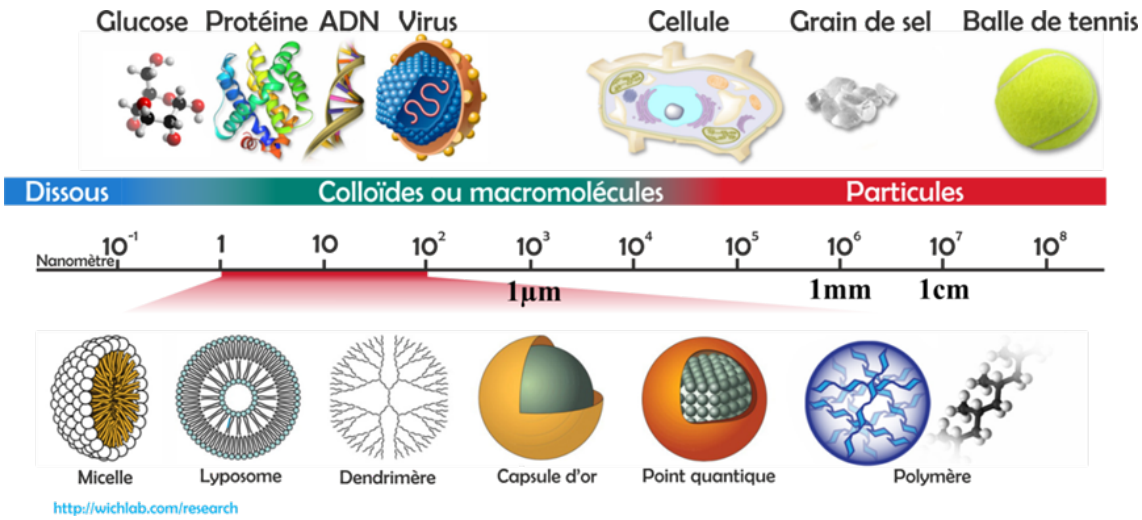


Figure I - 1 Définition des NPs , adaptée de (www.wichhlab.com).

I.1.2 Origine

Cette définition des NPs les rend ubiquistes et présents dans tous les compartiments environnementaux. Quelle que soit leur origine, les NPs se divisent en deux grandes familles: organiques et inorganiques. Les NPs naturelles (i.e. colloïdes) sont issues des mécanismes biologiques, géologiques, atmosphériques ou pyrogéniques (**Tableau I - 1**). En effet, des Nps ont été observées dans des sédiments datant du dernier âge glaciaire il y a quelques 10 000 ans[4]. Il existe également une formation évidente de Nps naturelles dans les sédiments à la limite du Crétacé-Tertiaires[5]. Les processus géologiques, incluant les processus physico-chimiques d'effritement, d'autogenèse / néoformation (e.g. dans les sols) et volcaniques, produisent naturellement des Nps inorganiques (**Tableau I - 2**). Egalement, les mécanismes biologiques produisent naturellement des molécules organiques nanoparticulaires, de même que quelques granules minérales à l'intérieur des cellules (**Tableau I - 2**). En considérant uniquement les poussières atmosphériques, la production annuelle est estimée à un million de tonnes de Nps naturelles[6], tandis que la production par les manufactures est estimée à quelques milliers de tonnes par an pour chaque grand type de matériel[7]. Il est cependant difficile de prédire la quantité exacte de NPs manufacturées (ENPs) produites par l'activité industrielle et leur déversement dans l'environnement, notamment en raison de la difficulté technique que représente leur quantification dans l'environnement. Toutefois, leur utilisation massive dans tous les domaines cosmétiques, médicaux, électroniques, environnementaux, etc. entraînera inévitablement leur déversement dans l'environnement. Comme les industries manipulent le comportement des nanoparticules en travaillant sur leur taille, leur

forme, et leur composition pour obtenir des propriétés spécifiques, la réactivité des ENPs sera différente des colloïdes naturels et impliquera des effets différents sur le milieu naturel dans lequel elles seront déversées.

Tableau I - 1 Classification des NPs, tirée de [8]

	type	Formation	Classe	Exemples
Naturel	**Organique**	**Biogénique**	Colloïdes organiques	Acides humiques et fulviques
			Entité biologique	Virus
		Géogénique	Suit	Fullerènes
		Atmosphérique	Aérosols	Acides organiques
		Pyrogénique	Suit	Nanotubes de carbone (CNT)
				Fullerènes
				Nanoglobules, nanosphere onion-structures
	Inorganique	**Biogénique**	Oxydes	Magnétite
			Métaux	Ag, Au
		Geogénique	Oxydes	Fe-oxydes
			Argiles	Allophane
		Atmosphérique	Aérosols	Sels de mer
Anthropogénique anufacturées)	**Organique**	**Produits dérivés**	Combustion	CNT
				Nanoglobules, nanosphère anion-structures
		manufacturés	Suit	Carbone noir
				Fullerènes
				CNT-Functionalisé, fullerènes
			NP Polymérique	Polyéthylèneglycol (PEG) NP
	Inorganique	**Produits dérivés manufacturés**	Combustion	Groupe des platinoïdes
			Oxydes	TiO_2, SiO_2, Fe_3O_4
			Métaux	Ag, Fe
			Sels	Métal-phosphates
			Aluminosilicates	Zéolites, argiles, céramiques

Tableau I - 2 Exemples de productions de Nps naturelles, adapté de Handy et al. (2008)

Origine des Nps	Types de particules et potentiels écotoxicologiques	Refs
Poussière volcanique	Les Nps d'oxyde de bismuth étaient trouvées dans la stratosphère en 1985, et la présence de ces matériaux était liée aux éruptions volcaniques des années 80.	9
Cendre volcanique	Cristobalite (cristal de silice) extraite des cendres volcaniques de l'éruption de la Montserrat et cause des inflammations des poumons et des ganglions lymphatiques de granulomes dans des rats de laboratoire.	10
Microcouche de surface océanique (MCS)	Contient des colloïdes, composants de taille sub-micronique du phytoplancton et des particules de carbone. Fonctions dans le transport de matériel à l'interface Eau-Air. Il est à craindre que les polluants organiques présents dans la MCS puissent être adsorbés sur les colloïdes et les autres matériaux nanométriques dans la MCS (Handy, non publié).	11, 12
Sol	Une matrice complexe contenant des particules minérales, des colloïdes dans l'eau interstitielle, et il y a des préoccupations au sujet de l'adsorption et la fixation de polluants à l'intérieur de la matrice.	13
Eau douce	Les eaux naturelles contiennent de la matière colloïdale très complexe qui comprend des minéraux organiques et de la matière organique telle que les substances humiques. Des doutes existent sur l'accumulation et le transport des Nps dans la fraction colloïdale.	14
Autres eaux naturelles	Les nanoparticules ont été trouvées dans de nombreux types d'eau naturelle, y compris les océans, les eaux de surface, eaux souterraines, l'eau atmosphérique, et même l'eau potable traitée. Elles comprennent une grande variété de particules minérales à l'échelle nanométrique, et démontrent le caractère omniprésent des nanoparticules dans l'environnement naturel.	15
Glace	Les nanotubes de carbone, les fullerènes et les nanocristaux de dioxyde de silicium ont été trouvés dans des carottes de glace de 10 000 années. Les nanoparticules de carbone sont supposées être issues des procédés de combustion naturelle et déposées dans les carottes de glace via les dépôts atmosphériques.	4
Sédiments	L'examen de la couche correspondant à la limite Crétacé-Tertiaire (K-T) à Gubbio, Italie démontra la présence de particules de fer (hématite) et silicates. La taille moyenne des particules d'hématite était de 16-27nm. Une rumeur veut que les impacts de météorites puissent modifier la formation des Nps dans le sédiment à la limite Crétacé-Tertiaire.	5

I.1.3 Propriétés physiques et chimiques

I.1.3.1 Réactivité

La définition des NPs donnée dans le paragraphe I.1.1 reste sommaire et évolue rapidement. En effet, l'*Environmental Protection Agency* (EPA) s'est positionnée sur une définition plus restrictive où les nanoparticules sont des matériaux intentionnellement produits avec au moins une dimension inférieure à 100 nm [16]. Toutefois, même au sein de cette définition, la réactivité des ENPs varie drastiquement entre une particule de 100 et 1 nm (**Figure I - 2**). En effet, plus la taille des particules diminue, plus le rapport d'atomes présents en surface, et par conséquent la surface spécifique, de la ENPs augmente; augmentant aussi les réactions avec le milieu environnant. Ainsi, les propriétés telles que l'adsorption, la dissolution, et l'oxydoréduction sont associées avec la taille des particules [17]. Ainsi, l'augmentation de la surface spécifique avec la diminution de la taille des particules indique que les phénomènes les plus intéressants concerneront les particules d'une taille inférieure à 30 nm[18].

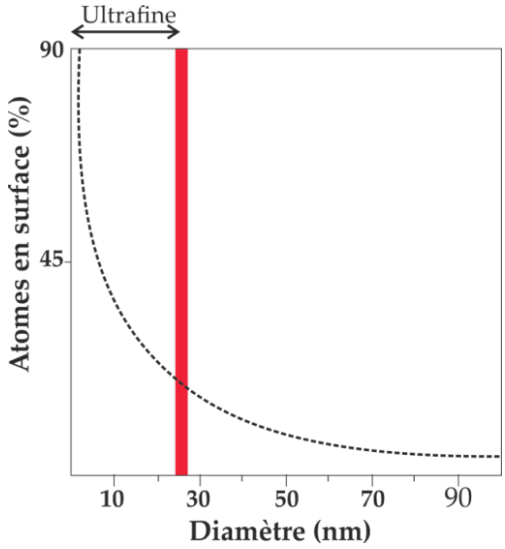


Figure I - 2 Variation du pourcentage d'atomes en surface en fonction de la taille de la nanoparticule. Les NPs ultrafines (i.e. d < 25 nm) ont le pourcentage le plus élevé d'atomes localisés à la surface, tirée de Auffan et al. (2009).

La réactivité des ENPs varie également en fonction de leur forme et de leur composition (**Figure I - 3**). En effet, les nanoparticules sont souvent classées en fonction de leur dimension[19] (i.e. 1D, 2D, et 3D) (**Figure I - 3-1**). Les matériaux avec :

1. une dimension nanométrique sont typiquement des films ou des surfaces d'enrobage tel que les films protecteurs de verres de lunettes.

2. deux dimensions nanométriques correspondent à des films nanostructurés ou des filtres nanoporeux utilisés pour les séparations très fines.
3. trois dimensions nanométriques correspondent à de matériaux générés à l'échelle atomique avec des morphologies variées.

Il existe diverses morphologies telles que les hélices, les zigzags, les cubes les sphères, etc. (**Figure I - 3-2**). Une classification existe aussi en fonction des morphologies et celle-ci se base sur un rapport d'aspect fort ou faible. Les ENPs avec un fort rapport d'aspect (i.e. *high-aspect-ration*) incluent les nanotubes et nanofils avec des morphologies variées (**Figure I - 3-2a**). Les morphologies avec un rapport d'aspect faible (i.e. *low-aspect-ratio*) sont les ENPs sphériques, ovales, cubiques, prismiques, hélicoïdales, etc.

Finalement, la réactivité des ENPs change en fonction de leur composition qui peut varier d'un ou plusieurs matériaux différents (**Figure I - 3-3**) et que l'on peut souvent retrouver à l'état d'agglomérats (**Figure I - 3-4**). D'ailleurs, l'état d'agrégation des particules est souvent associé à la charge de surface de celles-ci et peut être affectée par la sorption de composées organiques ou inorganiques [17]

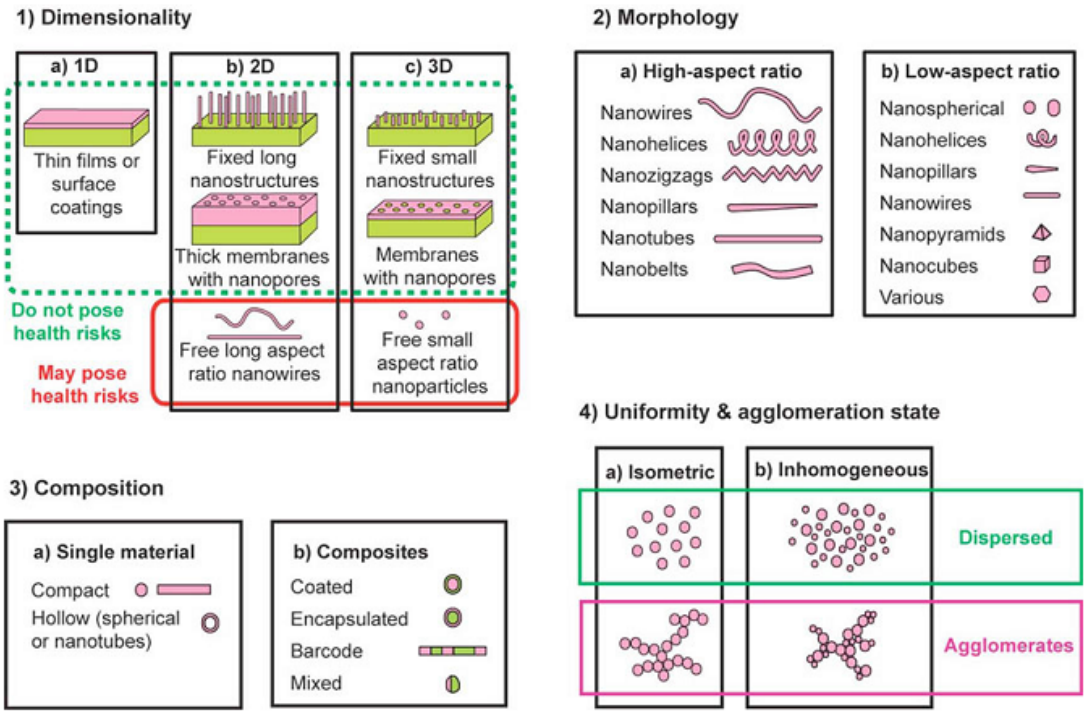


Figure I - 3 Classification des matériaux nanostructurés d'un point de vue de dimension des nanostructures, morphologique, composition, uniformité et état d'agglomération. Buzea et al. (2007). AVS The Science & Technology Society.

I.1.3.2 Dissolution et libération d'ions

En plus de leur toxicité directe (e.g. CeO_2, TiO_2, Ag), des effets toxiques ont été démontrés pour certaines ENPs (e.g. points quantiques, ENPs d'argent, de cuivre ou de zinc) lié à leur solubilisation libérant les ions métalliques constitutifs (e.g. Cd^{2+}, Ag^{+}, Cu^{2+}, Zn^{2+}) [20, 21]. Certaines études [22-24] ont également démontré que les équations thermodynamiques classiques de solubilités d'un cristal n'étaient pas applicables pour les particules de tailles inférieures à 25 nm. En effet, l'effet de structure et la surface de tension des ENPs dépendent de leur surface spécifique qui augmente de manière significative pour des tailles inférieures à 25 nm. Par conséquent, les particules d'une taille inférieure à 25 nm ont des taux de dissolution plus important et peuvent ainsi entraîner une libération plus importante d'ions toxiques [17]. En effet, il a été mis en évidence que la toxicité des ENPs n'était pas uniquement due à leurs interactions directes, mais également à la libération d'ions métalliques toxiques dans le milieu[25-27]. La dissolution et le vieillissement des ENPs dans le milieu aqueux reste donc une question importante pour comprendre leur devenir et leur impact dans l'environnement. Toutefois, la composition des ENPs est un paramètre important dans ce mécanisme de dissolution et n'est pas nécessairement identique d'un type de ENPs à l'autre.

I.1.3.3 Agrégation

Les propriétés des ENPs sont altérées par la chimie des eaux avec des paramètres tels que le pH, la force ionique, la nature des électrolytes ou la présence de matière organique naturelle (MON) [28]. Par conséquent, l'interaction des ENPs avec les matrices environnementales peut déstabiliser ces particules et impliquer une agrégation ou une stabilisation de celles-ci. L'agrégation des particules constitue donc un autre mécanisme important conditionnant le comportement des ENPs. Les ENPs en suspension sont stabilisées par leur charge de surface et/ou leur stabilisation stérique [20]. D'ailleurs, il a été observé que la force ionique déstabilise les nAg, alors que la MON les stabilise[29]. Ces résultats indiquent que l'adsorption de molécules organiques à la surface des nAg forme un enrobage (*coating*) qui les rend plus stables dans le milieu aquatique. Dans le cas des ENPs nues (i.e. non enrobées), la charge de surface dépend des réactions acido-basiques à la surface de ces ENPs. Pour les nanoparticules d'oxydes de fer, le point isoélectrique (i.e. charge de surface égale à 0) se trouve dans une gamme de pH entre 6.5 et 8 selon leur structure minérale (e.g.

hématite, magnétite, maghémite)[30]. Ce point isoélectrique est un paramètre important dans la compréhension des interactions entre les ENPs et les éléments du milieu environnemental. Par exemple, il est difficile de stabiliser ces ENPs dans les milieux de culture bactériens neutres (**Figure I- 4**). Par ailleurs, des stratégies de stabilisations des ENPs on été développées. Par exemple, dans l'étude de l'effet des ENPs d'oxydes de cérium sur les algues, des solutions tampons de phosphates et de tampons d'acide 3-(N-morpholino)propanesulfonique (MOPS) ont été utilisées afin d'obtenir une charge de surface négative et une stabilisation des ENPs dans le milieu de culture[31].

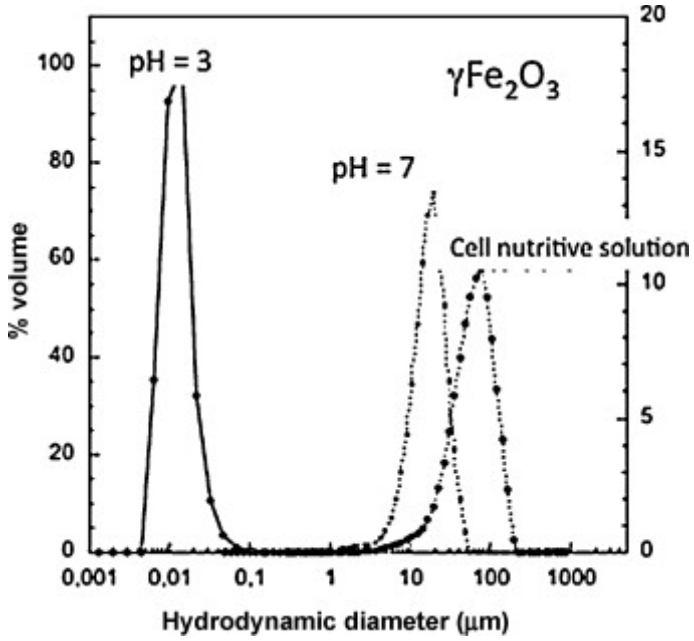


Figure I- 4 Agrégation de nanoparticules de maghémite γ-Fe_2O_3 (diamètre = 6 nm) dans l'eau déminéralisée à pH < ZPC and pH ~ZPC et dans une solution nutritive, extrait de [17].

I.2 Les nanoparticules d'oxydes de fer

I.2.1 Les oxydes de fer et leurs applications

Les formes ENPs d'oxydes de fer les plus communes sont l'hématite (α-Fe_2O_3), la maghémite (γ-Fe_2O_3) et la magnétite (Fe_3O_4) [32]. La propriété la plus exploitée pour ces matériaux est le magnétisme ou le supramagnétisme. Dans le milieu biomédical, les *supramagnetic iron oxide nanoparticles,* aussi appelées SPION, sont surtout utilisées dans la délivrance de médicaments. Elles sont également utilisées en imagerie en tant que contrastant pour l'imagerie par résonnance magnétique (IRM) [33]. Toutefois, son application commerciale la plus importante concerne les médias d'enregistrement magnétique tels que les bandes magnétiques pour les sauvegardes informatiques [33].

Cependant, un nouvel avenir s'offre à ces ENPs en raison de leur capacité d'adsorption. En effet, les ENPs d'oxydes métalliques, comme la magnétite, sont également connues pour fournir une grande surface d'adsorption et une affinité spécifique pour les métaux toxiques tels que le Hg(II), le Pb(II), le Cr(III), le Cr(VI), le Ni(II), le Co(II), le Cu(II), le Cd(II), l'Ag(I), l'As(V) et l'As(III) [34]. Comme ces ENPs ont une faible toxicité directe et une haute réactivité, elles sont les candidates idéales pour la remédiation des sites pollués [35].

I.2.1.1 La magnétite (nano-Fe_3O_4) - Un nanoadsorbant inorganique

Le traitement des métaux lourds dans les eaux d'épuration et les sites pollués suscite beaucoup d'intérêt. Les systèmes de dépollution classiques tels que l'échange ionique [36, 37], l'osmose inverse [38], la précipitation chimique [39], l'électrochimie et l'adsorption [40] restent des techniques onéreuses. Dans ce contexte, les nanoadsorbants, comme les nano-Fe_3O_4, ont de nombreux avantages comme leur versatilité, le peu d'énergie requis, et la quantité importante de particules produites durant leur synthèse. De plus, ces ENPs peuvent aussi être utilisées comme additifs en parallèle aux techniques classiques mentionnées précédemment[41]. Plusieurs études[7, 42-47] ont notamment montré que les nano-Fe_3O_4 avaient une bonne capacité d'adsorption des TMs tels que l'arsenic (As) et le cobalt (Co) (**Tableau I - 3**). Par ailleurs, la capacité des ENPs à adsorber un TM peut aussi dépendre de la spéciation du TM. Par exemple, pour une même taille de nano-Fe_3O_4 (i.e. 11.7 nm), l'adsorption de l'As(III) est plus importante que celle de l'As(V) avec une adsorption respective de 15,49 et 6.3 µmol/m² [48]. La taille joue également un rôle sur la capacité d'adsorption. Par exemple, le maximum d'adsorption pour le Co(II) (i.e. 58 µmol/m²) est observé pour les plus petites tailles de nano-Fe_3O_4 (i.e. 11,3 nm). Les nano-Fe_3O_4 semblent avoir une meilleure réactivité que les autres formes d'oxyde de fer. En effet, les ENPs de maghémite (γ-Fe_2O_3) semblent moins réactives avec une adsorption de 37 µmol/m² pour une taille de 10 nm. De même, avec une taille de 2,6 nm et une adsorption de 5.4 µmol/m², l'akaganéite (β-FeOOH) est beaucoup moins réactive et ne montre pas de phénomène d'adsorption spécifique avec la taille. Par ailleurs, comme différents processus entrainant l'agrégation ou la dissolution des nanoparticules peuvent évidemment impacter leur réactivité, différentes stratégies, telles que les enrobages, ont été développées afin de maintenir la stabilité des nano-Fe_3O_4.

Tout comme les ENPs, la capacité d'adsorption des colloïdes d'oxydes de fer naturel est influencée par leur taille et leur composition. Ils existent 16 types d'oxydes, hydroxides ou oxi-hydroxides de fer, collectivement appelée oxydes de fer (FeO)[32]. Ainsi, ces nombreux FeO ont des réactivités de surface différentes en fonction de leur structure, forme et pureté (e.g. co-precipitation d'éléments, interaction avec MON)[32]. Comme les FeO sont intimement liés avec les autres composé du sols, il est difficile de déterminer leur surface spécifique[32]. Seule une approximation peut être attribuée avant et après différentes extractions sélectives des FeO. Par exemple, la surface spécifique de FeO obtenue pour 13 oxisols brésiliens, contenant de la goethite et de l'hématite, était comprise entre 45 et 110 $m^2 g^{-1}$ [48]. Leur capacité d'adsorption est par conséquent difficile à déterminer et seule une approximation est envisageable. Par exemple, Gadde and Laitinen [49] ont étudié la capacité d'adsorption du Pb^{2+}, Cd^{2+}, Zn^{2+}, et TI^{+} sur les FeO hydratés (HFO) et les oxydes de manganèse (HMO). Cette étude montre que l'adsorption sur HFO et HMO a suivi l'ordre $Pb^{2+} > Zn^{2+} > Cd^{2+} > TI^{+}$ et que le processus d'adsorption était réversible. La capacité d'adsorption estimée était de 0,2 mole de TM par mol de HMO, sauf dans le cas du plomb, où la capacité d'adsorption était beaucoup plus élevée (autour de 0,6 mole/HMO mole). De même, l'adsorption observée, à pH 6, était de 0,2 mole de Pb^{2+} par mole de HFO. Ainsi, la capacité d'adsorption des ENPs devrait montrer des capacités plus élevées que celle des colloïdes de FeO naturels principalement en raison de leur plus grande surface spécifique.

Tableau I - 3 Capacité de rétention d'As(III) et Co(II) sur différents oxydes et oxyhydroxydes tirés de Bottero et al. [17].

Minéral	Taille (nm)	SS m^2/g	Adsorbate	µmol/m^2	mmol/g	pH	Références
Fe_3O_4	300	3.7	As(III)	5.62	0.021	8	
	20	60		6.48	0.388	8	
	11,7	98.8		15.49	1.532		
	300	3.7	As(V)	3.89	0.014	4.8	[7, 42]
	20	60		2.54	0.152	4.8	
	11,7	98.8		6.3	0.623	8	
	1000	1.73	Co(II)	1.6	0.003	7 I = 0.1M	[43]
	11,3	97.5		58	5.655	6.9 I = 0.01M	[44]
γFe_2O_3	10	114.5	Co(II)	37	3.601	6.9 I = 0.01M	[44]
	6	174	As(III)	8.3	1.81	7.4 I = 0.2M	[45, 46]
βFeOOH	2,6	330	As(V)	5.4	1.79	7.5 I = 0.1M	[47]

I.2.2 Modification de surface pour une performance accrue

La stabilité des ENPs est un enjeu majeur dans l'optimisation de leur performance d'adsorption des métaux lourds. Par conséquent, la performance des ENPs a été augmentée par la fonctionnalisation de surface avec diverses espèces chimiques[50, 51]. La fonctionnalisation des nano-Fe_3O_4 se produit à travers une réaction d'échange de ligands. Les nano-Fe_3O_4 sont alors fonctionnalisées par sorption de molécules organiques telles que l'acide éthylène diamine tetraacétique (EDTA), le L-glutathion (GSH), l'acide mercaptobutyrique (MBA); l'acide a-thio-u-(propionique) hepta(éthylène glycol) (PEG-SH) ou encore l'acide meso-2,3-dimercaptosuccinique

(DMSA). Les molécules organiques utilisées lors de la fonctionnalisation peuvent, en plus d'augmenter leur stabilité, orienter l'affinité de la nano-Fe_3O_4 pour certains métaux tels que reportés dans le Tableau I - 4. Cependant, Warner, et al. [51] ont démontré que les performances des nano-Fe_3O_4 enrobées était perturbées par la présence de MON dans les eaux naturelles de la rivère Colombia. La MON semble interférer dans l'adsorption des TMs par occupation des sites de surface actifs. Finalement, l'efficacité de ces nouveaux adsorbants suggère leur utilisation dans les milieux naturels[52] et leur déversement dans des zones sensibles telles que les zones humides ripariennes. Il est donc critique de comprendre leur comportement et leur impact sur la mobilité des métaux lourds et de la MON pour évaluer le risque qu'elles posent sur l'environnement, leur transfert vers le milieu aquatique, et par conséquent leur impact sur la santé humaine.

Ξ Ξ Ξ

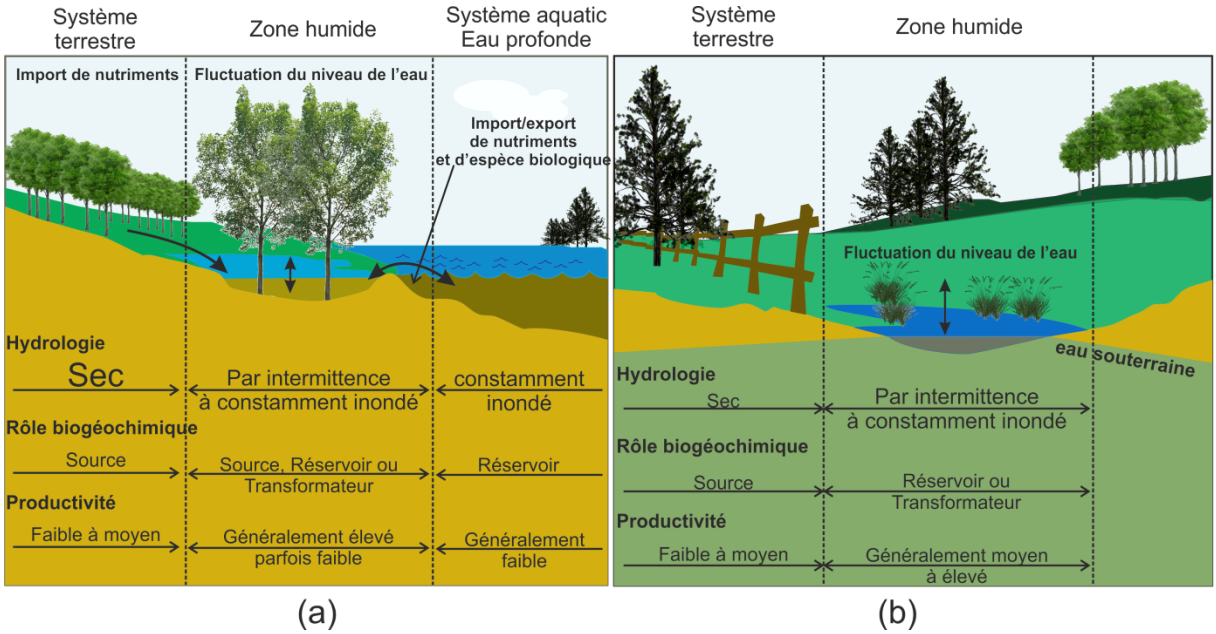
Tableau I - 4 Fe_3O_4 Nanoadsorbants utilisés pour le traitement des métaux lourds, adapté de Ray and Shipley [52]

	Forme et taille (nm)	Air de surface ($m^2\ g^{-1}$)	pH optimal	saturation magnétique (emu g^{-1})	Métaux lourds d'intérêt	Modèle d'isotherme ou capacité d'adsorption	Performance	Regenerative/nombre de cycles	Matrice d'échantillon	Réf.
Nano-Fe_3O_4	Sphères; 19.3	60	8	—	As(V)	Langmuir q_m (mg g^{-1})	1.19	—	Eau souterraine et ajout dans eau potable	53
					As(III)		1.13			
Fe_3O_4 nanorods	Rods; 55–65, longueur 900–1000		5.5	89	Fe(II)	Langmuir (mg g^{-1})	127.01	oui/5	Ions métalliques de solutions aqueuses	54
					Pb(II)		112.86			
					Zn(II)		107.27			
					Ni(II)		95.42			
					Cd(II)		88.39			
					Cu(II)		79.1			
Fe_3O_4–MSPNPs	Sphères; 13	—	7	N/A	Hg(II)	Langmuir (mg g^{-1})	36.495	oui/3	Métal provenant de solution aqueuse et ajout dans eau du lac Jinji	55
Fe_3O_4–MBA	Sphères; 7.9 ± 1.2	108		59.8	Co, Cu, Ag, Cd, Hg, Pb, Tl	efficacité de sorbtion (10^5 L s^{-1})	Pb > Cu > Ag > Co Cd > Hg > Tl	—	Ajout dans l'eau de rivière Colombia	51
Fe_3O_4–GSH	Sphères; 7.7 ± 1.3	111.6		47.4			Pb > Hg > Cu > Ag > Cd > Co > Tl			
Fe_3O_4–PEG-SH	Sphères; 8.2 ± 1.4	86.33	7.8	62.5			Pb > Cu > Hg > Ag > Cd > Co > Tl			
Fe_3O_4–DMSA	Sphères; 7.2 ± 2	114		53.8			Hg > Pb > Ag > Cu > Tl > Cd > Co			
Fe_3O_4–EDTA	Sphères; 8.2 ± 1.3	106.8		66			Hg, Pb, Ag > Cu, Co, Tl > Cd			
Fe_3O_4@APS @AA-*co*-CA	Sphères; 15–20	—	5.5	52	Cd(II)	Langmuir (mg g^{-1})	29.6	oui/4	Ions métalliques provenant de solutions aqueuses	50
					Zn(II)		43.4			
					Pb(II)		166.1			
					Cu(II)		126.9			

I.3 Les zones humides ripariennes : modèle de l'étude

I.3.1 Les zones humides (ZHs) – définition

Les ZHs sont localisées à l'interface des systèmes terrestres et aquatiques constamment inondés tels que les rivières, les lacs, les estuaires et les océans ou dans des bassins isolés avec de petits écoulements sans système d'eau adjacent, dans lesquels le battement de nappe des eaux souterraines est d'une grande importance (**Figure I - 5)**. Les ZHs ont un rôle important dans la régulation des flux de nutriments provenant du milieu terrestre vers le milieu aquatique (**Figure I - 5**). Les ZHs sont uniques de par les conditions hydrologiques y régnant et le rôle particulier qu'elles jouent comme écotone entre les systèmes terrestres et aquatiques [56]. Elles sont des milieux privilégiés pour la solubilisation et le stockage d'éléments, notamment dus à l'oscillation du niveau de l'eau. Par conséquent, ces milieux extrêmement dynamiques sont des zones de grande importance pour les cycles biogéochimiques des éléments majeurs et traces. Cependant, il est difficile de les définir précisément, pas seulement à cause de leur grande étendue géographique, mais également en raison de la très large gamme de conditions hydrologiques dans lesquelles elles existent [56].



© Maya Al-Sid-Cheikh, adapté de Mitsch and Gosselink

Figure I - 5 Schéma de ZHs localisées (a) entre les systèmes terrestres secs et les systèmes aquatiques constamment inondés ou (b) dans un bassin isolé (adapté de Mitsch and Gosselink [56]).

Les ZHs sont souvent imagées par des zones de marécages, de tourbières ou encore de marais côtiers tels que les mangroves. Ces ZHs ont en commun d'être partiellement ou totalement saturées en eau, d'accumuler de la matière organique de plantes en lente décomposition, et d'avoir des plantes (i.e. espèces hygrophiles) et des animaux adaptés aux conditions hydriques. Ainsi, la définition des ZHs inclut trois composantes importantes : l'hydrologie, les paramètres physico-chimiques et le biota (**Figure I - 6**). Les conditions hydrologiques contrôlent les paramètres physico-chimiques de l'environnement (i.e. pH, Eh, T, O_2) et le biota (i.e. communauté bactérienne, végétation, etc) ; les paramètres physico-chimiques influençant eux-mêmes également le biota. C'est trois composantes ne sont pas indépendantes entre elles avec notamment aussi une rétroaction du compartiment biologique sur la physique, la chimie et l'hydrologie du milieu. D'autre part, la géomorphologie et le climat conditionnent également le développement des ZHs. Devant l'abondance de définitions des ZHs, la définition/classification multicritères canadienne est la plus complète et prend en compte l'hydrologie, la physico-chimie, et la biologie du système. Ainsi, les ZHs sont définies comme des paysages où la nappe phréatique affleure à la surface du sol ou des zones saturées en eau durant une période suffisamment longue pour stimuler des processus biogéochimiques se déroulant en conditions anoxiques. Les sols sont généralement peu drainants et possèdent une végétation hygrophile/hydrophile importante[57-59]. Toutefois, une définition internationale a été adoptée par *the international union for conservation of nature and natural ressources* (IUCN) à la convention internationale des ZHs, appelée la convention Ramsar. Ainsi, cette convention définit les ZHs comme des zones de *marsh*, *fen*, *peatland* où l'eau peut être, naturelle ou artificielle, permanente ou temporaire, statique ou dynamique, douce, saumâtre, ou salée incluant les zones d'eau marine avec un faible marnage (i.e. n'excédant pas 6m) [56]. La convention Ramsar incorpore également les zones ripariennes et côtières adjacentes. Considérant ces critères, il existe un très grand nombre de ZHs par exemple les *bogs*, les *deltas*, les *lagons*, les *mangroves*, les *marshs*, les *peatlands*, les *swamps*, ou encore les écosystèmes ripariens.

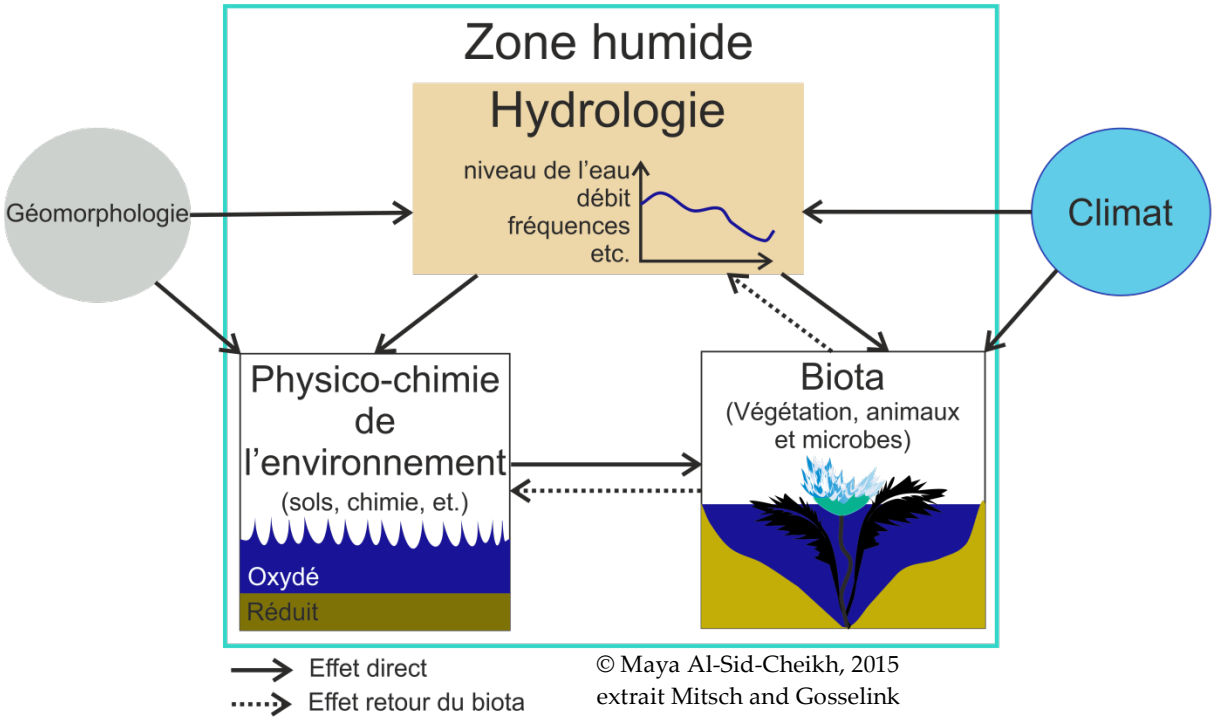


Figure I - 6 Définition d'une zone humide (extrait de Mitsch and Gosselink [56]).

I.3.2 Les ZH ripariennes (ZHRs) dans le monde

I.3.2.1 Hydrologie des ZHRs

Les conditions hydrologiques jouent un rôle majeur et impactent les facteurs abiotiques incluant les conditions d'oxygénation des sols et la disponibilité des nutriments. Les ZHRs sont des milieux de transition et de transfert entre le milieu terrestre et les écosystèmes aquatiques, à la fois d'un point de vue géographique et à la fois en terme de quantités d'eau (i.e. bilan hydrologique). La saturation hydrique des sols de ZHR est liée au mouvement du toit de la nappe libre sous-jacente, elle-même reliée au réseau hydrographique (**Figure I - 5a)**. Ainsi, la saturation en eau varie en intensité, durée, et en nombre d'épisodes de saturation par année. L'hydropériode des ZHRs est un schéma saisonnier du niveau de l'eau et donne ainsi une signature hydrologique à chaque ZHRs [56]. Ce paramètre est également influencé par les caractéristiques physiques du milieu et la proximité du système aquatique. L'hydropériode ne fluctue pas seulement en fonction des saisons, mais également en fonction des années, du climat et de l'état de surface avant ennoiement [56]. Ainsi, le bilan hydrologique des ZHRs est dépendant de trois paramètres qui sont : a) le bilan

entre l'import et l'export d'eau, b) le périmètre de la zone concernée et le sol de subsurface, et c) la géologie et les caractéristiques physico-chimiques des eaux souterraines [56]. Les conditions hydrogéologiques des ZHRs ont une influence majeure sur les cycles géochimiques des éléments et l'activité biologique du milieu.

I.3.2.2 Sol de ZHR – l'horizon organique

Les sols de ZH, sont définis comme des sols formés sous des conditions de saturation suffisamment longues pour susciter le développement de conditions anaérobies, notamment dans la partie supérieure du sol [56]. Ces conditions anaérobies se développent quand la saturation en eau, prive en oxygène l'horizon de sol concerné, induisant des séquences de réductions chimiques des éléments. Ainsi les quinze premiers centimètres du sol, l'horizon où ces changements prennent généralement place, correspondent à l'horizon du sol où les cycles biogéochimiques et l'activité biologique sont les plus forts.

De plus, les sols de ZH sont à la fois des milieux qui subissent des transformations chimiques importantes et des zones de stockage d'éléments chimiques biodisponibles, induisant une forte activité biologique. Ces sols temporairement saturés contiennent plus de 18% de carbone organique lorsque la fraction minérale est composée d'au moins 60 % d'argile (**Figure I - 7**). De tels sols se trouvent dans les ZHs, telles que les *marshes* d'eau douce ou les forêts ripariennes. Ils se décrivent au travers de profils de sol constitués de différents horizons, tels qu'un horizon supérieur organique souvent composé de tourbes et de matière végétale partiellement décomposée [56]. Les sols de ZHR sont également caractérisés par leur dynamique d'oxydoréduction durant les battements de nappe conditionnant la dynamique des cycles biogéochimiques dans ces environnements.

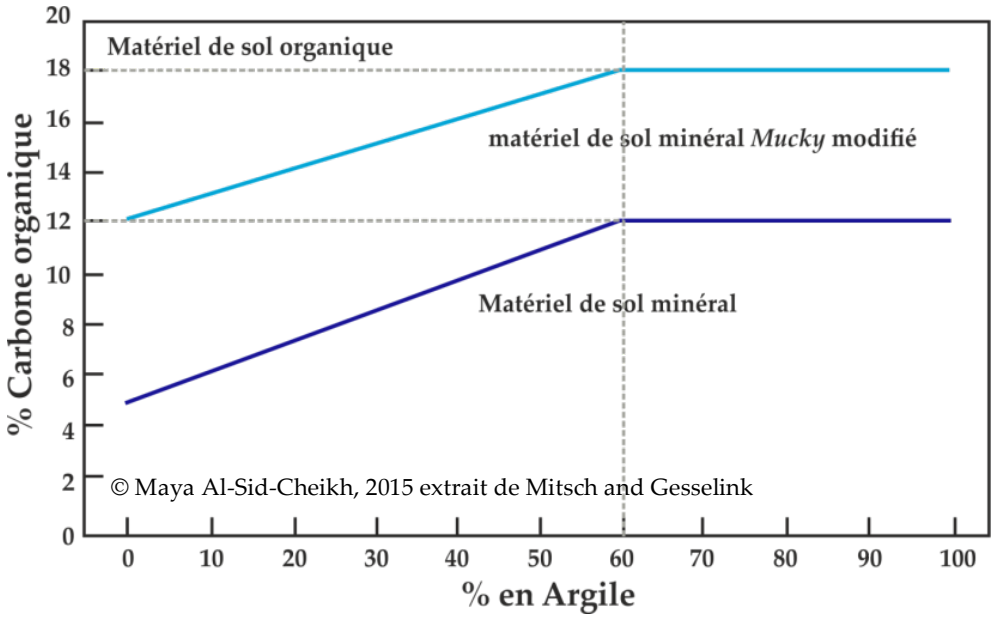


Figure I - 7 Distribution des différentes phases (organique, minérale) en fonction de la teneur en argile dans des sols de zones humides. (extrait de Mitsch and Gosselink [56]).

I.3.2.3 Les ZHR ; de véritables réacteurs biogéochimiques

Les conditions de transformations et de mobilités des éléments chimiques dans les horizons organiques des ZHRs sont dictées par la teneur en oxygène du milieu. Lorsque l'eau sature les sols, la diffusion de l'oxygène (O_2) est drastiquement réduite et est estimée à 10 000 fois plus lente que dans les milieux poreux tels que les sols bien drainés [56]. La faible teneur en oxygène résultante dicte le potentiel d'oxydoréduction (Eh,**Figure I - 8**). Ainsi, les séquences de transformation (**Figure I - 8**) lors de la saturation en eau commencent par la diminution du taux d' O_2, suivie de la réduction des nitrates et des sulfates. La réduction du manganèse entraîne l'augmentation des teneurs en Mn^{2+}, tout comme la réduction des oxydes de fer (Fe^{3+}) en Fe^{2+}, puis la formation de sulfure d'hydrogène (H_2S) et la formation de méthane (CH_4). De plus, durant cette période, une diminution constante des substrats organiques s'opère (donneur d'électrons) ainsi qu'une augmentation d'ions disponibles tels que l'ammonium (NH_4^+) et les phosphates (PO_4^{3-}). Ces séquences de transformation sont également valables en fonction de la profondeur du sol puisqu'elles sont liées à la teneur en oxygène. Les réactions d'oxydoréduction ne se

produisent pas uniquement de manière abiotique et le rôle des bactéries dans la dynamique du fer et des autres éléments est important.

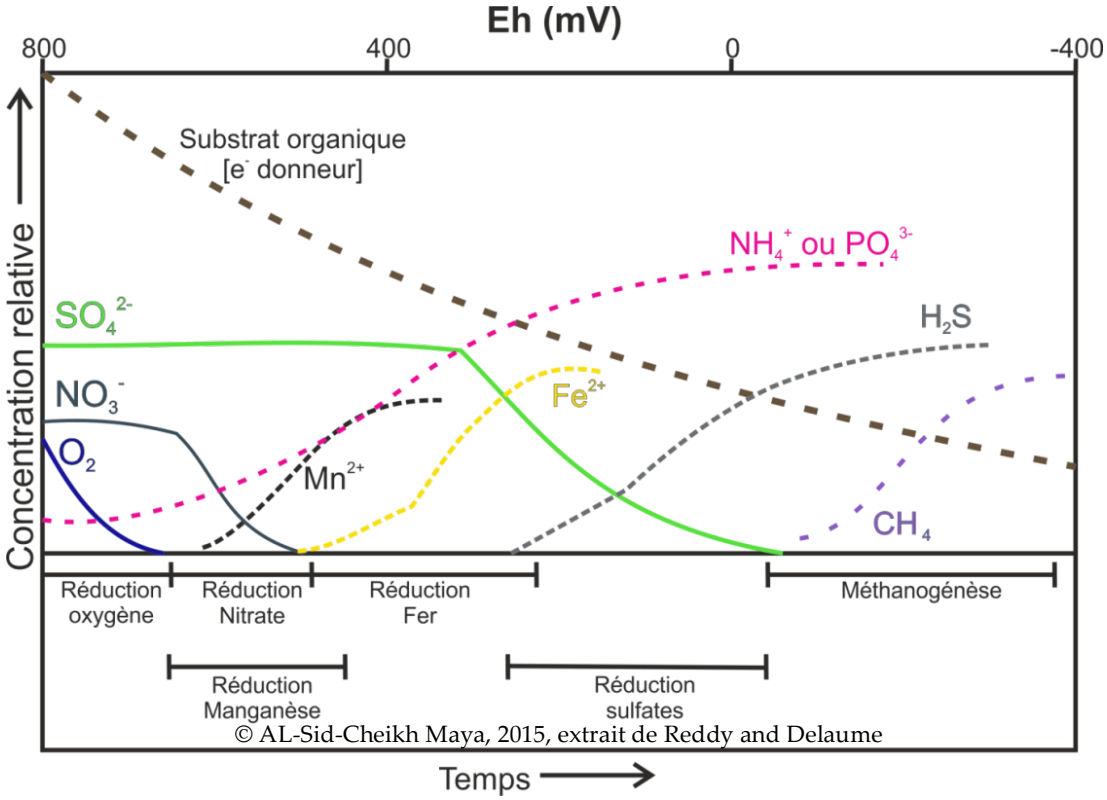


Figure I - 8 Séquence des transformations des éléments dans le sol en fonction du temps après saturation en eau d'après Reddy and Delaune [60].

I.4 Objectifs

I.4.1 Objectif général

Afin d'évaluer les risques liés aux ENPs, il est important de comprendre les mécanismes contrôlant leur comportement dans l'environnement, ainsi que leur impact sur la mobilité des autres éléments présents dans l'écosystème. Dans le cadre de la protection des eaux et des sols, la compréhension du comportement des ENPs dans les eaux de surface est critique, notamment dans les zones humides, où la dynamique des métaux toxiques (i.e. As, Pb, Ni, Cr, Hg) est complexe et majeure. Comme la biodisponibilité et la toxicité de certains éléments traces métalliques en solution (e.g. l'As, le Cr, le Hg) dépendent à la fois de leur concentration et de leur spéciation (e.g. mobilité), il apparaît indispensable d'identifier les spéciations en jeu et les phases vectrices de ces éléments. Les nano-Fe_3O_4, naturelles ou manufacturées,

sont reconnues pour leur forte réactivité face aux métaux lourds. Plus précisément, le rôle des ENPs dans le transfert des éléments traces métalliques (ETMs), ainsi que les facteurs et mécanismes contrôlant la stabilité (i.e. agrégation ou désagrégation) des ENPs demeurent mal compris et critiques dans la gestion des risques associés aux ENPs. Par conséquent, l'étude de leurs interactions dans les ZHRs avec les ETMs est importante dans l'évaluation de leur impacts, qu'ils soient directs ou indirects (type Cheval de Troie).

Ainsi, via une approche essentiellement expérimentale, alliant ponctuellement des études de terrain, l'objectif de cette thèse est d'étudier le rôle des nanoparticules de magnétite manufacturées et des oxydes de fer naturels sur la dynamique (i.e. mobilité) des ETMs dans les eaux de surface et les sols de zones humides ripariennes.

I.4.1.1 Objectifs spécifiques

Comme illustrés par la **Figure I - 9**, les enjeux étaient de comprendre les interactions de surface des NPs avec les métaux toxiques, la matière organique ainsi que les effets indirects des NPs sur la mobilité des ETMs dans les eaux de surface des sols de ZHR. Pour répondre à la problématique de recherche de cette thèse, quatre volets ont été abordés :

- **l'évaluation des interactions entre la MON et un élément toxique tel que l'As et les oxydes de fer naturels dans les produits de réoxydation des sols de zone humide. Il était ainsi question de :**
    a. mettre en place une méthode de collecte des produits de réoxydation dans les sols de ZHR en fonction du temps,
    b. mettre au point une méthode d'analyse de la distribution spatiale des éléments en phase solide,
    c. montrer le rôle joué par le soufre et de comprendre son implication dans les interactions.
- **Analyse de l'impact de la composition de surface des nano-Fe_3O_4 sur la mobilité des ETM et de la MON dans les eaux de surface.**
    a. Évaluation de la composition de la MON.
    b. Evaluation de la distribution des ETMs dans les différentes fractions des eaux de surface via des lessivages.
- **Etude des interactions nano-Fe_3O_4/métaux lourds en fonction de la composition de surface des ENPs.**
    a. Mise en place d'une méthode d'évaluation du comportement des nano-Fe_3O_4 avec les ETMs par couplage en ligne de la chromatographie par

exclusion stérique (SEC) en multidétection par spectrophotométrie ultraviolet (Uv) et spectrométrie de masse à torche plasma (ICP-MS) [i.e. SEC-Uv-ICPMS]

b. Application de la méthode de couplage aux interactions de nano-Fe_3O_4 nues et enrobées avec de l'As et du Pb.

- **Analyse de la sensibilité des nano-Fe_3O_4 vis-à-vis du compartiment bactérien du sol.**
  a. Mise en place de cinétiques de bioréduction de la magnétite par une bactérie ferro-réductrice modèle *Shewanella Oneidensis*.

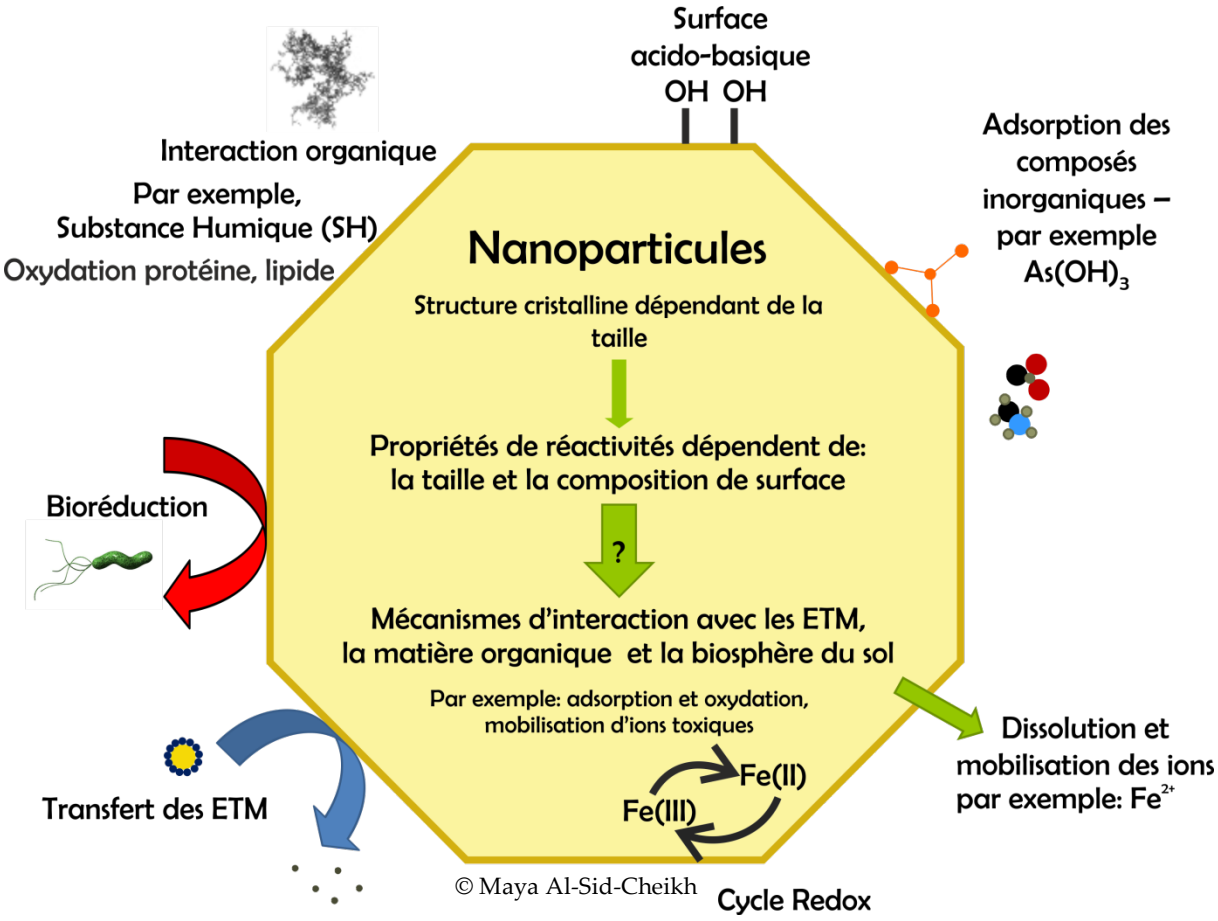
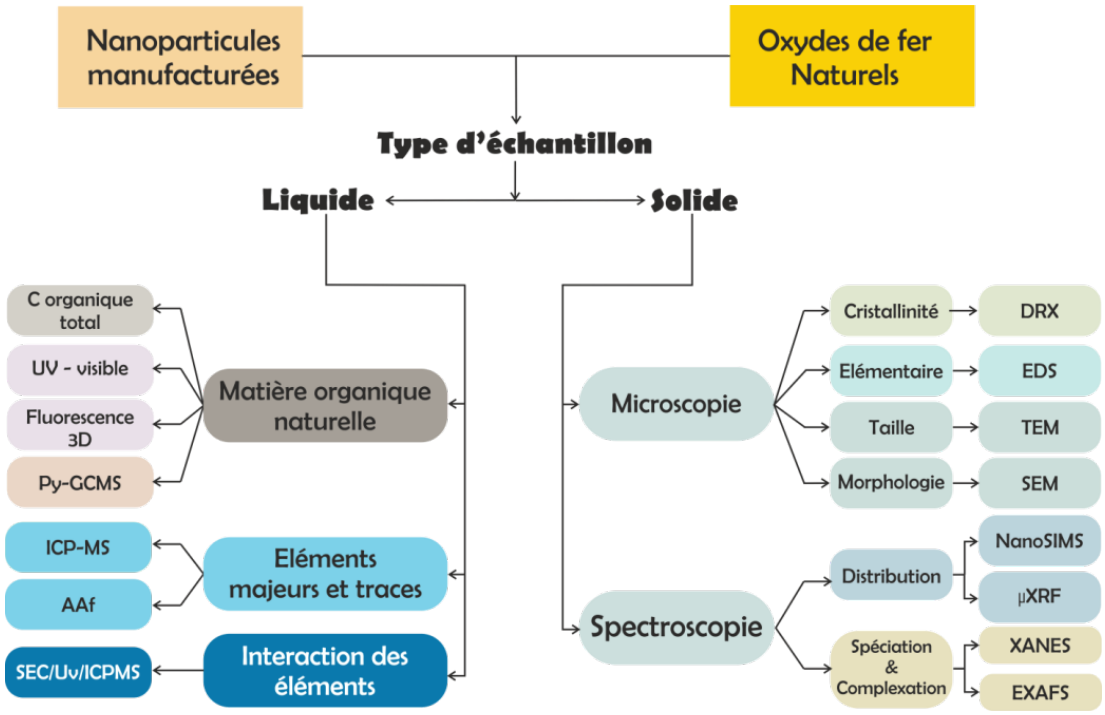


Figure I - 9 Problématique des NPs dans l'environnement inspiré de Auffan, et al. [18].

Partie II - Approche méthodologique

II.1 Préambule

L'enjeu d'étudier les Nps dans les sols est avant tout analytique. Pour relever un tel défi, une démarche analytique systématique (incluant certains couplages on- line ou off-line à la fine pointe du domaine de la chimie analytique pour les substances inorganiques en traces) a été mise en place comme illustré par la Figure II - 1, rendant enfin possible des analyses impossibles avec les techniques employées individuellement. C'est pourquoi durant cette thèse, une démarche analytique systématique a été mise en place comme illustrée par la Figure II - 1. La première caractéristique qui déterminait le choix de l'analyse était la phase de l'échantillon. Par exemple liquide pour les solutions de lessivage de sols et solide pour les précipités de terrains ou les sols lessivés. Dans cette partie portant sur la démarche scientifique et plus spécifiquement sur l'approche méthodologique, nous nous attarderons dans un premier temps sur les techniques mises en place pour l'étude des colloïdes naturels et dans un second temps sur la stratégie mise en place pour l'étude des effets induits par les nano-Fe_3O_4 et leur composition de surface.



© Maya Al-Sid-Cheikh, 2015

Figure II - 1 Schéma illustrant l'approche scientifique pour la caractérisation des échantillons et des impacts des NPs manufacturées de magnétites et des oxydes de fer naturels sur les éléments traces dans les sols de zones humides.

II.2 Les colloïdes naturels

II.2.1 Collecte des produits de réoxydation des sols in situ

II.2.1.1 Site d'étude – Zone d'étude Armorique Kervidy-Naizin (ORE AgrHys)

Le bassin versant de Kervidy-Naizin se trouve au centre de la Bretagne dans le département du Morbihan (48°N, 3°W), à proximité de la ville de Pontivy (**Figure II - 2**). La surperficie de ce bassin est de 5 km². Le ruisseau Coët-Dan, d'ordre Strahler 2, s'écoule suivant l'axe nord-sud. Ce ruisseau est un affluent de l'Evel, qui est lui-même affluent du fleuve du Blavet. Le climat de cette zone est tempéré sous influence océanique avec une température annuelle moyenne de 11°C pour la période 2000-2012. Le cumul des précipitations moyennes est de 818 mm an^{-1}. Cette zone d'étude, élément majeur d'un Observatoire de Recherche en Environnement

(ORE) appelé AgrHys, est un site idéal pour l'étude des colloïdes naturels dans la mesure où ce bassin versant fait l'objet de suivis réguliers, qui ont contribué à une parfaite connaissance du contexte pédo-hydo-climato-géochimique. La zone offre en particulier l'accès à une importante base de données avec un suivi hebdomadaire des paramètres physico-chimiques par un système de six piézomètres situés à quatre altitudes différentes avec un piézomètre dans la ZHR (i.e. altitude la plus basse). La mise à disposition des données fait partie de la charte de l'ORE AgrHys (http://www7.inra.fr/ore_agrhys).

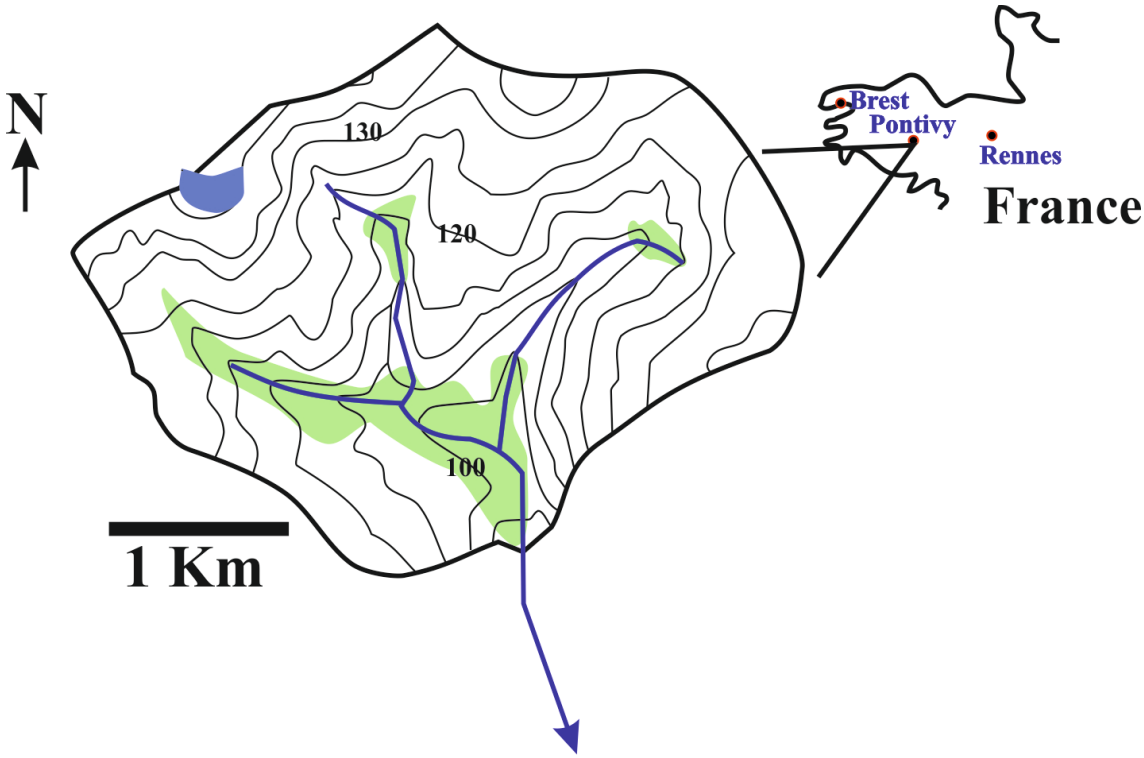


Figure II - 2 Site d'étude zone de Kervidy-Nayzin, Bretagne, France.

II.2.1.2 Système de collecte des produits de réoxydation du sol et préparation des échantillons

Des feuilles Téflon de 2 mm d'épaisseur ont été découpées dans une dimension de 10 cm de large par 15 cm de longueur. Ces plaques ont ensuite été insérées verticalement dans l'horizon supérieur du sol et laissées en interaction avec les eaux de surfaces et le sol entre un et six ans. Elles ont été retirées du sol en période d'assèchement de la zone afin

Figure II - 3 Feuille téflon provenant de la ZHR Kervidy-Naizin avec les colloïdes naturels précipités. © Maya Al-Sid-Cheikh

d'obtenir le maximum de produits oxydés (Figure II - 3). Ce système développé par Belzile, et al. [61] permet la précipitation des colloides naturels *in situ* afin de collecter les produits de ré-oxidation des sols sans la matrice.

II.2.2 Analyse de la distribution de la MON, As, S, et FeO

II.2.2.1 Préparation des échantillons

Imprégnation en résine. Les analyses nanoSIMS se passent sous ultra-vide. Par conséquent, les échantillons devaient être inclus en résine afin de résister à l'ultravide sans se déshydrater durant l'analyse. L'imprégnation en résine était une étape inévitable. Une qualité parfaite d'imprégnation en résine implique que la préparation présente *in fine* une dureté uniforme. L'imprégnation dans la résine a été faite à cœur sans modification chimique de l'échantillon. Il a donc été question dans ce projet de mettre au point une préparation des échantillons relevant ces défis.

L'imprégnation en résine s'est inspirée des méthodes décrites par Dykstra and Reuss [62]. Les précipités ont été séchés sous hotte à flux laminaire, récupérés dans un microtube de centrifugation de 2 mL (eppendorf safe-lock), puis inclus sous vide durant 2h dans de la résine araldite et centrifugée à 2500 rpm pendant 10 min. Le durcissement de la résine s'est fait pendant les 72 h suivantes sous hotte et à température ambiante. Les échantillons ont ensuite été démoulés pour obtenir un cône comme sur la Figure II - 4. Les échantillons ont servi à la fois aux analyses nanoSIMS et aux analyses de spéciation du soufre en analyses d'absorption des rayons X (XANES).

Figure II - 4 imprégnation des colloïdes naturels collectés dans la ZHR Kervidy-Nainzin.

Ultramicrotomie. Pour obtenir une représentativité statistique suffisante pour l'étude de la distribution des éléments dans les colloïdes naturels par nanoSIMS, des coupes ultramicrotomées de 500 nm ont été effectuées sur les cônes précédemment imprégnés en résine epoxy araldite 2020 (XW396/XW397, Huntsman).

La première étape pour la coupe par ultramicrotomie consiste à 'trimer' l'échantillon avec une lame de rasoir. Cette étape consiste à enlever les surplus de résine pour faire affleurer l'échantillon et le dimensionner correctement au moment de la coupe.

L'ultramicrotome est conçu pour la coupe de sections ultra-fines (10-100 nm) et semi-fines (250 nm – 0.5µm) [62]. Les coupes ont été effectuées avec un couteau diamant de type histo avec un angle de 45° et de 4 mm avec piscine (Diatome). Les coupes ont été effectuées au centre de microscopie de Villejean (plateforme MRiC, Rennes). L'ultramicrotome utilisé était un UCT Leica. La couleur des sections UM coupées a validé l'épaisseur de la section. Ainsi, une section de 500 nm a des reflets vert alors qu'une section d'environ 90 nm sera dorée (**Figure II - 5**).

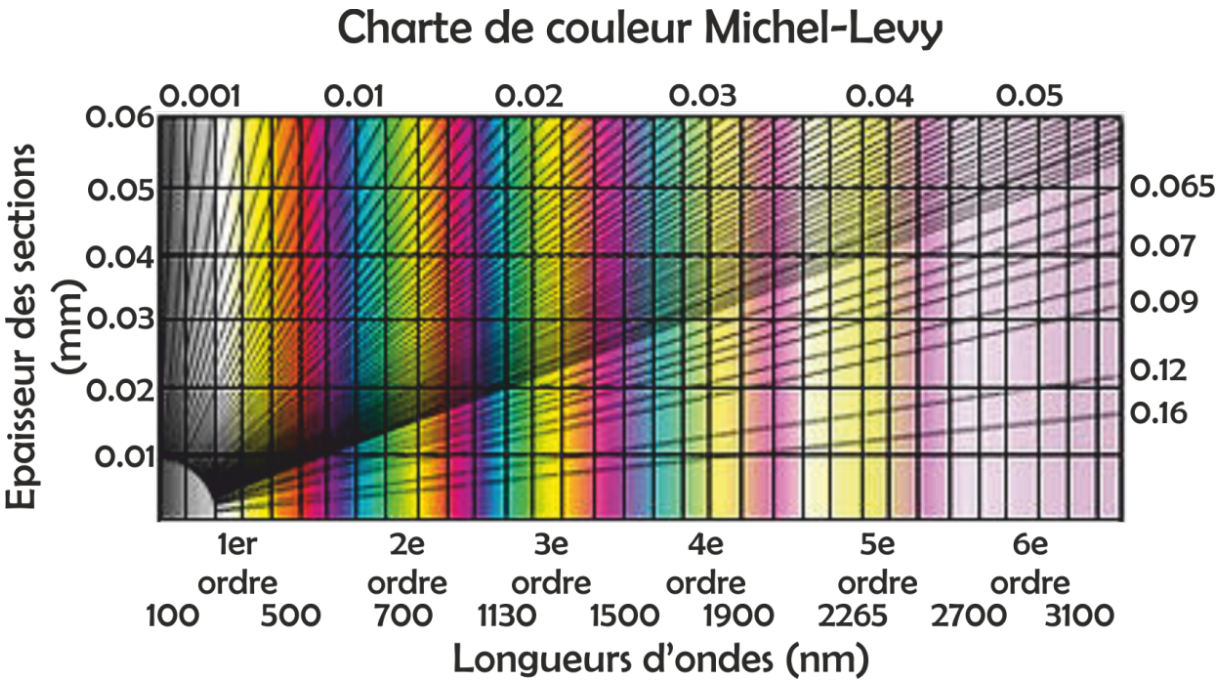


Figure II - 5 Teintes et abaques de détermination de la biréfringence d'après le diagramme de A. Michel-Levy et A. Lacroix, Michel-Levy color Chart, utilisé pour les sections d'ultramicrotome, DRUKKER INTERNATIONAL.

II.2.2.2 Microscopie électronique à balayage (MEB)

Les analyses en MEB ont été réalisées afin de connaître la morphologie des précipités et de faire un premier repérage des zones à analyser pour les analyses nanoSIMS. Comme la différence de résolution est importante entre le MEB et la caméra à dispositif à transfert de charge (CCD), plusieurs grossissements ont été réalisés afin d'avoir la meilleure cartographie possible de l'échantillon.

Cette technique a été utilisée afin de déterminer l'état de surface de nos coupes semi-fines et de repérer les zones d'intérêt pour l'analyse nanoSIMS où le repérage des zones d'intérêt se fait grâce à une image CCD.

Comme son nom l'indique, les images MEB sont obtenues par observation des électrons balayés à la surface de l'échantillon. Les électrons interagissent avec l'échantillon et les électrons réfléchis sont ensuite détectés par un capteur qui contrôle la brillance d'un oscilloscope cathodique dont le balayage est synchronisé avec celui du faisceau d'électrons. Les électrons sont produits par effet thermoélectronique à partir d'un filament de tungstène porté à haute température puis, extraits au niveau du "Wehnelt" qui a aussi pour fonction de focaliser les électrons en un point. Les électrons sont accélérés par la différence de potentiel entre le Wehnelt et une anode (diaphragme). Les tensions d'accélération classiques (typiquement V_0 = 10 à 50 kV) fixent l'énergie des électrons qui forment un faisceau presque monocinétique. La tension d'accélération des électrons utilisée pour nos observations était 10 kV. L'appareil utilisé pour les analyses est un JEOL/JSM-7100F. Ce MEB est adapté à l'étude des surfaces des colloïdes naturels collectés puisque la résolution spatiale est de 1.2 nm à 15kV, ce qui rend l'analyse adéquate pour l'étude des nanoparticules.

II.2.2.3 Distribution des éléments par nanoSIMS

La nanoSIMS (**Figure II - 6**) est une microsonde ionique dont l'acronyme SIMS vient de l'anglais *secondary ionization mass spectrometry*. Cet instrument combine à la fois une haute résolution spatiale à la surface des échantillons (50-150 nm), haute résolution en masse (majeur à éléments traces et composition isotopique), et une haute sensibilité analytique avec des limites de détection allant jusqu'à l'ordre du $\mu g\ L^{-1}$, ce qui rend l'utilisation de cette technique pour l'étude des interactions entre les colloïdes naturel organique et inorganique avec les éléments traces dans les sols, particulièrement adaptée.

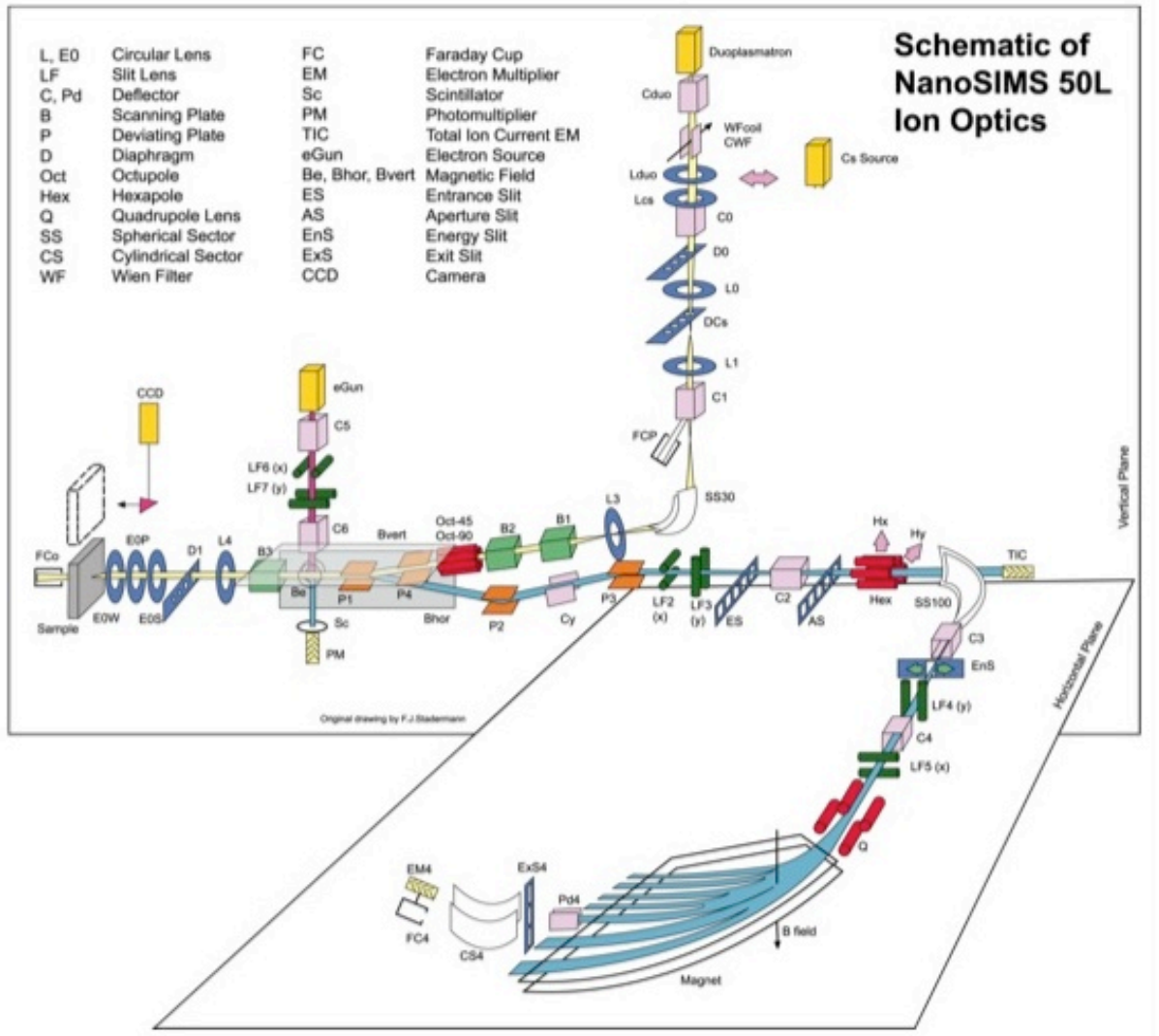


Figure II - 6 Schéma de la microsonde ionique, le NanoSIMS 50L, Cameca, Paris, France, d'après Hoppe, et al. [63].

Les propriétés fondamentales de la nanoSIMS qui lui permettent de se différencier des autres techniques SIMS sont leur capacité à produire des faisceaux primaires extrêmement petits avec une taille minimum d'environ 50 nm pour la source primaire en césium (Cs^+) et d'environ 200 nm pour la source primaire en oxygène (O^-) [63]. Le principe physique de base des analyses en microsonde dynamique SIMS est sa capacité à analyser en spectrométrie de masse les ions secondaires pulvérisés de la surface solide de l'échantillon par impact continu du faisceau primaire chargé positivement (Cs^+) ou négativement (O^-). Ce faisceau primaire pulvérise des atomes ionisés de la surface de l'échantillon (**Figure II - 7**). Cette

technique détruit l'échantillon sur quelques nm de profondeur. Les ions secondaires sont transférés simultanément avec une haute résolution de masse au spectromètre de masse multicollecteur. Cette technique permet de faire une cartographie des différentes masses analysées ; ce qui en fait un véritable outil de 'microscopie isotopique' à haute résolution spatiale (i.e. 100nm). Le nanoSIMS utilisé pour nos analyses est le nanoSIMS 50 L (**Figure II - 6** et **Tableau II - 1**).

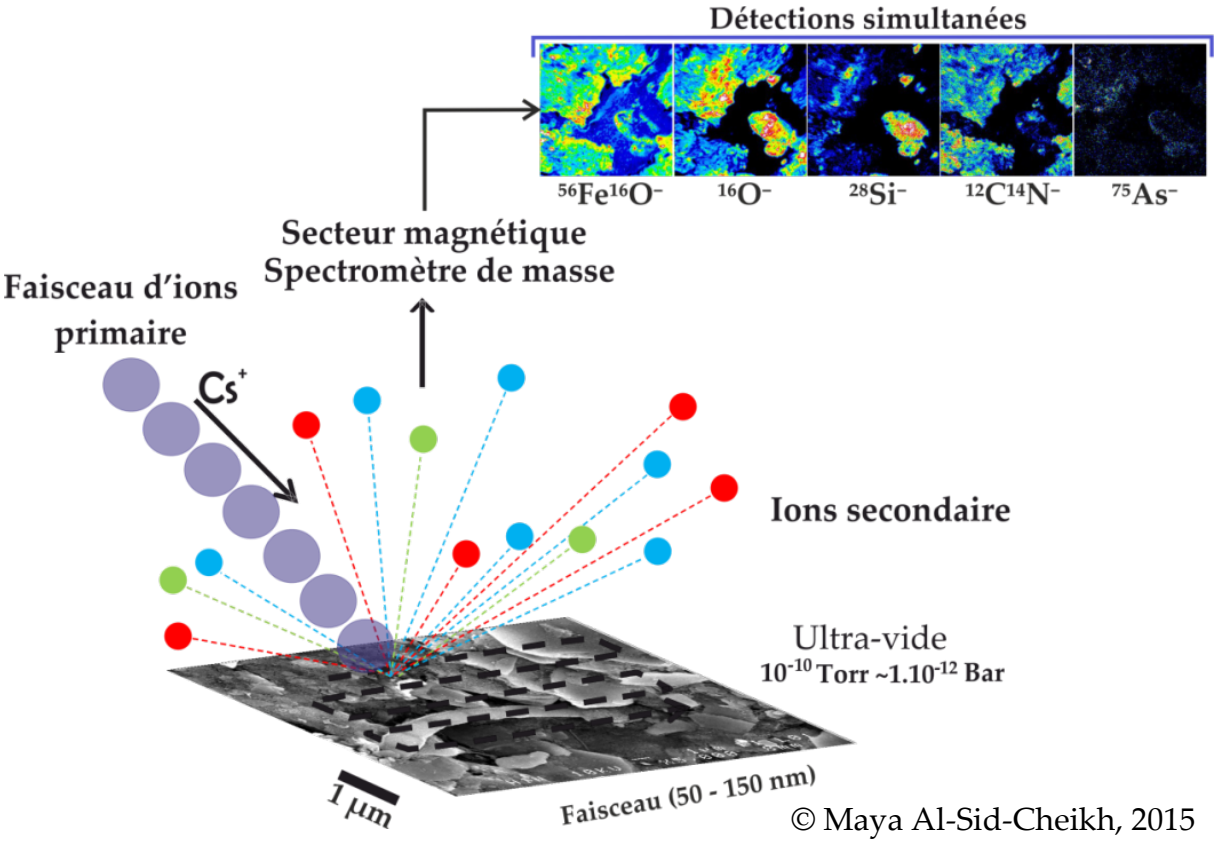


Figure II - 7 Principe de l'analyse nanoSIMS.

Tableau II - 1 Caractéristiques de la nanoSIMS Cameca 50/50L

Item[a]	**Caractéristiques**	
Ions	**Cs^+**	**O^-**
Voltage de la source	+8 kV	−8 kV
Courant de la source (typiquement, D0 ouvert)	30–50 nA	500–1000 nA
Courant de la sonde(gamme)	0.1 pA … > 5 nA	0.1 pA … > 5 nA
Courant de la sonde (D1 = 150 µm, L0/L1 = 0 V)	1 pA	10 pAb
Taille du faisceau (conditions de routine)	100 nm (1 pA)	400 nm (10 pA)
Taille du faisceau (le plus petit)	< 50 nm (0.3 pA)	200 nm (< 1 pA)
Raster taille (maximum)	200 × 200 µm2	200 × 200 µm2
Ions secondaires	Negative	Positive
Voltage d'extraction	−8 kV	+8 kV
Transmission pour les mesures d'isotope Si	> 50%	> 50%
Système d multicollection	NanoSIMS 50	NanoSIMS 50L
Nombre de détecteurs	5	7
Dispersion de masse (Mmax/Mmin)	13.2	21
Séparation en masse entre détecteurs	Mmax/30	Mmax/58
Caractéristiques des détecteurs		
Temps mort de l'EM (configuration standard)	44 ns	
Bruit de fond de l'EM	< 0.01 cps	
Bruit FC (low-bruit electrometre)	< 5 × 10−16 A	

II.2.3 La spéciation du soufre par spectroscopie d'absorption des rayons X.

La spectroscopie d'absorption des rayons X (XAS) permet de déterminer la spéciation d'un élément, par exemple dans notre cas, le soufre présent dans nos échantillons solides. Cette sonde chimique permet en fait de caractériser l'environnement atomique de l'élément cible (i.e. distance des voisins, nature et nombre de voisins présents dans un rayon restreint de 4-5 Å et degré d'oxydation de l'élément)[64].

II.2.3.1 Énergie incidente - synchrotron

L'analyse par XAS est intimement liée à la puissance du faisceau incident. L'intensité de rayonnement synchrotron est supérieure de plusieurs ordres de grandeur à celle d'une lampe à rayons X traditionnelle de laboratoire, ce qui donne un rapport signal sur bruit intéressant, et permet des expériences inabordables auparavant. Cette technique est relativement sensible à la stabilité du faisceau et à toute l'infrastructure qui l'entoure. Par conséquent, de telles expériences d'absorption X ne sont pas encore possibles en routine.

Les analyses XANES du soufre ont été effectuées en collaboration avec la responsable de la ligne LUCIA au synchrotron Soleil (Figure II – 8). Cette ligne travaille dans le domaine des rayons dits tendres (i.e. 0.8 – 8 keV). La gamme d'énergie offerte par la ligne correspond aux meilleures performances de brillance que Soleil peut offrir. Il est donc possible d'effectuer des mesures XAS au seuil K des éléments depuis le sodium (Na) jusqu'au fer (Fe) et au seuil L du nickel (Ni) au gadolinium (Gd) ainsi qu'au seuil M des terres rares (REE) et des actinides. Cette ligne a également la possibilité de faire du micro focalisé (μXAS, et μXRF) pour effectuer la cartographie des éléments. La taille du faisceau en théorie de 1 x 3 μm^2; et en pratique de 2.5 x 2.5 μm^2. Dans notre étude, il a seulement été question d'analyse en XANES du soufre. Cette analyse du soufre combinée avec les analyses nanoSIMS permettra de caractériser les potentielles associations entre l'As et le soufre organique.

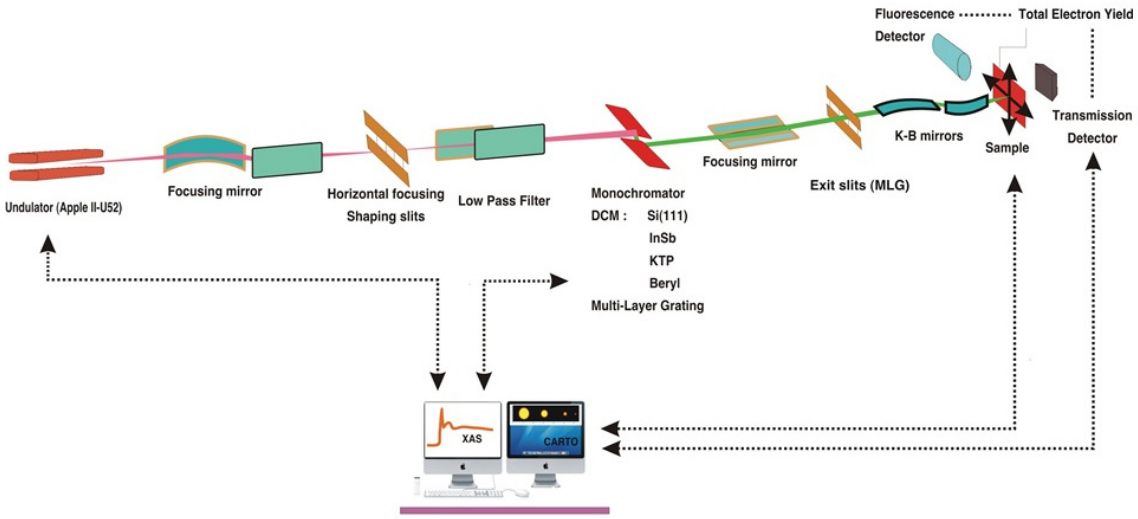


Figure II - 8 Schéma de la ligne LUCIA, Synchrotron SOLEIL (http://www.synchrotron-soleil.fr).

II.2.3.2 Principe

Le XAS caractérise l'excitation des électrons du cœur atome (1s ou 2p) induit par l'absorption de photon, avec une énergie décrite par :

$$E = h\vartheta$$

Où h : constante de plank et

ϑ : fréquence des photons

Ainsi, cette méthode de spectroscopie consiste à suivre l'évolution du coefficient d'absorption des rayons X (μ) d'un échantillon en fonction de l'énergie du faisceau incident. Le phénomène physique à l'origine des variations de ce coefficient est l'absorption d'un photon X, suivie de l'éjection d'un électron de cœur de l'atome absorbant. Ainsi la **Figure II - 9** présente les trois parties du spectre d'absorption d'un élément : le préseuil, le seuil et les oscillations lointaines.

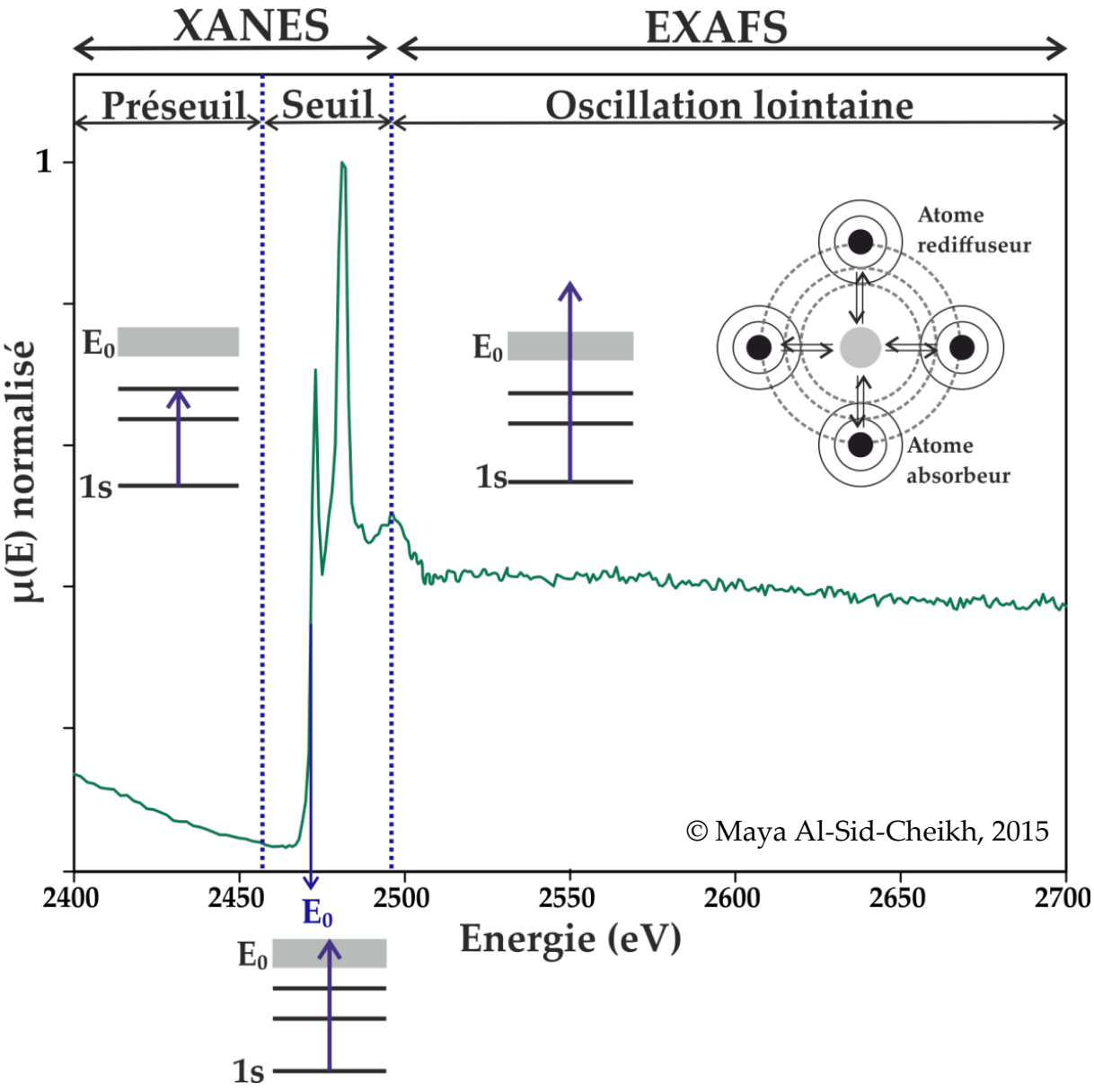


Figure II - 9 Spectre d'absorption des colloïdes naturels enregistré au seuil K du soufre.

Le préseuil et la région du seuil sont appelés XANES (*X-ray absorption Edge structure*), tandis que les oscillations lointaines sont nommées EXAFS (*Extended X-ray Absorption Fines Structures*).

Ainsi, ce phénomène d'absorption fait appel à la loi de Beer-Lambert décrite à partir des intensités des faisceaux incidents (I_0) et transmis (I_t) et de l'épaisseur de l'échantillon (x) :

$$\mu(E) \cdot x = \ln\left(\frac{I_0}{I_t}\right)$$

Lors de l'analyse, un balayage en énergie (E=hϑ, énergie du photon incident) est effectué au voisinage d'un seuil d'absorption de l'atome (i.e. le soufre). Lorsque l'énergie des photons incidents est inférieure à celle du seuil de l'élément étudié (E_0), l'absorption est faible et par conséquent le coefficient d'absorption présente une décroissance.

II.3 Impact des nanoparticules manufacturées

II.3.1 Préparation des nanoparticules de magnétite (nano-Fe_3O_4).

II.3.1.1 Synthèse par co-précipitation

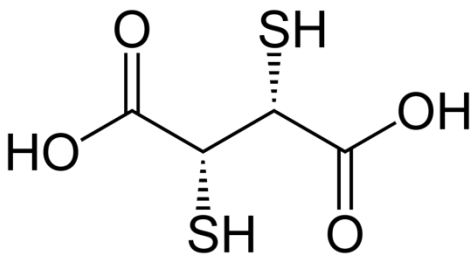
Bien qu'il existe plusieurs voies de synthèse des nano-Fe_3O_4., la voie de synthèse chimique (i.e. bottom-up) a été choisie afin de contrôler la taille et la forme des ENPs utilisées. Les méthodes de co-précipitations [65, 66], décomposition thermique et/ou réduction [67] et synthèse hydrothermale [68] sont les plus utilisées et également facilement réalisables avec des rendements de synthèse élevés. La nano-Fe_3O_4 est un oxyde de Fe^{3+} et Fe^{2+} qui possède une structure spinelle inverse. Elle se compose d'un réseau cubique à faces centrées (CFC) d'atomes d'oxygène qui délimitent des sites tétraédriques (Td) et octaédriques (Oh) dans lesquels se logent les atomes de fer selon la formule suivante : $[Fe^{3+}]Td[Fe^{3+}Fe^{2+}]OhO_4$ [32].

Pour notre projet, les nano-Fe_3O_4 utilisées ont été synthétisées par la méthode de coprécipitation au laboratoire de chimie (i.e. collaboration avec Dr Fabien Grasset, Institut des Sciences Chimiques de Rennes). Les nano-Fe_3O_4 ont été synthétisées en utilisant la méthode de réduction-précipitation [69]. Dans la méthode de précipitation, les quantités stoechiométriques des deux sels de fer ($Fe(NO_3)_3$•$9H_20$, $FeSO_4$•$7H_2O$, à 1 mol L^{-1}) ont été séparément dissous en milieu acide. Les deux solutions ont ensuite été mélangées à température et atmosphère ambiantes de la pièce. Un volume prédéfini de $NaOH$-$NaNO_3$ (250 mL, 3 mol L^{-1}) a été ajouté goutte à goutte au mélange Fe(II)/Fe(III). À la fin de l'ajout, le précipité noir est agité durant 15min puis laissé au repos pour laisser sédimenter et enlever le surnageant. Ensuite, les nano-Fe_3O_4 ont été lavées à l'eau milli-Q et centrifugées à 5000 rpm pendant 10 min, cela entre 3 et 5 fois. Pour s'affranchir de toutes les interférences, la conductivité du surnageant a été mesurée afin de s'assurer que les résidus de sulfate et nitrate soient

supprimés de la solution pour éviter toute oxydation du Fe(II) contenu dans les ENPs. Les solutions ont ensuite été stockées sous atmosphère d'azote en chambre anaérobie.

II.3.1.2 Enrobage des nano-Fe_3O_4

L'enrobage des nano-Fe_3O_4 s'est effectué par échange de ligand d'acide oléique par l'acide dimercaptosuccinique (DMSA, Figure II - 1) afin de transformer les nano-Fe_3O_4 hydrophobiques en hydrophiliques, suivant les procédures décrites dans Huh et al ; Jun et al. ; Roca et al., Mejías et al. [70-73]. Le DMSA fournit une charge de surface négative à pH 7 ; ce qui améliore grandement la stabilité des particules en milieu aqueux [72]. Cet acide est reconnu pour être un excellent chélate et a notamment été utilisé comme antidote contre les métaux lourds (i.e. As, Pb, Cd, Hg, etc.) [74-76]. Cet acide est un excellent candidat non seulement, pour la séquestration de l'As(III) par ses groupements thiols, [77-79] mais également, pour leur affinité avec les oxydes de fer [75]. Ainsi, l'enrobage des ENPs par une molécule organique (i.e. DMSA) modifie leurs interactions de surface. Par exemple, la capacité des groupements fonctionnels à céder leur proton (H+, pka, **Figure II - 10**) du DMSA sera importante dans les interactions avec les TMs. Par ailleurs, la stabilité d'un tel enrobage en milieu naturel n'est pas très bien connue, et suite à une éventuelle dégradation de l'enrobage, les ENPs retrouveraient alors sans doute leur comportement de base.



—COOH : $pKa_1 = 2.71$

$pka_2 = 3.43$

—SH : $pKa_1 = 9.65$

$pKa_2 = 12.05$

(Crisponi et al., 2002)

Figure II - 10 Squelette de l'acide dimercaptosuccinique (DMSA) composé de groupement thiols (SH) et carboxyliques (COOH).

Comme reporté par Roca, et al. [72], les particules ont été coagulées dans une suspension hydrophobique (50 mg/5 mL) par ajout d'éthanol (EtOH), puis centrifugées à 2850g (10 min). Un mélange de 25 mL de Toluène et de 90 mg DMSA dans 5 mL de simethylsulfoxique (DMSO) a été ajouté aux particules coagulées et mis

au bain à ultrasons (5 min), puis mis en agitation pendant 24h. Le solvant a ensuite été éliminé par précipitation des particules avec un mélange EtOH : acétone (50:50, v/v). Finalement, les nano-Fe_3O_4 ont été dispersées dans une eau alcaline puis ajustée à pH 7. La solution a ensuite été dialysée et filtrée à un seuil de coupure de 0.22 µm.

II.3.2 Caractérisation des nanoparticules manufacturées par microscopie électronique à transmission (MET)

Les analyses par MET ont permis de caractériser la taille des nano-Fe_3O_4, les analyses de diffractions des rayons X et des images à hautes résolutions (Caméra CCD Ultrascan 1000) leur cristallinité et finalement les analyses par sonde d'énergie dispersive (*Energy Dispersive Scattering*, EDS, Oxford 80 mm^2) leur composition élémentaire.

Les images obtenues par MET sont des observations d'électrons transmis à travers un échantillon. Ainsi, pour que le faisceau d'électrons puisse traverser l'échantillon, ce dernier doit être suffisamment fin. Par conséquent, la préparation d'échantillon ne doit pas être trop concentrée pour éviter tout effet d'écran par celui-ci. Ainsi les grilles MET utilisées étaient des grilles de cuivre 200 mesh avec film formvar (Agar scientific). Une goutte de l'échantillon a été déposée par micropipette puis absorbée par un papier filtre pour limiter la quantité de l'échantillon à la surface de la grille.

L'appareil utilisé est un JEOL/JEM-2100. Le faisceau d'électrons est fourni par une pointe métallique LaB6 (cathode) soumise à un champ électrique intense puis, accéléré et collimaté par des anodes. La différence de potentiel entre la cathode et la dernière anode définit la tension d'accélération des électrons (80 kV pour notre étude). Pour permettre la focalisation ainsi que les réglages de la taille du faisceau, ce dernier traverse une série de lentilles et de diaphragmes appelée système condenseur. La résolution du MET de 2 Å est totalement adaptée à l'étude des nanoparticules.

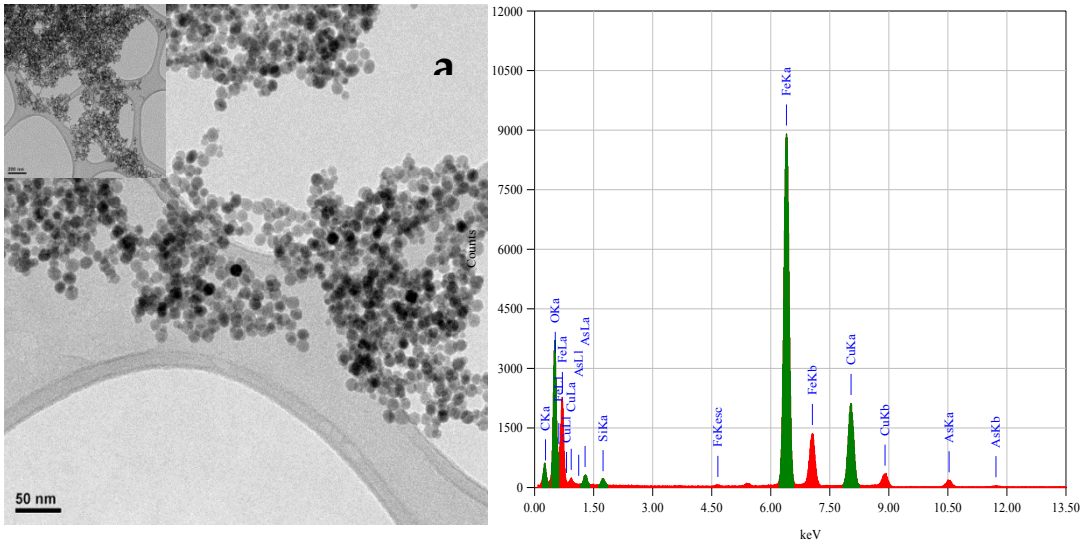


Figure II - 11 Solution As-NPs ; a) image MEB ; b) images MET (l'image en miniature représente la même zone, mais à un zoom moins important ; c) spectre XEDS associé.

II.4 Impact des nano-Fe_3O_4 sur la mobilité des ETM dans les sols de ZHR

II.4.1 Expérience de lessivage de sol naturel

Les analyses en phase liquide se divisent en deux parties : (1) expérience de lessivage de sol et (2) études expérimentales des interactions des ENPs avec les ETMs et la MON.

II.4.1.1 Site d'étude, Pleine-Fougères, modèle pour les ZHRs

Le site d'étude a été choisi pour modéliser les comportements d'un sol de zone humide riparienne et représente un cas classique de ce type d'environnement. Le site où le sol des expériences de lessivage en colonne a été prélevé se situe sur la commune de Pleine-Fougères dans la zone bocagère du marais du bas Couesnon au nord-est de l'Ille-et-Vilaine, France (Figure II – 12**).** Ce site est un dispositif expérimental (Zone Atelier Armorique) tout comme la zone humide de Kervidy-Naizin. Avec un climat océanique, la pluviométrie moyenne sur le site est de 750 mm par an avec des températures moyennes de 6°C au mois de janvier et 18,2°C en août. Le sol étudié a été prélevé sur une profondeur de 10 cm au sein de l'horizon organique dans la zone humide du marais du Couesnon. Ce sol a été choisi car il possède une concentration élevée en matière organique permettant d'optimiser les

réactivités potentielles entre MO, ENPs et les éléments traces. Un échantillon du sol a ensuite été séché à l'air libre (T 22°C) avant d'être tamisé à 2 mm. Une fraction de cet échantillon a été envoyée à l'Institut en Santé Agro-environnement de Combourg pour déterminer la granulométrie et une autre fraction a été analysée au Service d'Analyse des Roches et des Minéraux (SARM) à Nancy, afin de connaître précisément les différentes concentrations des éléments constituant ce sol. Les analyses de granulométrie ont révélé une texture de type limon argileux. Les analyses ont montré une concentration en MO de l'ordre de 8.5 % et une concentration en Fe_2O_3 de 3.6 %.

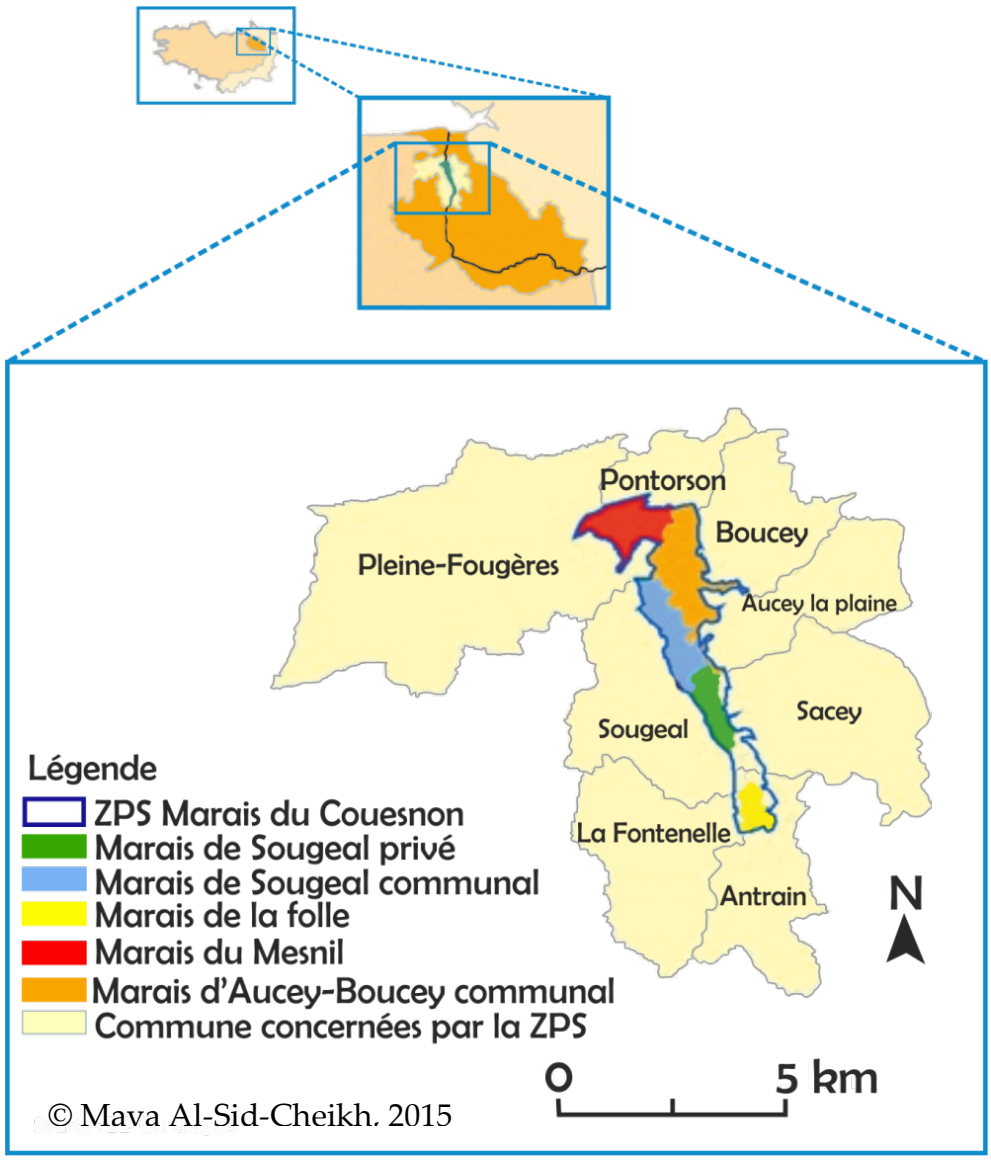


Figure II - 12 Zone d'étude Armorique - Site de Pleine Fougères, Bretagne, France.

II.4.1.2 Analyses en phase liquide

II.4.1.2.1 La matière organique naturelle.

La MON est un ensemble complexe et hétérogène de macromolécules, provenant de la dégradation des végétaux, des animaux et des microorganismes. Ainsi, la MON est ubiquiste, et se retrouve dans tous les compartiments de l'environnement (i.e l'air, l'eau, le sol et les sédiments). La matière organique dissoute (MOD) est définie opérationnellement selon le seuil de coupure de la filtration effectuée (i.e. 0.22 ou 0.45µm) et correspond aux molécules organiques passant à travers cette filtration. Ici, nous avons utilisé la filtration à 0.22µm. La MOD est généralement constituée des substances humiques, de virus, de molécules simples tels que les sucres, les acides aminés et les lipides.

La MOD peut interagir avec de nombreux contaminants organiques ou inorganiques comme les métaux, les pesticides, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et va donc directement influencer leur transport et leur biodisponibilité (e.g. [80, 81]). En effet, l'impact potentiel d'un contaminant dans l'environnement dépend de sa concentration, mais également de sa mobilité et de sa biodisponibilité.

Le suivi de la composition de la MOD s'est fait par l'analyse de la concentration totale de carbone à l'aide d'un analyseur de carbone, de l'aromaticité par spectrophotométrie, de la composition chromophorique par les matrices d'excitation, emission de fluorescence et de la composition moléculaire par Py-GCMS.

Carbone organique total. Le carbone lessivé au cours des expériences a été mesuré par un analyseur de carbone Shimadzu 5050A. Cet appareil permet par oxydation thermique (combustion à 680°C) de la matière organique et du carbone inorganique (carbonates et bicarbonates), de mesurer la concentration en CO_2 produite par spectrométrie infra rouge et permet de déterminer le carbone total (CT). Il détermine également la part de carbone inorganique (CI) par réaction avec de l'acide phosphorique. Le CO_2 émis est mesuré de la même façon que pour la détermination du CT. Le carbone organique (Corg) est obtenu par soustraction :

$$C_{org} = CT - CI$$

L'erreur de mesure est contrôlée par une solution standard (bipthalate de potassium) tous les dix échantillons. Les mesures sont validées lorsque la déviation standard est inférieure à 5% (i.e. RSD).

L'aromaticité. L'aromaticité est reliée à l'absorbance dans l'ultra-violet spécifique (SUVA). Le SUVA est un paramètre normalisé appliqué dans les analyses classiques de la chimie des eaux [82, 83] et calculé à partir d'un rapport entre les UVA à la longueur d'onde 254 nm et la concentration en carbone organique selon l'équation suivante :

$$SUVA = \frac{A_{254nm}}{[C_{org}]}$$

Les valeurs de SUVA déterminées à 254 nm peuvent être décrites en terme d'hydrophobicité et d'hydrophilicité. Ainsi, les $SUVA_{254} > 4$ L mg^{-1} m^{-1}, indiquent que le matériel est largement hydrophobique et principalement aromatique, tandis que les $SUVA_{254} < 4$ L mg^{-1} m^{-1} représentent un matériel largement hydrophile [84].

Les valeurs de $SUVA_{254}$ sont fortement corrélées au pourcentage d'aromaticité des molécules organiques [83] selon l'équation :

$$Aromaticité = 6.52 \times SUVA_{254} + 3.63$$

Ces paramètres ont donc été utilisés pour suivre l'évolution de la nature de la MON durant les expériences de lessivage de sol, notamment pour évaluer l'impact de la présence de nano-Fe_3O_4 dans la solution de lessivage sur la MON solubilisée.

Matrice d'excitation et d'émission de fluorescence (EEM). La caractérisation de la MOD est difficile car la composition de la matière organique dépend de nombreux facteurs comme le pH, la force ionique, la température, l'origine de la matière organique ou encore l'existence de processus de dégradations microbiologiques[85]. Ces paramètres modifient la composition de la MOD. La MOD est généralement constituée de composés simples (e.g. acides aminés), représentant 20 % du carbone organique dissous[86], et d'un mélange complexe de molécules (1) hydrophobes (e.g. les substances humiques, SHs) et (2) hydrophiles (e.g. polysaccharides).

La fraction de la MOD capable d'absorber à la fois le rayonnement visible et le rayonnement UV est qualifiée de chromophorique. Cette fraction peut stimuler ou diminuer l'activité biologique et intervient notamment dans les réactions photochimiques[87]. D'autre part, suite à l'absorption de lumière, la MOD chromophorique peut émettre un signal de fluorescence qui permet une caractérisation des familles de molécules qui la compose. La MOD chromophorique est une part importante de la MOD et peut représenter jusqu'à 70%[88, 89] de la fluorescence dans les eaux naturelles [90].

La spectroscopie de fluorescence est une méthode rapide, sensible et non destructive. Elle permet une caractérisation globale de la MOD qui peut apporter des informations sur la structure, la conformation et la concentration relative des composés fluorescents. Pendant longtemps, les SHs étaient considérées comme les principaux constituants de la fluorescence de la MOD [88, 91], mais d'autres molécules, tels que les protéines et certains acides aminés (e.g. tyrosine, tryptophane et phénylalanine) sont bien connues pour fluorescer également.

Les spectres de fluorescence 3D appelés matrices d'excitation-émission (EEM), sont générés par l'enregistrement de spectres d'émission à des longueurs d'onde d'excitation croissantes. Ces matrices permettent d'obtenir directement des informations sur le nombre, le type et aussi la concentration relative des fluorophores présents dans les mélanges complexes de la MOD chromophorique. L'analyse des échantillons de MON par fluorescence 3D a montré plusieurs familles de fluorophores donnant lieu à différents maximum d'intensité (ou bandes de fluorescence); chaque bande étant caractéristique d'un type de composés (**Tableaux II - 2**).

Tableaux II - 2 Principales bandes de fluorescence de la MOD[92-97], avec les deux types de notations utilisées dans la littérature.

longueurs d'ondes			Nomenclature	
Excitation (nm)	emission	Type de composés	Coble[92]	Parlanti et al.[96]
330-370	**420-480**	Matériel de type humique	**C**	**α**
230-260	**380-480**	Matériel de type humique + matière organique récente	**A**	**α'**
310-320	**380-420**	Matière d'origine biologique	**M**	**β**
270-280	**300-340**	Protéines + activité bactérienne	**B**	**γ**

Afin de suivre l'évolution et le changement de composition de la MOD chromophorique, des indices ont été établis pour la caractérisation de la MOD. Ainsi, l'indice d'humification (HIX) a été introduit par Zsolnay *et al.* (1999) et développé afin d'estimer le degré de maturation de la MOD des sols ou son degré d'hydrophobicité. Cet indice est basé sur les processus d'humification au cours desquels le rapport C/H et l'aromaticité de la MOD augmentent[98]. L'indice HIX est calculé en effectuant le rapport des aires entre les domaines H et L du spectre d'émission mesuré à une longueur d'onde d'excitation fixe de 254 nm (**Figure II - 13**). Le domaine H est délimité par les longueurs d'ondes d'émission 435 et 480 nm et le domaine L par les longueurs d'ondes d'émission 300 et 345 nm.

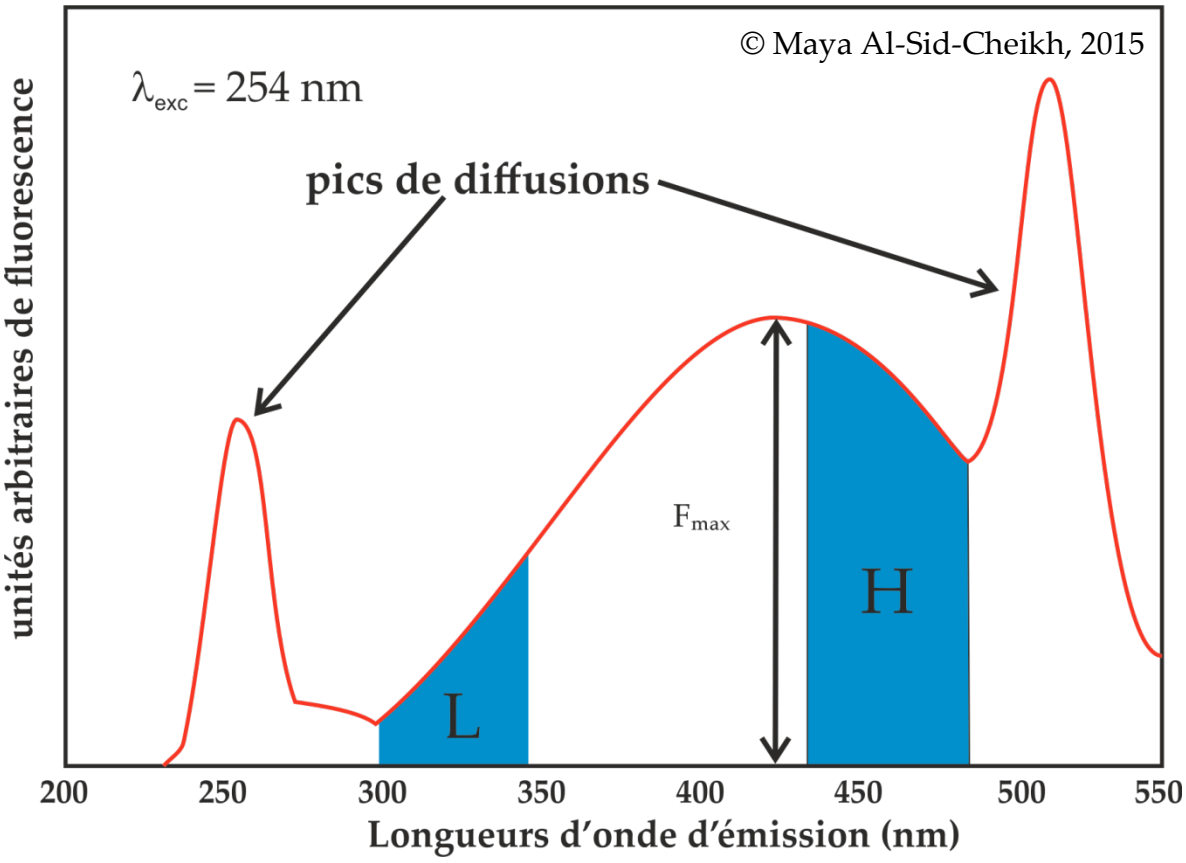


Figure II - 13 Spectre d'émission à la longueur d'onde d'excitation de 254nm utilisé pour le calcul de l'indice HIX [99].

L'indice HIX a été utilisé dans de nombreuse études de la MOD des sols (e.g. Zsolnay, et al. [99], Ohno [100]Glatzel, et al. [101], Kalbitz, et al. [102]Michel, et al. [103]). Kalbitz, et al. [102] ont utilisé cet indice pour la caractérisation de la MOD extraite de plusieurs

échantillons de sols provenant de forêts de hêtre, d'épicéa et de zones marécageuses. Leurs résultats ont montré que les échantillons provenant de litière forestière présentaient une faible valeur de HIX (e.g. 2,4 et 4.7 pour une forêt d'épicéas et une forêt d'hêtres, respectivement). Leurs résultats suggèrent la présence d'un matériel organique peu dégradé à la surface du sol, alors que les couches plus profondes (horizons Oa), avec des valeurs de HIX plus fortes (i.e. entre 14 et 16), contiennent un matériel plus hydrophobe. Similairement, les échantillons provenant de la surface des zones marécageuses ont également des valeurs fortes comprises entre 11,4 et 27,4.

Analyses moléculaires par Pyrolyse – chromatographie en phase gazeuse – sepctrométrie de masse (Py-GC-MS). La pyrolyse chromatographie en phase gazeuse spectrométrie de masse (Py - GCMS) peut être utilisée pour caractériser la plupart des matériaux, y compris les matières insolubles et complexes à des niveaux de concentration faible et sans prétraitement. Par exemple, les polymères, la cellulose, le bois (e.g. lignine), les acides gras, les fragments d'ADN, les petits acides et les carbohydrates qui peuvent être contenus dans la MOD peuvent facilement être identifiés. Ainsi, cette technique sensible permet de caractériser la composition d'un mélange complexe tel que la MOD. La séparation se fait, en phase gazeuse, par l'interaction entre la colonne de chromatogaphie (phase stationnaire) et l'échantillon transporté par un gaz vecteur (phase mobile). La phase mobile entraîne progressivement les molécules de l'échantillon en fonction de leur masse, leur polarité et leur affinité pour la phase stationnaire. En sortie de colonne, l'échantillon arrive donc fractionné dans le temps (i.e. chromatogramme).

Les masses de chaque fraction sont ensuite détectées par le spectromètre de masse (MS) qui est relié au GC par une ligne de transfert chauffée où les molécules sont conduites dans la source d'ionisation du MS. Dans la chambre d'ionisation du MS, des filaments génèrent un faisceau d'électrons (i.e. 70 eV) qui bombarde les molécules introduites, les ionise en conservant leur structure moléculaire, ou en les fragmentant. Ainsi, une molécule est caractérisée par son ion moléculaire et une série d'ions secondaires où l'ensemble constitue le fragmentogramme. Le protocole exact utilisé pour nos analyses est présenté en annexe III.

II.4.1.2.2 Analyse des éléments traces par spectrométrie de masse à torche plasma (ICP-MS).

Les analyses chimiques par ICP-MS permettent de quantifier simultanément une cinquantaine d'éléments. La méthode consiste à ioniser l'échantillon liquide, acidifié à 2% en HNO_3, en l'injectant dans un plasma d'argon (i.e. torche plasma). Les atomes de la matière à analyser sont ionisés puis séparés par un spectromètre de masse quadripolaire en fonction de leur masse, de leur charge et de leur énergie cinétique. Les concentrations des cations majeurs et traces ont été déterminées avec un ICP-MS modèle HP 7700 d'Agilent Technologies. La validité des résultats est contrôlée par la mesure d'un standard international (SLRS5). La précision de détection et de quantification diffère selon les éléments, telle que décrite par Yeghicheyan, et al. [104].

II.4.1.3 Distribution des éléments en phase solide par microfluorescence X (μXRF)

La fluorescence X est une caractéristique physique de chaque élément qui permet une véritable analyse chimique, non destructive, en phase solide. La fluorescence X se base sur le principe de longueurs d'onde (i.e. énergie) caractéristiques de chaque atome et d'une intensité du rayonnement de fluorescence émis, proportionnelle au nombre des atomes excités (*i.e.* la concentration). Ainsi, les raies les plus intenses de chaque série (préférentiellement mesurées) sont la raie Kα1 ou le doublet Kα (les raies Kα1 et Kα2 sont généralement non résolues) pour la série K, et la raie Lα1 pour la série L. Dans notre étude, la fluorescence X nous a permis de cartographier le fer par sa raie kα. Afin de distinguer les nano-Fe_3O_4 du bruit naturel du fer contenu dans les sols, les nano-Fe_3O_4 ont été marquées par la substitution du Fe(II) avec du cobalt (Co(II)) à une hauteur d'environ 20%. Le Co étant présent sous forme de traces dans les sols, la substitution du Fe par le Co a été effectuée durant la synthèse par co-précipitation par remplacement de 20% de Fe(II)SO_4 par un sel de Co (i.e. $CoCl_2$). Ainsi, la mesure en μXRF a également été réalisée pour la raie kβ du Co due à une interférence de la raie Co kα avec la raie kβ du fer.

Les échantillons ont été scannés tels que montrés sur la Figure II - 14 dans les cinq premiers centimètres de chaque colonne. Ces analyses ont été effectuées au CEREGE à Aix-en-Provence en collaboration avec le Dr Jérome Rose. L'appareil utilisé est le μXRF XGT-5000XRF (Horiba–Jobin-Yvon, **Figure II – 14)**. Le traitement des données s'est fait à partir du logiciel image J.

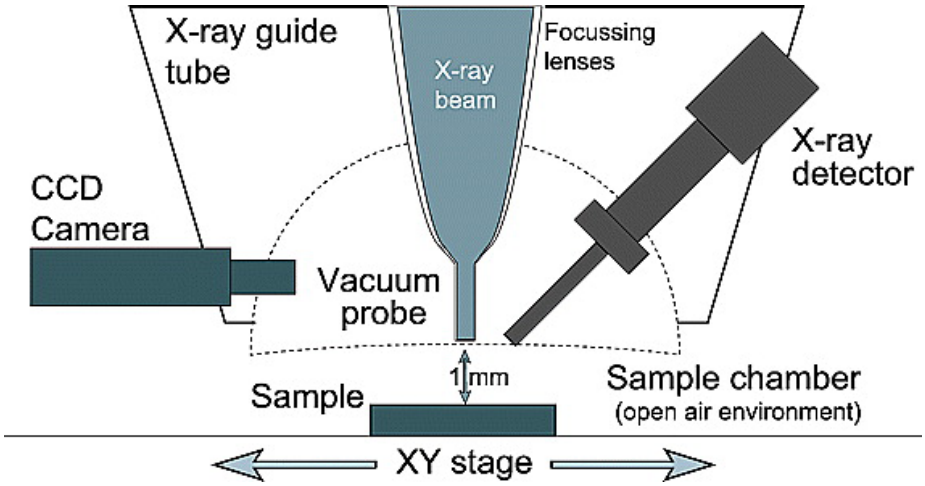


Figure II - 14 Vue schématique de la chambre de mesure du µXRF XGT-5000XRF (Horiba–Jobin-Yvon) au CEREGE. Le faisceau incident bombarde la surface de l'échantillon perpendiculairement, tandis que le détecteur est à un angle de 45° de la surface de l'échantillon. L'image n'est pas à l'échelle , d'après Böning, et al. [105].

II.4.2 Interaction des nanoparticules avec l'arsenic et le plomb par couplage SEC/Uv/ICP-MS

Pour comprendre l'effet induit des nano-Fe_3O_4 sur les ETMs dans le sol, une méthode de détection a été développée afin de faire une ségrégation des éléments en fonction de leur taille. Ainsi, un couplage de chromatographie par exclusion stérique (SEC) aux détecteurs UV, pour la détection des molécules organiques, et à l'ICP-MS, pour une multidétection des ETMs, a été mise en place durant mes travaux de thèse.

Chromatographie par exclusion stérique (SEC). La SEC est principalement utilisée pour la séparation de polymères en fonction de leur volume hydrodynamique. Ce type de chromatographie consiste en une compétition d'interactions entre la phase stationnaire (i.e. la colonne chromatographique) et la phase mobile. La séparation se fait en fonction de la taille des éléments. Les particules ou molécules les plus grosses passent dans les pores les plus grands et auront un parcours beaucoup plus court que les petites particules passant à travers toutes les porosités de la colonne et des billes la composant. Les particules de plus gros volume hydrodynamique auront ainsi un temps (ou volume) de rétention plus court que les particules plus petites. Les colonnes chromatographiques de SEC existent en différents matériaux tels que le polystyrène et la silice. Les phases stationnaires de polystyrène ont une forte affinité avec les molécules organiques. Ainsi, la MON a tendance à s'adsorber à la surface de ces phases stationnaires. Le défi concernant cette technique a été de trouver un type de colonne pouvant séparer

les ENPs avec une adsorption limitée de la MON. Notre choix s'est orienté vers les colonnes composées de billes de silice. Les mécanismes concernant ces interactions seront discutés dans le chapitre III de ce manuscrit.

II.5 La bioréduction des nano-Fe_3O_4

II.5.1 Le fer

Le fer (Fe^{2+} ou Fe^{3+}) est présent sous 4 états : soluble (dissous), échangeable (processus de sorption), réductible (composés ferreux et ferriques insolubles), et résiduel (forme cristallisée). En général, il est libéré dans les eaux et les sols sous forme dissoute par le biais de l'érosion chimique des minéraux lors d'interactions eaux/minéraux conduisant à sa dissolution, ou lors des processus de réduction (biotique ou abiotique). Selon les conditions d'oxydo-réduction et le pH du milieu, il peut précipiter à nouveau sous forme d'oxyde ou rester en solution. Le fer dissous a tendance à former des complexes stables avec la matière organique, lui permettant de rester en solution plusieurs jours. Ses formes oxydées se manifestent par des précipités ou des minéraux très peu solubles lorsque le pH avoisine 7 [106]. Ces composés présentent donc une très faible solubilité hormis dans certaines conditions acides, réduites ou en présence de certains ligands, notamment organiques.

II.5.2 Les bactéries ferro-réductrices

Le cycle du Fe est largement contrôlé par les processus microbiens. Ainsi, le fer joue un rôle très important tant en terme de nutriment (souvent limitant en milieu marin), qu'en terme d'accepteur terminal d'électrons lors des processus de respiration en conditions anoxiques.

$$4FeOOH_{(s)} + 7H^+ + CH_3CHOHCOO^-_{(aq)} \leftrightarrow CH_3COO^-_{(aq)} + 4Fe^{2+}_{(aq)} + HCO_3^- + 6H_2O \quad \text{(eq. 1)}$$

Les bactéries ferro-réductrices ont développé des caractéristiques spécifiques qui leur permettent (a) de solubiliser le substrat (e.g. oxyhydroxydes de fer), (b) de se lier au substrat et (c) d'effectuer le transfert d'électron[107]. Les bactéries qui respirent en anaérobiose ont généralement la possibilité de s'adapter à plusieurs accepteurs d'électrons et sont donc le siège de mécanismes régulateurs perfectionnés. Parmi les hypothèses proposées, la plus fréquemment évoquée repose sur la réduction enzymatique des sites à la surface des oxydes de fer(III) par des sites réducteurs

situés sur la paroi bactérienne, supposant donc un contact direct entre la bactérie et l'oxyde [106]. Cependant, d'autres mécanismes pouvant jouer sur la réduction ont été mis en évidence :

a. la synthèse et la libération de ligands organiques se fixant sur le fer et facilitant sa solubilisation et donc son utilisation [108],
b. la capacité de certaines bactéries à réduire des composés organiques présents dans le milieu réduisant à leur tour les oxyhydroxydes de fer [109].

La dissolution microbienne des oxyhydroxydes de fer pourrait donc se produire selon deux types de mécanismes : (1) directs, nécessitant un contact entre le métal et les micro-organismes et (2) indirects, où la transformation chimique du métal s'effectue à distance par l'intermédiaire de produits du métabolisme microbien.

II.5.3 Les ENPs de Fe et la bioréduction

D'après Liu et al. [110], la bioréduction du fer dépend à la fois de la surface exposée de l'oxyde de fer mais aussi de sa cristallisation. La ferrihydrite, plus amorphe, est plus facilement réduite par les bactéries que l'hématite dont la structure cristalline est plus développée. Néanmoins, les études menées n'aboutissent pas à un consensus. Il est également à noter que d'après Bose et al. [111], les propriétés intrinsèques des ENPs d'hématite (nano-Fe_2O_3), telles que la taille, la surface, la forme ou encore le taux d'agrégation, conditionnent le mécanisme de transfert d'électrons utilisé par les bactéries *Shewanella sp*. En effet, le taux de bioréduction des ENPs d'hématite dépend certainement de ces propriétés, en particulier de l'état d'agrégation des ENPs. Une étude a ainsi montré qu'en présence de ENPs de titane (TiO_2) d'une taille de 35 nanomètres, la croissance, la production de biofilm, ainsi que l'expression d'une fonction spécifique de la bactérie *Shewanella oneidensis* étaient ralenties [112]. Comme le biofilm assure aux bactéries une meilleure fixation au milieu et une meilleure protection contre les variations extérieures, ces résultats montrent que la présence de ces ENPs peut fortement affecter l'organisation biologique. Comme la bioréduction des ENPs de Fe par les bactéries reste un processus mal connu, il apparait essentiel de documenter la biodisponibilité de ces phases nanométriques pour comprendre comment celles-ci sont susceptibles d'impacter la faune bactérienne.

II.5.4 Bactérie modèle - Shewanella oneidensis

La bactérie *Shewanella ondensis* MR1 a été utilisée lors de différentes expériences de bioréductions utilisant des nanoparticules d'hématite et de magnétite. *Shewanella ondensis* MR1 est une bactérie Gram négative aéro-anaérobie facultative, capable de survivre et proliférer en conditions oxique et anoxique. Il s'agit d'une espèce modèle très étudiée[113-117]. On retrouve cette espèce dans des habitats anoxiques localisés au fond des mers, mais aussi dans les sols et les sédiments. L'intérêt de cette espèce est sa capacité en conditions anoxiques à utiliser des accepteurs d'électrons très variés comme le fer.

Les protocoles de cultures cellulaires, de densité cellulaire et de suivi de la bioréduction du Fe sont décrits dans le chapitre V.

Dans l'étude présentée ici, le Fe(III) est choisi comme accepteur d'électron sous forme solide (i.e. nano-Fe_2O_3 et nano-Fe_3O_4).

Organisation de la thèse

La suite de la thèse sera en partie rédigée en Anglais, car les travaux menés on fait l'objet de publications scientifiques, parues, soumise ou en voie de finalisation dans des journaux internationaux.

Chapitre II – Ce chapitre correspond au premier volet de mon sujet de thèse et a fait l'objet de l'étude des interactions de la MON, de l'As, des FeO et du soufre dans les produits de réoxydation des sols de zones humides. Dans cette étude, la ZH de Kervidy-Naizin a été prise comme modèle de ZHR. Une méthodologie statistique de colocalisation des éléments a été mise en place pour exploiter les résultats obtenus sur les images nanoSIMS. Ces résultats ont été couplés avec des analyses de spéciations du soufre effectuées en XAS sur la ligne LUCIA au synchrotron Soleil à Paris.

Article 1 **- Al-Sid-Cheikh M.,** Pédrot M., Dia A., Guenet H., Vantelon D., Davranche M., Gruau G., Delhaye T. (2015) Interactions between natural organic matter, sulfur, arsenic and iron oxides in re-oxidation compounds within riparian wetlands: NanoSIMS and X-ray adsorption spectroscopy evidences. *Science of the Total Environment, 515–516*(0), 118-128. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.02.047

Annexe I – Supporting information de l'article 1

La méthodologie statistique de colocalisation des éléments sur les images nanoSIMS a pu être appliquée dans une autre étude. Cela a donc fait l'objet d'un second papier en tant que coauteur.

Annexe II – Article coauteur. Pédrot, M., Dia, A., Davranche, M., Martin, S., **Al-Sid-Cheikh, M.**, & Gruau, G. Unravelling the fate of arsenic during re-oxidation of reduced wetland waters: Experimental constraints and environmental consequences. Comptes Rendus Geoscience(0). doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.crte.2015.03.002

Ces travaux ont été présentés en présentation orale à la conférence internationale de la Goldschmidt.

© AL-Sid-Cheikh Maya, 2015

Annexe III - **Al-Sid-Cheikh, M**., Pédrot, M., Dia, A., Davranche, M., Gruau, G., & Delhaye, T. (2014). NanoSIMS Investigation of Arsenic (Oxy)anions, Sulfur, Ferric Oxide and Organic Matter Colocalization within Wetland Soil. Oral communication presented at the Goldschmidt international conference, Sacramento, United state State of America.

Chapitre III – Ce volet concerne l'évaluation des effets induits par l'introduction de nano-Fe_3O_4 dans les sols de ZH. L'effet de la composition de surface a également été évalué avec l'introduction de deux compositions de surface différentes : nue et enrobée.

Article 2 - **Al-Sid-Cheikh M.,** Pédrot M., Dia A., Rose J, Davranche M, Jeanneau L., Petitjean P., Bouhnik-LeCoz M., Grasset F. (en voie de soumission, 2015). *Impact of surface composition of Fe_3O_4-nanoparticles on the natural organic matter and trace metals mobility within wetland soil: A case of leaching experiment from a wetland soil.* Chemosphere.

Annexe IV – Supporting information de l'article 2

Ces travaux ont également été présentés en congrès international à la conférence Goldschmidt sous la forme d'un poster.

Annexe V – Al-Sid-Cheikh, M., Pédrot, M., Dia, A., Davranche, M., & Le Coz-Bouhnik, M. (2014). *Behavior of Iron Nanoparticles in Wetland Soil*. Poster presented at the Goldschmidt international conference, Sacramento, United State of America. http://goldschmidt.info/2014/abstracts/abstractView?abstractId=1471

Chapitre IV – Ce chapitre a pour but de répondre au 3ème volet de mes travaux de thèse. Ce chapitre se présente en deux parties : (1) Développement d'une méthode de caractérisation des interactions entre les NPs et les éléments traces en milieux aqueux, et (2) application de cette méthode au cas des nano-Fe_3O_4 avec l'As et le Pb et l'évaluation de l'effet de l'enrobage organique sur ces interactions.

Ce volet a fait l'objet des deux publications suivantes :

Article 3 - **Al-Sid-Cheikh M.,** Pédrot M., Bouhnik-Le Coz M., Dia A., Davranche M., and Grasset F. (2015) A robust method using SEC-Uv-ICPMS to investigate the fate and behavior of nanoparticles in environmental samples**.** Analytical Chemistry 87 (20), 10346-10353. doi : http://10.1021/acs.analchem.5b02413

Article 4 - **Al-Sid-Cheikh M.**, Pédrot M., Bouhnik-Le Coz M., Dia A., Petitjean P., Davranche M., Grasset F. (en préparation). SEC-ICP-MS shows different arsenic and lead adsorption patterns on magnetite nanoparticles. Analitica Chimica Acta.

Annexe VI – Supporting information de l'article 3

Annexe VII – Supporting information de l'article 4

Chapitre V – Ce chapitre concerne la bioréduction des nano-Fe_3O_4 par des bactéries ferroréductirce *Shewanella Oneidensis*. Cette étude a été l'occasion de co-encadrer une étudiante de Master 2 pour une durée de 5 mois. Les résultats restent à finaliser pour faire l'objet d'un futur article scientifique qui sera soumis pour publication dans une revue internationale.

Références bibliographiques

1. UNEP, in *Emerging challenge*, Geo Year book, 2007.

2. M. F. Hochella, S. K. Lower, P. A. Maurice, R. L. Penn, N. Sahai, D. L. Sparks and B. S. Twining, *Science*, 2008, 319, 1631-1635.

3. X. Qu, P. J. J. Alvarez and Q. Li, *Water Research*, 2013, 47, 3931-3946.

4. L. E. Murr, E. V. Esquivel, J. J. Bang, G. de la Rosa and J. L. Gardea-Torresdey, *Water Research*, 2004, 38, 4282-4296.

5. H. C. Verma, C. Upadhyay, A. Tripathi, R. P. Tripathi and N. Bhandari, *Meteoritics & Planetary Science*, 2002, 37, 901-909.

6. C. A. Kellogg and D. W. Griffin, *Trends in Ecology & Evolution*, 2006, 21, 638-644.

7. P. Borm, D. Robbins, S. Haubold, T. Kuhlbusch, H. Fissan, K. Donaldson, R. Schins, V. Stone, W. Kreyling, J. Lademann, J. Krutmann, D. Warheit and E. Oberdorster, *Particle and Fibre Toxicology*, 2006, 3, 11.

8. B. Nowack and T. D. Bucheli, *Environmental Pollution*, 2007, 150, 5-22.

9. F. J. M. Rietmeijer and I. D. R. Mackinnon, *Journal of Geophysical Research: Planets*, 1997, 102, 6621-6627.

10. S. H. Lee and R. J. Richards, *Toxicology*, 2004, 195, 155-165.

11. A. El Nemr and A. M. A. Abd-Allah, *Chemosphere*, 2003, 52, 1711-1716.

12. G. Oberdörster, E. Oberdörster and J. Oberdörster, *Environmental Health Perspectives*, 2005, 113, 823-839.

13. B. J. Reid, K. C. Jones and K. T. Semple, *Environmental Pollution*, 2000, 108, 103-112.

14. J. R. Lead and K. J. Wilkinson, *Environ. Chem.*, 2006, 3, 159-171.

15. N. S. Wigginton, K. L. Haus and M. F. Hochella Jr, *Journal of Environmental Monitoring*, 2007, 9, 1306-1316.

16. J. William, 2010. *conference Pesticide Program Dialogue Committee, session I.* Office of pesticide programs. Senior policy advisor. 29th April.

17. J.-Y. Bottero, M. Auffan, J. Rose, C. Mouneyrac, C. Botta, J. Labille, A. Masion, A. Thill and C. Chaneac, *Comptes Rendus Geoscience*, 2011, 343, 168-176.

18. C. Buzea, I. Pacheco and K. Robbie, *Biointerphases*, 2007, 2, MR17-MR71.

19. L. Sigg, R. Behra, K. Groh, C. Isaacson, N. Odzak, F. Piccapietra, L. Röhder, H. Schug, Y. Yue and K. Schirmer, *CHIMIA International Journal for Chemistry*, 2014, 68, 806-811.

20. A. M. Derfus, W. C. W. Chan and S. N. Bhatia, *Nano Letters*, 2004, 4, 11-18.

21. C. Fan, J. Chen, Y. Chen, J. Ji and H. H. Teng, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2006, 70, 3820-3829.

22. A. L. Rogach, D. V. Talapin, E. V. Shevchenko, A. Kornowski, M. Haase and H. Weller, *Advanced Functional Materials*, 2002, 12, 653-664.

23. D. V. Talapin, A. L. Rogach, M. Haase and H. Weller, *The Journal of Physical Chemistry B*, 2001, 105, 12278-12285.

24. R. Behra, L. Sigg, M. J. D. Clift, F. Herzog, M. Minghetti, B. Johnston, A. Petri-Fink and B. Rothen-Rutishauser, *Bioavailability of silver nanoparticles and ions: from a chemical and biochemical perspective*, 2013.

25. X. Yang, A. P. Gondikas, S. M. Marinakos, M. Auffan, J. Liu, H. Hsu-Kim and J. N. Meyer, *Environmental Science & Technology*, 2012, 46, 1119-1127.

26. E. Navarro, F. Piccapietra, B. Wagner, F. Marconi, R. Kaegi, N. Odzak, L. Sigg and R. Behra, *Environmental Science & Technology*, 2008, 42, 8959-8964.

27. B. Collin, M. Auffan, A. C. Johnson, I. Kaur, A. A. Keller, A. Lazareva, J. R. Lead, X. Ma, R. C. Merrifield, C. Svendsen, J. C. White and J. M. Unrine, *Environmental Science: Nano*, 2014, 1, 533-548.

28. M. Delay, T. Dolt, A. Woellhaf, R. Sembritzki and F. H. Frimmel, *Journal of Chromatography A*, 2011, 1218, 4206-4212.

29. S. R. Chowdhury and E. K. Yanful, *Journal of Environmental Management*, 2013, 129, 642-651.

30. L. A. Röhder, T. Brandt, L. Sigg and R. Behra, *Aquatic Toxicology*, 2014, 152, 121-130.

31. R. M. Cornell and U. Schwertmann, The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrences and Uses, 2003.

32. D. L. Huber, *Small*, 2005, 1, 482-501.

33. C. Luciano, S. G. E. Fernando, C. G. Mónica and O. M. Daniel, 2013.

34. R. A. Crane and T. B. Scott, *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 211, 112-125.

35. A. A. Ismail, R. M. Mohamed, I. A. Ibrahim, G. Kini and B. Koopman, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2010, 366, 80-87.

36. M. N. Akieh, M. Lahtinen, A. Väisänen and M. Sillanpää, *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 152, 640-647.

37. E. Dialynas and E. Diamadopoulos, *Desalination*, 2009, 238, 302-311.

38. N. Meunier, P. Drogui, C. Montané, R. Hausler, G. Mercier and J.-F. Blais, *Journal of Hazardous Materials*, 2006, 137, 581-590.

39. M. Hunsom, K. Pruksathorn, S. Damronglerd, H. Vergnes and P. Duverneuil, *Water Research*, 2005, 39, 610-616.

40. V. Kumar, N. Talreja, D. Deva, N. Sankararamakrishnan, A. Sharma and N. Verma, *Desalination*, 2011, 282, 27-38.

41. S. A. Blaser, M. Scheringer, M. MacLeod and K. Hungerbühler, *Science of the Total Environment*, 2008, 390, 396-409.

42. A. Bradford, R. D. Handy, J. W. Readman, A. Atfield and M. Mühling, *Environmental Science & Technology*, 2009, 43, 4530-4536.

43. d. Brett, *Ostomy Wound Manage*, 2006, 52, 34-41.

44. S. Brice-Profeta, M. A. Arrio, E. Tronc, N. Menguy, I. Letard, C. Cartier dit Moulin, M. Noguès, C. Chanéac, J. P. Jolivet and P. Sainctavit, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 2005, 288, 354-365.

45. O. Choi, K. K. Deng, N.-J. Kim, L. Ross Jr, R. Y. Surampalli and Z. Hu, *Water Research*, 2008, 42, 3066-3074.

46. Y. J. Chae, C. H. Pham, J. Lee, E. Bae, J. Yi and M. B. Gu, *Aquatic Toxicology*, 2009, 94, 320-327.

47. F. Ge, M.-M. Li, H. Ye and B.-X. Zhao, *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 211–212, 366-372.

48. C. L. Warner, R. S. Addleman, A. D. Cinson, T. C. Droubay, M. H. Engelhard, M. A. Nash, W. Yantasee and M. G. Warner, *ChemSusChem*, 2010, 3, 749-757.

49. P. Z. Ray and H. J. Shipley, *RSC Advances*, 2015, 5, 29885-29907.

50. H. Shipley, S. Yean, A. Kan and M. Tomson, *Environmental Science and Pollution Research*, 2010, 17, 1053-1062.

51. H. Karami, *Chemical Engineering Journal*, 2013, 219, 209-216.

52. X. Qi, N. Li, Q. Xu, D. Chen, H. Li and J. Lu, *RSC Advances*, 2014, 4, 47643-47648.

53. W. J. Mitsch and J. G. Gosselink, *Wetlands*, Wiley, 2015.

54. S. C. Zoltai, The canadian Wetlands classification system. Ecological Land Classification Series, Environment Canada, Ottawa, Ontario,, 2nd edn., 1988.

55. S. C. Zoltai and D. H. Vitt, *Canadian wetlands: environmental gradients and classification*, Nothern Forestry centre, 1995.

56. B. G. Warner and D. A. Rubec, *The canadian wetland classificiation system*, Wetlands research centre, University of Waterloo, Ontario, 1997.

57. R. Reddy and R. D. Delaune, *Biogeochemistry of wetlands : science and applications*, New York, CRC Press edn., 2008.

58. M. Auffan, J. Rose, J.-Y. Bottero, G. V. Lowry, J.-P. Jolivet and M. R. Wiesner, *Nature Nanotechnology*, 2009, 4, 634 - 641.

59. M. J. Dykstra and L. E. Reuss, Biological Electron Microscopy - Theory, Techniques, and Troubleshooting, Springer US, 2003.

60. P. Hoppe, S. Cohen and A. Meibom, *Geostandards and Geoanalytical Research*, 2013, 37, 111-154.

61. K. Xia, F. Weesner, W. F. Bleam, P. A. Helmke, P. R. Bloom and U. L. Skyllberg, *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 1998, 62, 1240-1246.

62. A. L. Willis, N. J. Turro and S. O'Brien, *Chemistry of Materials*, 2005, 17, 5970-5975.

63. B. L. Cushing, V. L. Kolesnichenko and C. J. O'Connor, *Chemical Reviews*, 2004, 104, 3893-3946.

64. J. Park, K. An, Y. Hwang, J.-G. Park, H.-J. Noh, J.-Y. Kim, J.-H. Park, N.-M. Hwang and T. Hyeon, *Nat Mater*, 2004, 3, 891-895.

65. X. Wang, J. Zhuang, Q. Peng and Y. Li, *Nature*, 2005, 437, 121-124.

66. M. D. Carvalho, F. Henriques, L. P. Ferreira, M. Godinho and M. M. Cruz, *Journal of Solid State Chemistry* 2013, 201, 144 - 152.

67. Y.-M. Huh, Y.-w. Jun, H.-T. Song, S. Kim, J.-s. Choi, J.-H. Lee, S. Yoon, K.-S. Kim, J.-S. Shin, J.-S. Suh and J. Cheon, *Journal of the American Chemical Society*, 2005, 127, 12387-12391.

68. Y.-w. Jun, Y.-M. Huh, J.-s. Choi, J.-H. Lee, H.-T. Song, KimKim, S. Yoon, K.-S. Kim, J.-S. Shin, J.-S. Suh and J. Cheon, *Journal of the American Chemical Society*, 2005, 127, 5732-5733.

69. A. G. Roca, S. Veintemillas-Verdaguer, M. Port, C. Robic, C. J. Serna and M. P. Morales, *Journal of Physical Chemistry B*, 2009.

70. R. Mejías, S. Pérez-Yagüe, L. Gutiérrez, L. I. Cabrera, R. Spada, P. Acedo, C. J. Serna, F. J. Lázaro, Á. Villanueva, M. d. P. Morales and D. F. Barber, *Biomaterials*, 2011, 32, 2938-2952.

71. J. L. Domingo, *Reproductive Toxicology*, 1995, 9, 105-113.

72. G. Crisponi, A. Diaz, V. M. Nurchi, T. Pivetta and M. a. J. Tapia Estévez, *Polyhedron*, 2002, 21, 1319-1327.

73. H. J. Kramer, V. Mensikova, A. Bäcker, H. Meyer-Lehnert and H. C. Gonick, *Biochemical Pharmacology*, 2003, 65, 1741-1746.

74. M. Hoffmann, C. Mikutta and R. Kretzschmar, *Environmental Science & Technology*, 2012, 46, 11788-11797.

75. M. Hoffmann, C. Mikutta and R. Kretzschmar, *Environmental Science & Technology*, 2014, 48, 3822-3831.

76. P. Langner, C. Mikutta and R. Kretzschmar, *Nature Geoscience*, 2012, 5, 66-73.

77. J. Akkanen, R. Vogt and J. K. Kukkonen, *Aquatic Science*, 2004, 66, 171-177.

78. K. Hirose, *Applied Geochemistry*, 2007, 22, 1636-1645.

79. I. H. Suffet and P. MacCarthy, Aquatic Humic Substance. Influence on Fate and Treatment of Pollutants., ACS, Washington, 1988.

80. S. J. Traina, J. Novak and N. E. Smeck, *Journal of Environmental Quality*, 1990, 19, 151-153.

81. J. L. Weishaar, G. R. Aiken, B. A. Bergamaschi, M. S. Fram, R. Fujii and K. Mopper, *Environmental Science & Technology*, 2003, 37, 4702-4708.

82. J. K. Edzwald, W. C. Becker and K. L. Wattier, *Journal (American Water Works Association)*, 1985, 77, 122-132.

83. J. A. Leenheer, J.-P. Croué, M. Benjamin, G. V. Korshin, C. J. Hwang, A. Bruchet and G. R. Aiken, in *Natural Organic Matter and Disinfection By-Products*, American Chemical Society, 2000, vol. 761, ch. 5, pp. 68-83.

84. E. M. Thurman, *Organic geochemistry of natural waters.*, Dordrecht ; Boston : M. Nijhoff ; Hingham, MA, USA : Distributors for the U.S. and Canada, Kluwer Academic, cop. 1985., 1985.

85. K. Mopper and D. J. Kieber, in *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*, eds. D. A. Hansell and C. A. Carlson, Academic Press, 2002.

86. R. W. P. M. Laane, *Marine Chemistry*, 1982, 11, 395-401.

87. R. W. P. M. Laane and K. J. M. Kramer, *Netherlands Journal of Sea Research*, 1990, 26, 1-9.

88. J. Chen, E. J. LeBoeuf, S. Dai and B. Gu, *Chemosphere*, 2003, 50, 639-647.

89. M. Ewald, C. Belin, P. Berger and J. H. Weber, *Environmental Science & Technology*, 1983, 17, 501-504.

90. P. Coble, J. Lead, A. Baker, D. Reynolds and R. G. M. Spencer, *Aquatic Organic Matter Fluorescence*, Cambridge University Press, 2014.

91. P. G. Coble, *Marine Chemistry*, 1996, 51, 325-346.

92. P. G. Coble, *Chemical Reviews*, 2007, 107, 402-418.

93. P. G. Coble, S. A. Green, N. V. Blough and R. B. Gagosian, *Nature*, 1990, 348, 432-435.

94. E. Parlanti, K. Wörz, L. Geoffroy and M. Lamotte, *Organic Geochemistry*, 2000, 31, 1765-1781.

95. C. A. Stedmon, S. Markager and R. Bro, *Marine Chemistry*, 2003, 82, 239-254.

96. F. J. Stevenson, Humus Chemistry. Genesis, Composition, Reactions., New York, 1982.

97. A. Zsolnay, E. Baigar, M. Jimenez, B. Steinweg and F. Saccomandi, *Chemosphere*, 1999, 38, 45-50.

98. T. Ohno, Environmental Science & Technology, 2002, 36, 742-746.

99. S. Glatzel, K. Kalbitz, M. Dalva and T. Moore, *Geoderma*, 2003, 113, 397-411.

100. K. Kalbitz, J. Schmerwitz, D. Schwesig and E. Matzner, *Geoderma*, 2003, 113, 273-291.

101. K. Michel, E. Matzner, M.-F. Dignac and I. Kögel-Knabner, *Geoderma*, 2006, 130, 250-264.

102. D. Yeghicheyan, C. Bossy, M. Bouhnik Le Coz, C. Douchet, G. Granier, A. Heimburger, F. Lacan, A. Lanzanova, T. C. C. Rousseau, J.-L. Seidel, M. Tharaud, F. Candaudap, J. Chmeleff, C. Cloquet, S. Delpoux, M. Labatut, R. Losno, C. Pradoux, Y. Sivry and J. E. Sonke, *Geostandards and Geoanalytical Research*, 2013, DOI: 10.1111/j.1751-908X.2013.00232.x, n/a-n/a.

103. P. Böning, E. Bard and J. Rose, *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 2007, 8, n/a-n/a.

104. S. Bonneville, T. Behrends, P. Van Cappellen, C. Hyacinthe and W. F. M. Roling, *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, 2006, 70, 5842-5854.

105. M. Taillefert, J. S. Beckler, E. Carey, J. L. Burns, C. M. Fennessey and T. J. DiChristina, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2007, 101, 1760-1767.

106. K. H. Nealson and C. R. Myers, *Applied and Environmental Microbiology*, 1992, 58, 439-443.

107. D. R. Lovley and J. C. Woodward, *Chemical Geology*, 1996, 132, 19-24.

108. H. Hyung, J. D. Fortner, J. B. Hughes and J. H. Kim, *Environmental Science & Technology*, 2007, 41, 179-184.

109. T. Hiemstra, J. Antelo, R. Rahnemaie and W. H. van Riemsdijk, *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, 2010, 74, 41-58.

110. T. Hiemstra, J. Antelo, A. M. D. van Rotterdam and W. H. van Riemsdijk, *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, 2010, 74, 59-69.

111. O. Furman, S. Usenko and B. L. T. Lau, *Environmental Science & Technology*, 2013, 47, 1349-1356.

112. M. Auffan, PhD, Université Pau Cézanne, Aix-Marseille III, 2008.

113. C. A. Dehner, L. Barton, P. A. Maurice and J. L. Dubois, *Environmental Science & Technology*, 2011, 45, 977-983.

114. T.-x. Liu, X.-m. Li, F.-b. Li, W. Zhang, M.-j. Chen and S.-g. Zhou, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2011, 379, 143-150.

115. A. L. Neal, K. M. Rosso, G. G. Geesey, Y. A. Gorby and B. J. Little, *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, 2003, 67, 4489-4503.

116. S. Bose, M. F. Hochella, Y. A. Gorby, D. W. Kennedy, D. E. McCready, A. S. Madden and B. H. Lower, *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, 2009, 73, 962-976.

117. M. A. Maurer-Jones, I. L. Gunsolus, B. M. Meyer, C. J. Christenson and C. L. Haynes, *Analytical Chemistry*, 2013, 85, 5810-5818.

118. M. N. Zhang, J. R. Dale, T. J. DiChristina and A. G. Stack, *Geomicrobiology Journal*, 2009, 26, 83-92.

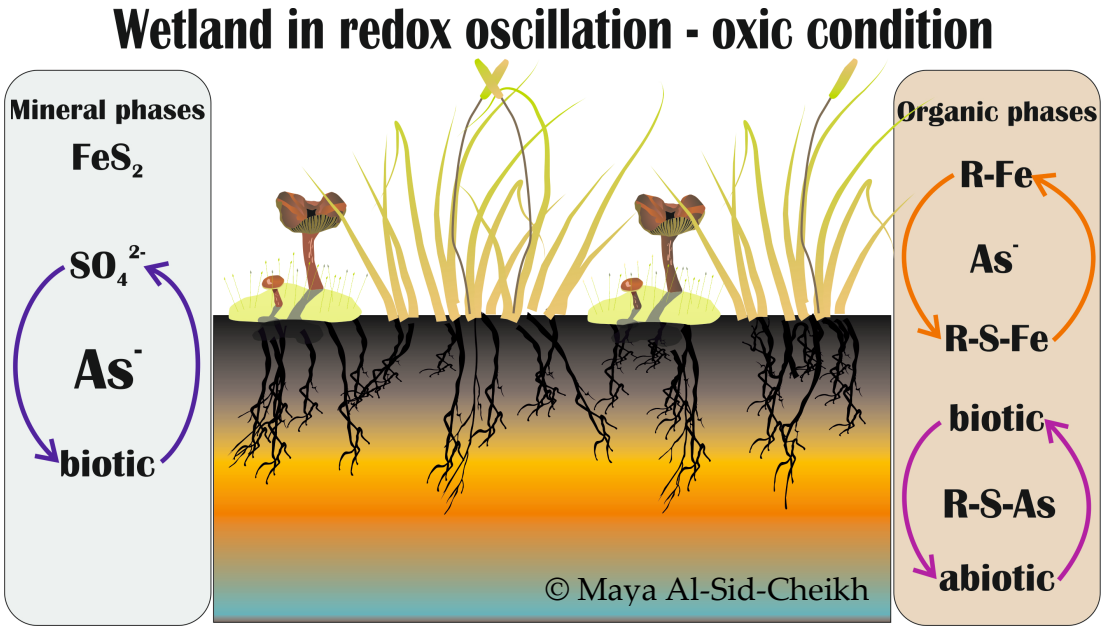
119. J. Armitano, V. Mejean and C. Jourlin-Castelli, *Environmental Microbiology*, 2013, 15, 3108-3118.

120. S. K. Lower, M. F. Hochella and T. J. Beveridge, *Science*, 2001, 292, 1360-1363.

121. S. Le Laz, A. Kpebe, M. Bauzan, S. Lignon, M. Rousset and M. Brugna, *Plos One*, 2014, 9, 10.

122. D. P. Lies, M. E. Hernandez, A. Kappler, R. E. Mielke, J. A. Gralnick and D. K. Newman, *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71, 4414-4426.

Chapitre II – Article 1



Interactions between natural organic matter, sulfur, arsenic and iron oxides in re-oxidation compounds within riparian wetlands: NanoSIMS and X-ray adsorption spectroscopy evidences

Maya AL-SID-CHEIKH[1,*†], Mathieu Pédrot [1], Aline Dia[1], Hélène Guenet[1], Delphine Vantelon[2], Mélanie Davranche[1], Gérard Gruau[1], Thomas Delhaye[3]

[1] Géosciences Rennes - Université Rennes 1 - CNRS UMR 6118 - Av. General Leclerc, 35042 Rennes, Cedex. France

[2] Synchrotron Soleil, L'Orme des Merisiers, Saint Aubin, BP 48, F-91192 Gif-sur-Yvette Cedex, France.

[3] NanoSIMS plateform, Université Rennes 1 - CNRS UMR 6118 - Av. General Leclerc, 35042 Rennes, Cedex. France

Publié dans Science of the Total Environment, 515–516(0), 118-128.

doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.02.047

AUTHOR INFORMATION

* Corresponding author: Maya Al-Sid-Cheikh, Tel: +33 (0)2.23.23.32.43, Fax: +33. (0)2.23.23.67.80. Present E-mail: maya.al-sid-cheikh@univ-rennes1.fr

† Permanent email: maya.alsid@gmail.com .

Résumé

L'arsenic (As) est un élément toxique omniprésent et responsable de graves problèmes de santé. Ici, les analyses par spectrométrie de masse d'ions secondaires à l'échelle nanométrique (NanoSIMS) ont été utilisées pour cartographier les assemblages d'organo-minéraux dans des colloides naturels provenant de zone humide riparienne (ZHR). La collecte des colloïdes était effectuée, selon une méthode adaptée de Belzile et al. (1989), grâce à un piège à particules constitué d'une feuille en polytétrafluoroéthylène (PTFE). Les analyses totales ont fourni des informations sur les concentrations globale en éléments traces et majeurs ainsi que les quantités de soufre (S) et matière organique naturelle (MON) contenues dans ces précipités. Les caractérisations par nanoSIMS et par absorption des rayons X du soufre (XANES) ont fourni des informations sur la distribution et les interactions spécifiques entre les métaux (i.e. As, Fe), la NOM et le S. Dans un premier temps, nous avons produit des images NanoSIMS sur les précipités colloïdaux naturels, pour les isotopes $^{75}As^-$, $^{56}Fe^{16}O^-$, le $^{32}S^-$ et la MON ($^{12}C^{14}N^-$). Un premier traitement statistique sur les images NanoSIMS met en évidence deux types de colocalisations : (1) $^{12}C^{14}N^-$, $^{32}S^-$, $^{56}Fe^{16}O^-$ et $^{75}As^-$, et (2) $^{12}C^{14}N^-$, $^{32}S^-$ et $^{75}As^-$. Les analyses en composantes principales (ACP) appuient l'importance du S dans les deux principales colocalisations. La première composante explique 70% de la variance de la répartition des éléments et est fortement corrélée avec la présence de $^{32}S^-$. La deuxième composante explique 20% de la variance et est fortement corrélée avec la présence de $^{12}C^{14}N^-$. Dans un second temps, les analyses XANES ont mis en évidence que le S était présent à 55% sous forme organique et à 45% sous forme inorganique. La coexistence des formes de S réduit et oxydé pourrait être attribuée à un lent processus cinétique d'oxydation de la MON. Ainsi, une interaction directe entre As et NOM (As(III) – S(II)) à travers des groupements fonctionnels soufrés (e.g. thiols) pourrait être possible.

ABSTRACT

Arsenic (As) is a toxic and ubiquitous element, which can be responsible for severe health problems. Recently, Nanoscale Secondary Ions Mass Spectrometry (nanoSIMS) analysis has been used to map organomineral assemblages. Here, we present a method adapted from Belzile et al. (1989) to collect freshly precipitated compounds of the re-oxidation period in a natural wetland environment using a polytetrafluoroethylene (PTFE) sheet scavenger. This method provides information on the bulk samples and on the specific interactions between metals (i.e. As) and the natural organic matter (NOM). Our method allows to produce nanoSIMS imaging on natural colloid precipitates, including $^{75}As^-$, $^{56}Fe^{16}O^-$, sulfur ($^{32}S^-$) and organic matter ($^{12}C^{14}N$) and to measure X-ray adsorption of sulfur (S) K-edge. A first statistical treatment on the nanoSIMS images highlights two main colocalizations: (1) $^{12}C^{14}N^-$, $^{32}S^-$, $^{56}Fe^{16}O^-$ and $^{75}As^-$, and (2) $^{12}C^{14}N^-$, $^{32}S^-$ and $^{75}As^-$. Principal component analyses (PCA) support the importance of sulfur in the two main colocalizations firstly evidenced. The first component explains 70% of the variance in the distribution of the elements and is highly correlated with the presence of $^{32}S^-$. The second component explains 20% of the variance and is highly correlated with the presence of $^{12}C^{14}N^-$. The X-ray adsorption near edge spectroscopy (XANES) on sulfur speciation provides a quantification of the organic (55%) and inorganic (45%) sulfur composition. The co-existence of reduced and oxidized S forms might be attributed to a slow NOM kinetic oxidation process. Thus, a direct interaction between As and NOM through sulfur groups might be possible.

II.1. INTRODUCTION

Arsenic is a toxic and ubiquitous element found in all compartments of the environment and can be responsible for severe health problems (Smith et al., 2006). Epidemiological studies conducted in Chile and South-East Asia have demonstrated its chronic toxicity via long-term ingestion of contaminated water (Meharg and Rahman 2003; Smith et al., 2006). Thus, most epidemiological concerns result from its mobilization under natural conditions in dynamic environment such as riparian wetlands. In riparian wetlands, periodic fluctuations of the water level might play a major role in the storage, transformation and mobilization of trace elements such as arsenic (As). Within the flooding period, the development of reducing conditions lead to the reductive dissolution of soil Fe oxides and to the subsequent solubilisation and reduction of their As loading, which could thereby be transferred to the surrounding aquifers (Kocar et al., 2006; Fendorf and Kocar, 2009). By contrast, within the low water level period, oxic conditions are progressively restored in wetlands leading to the As oxidation as As(V) and to its potential sequestration by the re-oxidation products of the reduced wetland soil solutions. Riparian wetlands might therefore play a unique and critical role in the biogeochemical cycle of As and in further contamination of groundwaters.

It is well known that the presence of Fe affects the speciation of As and that their biogeochemical cycles are strongly coupled in natural systems (Kneebone et al., 2002). The pH, the type and concentration of natural organic matter (NOM) and water-table fluctuations strongly control the sequestration and release of redox-sensitive elements like As in wetlands through processes such as precipitation and dissolution of As-bearing iron (oxy)hydroxides (La force et al., 2000; Smedley et al., 2002; Bosch et al., 2010) and sulfides (Kirk et al, 2004; Langner et al., 2011). Moreover, the fate of As in organic Fe-content solution in relation with oxic and anoxic conditions has been discussed in several studies. These studies demonstrated that colloidal ternary complexes can be formed in solution between NOM, arsenate/arsenite (As(V)/As(III), respectively), and Fe as Fe^{3+} or Fe oxides (Bauer and Blodau 2009; Liu and Cai 2010; Sharma et al., 2010; Mikutta and Kretzschmar, 2011). Within the flooding periods, the development of strongly reducing conditions at near-neutral pH values in riparian wetlands might lead to the desorption of As(V) from mineral oxides. The reductive dissolution of Fe oxides may also lead to As(III) release, all contributing to As release into the groundwater. Under constant reducing

conditions, more recent investigations have shown that As was bound to NOM via sulfhydryl groups (Mikutta and Kretzschmar, 2011; Hoffmann et al., 2012; Langner et al., 2011). Within the low water level period however, strong oxic conditions are developed and may lead to the sequestration of As(III) in the form of As(V). Nevertheless, there is a lack of information concerning the fate of these ternary complexes or colloids when the water level in riparian wetland decreases or/and when the wetland solution is re-oxidized. Can the subsequent aggregation and/or precipitation of the colloids in riparian wetland influence the As behavior, by affecting the fate of these ternary complexes? It is therefore essential to investigate the exact nature of the interactions occurring between Fe, As, S and NOM under the oxidizing period in riparian wetlands.

No study has yet been undertaken in order to characterize the interactions between and the distribution at high resolution of As, Fe, S, and NOM on the re-oxidation products within organic riparian wetland soils. Some laboratory studies explored oxidation kinetics of organosulfur-coordinated As (III) and realgar (α-As_4S_4) in peats exposed to atmospheric O_2 and characterized the metal bulk content (e.g. As, Fe, and S) (Hoffmann et al., 2014; Langner et al., 2014). In fact, the lack of appropriate separation method inducing no modification on the crystallinity of the natural soil oxides was highly relevant. However, a prompted method that allows *in situ* collection of the diagenetic compounds has been already developed for sediments and presents an ideal method to study the *in situ* adsorption of trace elements onto diagenetic re-oxidation products (Belzile et al., 1989). Equipped with this new method of collection, new development of analyses becomes more interesting. Recently, nano-scale secondary ionization mass spectrometry (nanoSIMS) analysis offered the possibility to map several elements of organo-mineral assemblages while preserving their structural interactions (Mueller et al., 2012). NanoSIMS analyses have the potential to explore factors that determine soil micro-site heterogeneity with a nano-scale resolution and to improve the understanding of the interactions in between Fe, As and OM in natural environments. However, as the studies that investigated these interactions have mainly focused on reducing wetlands and on the bulk of NOM, it appears relevant to examine the colloidal fraction under a fluctuation period. Along with Fe, As, and OM, we therefore investigate sulfur distribution, by coupling nanoSIMS for mapping and X-ray absorption spectroscopy to elucidate the sulfur speciation.

The overall aim of this study was to provide a micro-scale spatial distribution with a nano-scale resolution of NOM, S, Fe and As in re-oxidation compounds sourced within the colloidal fraction of an organic-rich wetland soil characterized by redox-oscillation dynamics. To achieve this objective, (i) a method adapted from Belzile et al. (1989), which allows the *in situ* collection of the diagenetic compounds, has been developed to collect the re-oxidation products of the soil solution of a riparian wetland (Kervidy-Naizin, France). This method allowed to collect the minerals and the organic particles produced by the oxidation of the reduced wetland soil solution subsequent to the water level decrease. To assess (ii) the distribution pattern and the spatial colocalization of As-Fe-S-NOM, we proposed to evaluate the distribution of each element using nanoSIMS analyses. Finally, (iii) X-ray adsorption spectroscopy has been used to characterize the speciation of sulfur in natural re-oxidation products.

II.2. EXPERIMENTAL SECTION

II.2.1 Field experiment with elemental scavengers

Kervidy-Naizin (Morbihan, Northwestern France) is a second order catchment with a surface area of 4.9 km². The site is monitored for hydrological and geochemical studies (Aubert et al., 2013). The maritime temperate climate of the region is characterized by an annual mean rainfall of 724 mm and a mean temperature of 12.6°C ± 3 (between 2005 and 2013). The site is classified as a riparian wetland and the waters are characterized by periodic reducing conditions, mostly in late winter and spring, which are the direct consequences of flooding in the soil (Figure 1a). Dissolved organic carbon (DOC) concentrations in the waters are typically ranging from 2 to 24 mg L^{-1} (Figure 1b). This wetland was selected for periodical Fe reduction events (Fe(II) solubilisation, Figure 1b) during the winter and spring flooding. Several studies have reported dissolved Fe(II) concentrations increasing from 0 (<0.01 mg L^{-1}, detection limit) in late autumn (beginning of the flooding period) to 11.5 mg L^{-1} in spring (end of the waterlogged period) (Bourrié et al., 1999; Dia et al., 2000; Olivié-Lauquet et al., 2001; Gruau et al., 2004).

II.2.2. Passive sampling

The precipitates were deposited on a polytetrafluoroethylene (PTFE) support directly inserted directly in the soil uppermost horizon of the Mercy wetland in the Kervidy-Naizin catchment between 2005 and 2010. The PTFE device were inspired from a

method developed by Belzile et al. (1989) for studying the *in situ* adsorption of trace elements onto diagenetic oxyhydroxides in lake sediments. The PTFE sheets are highly resistant to mechanical and chemical weathering and can remain for long periods (up to years) in soils under environmental conditions without any aging (Belzile, et al. 1989). Six PTFE sheets (10 x 18 cm, 1.5-mm-thick) were vertically inserted in the soil for one, two, three, five and six years, respectively. The sheets were inserted in the uppermost soil horizon (organo-mineral horizon, A), under high water level when the soil solution was reduced (Figure 1a). To preserve the collection of precipitates onto the sheets during the sampling, these tools were wrapped in nylon filters (size pore, 67 μm). The sheets were collected under oxidizing conditions (drying period, Figure 1) in May. Six PTFE sheets (P1 to P6) were collected, in the same area (N 48°00'42.4" - W 2°50'20.2"), at four different times of exposition: one (P1), two (P2), four (P3), five (P4) and six years (P5 - P6), respectively. Between 2009 and 2013, the pH value of the porewater was 6.1 ± 0.4 and the Eh, which are driven by the floodings, varied between 202 and 612 mV/ESH (Figure 1a).

II.2.3. Total elemental analysis

II.2.3.1. Total elemental analysis in the soil

The chemical analyses on the soil samples were performed at the Service d'Analyse des Roches et des Minéraux (SARM), which is part of the Centre de Recherches Pétrographiques et Géochimiques (CRPG) - CNRS, Nancy, France. The major element concentrations were determined by inductively coupled plasma - atomic emission spectrometry (ICP-AES, Thermo ICap 6500) and the trace elements concentrations were determined by ICP-mass spectrometry (Thermo Elemental X7). The samples were digested by alkaline fusion using lithium metaborate ($LiBO_2$) addition as a fusion flux as described in Carignan et al. (2001). The major and trace elements concentrations in the organo-mineral horizon are given in Table 1. The organo-mineral horizon contained 3.91% of C_{org}, 1.08 % of Fe and 7.39 mg kg^{-1} of As. The soil samples were prepared in according environmental protection agency (EPA) soil sampling protocol.

II.2.3.2. Total elements on the PTFE sheet and surface water

ICP-MS analyses. (ICP-MS - Acid digestion of the precipitates) The major and trace elements collected on the PTFE sheets were analyzed with an ICP-MS (Agilent 7700X). The samples were digested by nitric acid (HNO_3; 14.6N) at 85°C for one

week. The samples were filtered at 0.22 μm and directly acidified on the site by nitric acid (HNO_3; 14.6 N) at 2% v/v for ICP-MS analysis. Calibration curves and accuracy controls were performed in accordance with Yéghicheyan et al. (2013), using river water reference material for trace metals (TM) with a large compositional range (SLRS5, National Research Council of Canada). The total relative uncertainties were ca ± 5%. The blank preparation was de-ionized water purified with a Milli-Q (Millipore) system.

Elementary analyses. The solid samples collected form PTFE collector were analyzed for organic carbon and total sulfur by SARM-CRPG (CNRS, Nancy, France) with a carbon-sulfur analyzer (Leco SC144 DRPC).

II.2.4. Preparation, analysis and data treatment for nanoSIMS

Although nanoSIMS analyses of natural elements are widely used in soil science, the most complex soil samples are still likely to be a major analytical challenge. Quantitative SIMS measurements are complicated by several parameters, such as isobaric interferences, matrix effects, instrumental mass fractionation and problems related to ion detection and sample preparation (i.e., non-conducting samples, topography) (Hoppe et al., 2013). The matrix effect can lead to an extremely strong fractionation of major, minor or trace elements because the ionization yield of two different elements from the same matrix can differ by many orders of magnitude and their relative ion yields might change substantially with even minor chemical changes in the sample matrix (Shimizu and Hart, 1982).

For the scanning electron microscopy (SEM) and nanoSIMS analyses, it is crucial to avoid any formation of clustered particle layers during sample preparation (Mueller et al., 2012). Possible topography effects, due to problems with electric charging or a complicated focusing due to the shallow depth of focus can be minimized by a flat dispersion of primary sample particles (Winterholler et al., 2008). To prevent any contamination, the samples were initially dried under a laminar flow cabinet and then impregnated under high vacuum with an epoxy resin (Araldite® 502, Sigma-Aldrich), free of As and S. The blocks were hardened at ambient temperature for 72 h, cut into 500-nm-thick slices using an ultra-microtome UC7 Leica equipped with a diamond knife and deposited on a silicium wafer free of As and S. Due to the insulating properties of the epoxy resin, prior to SEM and nanoSIMS analysis, the section were coated with a gold/palladium mixture in a JEOL Ion Sputter JFC-1100

and then observed with a scanning electron microscope (SEM; Jeol JSM 6301F, C.M.E.B.A., University of Rennes).

II.2.5. NanoSIMS run conditions

The data were acquired with the Cameca nanoSIMS 50 instrument (Cameca) at the nanoSIMS platform at the University of Rennes 1, France. A Cs^+ primary ion beam (~1.2 to ~3.8 pA) was used with 16 keV and focused to a spot of 100 nm in the laboratory routine condition. The smallest and raster size beams were 50 nm and 200 nm, respectively (Hoppe et al., 2013). No charge compensation was needed. The secondary ions were collected with electron multipliers with an electronic dead time fixed at 44 ns. The primary current during imaging varied between 0.8 and 1.4 pA. The dwell time was 1 ms $pixel^{-1}$ for all acquisitions. Under operating conditions, a mass resolution of 4,000 (Cameca's mass resolving power (MRP) - between 10% and 90% of peak height) for $^{12}C^{14}N^-$ was achieved after appropriate tuning. Electron multiplier detectors were positioned to collect the following secondary ions simultaneously: $^{16}O^-$, $^{32}S^-$, $^{12}C^{14}N^-$, $^{56}Fe^{16}O^-$ and $^{75}As^-$. The whole system works under ultra-high vacuum, ranging from 10^{-10} Torr (analysis chamber) to 10^{-8} Torr (detector compartment). A detailed description of nanoSIMS can be found in Guerquin-Kern et al., (2005) and Lechene et al., (2006) to eliminate the isobaric interference, a calibration mass resolution and accuracy controls were performed using gallium arsenide (GaAs) as an external reference for $^{75}As^-$. The nanoSIMS 50 reproducibility has been extensively checked with the solid standards of GaAs (for As) and goethite (for FeO) prior to the analysis, insuring that the masses detected were free from noise in the images.

II.2.6. Statistical treatment on nanoSIMS image

II.2.6.1. Pearson's and Manders's coefficient

The nanoSIMS images were treated on ImageJ (from the National Institutes of Health, USA, open source software, MIMS image package) for filtration and colocalization analyses. The colocalization analyses were performed under JACoP, a novel plug-in of Image J developed by Bolte and Cordelières (2006) (http://rsb.info.nih.gov/ij/plugins/track/jacop.html). These statistical analyses and tools were first developed for cell biologists (Bolte and Cordelières 2006). Here, we applied this method on the element distributions recovered through nanoSIMS analysis. The JACoP application regroups the rather simplistic qualitative

evaluations of the overlapping pixels and a bulk of the fairly complex solutions, most of them based on the global statistical analysis of the pixel intensity distributions (Manders et al., 2003; Li et al., 2004). For this study we used Pearson's coefficient (PC) and Manders's (M).

A simple way of measuring the dependency of pixels in dual-channel images is to plot the pixel grey values of two images against each other. PC is a coefficient where 1 and -1 represent a perfect colocalization and perfect exclusion, respectively, and where 0 represents a random colocalization. The PC formula is:

$$R_r = \frac{\sum(R_i - \overline{R}) \times (G_i - \overline{G})}{\sqrt{\left(R_i - \overline{R}\right)^2 \times \left(G_i - \overline{G}\right)^2}}$$

For pixel i in the images, R and G are intensities of the red and green channel respectively The PC is not dependent on a constant background and on image brightness.

The M coefficient allows to known the proportion of overlap of each channel with the other. M' overlap coefficient is based on the PC's correlation coefficient with average intensity values being taken out of the mathematical expression (Manders et al., 1993):

$$M_1 = \frac{\sum_i R_{i,coloc}}{\sum_i R_i} \; ; \quad M_2 = \frac{\sum_i G_{i,coloc}}{\sum_i G_i}$$

Ri,coloc = Ri if Gi >0; Gi,coloc = Gi if Ri>0. i.e. M_1 is the sum of the intensities of image 1 pixels, which has the image 2 divided by the total sum of image1 intensities.

M is a coefficient where 1 represents a perfect colocalization and where 0 represents no colocalization. The Manders coefficients are easier to interpret than the PC and they are not sensitive to the intensity of overlapping pixels. Therefore, M1 (or M2) is a good indicator of the proportion of the green signal coincident with a signal in the red channel over its total intensity, which may even apply if the intensities in both channels are really different from one another. This definition could reveal both coefficients to be ideal for colocalization studies.

II.2.6.2. Principal component analysis (PCA)

PCA is a statistical procedure that uses orthogonal transformation to convert a set of observations for possibly correlated variables into a set of values for linearly uncorrelated variables. This procedure was used in our experiment in order to

reduce the dimension of the analysis and to understand which elements statistically drive the whole distribution. This approach allows a correlation pixel by pixel for each element ($^{12}C^{14}N^-$, $^{32}S^-$, $^{56}Fe^{16}O^-$ and $^{75}As^-$) measured simultaneously. PCAs were performed using the software R studio, while images were pre-processed using the software Gawk, both open source softwares. PCAs were preceded with the FactominR package with the PCA function (http://factominer.free.fr/install-facto.r). The Dimdesc function was used to describe the components. This last function allowed to see which variables are more strongly correlated to the axes and helped to evaluate which variables describe the corresponding component.

II.2.7. X-ray adsorption spectroscopy

II.2.7.1. Data collection

The samples were analyzed by X-ray absorption spectroscopy at SUN synchrotron (Paris, France) on the LUCIA beamline with energy range from 0.8 to 8 keV. X-ray absorption near edge structure (XANES) spectra of S were collected using S K-edge. XANES data collection were performed in fluorescence mode under vacuum (10^{-2} mbar) and cooled down to ~100 K thanks to a N2 cryostat. Between two and five scans were recorded for the standards and up to ten scans for each individual sample. Each spectrum represents the average sample scans.

II.2.7.2. Data analysis

Spectral data processing was performed using Athena (Ravel and Newville, 2005). A quadratic polynomial was used as post-edge line. All data are baseline-corrected and normalized to 1 at the height of the edge jump. Corrected spectra of the samples were fitted over the 2468-2489 eV energy range using a series Gaussian curve that represent the white-line (s→p transition) for each S-bearing species and two arctangents that represents the transition of ejected photoelectrons to the continuum. The areas of Gaussians were corrected for the change in absorption cross section with increasing oxidation state (Xia et al., 1998; Manceau and Nagy, 2012) and used to estimate the percentage of various oxidation states of S in the samples (Vairavamurthy et al., 1997).

II.3. RESULTS AND DISCUSSION

II.3.1. Bulk characterization

II.3.1.1. Origin of re-oxidation compounds onto PTFE collector

The riparian wetland Kervidy-Naizin is characterized by a water level (WL) oscillations between winter and summer (Figure-II- 1a). The water-saturation period lasts generally four months with a WL around zero for the soil. The dry periods can reach WLs between -1.5 and -2.6 m, according to the precipitations. In the organo-mineral horizon (A) of Kervidy-Naizin, the redox potential (Eh) oscillations follow the flooding periods (Figure-II- 1b) and model the redox-oscillations for each saturation/saturation period. Between November 2010 and April 2011, Eh decreased and Fe(II) increased when the Eh reached values below 250mV. The dissolved organic carbon (DOC) followed the Fe(II) pattern with a linear correlation reaching 67% (Figure A1, supporting information (SI)). Sulfate concentrations decreased with the reducing conditions (Figure-II- 1b). The reduced soil solution exhibited high levels in Fe(II) and DOC although sulfates were probably reduced into HS^-, following the classical redox sequence generally observed in saturated soil (Ponnemperuma, 1972). Subsequent to the water level decrease, Fe(II) and DOC concentration decreased although sulfate increased in the solution: suggesting the precipitation of Fe as Fe(III) oxides (Figure A1, SI) and colloidal organic matter agglomeration in the soil porosity or, in the present study, on our PTFE device.

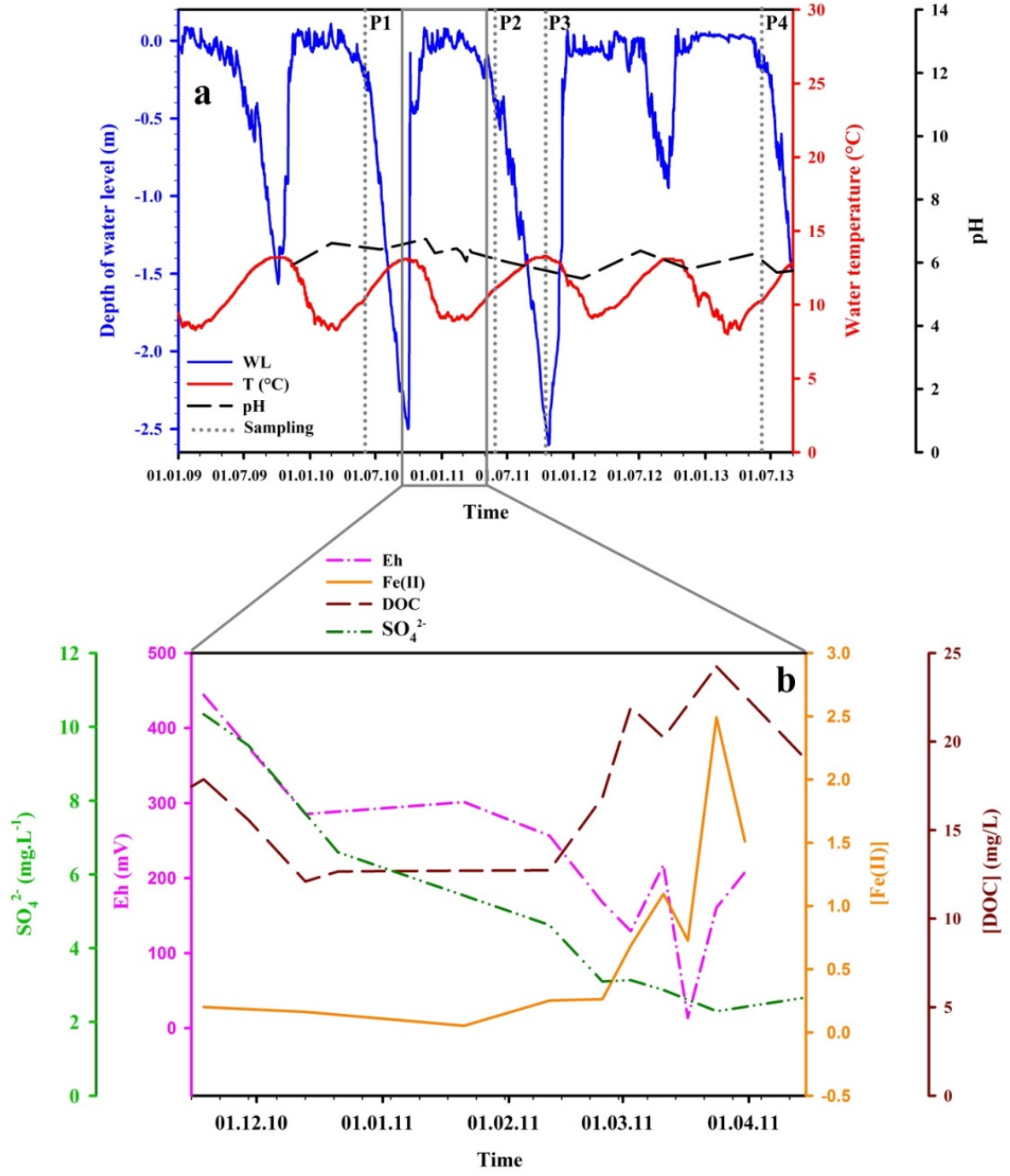


Figure-II- 1 Hydrological and geochemical parameters of wetland soil in the location of the insertion of the PTFE sheets. Present in a) the water level (blue line), pH (dash dot black line), and water temperature (red line) between 2009 and 2014. The grey dot line is the sampling for P1 to P4; b) a zoom on oscillation period in the uppermost soil horizon (A) (10-cm-deep) for Eh (dash dot pink line), Fe(II) (yellow line), SO_4^{2-} (dash dot green line) and DOC (dash brown line) concentrations between 2009 and 2011, the exposure time of the PTFE sheets.

Rare Earth Elements (REE) pattern are a unique tool to fingerprint the sources of trace elements in soil (Davranche et al., 2011). Figure-II- 2 shows the normalized REE

patterns of the soil solution sampled on the kervidy-Naizin wetland and the compounds collected on the PTFE sheets. All patterns are similar, exhibiting a middle REE downward concavity and a relative heavy REE depletion (Gd/Yb) regardless the REE concentrations. These specific patterns have been shown to be a indication of the REE binding with colloidal organic matter in organic rich solution such as wetland soil solution (Pourret et al., 2007; Pédrot et al., 2008; 2009; Davranche et al., 2011). These REE patterns, which are similar between the wetland soil solution and the compounds collected on the PTFE sheet, confirm that the re-oxidation products coated on the PTFE sheets are clearly originated from the soil solution.

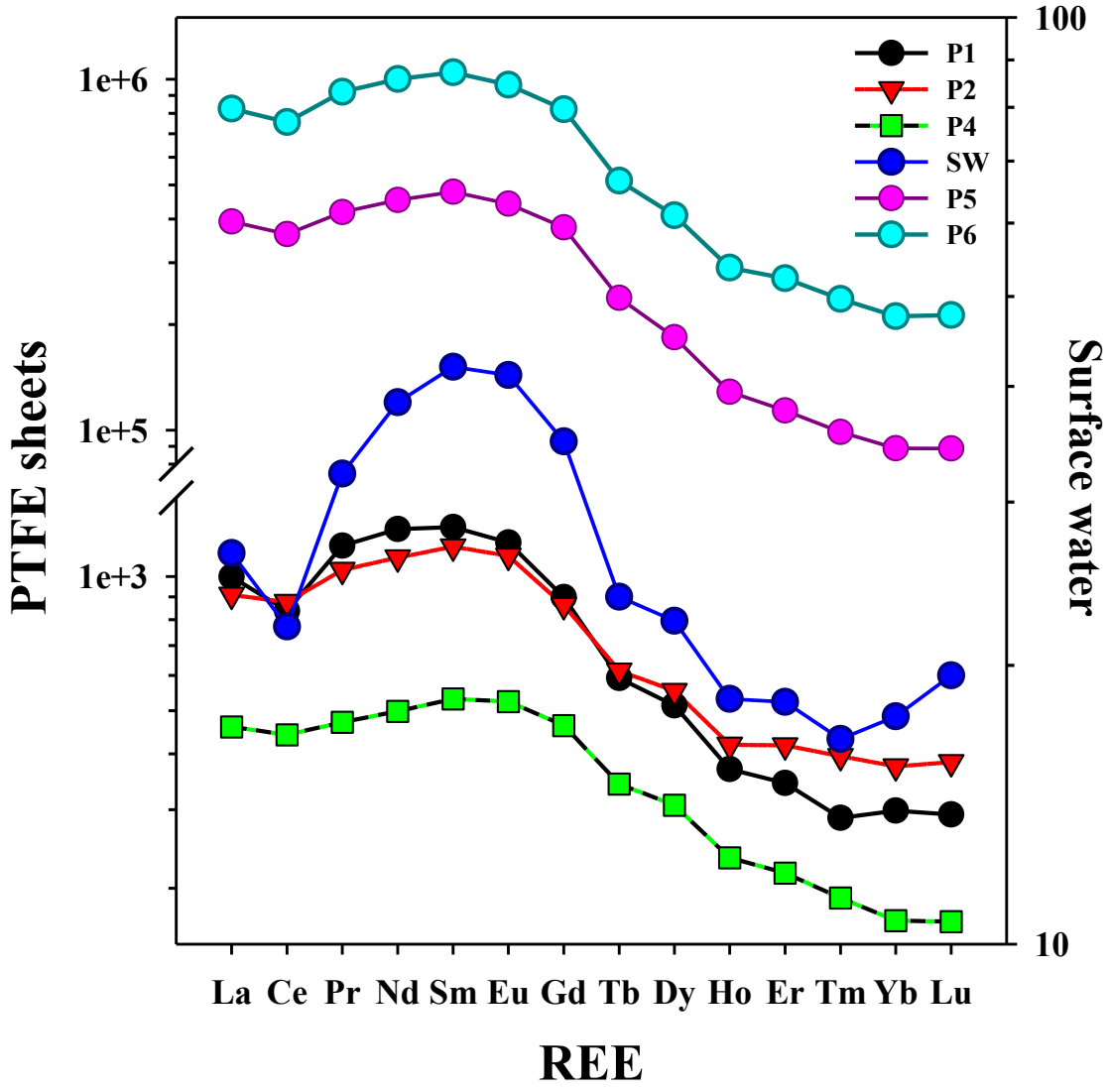


Figure-II- 2 Variation of REE patterns, normalized with respect to the Upper Continental Crust (UCC) (Taylor and McLennann, 1985), in the Kervidy-Naizin wetland for surface water (SW) and different PTFE collectors (P1, P2, P4, P5 and P6).

II.3.1.2. Performance of the PTFE sheet

The re-oxidation compounds collected on the PTFE devices contained between of 3.58 to 38.63 % of Fe_2O_3, 0.01 to 0.23 % of MnO (Table A1, SI), 75 % C_{org} and 0.17% of total S. The major and traces metal are fully reported in Table-II- 1 and allow a comparison between the soil horizon, soil solution and PTFE sheets. Different exposure times are also presented. The contamination of the PTFE collectors by major inorganic constituents from soil, such as feldspars and clays, was minimal (Si < 2.73%; Al < 0.61%, Table A1, SI). The quantification of Ca and Si has shown concentration about 12 to 26 and 2 to 44 times smaller than Fe, respectively (Table-II-1 and Table A1, SI). Fe concentrations reported in the Table-II- 1 decreased with exposure time in the soil (P2 (2y) > P4 (5y) > P5 & P6 (6y)), whereas Mn concentrations did not show any tendency. The first year of exposure (P1) showed Fe concentrations 2 to 5 times smaller than the other PTFE sheets exposed for longer periods. Arsenic concentrations were ranging from 15.14 to 239.31 mg Kg^{-1} and did not display any trend through time, with P4 (5y) > P6 (6y) >P3 (4y) > P2 (2y) = P5 (6y) > P1(1y) (Table 1). However, many studies showed that higher As removal efficiencies can be generally achieved with higher Fe concentrations (Gulledge and O'Connor, 1973; Cheng et al., 1994; Edwards 1994; Scott et al., 1995). The Fe/As ratios measured on the sheets, ranging in between 545 to 2241, showed a correlation with the uptake time (r^2 = 0.67, Table A2, Figure A1, SI). The Fe/As ratio in soil solution was higher than on the PTFE collectors with values reaching 2362. Thus, the As adsorption or co-precipitation with Fe hydroxides might have increased with the uptake time. Adsorption and coagulation experiments conducted by Hering et al. (1997) showed similar trends for As removal, indicating that adsorption onto freshly precipitated Fe hydroxides was an important mechanism during coagulation processes. In their experiment, As adsorption became more significant at high Fe/As ratios. Experimental studies evaluating adsorption/co-precipitation with natural abundance of Fe in groundwater revealed also that adsorption may be the dominant mechanism when Fe/As ratio is equal or greater than 10. Mamtaz and Bache (2001) observed that the effectiveness of As removal is strongly influenced by the Fe/As ratio. Weathering effects on the highest horizon is also important. For instance, in a raining period, oxygen can be introduced in the organo-mineral horizon and affect the Eh heterogeneously. This mechanism might explain different levels of co-precipitation or adsorption of trace elements with Fe hydroxides.

Table-II- 1 Geochemical composition of a wetland soil sample, surface water and four PTFE sheets in major and trace elements.

Major elements

	Si	Al	Fe	K	Mg	Na	Ca	
				%				
A*	30.43	3.03	1.08	0.85	0.33	0.15	0.20	
	Si	**Al**	**Fe**	**K**	**Mg**	**Na**	**Ca**	**Mn**
				mg.Kg^{-1}				
SW#	4.49	0.28	1.29	0.77	10.83	13.41	6.01	N.A.
P1 (1y.)	1392.00	8298.58	25017.13	538.00	1847.71	<D.L.	3209.47	139.66
P2 (2y.)	6935.73	5512.11	135086.99	453.32	3652.94	<D.L.	10886.68	1292.12
P3 (4y.)	2101.10	11527.59	92470.13	383.20	2292.25	<D.L.	3580.93	121.87
P4 (5y.)	10916.27	4648.64	85088.84	563.23	1625.03	208.12	5871.88	63.1
P5 (6y.)	9315.66	8407.55	55546.39	695.41	2663.64	191.69	4002.21	1775.5
P6 (6.5y)	27335.34	12264.93	54828.02	1785.49	2487.90	128.93	3355.10	213.4

Trace elements

	REE**	Cr	Zn	Pb	Ni	Cu	As	Co
				mg.Kg^{-1}				
A*	105.64	89.27	50.22	22.91	18.91	18.58	7.39	5.90
SW#	4.77E-03	2.88E-03	4.50E-03	5.90E-04	8.18E-03	5.55E-03	5.47E-04	1.37E-03
P1 (1y.)	101.42	13.20	29.70	31.79	12.54	12.95	15.14	4.74
P2 (2y.)	106.00	23.68	111.98	25.42	424.67	23.17	60.26	23.95
P3 (4y.)	117.60	16.71	30.53	54.12	19.15	19.67	98.17	7.13
P4 (5y.)	142.89	21.74	176.34	153.42	40.37	31.61	239.31	6.37
P5 (6y.)	194.52	20.85	33.70	56.01	23.71	22.40	59.92	65.73
P6 (6.5y)	140.08	29.99	30.04	56.54	22.64	18.43	100.52	9.72

 # surface water

*** Organo-mineral horizon (0-15 cm)**

**** Rare earth elements**

N.A. not analysed

D.L. detection limit

II.3.2. Arsenic fate and sulfur cycling

II.3.2.1. High resolution mapping of the distribution of NOM, S, FeO, As

II.3.2.1.1. Scanning electronic microscopy (SEM) and nanoSIMS analyses

The SEM images (Figure-II- 3A) clearly revealed a homogeneous dispersion of the sample embedded in a single layer of an ultra-thin section (500 nm). In Figure-II- 3A, a region of interest (ROI) where natural samples are present is identified by a red square. Both CDD cameras and SEM images have been used to identify these areas. Total ion counts (TIC) were performed before the nanoSIMS measurement for a best survey of the ROI (Figure-II- 3B). Since the ion yield also depends on the implantation time before the nanoSIMS analyses, the ROI was chosen for their best yield. In this way, the nanoSIMS analyses were performed on five regions of the ultra-fine section to ensure the diversity of the statistical ROI analyses. For example, Figure-II- 3B shows a distribution of a FeO mixture in a ROI (ROI3). In both images (Figure-II- 3B) and line scans (Figure-II- 3C), a spatial heterogeneity was detected on the particles.

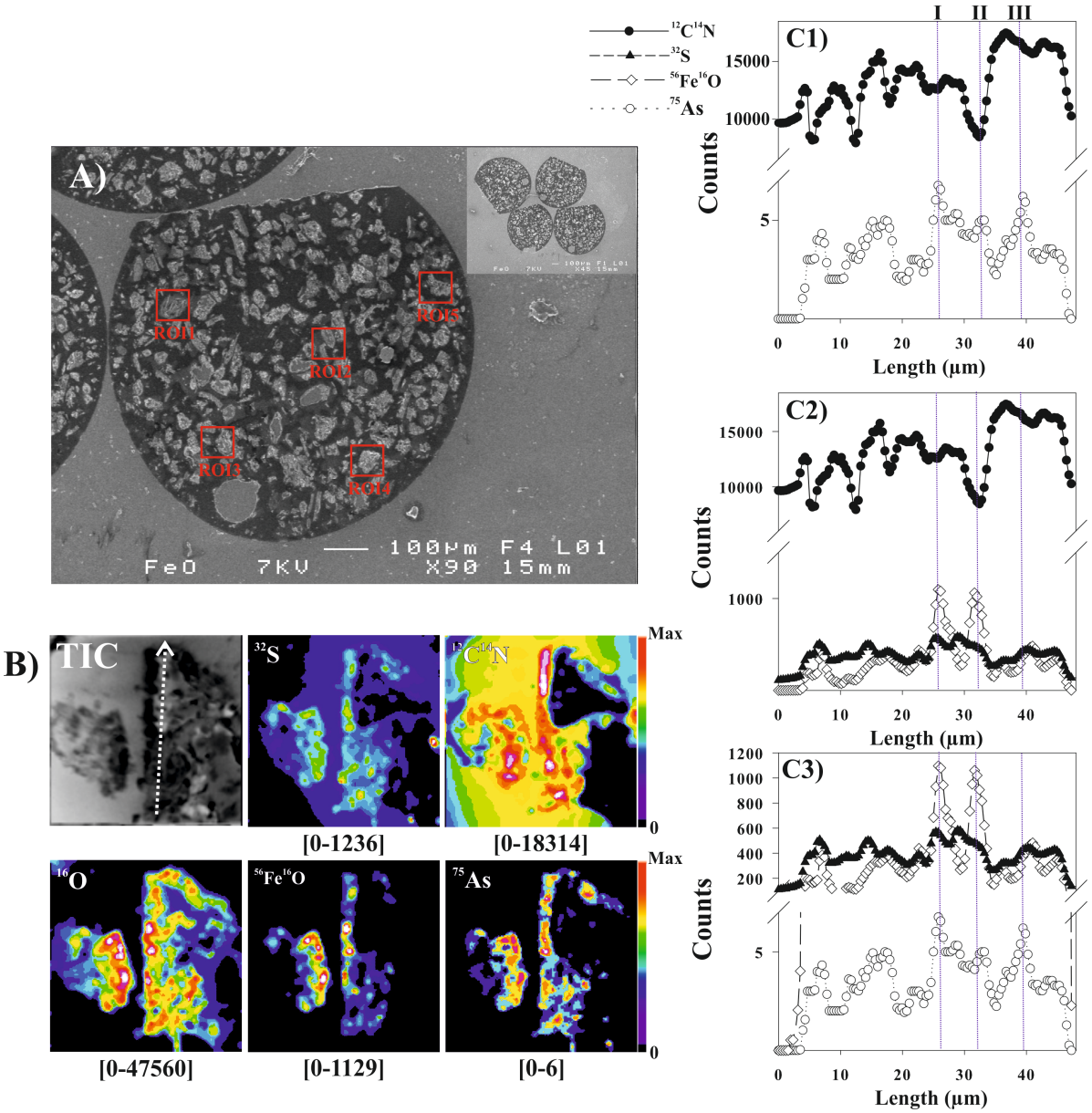


Figure-II- 3. A) Scanning electronic microscopy (SEM) characterization of ultra-thin section of sample P4 in epoxy resin and deposited on silicium wafer, B) nanoSIMS characterization of the area in red square on SEM image for natural organic matter (NOM) ($^{12}C^{14}N$), sulfur (^{32}S), iron oxide ($^{56}Fe^{16}O$) and arsenic (^{75}As); C) line scans of P4 sample follow the arrows on the total ion counts (TIC) image for each elements analyzed C1) compares $^{12}C^{14}N$ with ^{75}As, C2) compares $^{12}C^{14}N$ with ^{32}S and $^{56}Fe^{16}O$, whereas C3) compares ^{32}S with $^{56}Fe^{16}O$ and ^{75}As. The spot I, II, III are indicated for a better comparison of the different levels of element distribution.

By recording the specific organo-mineral precipitates, the images show that NOM was not uniformly distributed on the analyzed particles and that As, FeO and S have still a more complex distribution. In Figure-II- 3, the line scans C1 to C3 show the spatial patterns of the elements on one line. Besides its amorphous structure, the signal for $^{75}As^-$ and $^{12}C^{14}N^-$ seems to be collocated (Figure-II- 3 C1). Hot spots I and III

for $^{75}As^-$ are located with hot spots for $^{12}C^{14}N^-$. These collocated hot spots between $^{75}As^-$ and $^{12}C^{14}N^-$ might illustrate an interaction between both elements. Moreover, in Figure-II- 3C2, the $^{56}Fe^{16}O^-$ hot spots (I and II) are located on two different sites of $^{12}C^{14}N^-$. Spot I is located on a high $^{12}C^{14}N^-$ level, while spot II is located on a lower $^{12}C^{14}N^-$ level. $^{32}S^-$ seems to follow the same pattern as $^{56}Fe^{16}O^-$. On spot I, $^{32}S^-$ is collocated with both $^{56}Fe^{16}O^-$ and $^{12}C^{14}N^-$. However, on spot II, $^{56}Fe^{16}O^-$ and $^{32}S^-$ are dissociated. In this region, $^{32}S^-$ seems to be collocated with the $^{12}C^{14}N^-$ hot spots. These different patterns for $^{12}C^{14}N^-$, $^{56}Fe^{16}O^-$ and $^{32}S^-$ suggest a potential $^{32}S^-$ organic source. Simultaneously, hot spots I and II for $^{75}As^-$ are located with a hot spot for $^{56}Fe^{16}O^-$ (Figure-II- 3C3). However, Figure-II- 3C3 shows that hot spot III for $^{75}As^-$ is located with the $^{12}C^{14}N^-$ hot spot without any occurrence of a $^{56}Fe^{16}O^-$ hot spot. Thus, we suggest that these line scans might indicate two types of interactions: (1) $^{12}C^{14}N^-$, $^{32}S^-$, $^{56}Fe^{16}O^-$ and $^{75}As^-$, and (2) $^{12}C^{14}N^-$, $^{32}S^-$ and $^{75}As^-$.

As wetlands are characterized by a high amount of NOM, a large proportion of As might be bound to NOM. There is spectroscopic evidence showing that As can bind to NOM via sulfhydryl groups in the anoxic condition (Langner et al., 2011) and that ternary complexes can be produced between NOM, As(V), and Fe(III) under oxic conditions (Boyle and Jonasson 1973; Bauer and Blodau 2009; Sharma et al., 2010). Recent studies have suggested that metals (in particular Fe) might play an important role in the As-dissolved organic matter (DOM) interaction (Ritter et al., 2006; Bauer and Blodau 2009; Silva et al., 2009; Sharma et al., 2010). Ritter et al. (2006) observed a linear relationship between the amount of complexed As(V) and the Fe content of DOM, when investigating As complexation with DOM samples amended with Fe. Similarly, Bauer and Blodau (2009) found a strong correlation between As and Fe in dissolved, colloidal, and particulate fractions in DOM and Fe-rich solutions. Our results match with these previous works, however, given that the line scan evaluations are qualitative, their interpretations remain ambiguous. In the next section, we suggest a better characterization of the nanoSIMS images through statistical tools including the colocalization coefficient and principal component analysis (PCA).

II.3.2.1.2. Colocalization of arsenic, NOM, iron oxide, and sulfur

A special emphasis is placed here on the analysis of the spatial distribution of secondary ions and the statistical treatment for the colocalization between elements. Pearson's coefficient (PC) values for all ROI are displayed on Figure 4. On the

nanoSIMS mapping, we found positive correlations above +0.5 for all pairs of elements. The best PC colocalizations were observed for $^{32}S^{-}/^{75}As$, $^{16}O^{-}/^{75}As$, $^{16}O^{-}/^{32}S$ and $^{56}Fe^{16}O^{-}/^{75}As$, respectively. Bolte and Cordelières (2006) demonstrated that PC values show an efficient evaluation of colocalization events. However, using PCs alone may introduce ambiguity as the values are highly dependent on variations in the signal intensity and on the heterogeneous colocalization relationships throughout the sample. However, Manders's overlap coefficient (M1, Figure-II- 4) might be interesting to avoid these dependences. M1 is defined as the ratio of the "summed intensities of the pixels from image 1 for which the intensity in the image 2 channel is above zero" to the "total intensity in the image 1 channel" and conversely, M2 (Figure-II- 4) is defined for image 2. Therefore, M1 (or M2) is a good indicator of the proportion of the image 1 signal that coincides with a signal in the image 2 channel over its total intensity. Manders's coefficient may even apply if the intensities in both channels are quite different from one another. Figure-II- 4 presents also the result of Manders's coefficient for M1 and M2. M2 shows similar values than PC, whereas M1 displays higher variability between the elements. M1 shows a strong colocalization for $^{56}Fe^{16}O/^{75}As$, $^{32}S/^{75}As$ and $^{12}C^{14}N/^{32}S$. Again, as with the line scan analysis, the main possible interaction seems to be (1) between $^{12}C^{14}N^{-}/^{32}S^{-}/^{75}As^{-}$ and (2) between $^{75}As^{-}/^{56}Fe^{16}O^{-}/^{32}S^{-}/^{12}C^{14}N^{-}$. However, it is also important to know how the occurrence of sulfur is significant for the elements distribution in oxic conditions.

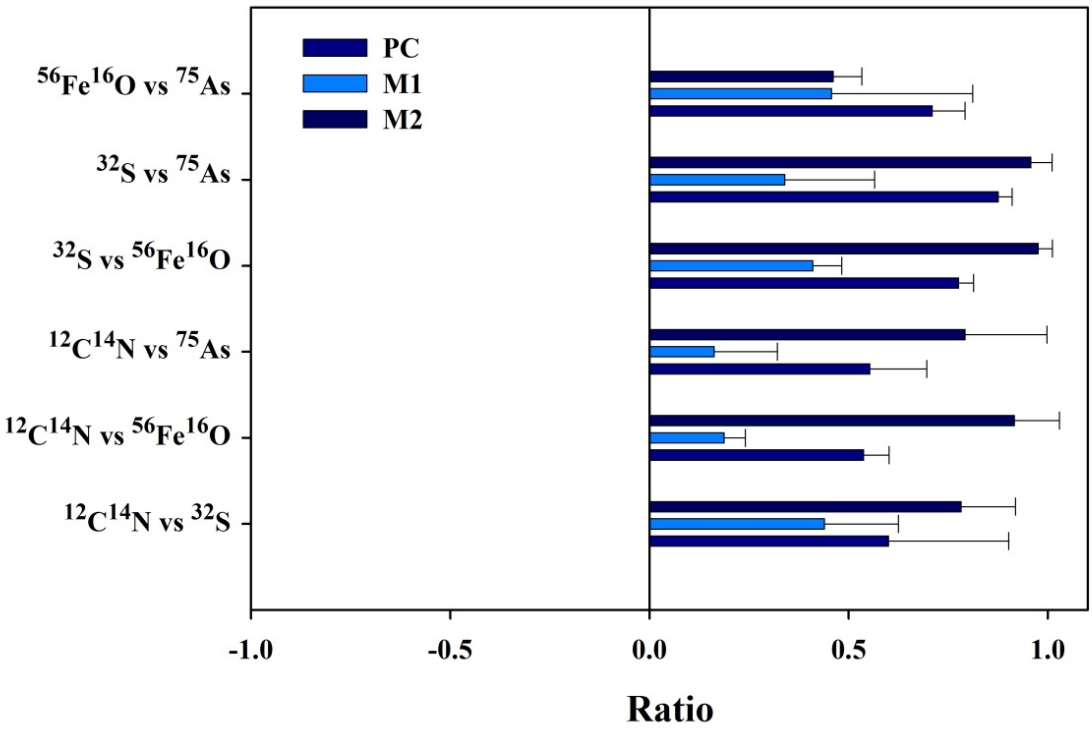


Figure-II- 4. Colocalization of elements in nanoSIMS mapping for Pearson's coefficient (PC) and for each dual-channel Mander's coefficient (M1 and M2).

In our study, the $^{56}Fe^{16}O^-/^{75}As^-/^{12}C^{14}N^-$-rich hot spots support the common assumption found in the literature that NOM and As(V) interactions occur through the formation of ternary complexes in which Fe(III) acts as bridges between both anionic NOM and As(V) (Redman et al., 2002; Mikutta and Kretzschmar 2011). Mikutta and Kretzschmar (2011) were the first to provide spectroscopic evidence for this type of ternary complex formation between As(V) and Fe(III)-NOM complexes. They suggested that this binding mechanism is fundamental for oxyanion cycles involving As(V) in organic-rich, oxic soils and sediments. On the other hand, recent laboratory studies showed that the removal of As(V) and NOM can be carried out independently. In fact, the removal of NOM might be explained by surface complexations as well as coagulation at nano-mineral surface, while the adsorption of As(V) might be due to ion-exchange processes (Wu et al., 2012). However, the mix between minerals and organic oxides (e.i. graphene oxide) in nanocrystal (i.e. iron oxide) involves a lower adsorption capacity of As(V) (Sheng et al., 2013; Wen et al, 2013). Our study provides supplementary information about the possible occurrence of such ternary complexes. Our results, through spatial observations, highlight two

other possible interactions between (1) ^{75}As-^{32}S-$^{12}C^{14}N$ and (2) ^{75}As-$^{56}Fe^{16}O$-^{32}S-$^{12}C^{14}N$ in which S might be a significant in the fate of As oxyanions with NOM and Fe oxides. Some studies have demonstrated, in wetlands under strongly reducing conditions, that NOM triggers the formation of sulfide-sequestrated As, leading to a reduction in As mobility (Hoffmann et al., 2012; Langner et al., 2011; 2013). Our results showed that the similar kind of processes might be possible under oxic conditions through the colocalization of $^{12}C^{14}N^-$/$^{32}S^-$/$^{75}As^-$, which points out the importance of $^{32}S^-$ in the observed distribution.

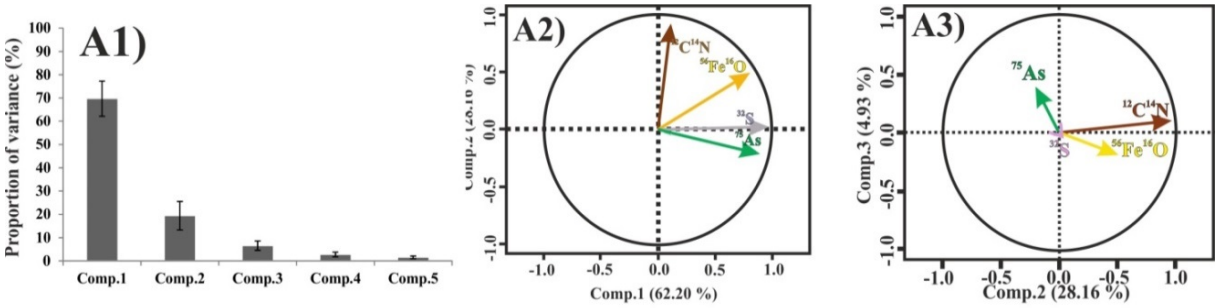
The colocalization observed in our experiment between As and NOM on the nanoSIMS images might also be partially explained by the composition of the NOM. The behavior of NOM can vary widely among geographical areas, depending on the biomass origin and subsequent transformations (Gu et al., 1995; Murphy et al., 1999). To explain the role of NOM in As mobility, Thanabalasingam and Pickering (1986) suggested a binding of As(V) to protonated amino groups of NOM. Buschmann et al., (2006) proposed a reaction of As(III) with phenolic OH groups, a formation of an adduct between As(III) and carboxylate groups stabilized by H-bonding, hydrophobic As(III)/NOM interactions and finally a nucleophile substitution reaction between phenolic OH groups and As(V). Furthermore, according to the works of Solaiman et al. (2009), As mobility into pore waters is strongly regulated by the quality (C:N ratio) and amount of NOM. They showed that by increasing NOM liability (low C:N ratio), more As was released into the pore waters. Finally, Parsons et al., (2013) demonstrated that redox oscillations in natural environments due to flooding and draining have the potential to stabilize contaminants in the solid phase and limit aqueous concentrations. Consequently, our hypothesis of other possible types of interactions such as $^{75}As^-$/$^{32}S^-$/$^{12}C^{14}N^-$ and $^{75}As^-$/$^{56}Fe^{16}O^-$/$^{32}S^-$/$^{12}C^{14}N^-$ is plausible considering the strong heterogeneity of NOM in riparian wetlands.

Another way to explain the $^{75}As^-$/$^{32}S^-$/$^{12}C^{14}N^-$ interaction might be through a potential interaction with Fe. Jones et al. (2009) demonstrated that the adsorption of silica to Fe(III) minerals and a high NOM concentration can inhibit direct Fe(II) adsorption onto the mineral surface and stop pure mineral crystallization. NOM tends to decrease Fe oxidation and hydrolysis, and promotes the formation of nanometer-sized Fe oxides by both inhibiting the development of hydroxide nuclei and reducing the aggregation of Fe nanoparticles (Pédrot et al., 2011). NOM is reported to control both the size and oxidation state of Fe in many natural waters (Gaffney et al., 2008).

Thus, $^{75}As^{-}/^{56}Fe^{16}O^{-}/^{32}S^{-}/^{12}C^{14}N^{-}$ might be nanosized Fe oxides embedded within an organic matrix with As included in the complex.

II.3.2.1.3. PCA analysis

The variances for the two principal components were above 85% (Figure-II- 5 A1). Thus, the system is principally driven by two principal components. The first component, correlated at 96 %, seems to be driven by $^{32}S^{-}$ (Figure-II- 5 A2 and B). The second component, with a correlation at 82%, seems strongly driven by $^{12}C^{14}N^{-}$ (Figure-II- 5A2 and B). Finally, correlated at 25%, the third component seems driven by $^{75}As^{-}$. Moreover, $^{75}As^{-}$ is also strongly correlated with first component, above 84%. In fact, S, As and FeO seem to have a linked behavior.



B)		Comp.1		Comp.2		Comp.3	
		correlation	s.d.	correlation	s.d.	correlation	s.d.
Average - ROI	^{32}S	**0.96**	0.02	0.04	0.11	-0.02	0.06
	^{75}As	0.90	0.04	-0.22	0.01	**0.25**	0.20
	$^{56}Fe^{16}O$	0.84	0.06	0.07	0.32	-0.21	0.41
	$^{12}C\ ^{14}N$	0.48	0.23	**0.82**	0.14	0.14	0.05

Figure-II- 5 PCA results for five ROI on UF section of ferric oxide from PTFE scavenger. A1) Percentage of the variance explained by each component; A2) example of PCA (ROI2) for components 1 and 2; A3) Example of PCA (ROI3) for components 2 and 3; B) Correlation of each element with components 1, 2 and 3. s.d. refers to standard deviation.

The PCA allowed to discover which elements seem to drive the whole distribution. NOM and S seem to be the key elements influencing the As distribution. Whereas sulfur is a well-known component for As interactions in anoxic conditions (Mikutta and Kretzschmar 2011; Hoffmann et al., 2012; 2014; Langner et al., 2011; 2013), our PCAs indicated that sulfur might also be an important component for As interactions and sequestration in oxic conditions for oscillating redox systems. However, a characterization of sulfur speciation is needed to understand by which mechanism

these interactions might occur in oxic condition. For instance, it is critical to know whether sulfur occurs more as organic or inorganic species in our samples.

II.3.2.2. X-Ray adsorption spectroscopy of sulfur

Speciation of S was studied in re-oxidation material originating from PTFE collector to obtain indirect information on the proportion of inorganic and organic S. Figure-II- 6 shows the S K-edge XANES spectra of bulk of P2, as well as their spectral deconvolution based on Gaussians representing resonance peaks of the main S functionalities (Vairavamurthy, 1998). P2 sample showed two distinct resonance-peaks for "reduced S" and "oxidized S". The first peak at 2472 eV is assigned to disulfide, and the second peak at 2473 eV assigned to thiol species, which both represent "reduced S" species. For the "oxidized S" species, the first peak at 2480 eV is assigned to sulfone and the second peak is assigned to sulfate species. "Intermediate oxidized S" species (sulfoxide and sulfite) with resonance peaks located between 2475 and 2479 eV were generally quantitatively less significant (Table A3, SI).

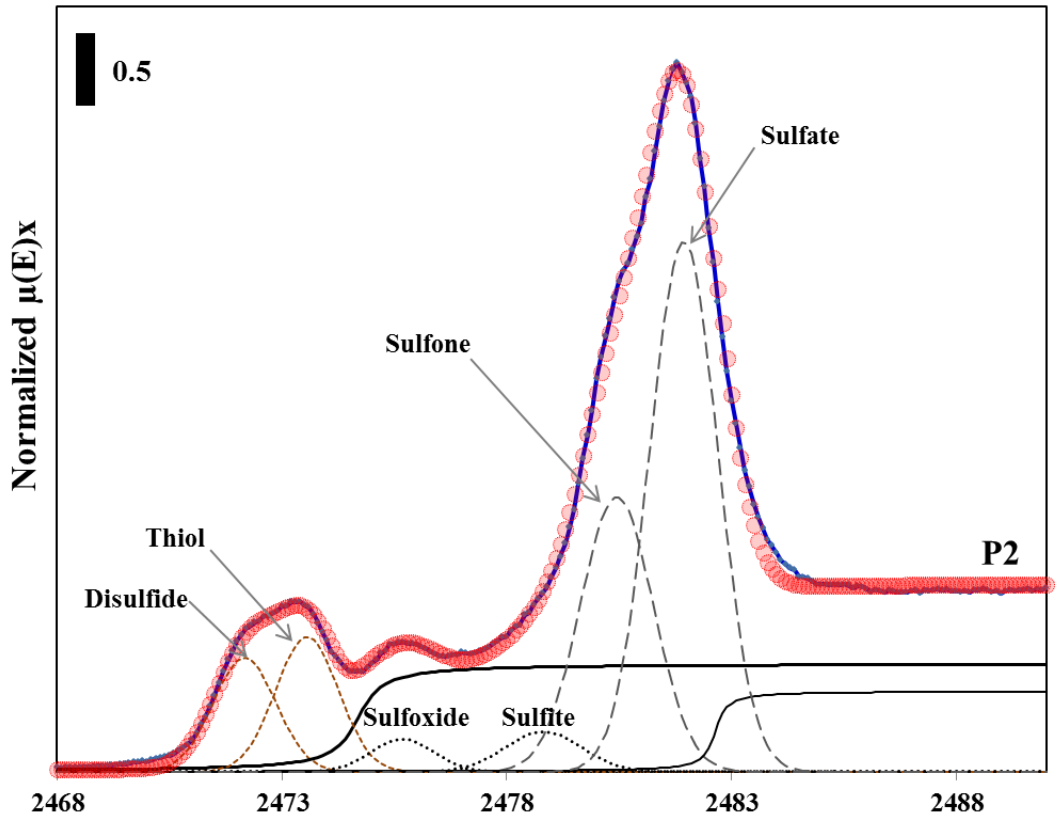


Figure-II- 6. Deconvolution of normalized bulk S K-edge XANES spectra into several Gaussians and two arctangent curves of A horizon samples bulk of P2. Data is shown as solid blue lines, fit envelopes as symbols, fit components as dashed lines, and arctangent functions as solid black lines. Parameter values and fit results are summarized in Tables A3, SI.

The major S species into the re-oxidation compounds seem to be organic S(-II) (52%) as well as inorganic S(+VI) (43 %). Both "oxidized" and "intermediate oxidized" S species were abundant in organo-mineral samples (Figure-II- 6, Table A3). However, the fitted fractions of sulfoxide and sulfite as part of the "intermediate oxidized S" are presumably overestimated in samples, since the energy range of 2475−2479 eV is significantly affected by post edge absorption features of reduced organic S species as well as the first arctangent function (Manceau and Nagy, 2012). Due to their low quantitative importance and in order to obtain a generally good fit quality, these "intermediate oxidized S" species were nonetheless included in our fitting procedure. With 55% of total S, "reduced S" was the dominant S against 45% of total sulfur in "oxidized S" form in samples species (Table A3, SI).

The presence of organic S might stabilize As (Langner et al., 2011) and potentially explain direct interactions between As and NOM. The co-existence of organic and inorganic sulfur might involve low kinetics of oxidation, which have major importance for riparian wetlands due to constant changes in the water levels (Du Laing et al., 2007). For instance, a recent laboratory study shows that only up to 33% of organosulfur complexed with As (III) were oxidized over 180 days of oxic conditions corresponding to an half-life time (t1/2) of 312 days (Langner et al., 2014). Consequently, the water cycle might avoid a total oxidation of the organosulfur complexed with the As in riparian wetland during low water level periods. Moreover, sulfate reduction is slowed in the presence of Fe reducing microorganisms (Lovley and Phillips, 1987). The re-oxidation compounds trapped on the PTFE sheets contained 75 % of NOM. NOM is reduced and contains sulfur groups including thiols (R-S-H), which are known to be highly reactive with As (Hoffman et al., 2014) and sulfide (R-S-S-R), which are trapped into NOM and thus less reactive. Our XANES results highlight that As might be directly associated with sulfur groups (i.e. thiol) of NOM in re-oxidation compounds of riparian wetlands. Moreover, in contraction to Langner et al (2014) the presence of oxidized S (43 %) involves the presence of oxyanions such as sulfate (SO_4^{2-}), a dominant S inorganic species (i.e. ~26%; Table A3, SI). The presence of coexisting anions (i.e. SO_4^{2-}) has showed an inhibiting effect on As(V) adsorption onto a mix of organic and iron oxides, which was more efficient at low pH (Sheng et al., 2012). Consequently, the adsorption on iron oxides and NOM could be limited by SO_4^{2-} and the pH of the soil (i.e. pH ~ 6, Fig. 1). Consequently, our study provides also supplementary information about the distribution and the sulfur speciation in interaction with As, Fe, NOM for natural re-

oxidation products that are constantly in redox-oscillations. In absence of As sulfide minerals, within reoxidation compounds for riparian wetland, the kinetics of organosulfur-coordinated As(III) are a relevant factor for their preservation.

II.4. Conclusion

Interactions between As, Fe, S and NOM, in natural sample at high resolution, within the soil solid phase were not as well documented. Here, we provided information on the distribution of these elements in the solid phase of a wetland with redox oscillations subsequent to the water level changes. PTFE collector devices worked satisfactorily to collect the compounds produced through the re-oxidation of the wetland soil solution. The bulk study showed a strong relationship between Fe and As distribution. However, at high resolution, nanoSIMS data treatments suggest the possible formation of (i) ternary interaction between NOM-FeO-As, which is often thought to play a major role in As-NOM interactions under oxic conditions and (ii) a second ternary interaction between NOM, S and As. XANES of S K-edge highlighted an "organic reduced S" form dominating the speciation of S with disulfides and thiols groups. We hypothesize a possible direct association between NOM and As by sulfur groups. The co-existence of organic and inorganic S species might be related to a slow oxidation kinetics of organosulfur complexed with As. Our study highlights the important role of organic and/or inorganic S in oxic riparian wetlands for As mobility. Consequently, in oxic condition, even though organic S only represents a small fraction of the re-oxidation compounds, the sulfur cycle might be a factor to consider in As mobility. Furthermore, as bacteria play an essential role in many steps of the S cycle (e.g. incorporation of sulfur into organic molecules), bacterial activity might also have a major role in the processes leading to the interactions between As and NOM. Particularly in wetland ecosystems, oxido-reduction reactions processes are catalyzed by microorganisms (Paul and Clark, 1996). Thus, the issues regarding the bio-kinetic of oxidation of organic sulfur would also be a relevant aspect to study, regarding the mobility of As in wetland environments.

Funding Sources

ANR, through the "Programme Jeunes Chercheurs": ARSENORG.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are thankful to Patrice Petitjean for his help with the resin embedding. We also acknowledge Patricia Madec and Martine Bouhnik-Le Coz for their assistance, which

was always appreciated. This study was funded by the French ANR, through the "Programme Jeunes Chercheurs": ARSENORG. We also thank a lot Joseph Lelannic, from CMEBA plateform, for the scientific discussion and his patience. His SEM experience was very enriching, and his images were always beautiful. Xavier Le Coz was a very good assistant for the preparation of our samples and he always provided very good material for our works. We also want to thank Marie-Thérèse Lavault and Agnès Burel, from Plateforme 'Microscopie Electronique Mric/BIOSIT/UMS 3480', for their help with the ultramicrotomy technique and their kindness with the section preparation. We also want to thank Christian Le Carlier for his help on gawk software.

REFERENCES

Aubert, A. H., C. Gascuel-Odoux and P. Mérot (2013). "Annual hysteresis of water quality: A method to analyse the effect of intra- and inter-annual climatic conditions." Journal of Hydrology **478**(0): 29-39.

Bauer, M. and C. Blodau (2009). "Arsenic distribution in the dissolved, colloidal and particulate size fraction of experimental solutions rich in dissolved organic matter and ferric iron." Geochimica et Cosmochimica Acta **73**(3): 529-542.

Belzile, N., R. R. Devitre and A. Tessier (1989). "In situ collected of diagenetic of iron and manganese oxyhydroxides from natural sediments." Nature **340**(6232): 376-377.

Bolte, S. and F. P. Cordelières (2006). "A guided tour into subcellular colocalization analysis in light microscopy." Journal of Microscopy **224**(3): 213-232.

Bourrié, G., F. Trolard, J.-M. R. G. Jaffrezic, V. Maître and M. Abdelmoula (1999). "Iron control by equilibria between hydroxy-Green Rusts and solutions in hydromorphic soils." Geochimica et Cosmochimica Acta **63**(19–20): 3417-3427.

Boyle, R. W. and I. R. Jonasson (1973). "The geochemistry of arsenic and its use as an indicator element in geochemical prospecting." Journal of Geochemical Exploration **2**(3): 251-296.

Carignan, J., P. Hild, G. Mevelle, J. Morel and D. Yeghicheyan (2001). "Routine Analyses of Trace Elements in Geological Samples using Flow Injection and Low Pressure On-Line Liquid Chromatography Coupled to ICP-MS: A Study of Geochemical Reference Materials BR, DR-N, UB-N, AN-G and GH." Geostandards Newsletter **25**(2-3): 187-198.

Cheng, R. C., L. Sun, W. Hsiao-Chiu and M. D. Beuhler (1994). "Enhanced coagulation for arsenic removal." Journal - American Water Works Association **86**(9): 79-90.

Davranche, M., M. Grybos, G. Gruau, M. Pédrot, A. Dia and R. Marsac (2011). "Rare earth element patterns: A tool for identifying trace metal sources during wetland soil reduction." Chemical Geology **284**(1–2): 127-137.

Dia, A., G. Gruau, G. Olivié-Lauquet, C. Riou, J. Molénat and P. Curmi (2000). "The distribution of rare earth elements in groundwaters: assessing the role of

source-rock composition, redox changes and colloidal particles." Geochimica et Cosmochimica Acta **64**(24): 4131-4151.

Du Laing, G., D. R. J. Vanthuyne, B. Vandecasteele, F. M. G. Tack and M. G. Verloo (2007). "Influence of hydrological regime on pore water metal concentrations in a contaminated sediment-derived soil." Environmental Pollution **147**(3): 615-625.

Edwards, M. (1994). "Chemistry of arsenic removal during coagulation and Fe-Mn oxidation." Chemistry of arsenic removal during coagulation and Fe-Mn oxidation **86**(9): 64-78.

Fendorf, S. and B. D. Kocar (2009). Biogeochemical process controlling the fate and tranport of arsenic : implications for south and southeast Asia. Advances in Agronomy, Volume 104. D. L. Sparks. San Diego, Elsevier Academic Press Inc. **104:** 137-164.

Gaffney, J. W., K. N. White and S. Boult (2008). "Oxidation state and size of Fe controlled by organic matter in natural waters." Environmental Science & Technology **42**(10): 3575-3581.

Gruau, G., A. Dia, G. Olivié-Lauquet, M. Davranche and G. Pinay (2004). "Controls on the distribution of rare earth elements in shallow groundwaters." Water Research **38**(16): 3576-3586.

Gu, B., J. Schmitt, Z. Chen, L. Liang and J. F. McCarthy (1995). "Adsorption and desorption of different organic matter fractions on iron oxide." Geochimica et Cosmochimica Acta **59**(2): 219-229.

Guerquin-Kern, J.-L., T.-D. Wu, C. Quintana and A. Croisy (2005). "Progress in analytical imaging of the cell by dynamic secondary ion mass spectrometry (SIMS microscopy)." Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects **1724**(3): 228-238.

Gulledge, J. H. and J. T. O'Connor (1973). "Removal of Arsenic (V) from Water by Adsorption on Aluminum and Ferric Hydroxides." Journal - American Water Works Association **65**(8): 548-552.

Hering, J., P. Chen, J. Wilkie and M. Elimelech (1997). "Arsenic Removal from Drinking Water during Coagulation." Journal of Environmental Engineering **123**(8): 800-807.

Hoffmann, M., C. Mikutta and R. Kretzschmar (2012). "Bisulfide Reaction with Natural Organic Matter Enhances Arsenite Sorption: Insights from X-ray Absorption Spectroscopy." Environmental Science & Technology **46**(21): 11788-11797.

Hoffmann, M., C. Mikutta and R. Kretzschmar (2014). "Arsenite Binding to Sulfhydryl Groups in the Absence and Presence of Ferrihydrite: A Model Study." Environmental Science & Technology **48**(7): 3822-3831.

Hoppe, P., S. Cohen and A. Meibom (2013). "NanoSIMS: Technical Aspects and Applications in Cosmochemistry and Biological Geochemistry." Geostandards and Geoanalytical Research **37**(2): 111-154.

Jones, A. M., R. N. Collins, J. Rose and T. D. Waite (2009). "The effect of silica and natural organic matter on the Fe(II)-catalysed transformation and reactivity of Fe(III) minerals." Geochimica et Cosmochimica Acta **73**(15): 4409-4422.

Kneebone, P. E., P. A. O'Day, N. Jones and J. G. Hering (2002). "Deposition and Fate of Arsenic in Iron- and Arsenic-Enriched Reservoir Sediments." Environmental Science & Technology **36**(3): 381-386.

Kocar, B. D., M. J. Herbel, K. J. Tufano and S. Fendorf (2006). "Contrasting Effects of Dissimilatory Iron(III) and Arsenic(V) Reduction on Arsenic Retention and Transport." Environmental Science & Technology **40**(21): 6715-6721.

Langner, P., C. Mikutta and R. Kretzschmar (2011). "Arsenic sequestration by organic sulphur in peat." Nature Geoscience **5**(1): 66-73.

Langner, P., C. Mikutta and R. Kretzschmar (2014). "Oxidation of Organosulfur-Coordinated Arsenic and Realgar in Peat: Implications for the Fate of Arsenic." Environmental Science & Technology **48**(4): 2281-2289.

Langner, P., C. Mikutta, E. Suess, M. A. Marcus and R. Kretzschmar (2013). "Spatial Distribution and Speciation of Arsenic in Peat Studied with Microfocused X-ray Fluorescence Spectrometry and X-ray Absorption Spectroscopy." Environmental Science & Technology **47**(17): 9706-9714.

Lechene, C., F. Hillion, G. McMahon, D. Benson, A. Kleinfeld, J. P. Kampf, D. Distel, Y. Luyten, J. Bonventre, D. Hentschel, K. Park, S. Ito, M. Schwartz, G. Benichou and G. Slodzian (2006). "High-resolution quantitative imaging of

mammalian and bacterial cells using stable isotope mass spectrometry." Journal of Biology **5**(6): 20.

Li, Q., A. Lau, T. J. Morris, L. Guo, C. B. Fordyce and E. F. Stanley (2004). "A syntaxin 1, G alpha(o), and N-type calcium channel complex at a presynaptic nerve terminal: Analysis by quantitative immunocolocalization." Journal of Neuroscience **24**(16): 4070-4081.

Liu, G. and Y. Cai (2010). "Complexation of arsenite with dissolved organic matter: Conditional distribution coefficients and apparent stability constants." Chemosphere **81**(7): 890-896.

Lovley, D. R. and E. J. P. Phillips (1987). "Competitive Mechanisms for Inhibition of Sulfate Reduction and Methane Production in the Zone of Ferric Iron Reduction in Sediments." Applied and Environmental Microbiology **53**(11): 2636-2641.

Mamtaz, R. and D. H. Bache (2001). "Reduction of arsenic in groundwater by co-precipitation with iron." Journal Water SRT **50**: 313-324

Manceau, A. and K. L. Nagy (2012). "Quantitative analysis of sulfur functional groups in natural organic matter by XANES spectroscopy." Geochimica et Cosmochimica Acta **99**(0): 206-223.

Manders, E. M. M., F. J. Verbeek and J. A. Aten (1993). "Measurement of co-localization of objects in dual-colour confocal images." Journal of Microscopy **169**(3): 375-382.

Manders, E. M. M., A. E. Visser, A. Koppen, W. C. de Leeuw, R. van Liere, G. J. Brakenhoff and R. van Driel (2003). "Four-dimensional imaging of chromatin dynamics during the assembly of the interphase nucleus." Chromosome Research **11**(5): 537-547.

Meharg, A. A. and M. Rahman (2003). "Arsenic contamination of Bangladesh paddy field soils: Implications for rice contribution to arsenic consumption." Environmental Science & Technology **37**(2): 229-234.

Mikutta, C. and R. Kretzschmar (2011). "Spectroscopic Evidence for Ternary Complex Formation between Arsenate and Ferric Iron Complexes of Humic Substances." Environmental Science & Technology **45**(22): 9550-9557.

Mueller, C. W., A. Kölbl, C. Hoeschen, F. Hillion, K. Heister, A. M. Herrmann and I. Kögel-Knabner (2012). "Submicron scale imaging of soil organic matter dynamics using NanoSIMS – From single particles to intact aggregates." Organic Geochemistry **42**(12): 1476-1488.

Murphy, R. J., J. J. Lenhart and B. D. Honeyman (1999). "The sorption of thorium (IV) and uranium (VI) to hematite in the presence of natural organic matter." Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects **157**(1–3): 47-62.

Olivié-Lauquet, G., G. Gruau, A. Dia, C. Riou, A. Jaffrezic and O. Henin (2001). "Release of Trace Elements in Wetlands: Role of Seasonal Variability." Water Research **35**(4): 943-952.

Parsons, C. T., R.-M. Couture, E. O. Omoregie, F. Bardelli, J.-M. Greneche, G. Roman-Ross and L. Charlet (2013). "The impact of oscillating redox conditions: Arsenic immobilisation in contaminated calcareous floodplain soils." Environmental Pollution **178**(0): 254-263.

Pédrot, M., A. Dia, M. Davranche, M. Bouhnik-Le Coz, O. Henin, G. Gruau (2008). "Insights into colloid-mediated trace element release at the soil/water interface." Journal of Colloid and Interface Science **325**(1): 187-197.

Pédrot, M., A. Dia, M. Davranche (2009). "Double pH control on humic substance-borne trace elements distribution in soil waters as inferred from ultrafiltration." Journal of Colloid and Interface Science **339**(2): 390-403.

Pédrot, M., A. L. Boudec, M. Davranche, A. Dia and O. Henin (2011). "How does organic matter constrain the nature, size and availability of Fe nanoparticles for biological reduction?" Journal of Colloid and Interface Science **359**(1): 75-85.

Ponnemperuma, F. N. (1972). "The chemistry of submerged soil." Advances in Agronomy **24**(29): 96.

Pourret, O., M. Davranche, G. Gruau and A. Dia (2007). "Organic complexation of rare earth elements in natural waters: Evaluating model calculations from ultrafiltration data." Geochimica et Cosmochimica Acta **71**(11): 2718-2735.

Ravel, B. and M. Newville (2005). "Athena, Artemis, Hepaestus: data analysis for X-ray absorption spectroscopy using IFEFFIT." Journal of Synchrotron Radiation **12**(4): 537-541.

Redman, A. D., D. L. Macalady and D. Ahmann (2002). "Natural Organic Matter Affects Arsenic Speciation and Sorption onto Hematite." Environmental Science & Technology **36**(13): 2889-2896.

Ritter, K., G. R. Aiken, J. F. Ranville, M. Bauer and D. L. Macalady (2006). "Evidence for the aquatic binding of arsenate by natural organic matter-suspended Fe(III)." Environmental Science & Technology **40**(17): 5380-5387.

Scott, K. N., J. F. Green, H. D. Do and S. J. McLean (1995). "Arsenic removal by coagulation." American Water Works Association **87**(4): 114-126.

Sharma, P., J. Ofner and A. Kappler (2010). "Formation of Binary and Ternary Colloids and Dissolved Complexes of Organic Matter, Fe and As." Environmental Science & Technology **44**(12): 4479-4485.

Shimizu, N. and S. R. Hart (1982). "Isotope fractionation in secondary ion mass spectrometry." Journal of Applied Physics **53**(3): 1303-1311.

Silva, G. C., I. F. Vasconcelos, R. P. de Carvalho, M. S. S. Dantas and V. S. T. Ciminelli (2009). "Molecular modeling of iron and arsenic interactions with carboxy groups in natural biomass." Environmental Chemistry **6**(4): 350-356.

Smith, N. M., R. Lee, D. T. Heitkemper, K. D. Cafferky, A. Haque and A. K. Henderson (2006). "Inorganic arsenic in cooked rice and vegetables from Bangladeshi households." Science of the Total Environment **370**(2-3): 294-301.

Solaiman, A. R. M., A. A. Meharg, A. G. Gault and J. M. Charnock (2009). "Arsenic mobilization from iron oxyhydroxides is regulated by organic matter carbon to nitrogen (C:N) ratio." Environment International **35**(3): 480-484.

Thanabalasingam, P. and W. F. Pickering (1986). "Arsenic sorption by humic acids." Environmental Pollution Series B, Chemical and Physical **12**(3): 233-246.

Vairavamurthy, A. (1998). "Using X-ray absorption to probe sulfur oxidation states in complex molecules." Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy **54**(12): 2009-2017.

Vairavamurthy, M. A., D. Maletic, S. Wang, B. Manowitz, T. Eglinton and T. Lyons (1997). "Characterization of Sulfur-Containing Functional Groups in Sedimentary Humic Substances by X-ray Absorption Near-Edge Structure Spectroscopy." Energy & Fuels **11**(3): 546-553.

Winterholler, B., P. Hoppe, S. Foley and M. O. Andreae (2008). "Sulfur isotope ratio measurements of individual sulfate particles by NanoSIMS." International Journal of Mass Spectrometry **272**(1): 63-77.

Xia, K., F. Weesner, W. F. Bleam, P. A. Helmke, P. R. Bloom and U. L. Skyllberg (1998). "XANES Studies of Oxidation States of Sulfur in Aquatic and Soil Humic Substances." Soil Sci. Soc. Am. J. **62**(5): 1240-1246.

Yéghicheyan, D., C. Bossy, M. Bouhnik Le Coz, C. Douchet, G. Granier, A. Heimburger, F. Lacan, A. Lanzanova, T. C. C. Rousseau, J.-L. Seidel, M. Tharaud, F. Candaudap, J. Chmeleff, C. Cloquet, S. Delpoux, M. Labatut, R. Losno, C. Pradoux, Y. Sivry and J. E. Sonke (2013). "A Compilation of Silicon, Rare Earth Element and Twenty-One other Trace Element Concentrations in the Natural River Water Reference Material SLRS-5 (NRC-CNRC)." Geostandards and Geoanalytical Research: n/a-n/a.

CHAPITRE III – Article 2

Impact of Fe_3O_4-nanoparticles surface composition on natural organic matter and trace metal mobility within wetland soil: new insights from a set of wetland soil leaching experiments

Maya Al-Sid-Cheikh[1,*†], Mathieu Pédrot[1], Aline Dia[1], Jérôme Rose[2], Mélanie Davranche[1], Laurent Jeanneau[1], Anne-Catherine Pierson-Wickmann[1], Patrice Petitjean[1], Martine Bouhnik-Le Coz[1] and Fabien Grasset[3]

[1] Géosciences Rennes - CNRS UMR 6118 - Université Rennes 1 - Av. General Leclerc, 35042 Rennes, Cedex. France

[2] CEREGE - CNRS UMR 7330 - Université Aix Marseille - Europole de l'Arbois - BP 80 13545 Aix - en - Provence - Cedex 4. France

[3] Institut des Sciences Chimiques de Rennes, CNRS UMR 6226 - University Rennes 1 - CNRS UMR 6226 - Av. General Leclerc, 35042 Rennes Cedex. France

En voie de soumission à CHEMOSPHERE

[*] Corresponding author

[†] present e-mail: maya.al-sid-cheikh@univ-rennes1.fr phone: (+33)2.23.23.32.43

permanent e-mail: maya.alsid@gmail.com

Résumé

L'étude du transport des nanoparticules d'oxydes de fer manufacturées, telles que les magnétites (nano-Fe_3O_4) dans les milieux poreux, est essentielle pour comprendre leur impact dans les aquifères. Les études précédentes utilisent principalement des supports poreux artificiels, ce qui limite notre compréhension sur l'impact réel des nanoparticules dans les milieux naturel du sol, et par conséquent l'évaluation des réels risques engendrés par ces matériaux. Par des expériences de lixiviation de colonnes de sol naturel, notre étude présente les effets induit par la nano-Fe_3O_4 (~ 10 nm) sur la mobilité éléments trace (ET) et des colloïdes dans l'horizon organo-minéral d'un sol naturel de zone humide riparienne. Deux compositions de surface pour les nano-Fe_3O_4 ont été utilisées: (1) nue, (2) enrobée avec une molécule organique composée de groupement thiols (-SH) et carboxilique (-COOH), i.e. l'acide dimercapto-succinique (DMSA). Nos résultats montrent que les nano-Fe_3O_4 enrobées semble influencer la mobilité et la composition de la matière organique naturelle (MON) lessivée du sol. D'autre part, la mobilité des nano-Fe_3O_4 enrobées semble plus importante que celle des nano-Fe_3O_4 nues, même si ces dernières semblent être partiellement stabilisées par la MON par effet d'enrobage. Toutefois, la mobilité des ET semble augmenter en présence de nano-Fe_3O_4 nues avec un transfert des éléments vers la fraction colloïdale. Nous émettons l'hypothèse que la MON, où les ET sont associées, stabiliserait les nanoparticules et augmenterait la mobilité des ET par l'effet stabilisateur de la MON sur les nanoparticules. Ce phénomène semble moins possible avec le nano-Fe_3O_4 enrobées, où au contraire, la MON pourrait interférer sur les sites actifs d'adsorption de l'enrobage.

Abstract

Transport of oxide engineered oxide nanoparticles, such as magnetite nano-Fe_3O_4 in porous media, is critical to understand the impact of engineered nanoparticles (ENPs) in soils. Previous studies using artificial porous media could however not correctly highlighted the effect involved by the input of ENPs within soil environment, and consequently assess the environmental implication and health risks involved by resulting effect. This work presents the effects involved by the nano-Fe_3O_4 on the colloidal transport of trace elements (TEs) within the organo-mineral horizon using natural wetland soil in column leaching experiments. Two different surface compositions of nano-Fe_3O_4 (~10 nm) were used: (i) bare surface, (ii) dimercapto-succinic acid (DMSA) coating. Our results show that the nanoparticle coating seems to impact the natural organic matter (NOM) mobility during the leaching experiments. More specifically, the mobility of the coated nano-Fe_3O_4 seems higher than that of the uncoated nano-Fe_3O_4, since they are partially stabilized by the NOM (coating effect). Besides, the TEs mobility seems to increase in presence of uncoated nano-Fe_3O_4 with a transfer of the elements into the colloidal fraction. This might be explained by an interaction between the nanoparticles and the NOM, where the TEs associated with NOM would be carried along with the stabilized nanoparticles in interaction with the NOM. This phenomenon seems less possible with the coated nano-Fe_3O_4, which are protected by the DMSA coating.

III.1 Introduction

During the last decade the fate and behavior of engineered nanoparticles (ENPs) was extensively studied. The increasing production of various ENPs and their widespread utilization will inevitably result in their release into the environment [118, 119]. Moreover, several studies have pointed the health risk associated with many ENPs [18, 120, 121]. Besides, nanosized metal oxides (<100 nm), such as iron oxides, provide high surface area and specific affinity for heavy metal adsorption in aqueous systems [122], which grows the concerns about their potential indirect toxic effect through their impact on these heavy metals. Recently, the magnetite nanoparticles (nano-Fe_3O_4) attracted much attention for their apparent capacity to trap and remove toxic metals (e.g.[123-125]. This profitable property of nano-Fe_3O_4 as a heavy metal catcher from wastewater [34, 122] should increase their uses and their spreading into the soil environment. Understanding the ENPs behavior in soils in relation with heavy metals is therefore a relevant issue regarding human health and environment wellbeing.

The first efforts to understand the impact of ENPs in soils were about the understanding of their transport mechanisms in porous media. Indeed, different studies have shown that ENPs mobility in porous media is strongly dependent on the pore size, the organization, the physicochemical parameters (ionic strength, pH, presence of natural organic matter), the ENPs surface properties, the surface water flow [126] and consequently the soil composition. However, most leaching studies related to the fate and behavior of ENPs have used artificial porous media with well-defined material such as glass beads [127-129], homogeneous quartz [128, 130] or sand in column experiments [126, 131, 132]. Only few studies investigated the transport of ENPs into natural soils. Indeed, the works of Sagee, et al. [133] carried out into a Mediterranean sandy clay soil point out the importance of humic acids for the transport of ENPs. Likewise, many studies have implicated natural organic matter (NOM) as an important contributor increasing the mobility of trace elements (TEs) in soils (e.g.[79, 134, 135]. Indeed, a large fraction of the TEs is closely associated with the NOM including the colloidal fraction in many natural waters and soil solution [136-138]. Unfortunately, as artificial porous media do not represent the whole, and significant, soil complexity, these studies can not really highlight the behavior of ENPs within soil environment and consequently assess their impact on TEs.

An important part of this complexity relies on the occurrence of organic and inorganic colloids, which must have a key role for the TEs mobilization in soils and water. Indeed, it has been shown that TEs can adsorb onto organic-rich colloidal material (i.e. NOM), which are consequently sequestrated into the soil forming organo-mineral complexes or transferred into groundwaters or surface waters [139]. A strong correlation between organic matter and many transition elements, including Co, Ni, Cu, Pb and Zn has been shown [140] [136]. Furthermore, iron colloids, such as iron oxides, can also be considered as a carrier phases for TEs (e.g. As, Ba, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn) [141]. Moreover, even if some ENPs, also part of the colloidal fraction, such as Nano-Fe_3O_4, have shown a great adsorption capacity to remove TEs, their true effect on TEs association with organic and inorganic colloids in environmental system remains unknown. Considering the natural role of such species in TEs mobility, their higher reactivity, and their great potential to outcompete carbon material to adsorb TEs (Sharma and Sohn, 2009), their fate represents a relevant aspect of their impact on the environment and, in larger scale, on human health (Wiesner et al., 2006).

The aim of the present study was to investigate the effect of nano-Fe_3O_4 on the mobility of TEs, organic and inorganic colloids in natural soil media. Column leaching experiments were carried out, as they have shown to be appropriate for providing the information about heavy metal release and associated transport in soil [142, 143]. Natural soils from a wetland chosen for its high TEs and NOM concentrations were used in this study. Nano-Fe_3O_4 with two different surface compositions were used: (i) bare ones, (ii) dimercapto-succinic acid (DMSA) coated ones. The leaching solutions were sampled during the experiments and analyzed by luminescence spectroscopy (for aromaticity and 3D fluorescence), pyrolysis gas-chromatography (for NOM characterization) and ICP-MS (for total element concentrations in filtrated and ultrafiltrated fractions). Finally, the soil columns were analyzed by micro X-ray fluorescence (μXRF) after the experiment in order to determine the ENPs distributions within the soil column. Our results suggest that the nano-Fe_3O_4 surface compositions have an impact on the TEs mobility. The coated nano-Fe_3O_4 seem to have a larger mobility than the uncoated ones, allowing them to be transferred within the organo-mineral horizon. The results reveal also that the coated nano-Fe_3O_4 might also interact in deeper soil horizons, characterized by different element compositions.

III.2 Experimental section

III.2.1 Magnetite nanoparticles (nano-Fe_3O_4)

III.2.1.1 Synthesis of bare nano-Fe_3O_4

Magnetite (nano-Fe_3O_4) powders were first prepared by soft chemistry using co-precipitation of precursor's cation $FeSO_4 \bullet 4H_2O$ (99%, Aldrich) and $Fe(NO_3)_3 \bullet 6H_2O$ (99%, Acros) (Fe^{2+}/Fe^{3+} = 1/2) in distilled water. The mixture was dropped into 200 mL of NaOH (2 $mol \cdot L^{-1}$) solution under vigorous stirring for about 30 min. A black precipitate of magnetite was formed. The precipitate was isolated by decantation on a magnet, separated by centrifugation (4000 rpm), washed in acetone, and dispersed in pure water. The nano-Fe_3O_4 washing step was reproduced three times. The nano-Fe_3O_4s were kept in water solution and stored in gloves box under nitrogen atmosphere to keep them unspoiled by oxidation process.

III.2.1.2 Surface modification by organic coating (nano-Fe3O4@DMSA)

Ligand exchange reaction of oleic acid for dimercaptosuccinic acid (DMSA) was used to transform hydrophobic magnetite nanoparticles into hydrophilic ones, following a reported procedure [70-73]. The particle surface was modified with DMSA to provide free ligand groups for biomolecule conjugation and a negative charge at pH 7, for greater stability in aqueous media [72]. Particles were coagulated from the hydrophobic suspension (50 mg/5 ml) by ethanol addition, centrifugation (2825×g, 10 min) and elimination of the solution. A mixture of 25 ml toluene and a solution of 90 mg DMSA in 5 ml dimethylsulfoxide (DMSO) was added to the coagulated particles, which were sonicated (5 min) and stirred mechanically (24 h). Solvent was then discarded, precipitated particles washed and centrifuged three times with an ethanol:acetone mixture (50:50, v/v). Finally, nanoparticles were dispersed in alkaline H_2O before dispersion at pH 7, dialyzed and filtered through a 0.22 µm cut-off. Finally, the characterization of nano-Fe_3O_4 by TEM is shown in Fig SI. 1.

III.2.2 Nano-Fe_3O_4 leaching soil experiments

III.2.2.1 Column

A total of 9 columns (i.e. 3 experiments in triplicate) were made from poly (methyl methacrylate)) (PMMA) pipe with an inner diameter of 4 cm and length of 50 cm. The bottom of each of these columns was trimmed to a wedge to facilitate insertion

of PTFE cap. Each cap was equipped of polyethylene filter with a porosity of 100µm (2F Technologies, France).

III.2.2.2 Packing

Natural wetland soil from Pleine-Fougères (southwestern France) was used as the porous media for all columns experiments. Organic–rich soil were sampling from Pleine-Fougère wetland for nano-Fe_3O_4 interaction. Detailed information is in supporting information (SI, Table S1). The soil samples (i.e. organo-mineral horizon, A) were prepared according to environmental protection agency (EPA) soil sampling protocol (i.e. method 5035) [144]. The soil was dried at 40 °C for 72 h and the agglomerates were broken by hand. Particles larger than 2 mm were removed by sieving. The experiments described here were conducted using the soil fraction smaller than 2-mm size. The granulometric composition of the soil was determined at the INRA central analysis laboratory in Arras (France) (Table SI. 1). The organic carbon content was determined at the SARM laboratory in Nancy (France), using an oxygen combustion method with a CS analyzer (LECO SC 144DRPC) (Table SI. 1). Further information and characterization of the upper soil in Pleine-Fougères wetland can be found in SI.

III.2.2.3 Packing procedure

The packing procedure follows the OECD protocol guideline 312 [145]. The column were packed with sieved soil (<2mm) up to a height of approximatively 38 cm. To obtain uniform packing, the soil was added to the columns in small portions with a spoon and pressed with a plunger under simultaneous gentle column vibration until the top of the soil column does not further sink. Uniform packing is required for obtaining reproducible results from leaching columns.

III.2.2.4 Pore volume (PV) measurement

After packing, the soil columns were pre-wetted with artificial rain ($5 \bullet 10^{-3}$ M NaCl) from bottom to top in order to displace the air in the soil pores by water. Thereafter, the soil columns were allowed to equilibrate and the volume used to wet the soil column were measured by weight difference between the start and the end weight of the bottle with the ultrapure water with an ionic strength settled at $5 \bullet 10^{-3}$M in NaCl.

III.2.2.5 Leaching experiment set-up

For a real comparison with the literature, the OECD protocol was used for the leaching soil experiment [145]. Peristaltic pump was used to apply artificial rain water or nano-Fe_3O_4 suspensions at 5 mL•min^{-1} (i.e. ~0.4 mL min^{-1} cm^{-2}). The flow rates were constantly controlled. Three types of experiments were performed with different leaching solution: (1) Blank which is synthetic rain water for Milli-Q water with a ionic strength (IS) at 5•10^{-3}M NaCl and pH ~ 6.5, (2) bare nano-Fe_3O_4 in suspension (IS = 5•10^{-3}M NaCl, pH ~ 6.5 and [Fe] ~ 20mg L^{-1}) and, (3) nano-Fe_3O_4 coated with DMSA polymer in suspension (IS = 5•10^{-3}M NaCl, pH ~ 6.5 and [Fe] ~ 20mg L^{-1}). Prior each column experiment (i.e. same day), nano-Fe_3O_4 were transferred from gloves box (i.e. nitrogen atmosphere) to a pure water solution (i.e. oxygen atmosphere). The nano-Fe_3O_4 leaching solutions were constantly stirring throughout the leaching experiments. The leaching soil experiments were performed for 28h. For the nano-Fe_3O_4 experiments (bare and coated) only 2L were spiked. After these two first liters, synthetic water (IS = 5•10^{-3}M NaCl, pH ~ 6.5) came after up to the end of the experiment. The leaching samples were collected by an Eldex universal fraction collector with an interval time of 10 min per fraction. Full data for the initial leaching solution are in SI (Table S2).

III.2.3 Fractionation

To evaluate the distribution of TEs and various colloidal pools, the leaching samples were fractionated in three ultrafiltration cut-off with 30kDa for the colloidal, 5kDa for intermediate and 2kDa for the 'truly' dissolved fraction. All collected leached waters were filtrated (i.e. cut-off of 0.22µm, polyether sulfone membrane, Sartorius Minisart). Sampling was settled on the leached volume. Twelve samples (S1 to S12) were collected for 0.22 µm fraction (PV ≈ 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 20, 24, 28, 30). Five PV (i.e. PV ≈ 2, 4, 8, 16 and 30; corresponding to S1, S2, S4, S8 and S12;) were fractionated at 30, 5 and 2 kDa by ultrafiltration cells (15 mL centrifugal tubes, Vivaspin). All analyses were performed on these different fractions (i.e. C_{org}, Total major and trace element concentrations, Aromaticity, EEM).

III.2.4 Chemical parameters

Redox (Eh) and pH potential were constantly recorded throughout the experiments. For the accuracy, the electrodes were calibrated for each experiment with WTW solution for the pH (i.e. 4.01 and 7 at 25°C) and potential redox buffer

standard (i.e. 220mV). The flow rates were constantly controlled to measure the volume in time function. All chemical parameters and flow rate experiments are in SI (Fig. SI 2).

III.2.5 Depth profile by micro-XRF analyses

The samples were analyzed by micro-X-ray fluorescence spectroscopy at CEREGE (Aix-en-Provence, France). Solid soil samples preparation was adapted from Solovitch, et al. [126]. Columns containing retained nano-Fe_3O_4 after the deposition experiments were frozen and cut in vertical section of 9.5 cm and in longitudinal slices of 2 cm thickness. Laboratory-based micro X-ray fluorescence (μ-XRF) measurements were done on the samples that were kept frozen using a Peltier cooled sample holder. Measurements were carried out on a HORIBA XGT - 7000 microscope equipped with an X-ray guide tube producing a finely focused and high-intensity beam with a 100 μm spot size and a tension of 50 kV. For each mapping, pixel width was 100 μm, and up to 12 scans were recorded for each individual sample. Spectral data processing was performed in image J software. To track the nano-Fe_3O_4 in the soil matrix, the nano-Fe_3O_4 were synthetized with 30 % of Co(II). The results of μ-XRF analyses presented in this paper concern the three leaching experiment realized (i.e. blank, bare and coated nano-Fe_3O_4).

III.2.6 Total quantification analyses

III.2.6.1 Characterization of organic molecules

The Dissolved Organic Carbon concentrations (DOC) were analyzed with a total organic carbon analyzer (Shimadzu TOC-5050A). The accuracy of DOC measurement was under 5% and checked for each analysis. The Uv absorption used for the SUVA and aromaticity index were performed at 250 nm with a Perkin-Elmer spectrophotometer. The theory of SUVA and aromaticity can be found in SI (see Analysis 1).

The fluorescence of matrices excitation, emission matrices (EEMf) were recorded with a Perkin - Elmer LS 55. Samples were contained in a 1 cm path length fused silica cell (Hellma), thermostated at 20 °C. Fluorescence EEM spectroscopy involved scanning and recording 45 individual emission spectra (250–700 nm) at sequential 5 nm increments of excitation wavelength between 230 nm and 420 nm. Spectra were obtained by subtracting ultrapure water blank spectra, recorded under the same conditions, to eliminate water Raman peaks. The EEMf are available in SI (see

Analysis 2). The indexes of Humification (HIX) and biological activity (BIX) were calculated and the theory is explained in SI (see Analysis 2). The HIX index, introduced by Zsolnay, et al. [99], characterizes the hydrophobicity of humus and the progressive humification in soil of heterogeneous hydrophobic molecules, which become protected from microbial degradation and the values are above 10 characterized a NOM strongly hydrophobic as described by Huguet, et al. [146].

III.2.6.2 Molecular characterization by Pyrolysis - Gas Chromatography - Mass Spectrometry (Py-GC-MS)

Five PV were selected to assess the molecular composition of the NOM during the leaching soil experiment (S1, S2, S4, S8, and S12). To assess the presence of DMSA in the NOM, the samples were fractionated with smallest cut-off size of 3 kDa Jumbosep® centrifugal devices (Pall® Life Sciences). The solid final amount for the GC-MS analyses should be approximatively of 200 mg. To meet the amount required for Py-GC-MS analyses, a volume between 100 and 250 mL according to the DOC concentration was selected. The samples were frozen (i.e. -20°C) and lyophilized for one week to obtain solid samples. The setting and design procedure of Py-GC-MS analyses is described in SI (see Analysis 3).

III.2.6.3 Major and trace elements

The total concentration of each PV and fraction were analyzed during the leaching soil experiment. The major and trace elements were analyzed with an ICP-MS (Agilent 7700X). The samples were filtrated at 0.22 µm, and fractionated at 30, 5 and 2 kDa then directly acidified by nitric acid (HNO_3; 14.6 N) at 2% v/v for ICP-MS analysis. Calibration curves and accuracy controls were performed in accordance with [104], using river water reference material for TEs with a large compositional range (SLRS5, National Research Council of Canada). The total relative uncertainties were ca ± 5%.

III.3 Results and discussion

III.3.1 Impact of nano-Fe_3O_4 on NOM

III.3.1.1 Blank leaching soil experiment

TEs mobility is strongly bound to the NOM behavior. NOM in soils plays an important role in the biogeochemistry of carbon, nitrogen and phosphorus, in

pedogenesis, and in the transport of pollutants in soils [147]. The measured DOC, in the blank leaching experiment (Figure-III- 1 a-1), suggests a classical elimination [139] in two steps where 70 % of the DOC was leached in the six first PV. A large part of the DOC leached in the six first PV corresponds to its lowest size fraction (below 2kDa) and show a low aromaticity (i.e. <15 %, Figure-III- 1 a-2). This large proportion of small dissolved organic compounds might be explained by a large bacterial activity, consuming organic matter[147, 148].. By contrast to the low aromaticity of the first PVs, which could result from bacterial-produced simple metabolites, the high aromaticity (i.e. above 30%) observed in the last PVs (Figure-III- 1 a-2) should correspond to the refractory organic matter [149, 150]. Indeed, the aromaticity observed in the last PVs (for fractions below 5 and 30 kDa, and 0.22 μm) had the same tendency but with higher aromaticity than the one observed in the first PVs (Fig 1 a-2). HIX values, for blank leaching experiment, were relatively constant and high (i.e. 10 up to 30), which is characteristic of strongly humified organic material with terrestrial signature (Figure-III- 1 a-3). In summary, the aromaticity and the molecular weight of organic molecules increased throughout the leaching, corresponding to a mobilization in a first time of the simple organic compounds followed by more humified and aromatic compounds.

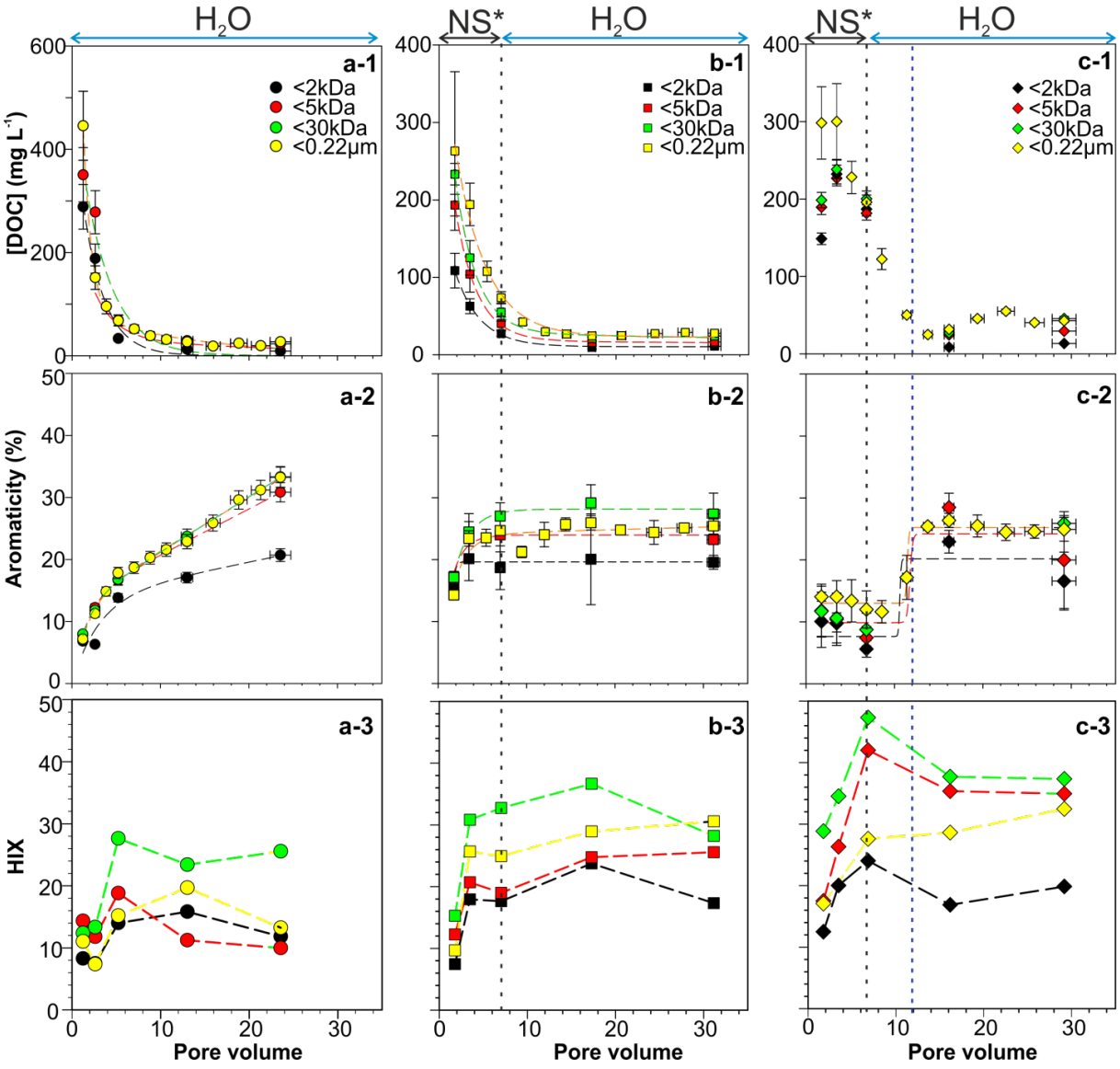


Figure-III- 1. Behavior of the natural organic matter (DOC, aromaticity and HIX) during the different leaching soil experiments with (a)Synthetic water, (b) bare nano-Fe_3O_4 and, (c) nano-Fe_3O_4 coated with dimercaptosulfate succinic acid (nano-Fe_3O_4@DMSA). All leaching have been settled with an ionic strength of $5 \cdot 10^{-3}$ in NaCl. Several cut-off were used to monitor the elements: 0.22µm in yellow, 30 kDa in green, 5 kDa in red and, 2 kDa in black. (1) Display the behavior of the DOC concentration throughout the leaching experiment. DOC characterization is here presented by (2) the aromaticity and (3) HIX fluorescence index extract from the EEM measurement. *NS is nano-Fe_3O_4 suspension (with or without DMSA coating), which is for approximatively 6 PV. The blue dot lines on c-1, c-2 and c-3 were the inflection points in aromaticity change for the NOM characterization (i.e. ~12 PV).

III.3.1.2 Nano-Fe_3O_4 leaching experiment

The NOM behavior during the leaching experiments was different in presence of nanoparticles and was distinct for the uncoated and coated nano-Fe_3O_4. Similar DOC concentration patterns were observed during the blank and the uncoated nano-Fe_3O_4 leaching, whereas the DOC pattern was different for the leaching experiment with

coated nano-Fe_3O_4 (Figs. 1 a-1, b-1 and c-1). The DOC concentrations during the blank and bare nano-Fe_3O_4 leaching experiments displayed an exponential decay (Figs. 1 a-1 & b-1). The leaching experiment with coated nano-Fe_3O_4 showed however a different pattern, where the leached DOC concentrations stay high in the first six PVs and decayed thereafter in a slower rate up to the 12th PV. Thus, during the nano-Fe_3O_4 coated leaching experiments, the mobilization of the organic molecules seems to be higher. Moreover, in the first six PVs, the organic colloids leached during the nano-Fe_3O_4 coated experiment were composed essentially by the fraction below 30 kDa, whereas those leached during the nano-Fe_3O_4 coated experiment show a large fraction below 5 kDa (i.e. approximatively 2/3) and a fraction between 5 kDa and 0.22µm (i.e. approximatively 1/3). Besides, the NOM composition reveals constant moderate aromaticity values (i.e. between 20 to 30%) for the nano-Fe_3O_4 uncoated leaching (Figure-III- 1 b-2) while the coated nano-Fe_3O_4 experiment revealed lowest values in the first 12th PVs (i.e. <15%) and a constant aromaticity around 25 % after the 12th PV (Figure-III- 1 c-2). HIX values were relatively high, notably for the blank leaching experiment, reaching 35 and 50 for nano-Fe_3O_4 uncoated and coated, respectively (Figs. 1 b-3 & c-3) showing a larger mobilization of hydrophobic material. However, as the chromophores represent only a part of NOM, the HIX values does not follow the aromaticity patterns for the nanoparticles leaching experiments. The HIX patterns might be explained by an adsorption of the NOM onto the nano-Fe_3O_4. Whereas by contrast the NOM adsorption onto the coated nano-Fe_3O_4 would increase their mobilization into the leached solution (Figure-III- 1 c-3) [51]. Thus, these spectroscopic measurements evidenced that the nanoparticle surface composition (i.e. coating) seems to impact the NOM mobility during the leaching experiments. These results might however been explained by either a larger mobility of coated nano-Fe_3O_4 or by a degradation of the coating during the experiment. Py-GC-MS analyses, described in the following section, allowed discussing both of these hypotheses.

III.3.1.3 Molecular characterization of the leached NOM on the fraction <3 kDa

Different NOM molecular compositions were observed for the leaching experiments conducted with bare and coated nano-Fe_3O_4. The molecular composition, measured during the blank leaching experiment, showed that a large part of the composition can be attributed to the lignin and carbohydrate molecules, whereas the proportion of fatty acid molecules increased with the PVs and the small

acids remained constant (Figure-III- 2 a-1). During the bare nano-Fe_3O_4 leaching experiment, although lignin and carbohydrate still represented a major part of the molecular composition, DNA (PV ≈ 1.7, 3.4, and 28), fatty acids (PV ≈ 16.8 and 28) and small acids (PV ≈ 6.8) also corresponded to an important contribution in the different PVs (Figure-III- 2 b-1). Finally, while the other components are similar to the blank leaching experiment, an important proportion of DMSA molecules was detected during the first part (i.e. PV ≈ 1.7, 3.4, and 6.8, Figure-III- 2 c-1) of the leaching experiment with coated nano-Fe_3O_4. The lower aromaticity observed with the coated nano-Fe_3O_4, but to know whether this is due to a degradation of the coating or a greater mobility of the nanoparticles, it has been essential to characterize the iron behavior.

III.3.2 Iron behavior

III.3.2.1 Iron (Fe) behavior during the leaching experiments

Both nano-Fe_3O_4 experiments showed larger and faster Fe leaching than in the blank experiment. Indeed, in the blank leaching experiment (Figure-III- 2 a-2). The leached Fe decreased slowly in first six PVs and remains constant throughout the rest of the experiment, whereas nano-Fe_3O_4 experiments show much higher the Fe concentrations (Figs. 2 b-2 & c-2) up to approximately 5 mg L^{-1} in the six PVs. Moreover, as the Fe concentrations exhibited a slower decay with the PVs (i.e. S3, PV~5) during the coated nano-Fe_3O_4 experiment, more Fe seems to have been leached than during the bare nano-Fe_3O_4 experiment. Finally, the Fe concentrations, in the blank leaching experiment, is widely attributed to the colloidal fraction (i.e. Mw<30kDa) (Figure-III- 2 a-2), whereas the Fe in both nano-Fe_3O_4 leaching experiments was attributed to the largest fraction (i.e. 30 kDa < Mw < 0.22µm, Figs. 2 b-2 & c-2) in the first part of the leaching experiments (i.e. up to PV~12). Therefore, we speculated that the adsorption of NOM molecules onto the surface of nano-Fe_3O_4 might stabilize a part of the nanoparticles [29] allowing a greater leaching in the first 12th PVs. Indeed, the stability of nano-Fe_3O_4 depends on the stabilizers and which might be organic molecules, such as fatty acids or amines [151]. In summary, the mobility of the coated nano-Fe_3O_4 seems higher than the uncoated nano-Fe_3O_4 since they are partially stabilized by the DMSA (coating effect). To consolidate this hypothesis, the distribution of the nano-Fe_3O_4 in the solid phase is described in the next section.

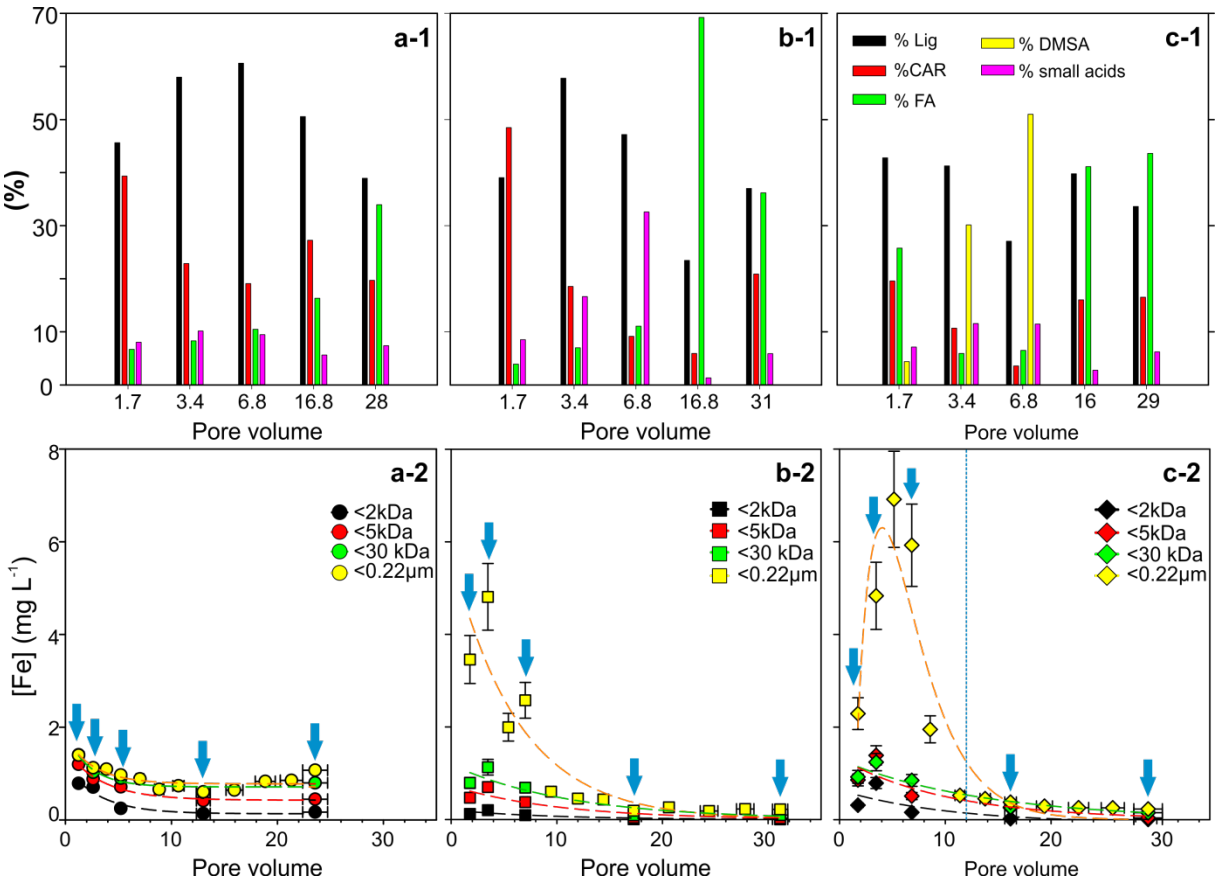


Figure-III- 2. The first part is the molecular characterization of the NOM by Py-GC-MS through the different leaching for five sampling which are indicated on the Fe concentration graph: (a-1) blank leaching, (b-1) nano-Fe_3O_4 and (c-1) nano-Fe_3O_4 leaching organic characterization. The different bars illustrate in: black the lignin compounds, red the carohydrates, green the fatty acids, yellow the DMSA, blue DNA, and pink small acids compounds. All scales are similar to allow a best comparison of the results. The second part illustrates the Fe concentration leaching for synthetic waterwith IS at $5 \cdot 10^{-3}$ M in NaCl (i.e. blank), bare nano-Fe_3O_4 leaching and nano-Fe_3O_4@DMSA leaching, (a-2), (b-2) and (c-2), respectively.

III.3.2.2 Iron distribution within solid soil phase

The µXRF measurements highlighted markedly distinct distributions of the bare and coated nano-Fe_3O_4 within the column after the leaching experiments (Figure-III-3). The Fe and Co profiles, recorded to monitor the nano-Fe_3O_4 distribution within the soil matrix (Figure-III- 3), was as expected relatively stable trough the five first centimeters of the blank column (Figure-III- 3a). The profiles in the column with bare nano-Fe_3O_4 showed, however, a deposition of nano-Fe_3O_4 in the first top cm of column (Figure-III- 3b). The accumulations in the first cm, might be explained by aggregation of the nano-Fe_3O_4 into the soil matrix, migrating into the soil, according to their size, in a similar way than in chromatography column. Finally, the distribution in the column with coated nano-Fe_3O_4 revealed a similar distribution

than that observed within the blank column (Figure-III- 3c) with Fe and Co values remaining constant throughout the soil column. These results agree with our previous data showing that the coated nano-Fe_3O_4s are more mobile in the solution than the uncoated nano-Fe_3O_4, passing quickly through the organo-mineral horizon. In summary, as the uncoated nano-Fe_3O_4s accumulated at the top of the organo-mineral soil horizon, when coated their mobility increased and no front was detectable. As the nano-Fe_3O_4 are known to be excellent TEs adsorbent, it is essential to evaluate the change in TEs mobility associated with the nanoparticle coating [52].

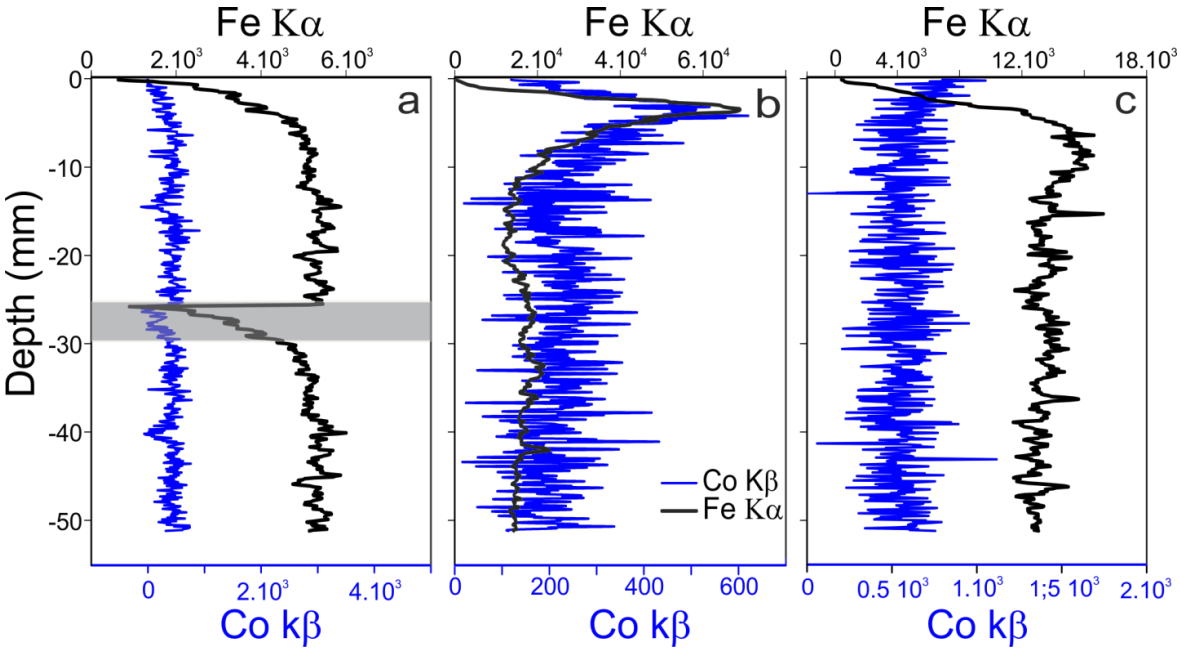


Figure-III- 3. Behavior of iron in the soil column as evidenced by µXRF analysis. a) Blank leaching with gray area corresponding to a topography crack; b) bare nano-Fe_3O_4 leaching and; c) nano-Fe_3O_4 coated with DMSA.

III.3.3 Nano-Fe_3O_4 impact on the TEs

III.3.3.1 3.2.1. Distribution of TE in size fraction

The ICP-MS measurements on the last PVs allowed to distinguish three groups of elements according to their distribution in the different size fractions (Figure-III- 4). In the blank experiment (Figure-III- 4 a), the first group was composed of alkaline and alkaline earth metal elements with some TEs (i.e. Si, Na, K, B, Rb, Li, Mg, Sr, Ca, As, Sb, and Ba). These elements seemed to be easily leached and have been often described as occurring in a 'true' dissolved state [139, 152]. The second group was composed of elements in the intermediate fraction which prone to form inorganic or organic complexes (i.e. Mn, V, Zn, Co, and Cd) [139, 152-154]. Finally, the third group is composed by the elements strongly associated with colloidal fraction (i.e. Pb, Cu, Ni,

Cr, Al, Ga, Sc, U, Tm, Eu, Fe, Y, Dy, Er, La, Gd, Ce, Nd, Pr, Tb, Ho, Th, Sm, Yb, Lu) [138, 139, 152]. The blank leaching experiment exhibited a classical distribution of the element in the 'truly' dissolved, intermediate and colloidal fractions. However, the experiments with nano-Fe_3O_4 evidenced a contrasted behavior.

The largest nano-Fe_3O_4 impact of the TEs distribution and mobility is illustrated within the intermediate group for the experiment with bare nano-Fe_3O_4 (Figure-III-4b). Indeed, the leached solution for the experiment with the bare nano-Fe_3O_4 included a much larger distribution of elements in the intermediate group (i.e. Ca, Mn, V, Ba, B, Cu, Ni, Pb, Zn, Tu, Ho, Eu, Tb, Yb, Er, Lu, Co, Cd, Gd, Th, U) (Figure-III- 4b), which is also the case, in a lesser extent, for the experiment with coated nano-Fe_3O_4 (i.e. Zn, V, Co, Ni, Cu, Pb, Cr). This second group is known to be more or less mobilized by the organic and/or inorganic colloidal phase [139, 152-154]. Consequently, in presence of nanoparticles, several elements transferred from the dissolved fraction (i.e. Ca, B, Ba, V) and colloidal fraction (i.e. Pb, Tu, Ho, Eu, Tb, Yb, Er, Lu, Gd, Th, U) into the intermediate fraction (i.e. between 40 and 80 % of distribution), impacting their mobility and distribution in soil system.

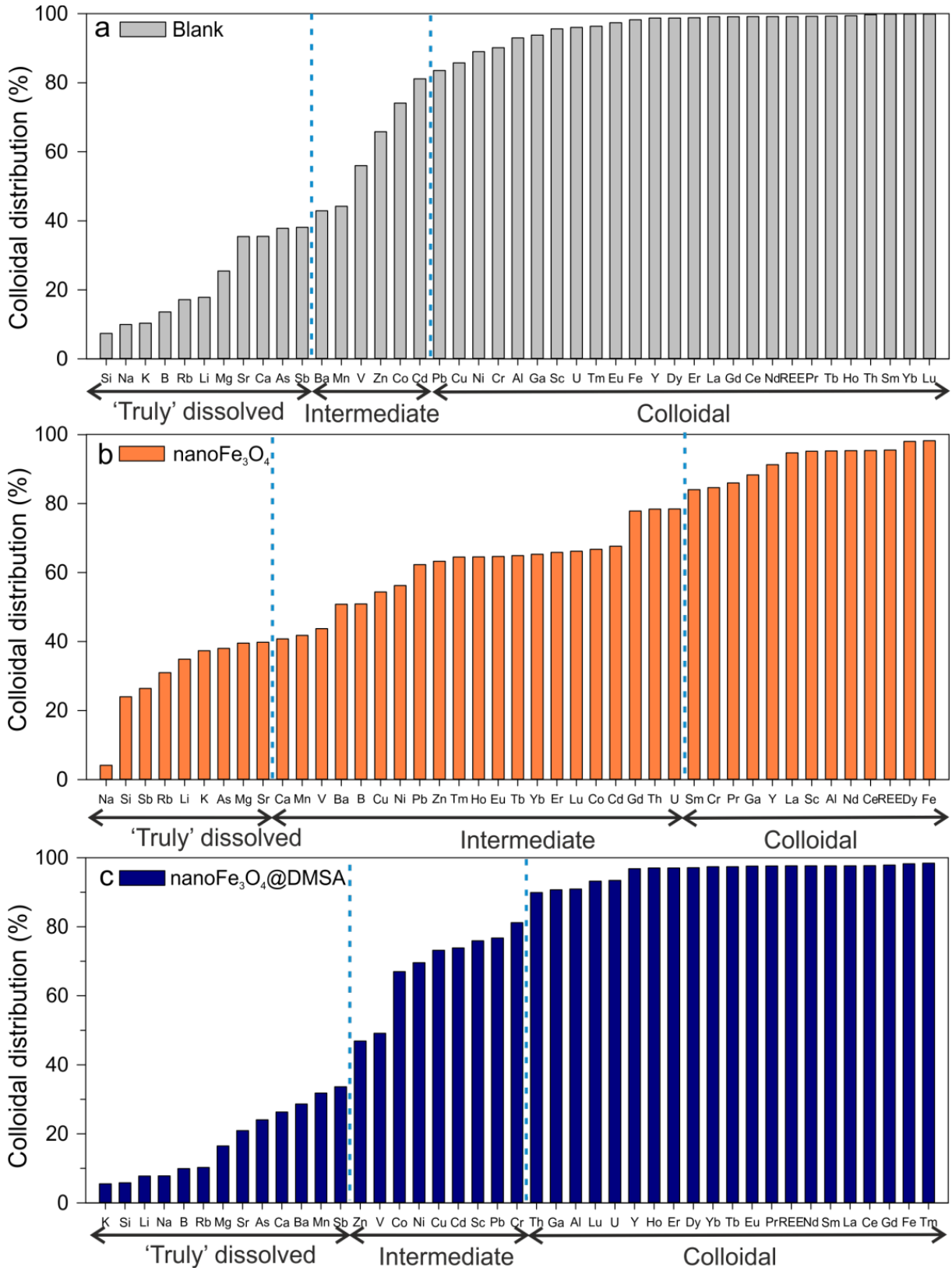


Figure-III- 4. In major colloidal phase (i.e. > 2 kDa), the distribution of elements were determined for the last sampling of each leaching soil experiment (i.e. S12). Three groups are identified with respect to contrasted behavior with regard to colloidal phase: (i) 'Truly' dissolved group (ii) 'Intermediate' group, and (iii) Colloidal group. The distribution is illustrated for (a) blank (grey), (b) bare nano-Fe_3O_4 (orange),

and (c) nano-Fe_3O_4 coated with DMSA polymer (blue). The distribution of elements is determined with their respective proportion. An element is considered in the 'truly' dissolved group when its proportion is below 40% and in the colloidal group when its proportion is above 80%. Finally, the intermediate group is considered for the elements which have a proportion ranging in between 40 and 80 %.

III.3.3.2 Distribution during the leaching experiments

The metal concentrations monitored throughout the experiments evidenced that nano-Fe_3O_4 surface composition also influenced the behavior of each fraction during the leaching experiment. This was illustrated by the strontium (Sr), copper (Cu) and uranium (U), model elements, for the 'truly' dissolved, intermediate and colloidal fraction, respectively in the control mode (Figure-III- 5). These elements allow the assessment of the behavior for each group during the leaching soil experiment. The behavior of these three elements displayed a classical release in two steps, during the blank leaching experiment (Figs. 5 a-1, a-2 & a-3). Still in the blank experiment, the size fractionation showed that the Sr was contained in the dissolved fraction (i.e. > 2kDa), the Cu principally in the intermediate fraction (i.e. > 5 kDa), whereas the U was contained in the colloidal fraction (i.e. < 30 kDa) (Figs. 5 a-1, a-2 & a-3). By contrast, in the experiments with nanoparticles, these elements displayed different leaching patterns (Figs. 5b & 5c). Indeed, less Sr was leached in presence of nano-Fe_3O_4, and a second leaching front appears around the PV 15 (Figs. 5 b-1 & c-1). Moreover, an important proportion of Sr was transferred to the fraction above 2 kDa in presence of nanoparticles (Figure-III- 5 b-1), this transfer seemed however less important in presence of the coated nano-Fe_3O_4 (Figure-III- 5 c-1). Also, more Cu and U were leached and transferred in the fraction between 30 and 0.22µm in presence of the uncoated nano-Fe_3O_4 (Figs. 5 b-2 & b-3). Finally, less Cu and U are leached in presence of coated nano-Fe_3O_4 and a second leaching front also seems to appear (Figs. 5 c-2 & c-3). The more significant TEs leaching observed in presence of uncoated nano-Fe_3O_4 might be explained by an interaction between the nanoparticles and the NOM [155, 156], where the TEs associated with NOM would be transported along with the stabilized nanoparticles in interaction with the NOM [29]. Moreover, a possible weaker interaction between the NOM containing Cu and the coated nano-Fe_3O_4, protected by the DMSA coating [157, 158], might explain the less important Cu leaching in presence of those nanoparticles. Even if similar U concentrations were leached in presence of coated nano-Fe_3O_4 than without any nanoparticles, an important part of the U was leached in a larger size range in the first six PVs (i.e. between 30kDa and 0.22µm), suggesting NOM adsorption containing U and interfering with other molecules on adsorption sites [51]. In summary, the results

suggested that in presence of nano-Fe_3O_4, and more strongly for the bare nano-Fe_3O_4, many trace elements were carried in the colloidal phase by interaction between NOM and nanoparticles.

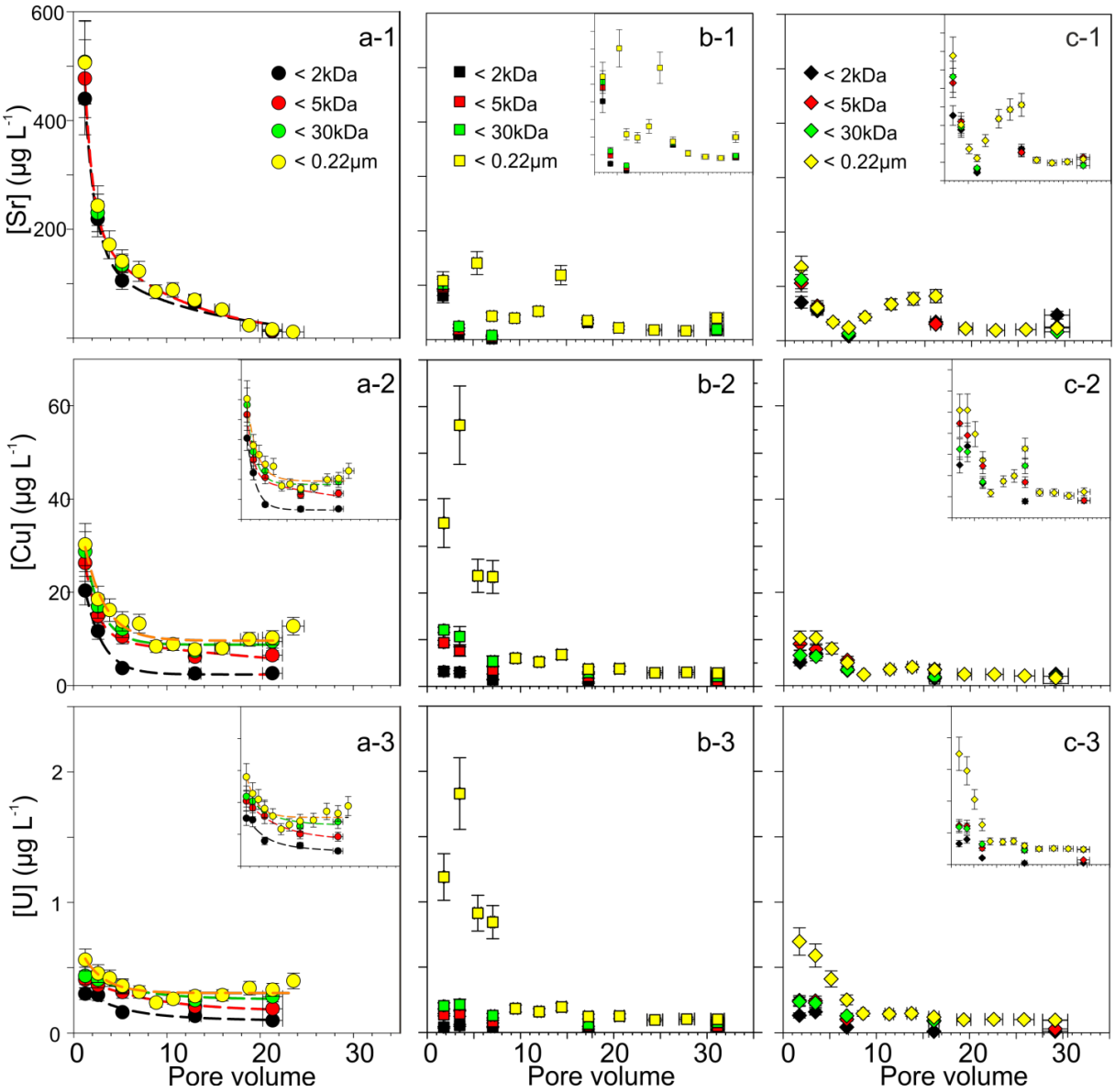


Figure-III- 5. Illustration of the behavior of Sr (i.e 1), Cu (i.e. 2) and U (i.e. 3) for the 'truly' dissolved, intermediate and colloidal fractions, respectively. Trace elements mobility throughout the leaching experiment is presented for (a) the blank (circle), (b) bare nano-Fe_3O_4 (square) and (c) nano-Fe_3O_4@DMSA (diamond). The behavior of each fractionation is illustrated in yellow, green, red, black for > 0.22µm, >30kDa, >5kDa and >2kDa, respectively.

III.4 Conclusion

The nano-Fe_3O_4 surface composition has an impact on the TEs mobility. Indeed, the results showed that nanoparticle surface composition (i.e. coating) seems to impact

the NOM mobility during the leaching experiments. More specifically, the mobility of the coated nano-Fe_3O_4 seems higher than that of the uncoated nano-Fe_3O_4, since they are partially stabilized by the DMSA (coating effect). Indeed, whereas the bare nano-Fe_3O_4 accumulated at the top of the organo-mineral soil horizon, when coated their mobility increased. Even though, the TEs mobility seems to increase in presence of bare nano-Fe_3O_4 with a transfer of the element into the colloidal fraction. This might be explained by an interaction between the Fe ENPs and the NOM, where the TEs associated NOM would be transported along with the Fe ENPs. This phenomenon seems less possible with the coated nano-Fe_3O_4, which are protected by the DMSA coating. It would be however essential to corroborate these observations with direct observations of the interactions between NOM, TEs and nanoparticles. Nevertheless, this study highlighted clearly that the behavior and aging of the nanoparticle coatings is a critical issue concerning the fate of TEs in soil horizons.

Acknowledgments

We are thankful to Dr Jérôme Labille for thorough advices on the sample preparation for μXRF analysis performed with Perrine Chaurand at CEREGE. Pascal Rolland and Xavier Le Coz are deeply acknowleged for column designing and soil samples preparation, respectively. Dr Jean-Noël Proust and Jean-Jacques Kermarrec are thanked for their kind help in solid sample preparation for further analysis. We are also grateful to Yannick Fauvel from the INRA SAS Research unit for a fraction collector lending. This study was funded by the CNRS-INSU EC2CO program, and by the French ANR, through the "Programme Jeunes Chercheurs": ARSENORG.

SI : Supplementary Information. Supplementary information to this article can be found online at http://…

References

Al-Wabel, M.A., Heil, D.M., Westfall, D.G., Barbarick, K.A., 2002. Solution Chemistry Influence on Metal Mobility in Biosolids-Amended Soils. J. Environ. Qual. 31, 1157-1165.

Auffan, M., Rose, J., Bottero, J.-Y., Lowry, G.V., Jolivet, J.-P., Wiesner, M.R., 2009. Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective. Nature Nanotechnology 4, 634 - 641.

Bradl, H.B., 2004. Adsorption of heavy metal ions on soils and soils constituents. Journal of Colloid and Interface Science 277, 1-18.

Buffle, J., DeVitre, R.R., 1993. Chemical and Biological Regulation of Aquatic Systems. Taylor & Francis.

Chin, Y.-P., Aiken, G., O'Loughlin, E., 1994. Molecular Weight, Polydispersity, and Spectroscopic Properties of Aquatic Humic Substances. Environmental Science & Technology 28, 1853-1858.

Dahlqvist, R., Andersson, K., Ingri, J., Larsson, T., Stolpe, B., Turner, D., 2007. Temporal variations of colloidal carrier phases and associated trace elements in a boreal river. Geochimica et Cosmochimica Acta 71, 5339-5354.

Delay, M., Dolt, T., Woellhaf, A., Sembritzki, R., Frimmel, F.H., 2011. Interactions and stability of silver nanoparticles in the aqueous phase: Influence of natural organic matter (NOM) and ionic strength. Journal of Chromatography A 1218, 4206-4212.

Dunphy Guzman, K.A., Finnegan, M.P., Banfield, J.F., 2006. Influence of Surface Potential on Aggregation and Transport of Titania Nanoparticles. Environmental Science & Technology 40, 7688-7693.

Dupré, B., Viers, J., Dandurand, J.-L., Polve, M., Bénézeth, P., Vervier, P., Braun, J.-J., 1999. Major and trace elements associated with colloids in organic-rich river waters: ultrafiltration of natural and spiked solutions. Chemical Geology 160, 63-80.

Hua, M., Zhang, S., Pan, B., Zhang, W., Lv, L., Zhang, Q., 2012. Heavy metal removal from water/wastewater by nanosized metal oxides: A review. Journal of Hazardous Materials 211–212, 317-331.

Huguet, A., Vacher, L., Relexans, S., Saubusse, S., Froidefond, J.M., Parlanti, E., 2009. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. Organic Geochemistry 40, 706-719.

Huh, Y.-M., Jun, Y.-w., Song, H.-T., Kim, S., Choi, J.-s., Lee, J.-H., Yoon, S., Kim, K.-S., Shin, J.-S., Suh, J.-S., Cheon, J., 2005. In Vivo Magnetic Resonance Detection of Cancer by Using Multifunctional Magnetic Nanocrystals. Journal of the American Chemical Society 127, 12387-12391.

Ju-Nam, Y., Lead, J.R., 2008. Manufactured nanoparticles: An overview of their chemistry, interactions and potential environmental implications. Science of the Total Environment 400, 396-414.

Jun, Y.-w., Huh, Y.-M., Choi, J.-s., Lee, J.-H., Song, H.-T., KimKim, Yoon, S., Kim, K.-S., Shin, J.-S., Suh, J.-S., Cheon, J., 2005. Nanoscale Size Effect of Magnetic

Nanocrystals and Their Utilization for Cancer Diagnosis via Magnetic Resonance Imaging. Journal of the American Chemical Society 127, 5732-5733.

Kalbitz, K., Solinger, S., Park, J.-H., Michalzik, B., Matzner, E., 2000. Controls on the dynamics of dissolved orgnaic matter in soils: a review. Soil Science 165, 277-304.

Kanel, S., Nepal, D., Manning, B., Choi, H., 2007. Transport of surface-modified iron nanoparticle in porous media and application to arsenic(III) remediation. J Nanopart Res 9, 725-735.

Kedziorek, M.A.M., Dupuy, A., Bourg, A.C.M., Compère, F., 1998. Leaching of Cd and Pb from a Polluted Soil during the Percolation of EDTA: Laboratory Column Experiments Modeled with a Non-Equilibrium Solubilization Step. Environmental Science & Technology 32, 1609-1614.

Langner, P., Mikutta, C., Kretzschmar, R., 2012. Arsenic sequestration by organic sulphur in peat. Nature Geoscience 5, 66-73.

Langner, P., Mikutta, C., Kretzschmar, R., 2014. Oxidation of Organosulfur-Coordinated Arsenic and Realgar in Peat: Implications for the Fate of Arsenic. Environmental Science & Technology 48, 2281-2289.

Lecoanet, H.F., Bottero, J.-Y., Wiesner, M.R., 2004. Laboratory Assessment of the Mobility of Nanomaterials in Porous Media. Environmental Science & Technology 38, 5164-5169.

Li, Y., Leung, P., Yao, L., Song, Q.W., Newton, E., 2006. Antimicrobial effect of surgical masks coated with nanoparticles. Journal of Hospital Infection 62, 58-63.

Liu, X., O'Carroll, D.M., Petersen, E.J., Huang, Q., Anderson, C.L., 2009. Mobility of Multiwalled Carbon Nanotubes in Porous Media. Environmental Science & Technology 43, 8153-8158.

Luciano, C., Fernando, S.G.E., Mónica, C.G., Daniel, O.M., 2013. Applications of Magnetite Nanoparticles for Heavy Metal Removal from Wastewater.

Mejías, R., Pérez-Yagüe, S., Gutiérrez, L., Cabrera, L.I., Spada, R., Acedo, P., Serna, C.J., Lázaro, F.J., Villanueva, Á., Morales, M.d.P., Barber, D.F., 2011. Dimercaptosuccinic acid-coated magnetite nanoparticles for magnetically guided in vivo delivery of interferon gamma for cancer immunotherapy. Biomaterials 32, 2938-2952.

Mercier, F., Moulin, V., Barré, N., Casanova, F., Toulhoat, P., 2001. Study of the repartition of metallic trace elements in humic acids colloids: potentialities of nuclear microprobe and complementary techniques. Analytica Chimica Acta 427, 101-110.

Mueller, N.C., Nowack, B., 2008. Exposure Modeling of Engineered Nanoparticles in the Environment. Environmental Science & Technology 42, 4447-4453.

OECD, 2004. Test No. 312: Leaching in Soil Columns OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. OECD Publishing, p. 15.

Oliva, P., Viers, J., Dupré, B., Fortuné, J.P., Martin, F., Braun, J.J., Nahon, D., Robain, H., 1999. The effect of organic matter on chemical weathering: study of a small tropical watershed: nsimi-zoétélé site, cameroon. Geochimica et Cosmochimica Acta 63, 4013-4035.

Patel, H.E., Das, S.K., Sundararajan, T., Sreekumaran Nair, A., George, B., Pradeep, T., 2003. Thermal conductivities of naked and monolayer protected metal nanoparticle based nanofluids: Manifestation of anomalous enhancement and chemical effects. Applied Physics Letters 83, 2931-2933.

Pédrot, M., Dia, A., Davranche, M., 2009. Double pH control on humic substance-borne trace elements distribution in soil waters as inferred from ultrafiltration. Journal of Colloid and Interface Science 339, 390-403.

Pédrot, M., Dia, A., Davranche, M., Bouhnik-Le Coz, M., Henin, O., Gruau, G., 2008. Insights into colloid-mediated trace element release at the soil/water interface. Journal of Colloid and Interface Science 325, 187-197.

Pokrovsky, O.S., Schott, J., 2002a. Iron colloids/organic matter associated transport of major and trace elements in small boreal rivers and their estuaries (NW Russia). Chemical Geology 190, 141-179.

Pokrovsky, O.S., Schott, J., 2002b. Surface Chemistry and Dissolution Kinetics of Divalent Metal Carbonates. Environmental Science & Technology 36, 426-432.

Pokrovsky, O.S., Shirokova, L.S., Zabelina, S.A., Vorobieva, T.Y., Moreva, O.Y., Klimov, S.I., Chupakov, A.V., Shorina, N.V., Kokryatskaya, N.M., Audry, S., Viers, J., Zoutien, C., Freydier, R., 2012. Size Fractionation of Trace Elements in a Seasonally Stratified Boreal Lake: Control of Organic Matter and Iron Colloids. Aquatic Geochemistry 18, 115-139.

Ray, P.Z., Shipley, H.J., 2015. Inorganic nano-adsorbents for the removal of heavy metals and arsenic: a review. RSC Advances 5, 29885-29907.

Roca, A.G., Veintemillas-Verdaguer, S., Port, M., Robic, C., Serna, C.J., Morales, M.P., 2009. Effect of nanoparticle and aggregate size on the relaxometric properties of MR contrast agents based on high quality magnetite nanoparticles. Journal of Physical Chemistry B.

Sagee, O., Dror, I., Berkowitz, B., 2012. Transport of silver nanoparticles (AgNPs) in soil. Chemosphere 88, 670-675.

Shang, J., Liu, C., Wang, Z., Wu, H., Zhu, K., Li, J., Liu, J., 2010. In-Situ Measurements of Engineered Nanoporous Particle Transport in Saturated Porous Media. Environmental Science & Technology 44, 8190-8195.

Shani, C., Weisbrod, N., Yakirevich, A., 2008. Colloid transport through saturated sand columns: Influence of physical and chemical surface properties on deposition. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 316, 142-150.

Simmons, K., Deatrick, J., Lewis, B., 2014. soil sampling. in: SESD (Ed.). Operating procedure. Environmental protection agency, Georgia, p. 24.

Solovitch, N., Labille, J., Rose, J., Chaurand, P., Borschneck, D., Wiesner, M.R., Bottero, J.-Y., 2010. Concurrent Aggregation and Deposition of TiO2 Nanoparticles in a Sandy Porous Media. Environmental Science & Technology 44, 4897-4902.

Sun, L., Sun, X., Du, X., Yue, Y., Chen, L., Xu, H., Zeng, Q., Wang, H., Ding, L., 2010. Determination of sulfonamides in soil samples based on alumina-coated magnetite nanoparticles as adsorbents. Analytica Chimica Acta 665, 185-192.

Thomas, K., Sayre, P., 2005. Research Strategies for Safety Evaluation of Nanomaterials, Part I: Evaluating the Human Health Implications of Exposure to Nanoscale Materials. Toxicological Sciences 87, 316-321.

Tipping, E., 2002. Cation Binding by Humic Substances. Cambridge University Press.

Turner, A., Le Roux, S.M., Millward, G.E., 2008. Adsorption of cadmium to iron and manganese oxides during estuarine mixing. Marine Chemistry 108, 77-84.

Tyler, G., 2004. Vertical distribution of major, minor, and rare elements in a Haplic Podzol. Geoderma 119, 277-290.

Uyusur, B., Darnault, C.J.G., Snee, P.T., Kokën, E., Jacobson, A.R., Wells, R.R., 2010. Coupled effects of solution chemistry and hydrodynamics on the mobility and transport of quantum dot nanomaterials in the vadose zone. Journal of Contaminant Hydrology 118, 184-198.

Voegelin, A., Barmettler, K., Kretzschmar, R., 2003. Heavy Metal Release from Contaminated Soils. Journal of Environmental Quality 32, 865-875.

Warner, C.L., Addleman, R.S., Cinson, A.D., Droubay, T.C., Engelhard, M.H., Nash, M.A., Yantasee, W., Warner, M.G., 2010. High-Performance, Superparamagnetic, Nanoparticle-Based Heavy Metal Sorbents for Removal of Contaminants from Natural Waters. ChemSusChem 3, 749-757.

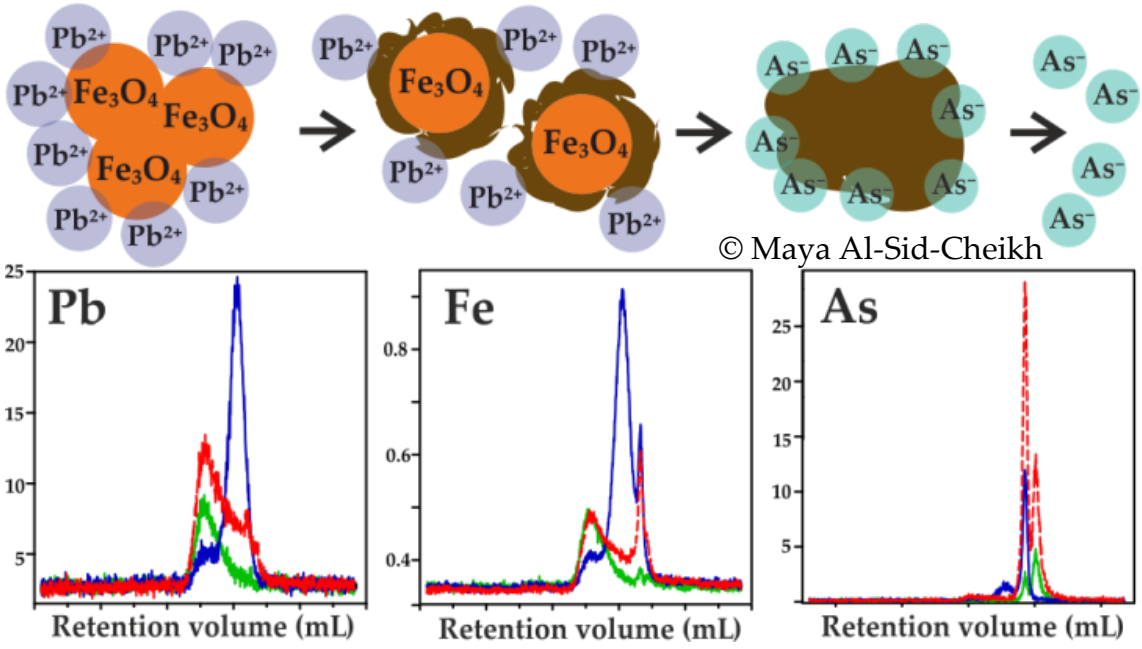
Wiesner, M.R., Lowry, G., Alvarez, P., Dionysiou, D., Biswas, P., 2006. Assessing the risks of manufactured nanomaterials. Environmental Sciences and technology, 4336-4345.

Yan, W.L., Ramos, M.A.V., Koel, B.E., Zhang, W.X., 2012. As(III) Sequestration by Iron Nanoparticles: Study of Solid-Phase Redox Transformations with X-ray Photoelectron Spectroscopy. Journal of Physical Chemistry C 116, 5303-5311.

Yeghicheyan, D., Bossy, C., Bouhnik Le Coz, M., Douchet, C., Granier, G., Heimburger, A., Lacan, F., Lanzanova, A., Rousseau, T.C.C., Seidel, J.-L., Tharaud, M., Candaudap, F., Chmeleff, J., Cloquet, C., Delpoux, S., Labatut, M., Losno, R., Pradoux, C., Sivry, Y., Sonke, J.E., 2013. A Compilation of Silicon, Rare Earth Element and Twenty-One other Trace Element Concentrations in the Natural River Water Reference Material SLRS-5 (NRC-CNRC). Geostandards and Geoanalytical Research, n/a-n/a.

Zsolnay, A., Baigar, E., Jimenez, M., Steinweg, B., Saccomandi, F., 1999. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. Chemosphere 38, 45-50.

Chapitre IV – Articles 3 et 4



Article 3

Résumé

La nanoscience est basée sur le fait que les propriétés des matériaux changent en fonction de leurs dimensions physiques. L'industrie de la nanotechnologie utilise ces changements en appliquant des modifications de taille, de forme et de composition pour contrôler les propriétés de ses nouveaux matériaux. Cependant, l'enjeu technique pour l'étude de l'impact des nanoparticules sur la mobilité des métaux toxiques (TM) demeure un aspect essentiel à surmonter. Récemment, une nouvelle génération de colonne chromatographique d'exclusion de taille (SEC), avec des billes de silice de haute pureté, est disponible pour des tailles de pore entre 5 et 400 nm et permet maintenant l'analyse des nanoparticules. Dans cette étude, ces colonnes ont été utilisées pour l'analyse de nanoparticules métalliques en interactions avec des métaux traces dans des échantillons de matrices environnementales et artificielles. Cette nouvelle méthode permet de mesurer quantitativement les interactions entre nanoparticules, la matière organique et les métaux. Notre méthode a permis l'étude de ces interactions pour différentes gammes de taille de nanoparticules et de poids moléculaires pour les molécules organiques avec une précision de $1,2 \bullet 10^{-2}$ kDa. La méthodologie a été appliquée avec succès pour l'étude de nanomagnétites dopées dans des matrices complexes telles que les boues d'épuration, les eaux souterraines, l'eau potable et différents échantillons artificiels contenant des acides humiques et différents métaux toxiques (i.e. As, Pb, Th). Finalement, nos résultats ont montré que le type d'interaction, tel que l'adsorption ou la stabilisation et/ou de déstabilisation des nanomagnétites peut être observé par cette nouvelle méthode.

A robust method using online steric exclusion chromatography-UV-ICPMS to investigate nanoparticle fate and behavior in environmental samples.

Maya Al-Sid-Cheikh[a,*], Mathieu Pédrot[a], Martine Bouhnik-Le Coz[a], Aline Dia[a], Mélanie Davranche[a], Chrystelle Neaime[b], Fabien Grasset[b, c]

[a] CNRS UMR 6118, Géosciences Rennes, Université Rennes 1 - Campus Beaulieu, 263 av. Général Leclerc, 35042 Rennes cedex, France.

[b] CNRS UMR 6226, Institut des Sciences Chimiques de Rennes, Université Rennes 1 - Campus Beaulieu, 263 av. Général Leclerc, 35042 Rennes cedex, France.

[c] CNRS-Saint Gobain, Laboratory for Innovative Key Materials and Structures, UMI 3629 LINK, National Institute of Material Science, 1-1 Namiki, 305-0044, Tsukuba, Japan

* Corresponding author, present-day e-mail: maya.al-sid-cheikh@univ-rennes1.fr; permanent e-mail: maya.alsid@gmail.com, phone: (+33)2.23.23.32.43. fax: (+33) 2 23 23 67 80

ABSTRACT: The foundation of nanoscience is that the properties of materials change as a function of their physical dimensions, and nanotechnology exploits this premise by applying selected property modifications for a specific benefit. However, to investigate the fate and effect of the engineered nanoparticles on toxic metal (TM) mobility, the analytical limitations in a natural environment remain a critical problem to overcome. Recently, a new generation of size exclusion chromatography (SEC) columns developed with spherical silica is available for pore sizes between 5 and 400 nm, allowing the analysis of nanoparticles. In this study, these columns were applied to the analysis of metal-based nanoparticles in environmental and artificial samples. The new method allows quantitative measurements of the interactions among nanoparticles, organic matter and metals. Moreover, due to the new nanoscale SEC, our method allows the study of these interactions for different size ranges of nanoparticles and weights of organic molecules with a precision of $1.2 \cdot 10^{-2}$ kDa. The method was successfully applied to the study of nano-magnetite spiked in complex matrices, such as sewage sludge, groundwater, tap water and different artificial samples containing Leonardite humic acid and different toxic metals (i.e., As, Pb, Th). Finally, our results showed that different types of interactions, such as adsorption, stabilization and/or destabilization of nano-magnetite could be observed using this new method.

Accepté le, 18 septembre 2015 à *Analytical Chemistry*

10.1021/acs.analchem.5b02413

Introduction

Nanotechnology exploits the fact that the properties of nano-materials change as a function of their physical dimensions by applying selected size modifications to obtain beneficial properties[1]. The engineered nanoparticles (ENPs) are produced in many forms, sizes and compositions, which enhance their applications in industrial fields. However, because of their diverse and new properties, concerns have been raised over the potential effects of ENPs on water bodies, ecosystems and human health[2].

To evaluate these effects, it is essential to understand the fate and transport of ENPs in environmental systems. To date, research efforts have focused on the detection of ENPs in the environment and on their effect on the biotic or abiotic compartments. However, the effect of ENPs on the toxic metal (TM) mobility in environmental systems remains a critical issue. Nanosized metal oxides (NMOs), such as magnetite (nano-Fe_3O_4), provide high surface area and specific affinity for heavy metal adsorption[3]. NMOs have been explored to remove a variety of heavy metals, such as arsenic, lead, mercury, copper, cadmium, chromium, and nickel, and have shown a great potential to outcompete activated carbon[4]. The reactivity of these ENPs relative to the mobility of TMs, such as As, Pb and Th, in the environment is unknown, thus representing a relevant aspect of their effect on the environment and, on a larger scale, on human health[5]. The evaluation of the environmental exposure and the concentration in environmental systems is still undermined by a lack of quantitative methods appropriate to detect, characterize and quantify ENPs in complex natural media[6-7].

Many approaches have been proposed for the detection and characterization of ENPs in environmental samples, including microscopy-based techniques and light scattering methods, as well as several chromatography-based methods[8-10]. However, none of these methods alone is sufficient to accurately evaluate the interactions between ENPs and TMs in environmental systems. In the last decade, many efforts have been focused on the development of methods involving field-flow fractionation (FFF) combined with element-specific detectors, such as inductively plasma torch mass spectrometry (ICP-MS)[10-17]. However, the optimizations of FFF methods are still complex and time consuming. Moreover, membrane interactions and membrane cut-off effects can occur[8]. Furthermore, the precision and accuracy of these methods at low concentrations are not well established and require highly trained staff to operate the analytical equipment and process the data[18]. Size exclusion chromatography (SEC) operates via an inverse molecular sieving mechanism that depends on the relative size or hydrodynamic volume of a colloidal or particulate molecule with respect to the average pore size of the packing material in the column[19]. A new generation of SEC column packages was developed with spherical silica available with pore sizes ranging between 1 and 400 nm. This extended size range allowed the monitoring of processes such as particle aggregations, particle–natural organic matter (NOM) and TM interactions, as well as particle dissolution in environmental and artificial samples.

Therefore, we propose a method using this new generation SEC column with spherical silica that offers a robust, novel, complementary technique suitable to evaluate the routine behavior and elemental characterization of inorganic ENPs in environmental systems. This study describes the validation of the new SEC chromatographic technique, which separates particles not only over the conventional nanoparticle size range (i.e., 1-100 nm)[20] but also from 1 to 400 nm. An inorganic multi elemental detection using ICP-MS is described that monitors the interaction between the TM and ENPs. Finally, an inorganic tracer (i.e., Pb and La) is also proposed to monitor the nano-magnetite (nano-Fe_3O_4) and NOM, in addition to UV detection, to improve the accuracy of the ENP and NOM behavior characterization.

Experimental

Analytical method

SEC set-up. The extended size range allowed by the new generation SEC column package was achieved using two online SEC nucleosil® 4000 columns (250 x 4.6 mm) incorporating 7 µm of completely porous

spherical silica (400 nm pore size) with a highly pure and uniform SiO_2 structure (from Macherey-Nagel) attached to an Agilent 1260 Infinity HPLC system (Agilent Technologies France) fitted with an auto-sampler. The columns were equipped with a prefilter/guard column (UltraShield UHPLC Trident™ Direct) with a cut-off of 0.45 µm (Restek® Corporation USA).

Mobile phase (MP) and coupling set-up. The composition of the water-based mobile phase was adapted from Liu and Wei[21]. The composition was 15 mM in sodium dodecyl sulfate (SDS, purity ≥ 98.5%), 10 mM in sodium nitrate ($NaNO_3$, purity ≥ 99.5%) and 5 mM of sodium citrate tribasic dihydrate (SC, purity ≥ 98%), with a pH of 6.5. The three products were purchased from Sigma-Aldrich. Stock solutions of 0.1 M SDS, 0.1 M $NaNO_3$ and 0.1 M SC were prepared in ultrapure water (MilliQ-water, Millipore system). The mobile phase composition was obtained by mixing each component with the required ratio using an Agilent quaternary pumping system. All eluents were filtered through a 0.22 µm filter (MF-Millipore Membranes, Millipore)[21]. The injection volume was 50 µL. The mobile phase flow rate was 1 mL min^{-1}, and the pressure was constant at ~ 145 bars. All tubing was in peek material. Detection was achieved using an Agilent UV detector from a 1260 Infinity system for organic molecules and an Agilent 7700 ICP-MS (Agilent Technologies France) for metals. The instrument set-up and parameters are provided in the supplementary information (Table S1).

The Agilent ICP-MS is used to analyze the elements normally affected by plasma-based polyatomic interferences by adding helium gas to a collision cell. Therefore, it was possible to simultaneously analyze problematic particles and toxic metals (TM), such as magnetite (nano-Fe_3O_4) and gold (nAu) ENPs, as well as arsenic (As), thorium (Th), lanthanum (La) and lead (Pb).

To ensure that the MP does not perturb the interactions between metals and ENPs, its efficiency was tested through two different artificial interactions between nano-Fe_3O_4 ([Fe] = 3 mg L^{-1}) and Th (10 µg L^{-1}) with or without a dissolved organic matter standard ([C_{org}] = 20 mg L^{-1}, i.e., humic acid leonardite, HA, from the Gascoyne Mine in Bowman County, North Dakota, U.S.A., IHSS standard - 1S104H).

Size and Molecular weight (MW) calibration

Validation of size calibration standards. nAu was selected for three reasons: (i) as an ICP-MS standard, the Au element is mono-isotopic (maximum sensitivity at a low concentration), has a low background (i.e., rare in nature), and is relatively interference free; (ii) the particles and characterized spheres, with narrow size distributions, are readily commercially available; and (iii) the method used was established for nAu[2]. Four nominal mean diameters of nAu were used: 10 nm, 20 nm, 40 nm and 60 nm. The nAu standards were obtained from BBI™Solutions (Cardiff, UK).

Validation of standard MWs. Dextran, a mixture of commercially produced exopolysaccharides, was used as a standard for the MW characterization. Dextran was chosen due to its purity and wide range of available MWs. The MWs of dextran used were 50 - 150 - 270 - 410 - 670 kDa (analytical standard, for GPC, Sigma-Aldrich). All organic molecules were analyzed using a UV detector set at 254 nm.

Nanoparticles of interest – nano-Fe_3O_4

Materials. Iron nitrate ($Fe(NO_3)3•9H_2O$, ACS reagent, purity ≥ 98%, Sigma-Aldrich), iron sulfate ($FeSO_4$, $7H_2O$; Acros Organics, ≥99.0%, Fisher Scientific), hydrochloric acid (37%, Merck), NaOH (AnalaR NORMAPUR, VWR), and $NaNO_3$ (Acros Organics, Fisher Scientific) were used in this study.

Synthesis of nano-Fe_3O_4. Iron oxide nanoparticles were prepared according to Massart's method[22] with some modifications[23]. These include soft chemistry using co-precipitation of the precursor cations $FeSO_4•4H_2O$ (99%, Aldrich) and $Fe(NO_3)_3•6H_2O$ (99%, Acros) (Fe^{2+}/Fe^{3+} = 1/2) in distilled water.

In the precipitation method, stoichiometric amounts of both iron salts (Fe^{2+} and Fe^{3+}, 1 mol L^{-1}) were separately dissolved in acidic medium. The two solutions were mixed in a flask at room temperature and under an ambient atmosphere. Then, while being

magnetically stirred, a pre-determined volume of NaOH-$NaNO_3$ (200 mL, 2 mol L^{-1}) was added drop wise to the solution. This addition immediately led to the formation of a brown-black precipitate, and the reaction was allowed to proceed for 15 min under magnetic stirring. The precipitate was separated by decantation and centrifugation (5000 rpm for 10 min). The nano-Fe_3O_4 particles were washed three times with MilliQ water and centrifuged. To avoid total Fe(II) oxidation, the nano-Fe_3O_4 particles were stored in a glove box under nitrogen atmosphere. To simplify, the magnetic nanoparticles are noted nano-Fe_3O_4.

The size and composition were evaluated by (HR)TEM coupled with energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS) to characterize the elemental compositions (JEOL 2100, Themis Platform of University of Rennes 1, Figure S 1 and Figure S2).

Evaluation of the analytical method with standard water

Different matrices and experiments were selected to fully evaluate the suitability of the method.

Exp1 – Artificial interaction and adsorption of TMs on the nano-Fe_3O_4. The adsorption of arsenic (As), lead (Pb) and thorium (Th) onto nano-Fe_3O_4 was evaluated. This experiment was divided into two parts: (i) the interaction with As, Pb, and Th (all [TM] = 10 µg L^{-1}) was performed with nano-Fe_3O_4 ([Fe] = 5 mg L^{-1}) in Milli-Q water with the ionic strength (IS) set at $5 \cdot 10^{-3}$ M $NaNO_3$ and pH 6.5. (ii) the same interaction was reprocessed with 20 mg L^{-1} in C_{org} of dissolved HA (IHSS standard - 1S104H)).

Exp2 – Behavior of nano-Fe_3O_4 in 'environmental samples'. This experiment was performed to determine whether the method could also be used to observe interactions between NOM, metals and nano-Fe_3O_4 in authentic environmental samples containing different types and amounts of NOM. Here, the nano-Fe_3O_4 particles were spiked into environmental water samples from soil pore, river, and lake waters to reach Fe concentrations of approximately 5 mg L^{-1}. More specifically, three types of environments were chosen: (i) wetland-sourced pore water (PAE, [DOC] = 19 mg L^{-1}), (ii) river water from the same wetland (EXU, [DOC] = 13 mg L^{-1}) and (iii) standard lake waters (KEJIM, [DOC] = 6 mg L^{-1}). Two of the three samples (pore and river waters) were collected in the Kervidy-Naizin wetland area integrated in the AgrHyS ORE (Brittany, France), and lake water from Canada (Kejimkujik Lake in the National Park of Canada) was used as a standard.

Exp3 – Behavior of TM with nano-Fe_3O_4 in standard water. This experiment was performed to evaluate the suitability of the method to observe interactions occurring between NOM, metals and nano-Fe_3O_4 in different standard environmental samples containing different and high amounts of metal contaminants. More specifically, nano-Fe_3O_4 particles (nominal size ~ 10 nm) were spiked into sewage water, tap water and groundwater (SCP sciences spiked in metal elements for EU-H4, EP-H3, ES-H3, see Table S 2) to give concentrations of approximately 5 mg L^{-1} of Fe for the nano-Fe_3O_4 particles and 213, 67 and 36 mg L^{-1} in total organic carbon (Total C_{org}), respectively.

The samples were also analyzed by TEM to characterize and compare with the results obtained by SEC/UV-ICP-MS. All samples (i.e., Exp1, Exp2 and Exp3) were shaken at ambient room temperature for 48 h at 150 rpm, and the pH was adjusted to 6.5.

Quantification method for SEC-UV-ICPMS

Matrix effect. Because the quantification of each SEC-ICPMS chromatogram fraction is critical, different series of calibration curves were produced for the ICP-MS detector. First, metal and nanoparticle samples were prepared in MilliQ water. Second, the metal and nanoparticles were prepared with 20 mg L^{-1} in Corg of dissolved HA. More specifically, three different series of calibration curves were produced.

Calibration-1 - To obtain the best quantification curve for Fe, the curves were produced with free Fe (i.e., Fe(III), (ICP-MS Standards, inorganic ventures, single –element, CGFE1-1) and nano-Fe_3O_4. The concentration ranges for both forms were between 1 and 5 mg L^{-1} of Fe.

Calibration-2 - To quantify the free mono-elemental metals (i.e., As, Pb, and Th, inorganic ventures, single–element, CGAS1-1, CGPB1-1 and CGTH1-1) without any matrix effect, each element was analyzed in MilliQ water, and quantification curves were produced for concentrations between 0 and 20 µg L^{-1}.

Calibration-3 – To evaluate the matrix effects on the quantification, As, Pb, Fe and nano-Fe_3O_4 were analyzed separately in the presence of dissolved HA (i.e., [C_{org}] = 20 mg L^{-1}). New calibration curves were subsequently compared with the free (i.e., ICP-MS Standards) quantification curves produced in Calibration-1 and Calibration-2.

To quantify nano-Fe_3O_4, the total ^{56}Fe peak area was used. The concentration ranges used were from 1 to 5 mg L^{-1} and from 5 to 20 µg L^{-1} for the ENPs and TM, respectively. These concentrations represent a low TM level but are realistic in an environmental context. In the experiment, the quantification was performed with external standards (Fe, As, Pb, Th) every seven samples. Furthermore, the stability of the signal was followed throughout the experiment with a standard (^{125}Te) that was added continuously to correct any signal shift.

Reproducibility and robustness. To ensure the reproducibility and robustness of the SEC/UV-ICP-MS approach, nAu and dextran were analyzed as bracketing standards (i.e., n = 3 for each particle type, per analytical batch) for their sizes and molecular weights. Between each run, the reproducibility for each nAu and dextran was evaluated from these analyses and were performed over a 16-week period (n = 48).

In the experiments (i.e., Exp1, Exp2, Exp3), quantification curves were produced after every seven samples (i.e., n = 2 for each quantification per analytical batch). The between-run reproducibility was evaluated from the analyses and was performed over a 16-week period (n = 32).

Data were processed using Mass Hunter software (for ICP-MS data) and Chemstation (for HPLC data) for UV detection (Agilent, FR). The yield correction was evaluated after each sequence and each sample every day over a 16-week period (n=3 for each sample and calibration curve).

Results and discussion

Detection

The sizes and MWs of the nano-Fe_3O_4 and organic molecules were determined through a calibration using different nAu and exopolysaccharide (dextran) standards in which the sizes were reproducible and symmetric (see supporting information (SI), Figure S3). We used nAu for the size calibration because it is known to have a low degree of size polydispersity compared with other ENPs (i.e., standard deviations <1). Stabilized or not, their retention time was compared with other ENPs and was found to be constant[9]. For the organic MW calibration, the universal calibration and Mark–Houwink approaches were used with the dextran standards[19]. The calibration curves (FigureS 4) present the logarithmic size values as a function of the retention volume (RV) for four sizes of nAu (FigureS 4a) and five MWs (FigureS 4b). The linear correlation between RV and log (d) and between RV and log(MW) is 0.99 and 0.96, respectively:

a. $f(x) = -1.262\ x + 8.764$ (1)

b. $f(x) = -1.116\ x + 11.94$ (2)

Thus, the quality of the size and MW characterization was ensured by a suitable correlation in each sequence. Finally, to ensure the robustness of the size characterization of the method, the calibration was also tested with different nanoparticles, including nano-CeO_2[24], nano-ZnO[25,26] and nano-SiO_2[27] and showed accurate results (see SI, Figure S 5).

Separation

Figure 1 presents the chromatograms for nano-Fe_3O_4, free metals, one associated metal (La with HA) and HA. These four compounds were injected separately to obtain a characterization of each RV. To simplify the figure, each element is presented separately.

Nano-Fe_3O_4. The size characterization showed aggregation of the nano-Fe_3O_4 (Figure 1 and Figure S1). The primary Fe signal used to characterize the nano-Fe_3O_4 sizes was measured at 5.1 mL (~159 nm), supporting the TEM observations that suggest the presence of nano-Fe_3O_4 aggregations when not stabilized (Figure 1a). The ^{56}Fe signal corresponds to a shoulder at 6.1 mL (~11.6, Figure 1a). The Pb

chromatogram showed a similar pattern to that of Fe for nano-Fe_3O_4 (Figures 1 a, b) with a maximum at 5.1 (~159 nm). The correlation between Pb and nano-Fe_3O_4 was over 92% (Figures S 5b1 and b2). The co-presence of Pb might be explained by a co-precipitation[28] or an adsorption[29] with iron through the synthesis of ENPs. The Pb might be sourced in the impurity of the compounds used for the synthesis. For example, the NaOH pellet (AnalaR NORMAPUR, VWR) used for the synthesis contains up to 5 ppm of Pb. These results suggest that Pb might be used to track the nano-Fe_3O_4 in our system.

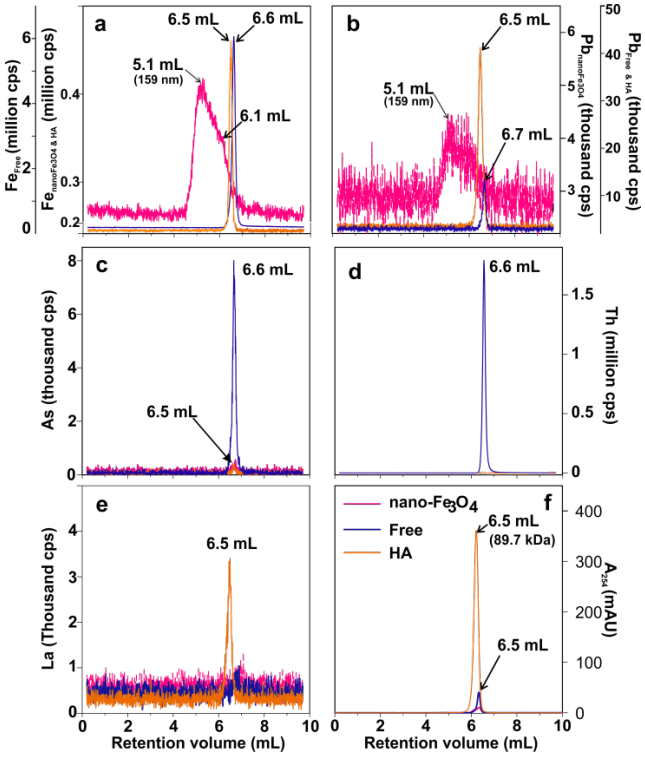


Figure 1. Chromatograms of nano-Fe_3O_4 (pink line), free metals (blue line) and HA (orange line) samples, which where individually injected to characterize their specific RVs (in mL) in the liquid chromatography. (a) ICP-MS chromatogram for mass 56 (Fe); two different y-axis scales were established: (i) nanoFe_3O_4 and HA, (ii) free metal. (b) ICP-MS chromatogram for mass 208 (Pb); two different y-axis scales were established, (i) nano-Fe_3O_4, (ii) HA and free metal, (c) ICP-MS chromatogram for mass 75 (As). (d) ICP-MS chromatogram for mass 232 (Th), (e) ICP-MS chromatogram for mass 139 (La), and (f) UV absorption chromatogram at 254 nm (organic matter).

Free metal. The analyses of the free metals show reproducible chromatograms with sharp peaks for all elements analyzed (Figures 2a, b, c, d, e). The RVs of each free calibrated metal are similar, with values of 6.5, 6.6, 6.6, and 6.7 mL for ^{232}Th, ^{56}Fe, ^{75}As, and ^{208}Pb, respectively. Interestingly, nano-Fe_3O_4, Fe within HA and free Fe are clearly distinct with RVs of 5.1, 6.5 and 6.6 mL, respectively. There appear to be no interferences with nano-Fe_3O_4 from the other free metals (i.e., ^{75}As, ^{139}La, ^{232}Th) because no signal was detected. These data show that our method can separate and distinguish the different Fe forms (free, with HA or nano-Fe_3O_4), while observing the other trace metals and their possible interactions with the different Fe forms without any interference.

Humic acid (HA). In our method, HA is well detected with UV absorption at an RV of 6.5 mL (Figure 1f). Classically, the organic molecules are observed by UV spectrometry with the maximum absorption at 254 nm[30,31]. However, free metals (^{232}Th, ^{56}Fe, ^{75}As, and ^{208}Pb) are also detected at 254 nm with an intensity of ~40 mua, and they overlap with the HA signal at 6.5 mL. These observations showed that the UV detection is not sufficiently specific to track OM in a multi-detection context.

Rare earth elements (REE), such as ^{139}La, are known to be closely associated with NOM (including colloidal, particulate and dissolved organic matter) in natural waters[32,33]. Here, ^{139}La (Figure 1e) is clearly detected by ICP-MS at the same RV as HA (Figure 1f) using UV absorption at 254 nm. Moreover, an excellent linear correlation (over 99%) was established between the HA concentration and the ^{139}La ICP-MS signal (Figure S 6). Finally, because ^{139}La was not detected among the free metal samples, these results suggest that ^{139}La might be used to track the OM in our system.

In summary, by following nano-Fe_3O_4 through ^{208}Pb, ^{56}Fe and OM using ^{139}La monitoring, our method tracks and distinguishes the three different forms of Fe (as nano-phase, bound to OM and free) due to their specific RVs and observes their associations with other free metals and OM.

Mobile phase (MP) efficiency. To improve the competition between the MP and the stationary phase (SP), SDS, a dispersion agent, $NaNO_3$, a salt stabilizing the ionic strength and, SC, a buffer to stabilize the pH, were used. These different components might have an effect on the ENP stability and interactions. However, the profile of chromatographic peaks obtained for nano-Fe_3O_4 shows only one large peak (Figure S 7). Thus, if dissolution of the ENPs occurred, then a second peak at approximately 6.4 mL should be present. Moreover, the dispersion of the ENPs appears to be limited due to the presence of a large peak with a short RV that characterized the aggregated nano-Fe_3O_4. The results presented in Figure 2 show that the MP does not perturb the interactions between nano-Fe_3O_4 and Th. First, nano-Fe_3O_4 and Th were analyzed alone without any HA (Figures 3a and b). As displayed, the RVs of nano-Fe_3O_4 and Th are similar at approximately 5 mL (Figure 2b).

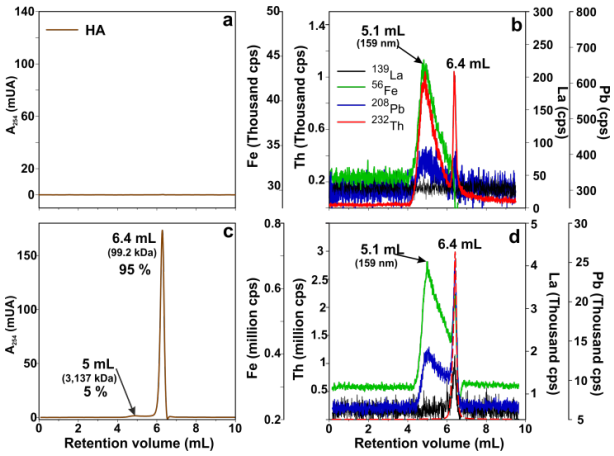


Figure 2. (a, b) Chromatograms for nano-Fe_3O_4 ([Fe] = 5 mg L^{-1}) mixed with Th (10 µg L^{-1}) samples, (c, d) chromatograms for nano-Fe_3O_4 mixed with Th and dissolved HA([C_{org}] = 20 mg L^{-1}) samples. (a, c) UV absorption chromatogram at 254 nm (organic matter). (b, d) ICP-MS chromatograms for masses 56 (Fe), 139 (La), 208 (Pb), and 232 (Th).

This co-elution suggests an adsorption of Th onto nano-Fe_3O_4. However, the thorium ICP-MS signal shows a second peak at 6.4 mL. This second peak suggests that some of the Th did not adsorb onto the nano-Fe_3O_4; therefore, it is free. Second, in presence of HA (Figures 3c and d), the interaction between nano-Fe_3O_4 and Th changed. The RVs of Th are now larger than that of the nano-Fe_3O_4 and are similar to La and HA at approximately 6.4 mL, without a second peak. This new co-elution suggests an adsorption or a complexation of Th with HA. Because we can observe a co-elution of Th with HA and nano-Fe_3O_4, the MP does not appear to perturb the adsorption or cause any desorption. Consequently, the MP used in our method is suitable to study the interactions among HA, nano-Fe_3O_4 and TMs without any perturbation.

Applications.

Artificial interactions. Following the Th adsorption experiment, Exp1 was performed to determine whether the method can observe the same interactions when several metals are present simultaneously (i.e., As, Pb, Th). We performed this experiment without any OM the first time and with HA the second time. The results show (Figure 3) that even with the three metals present simultaneously, the method can be used to observe interactions among nano-Fe_3O_4, HA and the TMs. More specifically, three types of samples were tested (see Figure 3): (i) nano-Fe_3O_4 with HA, represented by the blue line, (ii) nano-Fe_3O_4 with TMs (i.e., As, Pb, Th), represented by the black line, (iii) nano-Fe_3O_4 with HA and TMs (i.e., As, Pb, Th) represented by the dashed-dotted pink line. For the first sample type, the ^{56}Fe spectrum, corresponding to nano-Fe_3O_4, shows a similar signal (RV = 5.1 mL, ~159 nm) to that observed when the nano-Fe_3O_4 particles were measured alone. In the presence of HA, the ^{56}Fe and ^{208}Pb spectra show two peaks: a first peak again at 5.1 mL (~159 nm) and a second peak at 6.5 mL (~ 6.5 nm). This second maximum might be explained by the presence of Fe already contained in HA. The presence of NOM might lead to the adsorption of NOM at the surface of the nano-Fe_3O_4, thus creating a coating that stabilizes the nanoparticles[9,34,35]. This adsorption of organic macromolecules onto nanoparticles is known to inhibit the coagulation potential of nanoparticle suspensions, thus enhancing their stability (steric stabilization)[9]. Because the second peak corresponds to an Fe particle with a size most likely below 10 nm, the results suggest that we are observing the coating phenomenon that was previously described. Moreover, because this RV is different from the RVs of ^{139}La,

^{208}Pb, and ^{56}Fe, ^{75}As does not appear to adsorb onto the nano-Fe_3O_4 or complex with the HA under these conditions (Figures 4c, e, f). The results show that the method allows the study of the interactions occurring in an artificial mixture containing different metals and OM.

Environmental samples. The results of the second experiment (Figure 4) show that the method can be used to study different interactions among NOM, metals and nano-Fe_3O_4 in natural environmental samples

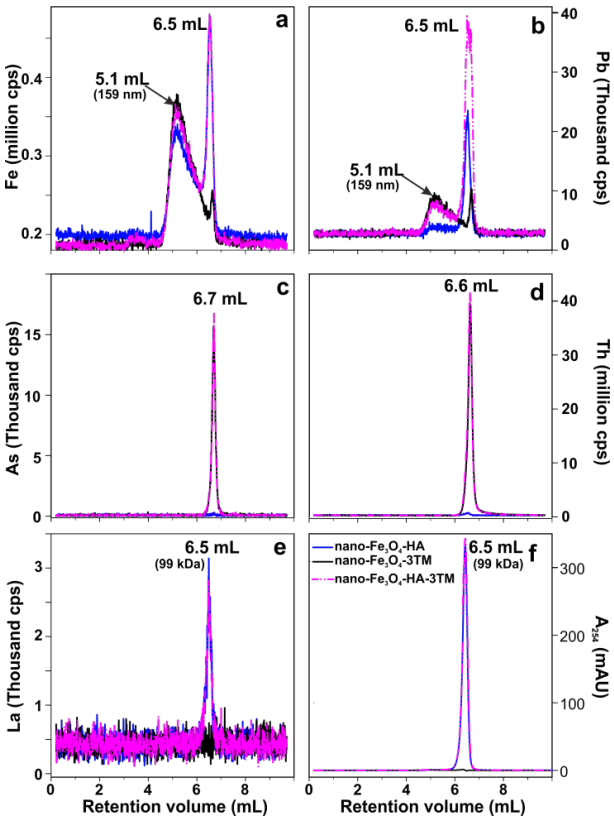


Figure 3. Chromatograms of nano-Fe_3O_4 mixed with (blue line) HA, (black line) TMs (i.e., As, Pb, Th) and (pink line) HA and TM samples. The three different mixtures were individually injected. (a) ICP-MS chromatograms for mass 56 (Fe), (b) ICP-MS chromatograms for mass 208 (Pb), (c) ICP-MS chromatograms for mass 75 (As), (d) ICP-MS chromatograms for mass 232 (Th), (e) ICP-MS chromatograms for mass 139 (La), and (f) UV absorption chromatograms at 254 nm (organic matter).

containing different types and amounts of NOM. The ^{56}Fe and ^{208}Pb chromatograms produced from PAE and EXU water show four maxima (Figures 5a and b): (i) 3.5 mL, (ii) 5.1 mL, (iii) 6.5 mL and (iv) 6.8 mL. KEJIM water shows only one peak at 5.1 mL. The different behaviors observed in KEJIM water compared with those of PAE and EXU waters, which contain a much higher amount of NOM than KEJIM, might be explained by the different chemical compositions of NOM and by the total ion compositions (Table S2). The first and low peak observed at 3.5 mL on the ^{56}Fe and ^{208}Pb chromatograms (Figures 5a and b) showed larger particle sizes than the evaluation

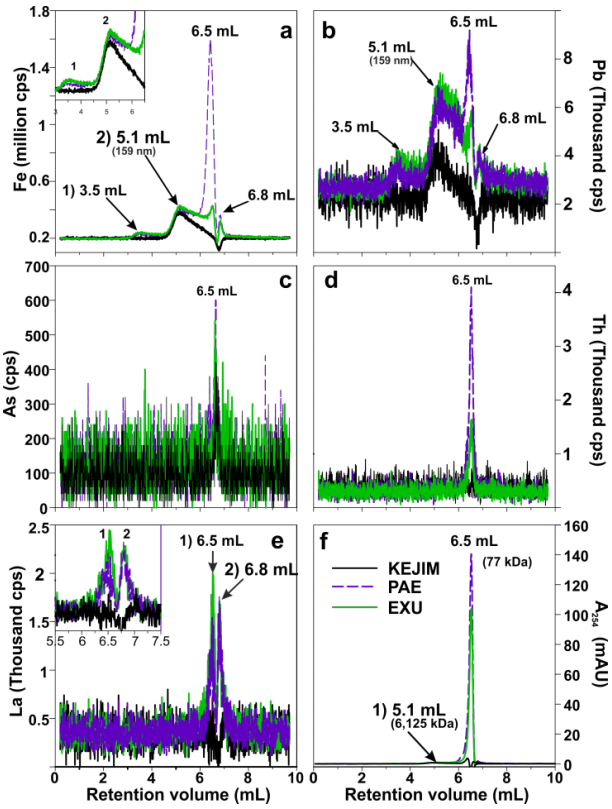


Figure 4. Chromatograms of three different natural waters spiked with nano-Fe_3O_4 ([Fe] = 3 mg L^{-1}): (black line) lake standard water from Canada, (purple line) wetland soil-sourced pore water, and (green line) river water from a wetland area. The three different mixtures were individually injected. (a) ICP-MS chromatograms for mass 56 (Fe), (b) ICP-MS chromatograms for mass 208 (Pb), (c) ICP-MS chromatograms for mass 75 (As), (d) ICP-MS chromatograms for mass 232 (Th), (e) ICP-MS chromatograms for mass 139 (La), and (f) UV absorption chromatograms at 254 nm (organic matter).

range of the method, most likely corresponding to the large aggregates of nano-Fe_3O_4. The second maximum observed at 5.1 mL might also be attributed to aggregated nano-Fe_3O_4, as previously observed. The third peak observed for PAE, and to a lesser extent for EXU, might be explained by a larger amount of iron

contained in these different NOM and/or by the stabilization of some nano-Fe_3O_4 by NOM, as described in Exp1[9,36-38]. The ^{139}La chromatogram (Figure 4c) for PAE and EXU waters shows two close peaks at 6.5 mL (59.7 kDa) and 6.8 mL (33 kDa), respectively, whereas the KEJIM chromatogram shows no peak. The first ^{139}La peak (~6.5 mL) co-elutes with ^{56}Fe, ^{208}Pb, ^{75}As and ^{232}Th, whereas the second peak (6.8 mL) only co-elutes with some ^{56}Fe and ^{208}Pb. We speculate that the first peak corresponds to a NOM fraction adsorbed onto the nano-Fe_3O_4, whereas the second corresponds to a free NOM fraction already containing some ^{56}Fe and ^{208}Pb. By observing different behaviors and interactions in natural samples, the results reveal that this method is suitable to study the dynamics of nanoparticles, TMs and OM in different types of waters.

Contaminated waters. The results of the third experiment (Figure 5) show that this method can observe different interactions between metals and nano-Fe_3O_4 in standard waters containing different and high TM concentrations from different source waters (sewage, tap water and groundwater). The three water samples (i.e., EP, EU and ES) showed different chromatogram patterns for ^{56}Fe, ^{208}Pb and ^{75}As. A first peak is observed at 5.1 mL in the ^{56}Fe, ^{75}As, and ^{208}Pb chromatograms (Figures 6 a, b and c). Because the RV for the ^{56}Fe and ^{208}Pb chromatograms (Figures 6 a and b) corresponds to a particle size of 159 nm, this peak should correspond to an aggregate of the spiked nano-Fe_3O_4. In EU water, the small peak observed at 5.1 mL in the ^{75}As chromatogram might be attributed to some adsorption onto the aggregated nano-Fe_3O_4 (Figure 5c). A second peak is observed at 6.1 mL in the ^{56}Fe, ^{208}Pb and ^{75}As chromatograms for the ES samples. This peak is not observed in non nano-Fe_3O_4-spiked samples (Figure S 8) and should correspond to the stabilized nano-Fe_3O_4 because the RV corresponds to particle sizes of 13 nm (Figures 6 a and b). In summary, the first two RVs of ^{56}Fe (5.1 mL and 6.1 mL) are attributed to two different sizes (159 and 13 nm) of nano-Fe_3O_4 that adsorb ^{208}Pb and a small amount of ^{75}As but no ^{139}La or ^{232}Th. We speculate that the free ^{56}Fe and ^{208}Pb, already contained in the ES water, might be adsorbed onto the nano-Fe_3O_4, playing the role of a cationic bridge with As, explaining the smaller peak observed in the ^{75}As chromatogram at 6.1 mL. A third peak is observed at 6.7 mL for all water samples in the ^{56}Fe, ^{75}As, ^{139}La and ^{232}Th chromatograms. This type of association mediated by cationic

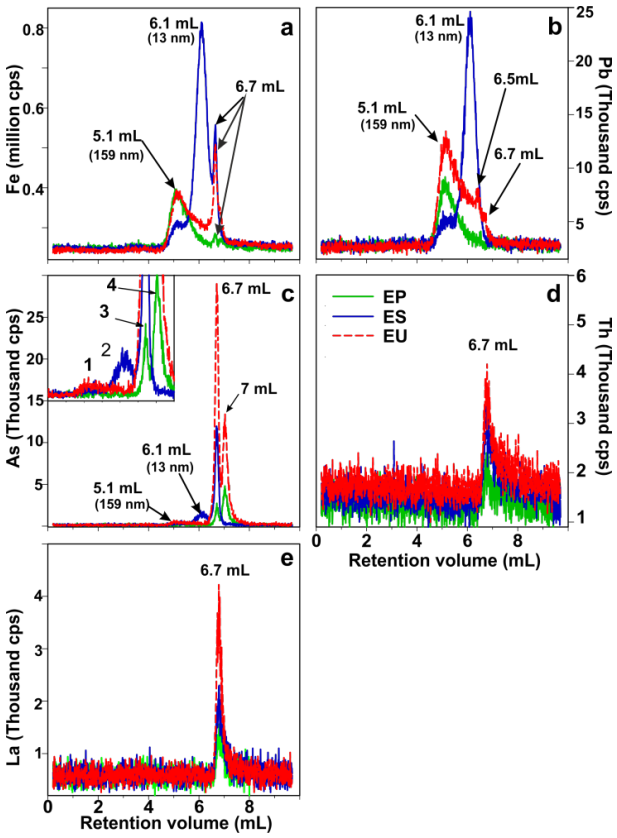


Figure 5. Chromatogram of a nano-Fe_3O_4 ([Fe] = 3 mg L^{-1}) mixture with three standard waters certified in multi-elements through tap water (green line), groundwater (blue line) and sewage water (dot red line). Each element is plotted in one figure with (a) Fe, (b) Pb, (c)As, (d) Th, and (e) La.

bridges has already been described[31]. Thus, ^{139}La may be used to track the OM, as previously discussed. This third peak corresponds to OM (Figure 5e). Furthermore, the co-presence of ^{56}Fe, without ^{208}Pb, at the same RV might correspond to the ^{56}Fe associated with OM. We also suggest, according to Liu et al[31], that the peak observed at 6.7 mL in the ^{75}As chromatogram might be explained by the formation of cationic bridges among OM, ^{56}Fe and ^{75}As. Finally, a fourth peak is observed at 7 mL only in the ^{75}As chromatograms for EP and EU waters. Because no other element co-eluted with these

peaks, we suggest that they correspond to some 'truly' free ^{75}As. The observation of the very different behaviors and associations among metals, OM and nano-Fe_3O_4 in different water types exhibiting variable TM concentrations reveals that the method can be considered suitable to study natural contaminated samples.

Quantification

Matrix effects. All calibration curves presented in FigureS 9 show linear correlations, with r^2 values over 0.99 for the entire analyzed concentration ranges (Table S3). The calibration curves for nano-Fe_3O_4 (FigureS 9a), Fe (FigureS 9b) and ^{232}Th (FigureS 9d) are different in the presence of HA, while those for ^{75}As are similar. The ^{56}Fe curves are similar, but in the presence of HA, the curve is shifted upward, thus overestimating the concentrations. This is certainly due to the ^{56}Fe already present in the OM. Finally, ^{232}Th quantification curves appear to be strongly affected by the presence of HA. The ^{232}Th curve in the presence of HA is less steep and would underestimate the concentration of the metal. This difference might be explained by the fact that ^{232}Th is easily complexed by NOM. Thus, if the NOM is: (i) aggregated over 0.45 µm (cut-off of guard column) or (ii) adsorbed on the column stationary phase, then some ^{232}Th might be lost in the process. Because the calibration curves show strong and linear correlation curves and because the effect of OM is easily explained, these results suggest that this method can accurately quantify the different metals in environmental **samples.**

Yield of the method. The results displayed in Figure 6 present the recovery yield for the metals analyzed with the method. The quantifications for each peak/fraction of the ^{56}Fe and ^{75}As chromatograms are displayed in Figures 8a and b and are compared with the corrected values (corr) determined by the recovery yield (further information is reported in Table S4 a, b c and d). The recovery yield for ^{75}As is very high, approximately 94 ± 6% (n=36), while the average ^{56}Fe recovery yield is only approximately 23 ± 14% (i.e., nano-Fe_3O_4). Moreover, as illustrated by the high standard deviation, the ^{56}Fe recovery yields show large variations. Consequently, during the experiments, the yields were evaluated for each sample and sequence. These large variations might be explained by variations in the matrices and ion concentrations. Aggregates might be formed between NOM and nano-Fe_3O_4 and cause particle growth due to the adsorption of NOM molecules onto the ENPs[39-41]. Some nano-Fe_3O_4 might then be lost in the process if the aggregates are larger than 0.45 µm. Furthermore, traditional liquid chromatography techniques are not amenable for separating nanoparticles[7]. The low charge of nanoparticles relative to similarly sized biomolecules and nonspecific interactions with the stationary phase typically result in strong interactions or irreversible binding. In this study, as observed by Liu and Wei[21] with nAu, some nano-Fe_3O_4 might also be adsorbed onto the stationary phase of the column. In general, the matrix (e.g., NOM) interactions with the stationary phase are not quantitatively known for classical separation techniques, such as FFF and hydrodynamic chromatography (HDC). In this study, we estimated these interactions by calculating the recovery yield. We found high and adequate recovery yields ranging between 60 and 85% (Figure 6a). Finally, because the recovery yield can be calculated and well explained, this last investigation reinforces the suitability of this method to study the behavior of nanoparticles, such as nano-Fe_3O_4 and TM (i.e., As, Th and Pb) in environmental samples.

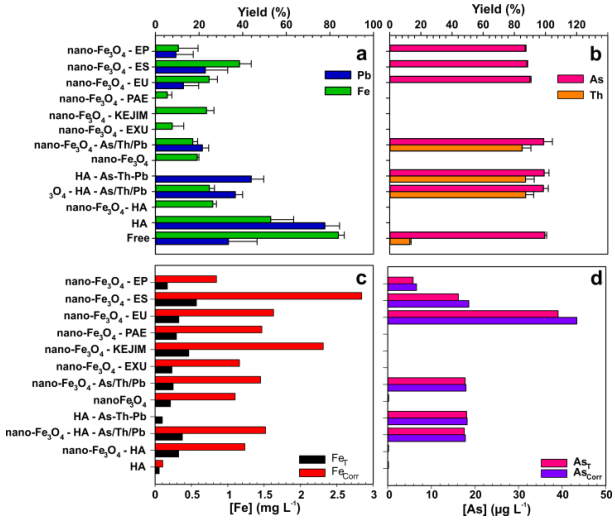


Figure 6. **(a, b) Metal (i.e., Pb, Fe, As, Th) chromatography yield (%) for each analyzed sample; (c, d) quantification (mg L^{-1}) for Fe and As with and without yield correction.**

Conclusions

The SEC-UV-ICPMS method described in this study appears to offer a suitable approach to improve the characterization of nano-Fe_3O_4 behavior in complex environmental matrices. Although the method outlined does not appear to be universal, it is promising for other applications and nanoparticles and shows several advantages: (i) The method can be used over a wide pH range (i.e., 2-8). Consequently, this method might be applied to adsorption studies or behavior characterization with a suitable quantification; (ii) the method offers a good quality of calibration for size (i.e., ENPs) and MW (i.e., dextran), which is essential for understanding the behavior and potential effect of the ENPs on the mobility of TMs in soil and aquatic systems; (iii) the time for analysis is less than 10 minutes per sample, which makes it an appropriate method for size analysis and for multi-elemental composition analysis, considering the large number of samples typically produced in environmental studies; (iv) a known and acceptable amount of NOM adsorbs onto the studied column, while this information is generally not available for more classical SEC stationary phases (e.g., polystyrene package); and (v) the SEC column package used in the method is inexpensive, and a large size cut-off range exists to modulate the separation, improving the flexibility of the separation.

ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information

Microscopy pictures and chromatograms of nano-Fe_3O_4, nano-Fe_2O_3, nano-CeO_2, nano-ZnO, nano-SiO_2, nAu and dextran are included as the Supporting Information, along with the quantification of the interactions with nano-Fe_3O_4. "This material is available free of charge via the Internet at http://pubs.acs.org".

AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

* Corresponding author, present e-mail: maya.al-sid-cheikh@univ-rennes1.fr and permanent e-mail: maya.alsid@gmail.com phone: (+33)2.23.23.32.43

Author Contributions

All authors have approved the final version of the manuscript.

ACKNOWLEDGMENT

We are thankful to Patrice Petitjean for his assistance with standard water and anion analyses. We also acknowledge Patricia Madec for her assistance, which was always appreciated. We also thank Vincent Dorcet for the TEM pictures acquired using the THEMIS platform (ScanMAT, University of Rennes 1) and for the scientific discussion and his patience. His TEM experience was very enriching. This study was funded by the CNRS research program EC2CO (NanoOrgaTraces project) and by the French ANR, through the "Programme Jeunes Chercheurs": ARSENORG.

REFERENCES

(1) Bosch, J.; Heister, K.; Hofmann, T.; Meckenstock, R. U. *Appl. Environ. Microbiol.* **2010**, *76*, 184-189.
(2) Boxall, A. B. A.; Tiede, K.; Chaudhry, Q. *Nanomed.* **2007**, *2*, 919-927.
(3) Hua, M.; Zhang, S.; Pan, B.; Zhang, W.; Lv, L.; Zhang, Q. *J. Hazard. Mater.* **2012**, *211–212*, 317-331.
(4) Sharma, V. K.; Sohn, M. *Environ. Int.* **2009**, *35*, 743-759.
(5) Wiesner, M. R.; Lowry, G. V.; Alvarez, P.; Dionysiou, D.; Biswas, P. *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 4336-4345.
(6) Hassellöv, M.; Kaegi, R. In *Environmental and Human Health Impacts of Nanotechnology*; John Wiley & Sons, Ltd, 2009, pp 211-266.
(7) von der Kammer, F.; Ferguson, P. L.; Holden, P. A.; Masion, A.; Rogers, K. R.; Klaine, S. J.; Koelmans, A. A.; Horne, N.; Unrine, J. M. *Environ. Toxicol. Chem.* **2012**, *31*, 32-49.
(8) Tiede, K.; Boxall, A. B. A.; Tiede, D.; Tear, S. P.; David, H.; Lewis, J. *J. Anal. At. Spectrom.* **2009**, *24*, 964-972.
(9) Delay, M.; Dolt, T.; Woellhaf, A.; Sembritzki, R.; Frimmel, F. H. *J. Chromatogr. A* **2011**, *1218*, 4206-4212.
(10) Plathe, K. L.; von der Kammer, F.; Hassellöv, M.; Moore, J. N.; Murayama, M.; Hofmann, T.; Hochella Jr, M. F. *Geochim. Cosmochim.* Acta **2013**, *102*, 213-225.
(11) Baalousha, M.; Kammer, F. V. D.; Motelica-Heino, M.; Le Coustumer, P. *J. Chromatogr. A* **2005**, *1093*, 156-166.
(12) Hassellöv, M.; Readman, J.; Ranville, J.; Tiede, K. *Ecotox.* **2008**, *17*, 344-361.
(13) Bolea, E.; Jiménez-Lamana, J.; Laborda, F.; Castillo, J. R. *Anal Bioanal Chem* **2011**, *401*, 2723-2732.
(14) Poda, A. R.; Bednar, A. J.; Kennedy, A. J.; Harmon, A.; Hull, M.; Mitrano, D. M.; Ranville, J. F.; Steevens, J. *J. Chromatogr. A* **2011**, *1218*, 4219-4225.
(15) Mitrano, D. M.; Barber, A.; Bednar, A.; Westerhoff, P.; Higgins, C. P.; Ranville, J. F. *J. Anal. At. Spectrom.* **2012**, *27*, 1131-1142.
(16) Schmidt, B.; Loeschner, K.; Hadrup, N.; Mortensen, A.; Sloth, J. J.; Bender Koch, C.; Larsen, E. H. *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 2461-2468.
(17) Hagendorfer, H.; Kaegi, R.; Parlinska, M.; Sinnet, B.; Ludwig, C.; Ulrich, A. *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 2678-2685.
(18) Liu, J.; Andya, J.; Shire, S. *AAPS J* **2006**, *8*, E580-E589.
(19) Striegel, A. M.; Kirkland, J. J.; Yau, W. W.; Bly, D. D. *Modern Size Exclusion Chromatography, Practice of Gel Permeation and Gel Filtration Chromatography*, 2nd ed.; Wiley: New York, 2009.
(20) Foss Hansen, S.; Larsen, B. H.; Olsen, S. I.; Baun, A. *Nanotox.* **2007**, *1*, 243-250.
(21) Liu, F.-K.; Wei, G.-T. *Chromatographia* **2004**, *59*, 115-119.

(22) Massart, R. *Magnetics, IEEE Transactions on* **1981**, *17*, 1247-1248.
(24) Duguet, E.; Vasseur, S.; Mornet, S.; Goglio, G.; Demourgues, A.; Portier, J.; Grasset, F.; Veverka, P.; Pollert, E. *Bull Mater Sci* **2006**, *29*, 581-586.
(24) Sehgal, A.; Lalatonne, Y.; Berret, J. F.; Morvan, M. *Langmuir* 2005, 21, 9359-9364.
(25) Grasset, F.; Starukh, G.; Spanhel, L.; Ababou-Girard, S.; Su, D. S.; Klein, A. *Adv.Mater*. 2005, 17, 294-297.
(26) Neaime, C.; Prévôt, M.; Amela-Cortes, M.; Cîrcu, V.; Grasset, F.; Folliot, H.; Molard, Y. *Chem. Eur. J*. 2014, 20, 13770-13776
(27) Aubert, T.; Grasset, F.; Mornet, S.; Duguet, E.; Cador, O.; Cordier, S.; Molard, Y.; Demange, V.; Mortier, M.; Haneda, H. *J. Colloid Interface Sci*. 2010, 341, 201-208.
(28) Lu, P.; Nuhfer, N. T.; Kelly, S.; Li, Q.; Konishi, H.; Elswick, E.; Zhu, C. *Geochim. Cosmochim. Acta* **2011**, *75*, 4547-4561.
(29) Trivedi, P.; Dyer, J. A.; Sparks, D. L. *Environ. Sci. Technol*. **2003**, *37*, 908-914.
(30) Liu, G.; Cai, Y. *Chemosphere* **2010**, *81*, 890-896.
(31) Liu, G.; Fernandez, A.; Cai, Y. *Environ. Sci. Technol*. **2011**, *45*, 3210-3216.
(32) Pédrot, M.; Dia, A.; Davranche, M. *JCIS* **2009**, *339*, 390-403.
(33) Johannesson, K. H.; Tang, J.; Daniels, J. M.; Bounds, W. J.; Burdige, D. J. *Chem. Geol.* **2004**, *209*, 271-294.
(34) Pelley, A. J.; Tufenkji, N. *JC IS* **2008**, *321*, 74-83.
(35) Johnson, R. L.; Johnson, G. O. B.; Nurmi, J. T.; Tratnyek, P. G. *Environ. Toxicol. Chem.* **2009**, *43*, 5455-5460.
(36) Napper, D. H. *J. Colloid Interface Sci*. **1977**, *58*, 390-407.
(37) Lourenco, C.; Teixeira, M.; Simões, S.; Gaspar, R. *Int. J. Pharm.* **1996**, *138*, 1-12.
(38) Diegoli, S.; Manciulea, A. L.; Begum, S.; Jones, I. P.; Lead, J. R.; Preece, J. A. *Sci. Total Environ.* **2008**, *402*, 51-61.
(39) Link, S.; El-Sayed, M. A. *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 4212-4217.
(40) Lebedev, V. S.; Vitukhnovsky, A. G.; Yoshida, A.; Kometani, N.; Yonezawa, Y. *Colloid Surface A: Physicochemical and Engineering Aspects* **2008**, *326*, 204-209.
(41) Smitha, S. L.; Nissamudeen, K. M.; Philip, D.; Gopchandran, K. G. *Spectrochim Acta A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2008**, *71*, 186-190.

Article 4

Résumé

Les oxydes de fer influencent la chimie des eaux de surface, des eaux souterraines, des sédiments et des sols grâce à différents procédés d'adsorption. Les nanoparticules de magnétite (nano-Fe_3O_4) sont de plus en plus utilisées comme nano-adsorbant pour le traitement des métaux lourds en milieu aquatique. Le but de notre étude était d'évaluer la capacité d'adsorption des nano-Fe_3O_4 et leur potentiel à transporter les métaux toxiques (TM) vers le système aquatique, en fonction de leur composition de la surface et des conditions environnementales. Plus précisément, nous avons utilisé une méthode de couplage entre une nouvelle génération de colonne d'exclusion stérique à base de billes de silice et la spectrométrie de masse par torche plasma (SEC-ICP-MS), pour évaluer les interactions de deux types de nanoparticules : (a) nano-Fe_3O_4 stabilisées (i.e. acide dimercaptosuccinique (DMSA)) et (b) non stabilisées (i.e. nues) avec deux TMs, l'arsenic (As) et le plomb (Pb). La méthode SEC-ICP-MS a permis de caractériser le comportement des nano-Fe_3O_4 sous différents pH et concentrations de TMs dans des eaux synthétiques, représentant des eaux de pluies, avec une force ionique de 5.10^{-3} M $NaNO_3$. Nos résultats ont tout d'abord montré que les nano-Fe_3O_4s nues formaient généralement des agrégats (e.g. taille > 60 nm) avec une très grande polydispersité, alors que les nano-Fe_3O_4s enrobées semblent plus stables et plus mono-dispersées avec une taille maximale d'environ 14 nm. La première approche utilisée pour évaluer la capacité d'adsorption (Q_{ads}) des nanoparticules à été effectué à partir des isothermes d'adsorption. Les isothermes ont révélé que les adsorptions du Pb sur des nanoparticules enrobées et de l'As sur des nanoparticules nues sont décrites par le modèle de Freundlich, tandis que l'adsorption Pb sur la nano-Fe_3O_4 nues est mieux décrite par le modèle de Langmuir. En utilisant ces modèles, les capacités d'adsorption nano-Fe_3O_4s nues pour As et Pb étaient 28.1, 26.5, 9.6, 7.0 µmol/m² et 0.23, 351, 642, 968 µmol/m², respectivement, aux pH de 3.5, 5.0, 6.5 et 8.0. Les grandes Q_{ads} pour le Pb sur les nanoparticules nues, en pH alcalin, montre la limitation du modèle pour expliquer le mecanisme d'intéraction observé. En pH alcalin, le Pb est oxidé et suggère de la co-précipitation entre les nanoparticules nues et le $Pb(OH)_{2(s)}$. En revanche, la capacité d'adsorption des nano- Fe_3O_4 enrobées pour le Pb était 97.2, 57.9, 29.3 et 13.9 µmol/m² à un pH de 3.5, 5, 6.5 et 8, respectivement. Le revêtement, constamment déprotoné, limiterait l'adsorption des TMs sur les nano-Fe_3O_4s et aurait un effet inversé sur l'adsorption du Pb avec les nano-Fe_3O_4 enrobées en raison la charge de surface constamment négative de celle-ci, ce qui crée une répulsion à pH basique. Cette première application de cette nouvelle method de couplage SEC-ICPMS montre que cette technique est adequate et robuste pour évaluer les interaction entre les nanoparticules et les ETs dans différentes matrices environmentales

Abstract

Iron oxides influence the chemistry of surface waters, groundwaters, sediments and soil through different adsorption processes. Mowever, magnetite nanoparticles (nano-Fe_3O_4) is increasingly used as heavy metal nano-adsorbant in aquatic environment. The aim of our study was to assess the adsorption capacity of nano-Fe_3O_4 and their potential to carry toxic metals into the aquatic system, according to their surface composition and the environmental conditions. More specifically, we used a suitable SEC-ICP-MS method to assess the interactions of two nanoparticles (i.e. stabilized nano-Fe_3O_4 (i.e. DMSA coating) and non-stabilized (i.e. naked) with two toxic metals (TMs) (i.e arsenic (As) and lead (Pb)). The SEC-ICPMS method allowed characterizing the nano-Fe_3O_4 behavior under different pHs and TMs concentrations in synthetic water, representing rainwater, with a ionic strength of 5.10^{-3}M $NaNO_3$. SEC-ICPMS analyses indicated that uncoated nano-Fe_3O_4 generally form aggregates (i.e. size above 60 nm) with very large size dispersion, whereas the coated nano-Fe_3O_4 seem more stable and mono-disperse with a maximum size around 14 nm. The first approche to evaluate the adsorption capacity (Q_{ads}) was done through adsorption isotherms. These isotherms revealed that the adsorption of Pb onto coated nanoparticles and As onto uncoated nanoparticles are described by the Freundlich model, whereas the Pb adsorption onto the uncoated nano-Fe_3O_4 seems to be described by the Langmuir model. Using these models, the uncoated nano-Fe_3O_4 adsorption capacities for As and Pb were 28.1, 26.5, 9.6, 7.0 µmol/m² and 0.23, 351, 642, 968 µmol/m², respectively, at pH 3.5, 5.0, 6.5 and 8.0. The high Q_{ads} for Pb onto the uncoated nano-Fe_3O_4, in alkalin pH, show a limitation of the model to explain the mechanism of interaction. In alkalin pH, Pb is oxidised and suggests a co-precipitation of the uncoated nano-Fe3O4 with $Pb(OH)_{2(s)}$. By contrast, the coated nano-Fe_3O_4 adsorption capacities for Pb were 97.2, 57.9, 29.3 and 13.9 µmol/m² at pH 3.5, 5, 6.5 and 8, respectively. The coating, constantly deprotonated in all pH, prevents As adsorption onto the coated nano-Fe_3O_4 and drives inversed adsorption capacity for Pb due to the negative surface charge of the carboxylic group, which creates repulsion at basic pH. This first application of the new SEC-ICPMS method shows that the method is a suitable a robust technics to evaluate nanoparticles and TMs interactions in different environemental matrices.

SEC-ICP-MS shows different arsenic and lead adsorption patterns on magnetite nanoparticles

M. Al-Sid-Cheikh[a,*] M. Pédrot [a], M. Bouhnik-Le Coz[a], A. Dia[a], Petitjean P.[a], M.Davranche[a], and F. Grasset[b]

En préparation pour Analytica Chimica Acta

[a] CNRS UMR 6118, Géosciences Rennes, Université Rennes 1 - Campus Beaulieu, 263 av. général Leclerc, 35042 Rennes cedex, France.
[b] CNRS UMR 6226, Chimie Rennes, Université Rennes 1 - Campus Beaulieu, 263 av. général Leclerc, 35042 Rennes cedex, France.
* Corresponding author, present e-mail: maya.al-sid-cheikh@univ-rennes1.fr, and permanent e-mail: maya.alsid@gmail.com, phone: (+33)2.23.23.32.43.

1. Introduction

Iron oxides influence the chemistry of surface waters, groundwaters, sediments and soil through different adsorption processes[159-161]. Indeed, the different iron oxides forms, such as hematite (α-Fe_2O_3), maghemite (γ-Fe_2O_3) and magnetite (Fe_3O_4), are highly reactive and ubiquitous minerals[32]. Especially, magnetite, an inverse spinel Fe(II,III)-containing mineral, is known to adsorb cations and anions, including Co(II), Ni(II), Cs(II), Yb(III), U(VI), selenate, selenite, chromate, carbonate, phosphate, and arsenate[162-173]. At nano size however, materials are characterized by different physical, chemical and biological properties as compared to their normal size equivalents, especially regarding their higher surface area ratio[174]. For example, the magnetite nanoparticles (nano-Fe_3O_4) are thought to be able to entrap the polluants and introduce them into the aquatic system and transfer them into the food chain through a 'Trojan horse effect'[175]. Consequently, their improved adsorption capacity towards toxic metals (TMs) highlights the importance of investigating their roles as contaminant carriers into aquatic systems.

Nano-Fe_3O_4 is increasingly used as heavy metal nano-adsorbant in aquatic environment. In fact, their adsorption capacity is widely used by industries due to its low cost, efficiency, and simplicity[54]. However, the natural organic matter (NOM) and complex matrices present in the environmental context can change their adsorption behavior. Already, the performance of some nano-adsorbants, have been increased by functionalizing particle surfaces with various chemical species in order to improve species affinities to heavy metal ions and remove them from water[52]. The fonctionalization of nano-Fe_3O_4 surface is generally produced by ligand exchange reactions with acids such as ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA), L-glutathione (GSH), mercaptobutyric acid (MBA), a-thio-u-(propionic acid) hepta(ethylene glycol) (PEG-SH), and meso-2,3-dimercaptosuccinic acid (DMSA)[51], of varying affinities for each metal[176]. Moreover, the use of a polymer shell prevents against interparticle aggregations and improved dispersion stability of the nanostructures[50]. However, these dispersion and stability improvement might also increase their mobility in the environment and consequently increase the TMs release into the aquatic system in case of a later destabilisation, which would be problematic when using this kind of ENPs for decontamination processes. The evaluation of the surface composition impact on the heavy metal adsorption is therefore a critical aspect regarding heavy metal mobility.

Previous engineered nanoparticles (ENPs) surface composition studies used a bunch of technics including costly synchrotron measurements[160, 164, 165, 177] and time consuming off-line couplings[161]. Moreover, the weak size characterization and clogging effect of the earlier adsorption capacity determination technics, gernerally using simple filtration[178], cannot evaluate the ENPs sensitivity to factors such as magnetic field, pH and ionic strength, which can destabilize nanoparticles and influence the morphology and size of the subsequent aggregates[160]. Indeed, ENPs destabilization under different conditions may form some aggregates, which are expected to impact significantly the adsorption behavior of nano-Fe_3O_4[161, 179, 180], requiring thus a more suitable method.

Here, using a suitable method that we recently published[181] using a SEC-ICP-MS coupling, we assess the interactions of two nanoparticles (i.e. stabilized nano-Fe_3O_4 (i.e. DMSA coating) and non stabilzed (i.e. naked)) with two TMs (i.e arsenic (As) and lead (Pb)). As and Pb were chosen since arsenate oxyanions have shown to bind strongly to the magnetite surface forming inner sphere, bidentate binuclear corner-sharing surface complexes[182-184], whereas Pb is known to be adsorbed onto the iron oxide and especially onto the nano-Fe_3O_4 described by a pseudo-second-order equation from Langmuir isotherms[54]. As our method prevents the clogging and allows a strong size characterization, our study is able to show different arsenic and lead adsorption patterns on magnetite nanoparticles regards to the nanoparticle size, the pH and the metal concentrations.

2. Material and methods

2.1.Nano-Fe_3O_4 synthesis and characterization

The nano-Fe_3O_4 were synthetized by Fe^{2+} and Fe^{3+} (1/2) coprecipitation as described in Al-Sid-Cheikh, et al. [181]. The size, composition and structure were assessed by high-resolution transmission electron microscopy (HRTEM), energy-dispersive x-ray spectroscopy (EDS) and precession electron diffraction (PED), respectively (JEOL 2100, Themis Platform of University of Rennes 1, DS analyses). The samples were dried prior to analysis. The specific surface area (SSA) was determined by Brunauer-Emmet-Teller (BET) method with nitrogen adsorption, using a Quantachrome AS1 win™ Autosob-1-C surface area analyzer (Quantachrome Instruments). The samples were warmed at 30°C prior to analysis. The differential potentiometric titration (DPT) were used for the determination of the point of zero charge (pzc) of nano-

Fe_3O_4, using only one potentiometric curve [185] produced in triplicates. The model used to calculate the pH_{zpc} was the one site / two pK model ($pH_{zpc} = \frac{|pK_1| + |pK_2|}{2}$). Thus, the pH_{zpc} calculated for the nano-Fe_3O_4 was 5.1 ± 0.1.

2.2.Adsorption experiments

Adsorption experiments were performed in batch-mode. For all the experimental batch the procedure described by Salazar-Camacho, et al. [161] was followed. All experiments were conducted in batch of 50 mL polypropylene containers kept at room temperature and shaken at 200 rpm for 48H. Two kinds of TMs adsorption experiments were assessed, one for As(V) and one with Pb(II). For each experiment, at room temperature (i.e. 22°C) 25 mL suspensions were prepared with a ionic strength settled at $5 \bullet 10^{-3}$ M $NaNO_3$, metals concentration ranged from 0.75 to 7.5 mg L^{-1} (i.e. As(V), or Pb(II)), and nano-Fe_3O_4 concentration of 0.5 g/L. The experiments were also conducted at 4 different pHs (between 3.5 up to 8) without significantly affecting the initial metal ions concentration. Standard 0.1 M HNO_3 and 0.1 M NaOH solutions were used for pH adjustment.

2.3.SEC-ICPMS coupling

The nano-Fe_3O_4 particle size distribution and their interactions with As(V) and Pb(II) were assessed using a SEC-ICP-MS method developed by Al-Sid-Cheikh, et al. [181]. Size separation was achieved using two online SEC nucleosil columns (250 x 4.6 mm) incorporating 7 µm packing materials of 400 nm pore size (from Macherey-Nagel) attached to an Agilent 1260 Infinity HPLC system (Agilent Technologies France) fitted with an auto-sampler. The columns were equipped with a prefilter/guard column UltraShield UHPLC Trident™ Direct with a cut-off of 0.45 µm (Restek® corporation USA). The metal detection was achieved using an Agilent 7700 ICP-MS (Agilent Technologies, France). The size calibration was achieved using gold colloids, from BBInternational (Cardiff, UK), with different mean diameters (i.e. 10 nm, 20 nm, 40 nm and 60 nm). An aliquot of 1 mL of nano-Fe_3O_4 suspensions were collected and diluted in the SEC mobile phase for a dilution factor of 10. No prefiltration were performed on the sample to preserve its intregrity. The SEC-ICPMS analyses were performed with a flow rate of 1 mL min^{-1} and pressure approximatively of 150 bar. Full details of the analytical method and calibration approach can be found in Al-Sid-Cheikh, et al. [181].

3. Results and discussion

3.1.Size characterization and dispersity

The processes of agglomeration are critical to understand the nanoparticles behavior in relation to trace metals[20], including the adsorption capacity and transport of toxic metals. Here, the SEC-ICPMS method allows a characterization of size (i.e. agglomeration state) and concentration of each element analyzed. The nano-Fe_3O_4 size dispersity following the adsorption experiments has been assessed and shown in Table 1. The ratio between the mean and the maximum sizes, often used as polidispersity index (PI)[186], shows different size dispersities for the different adsorption experiments following the pH variation. Generally, values close to 1 correspond to a monodispersity, whereas values above 2 are considered as highly polydispersed. As indicated in Table 1, uncoated nano-Fe_3O_4 show a broad polydispersity with ratios from 0.5 to 17.5 in the As and Pb adsorption experiments, respectively, whereas the dispersity is lower for the coated nano-Fe_3O_4 with values from 2.7 to 2.1 in the As and Pb adsorption experiments, respectively, no matter to the pH values or the metal concentrations. These results show that the stability of the naked nano-Fe_3O_4 seems more affected than the stability of the coated nano-Fe_3O_4 by factors such as the pH and the kind of heavy metals present.

Table 1. Dispersity of nano-Fe_3O_4 in separation run.

			SEC-ICPMS characterization				
			RV max.	RV mean	Size max.	size mean	
# metal	# adsorbent		mL		nm		dispersity
As	uncoated	**Fe**	4.67	4.91	682 *	336*	0.5
	nano-Fe_3O_4	**As ad.**	4.79	4.92	483*	328*	0.7
		As aq.	6.62	6.61	2	2	1.0
As	coated nano-Fe_3O_4	**Fe**	6.20	5.86	8	21	2.7
Pb	uncoated	**Fe**	5.97	4.99	15	268*	17.5
	nano-Fe_3O_4	**Pb**	5.92	5.50	18	61	3.4
Pb	coated	**Fe**	6.42	6.15	4	9	2.1
	nano-Fe_3O_4	**Pb**	6.12	6.00	10	14	1.4

* out of range

3.2.Effect of pH

Uncoated nano-Fe_3O_4 .

The As and Pb adsorption onto the uncoated nano-Fe_3O_4 were assessed in function of the pH and presented with chromatograms on Figure 1. Iron (Fe) spectra (Figs. 1 a and c) for both TMs show different behaviors. The Fe chromatograms for the As adsorption experiments show the highest intensity at the highest pH. This does not necessarily suggest a higher As adsorption onto the nanoparticles, but might only suggest a lower nano-Fe_3O_4 agregation (i.e. more particles eluted because they are below 0.45 μm) at higher pH.

Most of the particles are eluted at 4.7 mL, out of the size calibration range, but corresponding to a size between 60 and 400 nm. Moreover, at acid pH, the second elution peak at 5.9 mL, which should correspond to a particle size around 20 nm, indicates higher size dispersity. In parallel, As chromatograms (Fig. 1b) show two elution peaks, a first one (4.7 mL) corresponding to the As adsorbed onto the nano-Fe_3O_4, more important at basic pH, and the second one corresponding the free As (6.6 mL).

Conversely, the Fe chromatograms for the Pb adsorption experiments show the highest intensity at the lowest pH. In this case, most of the particles are eluted at 4.9 mL, again out of the size calibration range, whereas at basic pH, a second elution peak at 6.1 mL, which should correspond to a particle size around 10 nm, indicates again a higher size dispersity. In parrallel, Pb chromatograms (Fig. 1d) show only one large peak, corresponding to the Pb adsorbed onto the nano-Fe_3O_4, and this time more important at acid pH. More specifically, at lower pH, the elution peak is around 5.4 mL corresponding to a particle size around 80 nm, whereas at higher pH the elution peak shifts to higher retention time (i.e. 6.1 mL) corresponding to a particle size around 10 nm. Consequently, Pb seems to preferentially adsorb onto smallest nano-Fe_3O_4 at basic pH.

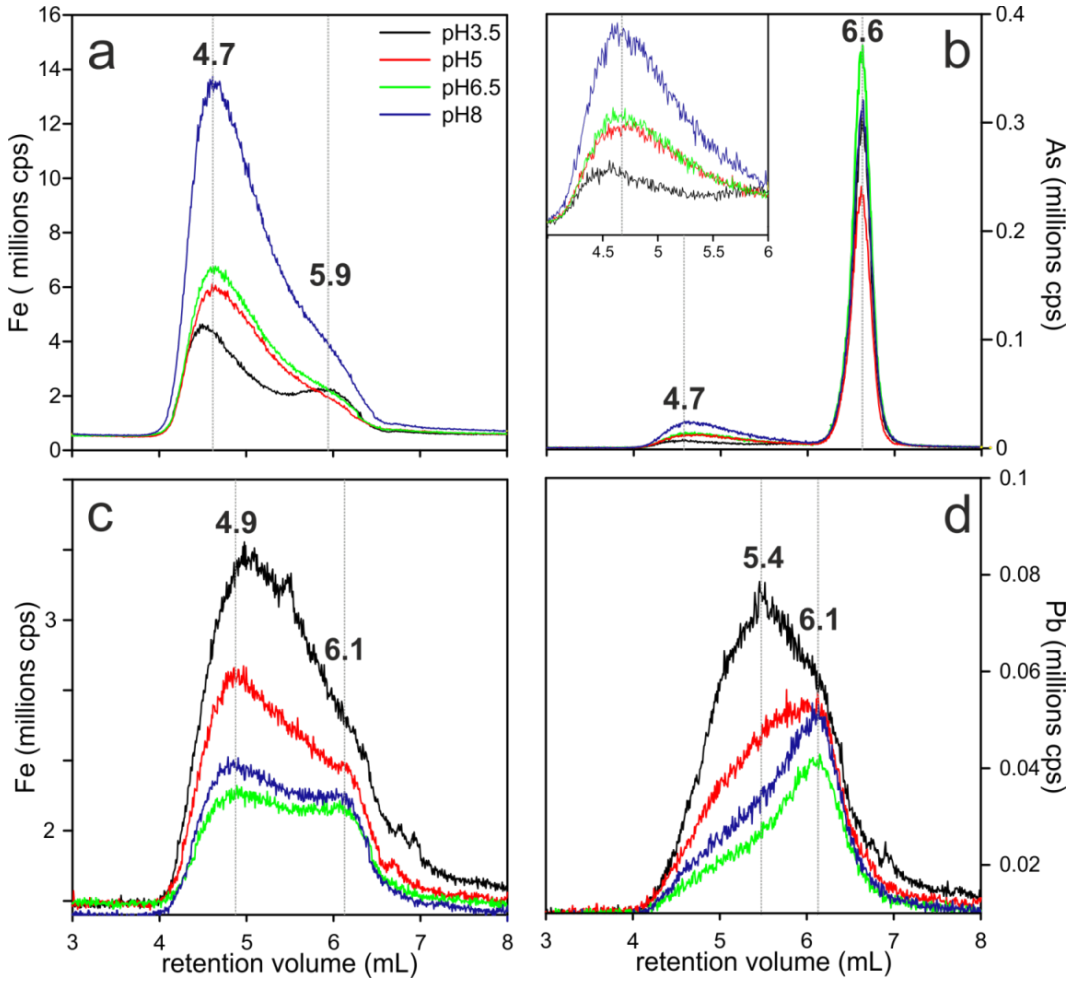


Figure 1 pH effect on the adsorption of (a, b) As (C= 0.05mM) , and (c, d) Pb (C= 0.05mM), onto uncoated nano-Fe_3O_4.

These opposite nano-Fe_3O_4 behaviors in presence of As or Pb might be explained by the different surface charges driven by the pH. Indeed, at pH<pHzpc, the $FeOH_2^+$ groups predominate over the FeO^- groups (i.e. although the surface has a net positive charge, some FeO^- groups are still present). Differently, at the pH_{zpc}, the number of $FeOH_2^+$ groups equals the number of FeO^- groups. Finally, as the pH increases, the number of FeO^- groups increases[187]. Consequently, at alkaline pH, the net negative ENPs surface, allowing interactions with Pb^{2+}, stabilizes the ENPs, whereas at acid pH, their positive surface allows instead more interactions with As^-.

Coated nano-Fe_3O_4.

The As and Pb adsorption onto the coated nano-Fe_3O_4 were also assessed regards to pH and presented with chromatograms on Figure 2. For the As adsorption experiments, most of the particles are eluted at 6 mL, corresponding to a particle size around 14 nm (Fig. 2a). Moreover, at acid pH, the second elution peak at 6.4 mL,

which corresponds to the DMSA, indicates a possible destabilization of the coating (see Fig. SI). In parallel, As chromatograms (Fig. 2b) show only one elution peak at 6.4 mL corresponding to its free form and showing no adsorption onto the particles.

Similarly, concerning pH effect on the adsorption of Pb, most of the particles are eluted at 6.1 mL, corresponding to a particle size around 10 nm (Fig. 2c). Again, at acid pH, the second elution peak at 6.4 mL, which corresponds to the DMSA, indicates a destabilization of the coating. In parrallel, Pb chromatograms (Fig. 2d) show only one peak at 6.1 mL, corresponding to the Pb adsorbed onto the nano-Fe_3O_4.

These different TMs behaviors in presence of the coated nano-Fe_3O_4 might be explained by the negative surface charge of the coating limiting the interaction with As[188, 189]. Conversely, as Pb has a positive charge, it is adsorbed at any pH although favored at basic pH.

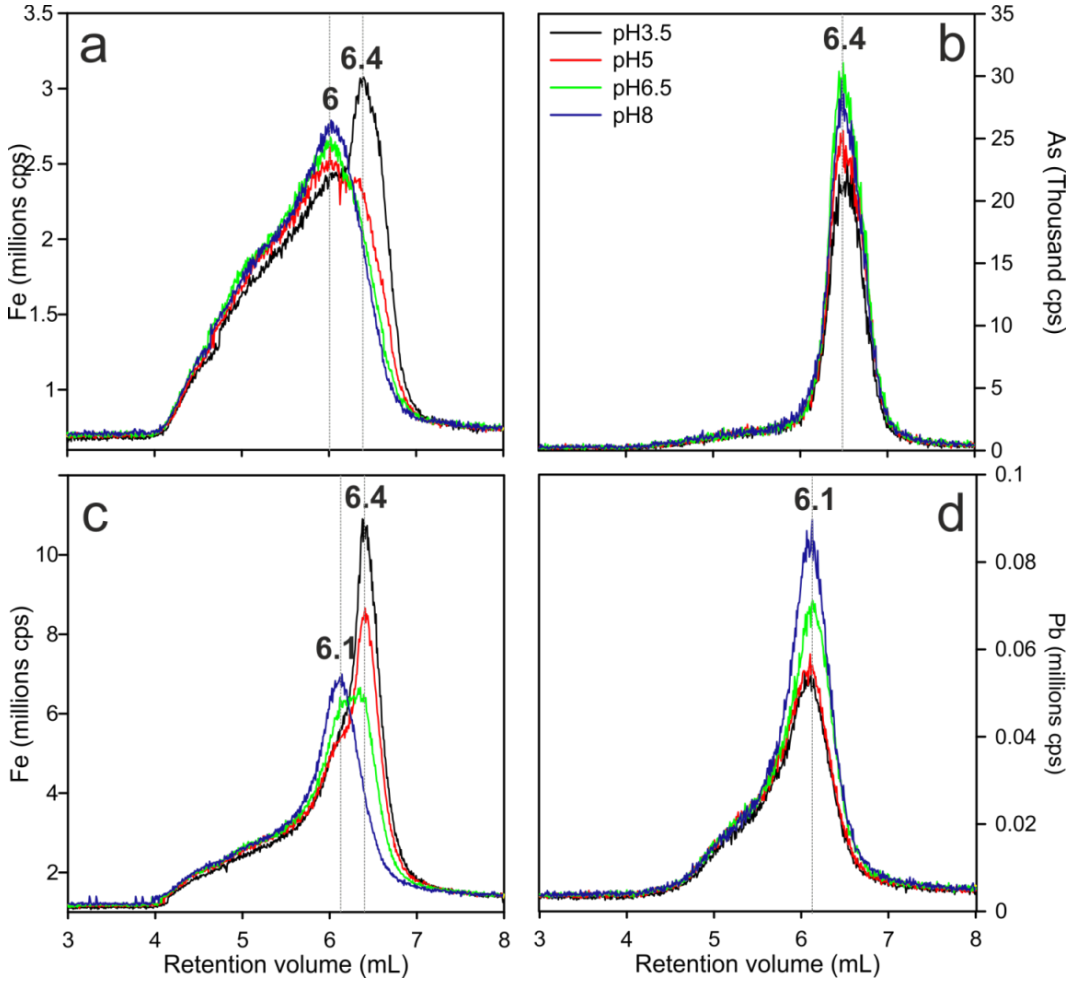


Figure 2 pH effect on the adsorption of (a, b) As (C= 0.05mM) , and (c, d) Pb (C= 0.05mM), onto coated nano-Fe_3O_4 by DMSA.

3.3.TMs adsorptions

Adsorption behavior. The amount of As adsorbed was plotted versus the As concentration in solution for different pHs to illustrate more precisely how pH affects the As and Pb adsorption onto the nanoparticles (Fig. 3). The results illustrated by this way show a lower uncoated nano-Fe_3O_4 efficiency to adsorb As at alkaline pH (Fig. 3a). Indeed, steeper slopes are observed in acid pH than in basic pH, indicating that the efficiency of nano-Fe_3O_4 to adsorb As is weaker when the surface charge is negative. By contrast, the results show lower uncoated and coated nano-Fe_3O_4 efficiency to adsorb Pb at acid pH (Figs. 3b and c), which indicated that the uncoated nano-Fe_3O_4 efficiency to adsorb Pb is improved when the surface has a negative charge.

There are two pH dependent factors affecting the nanoparticle metal adsorption efficiency: its point of zero charge (pH_{zpc}) and the metal speciation. Indeed, the more acidic the conditions are, the more positive the nanoparticle surface charge is, and accordingly, the more attractive the nanoparticle is for As(V), which occurs as $H_2AsO_4^-$ form for pH < 7 and $HAsO_4^{2-}$ form in more alkaline pH[190]. When the pH value exceeds the pH_{zpc} (i.e. pH> pH_{zpc}), the surface is negative and causes a decrease in As(V) adsorption by repulsive electrostatic effect[191]. The nano-Fe_3O_4 efficiency to adsorb Pb is opposite due to the positive charge of this ions. Thus, the more acidic the conditions are, the more positive is the nanoparticle surface charge causing a decrease in Pb adsorption through a repulsive electrostatic effect.

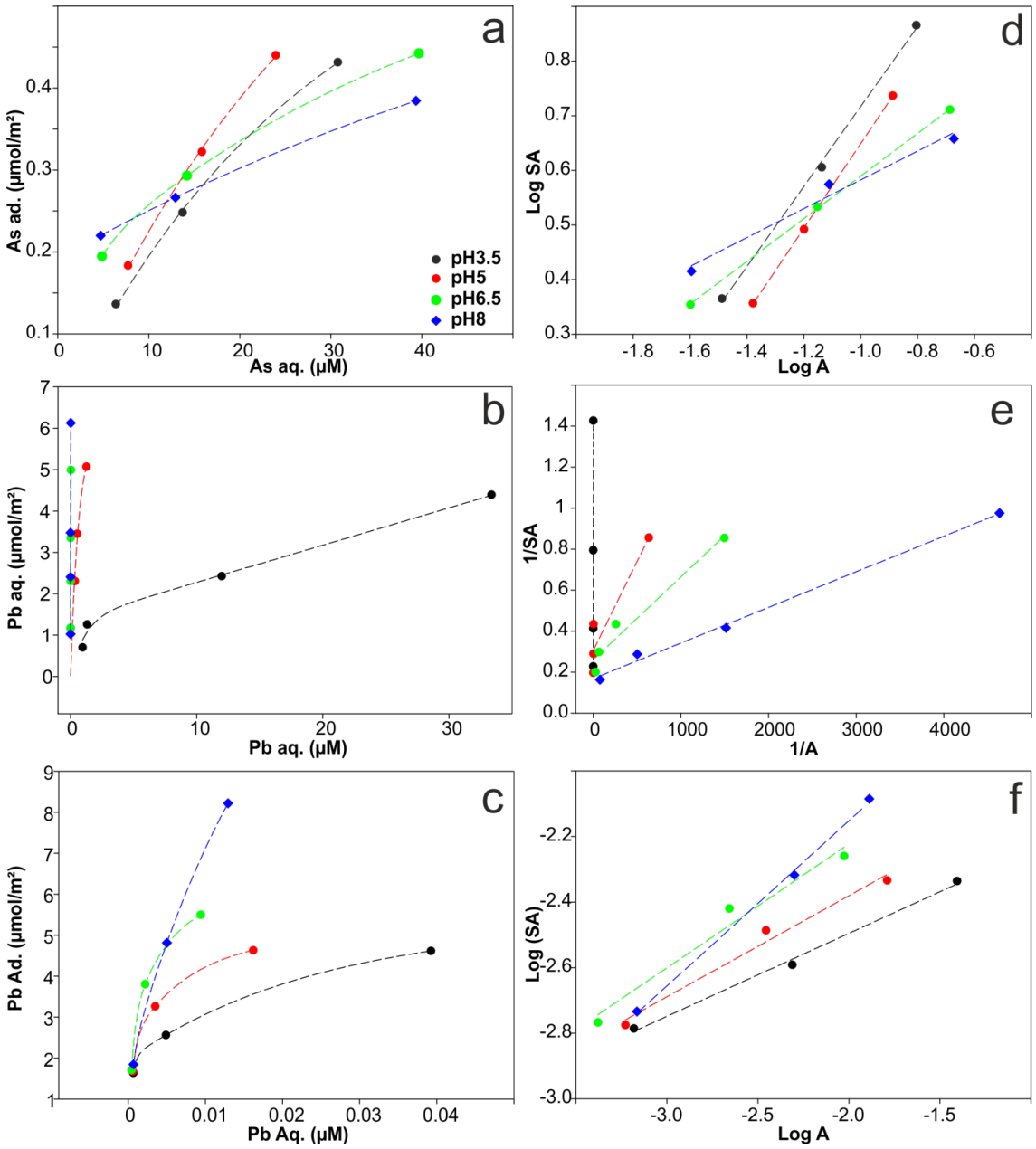


Figure 3 a) As(V) uptake capacity of uncoated nano-Fe_3O_4, pH range 3.5–8; b) Pb(II) uptake capacity of uncoated nano-Fe3O4, pH range 3.5–8; c) Pb(II) uptake capacity of coated nano-Fe_3O_4, pH range 3.5–8; d) Freundlich isotherm .

Adsorption isotherms. In order to model the adsorption capacity of the magnetite nanoparticles, adsorption isotherms were determined at different pHs (i.e. 3.5, 5, 6.5, and 8) at 20 °C by varying the initial concentration of As and Pb from 0.01 to 0.1 mM.

In the Langmuir model, it is assumed that all the adsorption sites of the adsorbent have an identical binding energy and that each site binds to only a single adsorbate[177, 192]. The Langmuir isotherm is given as:

$$q_e = \frac{q_m b C_e}{1 + b C_e} \text{ (eq. 1)}$$

whereas the linearized Langmuir isotherm is given by :

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{b q_m} + \frac{C_e}{q_m} \text{ (eq. 2)}$$

In these equations, q_e is the equilibrium adsorption capacity of the adsorbent for the metal ions in µmol/m², C_e is the equilibrium concentration of the metal in µmol/L, q_m is the maximum amount of metal ions adsorbed in µmol/m², and b is the constant that refers to the bonding energy of adsorption process in L µmol^{-1}. The constant b and q_m can be determined from the intercept and the slope of the linear plot C_e/q_e versus C_e.

By contrast, the Freundlich model is based on a reversible heterogeneous adsorption and heterogeneity of binding energies of adsorption sites[54, 192]. The Freundlich isotherm is given by:

$$q_e = k_f C_e^{\frac{1}{n}} \text{ (eq. 3)}$$

and the linearized form of Freundlich isotherm is given by:

$$\log q_e = \log k_f + \frac{1}{n} \log C_e \text{ (eq. 4)}$$

where q_e is the equilibrium adsorption capacity of the adsorbent in µmol/m², C_e is the equilibrium concentration of the heavy metal ion in µmol L^{-1}, and n is the constant related to the adsorption intensity. The constant n and K_f can be determined from the slope and intercept of the linear plot log qe versus logC_e.

As revealed in Figure 3d to f, As(V) and Pb(II) adsorption onto the nano-Fe_3O_4 are clearly well correlated to either the Freundlich or the Langmuir models (R^2>0.85). Whereas on Figure 3, only the best isotherm types have been choosen for each

experiement, the complete results are presented in Table 2. As no As adsorption as been observed onto the coated nano-Fe_3O_4, their adsorption isotherms were impossible to evaluate. More specifically, the Freundlich model was the best to describe the adsorption of As onto the uncoated nanoparticles and the adsorption of Pb onto the coated nanoparticles, suggesting an heterogeneous energetic distribution of active sites for them on the respective nano-Fe_3O_4 surfaces. On the other hand, the Langmuir isotherm was the best to describe the adsorption of Pb onto the uncoated nano-Fe_3O_4, suggesting a monolayer sorption of the active sites for Pb onto the uncoated nano-Fe_3O_4.

Table 2. Maximum As(V) and Pb(II) adsorption, the isotherm parameter and the surface area based Q (µmol/m²), on uncoated and coated nano-Fe_3O_4 at pH 3.5, 5, 6.5 and 8.

	model	pH	log K	K (µmol/m²)	1/n	n	R²
As (V)	Freundlich	3.5	1.448	28.1	0.732	1.4	1.00
uncoated		5	1.423	26.5	0.774	1.3	1.00
nano-Fe_3O_4		6.5	0.981	9.6	0.391	2.6	0.98
		8	0.847	7.0	0.264	3.8	0.85
		pH	1/[Q]	1/(K*[Q])	Q (µmol/m²)	K (µmol/m²)	R²
Pb (II)	Langmuir	3.5	0.232	1.01	4.31	0.23	0.92
uncoated		5	0.305	8.70E-04	3.28	351	0.89
nano-Fe_3O_4		6.5	0.260	4.05E-04	3.85	642	0.96
		8	0.168	1.74E-04	5.95	968	1.00
		pH	log K	K (µmol/m²)	1/n	n	R²
Pb (II)	Freundlich	3.5	1.988	97.2	0.254	3.9	1.00
coated		5	1.763	57.9	0.309	3.2	0.98
nano-Fe_3O_4		6.5	1.467	29.3	0.378	2.6	0.97
		8	1.143	13.9	0.504	2.0	1.00

The primary parameters controlling the surface interaction of the nanoparticles are the surface charge (i.e. estimate by pH_{zpc} = 5.1 ± 0.1) and the specific surface (i.e. BET = 102 m²/g). A first approach using the Langmuir and Freundlich's models were used to estimate the maximum adsorption capacities (Q_{ads}) for As and Pb onto the uncoated and coated nano-Fe_3O_4 and summarized in Table 2. More specifically, the uncoated nano-Fe_3O_4 adsorption capacities for As estimate with Freundlich's model were 28.1, 26.5, 9.6, and 7.0 µmol/m² at pH 3.5, 5.0, 6.5 and 8.0, respectively. The capacity adsorption highly decreased from 26 to 10 µmol/m² between pH 5 and 6.5, corresponding to a change of surface charge of the nano-Fe_3O_4 at pH_{zpc} = 5.1 ± 0.1.

Moreover, the predominant form of arsenic is $H_2AsSO_4^-$ between pH 3.5 and 6.5 (pKa_1 = 2.19, and pKa_2 = 6.94) and is also responsible for this important increase of adsorption, due to the higher negative charge with $HAsSO_4^{2-}$ form. However, it was previously reported that Q_{ads} for maghemites were 4.4, 2.7, 1.3 and 0.7 µmol/m² at pH 3, 5, 7 and 9, respectively, for a BET of 51 m²/g[191]. The Q_{ads} characterized in our experiment were between 28 and 7 µmol/m², corresponding to values six to ten times higher than those presented by Tuutijärvi, et al. [191]. 28 and 7 µmol/m² of As onto the nano-Fe_3O_4 correspond to a steric hindrance of 17 and 4 AsO_4/m², even though the latest, show still, geometrically, some space, in reality, the surface is totally occupied. Consequently, the mono-layer hypothesis from the Langmuir'model can be discarded, whereas the Freundlich's model seems to explain well As adsorption onto the uncoated nano-Fe_3O_4.

The trigger leading the interactions between Pb and the uncoated nano-Fe_3O_4 seems to be more complex than simple adsorption onto the nanoparticle surface. The uncoated nano-Fe_3O_4 adsorption capacities for Pb were 0.23, 351, 642 and 968 µmol/m² at pH 3.5, 5.0, 6.5 and 8.0, respectively. A Qads of 968 µmol/m² at pH 8 corresponds to 600 Pb/nm², which is largely above of the nano-Fe_3O_4 vacancy sites. The much higher measured adsorption capacities at higher pH (i.e. 6.5 and 8.0) suggests co-precipitation of the uncoated nano-Fe_3O_4 with $Pb(OH)_{2(s)}$ at pH above 6. Thus, the Langmuir's model is not adapted to the uncoated nano-Fe_3O_4 and should be discarded for these interactions. Besides, the coated nano-Fe_3O_4 adsorption capacities for Pb were 97.2, 57.9, 29.3 and 13.9 µmol/m² at pH 3.5, 5, 6.5 and 8, respectively. At pH 3.5, the surface charge of the coated nano-Fe_3O_4 is stable and the two carboxylic groups of the DMSA caoting are deprotonated. The behavior of Qads is intimately bound to the Pb charge, which displayed a progressive diminution toward alkaline pH. At pH 8, the Q_{ads} is 13.9 µmol/m², corresponding to 8 Pb/nm², which follows the Freundlich's model hypothesis with a multi-layer adsorption or a precipitation in $Pb(OH)_{2(s)}$ (i.e. pH > 6.5). These Qads correspond to a more classic Freundlich system, inversely similar to the uncoated nano-Fe_3O_4 interactions, to the adsorption of As onto the uncoated nano-Fe_3O_4. Finally, the isothern models are a good first approach, but fall rapidely out of range. The Qads for Pb and uncoated nano-Fe_3O_4 intereractions are underestimated, certainly due to the co-precipitation of $Pb(OH)_2$ at pH > 6.

3.4.Concentration effect

The metal concentration effect on the uncoated nano-Fe_3O_4 at pH 5 is presented in Figure 4 with the SEC-ICP-MS chromatograms. The higest Fe signal is observed for the lowest As concentrations, suggesting a nanoparticles aggregation at higher concentrations where the prefiltration at 0.45 µm consequently eliminated an important part of the aggregates. In parallel, the metal concentration does not seem to impact the As adsorption onto the nanoparticles, which simply follow the added As concentrations (Fig. 4b). Indeed, two As peaks are observed, a first one at 4.7 mL corresponding to the As adsorbed and a second one at 6.6 mL corresponding to As not adsorbed onto the nanoparticles. Similarly, the Pb concentrations clearly affect the size distribution of the nanoparticles, suggesting some aggregation (Fig. 4c) illustrated with a shift of the peak from 6 to 5 mL (i.e. 14 to > 60 nm) when the Pb concentration increases. However, the maximum of Pb adsorption remains at 6 mL, showing that the Pb is still totally adsorbed onto the nanoparticles.

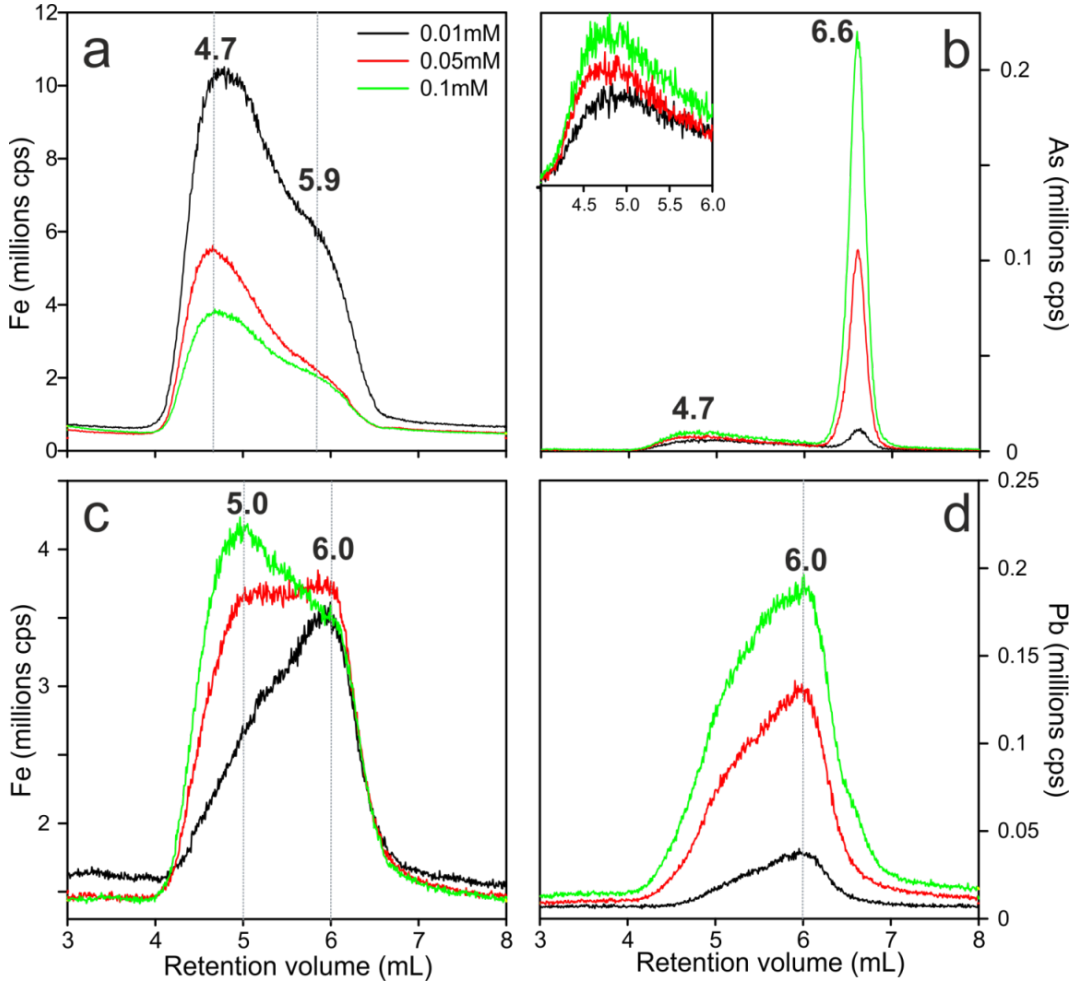


Figure 4 Concentration effect of (a,b) As (pH 5) and (c,d) Pb (pH 5), on uncoated nano-Fe_3O_4.

On the other hand, as illustrated in Figure 5, different metal concentrations do not seem to impact the coated nano-Fe_3O_4. Indeed, the nanoparticles RTs are similar for the different metal concentrations. Consequently, the metal concentration seems able to destabilize the uncoated nano-Fe_3O_4, but does not seem to have an impact on the size and on the aggregation state of the coated nano-Fe_3O_4.

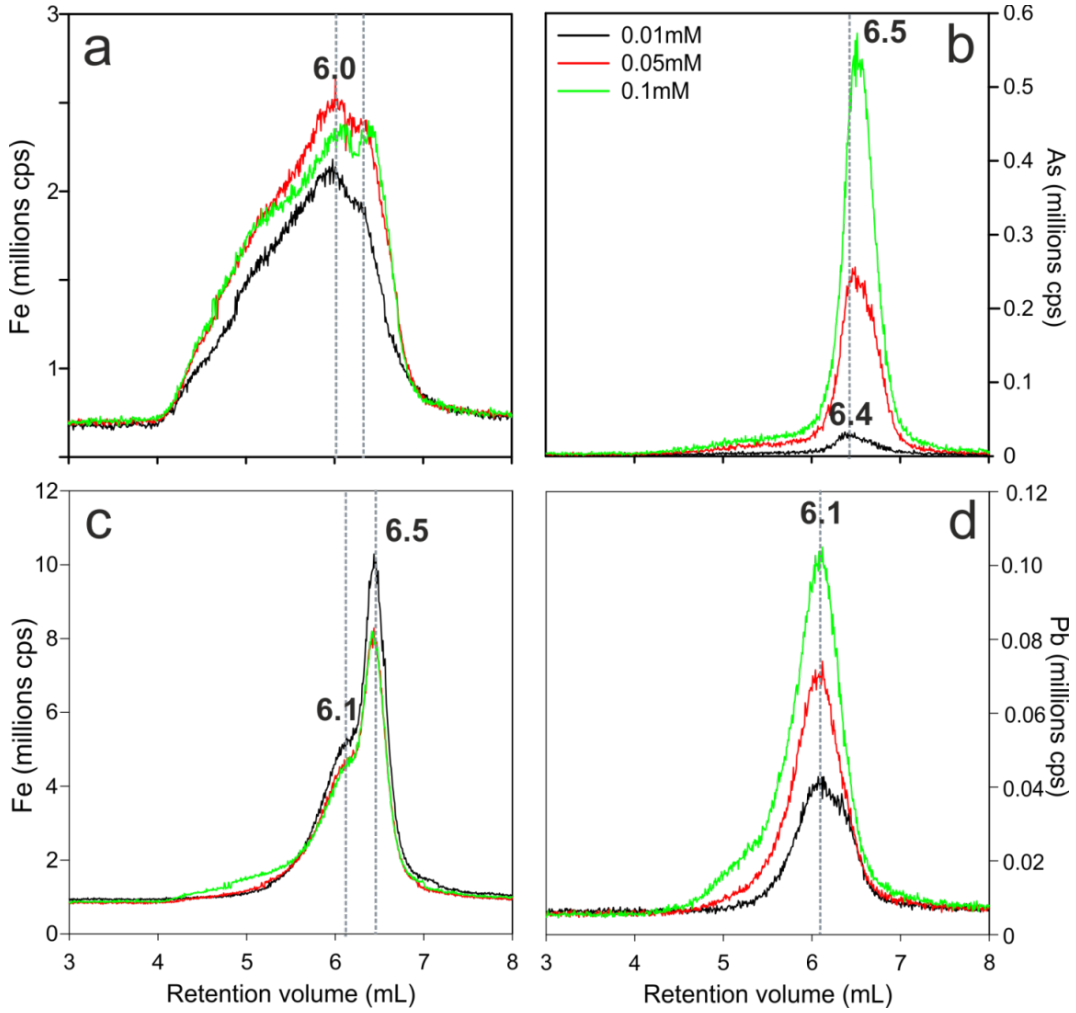


Figure- 5 Concentration effect of (a,b) As (pH 5) and (c,d) Pb (pH 5), on coated nano-Fe_3O_4 by DMSA.

4. Conclusion

Our results show that the SEC-ICPMS is a suitable method to assess both nanoparticles behavior and their adsorption capacity to heavy metals. Importantly, our method allowed to do these analyses for the size fraction below 0.45µm, which was previously not possible with earlier filtration techniques. Amongst the two main pH dependent factors (pH_{zpc} and the metal speciation) affecting the metal adsorption efficiency, pH_{zpc} seems to affect significantly nano-Fe_3O_4 adsorption efficiency for As

and Pb. Indeed, the more acidic the conditions are, the more positive the nanoparticle surface charge is, and accordingly, the more attractive the nanoparticle is for As. However, when the pH value exceeds the pH_{zpc}, the surface is negative and causes a decrease in As adsorption by repulsive electrostatic effect. The nano-Fe_3O_4 efficiency to adsorb Pb is opposite due to the positive charge of this ion. Our method also shows the potential co-precipitation of Pb onto the uncoated nano-Fe_3O_4 at alkaline pH and the Pb adsorption onto the DMSA coating. Finally, the nano-Fe_3O_4 size dispersity measured in the different adsorption experiments shows that the stability of the naked nano-Fe_3O_4 seems more affected than the stability of the coated nano-Fe_3O_4 by factors such as the pH and the kind of heavy metals present.

References

1. P. Trivedi, J. A. Dyer and D. L. Sparks, *Environmental Science & Technology*, 2003, 37, 908-914.
2. B. Gilbert, R. K. Ono, K. A. Ching and C. S. Kim, *Journal of Colloid and Interface Science*, 2009, 339, 285-295.
3. C. Salazar-Camacho, M. Villalobos, M. d. l. L. Rivas-Sánchez, J. Arenas-Alatorre, J. Alcaraz-Cienfuegos and M. E. Gutiérrez-Ruiz, *Chemical Geology*, 2013, 347, 233-245.
4. R. M. Cornell and U. Schwertmann, *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrences and Uses*, 2003.
5. M. L. Peterson, G. E. Brown Jr and G. A. Parks, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 1996, 107, 77-88.
6. N. Marmier, A. Delisée and F. Fromage, *Journal of Colloid and Interface Science*, 1999, 211, 54-60.
7. T. Kendelewicz, P. Liu, C. S. Doyle and G. E. Brown Jr, *Surface Science*, 2000, 469, 144-163.
8. T. Missana, U. Alonso, A. C. Scheinost, N. Granizo and M. García-Gutiérrez, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2009, 73, 6205-6217.
9. Y. T. He and S. J. Traina, *Environmental Science & Technology*, 2005, 39, 4499-4504.
10. K. Ohe, Y. Tagai, S. Nakamura, T. Oshima and Y. Baba, *Journal of chemical engineering of Japan*, 2005, 38, 671-676.
11. M. Martínez, J. Giménez, J. de Pablo, M. Rovira and L. Duro, *Applied Surface Science*, 2006, 252, 3767-3773.
12. P. Roonasi and A. Holmgren, *Surface and Interface Analysis*, 2010, 42, 1118-1121.
13. T. J. Daou, S. Begin-Colin, J. M. Grenèche, F. Thomas, A. Derory, P. Bernhardt, P. Legaré and G. Pourroy, *Chemistry of Materials*, 2007, 19, 4494-4505.
14. S. E. Aamrani, J. Giménez, M. Rovira, F. Seco, M. Grivé, J. Bruno, L. Duro and J. de Pablo, *Applied Surface Science*, 2007, 253, 8794-8797.
15. D. Das, M. K. Sureshkumar, S. Koley, N. Mithal and C. G. S. Pillai, *J Radioanal Nucl Chem*, 2010, 285, 447-454.
16. E. S. Ilton, J.-F. Boily, E. C. Buck, F. N. Skomurski, K. M. Rosso, C. L. Cahill, J. R. Bargar and A. R. Felmy, *Environmental Science & Technology*, 2010, 44, 170-176.
17. G. Z. Kyzas and K. A. Matis, *Journal of Molecular Liquids*, 2015, 203, 159-168.
18. M. Auffan, J.-Y. Bottero, C. Chaneac and J. Rose, *Nanomedicine*, 2010, 5, 999-1007.
19. H. Karami, *Chemical Engineering Journal*, 2013, 219, 209-216.
20. P. Z. Ray and H. J. Shipley, *RSC Advances*, 2015, 5, 29885-29907.

21. C. L. Warner, R. S. Addleman, A. D. Cinson, T. C. Droubay, M. H. Engelhard, M. A. Nash, W. Yantasee and M. G. Warner, *ChemSusChem*, 2010, 3, 749-757.
22. H. A. Qdais and H. Moussa, *Desalination*, 2004, 164, 105-110.
23. F. Ge, M.-M. Li, H. Ye and B.-X. Zhao, *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 211–212, 366-372.
24. in *Multiple Detection in Size-Exclusion Chromatography*, American Chemical Society, 2004, vol. 893, pp. i-v.
25. R. Chen, C. Zhi, H. Yang, Y. Bando, Z. Zhang, N. Sugiur and D. Golberg, *Journal of Colloid and Interface Science*, 2011, 359, 261-268.
26. S. Yean, L. Cong, C. T. Yavuz, J. T. Mayo, W. W. Yu, A. T. Kan, V. L. Colvin and M. B. Tomson, *Journal of Materials Research*, 2005, 20, 3255.
27. C. T. Yavuz, J. T. Mayo, W. W. Yu, A. Prakash, J. C. Falkner, S. Yean, L. Cong, H. J. Shipley, A. Kan, M. Tomson, D. Natelson and V. L. Colvin, *Science*, 2006.
28. M. Al-Sid-Cheikh, M. Pédrot, M. Bouhnik Le Coz, A. Dia, M. Davranche and F. Grasset, *Analytical Chemistry*, 2015, 87, 10346-10353.
29. G. Morin, Y. Wang, G. Ona-Nguema, F. Juillot, G. Calas, N. Menguy, E. Aubry, J. R. Bargar and G. E. Brown, *Langmuir*, 2009, 25, 9119-9128.
30. Y. Wang, G. Morin, G. Ona-Nguema, N. Menguy, F. Juillot, E. Aubry, F. Guyot, G. Calas and G. E. Brown Jr, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2008, 72, 2573-2586.
31. J. Jönsson and D. M. Sherman, *Chemical Geology*, 2008, 255, 173-181.
32. L. Sigg, R. Behra, K. Groh, C. Isaacson, N. Odzak, F. Piccapietra, L. Röhder, H. Schug, Y. Yue and K. Schirmer, *CHIMIA International Journal for Chemistry*, 2014, 68, 806-811.
33. M. Gaumet, A. Vargas, R. Gurny and F. Delie, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2008, 69, 1-9.
34. L. Giraldo, A. Erto and J. C. Moreno-Pirajan, *Adsorption*, 2013, 465.
35. C. Wilhelm, C. Billotey, J. Roger, J. N. Pons, J. C. Bacri and F. Gazeau, *Biomaterials*, 2003, 24, 1001-1011.
36. Y. Ge, Y. Zhang, J. Xia, M. Ma, S. He, F. Nie and N. Gu, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2009, 73, 294-301.
37. M. Streat, K. Hellgardt and N. L. R. Newton, *Process Safety and Environmental Protection*, 2008, 86, 11-20.
38. T. Tuutijärvi, J. Lu, M. Sillanpää and G. Chen, *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 166, 1415-1420.
39. L. Sha, G. Xueyi, F. Ningchuan and T. Qinghua, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2009, 73, 10-14.

Chapitre V - Bioréduction des nanoparticules d'oxydes de fer par *Shewanella oneidensis*

Résumé

Les nanoparticules manufacturées (ENPs) sont produites en quantité de plus en plus importante et deviennent une problématique environnementale et sociétale cruciale. Ces ENPs disposent d'une grande surface spécifique qui leur confère une réactivité de surface importante. Leurs taille, composition chimique et forme, leur donnent des propriétés spécifiques qui conditionnent leur comportement et donc leur biodisponibilité et/ou biotoxicité dans l'environnement. Certaines bactéries sont capables de réduire le fer par leurs activités métaboliques pour se développer en conditions anoxiques. Cependant, la bioréduction des nanoparticules de fer reste un processus encore mal connu. Dans cette étude, il s'agissait de développer une méthode permettant de suivre la réduction par une bactérie ferroréductrice modèle (i.e. *Shewanella oneidensis*) pour deux types de nanoparticules d'oxydes de fer de cristallographie différentes. A ces fins, des nanoparticules de magnétite (nano-Fe_3O_4) et d'hématite (nano-Fe_2O_3) ont été synthétisées et exposées à *Shewanella oneidensis* cultivées en laboratoire. Au cours du processus de bioréduction, l'activité biologique a été régulièrement contrôlée par la mesure du lactate et de l'acétate par chromatographie ionique, ainsi que par la mesure de la densité cellulaire par cytométrie en flux. Le suivi du Fe^{2+} produit et du phosphate (PO_4^{3-}) en solution a également été mesuré au cours du temps par spectrophotométrie. Cette étude a montré des vitesses de bioréduction du fer très différentes selon les deux types de nanoparticules utilisés. La réduction du fer des nano-Fe_3O_4 par *Shewanella oneidensis* a été plus rapide (i.e. $k=1.7\ 10^{-4}\ min^{-1}$), s'accompagnant potentiellement d'une minéralisation secondaire des phosphates en vivianite (i.e. $Fe_3(PO_4)_2 \bullet 8(H_2O)$). A contrario, la bioréduction des nano-Fe_2O_3 a débuté plus tardivement. Ce phénomène était peut-être dû au degré de cristallinité plus élevé de cet oxyde de fer.

Abstract

Engineered nanoparticles (ENPs) are produced in large quantities and become a new major environmental and societal crucial issue. They display a large surface area, which promotes them with a high surface reactivity. Their size, chemical composition and form, give specific properties, which impact their behavior and thus their bioavailability and/or biotoxicity in the environment. Some bacteria can reduce iron by their metabolic activities to be able to grow under anoxic conditions. However, bioreduction of iron nanoparticles remains a process poorly understood. The aim of this study was to develop a method to follow the iron reduction by a ferroreductive bacterium model (i.e. *Shewanella oneidensis*), for two different iron oxides nanoparticles. Thus, magnetite (nano-Fe_3O_4) and hematite (nano-Fe_2O_3) nanoparticles were synthesized and exposed to *Shewanella oneidensis* grown in the laboratory. During the bioreduction reaction, the biological activity was regularly controlled via the analysis of acetate and lactate by ion chromatography, as well as with the cell density measurement by flux cytometer. The Fe^{2+} product and phosphate (PO_4^{3-}) in solution were measured throughout time by spectrophotometer. This study evidences a large difference in between the two iron oxide bioreduction rates depending on the type of involved nanoparticles. The magnetite iron reduction by *Shewanella oneidensis* was faster (i.e. $k=1.7\ 10^{-4}\ min^{-1}$) and possibly accompanied of secondary mineral formation, i.e. vivianite precipitation ($Fe_3(PO_4)_2 \bullet 8(H_2O)$). By contrast, hematite nanoparticles bioreduction began later. Such phenomenon is probably due to more the complex crystallographic structure of this iron oxide.

V.1 Introduction

Les nanoparticules manufacturées (ENPs) connaissent un intérêt croissant, aussi bien dans l'industrie qu'au sein de la communauté scientifique. Les ENPs sont utilisées dans de nombreux domaines, tels que la médecine, l'électronique, le textile, les cosmétiques ou encore en remédiation. Des estimations récentes font état d'une production mondiale pouvant déjà atteindre plusieurs millions de tonnes[193]. Ainsi, ces nanoparticules manufacturées seront inévitablement déversées dans les sols et les eaux. De récentes études révèlent des contaminations de rivières et de sols de zones humides par des ENPs provenant des eaux usées[8, 194]. Ainsi, l'impact des ENPs sur la dynamique des métaux toxiques (TM) et leur potentielle mobilisation vers les systèmes aquatiques (e.g. nappe phréatique, rivière, océans) est encore mal compris et d'intérêt crucial. Le devenir des ENPs dans l'environnement et notamment leur vieillissement dans les divers compartiments est un enjeu majeur pour la compréhension du devenir des ENPs et des TMs qu'ils sont potentiellement capables de transporter.

Les ENPs d'oxydes de fer ont de nombreuses applications industrielles[195] ainsi qu'environnementales[52] et sont particulièrement utilisées pour leurs capacités électromagnétiques, d'adsorption des contaminants dans les sols et des eaux pollués[171]. Les nanoadsorbants, comme les ENPs de magnétite (nano-Fe_3O_4), ont de nombreux avantages tels que leur versatilité, qu'elles requièrent peu d'énergie, la quantité importante de particules produites pour un moindre coût et le fait qu'elles peuvent être additionnées au traitement chimique[41]. Ainsi, leur utilisation accrue dans les milieux environnementaux et leur devenir dans ces compartiments deviennent un enjeu majeur pour l'évaluation du devenir des métaux lourds que ces ENPs peuvent mobiliser. Pour évaluer le devenir de ces ENPs et leurs risques potentiels à mobiliser les TMs vers d'autres systèmes environnementaux, il est d'un enjeu majeur d'évaluer l'impact de l'activité microbiologique sur ces ENPs et d'évaluer leur temps de résidence dans les systèmes environnementaux d'interface que sont les zones humides (ZH).

Interfaces entre le milieu aquatique et le milieu terrestre, les ZH sont très sensibles aux activités anthropiques et sont des zones d'accumulation des contaminants. Ces zones sont soumises à une alternance entre des conditions oxydantes (i.e. sécheresse)

et des conditions de réduction (i.e. saturation hydrique). Ces oscillations du niveau d'eau impliquent une alternance des conditions redox qui impacte le devenir du Fe. Cet élément redox sensible précipite en milieu oxydant sous forme d'oxyhydroxydes de fer alors qu'il se solubilise sous forme de Fe(II) en milieu réducteur. Cette oscillation redox impacte également le compartiment biotique du sol. Ainsi, la réduction du Fe peut se produire de manière abiotique et biotique. En effet, il a été montré que le cycle du fer pouvait, en grande partie, être contrôlé par l'activité bactérienne sous des conditions anoxiques[196, 197]. De nombreuses espèces bactériennes sont capables d'utiliser le Fe comme accepteur d'électrons en conditions réductrices comme *Shewanella oneidensis*. Ces bactéries mettent en place des mécanismes de respiration en absence d'oxygène, par l'utilisation successive des composés, telles que les nitrates, les oxydes de manganèse, le fer, et les sulfates, qui sont réduits. D'autre part, la vitesse de bioréduction du Fe est dépendante de la composition, de la cristallographie, et de la taille des oxyhydroxydes de Fe qui modifient leur biodisponibilité[198-200]. Ainsi, la taille nanométrique et la cristallographie des nano-Fe_3O_4 pourraient favoriser une réduction plus rapide que pour les matériaux plus gros ou de cristallographie différente telle que les nanoparticules d'hématite (nano-Fe_2O_3)[111, 199].

L'objectif de cette présente étude est de mettre en place une méthode de suivi de la bioréduction des nano-Fe_3O_4 par une bactérie ferroréductrice modèle *Shewanella oneidensis*. Pour répondre à cela, deux ENPs de Fe de cristallographie différente ont été synthétisées et testées, i.e nano-Fe_3O_4 et nano-Fe_2O_3. Le suivi de la bioréduction s'est fait par mesure du Fe^{2+} par spectrophotométrie et de l'acétate produit par l'activité biologique par chromatographie ionique. Un suivi du phosphate présent dans le milieu a été effectué par spectrophotométrie. D'autre part, les cinétiques de bioréduction sont dépendantes de la taille des ENPs[201] et la réactivité des ENPs augmente exponentiellement lorsque leurs tailles sont inférieures à 30 nm[18]. Ainsi, dans cette étude, nous nous sommes intéressés à des ENPs d'une taille d'environ 10 nm pour les deux types d'ENPs.

V.2 Matériels et méthodes

V.2.1 ENPs – Synthèse et caractérisation

V.2.1.1 Synthèse des ENPs

Les nano-Fe_3O_4, mélange de Fe(II/III) spinelle inversé, sont des oxydes de fer de couleur noire et possède un fort magnétisme. Les nano-Fe_3O_4 rhomboédriques ont été synthétisées suivant une méthode de coprécipitation de $Fe(II)SO_4$ et $Fe(III)(NO_3)_3$ décrite par Al-Sid-Cheikh, et al. [181]. Le stockage et les différentes étapes de préparation qui ont suivi ont été réalisés sous conditions anoxiques (Chambre anaérobie Jacomex) afin de préserver la nature chimique et cristallographique des nano-Fe_3O_4.

Les nano-Fe_2O_3 (α-Fe_2O_3), de couleur rouge, sont des oxydes de fer très stables dans des conditions de pression et de température ambiantes et sont uniquement composés de Fe(III). Leur structure est rhomboédrique. Les nano-Fe_2O_3 ont été synthétisées suivant la méthode décrite par Sorum [202] et modifiée par Lanzl, et al. [203], permettant d'obtenir des particules d'une taille nominale de 10 nm. Un volume de 20 mL d'une solution de nitrate de fer ($Fe(NO3)_3$, sigma Aldrich, 40.4 g dans 100mL) était ajouté à vitesse constante (i.e. 0.5 mL/min) dans de l'eau ultra-pure (250 mL, MilliQ water) sous reflux à température constante (~ 98°C). La synthèse a été arrêtée à la fin de l'ajout des 20mL de Fe.

Les suspensions de ENPs (magnétite et hématite) ont ensuite été purifiées par dialyse (seuil de coupure = 8000 MWO). Cette étape a permis de séparer les ENPs synthétisées des ions en solution.

V.2.1.2 Caractérisation des ENPs

Dynamic Light Scattering (DLS) - La taille des ENPs synthétisées a été déterminée par mesure des variations aléatoires d'intensité de la lumière diffusée par la suspension de ENPs. Les ENPs en suspension sont soumises à un mouvement thermique aléatoire. Celui-ci est modélisé par la formule de Stokes-Einstein, qui relie le diamètre hydrodynamique des particules au coefficient de diffusion.

Équation 1 - Equation de Stokes-Einstein. D_h représente le diamètre hydraulique de la particule, T la température thermodynamique (contrôlée), k_B est la constante de Boltzmann, η la viscosité dynamique et D_t le coefficient de diffusion mesuré par l'appareil.

$$D_h = \frac{k_B T}{3\pi\eta D_t}$$

Microscope électronique à transmission (MET) - Les ENPs synthétisées ont également été imagées au MET pour caractériser leur taille et leur forme. Pour cela, des gouttes de ENPs en suspensions ont été déposées sur grille MET en cuivre 200 mesh (Agar scientific) puis, séchées sous hotte. Les ENPs sont ensuite visualisées par un JEM 1400 JEOL au Microscopy - Rennes Imaging Center (Plateforme MRic).

Analyses chimiques totales - Une analyse chimique élémentaire par spectrométrie d'absorption atomique à la flamme (AAf, SOLAAR M6, THERMO) a été effectuée afin de quantifier les solutions de nanoparticules synthétisées. Pour cela, une attaque chimique à l'acide nitrique (Sub-$HN0_3$, 14.6 N à 95°C, 48H) a été réalisée afin de permettre la dissolution total des ENPs et une bonne homogénéité de la mesure.

V.2.2 Matériel biologique

V.2.2.1 Culture bactérienne

Shewanella oneidensis MR1 provient de la collection du Centre de Ressources Biologiques de l'Institut Pasteur (CIP 106686T). Toutes les manipulations ont été réalisées en conditions stériles, en utilisant un poste de sécurité microbiologique (PSM Safelow 1.2, BioAir).

L'étape de culture bactérienne a été réalisée en conditions oxydantes. Dans un premier temps, les bactéries ont été cultivées sur plaque d'Agar (Tryptic Soy Agar) placées dans un incubateur (Ecotron HT) pendant 24h à 30°C. Des colonies ont été ensuite récupérées pour ensemencer trois fois 500mL de milieu de culture liquide (Tryptic Soy Broth). Les milieux de culture liquides ont été placés dans l'incubateur pendant 24h à 30°C sous agitation constante (130 rpm). Après 24 heures d'incubation, la phase stationnaire a été atteinte (optimum de croissances des bactéries). La totalité des bactéries a alors été collectée par centrifugation (2000g/10min) puis, lavée deux fois avec le milieu réactionnel (préalablement désoxygéné par bullage à l'azote). Afin de préparer les bioréductions, le culot bactérien a été repris dans un volume de milieu de base (MB composition, Annexe VI, tableau 1) suffisant pour obtenir cette

densité cellulaire estimée par mesure de la densité optique (DO) à 600 nm sur la base de la relation obtenue.

Pour conserver des individus, après la première étape de repiquage, une sub-culture en milieu liquide (Tryptic Soy Broth) a été réalisée. Une fois la phase stationnaire atteinte, une partie a été conservée dans du glycérol à -80°C.

Modèle bactérien ferroréducteur. La réduction dissimilatrice du fer ferrique est un processus géomicrobien important dans les sols, les sédiments, les aquifère et les eaux stratifiés, où le minéral d'oxyhydroxyde de Fe(III) est utilisé comme accepteur d'électrons[204-206]. La réduction microbienne du fer peut avoir un impact majeur sur la persistance et la mobilité des métaux en conditions anoxiques [207-213]. Le modèle bactérien ferroréducteur de *Shewanella* suppose un mécanisme en deux étapes : (1) la fixation des colloïdes d'oxydes de fer à la surface des bactéries et (2) la réduction du Fe(III) à la surface des colloïdes fixés par transfert d'électron à partir de Fe(III) réductase liée à la membrane (Figure V – 1).

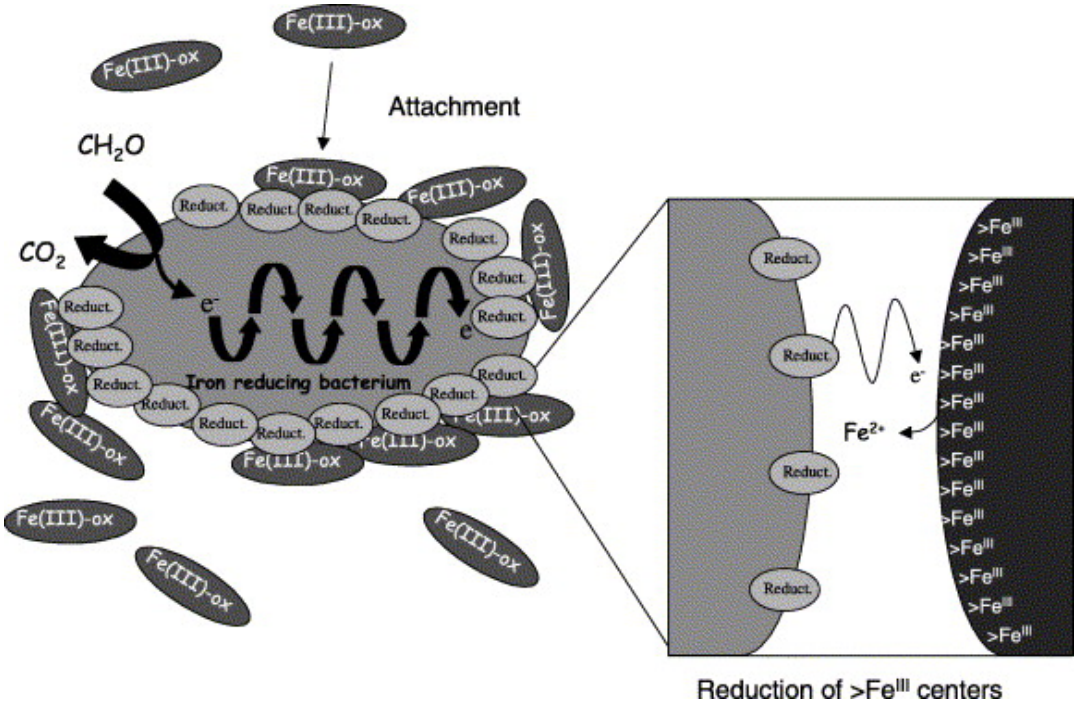


Figure V- 1 Modèle conceptuel de la réduction de colloïdes d'oxyde de Fe (III) par le genre *Shewanella*. Le procédé de réduction est constitué de deux étapes consécutives: (1) fixation des colloïdes d'oxydes de Fe(III) par les organismes ferro-réducteurs et (2) la réduction de Fe (III) à la surface des colloïdes fixés par transfert d'électrons à partir de Fe (III) réductase liée à la membrane (indiquée comme "Reduct.") (tirée de Bonneville, et al. [214]).

V.2.2.2 Densité cellulaire

Cytomètre à flux – Le nombre total de bactéries a été déterminé à l'aide d'une méthode de marquage au SYBR Green I, fluorochrome spécifique de l'ADN, suivie d'un passage de l'échantillon au cytomètre à flux. Les cellules en suspension sont passées une à une devant un ou plusieurs faisceau(x) laser, des détecteurs captant des signaux émis par chaque cellule comme les signaux de fluorescence. Il peut s'agir d'une fluorescence naturelle, mais ici on utilise le SYBR Green I qui absorbe l'énergie du laser et la réémet sous forme d'une longueur d'onde plus élevée. Chaque cellule a alors été transformée en « événement lumineux » et comptée. Pour chaque mesure de densité cellulaire, du SYBR Green I a été ajouté à l'échantillon avec un ratio de 1 : 10. Après 10 minutes d'attente dans l'obscurité et à température ambiante, l'analyse par cytomètre a été effectuée sur un C6 BD Accuri.

Absorbance (OD_{600}) – La densité cellulaire a également été estimée par mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 600 nm par un spectrophotomètre (UVIKON XS, Bio-Tek). Une suspension bactérienne a été diluée plusieurs fois. Pour chacune des dilutions, une mesure de la densité optique à 600 nm (OD_{600}) a ensuite été effectuée. Ces mêmes dilutions ont ensuite été marquées au SYBR Green I et passées au cytomètre à flux en suivant le protocole précédant. Une corrélation entre absorbance et densité cellulaire a ensuite été réalisée (Cf. annexe). Ainsi, la relation suivante a été obtenue :

$$1 \text{ unité de } OD_{600} = 2.8.10^7 \text{ cellules /mL}$$

V.2.2.3 Microscopie électronique à balayage (MEB)

Des images au MEB ont été réalisées pour caractériser la taille des bactéries et vérifier l'homogénéité de la suspension bactérienne. Un séchage au point critique des échantillons était indispensable afin de conserver les structures biologiques et permettre une bonne observation des cellules bactériennes. Pour cela, la suspension bactérienne a été fixée avec du glutaraldéhyde à 5% (pH 7) pendant 2 heures. Les bactéries ont ensuite été rincées et lavées entre 3 à 5 fois avec des solutions d'éthanol de plus en plus concentrées (de 50% à 100%). Les échantillons ont par la suite subi un séchage au point critique au Centre de Microscopie Électronique à Balayage et microAnalyse (CMEBA – Plateforme d'imagerie de l'Université de Rennes 1). Les bactéries ont été visualisées sur un JSM 6301F.

V.2.3 Bioréduction

V.2.3.1 Protocole expérimental

Dans un premier temps, les flacons ambrés ont d'abord été stérilisés par autoclavage à 120°C. Ensuite, en chambre anaérobie les flacons ont été préparés avec le milieu réactionnel (annexe) préalablement autoclavé, du lactate (i.e. 10 mM), et les ENPs (i.e. [Fe] = 5 mM). Deux différentes batchs ont été préparés pour les ENPs, i.e. nano-Fe_3O_4 et nano-Fe_2O_3. La réaction de réduction a ensuite été initiée par l'ajout des cellules bactériennes dans les flacons (i.e. temps zéro, t_0), avec une densité cellulaire finale de 2.10^8 cellules/mL et un volume final de 10 mL. Dans le milieu réactionnel, le tampon HEPES contrôle les variations de pH. Deux modalités « contrôle » (i.e. nano-Fe_3O_4 et nano-Fe_2O_3), sans bactéries, ont également été préparées. Ainsi, il existe donc quatre modalités différentes : nano-Fe_3O_4 biotique, nano-Fe_3O_4 abiotique, nano-Fe_2O_3 biotique et nano-Fe_2O_3 abiotique. Pour les quatre modalités, les flacons ont été scellés hermétiquement et placés dans un incubateur à 30°C et à 160 rpm. Les prélèvements ont tous été effectués sous atmosphère contrôlée en chambre anaérobie. L'expérience a été réalisée en duplicata.

V.2.3.2 Analyses et mesures réalisées

Suivi du pH et du potentiel redox (Eh) – Pour chaque flacon prélevé, des mesures de pH et Eh ont été effectuées à l'aide de microsondes préalablement étalonnées.

Dosage du fer(II) – Le dosage du Fe(II) se fait par complexation colorimétrique suivant la méthode utilisant comme réactif la ferrozine[215]. En présence de Fe(II), ce réactif forme un complexe stable qui peut être mesuré par spectrophotométrie. Le Fe(II) a été étalonné avec une gamme de concentration comprise entre 0.5 à 5 mg/L.

Dans un premier temps (prélèvements t1 à t4), le dosage du fer(II) pour les nano-Fe_3O_4 et nano-Fe_2O_3 a été réalisé de la même manière, en suivant le protocole décrit par Bose, et al. [215]. Ainsi, 330 µL d'acide chlorhydrique (HCl) à 2M ont été ajoutés à 990 µL d'échantillon non filtré pour obtenir une concentration en HCl de 0.5M. Cette étape permet de solubiliser le Fe(II) potentiellement adsorbé sur les cellules bactériennes ou sur les ENPs. Après 24h, l'échantillon a été filtré à 0.22 µm, 400 µL de filtrat ont été ajoutés à 400µL de réactif. Après 10 min de réaction, la concentration en Fe(II) a été déterminée par mesure de l'absorbance à la longueur d'onde 562nm.

Dans un second temps, le protocole de dosage de Fe(II), pour les nano-Fe_3O_4a été modifié d'après la méthode suivie par Lovely et al., et Dong et al[197, 216] où 100µL d'échantillon non filtré à 5mL d'HCl à 0.5M. La filtration à 0.22µm se fait après 15 minutes de contact et la lecture de l'absorbance a été réalisée sur un mélange de 1mL de filtrat et 200µL de réactif. Le protocole de dosage du Fe(II) concernant les nano-Fe_2O_3 était identique.

Précautions particulière lors du dosage du Fe(II) - La préparation de tous les échantillons pour la mesure de Fe(II) a dû être réalisée en chambre anaérobie afin de prévenir l'oxydation en Fe(III). De plus, la concentration en acide a dû être maintenue à 0.5M, afin d'éviter la dissolution abiotique des nanoparticules.

Dosage du PO_4 – Le suivi de la concentration en orthophosphates a ici permis de déterminer une éventuelle précipitation du Fe(II) sous forme de vivianite ($Fe_3(PO_4)_2 \bullet 8(H_2O)$) [217]. Les ions orthophosphates PO_4^{3-} réagissent en milieu acide avec le molybdate pour former un complexe phosphomolybdique qui se colore en bleu, après réduction par l'acide ascorbique. Ce complexe a ensuite été mesuré par spectrophotométrie à 720nm. Après avoir préparé une gamme étalon (i.e. 0.5 à 5 mg/L) dont on a mesuré l'absorbance, une droite d'étalonnage a été tracée et a permis de déterminer les concentrations en PO_4^{3-}. Pour une mesure d'absorbance, 40µL d'échantillon filtré à 0.22µm ont été ajouté à 6mL d'eau ultra-pure et 200µL de réactifs sulfomolybdique. Après 10 minutes de développement de la couleur, une lecture de l'absorbance à 720 nm a été effectuée.

Chromatographie ionique **(CI)** – L'échantillon filtré à 0.22µm et 200µL de celui-ci ont été dilué avec de l'eau ultrapure pour un volume final de 5 mL, puis analysé grâce à un système Dionex DX-120. Le débit était de 1mL/min et le volume d'injection de l'échantillon était de 100µL. L'analyse s'est faite en mode gradient avec une concentration initiale en KOH de 0.5 mM et finale de 20 mM et un temps d'analyse de 48 min par échantillon. Une courbe d'étalonnage d'acétate a été réalisée à chaque séquence d'analyse avec une gamme de concentration entre de 0 à 40 mg/L. Le facteur de dilution des échantillons a été ajusté en fonction de la production d'acétate afin de rester quantitatif en étant dans la courbe d'étalonnage.

V.3 Résultats et discussion

V.3.1 ENPs-Synthèse et caractérisation

Les Figure V- 2 et Figure V- 3 présentent les observations des nano-Fe_2O_3 et de nano-Fe_3O_4 faite par MET. Les ENPs synthétisées sont de forme sphérique, aussi bien pour les nano-Fe_2O_3 que les nano-Fe_3O_4. En mesurant plusieurs nanoparticules isolées, la taille moyenne des ENPs a été déterminée à 10 ±3nm pour les nano-Fe_2O_3, et 8 ±1nm pour les nano-Fe_3O_4. Ces mesures ont été réalisées via un logiciel d'image (Image J). Les résultats DLS montrent une dispersion des valeurs de 400 à 600 nm pour les nano-Fe_2O_3, avec une plus forte intensité à 420 nm (voir annexe).

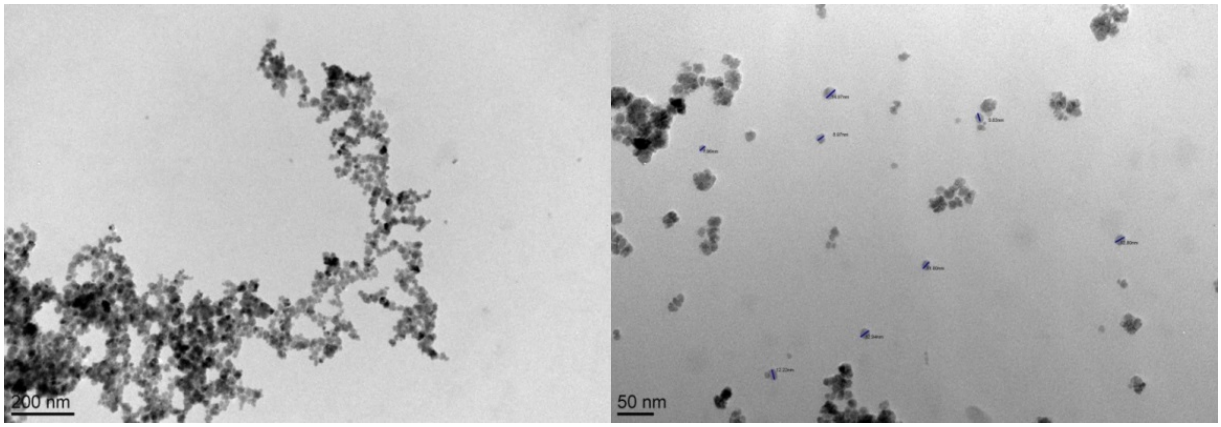


Figure V- 2 Images MET des nano-Fe_2O_3.

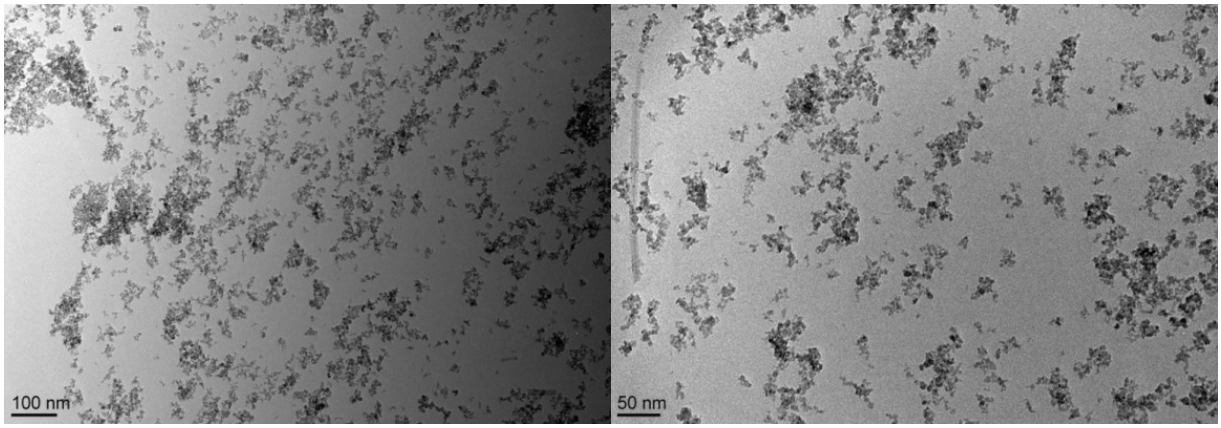


Figure V- 3 Images MET des nano-Fe_3O_4.

V.3.2 Suivi de la bioréduction

V.3.2.1 Densité cellulaire

Les valeurs de densité cellulaire obtenues à la fois par cytométrie en flux et par mesure de la DO_{600} sont reportées sur la **Figure V- 4**. Les valeurs sont similaires pour les prélèvements des 30 premières heures de l'expérience de bioréduction. Cela confirme la bonne corrélation qui a été faite entre ces deux méthodes. On remarque une légère tendance à la diminution de la concentration bactérienne sur cette période, qui était plus importante pour les échantillons avec nano-Fe_2O_3 que pour ceux avec nano-Fe_3O_4.

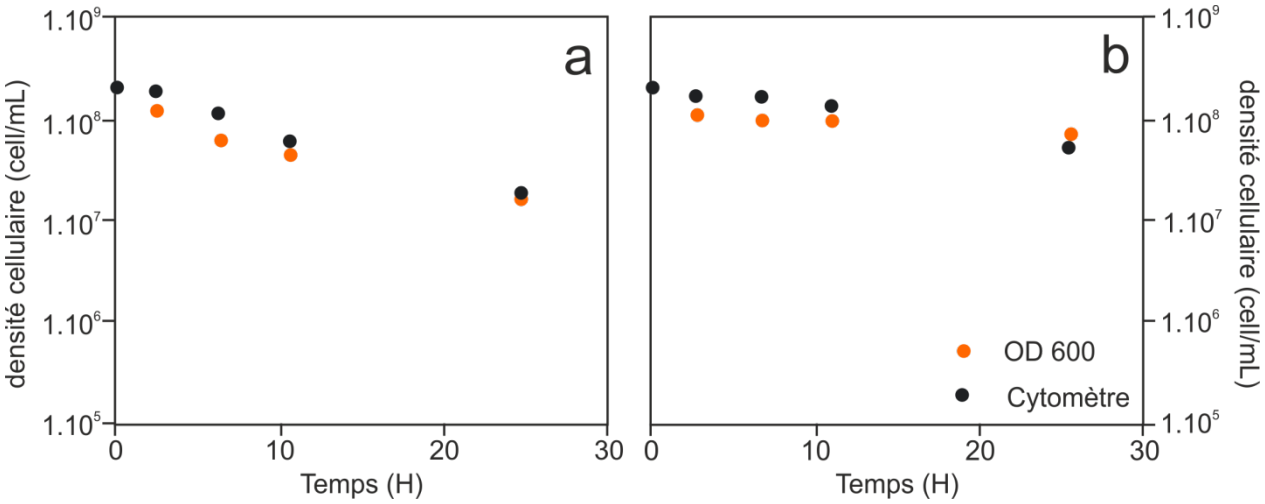


Figure V- 4 Comparaisons de la densité cellulaire obtenue par cytomètre en flux et par l'OD_{600} : a) nano-Fe_2O_3 et b) nano-Fe_3O_4

Les valeurs de densité cellulaire sont similaires pour les deux sortes de ENPs (Figure V- 5). Il n'y a pas eu de chute de concentration bactérienne, mais une légère diminution en début d'exposition comme montrée sur la Figure V- 4. Cette diminution était plus importante dans le cas des nano-Fe_2O_3. La concentration bactérienne est restée stable à partir de 72 heures d'exposition des bactéries aux ENPs.

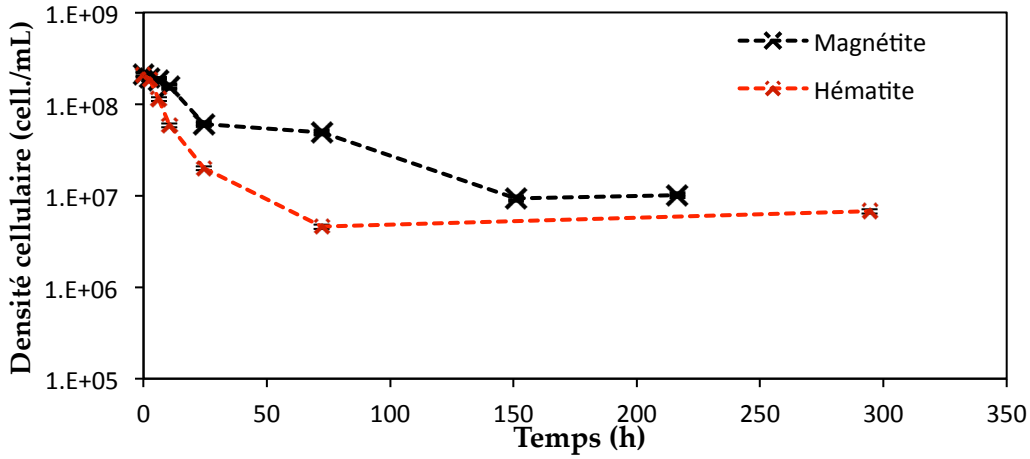


Figure V- 5 Evolution de la densité cellulaire dans les échantillons avec nano-Fe_2O_3 (rouge) et dans les échantillons avec nano-Fe_3O_4 (noir). Les valeurs affichées sont celles mesurées par cytomètre en flux.

V.3.2.2 Suivi des concentrations en lactate et acétate

La **Figure V- 6** présente le suivi des concentrations en acétate au cours de l'expérience de bioréduction. Les concentrations en lactate diminuent aussi bien dans le cas des nano-Fe_2O_3 que pour les nano-Fe_3O_4 suivant une loi linéaire (R^2>0.9). En parallèle, la concentration en ions acétate augmente pour les deux ENPs.

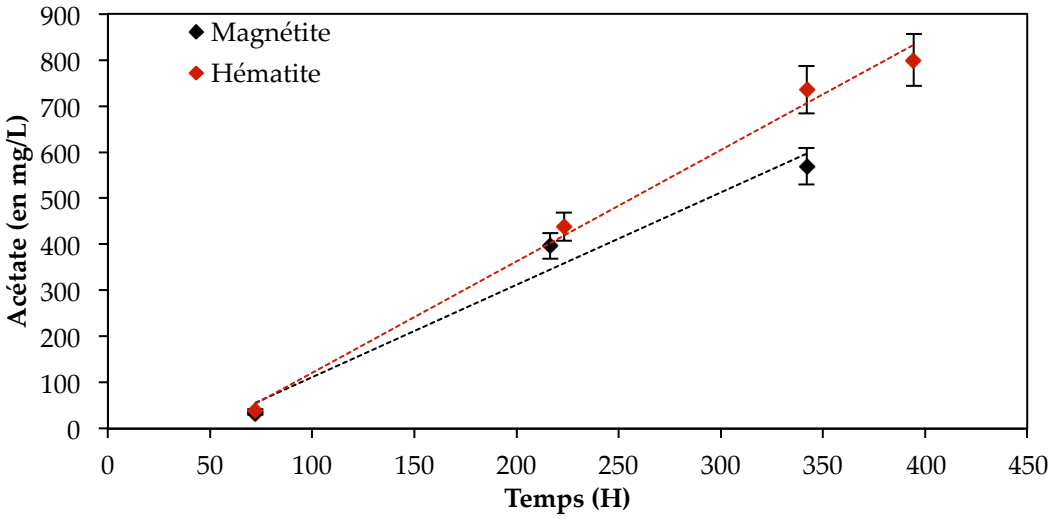


Figure V- 6 Evolution de la concentration en acétate pour les échantillons avec nano-Fe_2O_3 (rouge) et ceux avec nano-Fe_3O_4 (noir).

V.3.2.3 Suivi de la bioréduction des ENPs de Fe par la méthode à la ferrozine

Pour les prélèvements t1 à t4 (0 à 50 h), les valeurs de fer(II) sont très hétérogènes (Figure V - 7). La différence de concentration en Fe(II) entre les échantillons avec et sans bactéries reste identique pour ces quatre premiers prélèvements, que ce soit pour les nano-Fe_2O_3 ou pour les nano-Fe_3O_4. Une différence de couleur a été observée après le temps de contact entre l'échantillon et l'acide, indiquant une dissolution des ENPs.

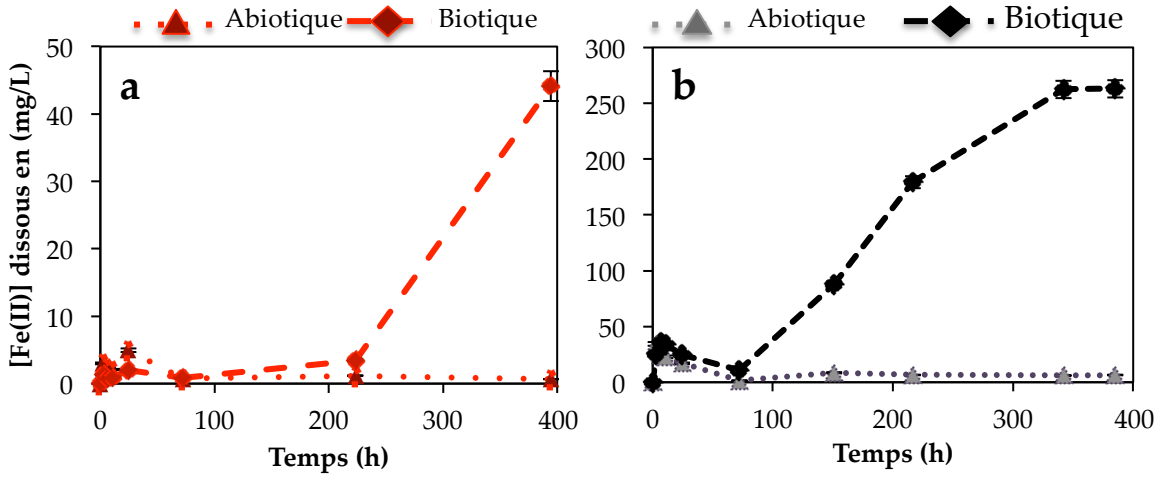


Figure V- 7 Suivi du Fe(II) dissous dans le cas (a) des nano-Fe_2O_3 et pour (b) les nano-Fe_3O_4 par la méthode de dosage colorimétrique à la ferrozine. La ligne en pointillés verte indique le changement de protocole du dosage du Fe(II).

Pour les prélèvements suivants, les valeurs de Fe(II) mesurées dans les échantillons sans bactéries restent stables, autour de 1 mg/L pour les nano-Fe_2O_3 et de 7 mg/L pour la nano-Fe_3O_4. Le Fe(II) des échantillons biotique augmente au cours du temps, plus rapidement pour les nano-Fe_3O_4. En effet, à 72 heures, seulement 0.3% du Fe total était présent sous forme de Fe^{2+} pour les nano-Fe_2O_3 biotiques contre environ 4% du Fe total pour les nano-Fe_3O_4 biotiques (Figure V- 8). Pour les derniers prélèvements effectués, les valeurs de Fe(II) dissous étaient de 44 mg/L pour les nano-Fe_2O_3, soit presque 16% du Fe total réduit après 400 heures d'exposition, et de 260 mg/L pour la nano-Fe_3O_4, soit 93% du Fe total réduit après 342 heures de bioréduction.

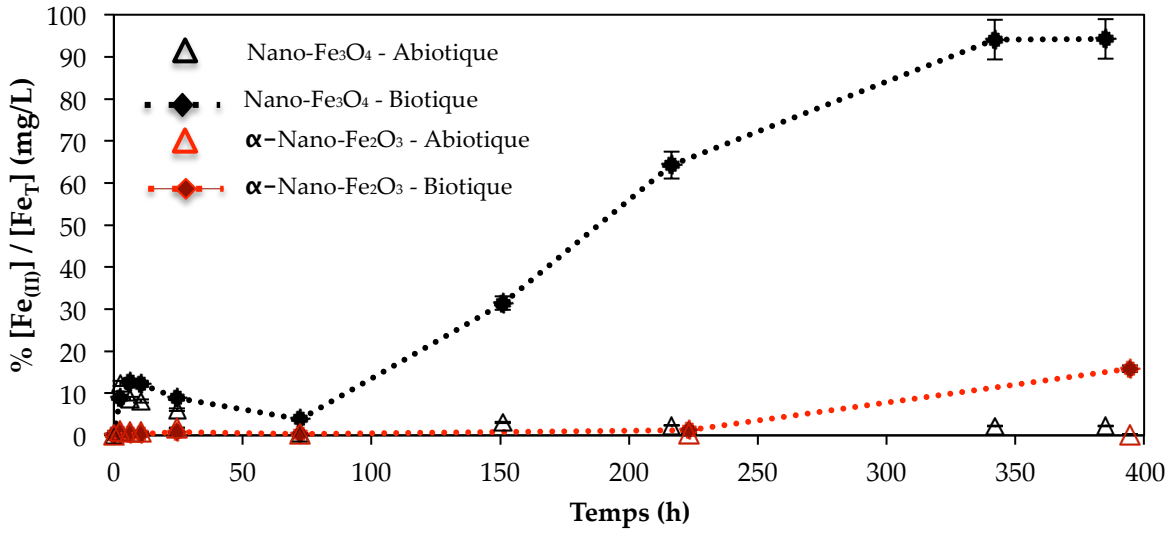


Figure V- 8 Pourcentage de fer sous forme de Fe(II) dissous pour les nano-Fe_3O_4 (noir) et nano-Fe_2O_3 (rouge).

V.3.2.4 Suivi de la concentration en orthophosphates

Le suivi des concentrations en orthophosphates pendant la réaction de bioréduction ne montre pas de variations significatives ni pour les échantillons abiotique, ni pour les nano-Fe_2O_3 biotique (Figure V- 9**)**. Les valeurs restent stables autour de 75 mg/L de PO_4. Cependant, pour la modalité exposant les nano-Fe_3O_4 aux bactéries, une diminution de la concentration en PO_4 a été observée à partir de 72 heures d'exposition, passant de 65 mg/L à 45 mg/L en fin d'expérience.

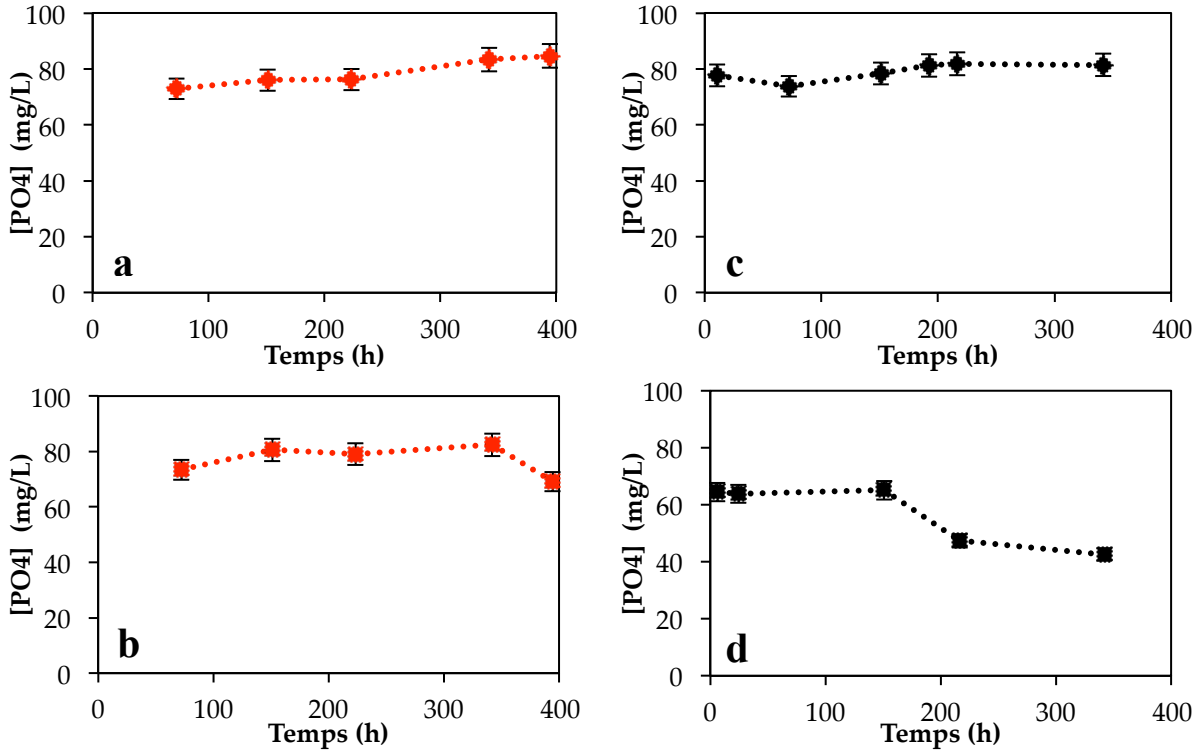


Figure V- 9 Concentrations en orthophosphates des échantillons de nano-Fe_2O_3 (rouge) (a) abiotique et (b) biotique et des échantillons de nano-Fe_3O_4 (noir) (c) abiotique et (d) biotique.

V.3.2.5 Suivi pH/Eh

La valeur de pH, mesurée à chaque prélèvement est restée stable, autour de 7 avec une variation de seulement 0.2 point. La présence de tampon HEPES dans le milieu réactionnel permet donc de maintenir un pH optimal pour le développement des bactéries.

La valeur du potentiel redox pour les échantillons non exposés aux bactéries varie légèrement (Figure V- 10) et reste proche de 250mV. Le potentiel redox diminue pour les échantillons avec bactéries. Il passe rapidement en dessous 200 mV pour les nano-Fe_3O_4 et diminue rapidement jusqu'à atteindre - 45mV à la fin de l'expérience de bioréduction. Pour les nano-Fe_2O_3, le potentiel redox diminue plus lentement et à 342 heures du début de la bioréduction, il était encore supérieur à 100 mV.

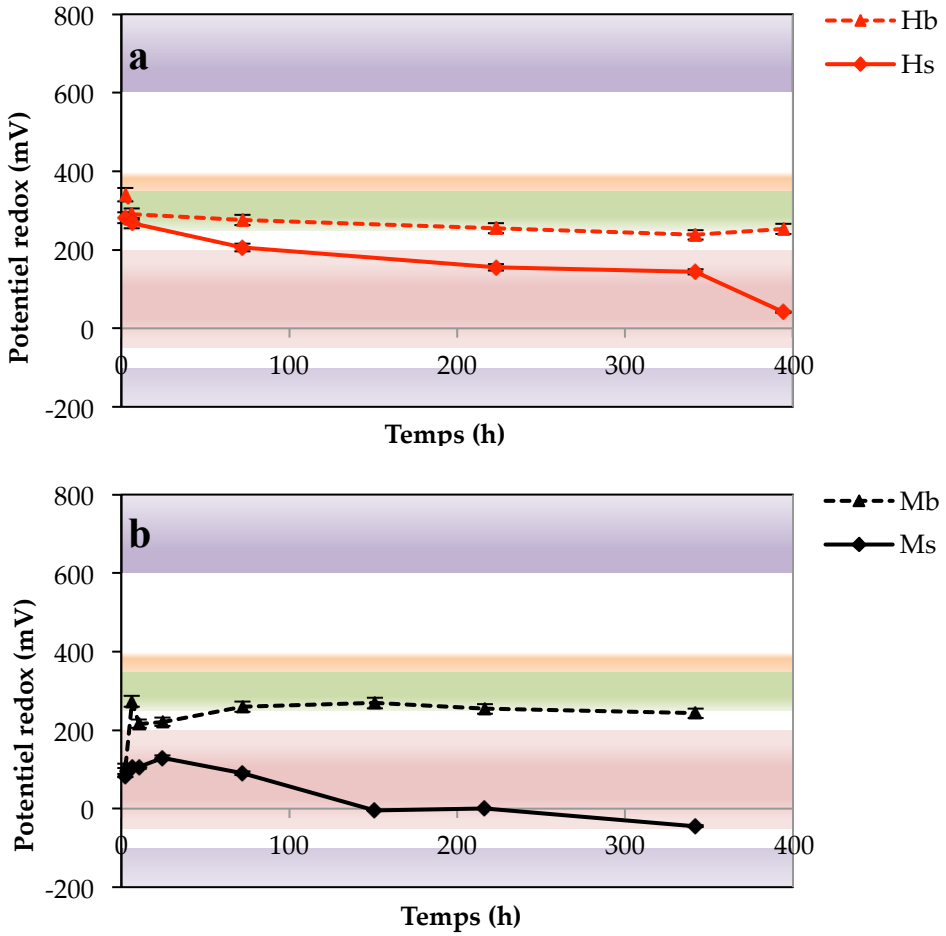


Figure V- 10 Suivi du potentiel redox au cours du temps, pour (a) les nano-Fe_2O_3 (rouge) et pour (b) les nano-Fe_3O_4 (noir). En pointillés est représentée l'évolution du potentiel pour les échantillons sans bactéries, alors qu'est représentée en trait continu l'évolution du potentiel pour les échantillons exposés aux bactéries. Les différentes zones de couleur représentent la zone de dominance d'un couple d'oxydoréduction. En bleu l'oxygène, en orange les nitrates, en vert les oxydes de manganèse, en rouge les oxydes de fer et en violet les sulfates.

V.4 Discussion

V.4.1 Synthèse des ENPs

Les observations au MET (Figure V- 2 et Figure V- 3) ont permis de réaliser un contrôle de la taille et morphologie des ENPs synthétisées. La taille moyenne des ENPs obtenus était d'environ 9 nm. Toutefois, on observe une dispersion de la taille un peu plus importante pour les nano-Fe_2O_3 (10±3 nm). Néanmoins, les méthodes de synthèse des ENPs ont permis d'obtenir des ENPs d'une taille proche de la taille ciblée (10 nm) et particulièrement homogène (± 3nm). Cette dispersion de taille était similaire à celle que l'on peut retrouver dans les autres études qui se sont intéressées à l'influence de la taille des ENPs sur la biodisponibilité des ENPs[218, 219]. La légère

différence de taille observée sur les ENPs synthétisées ne devrait donc pas influencer fortement les cinétiques de bioréduction. Les mesures de diamètres obtenues par DLS indiquent des valeurs plus élevées avec une forte dispersion (500 ± 60nm). Ces résultats sont dus au fait que les ENPs ont tendance à s'agglomérer en formant, comme on peut l'apercevoir au MET, des agrégats supérieurs à 500 nm pour les nano-Fe_2O_3 et des agrégats de l'ordre de 20 à 50 nm pour les nano-Fe_3O_4. Cette agrégation était liée à la concentration importante des suspensions nanoparticulaires qui ont été analysées. La forme de ENPs était sphérique et particulièrement homogène pour les deux types de ENPs synthétisées.

V.4.2 Bioréduction

L'adapatation bactérienne. Les résultats de densité cellulaire ont montré une légère diminution de la concentration cellulaire en début de bioréduction (< 72h). La diminution de la densité cellulaire était combinée à une absence de la consommation du lactate. A partir de t = 72h, la densité cellulaire est devenue stable, le potentiel redox (Figure V – 10) a commencé à diminuer avec la production de Fe(II) et la production d'acétate par les bactéries. Ainsi, nous spéculons qu'un effort d'adaptation par les bactéries est nécessaire, suite au changement de milieu (i.e. milieu de culture vers MB) et aux nouvelles conditions de respiration Un tel comportement a déjà été observé par Ouyang, et al. [220] pour la réduction de la jarosite par *Shewanella oneidensis.*

Artéfacts de mesures du Fe(II). Les valeurs de Fe(II) mesurées en début de bioréduction des nano-Fe_3O_4 sont hétérogènes et importantes dès le début de l'expérience. Ces fortes valeurs de Fe^{2+} ont été mesurées aussi bien pour le contrôle que pour les échantillons ensemencés de bactéries. De plus, aucune activité bactérienne n'a été observée pour la modalité ENPs biotique (i.e. pas de diminution significative du lactate). Cela pourrait s'expliquer par un protocole de mesure du Fe(II) inadapté aux nano-Fe_3O_4 et impliquerait une dissolution des ENPs par l'acide, et dans une moindre mesure, des nano-Fe_2O_3 lorsque l'on suit le protocole d'analyse de Bose, et al. [215]. De ce fait, le protocole de mesure a été modifié. Concernant les nano-Fe_2O_3, une adaptation du protocole de Bose, et al. [215] a été réalisée en se basant sur le contrôle pour évaluer le temps de contact nécessaire pour solubiliser le Fe^{2+} produit. Concernant les nano-Fe_3O_4, la préparation des prélèvements a été réalisée en suivant la méthode décrite dans la littérature selon Lovely et al.[197] et utilisée pour la bioréduction de nano-Fe_3O_4[216].

Cinétique de bioréduction. La production de Fe(II) est largement plus importante pour la bioréduction de la nano-Fe_3O_4 que pour la nano-Fe_2O_3. Pour les nano-Fe_3O_4, le Fe(II) augmente rapidement de t=72 heures à t= 342h. Dans le cas des nano-Fe_2O_3, la concentration en Fe(II) augmente en deux étapes : (1) lentement (3 mg/L de Fe(II) produit en 150 heures), puis (2) plus rapidement entre 220 et 400 h (40 mg/L). Concernant les nano-Fe_3O_4, la constante de vitesse a pu être mesurée en suivant une loi de vitesse de pseudo premier ordre. La constante de vitesse de la cinétique de bioréduction de la nano-Fe_3O_4 obtenue était de $k=1.7\bullet10^{-4}$ min^{-1}= $1.02\bullet10^{-2}$ h^{-1} (détermination graphique, $R^2 = 0.96$). D'autre part, la constante de vitesse concernant la bioréduction de la nano-Fe_3O_4 était difficile à calculer car la lenteur de la bioréduction ne permettait d'acquérir suffisamment de données pour tracer la courbe de détermination. Cette différence de cinétique peut être expliquée par l'effet de structure des oxydes de fer avec l'hématite, composée d'oxyde de Fe(III), plus difficile à réduire pour les bactéries que la magnétite, composée de Fe(II)/Fe(III). D'ailleurs, il a été montré, pour des particules micrométriques, que l'effet de structure de la phase ferrique jouait un rôle majeur sur la vitesse de cinétique de bioréduction [198] tel qu'on peut l'observer dans le Tableau V - 1. Comparativement aux autres types d'oxyhydroxide de fer que l'on peut trouver dans les colloïdes naturels (Tableau V - 1**)**, la cinétique de bioréduction des nano-Fe_3O_4 est beaucoup plus rapide que la lépidocrocite ($k = 1.3 \times 10^{-3}$ h^{-1}). Les mesures de Fe(II) montrent que seul 16% et 93 % du fer sont réduits pour les nano-Fe_2O_3 et les nano-Fe_3O_4, respectivement. Ainsi, pour les nano-Fe_3O_4, la concentration de Fe(II) obtenue sur les deux derniers points de l'expérience était de 260 mg/L. Seul 19 mg/L de Fe restent en solution (0.3 mM) et pourraient être soit, non réduits soit, précipités. Par conséquent, des interférences à la mesures du Fe(II) sont envisageables.

Tableau V - 1 Paramètres cinétiques de la bioréduction de différents types d'oxyhydroxide de fer par *Shewanella* (Tirée de Bonneville, et al. [214]).

Type Oxyhydroxyde de fer	M_{max} (µmol cell^{-1})	K_P (L µmol^{-1})	k (h^{-1})
Nanohematite, 8 nm (±2 nm)	2.3×10^{-9}	1.1×10^{-3}	1.0×10^{-2}
6-Line ferrihydrite	8.6×10^{-10}	8.0×10^{-4}	9.4×10^{-2}
LSA hematite	2.6×10^{-8}	2.0×10^{-3}	1.0×10^{-4}
Lepidocrocite	1.5×10^{-8}	5.0×10^{-5}	1.3×10^{-3}
HFO	4.3×10^{-10}	1.0×10^{-3}	1.5×10^{-1}

© AL-Sid-Cheikh Maya, 2015

Interférences à la mesure du Fe(II). Deux types d'interférences sont possible lors de la formation du Fe(II) avec les éléments présent dans le MB : La complexation du Fe(II) avec (1) les phosphates (PO_4^{2-}) et/ou (2) les sulfates/sulfures (SO_4^{2-}/H_2S).

La première hypothèse porte sur un phénomène de minéralisation secondaire connu, suite à la réduction du Fe : la formation de vivianite[216, 220, 221]. La formation de la vivianite s'effectue selon l'équation suivante :

$$3\ Fe^{2+} + 2\ HPO_4^{2-} + 8\ H_2O \rightarrow Fe_3(HPO_4)_2 \bullet 8\ (H_2O) + 2\ H^+$$

Le rapport stœchiométrique Fe^{2+}/HPO_4^{2-} est de 3/2 = 1.5. La diminution en orthophosphates au cours du temps pour les nano-Fe_3O_4 était équivalente à 20 mg/L (0.2 mM). Ainsi, le rapport entre le Fe(II) présent et HPO_4^{2-} est 0.3/0.2=1.5 ; ce qui appuie l'hypothèse de la formation de vivianite. Il est donc possible, qu'au bout de 342 heures, le Fe des nano-Fe_3O_4 soit réduit et qu'une fraction du Fe(II) ait été complexée par les phosphates pour former un minéral secondaire, la vivianite.

La seconde hypothèse serait une précipitation du Fe(II) en sulfure de fer (FeS_2) par réduction des sulfates présents dans le MB en sulfure (H_2S) et complexation avec le Fe(II). Le couplage de la sulfato-réduction bactérienne (SRB) et de la ferri-réduction bactérienne (DIR) pourrait être envisageable avec les concentrations en sulfate présent dans le MB. Par exemple, ce type de complexation est connu pour se produire dans les fonds marins (Figure V – 11). Pour valider cette hypothèse, une analyse par MEB des solides présents au sein de la suspension expérimentale en fin d'expérience permettrait de visualiser la présence de ce minéral néoformé [217] .

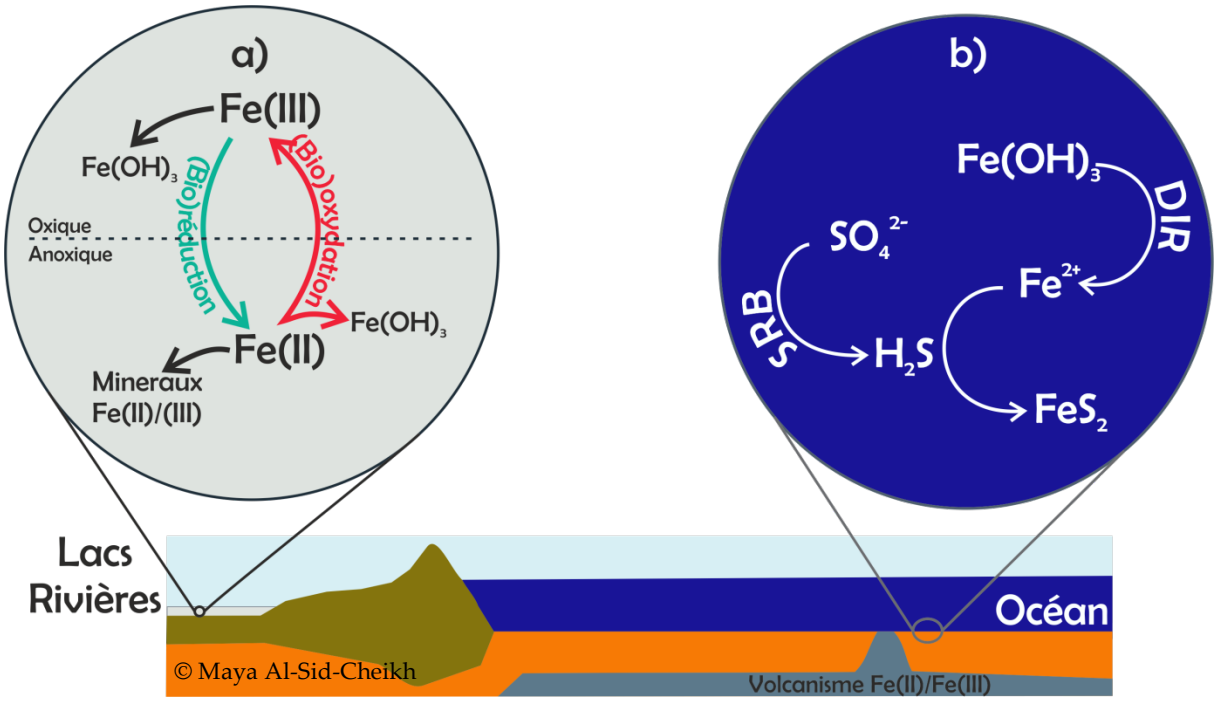


Figure V – 11. a) présente le cycle biogéochimique du fer dans les sols et sédiments (rivières ou lacs) à l'interface oxique-anoxique, faisant intervenir des mécanismes abiotiques d'oxydation et de réduction du fer, ainsi que des mécanismes catalysés par des bactéries ferri-réductrices (bio-réduction) et ferro-oxydantes (bio-oxydation) et conduisant à la précipitation/dissolution de minéraux riches en Fe(II), Fe(III) ou Fe(II)- Fe(III) ; b) présente le principal mode de précipitation du Fe(II) dissous dans les sédiments anoxiques de l'océan actuel, riche en sulfates, faisant intervenir le couplage de la sulfato-réduction bactérienne (SRB) et de la ferri-réduction bactérienne (DIR). Ces réactions de précipitation-dissolution contrôlent fortement la disponibilité des éléments traces (tels que l'arsenic) susceptibles de s'adsorber à la surface des oxydes de fer ou de co-précipiter avec les phases riches en fer (adaptée de Miot [222]).

V.5 Conclusion

Il a été mis en évidence lors de cette étude qu'une période d'adaptation de trois jours était nécessaire aux bactéries ferroréductrices pour l'utiliser le fer des nanoparticules comme accepteur d'électrons. La déstabilisation des ENPs par le protocole de mesure du Fe(II) a été résolue par une modification du protocole. Ainsi, en évitant la dissolution des ENPs par l'acide, les valeurs de Fe réduit obtenues étaient cohérentes avec l'activité bactérienne observée. La vitesse de réduction était plus importante pour les nano-Fe_3O_4 ($k=1.02 \cdot 10^{-2}$ min^{-1}) par rapport aux nano-Fe_2O_3 où le manque de données rend difficile le calcul de la cinétique de réduction. A la fin de l'exposition des bactéries aux ENPs, seulement 16% du fer des nano-Fe_2O_3 étaient réduit contre 93% du fer des nano-Fe_3O_4. La fraction manquante (19 mg/L, 0.3 mM) pourrait être expliquée par la formation de minéraux secondaire tels que la vivianite ou la

précipitation du Fe(II) en sulfure de Fe (FeS_2). Ainsi, des analyses minéralogiques de phases solides néoformées seront nécessaires pour identifier des phases séquestrant le Fe(II). La cinétique très rapide de la réduction des nano-Fe_3O_4 montre que leur persistance dans les zones d'interface que sont les ZHRs est très courte. La capacité de ces ENPs à séquestrer les métaux lourds tels que l'As et leur rapide dissolution par les bactéries montre qu'une mobilisation des métaux est possible. Ainsi, les nano-Fe_3O_4 peuvent devenir une phase vectrice des métaux lourds vers les nappes souterraines ou les systèmes aquatique ; ce qui serait problématique pour l'utilisation de ces nanoparticules lors des processus de décontamination.

À court terme, d'autres paramètres pourront également être testés, tels que l'influence de l'état de surface des nanoparticules de fer sur la bioréduction par les bactéries. La première étape pourra consister à étudier l'influence d'un enrobage de molécules organiques ou inorganiques de synthèse comme il était souvent effectué dans l'industrie. Dans cette optique, un test d'enrobage de nano-Fe_3O_4 par des molécules de DMSA (acide dimercaptosuccinique) a été déjà effectué et s'est avéré concluant. Ce travail préliminaire permet d'envisager une future expérience de bioréduction en comparant ainsi l'influence de l'enrobage sur la bioréduction des ENPs.

Bibliographie

1. F. Gottschalk, T. Sonderer, R. W. Scholz and B. Nowack, *Environmental Science & Technology*, 2009, 43, 9216-9222.
2. B. Nowack and T. D. Bucheli, *Environmental Pollution*, 2007, 150, 5-22.
3. G. Bystrzejewska-Piotrowska, J. Golimowski and P. L. Urban, *Waste Management*, 2009, 29, 2587-2595.
4. R. J. Aitken, M. Q. Chaudhry, A. B. A. Boxall and M. Hull, *Occupational Medicine-Oxford*, 2006, 56, 300-306.
5. P. Z. Ray and H. J. Shipley, *RSC Advances*, 2015, 5, 29885-29907.
6. S. E. Aamrani, J. Giménez, M. Rovira, F. Seco, M. Grivé, J. Bruno, L. Duro and J. de Pablo, *Applied Surface Science*, 2007, 253, 8794-8797.
7. V. Kumar, N. Talreja, D. Deva, N. Sankararamakrishnan, A. Sharma and N. Verma, *Desalination*, 2011, 282, 27-38.
8. K. L. Straub, W. A. Schönhuber, B. E. E. Buchholz-Cleven and B. Schink, *Geomicrobiology Journal*, 2004, 21, 371-378.
9. D. R. Lovley and E. J. P. Phillips, *Applied and Environmental Microbiology*, 1986, 52, 751-757.
10. R. M. Cornell and U. Schwertmann, in *The Iron Oxides*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2004, DOI: 10.1002/3527602097.ch1, pp. 1-7.
11. M. Pedrot, A. Le Boudec, M. Davranche, A. Dia and O. Henin, *Journal of Colloid and Interface Science*, 2011, 359, 75-85.
12. M. Usman, M. Abdelmoula, K. Hanna, B. Grégoire, P. Faure and C. Ruby, *Journal of Solid State Chemistry*, 2012, 194, 328-335.
13. S. Bose, M. F. Hochella, Y. A. Gorby, D. W. Kennedy, D. E. McCready, A. S. Madden and B. H. Lower, *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, 2009, 73, 962-976.
14. C. A. Dehner, L. Barton, P. A. Maurice and J. L. DuBois, *Environmental Science & Technology*, 2010, 45, 977-983.
15. M. Auffan, J. Rose, J.-Y. Bottero, G. V. Lowry, J.-P. Jolivet and M. R. Wiesner, *Nature Nanotechnology*, 2009, 4, 634 - 641.
16. M. Al-Sid-Cheikh, M. Pédrot, M. Bouhnik Le Coz, A. Dia, M. Davranche and F. Grasset, *Analytical Chemistry*, submitted.
17. C. H. Sorum, *Journal of the American Chemical Society*, 1931, 53, 812-812.

18. C. A. Lanzl, J. Baltrusaitis and D. M. Cwiertny, *Langmuir*, 2012, 28, 15797-15808.

19. S. Bose, M. F. Hochella Jr, Y. A. Gorby, D. W. Kennedy, D. E. McCready, A. S. Madden and B. H. Lower, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2009, 73, 962-976.

20. H. L. Dong, J. K. Fredrickson, D. W. Kennedy, J. M. Zachara, R. K. Kukkadapu and T. C. Onstott, *Chemical Geology*, 2000, 169, 299-318.

21. T. S. Peretyazhko, J. M. Zachara, D. W. Kennedy, J. K. Fredrickson, B. W. Arey, J. P. McKinley, C. M. Wang, A. C. Dohnalkova and Y. Xia, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2010, 74, 3751-3767.

22. M. D. Carvalho, F. Henriques, L. P. Ferreira, M. Godinho and M. M. Cruz, *Journal of Solid State Chemistry*, 2013, 201, 144-152.

23. N. Pinna, S. Grancharov, P. Beato, P. Bonville, M. Antonietti and M. Niederberger, *Chemistry of Materials*, 2005, 17, 3044-3049.

24. B. J. Ouyang, X. C. Lu, H. Liu, J. Li, T. T. Zhu, X. Y. Zhu, J. J. Lu and R. C. Wang, *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, 2014, 124, 54-71.

25. E. J. O'Loughlin, M. I. Boyanov, T. M. Flynn, C. A. Gorski, S. M. Hofmann, M. L. McCormick, M. M. Scherer and K. M. Kemner, *Environmental Science & Technology*, 2013, 47, 9157-9166.

Chapitre VI - Conclusion et perspectives

Partie I - Conclusion

Le devenir des métaux toxiques (TM) tels que l'As ou le Pb est une problématique majeure compte tenu des risques importants que peuvent représenter ces contaminants pour l'environnement, les écosystèmes, les chaînes trophiques, voire la santé humaine. Cependant, les études portant sur les risques environnementaux et la santé humaine se sont jusqu'à présent, surtout intéressées, aux impacts directs que ces contaminants peuvent susciter. L'exigence de limiter le déversement par l'industrie (ou la présence naturelle) de ces métaux toxiques dans l'environnement a poussé la communauté scientifique à rechercher de nouvelles façons de les comprendre afin de mieux contrôler leur dynamique et leur devenir. Le déversement des nanoparticules dans l'environnement apparaît inévitable, en raison notamment de leur utilisation en tant que nanoadsorbants sur les sites pollués[52]. Cependant, bien que de plus en plus utilisées, leur impact sur la mobilité et le devenir des TMs demeure toujours mal connu. D'ailleurs, l'utilisation massive des ENPs dans un large secteur industriel rend l'étude de leur impact sur les TMs encore plus cruciale pour la protection de l'environnement, des écosystèmes et de la santé humaine. Ainsi dans le cadre de ma thèse, après avoir mis en place des méthodes d'analyses, nous avons (1) évalué les interactions des colloïdes naturels (i.e. organiques et inorganiques) avec un métalloïde toxique, l'arsenic ; (2) évalué l'impact de l'état de surface (i.e. enrobage) des nano-Fe_3O_4 sur (a) la mobilité des TMs et (b) leur interaction avec des éléments toxiques (i.e. arsenic et plomb) ; (3) évalué l'impact des bactéries sur le devenir des ENPs dans les sols de ZHR (i.e. transformation des ENPs).

Cette étude se distingue par son approche pluridisciplinaire tant du point de vue analytique que scientifique. En effet, les analyses nanoSIMS ont été novatrices et efficaces dans la caractérisation des interactions des éléments traces avec les colloïdes organiques et inorganiques *in situ*. Couplées à des analyses en spectroscopie des rayons X, les analyses nanoSIMS ont permis de mettre en évidence des interactions sur des colloïdes naturels, en phase solide, jusqu'à présent très peu documentées. Cette approche robuste a permis une caractérisation à haute résolution (i.e. nano), non réalisable par XAS, de la distribution spatiale des éléments en phase solide. D'un autre côté, l'approche d'analyse en laboratoire par couplage en ligne de la chromatographie d'exclusion stérique (SEC) et de la spectrométrie de masse à torche

plasma (ICP-MS) a permis de caractériser les interactions entre les ENPs et les ETM en phase liquide. Ce couplage est une nouvelle méthode pour analyser les interactions entre les ENPs et les TMs qui jusqu'à maintenant n'était pas possible pour la SEC. Finalement, l'aspect biogéochimique du projet avec l'introduction des bactéries dans notre étude nous a également permis d'obtenir un premier aperçu de l'impact de l'activité biologique dans les sols, notamment pour les bactéries ferroréductrices. Cet aspect permet de mettre en évidence la persistance des nanoparticules d'oxydes de fer dans les sols et la capacité de mobilisation des TMs que ces ENPs séquestrent avec leur potentiel transfert vers le compartiment aquatique.

Les analyses nanoSIMS couplées à des analyses en spectroscopie des rayons X ont permis de mettre en évidence des interactions sur des colloïdes naturels, jusqu'à présent très peu documentées, sur des produits de ré-oxydations de sol de ZHR. Cette approche a permis une caractérisation à haute résolution (i.e. nano), non réalisable par XAS, de la distribution spatiale des éléments en phase solide. De plus, l'approche par couplage en ligne de la chromatographie d'exclusion stérique (SEC) et de la spectrométrie de masse à torche plasma (ICP-MS) a permis de caractériser les interactions entre les ENPs et les TMs en phase liquide. Finalement, l'introduction des bactéries dans notre étude nous a également permis d'obtenir un premier aperçu de l'impact de l'activité biologique, notamment celle des bactéries ferro-réductrices sur le devenir des nanoparticules d'oxydes de fer dans les sols.

L'étude de la distribution des éléments dans les colloïdes naturels en phase solide, couplant nanoSIMS et XAS, a permis d'observer, hormis une distribution (i.e. $^{56}Fe^{16}O^-$, $^{12}C^{14}N^-$, $^{32}S^-$, $^{75}As^-$) très hétérogène des éléments, une forte relation entre la distribution du FeO et de l'As. Les traitements statistiques subséquents ont d'ailleurs suggéré la formation possible d'interactions : (a) ternaires entre la MON, FeO et l'As et (b) entre la MON, le S, et l'As. Ces analyses conduisent à suspecter de possibles associations directes entre la MON et l'As par les groupements soufrés de la MON, telles qu'observées en milieux constamment anoxiques[77-79, 135, 223]. En effet, compte tenu du long temps de demi-vie de ces complexes[135] et de l'oscillation constante du battement de nappes phréatiques dans les ZHR [224], l'observation de telles associations semble tout à fait plausible dans des produits de réoxydation. Ainsi, la coexistence d'espèces organiques et inorganiques pourrait être expliquée par la cinétique lente de l'oxydation des complexes organo-souffrés. Par conséquent, notre étude montre l'importance du rôle du soufre organique et inorganique sur la distribution de l'As

dans les ZHR et que même si le soufre organique ne représente qu'une fraction des produits de ré-oxydation, le cycle du soufre peut être un facteur important dans la distribution de l'As. Finalement, ce premier chapitre souligne également l'importance des colloïdes inorganiques (i.e. FeO) dans ces interactions et de l'importance qu'ils peuvent avoir sur la mobilité des TMs en présence de MON.

Les résultats de nos expériences de lessivage ont montré que la présence de nano-Fe_3O_4 et leur composition de surface impactaient la mobilité des TMs dans les sols de ZHR. En effet, la mobilité des TMs semble augmenter en présence de nano-Fe_3O_4 nues avec un transfert des TMs vers la fraction colloïdale. Ce résultat peut être expliqué par l'interaction entre les nanoparticules et la MON où les TMs liés à la MON pourraient être transportés par les nano-Fe_3O_4. Par ailleurs, ce phénomène ne semble pas avoir lieu avec les nano-Fe_3O_4 enrobées (i.e. protégées par l'enrobage du DMSA). De plus, traversant plus rapidement les colonnes de sols lors des expériences de lessivages, les nano-Fe_3O_4 enrobées ont montré une plus grande mobilité que les nano-Fe_3O_4 nues.

La mise en place d'un couplage en ligne entre la chromatographie par exclusion stérique (SEC), la multidétection des éléments par ultraviolet (Uv) pour les molécules organiques et la spectrométrie de masse à torche plasma pour les métaux (i.e. SEC-Uv-ICPMS), a permis de corroborer ces observations avec l'observation directe d'interactions entre les TMs, la MON et les nanoparticules. En effet, ce travail nous a permis d'améliorer la caractérisation du comportement des nano-Fe_3O_4 dans des matrices environnementales complexes telles que les eaux d'épurations, les eaux souterraines ainsi que l'eau potable. Plus précisément, notre méthode nous a permis de travailler, avec un temps d'analyse relativement court (i.e. 10 min), dans une large gamme de pH (i.e. pH 2-8). Ainsi, cette méthode pourrait être appliquée à une large gamme d'études, telles que l'étude de la cinétique d'adsorption, le comportement, la caractérisation et la quantification des nanoparticules dans différentes conditions. De plus, notre méthode permet une calibration de qualité en taille pour les ENPs et en poids moléculaire pour les molécules organiques. Finalement, comme l'interaction entre la phase stationnaire de la SEC et la MON est limitée contrairement à la SEC classique, constituée de billes de polystyrène (i.e. HDC), cette méthode a pu être appliquée à une étude d'interaction de l'As et du Pb en fonction de la composition de surface des nano-Fe_3O_4. Cette méthode a permis la quantification de la capacité d'adsorption des nano-Fe_3O_4 nues et enrobées en fonction du pH. Cette méthode a

également permis de caractériser le comportement d'agrégation des ENPs et l'adsorption des TMs en fonction de la taille des ENPs.

Enfin, comme les processus physico-chimiques du sol sont en intime relation avec la dynamique et les activités métaboliques du compartiment vivant de l'environnement, la mise en place d'expériences incluant des bactéries nous a permis d'avoir un aperçu sur l'impact que pouvait avoir la microfaune du sol sur le devenir des nano-Fe_3O_4 dans les sols et par voie de conséquence sur la mobilité des TMs. Plus précisément, nos expériences de bio-réduction par *Shewanella oneidensis* ont mis en évidence des vitesses de bio-réduction pour les nano-Fe_3O_4 (i.e. $k=1.7\ 10^{-4}\ min^{-1}$) beaucoup plus rapides que pour l'hématite. En effet, seulement 16% de l'hématite ont été réduits durant le laps de temps pendant lequel toutes les nano-Fe_3O_4 ont été bio-solubilisées. Ce résultat peut être expliqué par la cristallographie des oxydes de fer influençant la capacité des bactéries ferroréductices (i.e. *Shewanella oneidensis*) à réduire les nanoparticules d'oxydes de fer[32].

Partie II - Perspectives

Ce travail ouvre sur des perspectives de recherche dans trois axes principaux que sont : (a) la caractérisation des liaisons d'un TM (i.e. l'As) avec les colloïdes naturels organiques (i.e. MON) et inorganiques (i.e. FeO), (b) la stabilité des nanoparticules dans le sol et leur rôle dans le transfert des TMs vers les systèmes aquatiques et (c) le devenir des nanoparticules enrobées vis-à-vis du compartiment biologique du sol.

Le premier axe de recherche concerne les interactions des colloïdes inorganiques naturels (FeO) avec la MON et l'As. Nous avons montré que l'analyse de la distribution des éléments par nanoSIMS révélait deux types d'association possibles : (1) FeO/CN/S/As et (2) CN/S/As, et que la spéciation du soufre montrait une possible association directe entre la MON et l'As par le soufre réduit (S(II) – As(III)) en milieu oxydant. Comme la nanoSIMS nous permet seulement une caractérisation de la distribution des éléments, les travaux que nous avons menés abordent la caractérisation des interactions entre ces trois composants de manière indirecte. D'autre part, en caractérisant les espèces « réduites » et « oxydées » du soufre par les analyses XANES au seuil k nous avons également obtenu des informations indirectes sur les possibilités de liaisons entre l'As, la MON et les FeO. D'ailleurs, des travaux plus poussés (i.e. sur le Fe et l'As) portant sur les produits de

ré-oxydations du sol de la ZHR de notre étude seront entrepris. Des analyses EXAFS, μXAS et μXRF permettant une évaluation directe des coordinations et de la spéciation de l'As permettra une meilleure caractérisation des interactions dans les colloïdes naturels, c'est à dire adsorption et/ou complexation entre les FeO, l'As et la MON. Ces analyses sont déjà en cours de réalisation et en collaboration avec un autre doctorat conduit dans notre équipe, elles feront d'ailleurs l'objet de prochaines publications en association.

Le deuxième axe de recherche concerne l'impact des nano-Fe_3O_4 sur la dynamique des TMs dans les sols. Nous avons montré lors des lessivages de sols que les nano-Fe_3O_4 enrobées de DMSA (nano-Fe_3O_4@DMSA) avaient une meilleure mobilité et un faible impact sur la mobilité des TMs, tandis que les nano-Fe_3O_4 nues s'accumulaient dans les premiers cm de sol et impactaient les TMS avec un transfert des éléments de la phase « réellement » dissoute et colloïdale vers la phase intermédiaire. D'ailleurs, les expériences d'adsorption d'As et de Pb sur les nano-Fe_3O_4 nues et nano-Fe_3O_4@DMSA ont montré une capacité d'adsorption nettement moins importante pour les nano-Fe_3O_4@DMSA. Ainsi, bien que l'enrobage améliore la stabilité des nanoparticules, celui-ci semble agir comme barrière entre les TMs et les nanoparticules, impliquant une plus grande sélectivité d'adsorption des TMs à travers l'enrobage. En conséquence, comprendre le devenir de l'enrobage soumis aux conditions environnementales devient crucial. Il serait particulièrement intéressant d'évaluer l'impact de différents types d'enrobage sur la dynamique des TMs et d'évaluer leur vieillissement. Comme elles ont montré une meilleure capacité d'adsorption et une agrégation plus importante, il est aussi essentiel de comprendre le devenir des nano-Fe_3O_4 nues lorsque recouvertes de TMs et stabilisées par des molécules organique naturelles. Il serait donc intéressant de connaître les types de molécules organiques susceptibles de stabiliser ces nanoparticules (e.g. acides humiques, acides humiques, lipides, acides gras, exopolyscharides etc.) et de connaitre également leur stabilité dans l'environnement. Par conséquent des travaux supplémentaire seront nécessaires sur les différents types d'enrobage susceptibles d'être utilisés dans les industries afin d'avoir un meilleur panorama de l'impact de la composition de surface des nano-Fe_3O_4 sur la mobilité des TMs.

Le troisième axe de recherche concerne la durée de vie des nano-Fe_3O_4 vis-à-vis de l'activité biologique. Nous avons montré que la bioréduction des nano-Fe_3O_4 nues par *Shewanella oneidensis* pouvait être extrêmement rapide (i.e. 8j.) dans de bonnes

conditions (i.e. densité cellulaire ~10^8 cell/mL, à 30°C). Ainsi, les nano-Fe_3O_4 nues peuvent être rapidement consommées par les bactéries dans le milieu environnemental. Cependant, plusieurs éléments restent en suspens concernant cette bioréduction. Par exemple, est-ce que la composition de surface peut influencer la vitesse de bioréduction? Ainsi, il serait nécessaire d'évaluer l'effet inhibiteur ou éventuellement catalytique de différents enrobages organiques ou inorganiques sur la bioréduction de ces ENPs. Toutefois, il a été démontré par Lovley, et al. [225] que les microorganismes des sols et des sédiments sont capables d'utiliser les substances humiques comme accepteur d'électrons pour l'oxydation anaérobique des composés organiques. Ceci suggère aussi que les microorganismes ont la capacité de réduire d'autres composés (i.e. accepteurs d'électrons moins accessibles), tels que les oxydes de fer, grâce aux substances humiques capables de créer un transfert d'électrons entre les microorganismes et les FeO.

Références

1. P. Z. Ray and H. J. Shipley, *RSC Advances*, 2015, 5, 29885-29907.
2. M. Hoffmann, C. Mikutta and R. Kretzschmar, *Environmental Science & Technology*, 2012, 46, 11788-11797.
3. M. Hoffmann, C. Mikutta and R. Kretzschmar, *Environmental Science & Technology*, 2014, 48, 3822-3831.
4. P. Langner, C. Mikutta and R. Kretzschmar, *Nature Geoscience*, 2012, 5, 66-73.
5. P. Langner, C. Mikutta and R. Kretzschmar, *Environmental Science & Technology*, 2014, 48, 2281-2289.
6. P. Langner, C. Mikutta, E. Suess, M. A. Marcus and R. Kretzschmar, *Environmental Science & Technology*, 2013, 47, 9706-9714.
7. A. H. Aubert, C. Gascuel-Odoux, G. Gruau, N. Akkal, M. Faucheux, Y. Fauvel, C. Grimaldi, Y. Hamon, A. Jaffrézic, M. Lecoz-Boutnik, J. Molénat, P. Petitjean, L. Ruiz and P. Merot, *Hydrol. Earth Syst. Sci.*, 2013, 17, 1379-1391.
8. R. M. Cornell and U. Schwertmann, *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrences and Uses*, 2003.

Annexes

Annexe - I. Supporting Information to Article 1

'Interactions between natural organic matter, sulfur, arsenic and iron oxides in re-oxidation compounds within riparian wetlands: NanoSIMS and X-ray adsorption spectroscopy evidences'

Maya Al-Sid-Cheikh[1,*†], Mathieu Pédrot [1], Aline Dia[1], Hélène Guenet[1], Delphine Vantelon[2], Mélanie Davranche[1], Gérard Gruau[1], Thomas Delhaye[3]

[1] Géosciences Rennes - Université Rennes 1 - CNRS UMR 6118 - Av. General Leclerc, 35042 Rennes, Cedex. France

[2] Synchrotron Soleil, L'Orme des Merisiers, Saint Aubin, BP 48, F-91192 Gif-sur-Yvette cedex, France

[3] NanoSIMS plateform, Université Rennes 1 - CNRS UMR 6118 - Av. General Leclerc, 35042 Rennes, Cedex. France

(2 Figures, 3 Tables)

Content:

1. **Correlation between Fe(II) and sulfate concentration** ……..**Fig.A1**
2. **Fe/As ratio and uptake time**…….**Fig.A2**
3. **Bulk chemical composition for PTFE sheets**……**Table A1**
4. **Ratio Iron versus Si, Al, Ca and As** ……...**Table A2**
5. **Synchrotron measurements and data analyses**……....**Table A3**

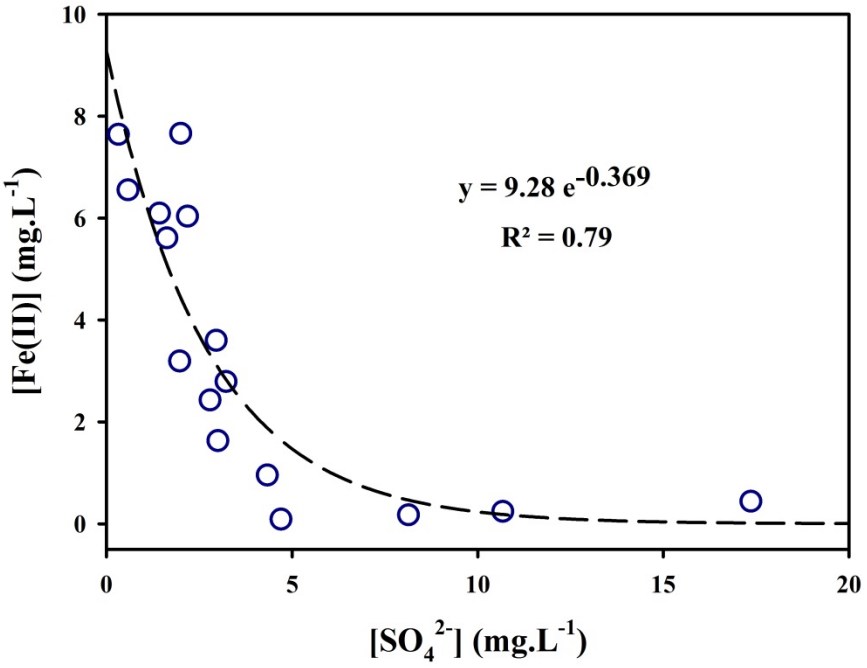


Fig. A1. Correlation between Fe(II) and sulfate concentration in the riparian wetland soil of Kervidy-Naizin.

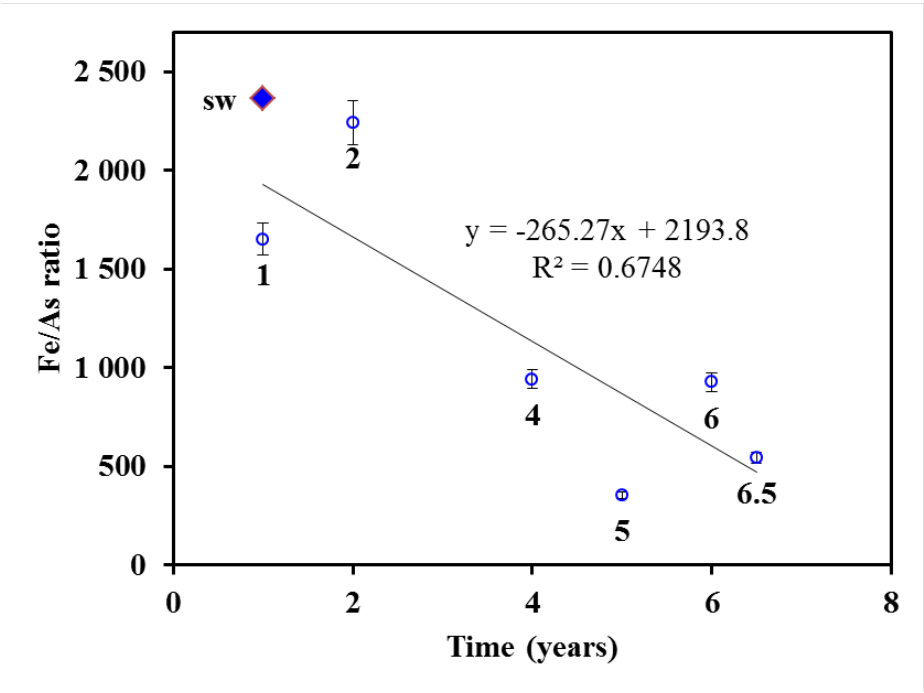


Fig. A2. Fe/As ratio versus the uptake time for the re-oxidation compounds.

Table A1. Bulk chemical composition (major and trace elements) for six PTFE sheets collected from wetland soil of the Kervidy-Naizin catchment (North-western France).

	Na_2O	MgO	Al_2O_3	SiO_2	K_2O	CaO	MnO	Fe_2O_3	total
					%				
P1 (1y.)	0.00	0.25	1.12	0.19	0.07	0.20	0.02	3.37	**5.22**
P2 (2y.)	0.00	0.61	2.08	1.48	0.11	1.52	0.17	38.63	**44.60**
P3 (4y.)	0.00	0.31	1.55	0.28	0.05	0.00	0.02	12.46	**14.68**
P4 (5y.)	0.06	0.27	1.76	2.34	0.14	0.82	0.01	24.33	**29.71**
P5 (6y.)	0.05	0.44	3.18	1.99	0.17	0.56	0.23	15.88	**22.50**
P6 (6.5y)	0.03	0.41	4.63	5.85	0.43	0.47	0.03	15.68	**27.54**
	Na	**Mg**	**Al**	**Si**	**K**	**Ca**	**Mn**	**Fe**	
					%				
P1 (1y.)	0.00	0.15	0.30	0.09	0.03	0.15	0.02	1.18	
P2 (2y.)	0.00	0.37	0.55	0.69	0.05	1.09	0.17	13.51	
P3 (4y.)	0.00	0.19	0.41	0.13	0.02	0.00	0.02	4.36	
P4 (5y.)	0.021	0.16	0.46	1.09	0.06	0.59	0.01	8.51	
P5 (6y.)	0.019	0.27	0.84	0.93	0.07	0.40	0.23	5.55	
P6 (6.5y)	0.013	0.25	1.23	2.73	0.18	0.34	0.03	5.48	

Table A2. Iron versus Si, Al, Ca and As ratios.

	Fe/Si	Fe/Al	Fe/Ca	Fe/As
sw	0.3	4.6	0.2	2362.6
P1 (1y.)	17.97	3.01	7.79	1651.9
P2 (2y.)	19.48	24.51	12.41	2241.8
P3 (4y.)	44.01	8.02	25.82	942.0
P4 (5y.)	7.79	18.30	14.49	355.6
P5 (6y.)	5.96	6.61	13.88	927.0
P6 (6.5y)	2.01	4.47	16.34	545.4

Table A3. Peak parameters of deconvoluted S K-edge XANES spectra as shown in Figure 6 and atomic fractions of S functionalities after correction for oxidation-state dependent cross section of S.

White-line energy (eV)	Assigned S functionality	Formule	FWHM[a] (eV)	Peak height	Uncorrected peak area	Corrected peak area[b]	Corrected fraction (%)	NSSR (%)
2472.17	Disulfide	R-S-S-R'	0.7	1.312	1.31	1.67	30.73	32.23
2473.56	Thiol	R-SH	0.7	1.545	1.54	1.16	21.29	22.33
2475.68	Sulfoxide	R-S(=O)-R'	0.7	0.26	0.26	0.12	2.21	-
2478.82	Sulfite	SO_3^{2-}	0.8	0.449	0.45	0.13	2.44	-
2480.51	Sulfone	R-S(=O)$_2$-R'	0.8	3.777	3.78	0.93	17.11	17.95
2482.04	Sulfate	SO_4^{2-}	0.8	6.651	6.65	1.43	26.22	27.50

a - full width at half maximum

b - Using the scaling factor derived from the "generic" equation of Manceau and Nagy

C. R. Geoscience xxx (2015) xxx–xxx

Annexe 2 - Article co-auteur

Contents lists available at ScienceDirect

Comptes Rendus Geoscience

www.sciencedirect.com

Hydrology, Environment (Surface Geochemistry)

Unravelling the fate of arsenic during re-oxidation of reduced wetland waters: Experimental constraints and environmental consequences

Mathieu Pédrot *, Aline Dia, Mélanie Davranche, Sébastien Martin, Maya Al-Sid-Cheikh, Gérard Gruau

CNRS-UMR 6118, Géosciences Rennes, University of Rennes-1, avenue du Général-Leclerc, 35042 Rennes cedex, France

ARTICLE INFO

Article history:
Received 4 December 2014
Accepted after revision 9 March 2015
Available online xxx

Keywords:
Colloids
Arsenic
Oxidation–hydrolysis reaction
NanoSIMS
Experimentation

ABSTRACT

The presence of arsenic(As)-bearing Fe(III) oxyhydroxides in wetland zones may threat water quality due to the reduction processes that affect these zones. These processes have indeed the potential of releasing As into the soil solutions, and ultimately into the nearby river network, being given the hydrological connectivity that exists between wetlands and rivers. The effective transport of the released As into the river network is however dependent on the behaviour of As during the re-oxidation process that will occur at the wetland-river boundary, which could immobilize the released As into neo-formed Fe(III) oxyhydroxides. One of the key questions is, however, which is the impact of the organic-rich nature of wetland waters on this neoformation, which could instead favour the development of highly mobile As-bearing, organomineral colloids. In this study, we evaluated this possibility by carrying out oxidation experiments on humic acid (HA)- and As(III)/Fe(II)-rich waters. The ultrafiltration results showed that the presence of organic molecules during Fe oxidation events played a major role in the hydrolysis reaction of Fe oxyhydroxides. When Fe microparticles were formed in the absence of HA, the occurrence of HA during Fe oxidation events promoted the formation of amorphous nanosize Fe phase diffusely embedded within the organic matrix. These mixed Fe–HA colloids constrained the fate and distribution of As. These results were confirmed by nanoSIMS images that showed As sorption onto and within Fe microparticles ($> 0.2\ \mu m$) in the absence of HA. By contrast, with HA, results showed preferential incorporation of As in the bulk of Fe–HA colloids ($< 0.2\ \mu m$) during their formation rather than surface adsorption onto these colloids.

© 2015 Académie des sciences. Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

1. Introduction

Arsenic (As) is a toxic element that can lead to wide-scale poisoning in populations when present in waters (Anawar et al., 2003; Fendorf et al., 2010; Smedley and Kinniburgh, 2002). Since wetlands can be an important source of waters for both ground and river waters, they can transfer As to these hydrosystems for two reasons. Firstly, wetlands can be enriched in As-bearing Fe(III) oxides through erosion and deposition during high-flow periods of flooding (Kocar et al., 2008; Polizzotto et al., 2005). Secondly, the anaerobic conditions that periodically develop in these systems can lead to the reduction of the Fe(III) oxides and to As release within wetland waters, these latter being then able to pollute the water masses with which the wetlands are connected, namely the

* Corresponding author.
E-mail address: mathieu.pedrot@univ-rennes1.fr (M. Pédrot).

http://dx.doi.org/10.1016/j.crte.2015.03.002
1631-0713/© 2015 Académie des sciences. Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Please cite this article in press as: Pédrot M, et al. Unravelling the fate of arsenic during re-oxidation of reduced wetland waters: Experimental constraints and environmental consequences. C. R. Geoscience (2015), http://dx.doi.org/10.1016/j.crte.2015.03.002

underlying groundwater and the adjacent river network (Anawar et al., 2003; Baeyens et al., 2007; Kalbitz and Wennrich, 1998).

In wetlands categorized as riparian zones (associated with streams), flows out of wetlands are preferentially performed by evapotranspiration, surface runoff, and subsurface water outflow. In these waters undergoing oxidation–reduction events, precipitation or dissolution of carrier phases can play a major role on the mobility of dissolved trace elements. However, the biogeochemistry of the released As is still poorly constrained, particularly as regards to the role played by Fe(II) re-oxidation processes that may occur during the transport of the As from its wetland source to the hydrosystems. Indeed, the re-oxidation process could lead to the precipitation of secondary Fe(III) oxyhydroxide crystals that could immobilize the released As. This process of As scavenging by secondary Fe(III) oxyhydroxides could be a very efficient, naturally occurring attenuation process, particularly in oxygenated hydrosystems, such as streams and rivers. However, this attenuation role of secondary Fe(III) precipitation regards to As transport to streams and rivers could be challenged by the high dissolved organic matter (DOM) concentration of wetland waters that could stabilize the As in solution or lead to the formation of highly mobile Fe(III)-DOM colloids. In fact, several studies already showed that DOM could critically affect the aquatic geochemistry and the fate of As (Fendorf et al., 2010). The formation of As-DOM complexes has been already documented for various As species and DOM types, as well as for various physicochemical environmental media (Buschmann et al., 2006; Liu and Cai, 2010; Liu et al., 2011). The extent of As-DOM binding varies with DOM origin and metal loading (mostly Fe) of the DOM phase (Liu et al., 2011; Redman et al., 2002). Likewise, studies using ultrafiltration techniques have already demonstrated that most of the Fe occurring in wetlands or organic-rich solutions was found in the suspended colloidal fractions (Allard et al., 2004; Gaffney et al., 2008; Pédrot et al., 2008). These colloids may include large DOM species coagulated by chelated Fe and/or stabilized by ferric nano-oxyhydroxides (Pédrot et al., 2011; Pokrovsky et al., 2005). Several authors have recently shown that such Fe-DOM associations could be the carrier phases of As(V) in organic-rich and wetland solutions (Mikutta and Kretzschmar, 2011; Ritter et al., 2006). Arsenic may be either associated with Fe–OM colloids via Fe(III)-cationic bridging or via adsorption/incorporation in Fe(III) solid phases, or directly bound to OM molecules via functional groups, such as –SH (Gorny et al., 2015; Liu and Cai, 2010; Liu et al., 2011; Mikutta and Kretzschmar, 2011).

The occurrence of mixed Fe nano-oxyhydroxides-OM colloids has been assumed in several studies that focused on organic-rich waters (Pédrot et al., 2008; Pokrovsky et al., 2005; Rose et al., 1998). Recent studies dedicated to investigating the ability of DOM to control Fe speciation have demonstrated that Fe(II) oxidation in the presence of organic molecules can promote the formation of small amorphous Fe nano-oxyhydroxides colloids instead of Fe microparticles as DOM inhibits the development of large hydroxide crystals (Gaffney et al., 2008; Pédrot et al., 2011). The high sorption capacity of these neo-formed Fe nanoparticles makes them important potential transport vectors for contaminants in the environment (Warren and Haack, 2001). Their small size, due to their intimate association with DOM, confers them the capacity of also transporting the contaminants over long distances.

Despite the evidence of environmental occurrences of As–Fe–OM associations, no study has so far investigated in details the behaviour of As during the oxidation of Fe(II) and DOM-rich solutions, despite the potential environmental importance of those associations as potential carriers of As contamination in rivers fed by wetland waters. This study was dedicated to the reporting of a series of experiments, which were conducted to fill this gap. More specifically, oxidation of Fe(II) solutions were carried out with and without the addition of dissolved As and DOM (as humic acid) in order to specify the impact of DOM on the fate of As during Fe(II) oxidation. This was done by combining ultrafiltration experiments and NanoSIMS images. NanoSIMS – Nanoscale Secondary Ion Mass Spectrometers – are ion probes that can be used to obtain precise, spatially explicit, maps of elemental and isotopic distribution in complex matrices with a nanoscale spatial resolution (Herrmann et al., 2007). This technique offers many exciting opportunities for potential applications within the field of biogeochemistry (Herrmann et al., 2007; Moore et al., 2012), and this study may also be viewed as an experimental investigation of the ability of NanoSIMS instruments to map the distribution of As in both pure Fe and mixed Fe–OM colloids.

2. Materials and methods

Three types of Fe^{2+} oxidation experiments were carried out, namely (i) without humic acid (HA) and As, (ii) with As only and (iii) with HA and As. Humic acid suspension was obtained from standard humic acid (Leonardite, 1S104H, IHSS).

An acidified (HCl) 702 $mg{\cdot}L^{-1}$ Fe(II) stock solution was prepared with $FeCl_2$. This solution was then added at 0.1 $mL{\cdot}min^{-1}$ with an automated burette (Titrino 794, Metrohm) in a thermostatic beaker set at 25 °C to three suspensions in equilibrium at pH 6.5, namely (i) a 0.01 M electrolyte (NaCl) solution for the Fe system (Exp. 1), (ii) a 0.01 M electrolyte (NaCl) solution containing As(III) for the Fe–As system (Exp. 2), and (iii) a 0.01 M electrolyte (NaCl) solution containing both As(III) and HA for the Fe–As–HA system (Exp. 3). These three suspensions, in contact with the atmosphere, were continuously stirred throughout the Fe(II) oxidation experiments. The buffering capacity of HA in equilibrium at pH 6.5 was tested in Exp. 3 to evaluate the hydroxyl consumption with no change in the pH. Simultaneously in these three suspensions, the pH was continuously maintained at 6.5 by progressively adding 0.1 M NaOH using a second automated burette programmed in a pH stat mode (Titrino 794, Metrohm). The accuracy of the pH measurement was ± 0.04 pH units. At the end of the Fe(II) addition (t = 250 min), the suspensions were left in contact with the atmosphere at pH 6.5 for another 750 min. Table 1 shows the Fe_{tot}, As_{tot}, and DOC_{tot} concentrations of suspensions at the end of Fe(II) addition

Please cite this article in press as: Pédrot M, et al. Unravelling the fate of arsenic during re-oxidation of reduced wetland waters: Experimental constraints and environmental consequences. C. R. Geoscience (2015), http://dx.doi.org/10.1016/j.crte.2015.03.002

Table 1
Iron, As and DOC concentrations ($mg{\cdot}L^{-1}$) in the different investigated Fe systems at the end of the experiment.

	$[Fe]_{final}$	$[As]_{final}$	$[DOC]_{final}$	Vol. of NaOH added (mL)
Fe system (Exp. 1)	111.4 ± 0.6	/	/	7.05 ± 0.03
Fe–As system (Exp. 2)	93.2 ± 1.1	13.1 ± 0.2	/	7.28 ± 0.13
Fe–As–HA system (Exp. 3)	94.7 ± 0.3	12.9 ± 0.5	63 ± 2.9	8.59 ± 0.35

for the three systems, as well as the volume of NaOH added during Fe oxidation–hydrolysis experiments.

Syntheses were performed in triplicate for Exp. 3 with HA and replicated five times for Exp. 1 and two without HA. The O_2 concentration and E_h values were recorded during the running time of the synthesis experiment using an oxygen sensor electrode (Fisher Scientific Bioblock) and a combined Pt electrode (Fisher Scientific Bioblock), respectively.

The suspension was sampled at $t = 1000$ min for each experiment, filtered through a 0.2-μm pore size cellulose acetate filter capsule (Sartorius Minisart) to separate the particulate phase from the colloidal and dissolved phases, the filtrate being then ultrafiltrated to separate the colloidal and the dissolved fractions using decreasing pore size cuts. For this purpose, 15-mL centrifugal tubes (Sartorius Vivaspin 15R Hydrosart) equipped with permeable membranes of successively 30 kDa and 2 kDa were used. Each centrifugal filter device was washed and rinsed with HCl 0.1 N and ultra-pure water three times before use. Centrifugations were performed using a Jouan G4.12 centrifuge with swinging bucket at about $3000\,g$ for 20 min for 30-kDa devices and $3750\,g$ for 30 min for 2-kDa devices (Pédrot et al., 2010).

The dissolved organic carbon concentration was analysed on a Total Organic Carbon Analyser (Shimadzu TOC-5050A). The accuracy of the DOC measurement was estimated at ± 3% by using a standard solution of potassium hydrogen phthalate. The concentrations of Fe_{tot} and As_{tot} were determined using a furnace atomic absorption spectrometer (SOLAAR M6, THERMO). The concentration of As species – As(III) and As(V) – were obtained using the hydride generation–atomic absorption spectrometry (HG–AAS) for As(III) determination, via an atomic adsorption spectrometer (SOLAAR M6, THERMO) equipped with a vapour injection system (Vapor System VP100 THERMO) to generate hydrides (Nielsen and Hansen, 1997). Always negligible, blank test performed to determine possible contamination were below $0.4\ mg{\cdot}L^{-1}$, < ql of $5\ \mu g{\cdot}L^{-1}$ and < ql of $1\ \mu g{\cdot}L^{-1}$ for DOC, Fe and As, respectively.

A sample of each experimental suspension was dried out at the critical point (Balzers Instruments, CPD010), and observed by Scanning Electron Microscopy (SEM). The samples were observed after having been coated, as required, with Au–Pd nanoparticles by cathodic deposition with a JEOL JFC 1100 sputter. The equipment used was a JEOL JSM-6301F Field Emission Gun Scanning Electron Microscope operated at 5, 7 or 9 kV. These analyses were performed at the CMEBA Analytical Facility at the University of Rennes 1. In Exp. 1, the Fe precipitates were washed 5 times in ultra-pure water, frozen, and then lyophilized at 0.120 mbar (Alpha 1-4, Christ, S4 Osterode, Germany) to allow X-Ray Diffraction (XRD) characterization. XRD scans were performed with a Philips X'Pert diffractometer, using a Cu source operating at 45 kV and 40 mA, and a Kevex Si (Li) solid-state detector. All samples were run in step-scan mode (0.04°/30 s) with the angle 2Θ ranging from 8.5° to 90°.

In Exps. 2 and 3 with As, the suspensions were analysed by NanoSIMS probe. These NanoSIMS analyses were performed on a NanoSIMS 50 standard ion microprobe (Cameca) at the University of Rennes-1. A Cs^+ primary ion beam was used with 16 keV and focused to a spot of 100 nm in routine condition and scanned in a raster pattern on the surface sample. Secondary singly negatively charged secondary ions were sputtered away. They were extracted for mass analysis and collected in electron multipliers. Caesium images were recorded under a ~ 15-pA primary beam (256×256 pixels, 55×55 μm, acquisition time = 11 min). A mass resolving power of ~ 4000 ($M/\Delta M$), enabling the removal of potential mass interferences, was used for all analyses. The chemical maps were determined by image processing using ImageJ software (1.38x version) and the NRIMS ImageJ analysis module. Line scans were generated with the function "Plot Profile" after having reduced the background noise of the isotopic distributions by applying a mean filter treatment, with a radius of 2 pixels for each pixel. Pearson's coefficient (PC) was calculated to determine the dependency of pixels in dual-channel images. PC is a coefficient where 1 and –1 represent a perfect colocalization and perfect exclusion, respectively, and where 0 represents a random colocalization. The colocalization analyses were performed under JACoP, a novel plug-in of Image J developed by Bolte and Cordelières (2006). A detailed description of this statistical treatment method can be found in Al-Sid-Cheikh et al. (2015).

3. Results and discussion

3.1. Impact of humic acid and As occurrence on the size and nature of the secondary Fe(III) precipitates

To investigate the impact of oxidation on the fate of dissolved Fe^{2+} and As(III) in a reduced solution, experimental studies on the Fe^{2+} oxidation–hydrolysis kinetics were performed with and without As(III) and humic acid (Leonardite Humic Acid). Concentrations of Fe(II), Fe(III), As(III) and As(V), E_h as well as the rate of hydroxyl consumption ($V(t)$) by pH and OH molecules were monitored. The final stoichiometry of the Fe^{2+} oxidation–hydrolysis reaction – calculated as in Fakih et al. (2008) and Pédrot et al. (2011) – suggested that Fe micrometric particles were formed without HA and amorphous Fe phases with HA (Table 2).

Please cite this article in press as: Pédrot M, et al. Unravelling the fate of arsenic during re-oxidation of reduced wetland waters: Experimental constraints and environmental consequences. C. R. Geoscience (2015), http://dx.doi.org/10.1016/j.crte.2015.03.002

Table 2
Normalized rates of hydroxyl consumption ($V(t)$) and proportion (%) of Fe, As_{total} and DOC in the different cut-off fractions in the investigated Fe systems at the end of experiment. ql refers to the quantification limit (ql of 5 $\mu g \cdot L^{-1}$ for Fe, ql of 1 $\mu g \cdot L^{-1}$ for As and ql of 0.3 $mg \cdot L^{-1}$ for DOC).

		Proportion in fraction > 0.2 μm			Proportion in 0.2 μm > fraction > 30 kDa			Proportion in fraction 30 kDa > fraction > 2 kDa			Proportion in fraction < 2 kDa		
	$V(t)$	Fe	As_{total}	DOC	Fe	As_{total}	DOC	Fe	As_{total}	DOC	Fe	As_{total}	DOC
Fe system	2.02 ± 0.2	100%	< ql	< ql	< ql	< ql	< ql	< ql	< ql	< ql	< ql	< ql	< ql
Fe–As system	2.03 ± 0.2	100%	97.3 ±0.5%	< ql	< ql	< ql	< ql	< ql	< ql	< ql	< ql	$2.5 \pm 0.9\%$	< ql
Fe–As–HS system	2.53 ± 0.3	$6 \pm 0.5\%$	$1.1 \pm 0.9\%$	$4.6 \pm 1.1\%$	$94 \pm 2.5\%$	$95 \pm 1\%$	$85.8 \pm 3.1\%$	< ql	< ql	$9.6 \pm 1.9\%$	< ql	$4.1 \pm 0.6\%$	< ql

Please cite this article in press as: Pédrot M, et al. Unravelling the fate of arsenic during re-oxidation of reduced wetland waters: Experimental constraints and environmental consequences. C. R. Geoscience (2015), http://dx.doi.org/10.1016/j.crte.2015.03.002

The different proportions of Fe, As_{tot} and DOC are reported in the different cut-off fractions (fraction > 0.2 μm, m, 0.2 μm > fraction > 30 kDa, 30 kDa >fraction > 2 kDa fraction < 2 kDa) recovered by ultracentrifugation (Table 2). In pure Fe and in Fe–As experiments, the entire Fe pool was located in the fraction > 0.2 μm, which is consistent with the formation of Fe microparticles. Markedly different results were obtained for the Fe–As–HA system. In fact, most of the Fe (94%) occurred in the 0.2 μm > fraction > 30 kDa, with only a small part (6%) being found in the > 0.2 μm fraction.

Fig. 1 displays scanning electron microscope (SEM) pictures of the dried experimental suspensions. In the pure Fe system, a cover of thin sheet-like particles is observed (Fig. 1a). The characteristic size of the particles ranges from 400 to 800 nm. Because of the small thickness of the particles, needle-like structures can be locally observed, corresponding to the thin edges of particles. The particles are identified here by XRD as poorly crystalline lepidocrocite (β-FeOOH) (Fig. 2). Indeed, the XRD pattern displayed peaks at 1.18, 1.20, 1.26, 1.39, 1.53, 1.62, 1.73, 1.85, 1.93, 2.09, 2.37, 2.49, 3.30 and 6.90 Å, which are consistent with the *d*-spacings of lepidocrocite (Cornell and Schwertmann, 2003). Similar crystals have already been observed in natural environments or produced in the laboratory, when Fe^{2+} ions were oxidized under neutral or slightly acidic pH (Châtellier et al., 2001, 2004; Fakih et al., 2008; Fortin et al., 1993; Pédrot et al., 2011; Schwertmann and Taylor, 1979). When As is added, the shape of iron particles is less well-defined, fingerprinting the formation of a more amorphous, poorly crystallized ferric phase (Fig. 1b). The diversity and sequence of the short-range-ordered Fe(III)

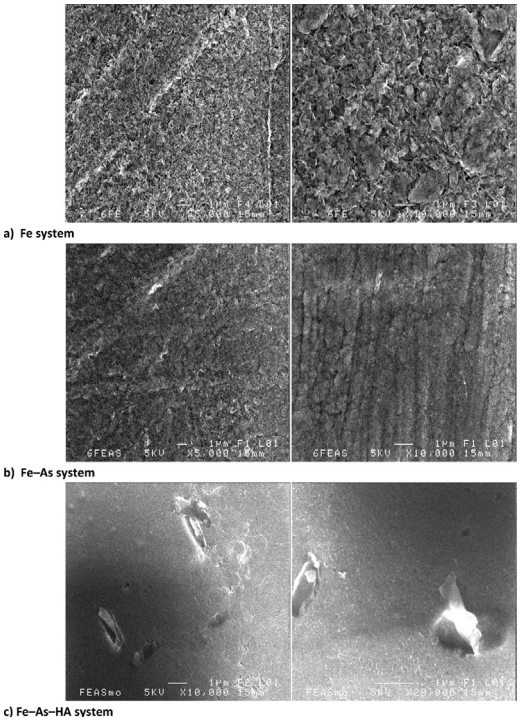


Fig. 1. Scanning electron microscopy pictures of the different Fe systems. a: Fe system; b: Fe–As system; c: Fe–As–HA system.

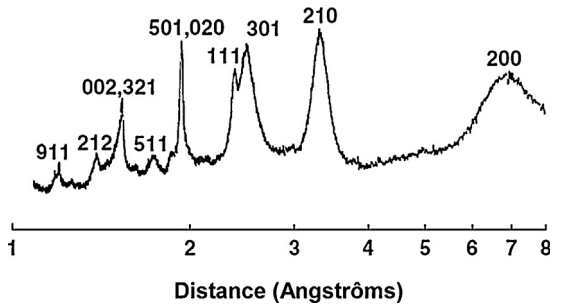


Fig. 2. XRD patterns of Fe system. The *hkl* identification of the peaks is given as in Cornell and Schwertmann (2003).

precipitates formed by Fe^{2+} oxidation at a near neutral pH depend on the water chemistry (Voegelin et al., 2010). Without interfering solutes, Fe(II) oxidation results in lepidocrocite formation. By contrast, the presence of oxyanions, such as silicates and phosphates favours the formation of short-range-ordered Fe(III) precipitates (Cornell and Schwertmann, 2003). In the present case, it is likely that the presence of As(III) and As(V) oxyanions also promoted disordered Fe(III) precipitates. Erbs et al. (2010) indeed showed that As coprecipitation in ferrihydrite leads to decreased crystallinity. Moreover, Voegelin et al. (2010) showed that, at a near neutral pH, when the molar As(V)/Fe ratio is < 0.5 as in this study (molar As(V)/Fe ratio ≈ 0.1), the high affinity of As(V) for Fe(III) precipitates leads to low dissolved As concentrations, which may prevent precipitate transformation into a more crystalline phase. Therefore, with As, the Fe(III) precipitates appeared to be not very crystallized and smaller than without As (Fig. 1b).

With As and HA, the SEM observations did not point out well-defined Fe particles (Fig. 1c). However, ultrafiltration experiments showed that Fe and a high proportion of DOC were in the 0.2 μm > fraction > 30 kDa range (Table 2). The sorption capacities of dissolved organic matter–Fe range between 0.1 to 30 mmol Fe/mol C (Tipping et al., 2002) or are even lower (Hiemstra and Van Riemsdijk, 2006). Here, the Fe/C ratio reached 352 mmol Fe/mol C at the end of experiment in the fraction > 30 kDa (Table 2), suggesting that Fe were not only adsorbed, but that a significant Fe fraction also precipitated as amorphous nanosize Fe phase within the HA matrix. Dissolved organic matter inhibited the formation of large Fe oxyhydroxide aggregates, but stabilized Fe as ionic complexes or as colloidal form as previously suggested by Ritter et al. (2006) and Bauer and Blodau (2009). Therefore, the occurrence of HA in the present oxidation experiments favoured the formation of mixed Fe–OM colloids as observed in previously published experimental works (Pédrot et al., 2011).

3.2. Experimental and NanoSIMS constraints on the fate and distribution of As

NanoSIMS was used as a chemical mapping tool to gain further knowledge about the fate of As in the present experiments. Ion distribution images of $^{12}C^{14}N$, $^{56}Fe^{16}O$ and ^{75}As data were superimposed using an image processing software to identify the possible colocalization of As, Fe and HA. The mapping procedure, using secondary

Please cite this article in press as: Pédrot M, et al. Unravelling the fate of arsenic during re-oxidation of reduced wetland waters: Experimental constraints and environmental consequences. C. R. Geoscience (2015), http://dx.doi.org/10.1016/j.crte.2015.03.002

ion images of $^{56}Fe^{16}O$ and ^{75}As, established the colocalization of As and Fe within the aggregated Fe oxyhydroxides formed in the Fe–As experiment (Fig. 3). Ultrafiltration data confirmed a nearly complete scavenging of the dissolved As by the neo-formed Fe oxyhydroxides microparticles, since the entire Fe pool located in the fraction $> 0.2\ \mu m$ contained also most of the As (97%) (Table 2). The chemical mapping showed a lack of hotspot or diffuse zone (halo) in As onto Fe oxyhydroxide particles, but rather a uniform diffusive distribution of As within Fe oxyhydroxide particles. The performing of line scans confirmed the concomitant increase/decrease of the intensities of ^{75}As and $^{56}Fe^{16}O$, providing evidence that the distribution of As was intimately linked with that of Fe (Fig. 3). These results suggested a homogeneous trapping of arsenic onto and within Fe particles implying 2D and 3D sorption processes. Thus, As sorption was performed by several processes, such as surface adsorption, coprecipitation and fixation (absorption), which involves the diffusion of an aqueous metal species into the solid phase.

With regards to the fate and distribution of As in the mixed Fe–As–HA system, ultrafiltration data showed that As, at 80% under As(V) form, was predominantly concentrated in the $0.2\ \mu m >$ fraction > 30 kDa, as was Fe and DOC. Only a small fraction of As was found in the < 2 kDa fractions (4.1%, Table 2). The Fe and DOC concentrations were not measurable in the fraction < 2 kDa (Table 2), suggesting that this small fraction of As occurred as true dissolved species. The high proportion of As observed in the $0.2\ \mu m >$ fraction > 30 kDa established that As was maintained in this fraction as a colloidal form. NanoSIMS analyses showed that ^{75}As occurred in a close spatial relationship with both $^{56}Fe^{16}O$ and $^{12}C^{14}N$ (Figs. 4 and 5). The line scans exhibited smaller $^{56}Fe^{16}O$ intensities as compared to the Fe–As system since the nanosize ferric phase is diffusely embedded within the HA matrix. In the experimental HA solutions obtained from standard HA, no Fe could be detected (ql of $5\ \mu g \cdot L^{-1}$ for the Fe signal) due to the low concentration of inherent Fe. Thus, all of the Fe evidenced by analysis and the NanoSIMS images do correspond to the Fe added during the Fe oxidation–hydrolysis experiment. Interestingly, we noticed that the spot zones showing the highest Fe intensities did not correspond to accumulation zones for As [regions of interest (so-called ROI) in Figs. 4 and 5]. Pearson's coefficients were calculated for the entire images and these ROI (Fig. 6), corresponding to spot zones. The lower colocalizations, between $^{56}Fe^{16}O^-/^{75}As$ were observed within these ROI. The same is true for the organic matter zones depleted in Fe, in which the As signal is low (line scans of Figs. 4 and 5). In fact, it seems that the As is concentrated only in diffuse zones, systematically displaying an association of organic matter and Fe. This may suggest preferential incorporation of As in the bulk of Fe–HA colloids during their formation rather than surface adsorption onto these colloids. Thus, the formation of mixed colloids, during the Fe(II) oxidation event in OM-rich waters, revealed a synergistic effect in trace metal mobility. Without HA, all As was trapped in the fraction $> 0.2\ \mu m$ and, by contrast with HA, organic sorption of As was low. However, when HA and Fe phases were associated, results showed that As was trapped in the bulk of Fe–HA colloids of size $< 0.2\ \mu m$ and, therefore, was more mobile.

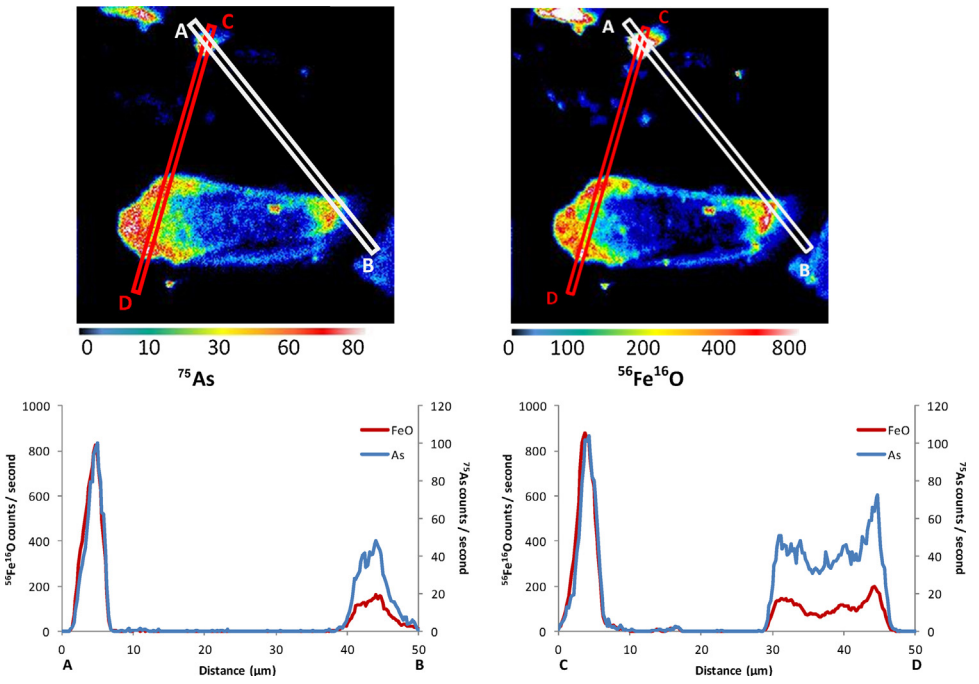


Fig. 3. (Colour online.) $^{56}Fe^{16}O$ and ^{75}As mapping in the Fe–As system. The colour scales of the isotopic distribution correspond to the counts per second measured by NanoSIMS. Line scans of $^{56}Fe^{16}O$ and ^{75}As abundance data were performed from two A–B and C–D transects as displayed by the white and red rectangles for the A–B and C–D transects, respectively.

Please cite this article in press as: Pédrot M, et al. Unravelling the fate of arsenic during re-oxidation of reduced wetland waters: Experimental constraints and environmental consequences. C. R. Geoscience (2015), http://dx.doi.org/10.1016/j.crte.2015.03.002

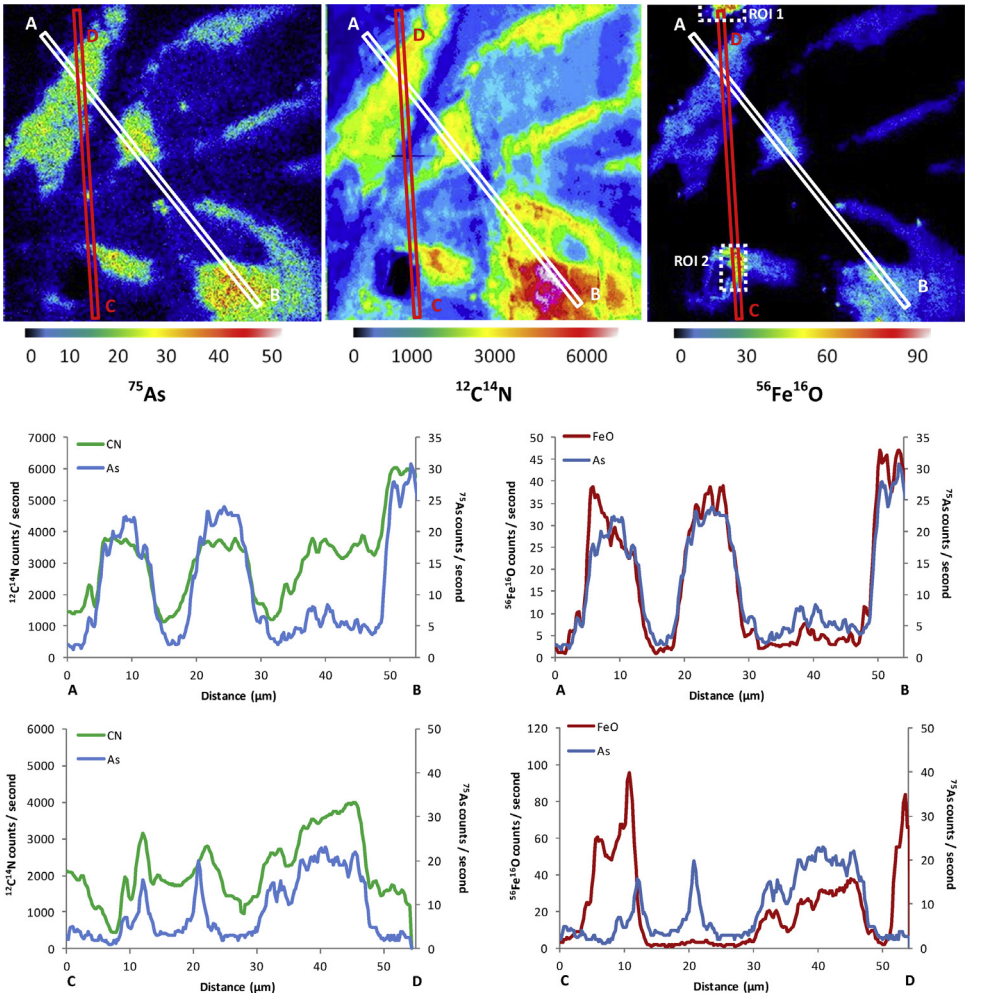


Fig. 4. (Colour online.) $^{12}C^{14}N$, $^{56}Fe^{16}O$ and ^{75}As mapping in the Fe–As–HA system. The colour scales of the isotopic distribution correspond to the counts per second measured by NanoSIMS. Line scans of $^{12}C^{14}N$, $^{56}Fe^{16}O$ and ^{75}As abundance data were performed from two A–B and C–D transects as displayed by the white or red rectangles for the A–B and C–D transects, respectively. Regions of interest (ROI 1 and 2) are displayed by the white dotted rectangles within $^{56}Fe^{16}O$ mapping.

The coprecipitation process could allow explaining this arsenic distribution during the formation of mixed colloids. Indeed, by limiting the development and the crystallization of iron nanoparticles, HA conserves the ferric phase in an amorphous form, allowing this ferric phase to trap a high concentration of trace elements via coprecipitation during the oxidation–hydrolysis of Fe(II). Pokrovsky et al. (2005) suggested such process to occur in peat soil solution, implying an incorporation of trace elements in the bulk of Fe–Al–organic humus colloids via coprecipitation formed on redox fronts rather than through surface adsorption. A study of Sharma et al. (2010) suggested that As(V) is associated with combined Fe–OM phases, mainly via ferrihydrite-OM colloids, but also to a small extent in dissolved Fe–OM complexes via Fe-bridging. The transformation of the amorphous nano-size Fe phase to more crystalline phases potentially leads to a loss of sorption sites (Cornell and Schwertmann, 2003). This process can explain why the data do not show any arsenic association in zones characterized by high $^{56}Fe^{16}O$ intensities with low $^{12}C^{14}N$ intensities, which corresponds probably to an aging of amorphous nanosize Fe phase conducting to a more crystallized phase. Another possible hypothesis with regards to the inability of this latter to bind arsenic by surface sorption may originate in the fact that arsenic was previously trapped within mixed Fe–HA colloids. Thus, the arsenic incorporated into mixed colloids could not be considered to be readily exchangeable. Such a hypothesis should be however supplemented by further experiments in order to confirm that the formation of mixed Fe–HA colloids induces a synergistic effect with regards to the sorption capacity of dissolved trace elements.

Thus, both through the fractionation of Fe, As and DOC concentrations during ultrafiltration step and the NanoSIMS data, the results assessed (i) that the occurrence of HA and dissolved As during the Fe^{2+} oxidation–hydrolysis reaction promoted the formation of mixed As-doped Fe–OM colloids, and (ii) that As was especially incorporated in the bulk of Fe–HA colloids.

Please cite this article in press as: Pédrot M, et al. Unravelling the fate of arsenic during re-oxidation of reduced wetland waters: Experimental constraints and environmental consequences. C. R. Geoscience (2015), http://dx.doi.org/10.1016/j.crte.2015.03.002

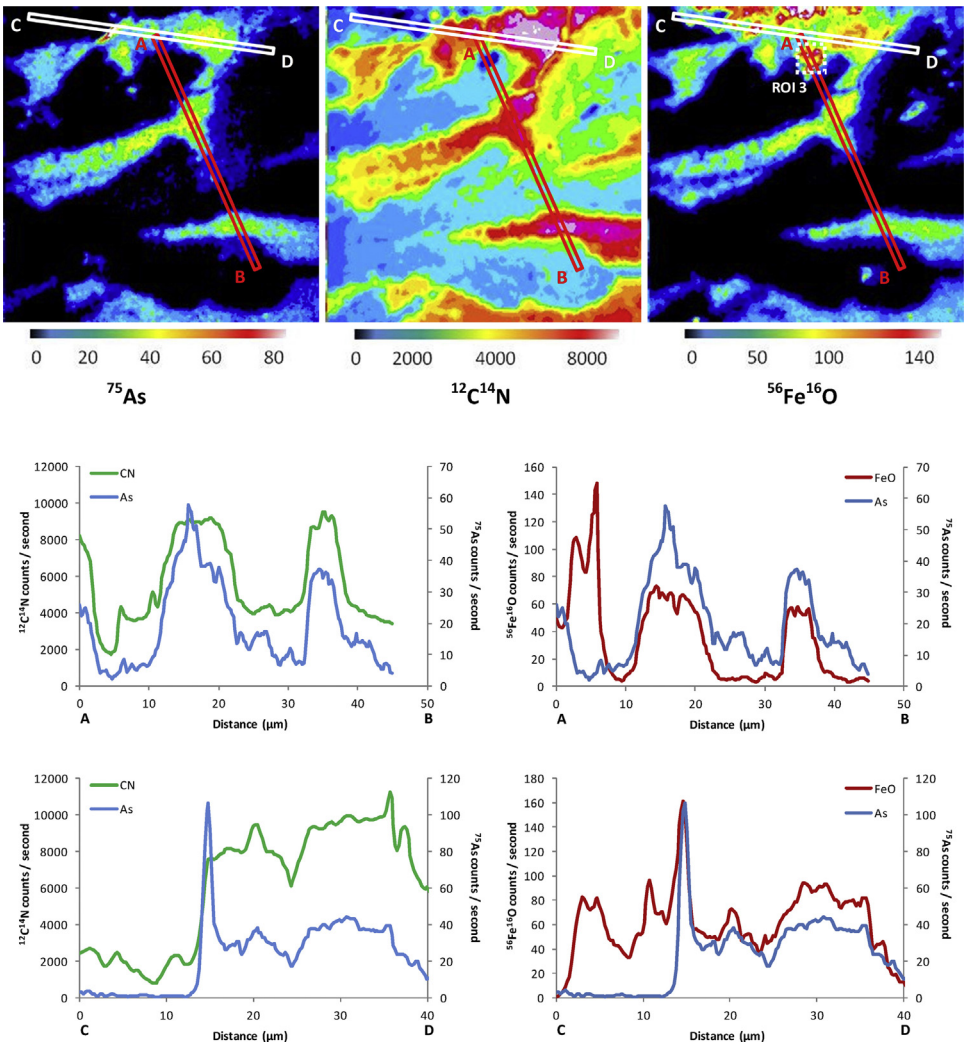


Fig. 5. (Colour online.) $^{12}C^{14}N$, $^{56}Fe^{16}O$ and ^{75}As mapping in the Fe–As–HA system. The colour scales of the isotopic distribution correspond to the counts per second measured by NanoSIMS. Line scans of $^{12}C^{14}N$, $^{56}Fe^{16}O$ and ^{75}As abundance data were performed from two A–B and C–D transects as displayed by the red or white rectangles for the A–B and C–D transects, respectively. The region of interest (ROI 3) is displayed by the white dotted rectangle within the $^{56}Fe^{16}O$ mapping.

3.3. Environmental implications

Numerous studies have provided evidence that As solubilization in wetlands or aquifers is produced by the reduction of hosting mineral carrier phases, such as Fe oxyhydroxides (Smedley and Kinniburgh, 2002 and references therein). However, we should consider that re-oxidation could, in turn, strongly affect the behaviour of the released As, notably in such organic Fe(II)-rich waters where the presence of organic matter could lead to the formation of fine-scaled, highly mobile As-bearing colloids. Re-oxidation processes are expected to occur rather systematically at the interface between wetland and rivers. The question is then raised to know whether these zones could be zones of As immobilization due to the neo-formation of iron oxides or instead zones favouring the contamination of rivers by wetland-derived As. Considering the above experimental conditions, we demonstrated that Fe^{2+} oxidation–hydrolysis in organic matter-poor waters produces large Fe(III) oxyhydroxide crystals that are able to strongly bind dissolved As (for a molar As/Fe ratio ≈ 0.1). Thus, this study shows the major importance of freshly precipitated iron hydroxides for arsenic uptake, as observed in natural environments (Fritzsche et al., 2006). Moreover, SEM observations showed that the occurrence of As during Fe^{2+} oxidation–hydrolysis promoted the formation of smaller and less crystallized and potentially more reactive Fe(III) oxyhydroxides (due to the increasing surface area). Arsenic transfer has therefore to be strongly controlled by the Fe(III) oxyhydroxide dissolution/precipitation processes. These two processes could in theory immobilize the released As in wetlands. However, the situation could be much different in real wetland-river systems, due to the presence of high dissolved organic matter concentrations in wetland waters. In the presence of HA, the present results indeed showed that the oxidation–hydrolysis of Fe^{2+} allowed the trapping of a high amount of As within much smaller, mixed Fe–HA

Please cite this article in press as: Pédrot M, et al. Unravelling the fate of arsenic during re-oxidation of reduced wetland waters: Experimental constraints and environmental consequences. C. R. Geoscience (2015), http://dx.doi.org/10.1016/j.crte.2015.03.002

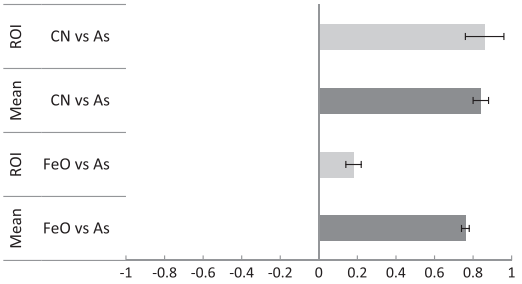


Fig. 6. Colocalization of elements as evidenced through nanoSIMS mapping (Pearson's coefficient) within the whole image (mean) and within the Fe-rich regions of interest (ROI 1, 2 and 3) with low CN signal (ROI).

colloids (< 0.2 μm). This incorporation of As in the bulk of Fe–HA colloids rather than surface adsorption onto these colloids controls the transport of As. In order to remove As, the destructuration or solubilisation of the complex colloids in which they are incorporated may be required. Arsenic mobility was therefore controlled by the transfer process and stability of the mixed Fe–HA colloids. Thus, colloidal As–Fe–organic matter complexes formation in wetland soils could have a high environmental relevance concerning water quality with regards to the transfer of As from wetland soil horizons to rivers. The question of the stability and mobility of these ternary associations still needs to be addressed through further experimental contributions.

The transport of colloids through porous media strongly depends on the kinetics of the colloid deposition and release (Kretzschmar and Sticher, 1998). Advection is the main process that affects the transport of small particles (< 1 μm) in porous media. When the colloids are of small size, they are less filtered by the porous media. By contrast, when the particles display sizes larger than 1 μm, these particles can be intercepted or deposited. Thus, in media where porosity acts as an efficient filter, colloids cannot enter the whole structure and therefore are able to move faster than ion (phenomenon of size-exclusion chromatography, where particles are excluded from the smaller pore spaces and more tortuous flow paths; Ryan and Elimelech, 1996). As a consequence of their nanometric size, the mixed Fe–organic matter colloidal As carriers formed during the re-oxidation of wetland waters could favour the transport of As over long distances, thus contributing to the environmental dissemination of this toxic element. Indeed, several studies showed that the presence of interactions between DOM and nanoparticles reduced the deposition of nanoparticles and increased their transfer by a complex combination of interactions involved in their stabilization (Chowdhury et al., 2012; Johnson et al., 2009). This association has also a particular importance since these mixed Fe–OM colloids have been shown to represent the most bioavailable Fe source for Fe-reducing bacteria in anoxic area (Davranche et al., 2011; Pédrot et al., 2011). Quite clearly, the behaviour of these amorphous nanosize Fe phases, which strongly bind both As(III) and As(V) (Borch et al., 2010 and references therein), as well as other trace elements (Dahlqvist et al., 2007; Lippold et al., 2007; Pédrot et al., 2009; Pokrovsky et al., 2006, 2012; Vasyukova et al., 2012) must be taken more seriously into account than it is currently done, particularly as regards their impact on the streams and rivers that are hydrologically connected with wetlands. Thus, one of the key questions becomes: which conditions in the river systems will possibly breakup the As–Fe–organic matter associations, leading to re-solubilisation of the carried As? With regards to this question, chemical mapping at the nanoscale represents therefore an essential step towards a better characterization of the carrier phases with which the As released in wetlands could bind. The nature of these carriers could control its fate into the adjacent river systems with which the wetland waters could be connected. The present study and related dataset highlight the power of the NanoSIMS instruments to map associations of Fe, As and organic matter within newly formed, complex colloidal phases. As a consequence, such analysis could be performed in solid samples located in highly contaminated areas, such as, for example, acid mine drainages and/or areas submitted to redox oscillations as hyporheic zones. Such analyses should be however supplemented by smaller-scale investigation techniques, such as the STXM and/or EXAFS/XAS techniques, for a direct characterization of the molecular environment of As in these mixed components, including trace metals, oxyanions, mineral phases and organic matter.

4. Conclusions

The experiments carried out here allowed us to discuss the As fate in reduced wetland waters, once these waters become re-oxidized at their contact with river waters. Both the fractionation of Fe and As concentrations during the ultrafiltration step of the experimental solutions and the NanoSIMS analyses of the solid phases evidenced that most of the As occurring in the wetland-like experimental solutions was trapped within nanoscale Fe–HA mixed colloids (< 0.2 μm). The results evidenced that this behaviour was a direct consequence of the occurrence of large amounts of dissolved organic matter – which is a general characteristic of wetland waters – the experiments without HA showing that in organic matter-free conditions, As was bound to much larger, micro-scale Fe crystals (> 0.2 μm).

Thus, in wetland areas undergoing important redox alternations and associated dynamic biogeochemical processes, the fate of dissolved As is strongly constrained by the Fe oxidation event. Notably, the resulting formed mixed Fe–OM colloids, where complex colloids bind possibly a large amounts of trace elements, can strongly impact the possible transport of trace elements towards ecosystems with which wetlands are hydrologically connected, such as in river systems. Complex colloids could be indeed a potential vector of As due to (i) their nanoscale size, (ii) their strong capacity to trap high amount of As, and (iii) the occurrence of organic molecules coating their surface modifying their chemical fate. These findings highlight the power of NanoSIMS to precisely map the chemical distribution of metallic and metalloid contaminant, such as at the colloidal scale within precipitates occurring in such complex mixed-phase

Please cite this article in press as: Pédrot M, et al. Unravelling the fate of arsenic during re-oxidation of reduced wetland waters: Experimental constraints and environmental consequences. C. R. Geoscience (2015), http://dx.doi.org/10.1016/j.crte.2015.03.002

environments. The use of nanoSIMS on natural samples would determine the presence of metallic and metalloid contaminant and their carrier phases as well, whereas preserving the natural associations of mixed organic-mineral phases.

Acknowledgement

This work was supported by the ANR Program "ARSENORG". We thank Joseph Le Lannic for performing SEM analysis at the CMEBA Analytical Facility at the University of Rennes-1 and Thomas Delhaye for performing NanoSIMS analysis in the "Microscopy–Rennes Imaging Center" (MRic) at the University of Rennes-1.

References

Allard, T., Menguy, N., Salomon, J., Calligaro, T., Weber, T., Calas, G., Benedetti, M.F., 2004. Revealing forms of iron in river-borne material from major tropical rivers of the Amazon Basin (Brazil). Geochim. Cosmochim. Acta 68, 3079–3094.

Al-Sid-Cheikh, M., Pédrot, M., Dia, A., Guenet, H., Vantelon, D., Davranche, M., Gruau, G., Delhaye, T., 2015. Interactions between natural organic matter, sulfur, arsenic and iron oxides in re-oxidation compounds within riparian wetlands: NanoSIMS and X-ray adsorption spectroscopy evidences. Sci. Total Environ. 515–516, 118–128.

Anawar, H.M., Akai, J., Komaki, K., Terao, H., Yoshioka, T., Ishizuka, T., Safiullah, S., Kato, K., 2003. Geochemical occurrence of arsenic in groundwater of Bangladesh: sources and mobilization processes. J. Geochem. Exploration 77, 109–131.

Baeyens, W., Brauwere, A., Brion, d., Gieter, N., Leermakers, M.D.M., 2007. Arsenic speciation in the River Zenne, Belgium. Sci. Total Environ. 384, 409–419.

Bauer, M., Blodau, C., 2009. Arsenic distribution in the dissolved, colloidal and particulate size fraction of experimental solutions rich in dissolved organic matter and ferric iron. Geochim. Cosmochim. Acta 73, 529–542.

Bolte, S., Cordelières, F.P., 2006. A guided tour into subcellular colocalization analysis in light microscopy. J. Microscopy 224, 213–232.

Borch, T., Kretzschmar, R., Kappler, A., Van Cappellen, P., Ginder-Vogel, M., Voegelin, A., Campbell, K., 2010. Biogeochemical redox processes and their impact on contaminant dynamics. Environ. Sci. Technol. 44, 15–23.

Buschmann, J., Kappeler, A., Lindauer, U., Kistler, D., Berg, M., Sigg, L., 2006. Arsenite and arsenate binding to dissolved humic acids: influence of pH, type of humic acid, and aluminum. Environ. Sci. Technol. 40, 6015–6020.

Châtellier, X., Fortin, D., West, M.M., Leppard, G.G., Ferris, F.G., 2001. Effect of the presence of bacterial surfaces during the synthesis of Fe oxides by oxidation of ferrous ions. Eur. J. Mineral. 13, 705–714.

Châtellier, X., West, M.M., Rose, J., Fortin, D., Leppard, G.G., Ferris, F.G., 2004. Characterization of iron-oxides formed by oxidation of ferrous ions in the presence of various bacterial species and inorganic ligands. Geomicrobiol. J. 21, 99–112.

Chowdhury, I., Cwiertny, D.M., Walker, S.L., 2012. Combined factors influencing the aggregation and deposition of nano-TiO_2 in the presence of humic acid and bacteria. Environ. Sci. Technol. 46, 6968–6976.

Cornell, R.M., Schwertmann, U., 2003. The iron oxides: structures, properties, reactions, occurrence and uses. VCH, Weiheim.

Dahlqvist, R., Andersson, K., Ingri, J., Larsson, T., Stolpe, B., Turner, D., 2007. Temporal variations of colloidal carrier phases and associated trace elements in a boreal river. Geochim. Cosmochim. Acta 71, 5339–5354.

Davranche, M., Grybos, M., Gruau, G., Pédrot, M., Dia, A., Marsac, R., 2011. Rare earth element patterns: a tool for identifying trace metal sources during wetland soil reduction. Chem. Geol. 284, 127–137.

Erbs, J.J., Berquo, T.S., Reinsch, B.C., Lowry, G.V., Banerjee, S.K., Penn, R.L., 2010. Reductive dissolution of arsenic-bearing ferrihydrite. Geochim. Cosmochim. Acta 74, 3382–3395.

Fakih, M., Châtellier, X., Davranche, M., Dia, L.A., 2008. *Bacillus subtilis* bacteria hinder the oxidation and hydrolysis of Fe^{2+} ions. Environ. Sci. Technol. 42, 3194–3200.

Fendorf, S., Michael, H.A., van Geen, A., 2010. Spatial and temporal variations of groundwater arsenic in South and Southeast Asia. Science 328, 1123–1127.

Fortin, D., Leppard, G.G., Tessier, A., 1993. Characteristics of lacustrine diagenetic iron oxyhydroxides. Geochim. Cosmochim. Acta 57, 4391–4404.

Fritzsche, A., Dienemann, H., Dudel, E., 2006. Arsenic fixation on iron-hydroxide-rich and plant litter-containing sediments in natural environments. Environ. Geol. 51, 133–142.

Gaffney, J.W., White, K.N., Boult, S., 2008. Oxidation state and size of Fe controlled by organic matter in natural waters. Environ. Sci. Technol. 42, 3575–3581.

Gorny, J., Billon, G., Lesven, L., Dumoulin, D., Madé, B., Noiriel, C., 2015. Arsenic behavior in river sediments under redox gradient: a review. Sci. Total Environ. 505, 423–434.

Herrmann, A.M., Ritz, K., Nunan, N., Clode, P.L., Pett-Ridge, J., Kilburn, M.R., Murphy, D.V., O'Donnell, A.G., Stockdale, E.A., 2007. Nano-scale secondary ion mass spectrometry – a new analytical tool in biogeochemistry and soil ecology: a review article. Soil Biol. Biochem. 39, 1835–1850.

Hiemstra, T., Van Riemsdijk, W.H., 2006. On the relationship between charge distribution, surface hydration, and the structure of the interface of metal hydroxides. J. Colloid Interf. Sci 301, 1–18.

Johnson, R.L., Johnson, G.O.B., Nurmi, J.T., Tratnyek, P.G., 2009. Natural organic matter enhanced mobility of nano zerovalent iron. Environ. Sci. Technol. 43, 5455–5460.

Kalbitz, K., Wennrich, R., 1998. Mobilization of heavy metals and arsenic in polluted wetland soils and its dependence on dissolved organic matter. Sci. Total Environ. 209, 27–39.

Kocar, B.D., Polizzotto, M.L., Benner, S.G., Ying, S.C., Ung, M., Ouch, K., Samreth, S., Suy, B., Phan, K., Sampson, M., Fendorf, S., 2008. Integrated biogeochemical and hydrologic processes driving arsenic release from shallow sediments to groundwaters of the Mekong delta. Appl. Geochem. 23, 3059–3071.

Kretzschmar, R., Sticher, H., 1998. Colloid transport in natural porous media: influence of surface chemistry and flow velocity. Phys. Chem. Earth 23, 133–139.

Lippold, H., Evans, N.D.M., Warwick, P., Kupsch, H., 2007. Competitive effect of iron(III) on metal complexation by humic substances: characterisation of ageing processes. Chemosphere 67, 1050–1056.

Liu, G.L., Cai, Y., 2010. Complexation of arsenite with dissolved organic matter Conditional distribution coefficients and apparent stability constants. Chemosphere 81, 890–896.

Liu, G.L., Fernandez, A., Cai, Y., 2011. Complexation of arsenite with humic acid in the presence of ferric iron. Environ. Sci. Technol. 45, 3210–3216.

Mikutta, C., Kretzschmar, R., 2011. Spectroscopic evidence for ternary complex formation between arsenate and ferric iron complexes of humic substances. Environ. Sci. Technol. 45, 9550–9557.

Moore, K.L., Zhao, F.-J., Gritsch, C.S., Tosi, P., Hawkesford, M.J., McGrath, S.P., Shewry, P.R., Grovenor, C.R.M., 2012. Localisation of iron in wheat grain using high resolution secondary ion mass spectrometry. J. Cereal Sci. 55, 183–187.

Nielsen, S., Hansen, E.H., 1997. Determination of As(III) and As(V) by flow injection-hydride generation-atomic absorption spectrometry via on-line reduction of As(V) by KI. Analyt. Chim. Acta 343, 5–17.

Pédrot, M., Dia, A., Davranche, M., Bouhnik-Le Coz, M., Hénin, O., Gruau, G., 2008. Insights into colloid-mediated trace element release at the soil/water interface. J. Colloid Interf. Sci. 325, 187–197.

Pédrot, M., Dia, A., Davranche, M., 2009. Double pH control on humic substance-borne trace elements distribution in soil waters as inferred from ultrafiltration. J. Colloid Interf. Sci. 339, 390–403.

Pédrot, M., Dia, A., Davranche, M., 2010. Dynamic structure of humic substances: rare earth elements as a fingerprint. J. Colloid Interf. Sci. 345, 206–213.

Pédrot, M., Le Boudec, A., Davranche, M., Dia, A., Henin, O., 2011. How does organic matter constrain the nature, size and availability of Fe nanoparticles for biological reduction? J. Colloid Interf. Sci. 359, 75–85.

Pokrovsky, O.S., Dupré, B., Schott, J., 2005. Fe-Al-organic colloids control of trace elements in peat soil solutions: results of ultrafiltration and dialysis. Aquat. Geochem. 11, 241–278.

Pokrovsky, O.S., Schott, J., Dupré, B., 2006. Trace element fractionation and transport in boreal rivers and soil porewaters of permafrost-dominated basaltic terrain in central Siberia. Geochim. Cosmochim. Acta 70, 3239–3260.

Pokrovsky, O.S., Viers, J., Dupré, B., Chabaux, F., Gaillardet, J., Audry, S., Prokhshkin, A.S., 2012. Biochemistry of carbon, major and trace elements in watersheds of northern Eurasia drained to the Arctic Ocean. The changes of fluxes, sources and mechanisms under the climate warming prospective. C.R. Geoscience 344, 663–677.

Polizzotto, M.L., Harvey, C.F., Sutton, S.R., Fendorf, S., 2005. Processes conducive to the release and transport of arsenic into aquifers of Bangladesh. Proc. Natl Acad. Sci. U S A 102, 18819–18823.

Please cite this article in press as: Pédrot M, et al. Unravelling the fate of arsenic during re-oxidation of reduced wetland waters: Experimental constraints and environmental consequences. C. R. Geoscience (2015), http://dx.doi.org/10.1016/j.crte.2015.03.002

Redman, A.D., Macalady, D.L., Ahmann, D., 2002. Natural organic matter affects arsenic speciation and sorption onto hematite. Environ. Sci. Technol. 36, 2889–2896.

Ritter, K., Aiken, G., Ranville, R., Bauer, J.F., Macalady, M.D.L., 2006. Evidence for the aquatic binding of arsenate by natural organic matter-suspended Fe(III). Environ. Sci. Technol. 40, 5380–5387.

Rose, J., Vilge, A., Olivié-Lauquet, G., Masion, A., Frechou, C., Bottero, J.-Y., 1998. Iron speciation in natural organic matter colloids. Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects 136, 11–19.

Ryan, J.N., Elimelech, M., 1996. Colloid mobilization and transport in groundwater. Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects 107, 1–56.

Schwertmann, U., Taylor, R.M., 1979. Natural and synthetic poorly crystallized lepidocrocite. Clay Miner. 14, 285–293.

Sharma, P., Ofner, J., Kappler, A., 2010. Formation of binary and ternary colloids and dissolved complexes of organic matter, Fe and As. Sci. Total Environ. 44, 4479–4485.

Smedley, P.L., Kinniburgh, D.G., 2002. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. Appl. Geochem. 17, 517–568.

Tipping, E., Rey-Castro, C., Bryan, S.E., Hamilton-Taylor, J., 2002. Al(III) and Fe(III) binding by humic substances in freshwaters, and implications for trace metal speciation. Geochim. Cosmochim. Acta 66, 3211–3224.

Vasyukova, E., Pokrovsky, O.S., Viers, J., Dupré, B., 2012. New operational method of testing colloid complexation with metals in natural waters. Appl. Geochem. 27, 1226–1237.

Voegelin, A., Kaegi, R., Frommer, J., Vantelon, D., Hug, S.J., 2010. Effect of phosphate, silicate, and Ca on Fe(III)-precipitates formed in aerated Fe(II)- and As(III)-containing water studied by X-ray absorption spectroscopy. Geochim. Cosmochim. Acta 74, 164–186.

Warren, L.A., Haack, E.A., 2001. Biogeochemical controls on metal behaviour in freshwater environments. Earth Sci. Rev. 54, 261–320.

Please cite this article in press as: Pédrot M, et al. Unravelling the fate of arsenic during re-oxidation of reduced wetland waters: Experimental constraints and environmental consequences. C. R. Geoscience (2015), http://dx.doi.org/10.1016/j.crte.2015.03.002

Annexe III

NanoSIMS investigation of arsenic (oxy)anions, sulfur, ferric oxide and organic matter colocalization within wetland soil

M. AL-SID-CHEIKH[1]*, M. PÉDROT[1], A. DIA[1], M. DAVRANCHE[1], G. GRUAU[1] AND T. DELHAYE[2]

[1]Géosciences Rennes - Université Rennes 1 - CNRS UMR 6118 - Av. General Leclerc, 35042 Rennes, Cedex.France. (*corresponding author: maya.al-sid-cheikh@univ-rennes1.fr)

[2]NanoSIMS plateform, OSUR/UMR 3343, Université Rennes 1, Av. General Leclerc, 35042 Rennes, Cedex. France

Arsenic (As) is a toxic and ubiquitous element found in the atmosphere, soils, rocks, natural waters and organisms, which can be responsible for severe health problems. The As behaviour in soil is controlled by both pH and redox potential of the medium, as well as the metals and the organic matter concentration. However, which kind of interaction binds both As (oxy)anions species and organic matter needs to be further defined. Recently, Nanoscale Secondary Ions Mass Spectrometry (NanoSIMS) analysis allows to map several elements and organomineral assemblages and their isotopic composition as well, whereas preserving the intact spatial structures. Here, with a PTFE plate scavenger, we developed a method to collect freshly precipitated ferric oxides (FeO), while preserving their interactions in a natural wetland environment without any soil matrix disturbance. Average concentration factors for the metallic elements are approximately 99. Our method allows the nanoSIMS imaging on natural colloids-sourced mixed precipitates of ^{75}As, $^{56}Fe^{16}O$, and organic matter ($^{12}C^{14}N$). The colocalizations of the elements show higher correlations between $^{56}Fe^{16}O$, ^{75}As and sulphur (^{32}S). A multidimensional correlation by principal component analysis (PCA) supports these evidenced colocalizations. Whereas ^{32}S, $^{56}Fe^{16}O$ are the first components that drive ^{75}As distribution, $^{12}C^{14}N$ can also be colocalized with ^{32}S and $^{56}Fe^{16}O$ (between 12 to 74%). The colocalization between ^{32}S and ^{75}As could be further investigated to elucidate whether ^{75}As could be associated directly or indirectly with ^{32}S. In that way, ^{75}As might be sequestered through the formation of bonds between ^{75}As and organic sulphur group or cationic iron bridge.

Annexe - V. Supporting information – Article 2

Impact of surface composition of Fe_3O_4-nanoparticles on the natural organic matter and traces metals mobility within wetland soil: A case of leaching experiment from a wetland soil

AL-SID-CHEIKH M.[1,*†], Mathieu Pédrot[1], Aline Dia[1], Rose J[2], Davranche M[1], Jeanneau L[1], Pierson-Wickmann A-C[1] , Petitjean P.[1], Martine Bouhinik-LeCoz[1] and Grasset F[3].

Contents

Table SI 1 Key properties of soil grain size mixtures A (soil fraction of 250-1000 µm), B (70% (wt.) of the 250-1000 µm and 30% of the <250 µm diameter fraction), and C (containing equal weights of the two fractions). 234
Table SI 2 Initial composition of the leaching solution for three exposures and the triplacats. 234

Analysis 1 SUVA and Aromaticity treatment *..... 237*
Analysis 2 EEMf data treatment *..... 237*
Analysis 3 Procedure and data treatment for Py-GCMS analysis *..... 238*

Table SI 1 Key properties of soil grain size mixtures A (soil fraction of 250-1000 µm), B (70% (wt.) of the 250-1000 µm and 30% of the <250 µm diameter fraction), and C (containing equal weights of the two fractions).

Soil fraction	Air dry moisture (%)	SOM (%)	CEC (meq/100 g)	pH	Nitrogen (g/kg)	C/N	Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)
A	3.2	8.5	20.4	5.3	4.5	11	9.9	69.2	20.9

1. The upper soil in the Pleine-Fougère wetland is considered as an organic acid soil dominated by silt with total silt corresponding to 69.2%.
2. The organic matter concentration equals 8.5%. The soil pH was 5.9.
3. This soil contains more humic acids than fulvic acids, characterized by a humic acid versus fulvic acid ratio of 1.85.

Table SI 2 Initial composition of the leaching solution for three exposures and the triplacates.

	Leaching solution				Column parameters				
# ID	C_{org} (mg L^{-1})	Fe (mg L^{-1})	pH	T (°C)	d (g cm^{-1})	Flow rate (mL min^{-1})	PV (mL)	m_{soil} (g)	H (cm)
Blank a	0.06		6.54	25	0.58	5.21 ± 0.3	300	275.0	37.5
Blank b	0.03		6.49	25	0.61	5.25 ± 0.4	294	292.6	38
Blank c	0.02		6.47	25	0.59	5.09 ±0.2	284	276.9	37.5
Naked a	0.21		6.52	25	0.6	5.17 ± 0.5	295	285.9	38
Naked b	0.18		6.48	25	0.59	5.42 ± 0.3	294	281.3	38
Naked c	0.23		6.55	25	0.61	5.07 ± 0.3	324	290.4	38
Coated a	305.7	41.3	6.51	25		5.4 ± 0.2	308		
Coated b		38.9	6.50	25	0.56	5.8 ± 0.5	300	268	38
Coated c		40.6	6.46	25	0.54	5.2 ± 0.3	320	258	38

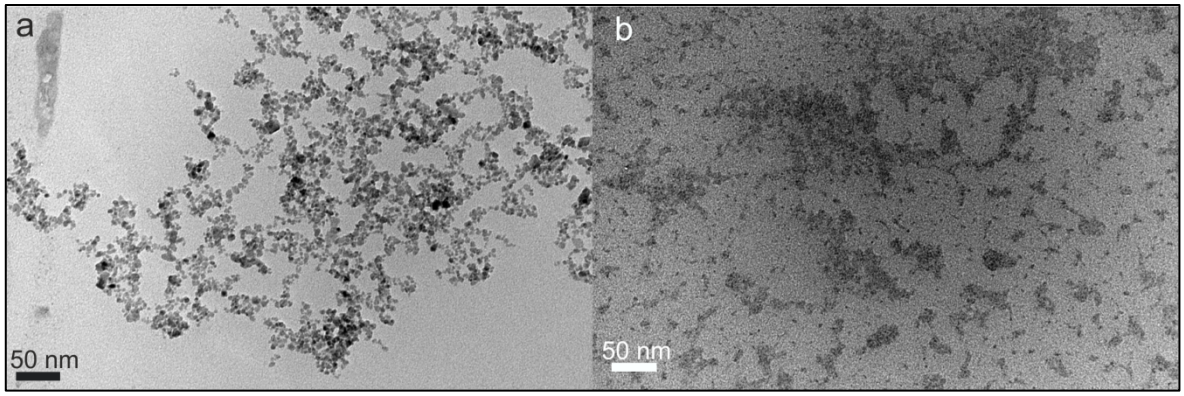


Fig SI 1. TEM images of nano-Fe_3O_4 naked and nano-Fe_3O_4@DMSA

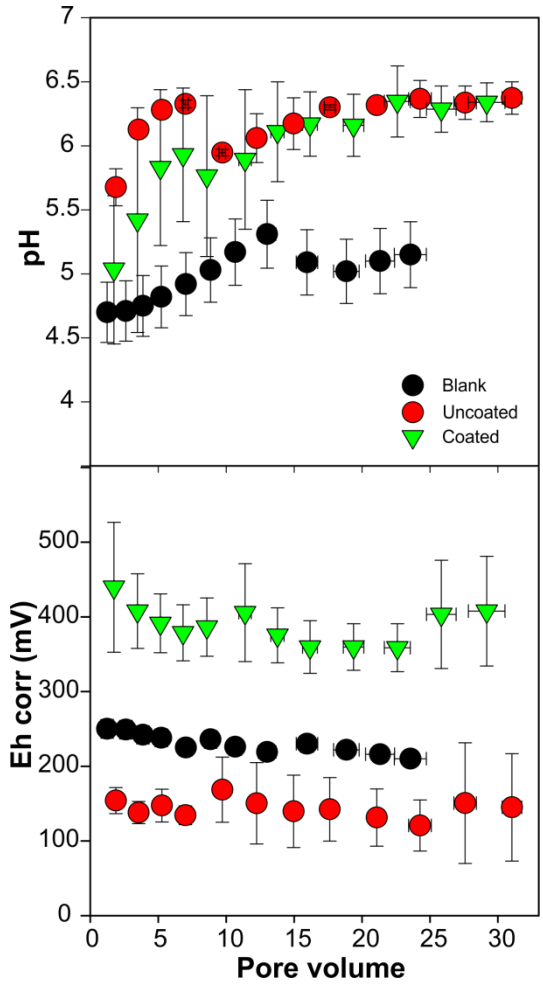


Fig SI 2 Flow rate, pH and redox potential for all experiments.

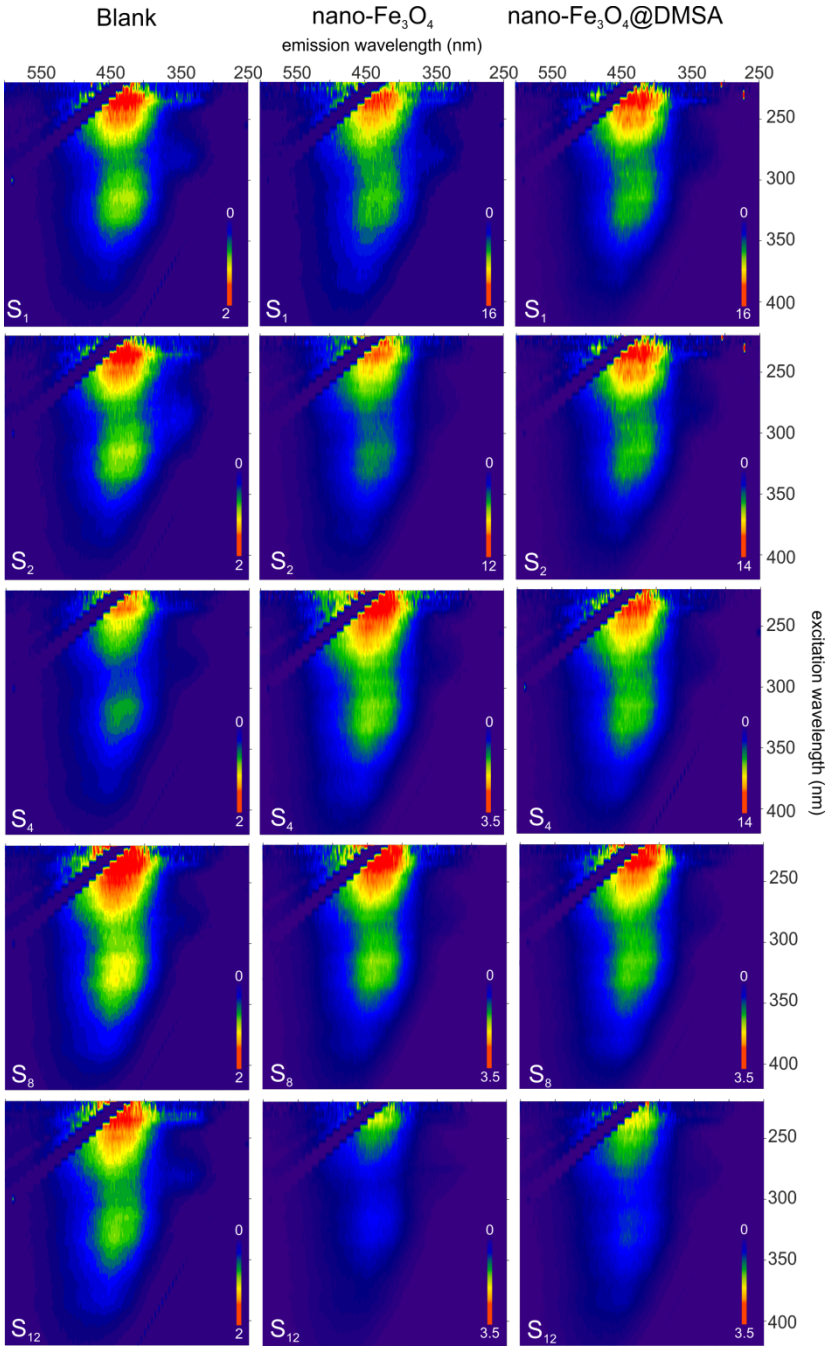


Fig SI 3. EEMf results for 0.22µm cut-off fraction for each exposure and five PV. To make the graphs readable, the topographic and contour EEM plots are presented with excitation and emission wavelength increments of 10 nm and 5 nm, respectively. Although the resolution in the plots is lower, the positions and intensities quoted in the text correspond to the original line spectra.

Analysis 1 SUVA and Aromaticity treatment

A normalized parameter of specific ultraviolet absorbance (SUVA), which is calculated as the ratio between the UVA at a given wavelength and the organic carbon content, has been applied in water chemistry [82, 83].

Thus, absorbance at 254 nm was measured to obtained SUVA (specific ultra-violet absorbance, eq. 1) values in according to:

$$SUVA = \frac{A_{254nm}}{[C_{org}]}$$

The values of SUVA determined at 254 nm can be used to describe the composition of water in terms of hydrophobicity and hydrophilicity, and $SUVA_{254}$ > 4 L mg^{-1} m^{-1} indicates mainly hydrophobic and especially aromatic material, while $SUVA_{254}$ < 3 L mg^{-1} m^{-1} represents hydrophilic material [84].

The values of $SUVA_{254}$ were found to be strongly correlated with aromaticity for organic matter isolated from aquatic environment [83] in according to:

$$Aromaticity = 6.52 \times SUVA + 3.63$$

These parameters were used such as an indicator of the chemical composition of the leached NOM.

Analysis 2 EEMf data treatment

To characterize DOM, the humification index (HIX) is used calculated from the emission spectra [99].

HIX is defined as the area in the upper quarter (H, S435– 480 nm) of the usable emission peak divided by the area in the lower usable quarter (L, S300 – 345 nm).

It is based on the fact that humification can be considered to be associated with an increase in the C/H ratio [98], and with a resulting shift to longer fluorescence emission wavelengths [226].

In this way, the compositions of the NOM were evaluated by the fluorescence properties with the excitation, emission matrix of fluorescence (EEMf). Several index of the composition were used:

(1) Zsolnay, et al. [99] proposed a humification index (HIX) determined from the ratio of two integrated regions of an emission scan (sum from λ_{Em}435–480 nm divided by the sum from λ_{Em}300–345 nm) collected with excitation at 254 nm as a method for comparing the relative humification of NOM samples

(2) The relative contribution of autochthonous NOM in water samples, called the biological/autochthonous index or BIX [146], is calculated from the ratio of emission intensities at a shorter (λ_{Em} 380 nm) and longer (λ_{Em} 430 nm) wavelength using a fixed excitation (λ_{Ex} 310 nm).

Analysis 3 Procedure and data treatment for Py-GCMS analysis

Approximately 2 mg of solid residue (lyophilizate) were introduced into an 80 µL aluminum reactor with an excess of solid tetramethylammonium hydroxide (TMAH – ca. 10 mg). The THM reaction was performed on-line using a vertical micro-furnace pyrolyser PZ-2020D (Frontier Laboratories, Japan) operating at 400°C during 1 min. The products of this reaction were injected into a gas chromatograph (GC) GC-2010 (Shimadzu, Japan) equipped with a SLB 5MS capillary column (60 m × 0.25 mm ID, 0.25 µm film thickness) in the split mode. The split ratio was adapted according to the sample and ranged from 10 to 30. The temperature of the transfer line was 321°C and the temperature of the injection port was 310°C. The oven temperature was programmed from an initial temperature of 50°C (held for 2 min) rising to 150°C at 7°C/min, then rising from 150°C to 310°C (held for 20 min) at 4°C/min. Helium was used as the carrier gas, with a flow rate of 1.0 ml/min. Compounds were detected using a QP2010+ mass spectrometer (MS) (Shimadzu, Japan) operating in the full scan mode. The temperature of the transfer line was set at 280°C, and molecules were ionized by electron impact using an energy of 70 eV. The temperature of the ionization source was set at 200°C. The list of analyzed compounds and m/z ratios used for their integration are given in the supplementary materials (Table S1). Compounds were identified on the basis of their full-scan mass spectra by comparison with the NIST library and with published data. They were classified into three categories: lignin (LIG) and tannin (TAN) markers, carbohydrates (CAR) and fatty acids (FA). The peak area of the selected m/z for each compound was integrated and corrected by a mass spectra factor (MSF) calculated as the reciprocal of the proportion of the fragment (used for the integration) relating to the entire fragmentogram provided by the NIST library.

LIG were quantified using an internal calibration for 3,4-dimethoxybenzoic acid methyl ester, 3-(4-methoxyphenyl)-prop-2-enoic acid, methyl ester and 3,4,5-trimethoxybenzoic acid methyl ester. Dihydrocinnamic acid d9 methyl ester (CDN Isotopes, D5666) was used as an internal standard and was added to the system prior to the THM step (10µL of a 25 ppm solution in methanol). The other LIG and TAN compounds were quantified by assuming that their quantification factors were similar to those of 3,4-dimethoxybenzoic acid methyl ester. For this type of analysis, the relative standard deviation (RSD) represents approximately 10% of the values.

The proportion of each compound class was calculated by dividing the sum of the areas of the compounds in this class by the sum of the peak areas of all analyzed compounds multiplied by 100 in order to express it as a percentage. The use of THM-GC-MS to investigate the temporal variability of the DOM composition meant that it was necessary to assume that the ionization efficiency and matrix effects were equivalent for all analyzed compounds in all samples.

Treatment of molecular data

The classification of molecular markers generated by THM-GC-MS into microbial and plant-derived markers has been performed according to Jeanneau, et al. [227]. Briefly, the analyzed

compounds were classified as follows. LIG-TAN are characteristic of DOM inherited from plant-derived inputs whereas CAR and FA can be inherited from both plant-derived and microbial sources. The proportion of microbial CAR was calculated using an end-member mixing approach (EMMA) based on the deoxyC6/C5 ratio, assuming that it is 0.5 and 2.0 for plant-derived and microbial inputs, respectively [228]. C6 were not considered since they can derive from the THM of cellulose leading to an increase of the plant-derived C6 signal. The proportion of microbial FA was calculated as the % of low molecular weight FA (< C19) by excluding C16:0 and C18:0 that can be inherited from plant-derived or microbial inputs. The microbial FA were composed of C12:0, C13:0, C14:0, C15:0, C17:0, anteiso and iso C15:0 and C17:0, iso C16:0, C16:1 and C18:1 commonly used as bacterial indicators [229]. The proportion of microbial markers was calculated as the sum of the proportion of microbial CAR multiplied by the proportion of CAR plus the proportion of microbial FA multiplied by the proportion of FA. From this value, it is possible to calculate the proportion of plant-derived markers among the analyzed compounds. For this calculation, it is assumed that the modification of the distribution of CAR and FA would only be due to the relative proportion between these plant-derived and microbial inputs. Although these assumptions still need to be validated by investigating pure and known mixtures of vegetal and microbial sources, this approach can be used to approximate the proportions of plant-derived and microbial CAR.

Références

82. S. J. Traina, J. Novak and N. E. Smeck, *Journal of Environmental Quality*, 1990, 19, 151-153.

83. J. L. Weishaar, G. R. Aiken, B. A. Bergamaschi, M. S. Fram, R. Fujii and K. Mopper, *Environmental Science & Technology*, 2003, 37, 4702-4708.

84. J. K. Edzwald, W. C. Becker and K. L. Wattier, *Journal (American Water Works Association)*, 1985, 77, 122-132.

97. C. A. Stedmon, S. Markager and R. Bro, *Marine Chemistry*, 2003, 82, 239-254.

98. F. J. Stevenson, *Humus Chemistry. Genesis, Composition, Reactions.*, New York, 1982.

99. A. Zsolnay, E. Baigar, M. Jimenez, B. Steinweg and F. Saccomandi, *Chemosphere*, 1999, 38, 45-50.

146. A. Huguet, L. Vacher, S. Relexans, S. Saubusse, J. M. Froidefond and E. Parlanti, *Organic Geochemistry*, 2009, 40, 706-719.

226. S. C. Tam and G. Sposito, *Journal of Soil Science*, 1993, 44, 513-524.

227. L. Jeanneau, A. Jaffrezic, A.-C. Pierson-Wickmann, G. Gruau, T. Lambert and P. Petitjean, *Vadose Zone Journal*, 2014, 13.

228. C. Rumpel and M.-F. Dignac, *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38, 1478-1481.

229. Å. Frostegård, A. Tunlid and E. Bååth, *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, 59, 3605-3617.

Annexe V

Behavior of iron nanoparticles in wetland soil

M. AL-SID-CHEIKH[1]*, M. PÉDROT[1], A. DIA[1], M. DAVRANCHE[1] AND M. LE COZ-BOUHNIK [1]

[1]Géosciences Rennes - Université Rennes 1 - CNRS UMR 6118 - Av. General Leclerc, 35042 Rennes, Cedex. France (*corresponding author: maya.al-sid-cheikh@univ-rennes1.fr)

The engineered nanoparticles (NPs) promise immense improvements in manufacturing, electronics, health and environmental technologies. Their size, shape, chemical composition, density, level of aggregation, presence of an organic coating as well as their surface chemistry control their reactivity. Recently, the NPs have been suggested as an efficient, cost-effective and environmental friendly alternative to existing treatment materials for the environmental remediations. Development of iron oxide NPs as nanosorbent for heavy metals and organic pollutants is particularly promising in this respect. However, few studies examined the interactions of iron nanoparticles with metallic trace elements and organic matter in wetland soil.

Here we present a leaching wetland soil experiment where the impact of the presence of magnetite (Fe_3O_4) NPs on the distribution of the organic matter and metallic elements is investigated. NPsFe_3O_4 with average size of ~15 nm and a minimum magnetization above 45 emu/g are used. Dissolved metallic trace elements and dissolved organic carbon (DOC) were followed by ICP-MS and total organic carbon analyzer for 28 hrs. The surface waters were fractionated at 0.22 μm, 30 kDa, 5 kDa and 2 kDa by ultrafiltration. The aromaticity of the organic matter was followed by SUVA measurements. Finally, the migration of the NPsFe_3O_4 in a column soil were analyzed by magnetic susceptibility (SM). Our results show that the DOC concentration increase after 10 pore volumes for all fractions and the SUVA measurements present a low aromaticity. The SM recordings present a scavenging of NPsFe_3O_4 in the first 10 cm of the column. Thus, the results evidence a mobilization of small organic molecules and a scavenging of NPsFe_3O_4.

Annexe - VI. Supporting information – Article 3

A robust methodology using online steric exclusion chromatography-Uv-ICPMS to investigate nanoparticle fate and behavior in environmental samples.

M. Al-Sid-Cheikh[a,]*, M. Pédrot[a], M. Bouhnik-LeCoz[a], A. Dia[a], M. Davranche[a], F. Grasset[b]

a CNRS UMR 6118, Géosciences Rennes, Université Rennes 1 - Campus Beaulieu, 263 av. Général Leclerc, 35042 Rennes cedex, France.

b CNRS UMR 6226, Institut des Sciences Chimiques de Rennes, Université Rennes 1 - Campus Beaulieu, 263 av. Général Leclerc, 35042 Rennes cedex, France.

(5 figures, 8 Tables)

Content

1. Transmission electronic microscopy picture of nano-Fe_3O_4 synthesized by co-precipitation_Fig. SI-1.
2. Transmission electronic microscopy picture of nano-Fe_3O_4 synthesized in interaction with (a) Humic Acid Leonardite (HA), (b) toxic trace metals (TM, i.e. As, Pb and Th), (c) a synthetic mixed with HAL and TM, (d) natural wetland soil-sourced pore water (i.e. PAE), (e) natural river water from wetland (i.e. EXU), (f) lake standard water (i.e. KEJIM), (g) certified Tap water (i.e. EP), (h) certified sewage water (i.e. EU), (i) certified groundwater (i.e. ES)._____Fig. SI-2
3. (a) Gold nanoparticles chromatograms for 10, 20, 40, and 60 nm and (b) exopolysaccharides standard (dextran) chromatograms for 150, 270, 410 and 670 kDa with a flow rate of 1 mL L^{-1}.____Fig. SI-3
4. Inorganic tracer of (a1) humic acid (HA) - model of natural organic matter - followed by Uv detector at 254 nm and lanthanum (^{139}La) natural concentration complexes with HA. (a2) Linear correlation between HA concentration and natural concentration of ^{139}La complexes. (b1) Lead as tracer of nano-Fe_3O_4 and (b2) linear correlation between lead (^{208}Pb) and iron (^{56}Fe) nanoparticles_Fig. SI-4
5. Chromatogram of waters application without nanoFe_3O_4_____Fig. SI-5
6. Operating conditions and parameters of the Agilent 1260 infinity and 7700 ICP-MS.____Table SI-1
7. Compositions of waters used for the interaction experiments_____Table SI-2
8. Calibration curves for the metal quantification_____Table SI-3
9. Quantification of each interaction and each fractionation for iron_____Table SI-4a
10. Quantification of each interaction and each fractionation for arsenic_____Table SI-4b
11. Quantification of each interaction and each fractionation for lead_____Table SI-4c
12. Quantification of each interaction and each fractionation for thorium_____Table SI-4d
13. Concentration total of major and trace elements in standard water (i.e. EP, EU, ES) and natural water (i.e. EXU, PAE, KEJIM) spiked in nano-Fe3O4 and the standard of natural organic matter from IHSS (AH leonardite) fractionated with a cut-off of 0.45µm. These analyses were performed by ICP-MS 7700 Agilent._____Table SI-5.

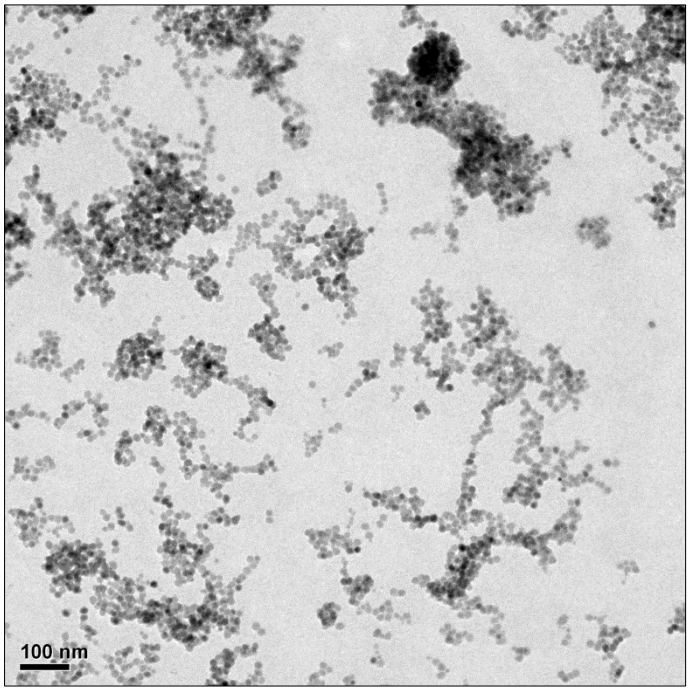


Fig. SI-1. Transmission electronic microscopy picture of nano-Fe_3O_4 synthesized by co-precipitation.

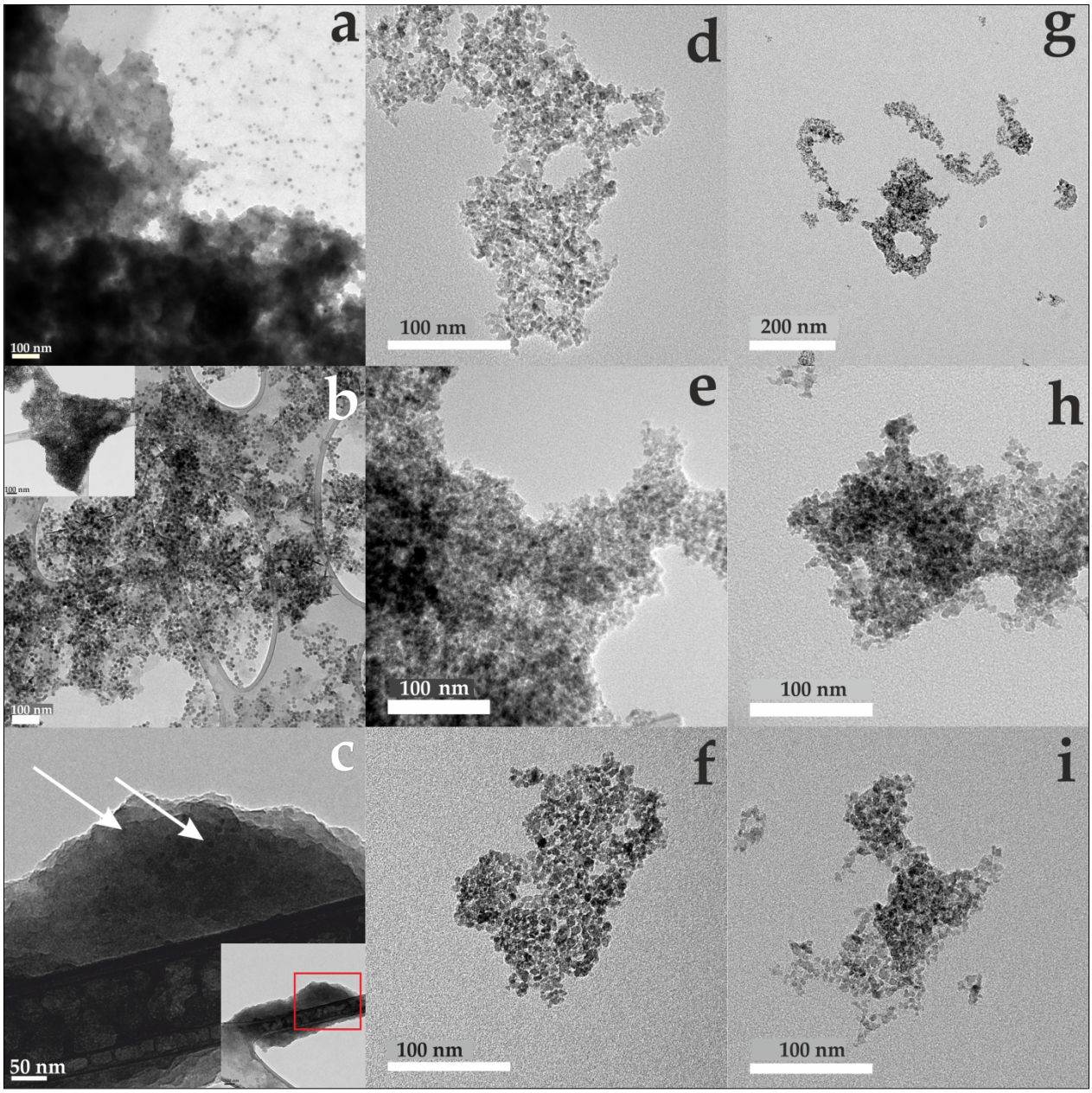


Fig. SI-2. Transmission electronic microscopy picture of nano-Fe_3O_4 synthesized in interaction with (a) Humic acid leonardite (HA), (b) toxic trace metals (TM, i.e. As, Pb and Th), (c) a synthetic mixed with HA and TM, (d) wetland soil-sourced pore (i.e. PAE), (e) natural river water from wetland (i.e. EXU), (f) lake standard water (i.e. KEJIM), (g) certified Tap water (i.e. EP), (h) certified sewage water (i.e. EU), (i) certified groundwater (i.e. ES).

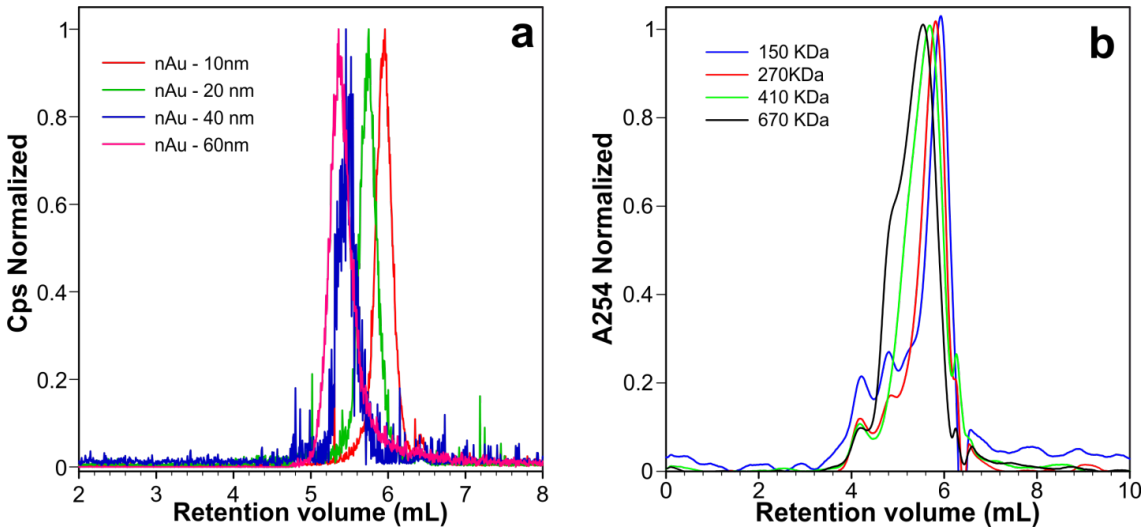


Fig. SI-3. (a) Gold nanoparticles chromatograms for 10, 20, 40, and 60 nm and (b) exopolysaccharides standard (dextran) chromatograms for 150, 270, 410 and 670 kDa with a flow rate of 1 mL L^{-1}.

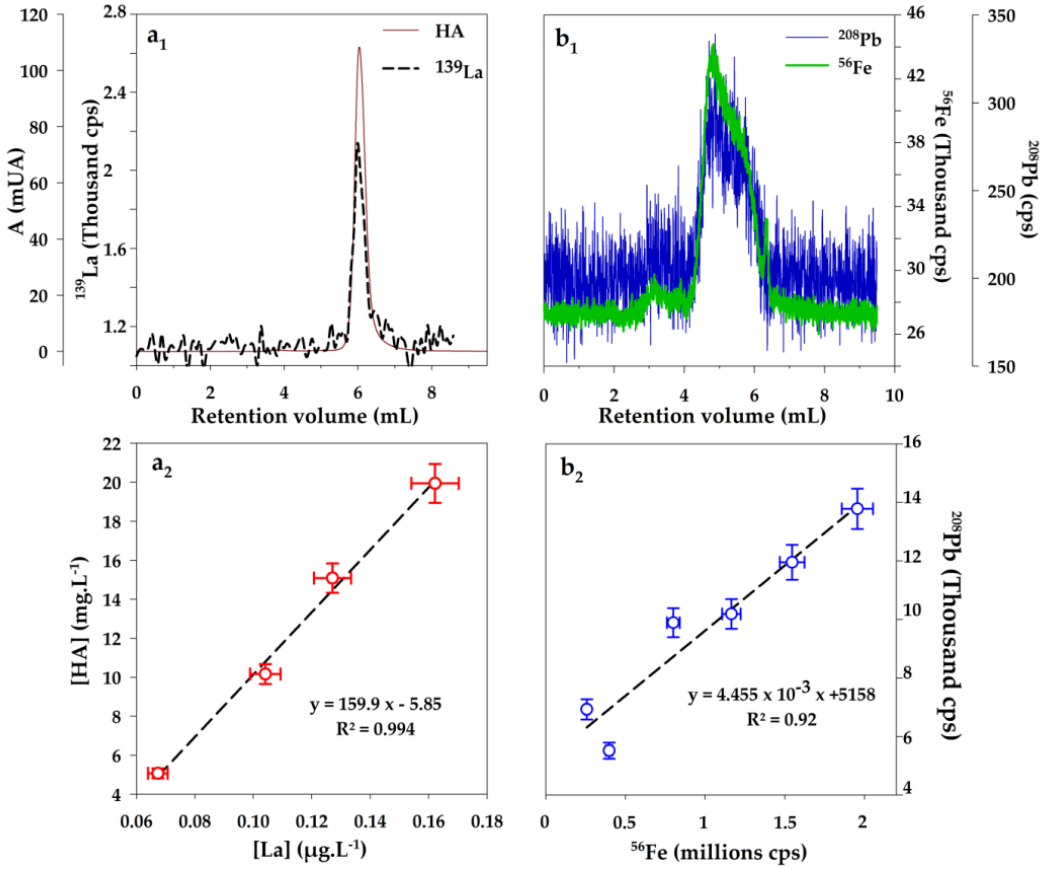


Fig. SI-4. Inorganic tracer of (a1) humic acid (HA) - model of natural organic matter - followed by Uv detector at 254 nm and lanthanum (^{139}La) natural concentration complexes with HA. (a2) Linear correlation between HA concentration and natural concentration of ^{139}La complexes. (b1) Lead as tracer of nano-Fe_3O_4 and (b2) linear correlation between lead (^{208}Pb) and iron (^{56}Fe) nanoparticles

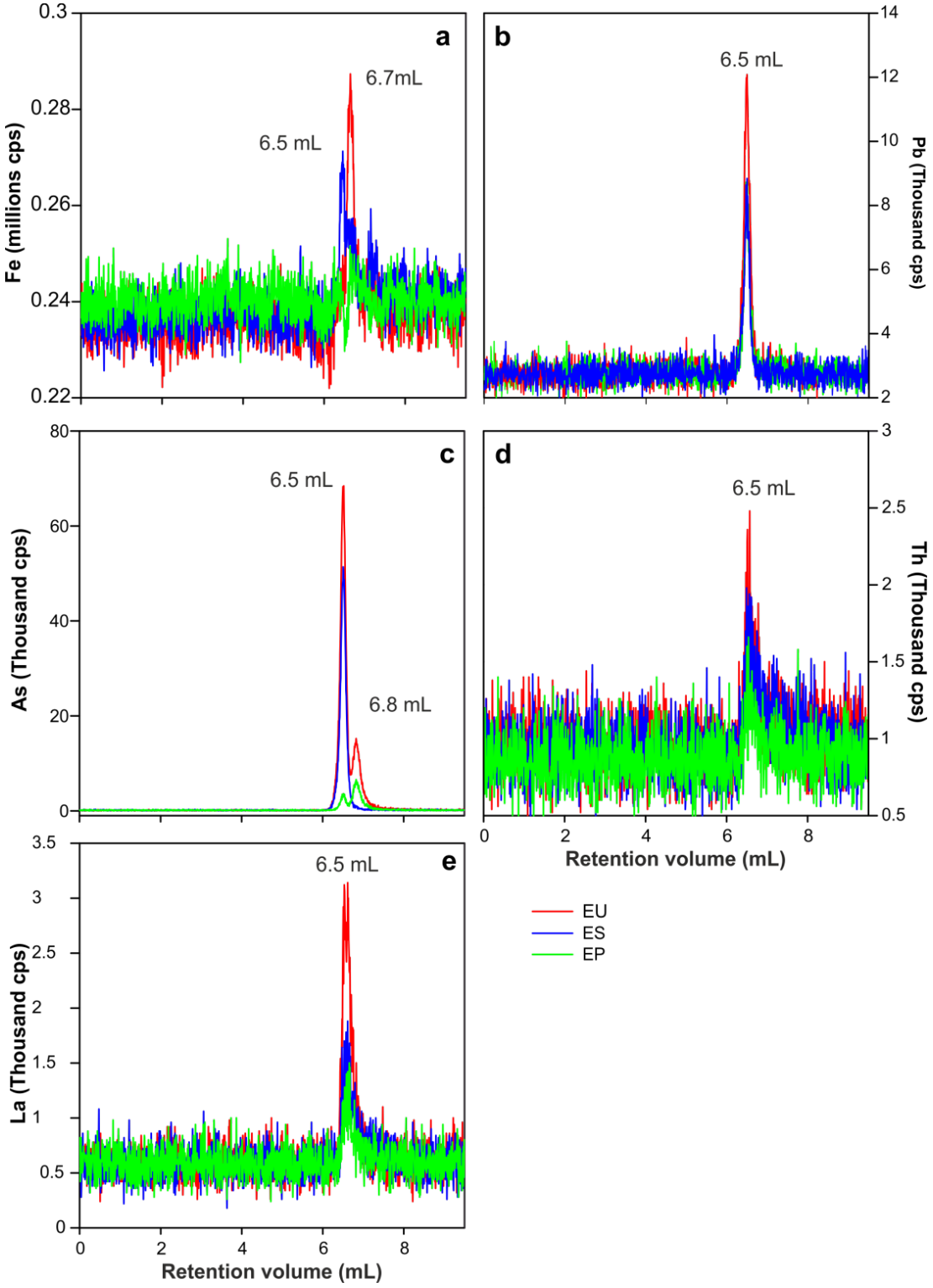


Fig. SI-5. Chromatogram of water application without nano-Fe_3O_4.

Table SI-1. Operating conditions and parameters of the Agilent 1260 infinity and 7700 ICP-MS.

#Instrument	Parameter	Setting
HPLC Agilent 1260 Infinity	**Column (2 online)**	Nuceosil® 4000, 250 x 4.6 mm, prefilter/Guard-column UltraShield UHPLC Trident™ Direct, 0.5µm cut-off
	Mobile phase	15 mM SDS/10 mM $NaNO_3$/5mM SC mixed with quaternary pump pH 6.5
	Flow rate	1 $mL.min^{-1}$
	increasing rate flow	0.1 $mL.min^{-1}.min^{-1}$
	Run pressure	145 Bar
	Temperature	Ambiant
	injection volume	50 µL
	elution mode	isocratic
ICPMS Agilent 7700	RF power	1550 W
	RF matching	1.8 V
	Collision cell mode on [He gas]	4.9 $mL.min^{-1}$
	Nebulizer pump	0.3 rps
	Nebulizer gas flow	
	Carrier gas	0.75 $L.min^{-1}$
	Make-up gas	0.42 $L.min^{-1}$
	Sample depth	8 mm
	S/C temperature	5 °C
	Lenses	
	Extract 1	0 V
	Extract 2	-100 V
	Omega Bias-ce	-105 V
	Omega Lens-ce	7.7 V
	Cell entrance	-36 V
	QP focus	5 V
	Cell exit	-36 V
	OctP RF	190 V
	OctP Bias	-7 V
	QP Bias	-4 V
	Isotopes monitored	^{56}Fe, ^{75}As, ^{125}Te, ^{139}La

Table SI-2. Compositions of waters used for the interaction experiments.

# element	unit	EP	±	EU	±	ES	±	PAE		EXU		KEJIM	±
As	mg L^{-1}	12.2	0.2	38.95	0.4	21.9	0.3	-	-	-	-	-	-
Fe	mg L^{-1}	46.9	0.5	28.85	0.4	64.5	1.0	-	-	-	-	-	-
Pb	mg L^{-1}	19.3	0.4	30.6	0.5	5.6	0.1	-	-	-	-	-	-
Corg	mg L^{-1}	67	1.1	213	3.6	36	3.6	19	0.32	13	0.22	7.15	0.84
Al	mg L^{-1}	-		-		-	-	-	-	-		0.159	0.02
Ca	mg L^{-1}	-		-		-	-	-	-	-		0.852	0.09
Cl	mg L^{-1}	-		-		-						5.79	0.41
Conductivity	µS cm^{-1}	-		-		-						32.3	1.90
Mg	mg L^{-1}	-		-		-						0.467	0.04
pH	mg L^{-1}	6.45		6.51		6.35		6.38		6.46		5.36	0.14
K	mg L^{-1}	-		-		-						0.224	0.03
Si	mg L^{-1}	-		-		-						0.792	0.09
Na	mg L^{-1}	-		-		-						3.8	0.32
SO_4	mg L^{-1}	-		-		-						2.42	0.30
N	mg L^{-1}	-		-		-						0.221	0.04
DIC	mg L^{-1}	-		-		-						0.37	-
F		-		-		-		-		-		0.02	-
Turbidity		-		-		-		-		-		0.19	-

Table SI-3. Calibration curves for the metal quantification.

# Sample ID	a				y_0				
	Value	StdErr	CV(%)	Dependencies	Value	StdErr	CV(%)	Dependencies	R^2
nanoFe_3O_4	$1.18x10^7$	0	0	0.75	$8.01x10^5$	0	0	0.75	1
nanoFe_3O_4 - HAL	$1.17x10^7$	0	0	0.75	$1.24x10^7$	0	0	0.75	1
As	$1.17x10^7$	0	0	0.75	$8.01x10^5$	0	0	0.75	1
As-HAL	$1.17x10^7$	0	0	0.75	$8.01x10^5$	0	0	0.75	1
Th	$4.62x10^4$	$5.09x10^{-11}$	$1.10x10^{-13}$	0.66	252.9	$6.23x10^{-10}$	$2.46x10^{-10}$	0.66	0.99
Th-HAL	$1.19x10^4$	137.7	1.16	0.66	$3.85x10^3$	$1.69x10^3$	43.8	0.66	0.99

Table SI4a. Quantification of each interaction and each fractionation for iron.

Sample	ID	Fe												Total		
		RV	±	1	s.d.	RV	±	2	s.d.	RV	±	3	s.d.	Sum	corr*	Yield
		mL	%	mg L^{-1}	%	mL	%	mg L^{-1}	%	mL	%	mg L^{-1}	%	mg L^{-1}		%
Interaction	**HA**	**2.91**	**13.7**	**0.0**	0.0	**4.83**	19.6	**0.00**	0.0	**6.32**	0.2	**0.05**	14.1	0.1	0.1	52.9
	HA-nanoFe_3O_4	**3.27**	**14.5**	**0.0**	0.0	**4.97**	0.5	**0.21**	14.5	**6.33**	0.3	**0.12**	11.7	0.3	1.2	26.3
	HA-nanoFe_3O_4- As-Th-Pb	**3.29**	**5.9**	**0.01**	-	**4.92**	0.22	**0.24**	17.0	**6.32**	0.1	**0.12**	11.6	0.4	1.5	24.7
	HA-As-Th-Pb	**3.37**	**2.7**	**0.02**	-	**5.20**	5.95	**0.0**	0.0	**6.33**	0.1	**0.09**	10.5	0.1	-	-
	nanoFe_3O_4	**3.76**	**17.1**	**0.0**	0.0	**5.02**	1.9	**0.22**	11.5	**6.71**	4.8	**0.0**	0.0	0.2	1.1	19.2
	nanoFe_3O_4-As-Th-Pb	**3.73**	**16.5**	**0.0**	0.0	**4.96**	0.2	**0.26**	22.2	**6.52**	4.2	**0.0**	0.0	0.2	1.5	17.1
Natural water	**EXU-nanoFe_3O_4**	**3.45**	**5.2**	**0.03**	136	**5.01**	6.6	**0.13**	108	**6.81**	5.0	**0.07**	87.40	0.2	1.2	7.7
	KEJIM-nanoFe_3O_4	**3.68**	**22.6**	**0.02**	226	**4.91**	0.6	**0.36**	6.1	**6.88**	7.6	**0.08**	65.25	0.5	2.3	23.4
	PAE-nanoFe_3O_4	**3.77**	**13.7**	**0.01**	127	**4.92**	0.8	**0.20**	78	**6.37**	3.7	**0.08**	66.55	0.3	1.5	5.4
Certified water	**EU-H4 -nanoFe_3O_4**	**4.88**	0.6	**0.23**	35.7	**6.7**	3.0	**0.03**	316.4	**6.5**	0.1	**0.06**	121.7	0.3	1.6	24.6
	ES-H3 -nanoFe_3O_4	**5.33**	1.0	**0.05**	49.7	**5.9**	0.2	**0.43**	27.5	**6.4**	0.1	**0.09**	44.8	0.6	2.8	10.5
	EP-H3 -nanoFe_3O_4	**4.90**	0.3	**0.17**	33.0	**-**	-	**0.00**	-	**6.44**	0.25	**0.00**	-	0.2	0.8	38.5

Table SI-4b. Quantification of each interaction and each fractionation for arsenic

Sample	ID	As												Total		
		RV	±	1	s.d.	RV	±	2	s.d.	RV	±	3	s.d.	Sum	corr*	Yield
		mL	%	µg L^{-1}	%	mL	%	µg L^{-1}	%	mL	%	µg L^{-1}	%	µg L^{-1}		%
Interaction	**HA**	**6.50**	0.8	**0**	0.0	**-**	-	**0**	-	**-**	-	**0**	-	0.2	-	-
	HA-nanoFe_3O_4	**6.56**	3.0	**0**	0.0	**-**	-	**0**	-	**-**	-	**0**	-	0.2	-	-
	HA-nanoFe_3O_4- As-Th-Pb	**6.61**	3.0	**17.57**	7.2	**-**	-	**0**	-	**-**	-	**0**	-	17.6	17.8	98.7
	HA-As-Th-Pb	**6.51**	0.3	**18.08**	2.7	**-**	-	**0**	-	**-**	-	**0**	-	18.1	18.2	99.2
	nanoFe_3O_4	**6.16**	11.4	**0**	0.0	**-**	-	**0**	-	**-**	-	**0**	-	0.2	-	-
	nanoFe_3O_4-As-Th-Pb	**6.49**	0.2	**17.75**	5.2	**-**	-	**0**	-	**-**	-	**0**	-	17.7	17.9	98.9
Natural water	**EXU-nanoFe_3O_4**	**-**	-	**0**	-	**-**	-	**0**	-	**-**	-	**0**	-	0.0	0.0	-
	KEJIM-nanoFe_3O_4	**-**	-	**0**	-	**-**	-	**0**	-	**-**	-	**0**	-	0.0	0.0	-
	PAE-nanoFe_3O_4	**-**	-	**0**	-	**-**	-	**0**	-	**-**	-	**0**	-	0.0	0.0	-
Certified water	**EU-H4 -nanoFe_3O_4**	**4.96**	1.2	**1.50**	14.4	**6.50**	0.2	**24.29**	23.4	**6.83**	0.2	**13.27**	11.2	39.1	43.4	90.1
	ES-H3 -nanoFe_3O_4	**5.85**	0.7	**2.46**	2.2	**5.85**	0.7	**2.51**	15.6	**6.50**	0.1	**11.23**	27.6	16.2	18.6	87.0
	EP-H3 -nanoFe_3O_4	**5.00**	6.6	**0.00**	-	**6.51**	0.18	**1.74**	7.6	**6.82**	0.2	**4.08**	3.5	5.8	6.6	88.2

Table SI-4c. Quantification of each interaction and each fractionation for lead.

Sample	ID	Pb												Total		
		RV	±	1	s.d.	RV	±	2	s.d.	RV	±	3	s.d.	Sum	corr*	Yield
		mL	%	µg L^{-1}	%	mL	%	µg L^{-1}	%	mL	%	µg L^{-1}	%	µg L^{-1}		%
Interaction	HA	**5.72**	12.2	**0.00**	0.0	**6.30**	0.4	**17.17**	15.0	**-**	-	**0**	-	17.2	-	77.7
	HA-nanoFe_3O_4	**5.36**	11.5	**3.26**	72.5	**6.33**	0.4	**19.20**	36.3	**-**	-	**0**	-	22.5	-	-
	HA-nanoFe_3O_4- As-Th-Pb	**5.09**	2.1	**20.10**	19.1	**6.35**	1.2	**49.41**	30.0	**-**	-	**0**	-	69.5	189.7	36.6
	HA-As-Th-Pb	**5.34**	14.4	**0.00**	0.0	**6.34**	0.1	**61.39**	6.0	**-**	-	**0**	-	61.4	-	44.0
	nanoFe_3O_4	**5.04**	6.9	**3.54**	72.1	**6.24**	7.5	**0.00**	0.0	**-**	-	**0**	-	3.5	-	-
	nanoFe_3O_4-As-Th-Pb	**4.99**	1.3	**21.10**	34.0	**6.48**	0.2	**4.26**	85.2	**-**	-	**0**	-	25.4	117.7	21.5
Natural water	EXU-nanoFe_3O_4	**3.31**	15.8	**2.74**	85.9	**5.03**	4.5	**5.43**	84.1	**5.59**	60	**2.37**	59.3	10.5	52.7	-
	KEJIM-nanoFe_3O_4	**3.07**	11.8	**3.95**	55.2	**5.02**	3.8	**12.84**	2.7	**7.60**	18	**2.72**	36.0	19.5	97.6	-
	PAE-nanoFe_3O_4	**3.19**	16.5	**2.62**	56.7	**4.97**	4.2	**6.13**	52.2	**5.84**	64	**2.96**	57.1	11.7	58.6	-
Certified water	EU-H4 -nanoFe_3O_4	**4.28**	2.2	**0.00**	0.0	**4.91**	0.45	**71.99**	22.5	**-**	-	**0**	-	72.0	560.7	12.8
	ES-H3 -nanoFe_3O_4	**5.21**	1.5	**9.67**	-50.7	**5.9**	0.7	**56.78**	25.9	**-**	-	**0**	-	66.4	707.6	9.4
	EP-H3 -nanoFe_3O_4	**4.19**	2.2	**0.00**	0.0	**4.95**	0.45	**30.24**	22.5	**-**	-	**0**	-	30.2	132.2	22.9

Table SI-4d. Quantification of each interaction and each fractionation for thorium.

Sample	ID	Th				Total		
		RV	±	1	s.d.	Sum	corr*	Yield
		mL	%	µg L^{-1}	%	µg L^{-1}		%
Interaction	HA	**6.40**	1.34	**3.0**	52.7	3.0	-	-
	HA-nanoFe_3O_4	**6.27**	0.73	**2.7**	47.0	2.7	-	-
	HA-nanoFe_3O_4- As-Th-Pb	**6.44**	0.09	**156.7**	23.4	156.7	179.6	87.3
	HA-As-Th-Pb	**6.44**	0.03	**157.4**	23.2	157.4	-	87.2
	nanoFe_3O_4	**6.75**	2.34	**0.8**	41.1	0.8	-	-
	nanoFe_3O_4-As-Th-Pb	**6.46**	0.11	**149.1**	22.2	149.1	175.3	85.0
Natural water	EXU-nanoFe_3O_4	**-**	-	**-**	-	-	-	-
	KEJIM-nanoFe_3O_4	**-**	-	**-**	-	-	-	-
	PAE-nanoFe_3O_4	**-**	-	**-**	-	-	-	-
Certified water	EU-H4 -nanoFe_3O_4	**6.70**	1.3	**0.66**	81.7	0.7	3.3	-
	ES-H3 -nanoFe_3O_4	**6.71**	0.2	**1.11**	37.8	1.1	5.6	-
	EP-H3 -nanoFe_3O_4	**6.66**	2.0	**0.62**	45.7	0.6	3.1	-

Table 5. Concentration total of major and trace elements in standard water (i.e. EP, EU, ES) and natural water (i.e. EXU, PAE, KEJIM) spiked in nano-Fe_3O_4 and the standard of natural organic matter from IHSS (AH leonardite) fractionated with a cut-off of 0.45µm. These analyses were performed by ICP-MS 7700 Agilent.

	^{7}Li	^{9}Be	^{11}B	^{23}Na	^{25}Mg	^{27}Al	^{29}Si	^{39}K	^{44}Ca	^{45}Sc	^{51}V	^{53}Cr	^{55}Mn	^{56}Fe	^{59}Co	^{60}Ni	^{65}Cu	^{66}Zn	^{71}Ga	^{75}As	^{85}Rb	^{86}Sr
	µg L^{-1}																					
EP-H3_ENPs	339.52	42.66	2622.90	8969.40	3135.29	281.20	0.00	5570.04	11007.82	0.02	0.47	205.62	95.26	1207.41	32.81	213.58	426.66	2230.37	0.01	0.00	0.17	315.20
ES-H3_ENPs	88.24	184.45	1214.94	19022.41	6162.89	174.12	0.00	2930.60	11053.55	0.00	427.27	379.65	301.14	6087.88	111.89	739.23	737.14	784.40	0.00	3.10	0.00	716.76
EU-H4_ENPs	0.56	407.53	472.68	44784.75	23503.43	338.43	0.00	40127.25	41842.73	0.00	634.16	350.85	405.88	3664.28	440.00	649.72	665.35	813.49	0.01	187.95	1.61	772.02
EXU_ENPs	3.07	0.00	6.38	29884.92	6682.61	1.69	46.79	3584.32	7450.86	0.00	0.02	0.41	0.00	9.43	0.05	0.99	0.95	0.59	0.00	0.08	1.18	17.76
PAE_ENPs	0.70	0.00	5.59	36238.19	7699.10	1.85	97.78	2780.59	8940.12	0.00	0.16	0.24	0.00	37.06	0.07	2.79	1.40	0.63	0.00	0.12	0.95	22.01
Kejim_ENPs	0.78	0.01	2.17	5907.70	460.75	58.06	58.65	250.07	770.16	0.01	0.07	1.69	37.16	8765.47	0.39	1.35	1.54	1.87	0.01	0.27	0.64	3.87
AH_0.45µm	0.00	0.00	0.00	55646.30	19.74	448.66	0.00	176.71	2342.78	0.42	0.15	30.53	0.00	1073.51	0.38	31.29	11.71	26.63	0.71	0.01	0.00	33.11

	^{89}Y	^{111}Cd	^{123}Sb	^{137}Ba	^{139}La	^{140}Ce	^{141}Pr	^{146}Nd	^{147}Sm	^{153}Eu	^{157}Gd	^{159}Tb	^{163}Dy	^{165}Ho	^{166}Er	^{169}Tm	^{174}Yb	^{175}Lu	^{208}Pb	^{232}Th	^{238}U
	µg L^{-1}																				
EP-H3_ENPs	0.01	42.99	0.02	633.99	0.04	0.04	0.00	0.00	0.00	0.03	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	19.71	0.00	15.94
ES-H3_ENPs	0.00	191.66	1.49	2025.65	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	48.80	0.00	213.23
EU-H4_ENPs	0.00	231.88	80.01	926.20	0.40	0.05	0.00	0.00	0.00	0.04	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	417.02	0.00	76.51
EXU_ENPs	0.00	0.00	0.07	0.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
PAE_ENPs	0.00	0.01	0.08	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Kejim_ENPs	0.04	0.02	0.08	1.13	0.04	0.07	0.01	0.04	0.01	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.46	0.01	0.01
AH_0.45µm	2.33	0.00	0.00	26.65	1.87	3.39	0.37	1.54	0.26	0.08	0.31	0.04	0.23	0.06	0.14	0.02	0.13	0.02	0.35	0.73	0.51

© AL-Sid-Cheikh Maya, 2015

Annexe - VII. Supporting information to Article 4

Application of exclusion steric chromatography-ICP-MS to investigate the interaction of arsenic and lead with magnetite nanoparticles

M. Al-Sid-Cheikh[a,*] M. Pédrot [a], M. Bouhnik-Le Coz[a], A. Dia[a], Petitjean P.[a], F. Grasset[b], and M.Davranche[a]

En preparation pour Analytica Chimica Acta

a CNRS UMR 6118, Géosciences Rennes, Université Rennes 1 - Campus Beaulieu, 263 av. général Leclerc, 35042 Rennes cedex, France.

b CNRS UMR 6226, Chimie Rennes, Université Rennes 1 - Campus Beaulieu, 263 av. général Leclerc, 35042 Rennes cedex, France.

* Corresponding author, present e-mail: maya.al-sid-cheikh@univ-rennes1.fr, and permanent e-mail: maya.alsid@gmail.com, phone: (+33)2.23.23.32.43.

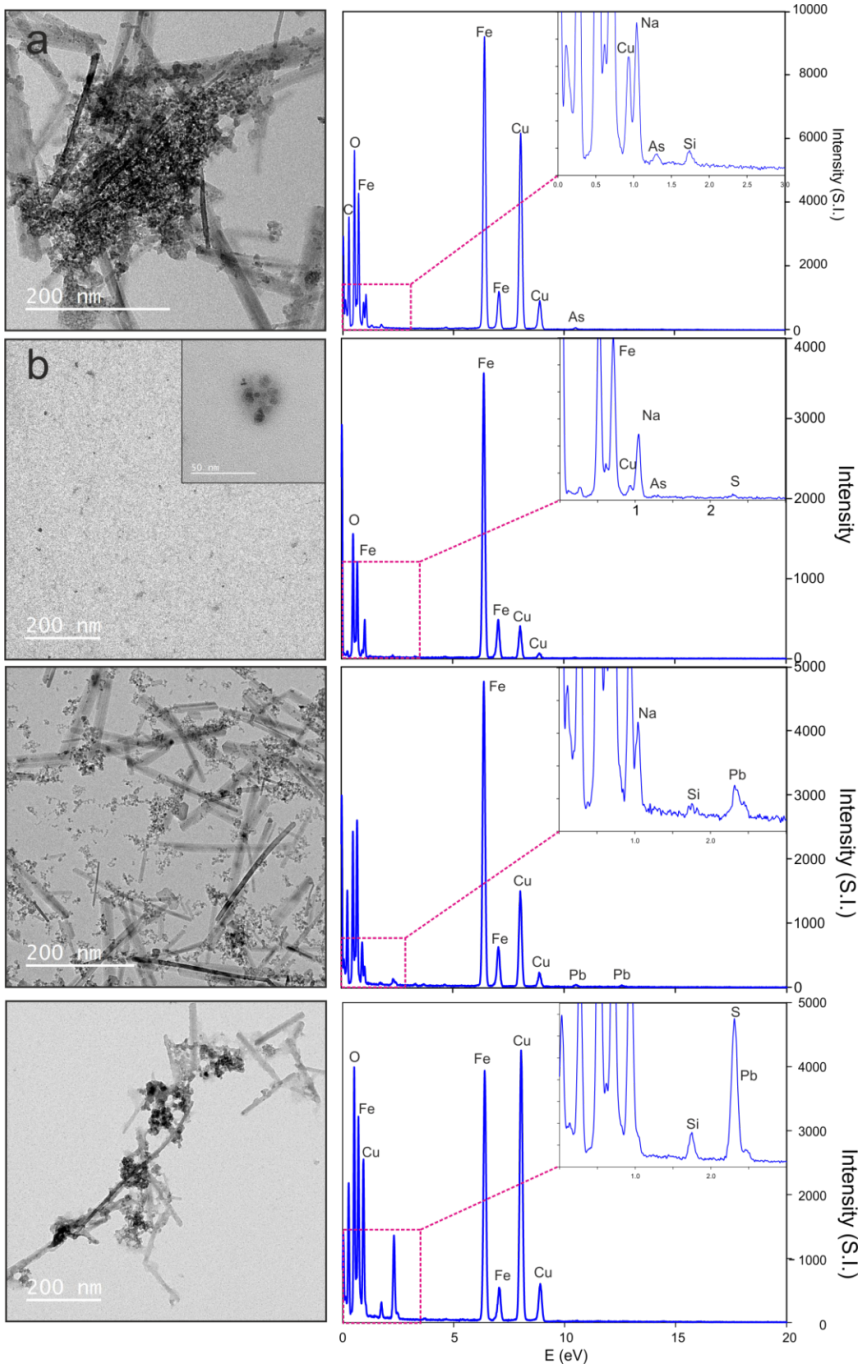


Fig SI. 1 – TEM image and EDS measurement according to the image. (a) nano-Fe_3O_4 uncoated with As (0.1 mM) pH 5; (b) nano-Fe_3O_4 coated with As (0.1 mM) pH 5; (c) nano-Fe_3O_4 uncoated with Pb (0.1 mM) pH 5; and (d) nano-Fe_3O_4 coated with Pb (0.1 mM) pH 5.

Table- 3. Physical parameter of the nano-Fe_3O_4.

	BET (m^2/g)	Particle size (nm)
Nano-Fe_3O_4	102.907	8 ± 3

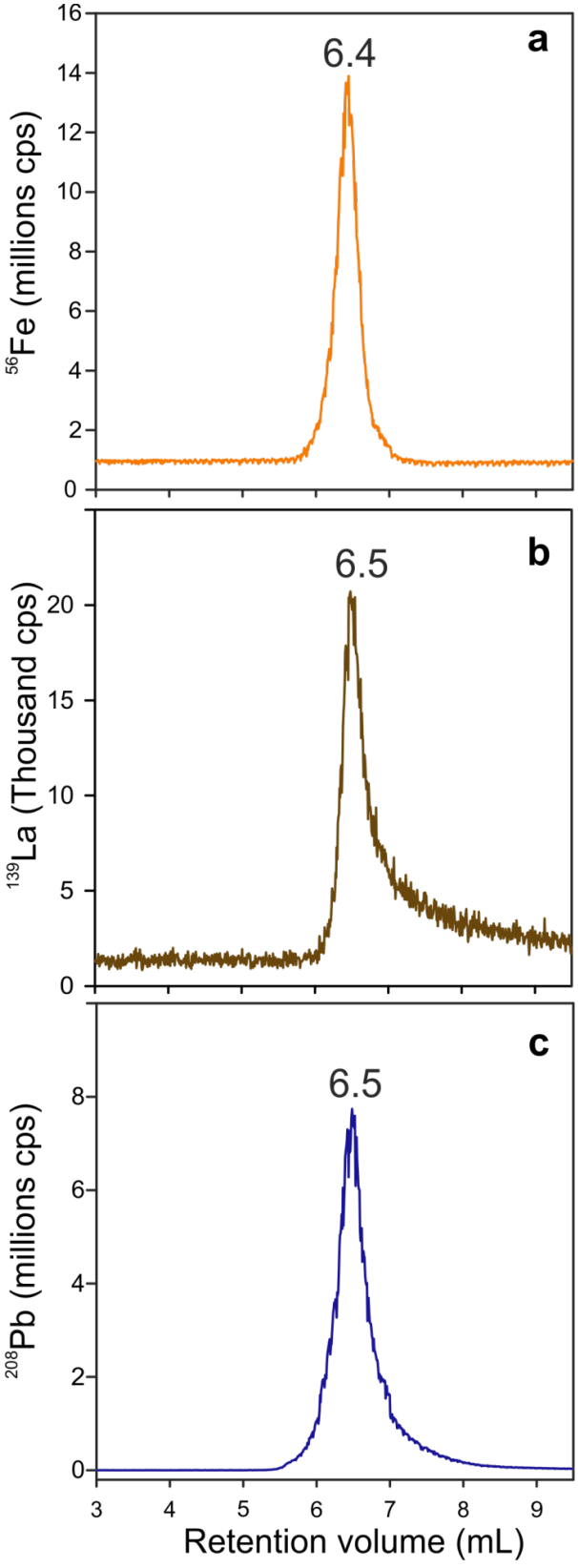


Fig SI2 –spectra of DMSA alone in SEC-ICPMS method for (a) iron, (b) lanthan and (c) lead.

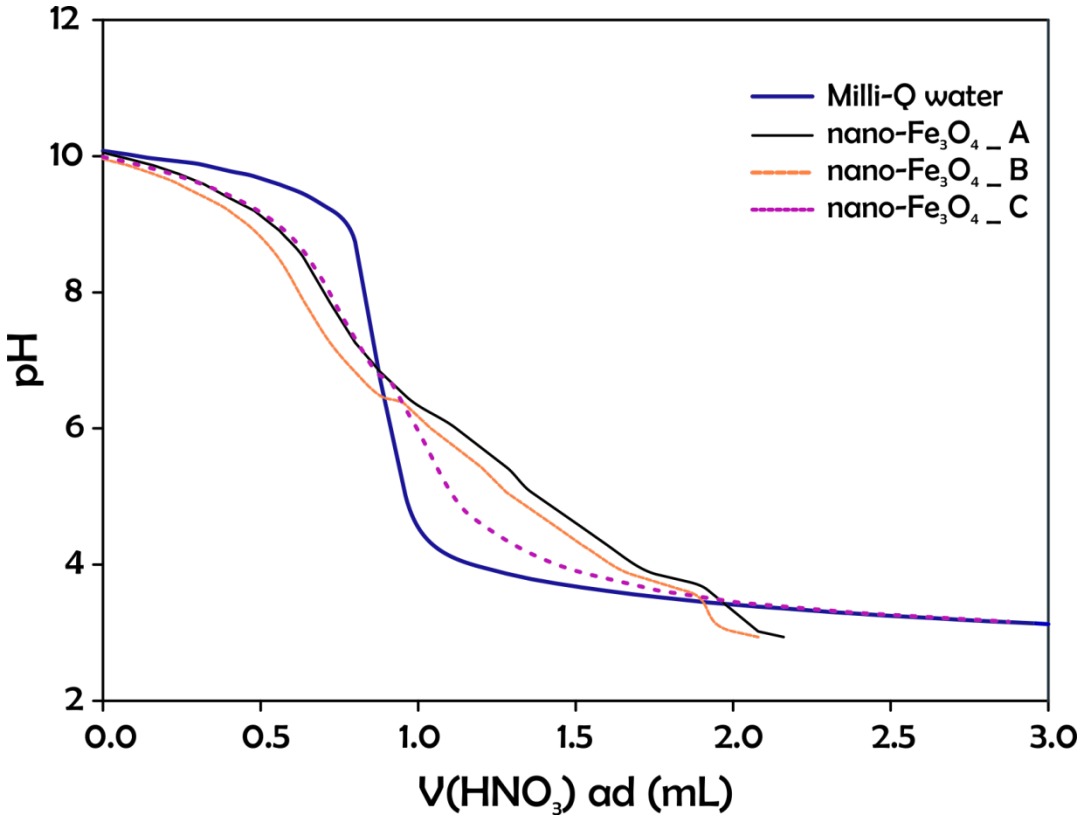


Fig SI3 – Potentiométrice curves method in according to Bourikas, et al. [185], called differential potentiometric titration (DPT) for the experimental pHzpc measurement of nano-Fe_3O_4. Three replicates were performed called nano-Fe_3O_4_A, nano-Fe_3O_4_B and nano-Fe_3O_4_C.

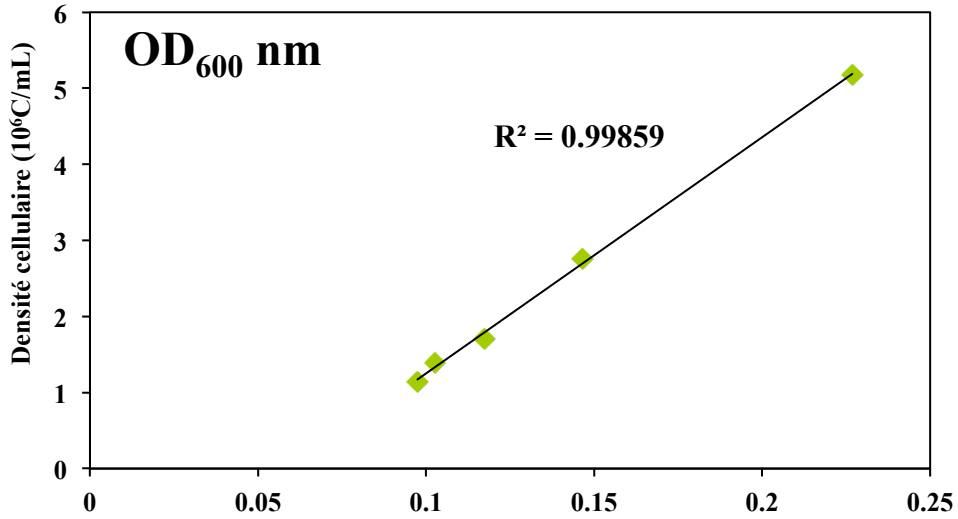


Figure 1 - Droite d'étalonnage de la densité cellulaire obtenue par mesure de l'absorbance.

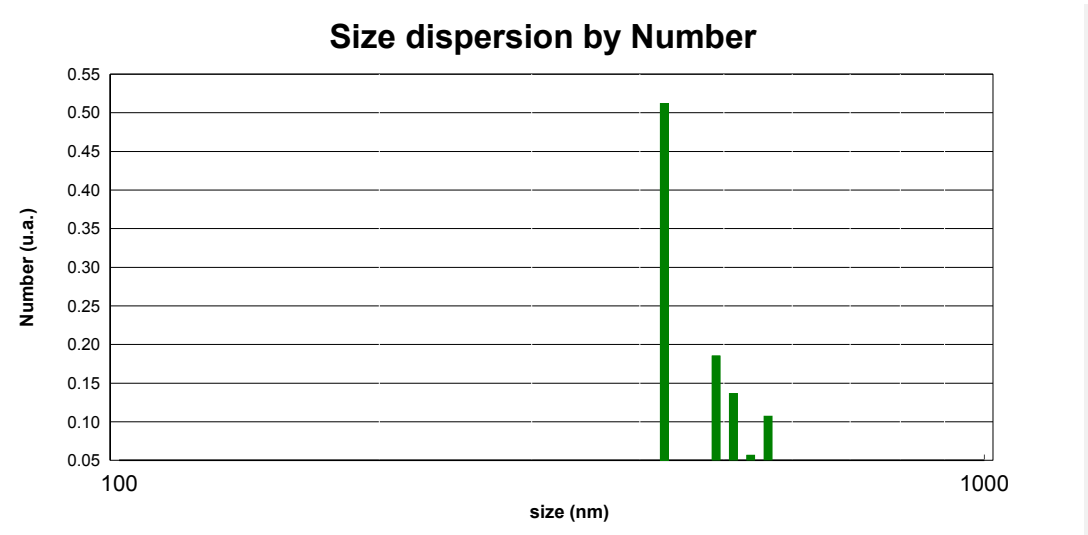


Figure 2 - résultats d'analyse par DLS d'un échantillon de NPs d'hématite synthétisée.

Tableau 1 - Composition du milieu réactionnel dans lequel a lieu l'expérience de bioréduction des NPs de Fe

Eléments	Concentrations en mM
NaCl	3.06
HEPES	37.5
NH_4Cl	25.1
NaH_2PO_4	3.73
KCl	1.20
$MgSO_4.7H_2O$	0.12
$MnSO_4.H_2O$	$2.9 \cdot 10^{-2}$
$FeSO_4.7H_2O$	$3.6 \cdot 10^{-3}$
$CaCl_2.2H_2O$	$6.8 \cdot 10^{-3}$
$CoCl_2.6H_2O$	$4.2 \cdot 10^{-3}$
$ZnCl_2$	$9.0 \cdot 10^{-3}$
$CuSO_4.5H_2O$	$4.2 \cdot 10^{-4}$
$AlK(SO_4)_2.12H_2O$	$2.4 \cdot 10^{-4}$
H_3BO_3	$1.6 \cdot 10^{-3}$
$Na_2MoO_4.2H_2O$	$1.0 \cdot 10^{-3}$
$NiCl_2.6H_2O$	$9.7 \cdot 10^{-4}$
$Na_2WO_4.2H_2O$	$4.0 \cdot 10^{-4}$