

**COMPARAISON DE LA BIODISPONIBILITE ET DE LA TOXICITE DU
LANTHANE, EN LIEN AVEC SA SPECIATION, CHEZ UNE ALGUE
VERTE UNICELLULAIRE, EN PRESENCE DE MATIERES
ORGANIQUES DE DIFFERENTES PROVENANCES**

Par
Louise Zilber

Mémoire présenté pour l'obtention du grade de
Maître ès Sciences (M.Sc.)
en sciences de l'eau

Jury d'évaluation

Président du jury et
examineur interne

Peter G.C. Campbell
INRS-ETE

Examineur externe

Huy Dang
Trent University

Directeur de recherche

Claude Fortin
INRS-ETE

Codirectrice de recherche

Édith Parlanti
EPOC-Université de Bordeaux

REMERCIEMENTS

J'adresse tout d'abord ma gratitude et mes remerciements à Nathalie Geneste, Agnès Feurtet-Mazel, Claude Fortin et Édith Parlanti pour m'avoir permis de réaliser ce programme de bi-diplomation Université de Bordeaux – INRS-ETE. Merci de m'avoir donné l'opportunité de réaliser une formation aussi enrichissante et intéressante. Je suis particulièrement heureuse d'avoir travaillé sur ce projet de recherche, à travers deux pays. Plus particulièrement j'aimerais remercier Claude et Édith, mes directeurs de recherche, pour leur confiance, leur disponibilité et leurs conseils durant ces deux années. Sous leur direction, j'ai pu profiter d'une autonomie qui m'a permis de progresser et d'appréhender le monde de la recherche. Je les remercie sincèrement pour la qualité de leur encadrement. Également, je suis reconnaissante pour le support financier dont mon projet bénéficie, notamment ECCC (Environnement et Changement climatique Canada). Également les bourses de mobilité LabexCOTE et Aquimob.

Merci à l'équipe du Professeur Fortin pour l'accueil chaleureux dont j'ai bénéficié à mon arrivée à l'INRS, ce fut un réel plaisir de travailler avec vous. D'ailleurs je tiens à remercier Océane, Vincent et Laura qui ont pu répondre à toutes mes questions et m'intégrer au sein de la communauté étudiante de l'INRS, l'année 2020 n'aurait pas été aussi agréable sans vous. Spécialement Océane, pour tous ses conseils, l'accompagnement et l'aide qu'elle a pu me donner tout au long de mon projet. Merci pour le temps qu'elle a pris pour me montrer les différentes manipes et m'accompagner pendant tout ce projet. J'aimerais aussi remercier Kim Racine, pour sa disponibilité et pour son aide au laboratoire, merci beaucoup pour toutes les analyses ICP-MS. Merci également aux techniciens de l'INRS, notamment Brigitte Patry, Philippe Girard, Sébastien Duval et Stéphane Prémont, pour les analyses COT, les formations et votre aide au laboratoire.

Je tiens également à remercier l'équipe d'EPOC-LPTC avec qui j'ai pu travailler à Bordeaux, notamment Mahaut Sourzac, qui m'a formé sur les différents appareils et qui est restée disponible pour mes nombreuses questions et problèmes rencontrés. Aussi les stagiaires avec qui j'ai pu travailler pendant ce stage, merci à Léa, avec qui une belle amitié s'est tissée et continuera d'exister après notre formation. Merci également à Emilie et Gwendoline qui ont rendu ce stage particulièrement agréable et joyeux, merci également pour votre aide avec R ! Également dans l'équipe d'EPOC, j'aimerais remercier Alexandra Coynel et Antoine Lerat pour les analyses ICP-MS. Merci beaucoup Antoine pour les explications sur la méthodologie analytique et le traitement des résultats.

Également, merci à Scott Smith et James McGeer pour les échantillons de matière organique naturelle provenant d'Ontario, qui ont été utilisées pour ce projet.

Pour finir, j'aimerais remercier mes parents et ma sœur, qui m'ont toujours soutenu pendant ma formation, malgré la distance. Merci pour vos nombreux colis qui ont égayé mon année 2020 ! Parmi mes amis, j'aimerais remercier Manon, ma partenaire d'étude au café, et tout simplement ma meilleure amie. J'ai été particulièrement heureuse de te retrouver pendant l'année 2021. Également, Jordan pour son soutien et le projet commun. Un grand merci à Santiago, pour son soutien moral inconditionnel et tout ce qu'il m'apporte.

RÉSUMÉ

La matière organique dissoute (MOD) est composée d'une variété de molécules pouvant former des complexes avec des ions métalliques dans les milieux aquatiques. Les terres rares sont des métaux couramment utilisés dans diverses technologies récentes, augmentant ainsi les chances de les retrouver dans les systèmes aquatiques. La toxicité du lanthane a déjà été étudiée dans des milieux avec ou sans ligands organiques simples, mais très peu en présence de MOD. Malgré le fait que la MOD soit le principal agent complexant des lanthanides, l'influence de sa composition sur la toxicité du lanthane n'a encore jamais été étudiée. Ce projet avait donc pour but de comparer la toxicité et la biodisponibilité du lanthane sur une algue verte unicellulaire, en relation avec sa spéciation, entre des matières organiques de différentes provenances. Parmi les MOD sélectionnées, deux proviennent d'un marais et d'un lac en Ontario, respectivement Luther Marsh et Bannister Lake, et les deux autres sont des standards d'acides humiques et fulviques provenant de la rivière Suwannee aux États-Unis. Des tests de toxicité pendant 96 h, à pH 5,0 sur une large gamme de concentration en lanthane (0 - 5000 nM) ont été réalisés en absence et en présence de 3 mg C·L⁻¹ de chaque MOD, et la prise en charge du lanthane par *Chlorella fusca* a pu être quantifiée en fin d'expérience. Les concentrations en lanthane libre ont été déterminées expérimentalement par ultrafiltration partielle et par échange ionique, et elles ont aussi été estimées en utilisant le logiciel Windermere humic aqueous model (WHAM). Les résultats obtenus ont montré que la présence des MOD exacerbe la toxicité du lanthane et son internalisation par les cellules algales. Les mécanismes responsables de cette augmentation restent encore inconnus. Les relations entre la composition et la source des MOD et les concentrations efficaces à 50 % calculées n'étaient pas significatives. Une tendance significative a tout de même été dégagée entre le caractère autochtone des MOD et l'augmentation de la toxicité du lanthane. Ces résultats, qui vont à l'encontre du modèle du ligand biotique, soulèvent l'importance de mieux comprendre l'influence de la matière organique naturelle, ubiquiste dans les milieux aquatiques, sur la toxicité et la biodisponibilité des métaux.

Mots-clés : *Chlorella fusca*, spéciation chimique, modèle du ligand biotique, absorbance, fluorescence, MOD.

ABSTRACT

Dissolved organic matter (DOM) is made up of a variety of organic compounds that can form complexes with metal ions in aquatic environments. Rare earth metals are commonly used in many new technologies, increasing the probability of their release to freshwater systems. The toxicity of lanthanum has already been studied in media with and without simple organic ligands but rarely in the presence of DOM. Despite the fact that DOM is the main complexing agent of lanthanides, the influence of DOM quality on lanthanum toxicity has never yet been studied. The aim of this project was therefore to compare the toxicity and bioavailability of lanthanum with a unicellular green alga, in relation to its speciation, with DOM from different sources. Of the DOMs selected, two were from a marsh and a lake in Ontario, Luther Marsh and Bannister Lake, respectively, and the other two were humic and fulvic acid standards from the Suwannee River, in the United States of America. Toxicity tests of 96 h, at pH 5.0, over a wide concentration range of lanthanum (0 – 5000 nM) were carried out in the absence and in the presence of 3 mg C·L⁻¹ of each DOM. Lanthanum bioaccumulation by *Chlorella fusca* was quantified at the end of the experiment. Free lanthanum concentrations were determined experimentally by partial ultrafiltration and by an ion exchange technique, and were also estimated using the Windermere Humic Aqueous Model (WHAM) software. The results obtained showed that the presence of DOM exacerbates the toxicity of lanthanum and its bioaccumulation by algal cells. The mechanisms underlying this increase in toxicity are still unknown. The relationships between the DOM composition and source and the calculated 50 % effective concentrations were not significant. A significant trend was nonetheless identified between the autochthonous character of DOMs and the increased toxicity of lanthanum. These results, which are in contradiction with the biotic ligand model, show the importance of better understanding the influence of natural organic matter, ubiquitous in aquatic environments, on the toxicity and bioavailability of metals.

Keywords : *Chlorella fusca*, metal speciation, Biotic ligand model, absorbance, fluorescence, DOM quality.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	III
RÉSUMÉ	V
ABSTRACT	VII
TABLE DES MATIÈRES	IX
LISTE DES FIGURES.....	XI
LISTE DES TABLEAUX	XIII
LISTE DES ÉQUATIONS	XV
LISTE DES ABRÉVIATIONS	XVII
1 INTRODUCTION GENERALE	1
1.1 MISE EN CONTEXTE DU PROJET.....	1
1.2 LES TERRES RARES.....	2
1.2.1 <i>Caractéristiques</i>	2
1.2.2 <i>Utilisations</i>	5
1.3 CONTAMINATION DES SYSTEMES AQUATIQUES	7
1.3.1 <i>Introduction dans l'environnement</i>	7
1.3.2 <i>Concentrations mesurées</i>	8
1.3.3 <i>Distribution et spéciation</i>	10
1.4 BIODISPONIBILITE ET TOXICITE DU LANTHANE	10
1.4.1 <i>Toxicité sur les microorganismes</i>	10
1.4.2 <i>Modèle du ligand biotique</i>	12
1.5 INTERACTIONS AVEC LA MOD.....	12
1.6 OBJECTIFS DU PROJET	16
2 ARTICLE SCIENTIFIQUE.....	19
2.1 ABSTRACT	21
2.2 GRAPHICAL ABSTRACT.....	22
2.3 INTRODUCTION	22
2.4 MATERIAL AND METHODS	24
2.4.1 <i>Material and reagents</i>	24
2.4.2 <i>DOM characterization</i>	25
2.4.3 <i>Algae culture conditions</i>	27
2.4.4 <i>Exposure conditions</i>	27
2.4.5 <i>La spéciation</i>	29
2.4.6 <i>La quantification (ICP-MS)</i>	31
2.4.7 <i>Data treatments</i>	31
2.5 RESULTS.....	32
2.5.1 <i>DOM characterization</i>	32

2.5.2	<i>Speciation</i>	37
2.5.3	<i>Toxicity and bioaccumulation</i>	39
2.5.4	<i>La toxicity as a function of optical parameters of DOM</i>	43
2.6	CONCLUSIONS.....	44
2.7	ACKNOWLEDGMENTS	45
2.8	SUPPORTING INFORMATION	46
3	DISCUSSION GÉNÉRALE ET CONCLUSION	49
3.1	TOXICITE ET BIODISPONIBILITE DU LANTHANE EN PRESENCE DE MOD	49
3.2	PERSPECTIVES	50
4	BIBLIOGRAPHIE	53
5	ANNEXE	63

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1.1 TABLEAU PERIODIQUE IDENTIFIANT LES TERRES RARES (MODIFIE DE GEOLOGY.COM).....	3
FIGURE 1.2 POURCENTAGE DES RESSOURCES MONDIALES EN ETR, REPARTIES PAR PAYS. LA CATEGORIE « AUTRES » REGROUPE LES DONNEES DE TOUS LES AUTRES PAYS (PAR EXEMPLE, L'AFGHANISTAN, L'ARGENTINE, LA FINLANDE, LE PEROU, LA SUEDE, ETC.) (D'APRES LES DONNEES DE WENG ET AL., 2015) .	4
FIGURE 1.3 REPARTITION (%) PAR SECTEUR D'ACTIVITE DE L'UTILISATION DES TERRES RARES (CASCALES ET AL. 2017, D'APRES LES DONNEES DE J.B. HEDRICK, US GEOLOGICAL SURVEY, 2009).	6
FIGURE 1.4 PRINCIPAUX USAGES DU LANTHANE (D'APRES LES DONNEES DE GOONAN, 2011).....	7
FIGURE 1.5 DISTRIBUTION DES ETR DANS LES SOLS (SELON MARKERT, 1987).	9
FIGURE 1.6 REPRESENTATION DU CONTINUUM DE TAILLE DE LA MATIERE ORGANIQUE DANS LES ENVIRONNEMENTS AQUATIQUES. MODIFIEE A PARTIR DE (AIKEN ET AL., 2011).	13
FIGURE 1.7 CHLORELLA FUSCA AU MICROSCOPE X1000 (AMERICAN SOCIETY OF PLANT BIOLOGISTS, 2010).....	17
FIGURE 2.1 EEM MATRICES OF THE FOUR COMPONENTS DETERMINED BY PARAFAC.	35
FIGURE 2.2 FLUORESCENCE INTENSITY (R.U.) OF EACH COMPONENT IDENTIFIED BY PARAFAC ANALYSIS IN DOM.	35
FIGURE 2.3 FRACTOGRAMS OF THE DIFFERENT DOM OBTAINED BY UV DETECTION AS A FUNCTION OF RETENTION TIME (1 kDa PES MEMBRANE, ELUTION PROGRAM WITH CROSS-FLOW 4 mL·MIN ⁻¹ DECREASING LINEARLY TO 0 mL·MIN ⁻¹ FOR 20 MIN). THE CROSS-FLOW IS REPRESENTED BY THE RED LINE. ..	36
FIGURE 2.4 FRACTOGRAMS OF LUTHER MARSH WITH AND WITHOUT LA (5000 NM) OBTAINED BY UV DETECTION AS A FUNCTION OF RETENTION TIME (1 kDa PES MEMBRANE, ELUTION PROGRAM WITH CROSS-FLOW OF 4 mL·MIN ⁻¹ DECREASING LINEARLY TO 0 mL·MIN ⁻¹ FOR 20 MIN). THE CROSS-FLOW IS REPRESENTED BY THE RED LINE.....	37
FIGURE 2.5 [LA ³⁺] VERSUS [LA] _{TOT} BETWEEN DOMs (3 MG C·L ⁻¹) AT PH = 5.0 IN MHSM-2 MEDIA. THE DOTTED LINE CORRESPONDS TO THE MEDIUM WITHOUT DOM. THE VALUES REPRESENT MEAN ± STANDARD DEVIATION.	38
FIGURE 2.6 DOSE-RESPONSE CURVES FOR <i>C. FUSCA</i> AS A FUNCTION OF PUF MEASURED FREE LA ³⁺ CONCENTRATIONS A) WITHOUT DOM; AND IN THE PRESENCE OF 3 MG C·L ⁻¹ OF DOM B) BANNISTER LAKE, C) LUTHER MARSH, D) SRFA AND E) SRHA; IN MHSM-2 FOR 96 H; PH = 5.0; (N = 3).	41
FIGURE 2.7 INTERNALIZED LA BY <i>C. FUSCA</i> CELLS AFTER 96 H OF EXPOSURE, AS A FUNCTION OF FREE MEASURED [LA ³⁺]; COMPARISON OF CONDITIONS WITH (3 MG C·L ⁻¹) AND WITHOUT ORGANIC MATTER (LOG-LOG SCALE), IN MHSM-2 MEDIUM; PH = 5.0; N = 3. THE VALUES REPRESENT MEANS ± STANDARD DEVIATIONS.	43
FIGURE 2.8 RELATIONSHIP BETWEEN [LA ³⁺] PUF CALCULATED AND MEASURED USING WHAM/MODEL VII IN THE PRESENCE OF 3 MG C·L ⁻¹ OF DOM, IN MHSM-2. DIFFERENT WHAM SCENARIOS ARE REPRESENTED. THE VALUES ARE SHOWN AS MEANS ± STANDARD DEVIATIONS.	47
FIGURE 2.9 MASS OF LANTHANUM QUANTIFIED BY ICP-MS IN EACH SIZE CLASS OF MOLECULES OF THE LM DOM SAMPLE WITH LA ([LA] = 5000 NM) SEPARATED BY AF4. NO REPLICATE WERE DONE. THE NUMBERS 1 TO 4 REFER TO THE SIZE CLASS OF MOLECULES COLLECTED IN TERMS OF THEIR RETENTION TIME: 1) 20 TO 27 MIN; 2) 27 TO 31 MIN; 3) 31 TO 35 MIN AND 4) 35 TO 45 MIN.	48
FIGURE 5.1 MATRICES TRIDIMENSIONNELLES D'EXCITATION-EMISSION DE BANNISTER LAKE.....	63
FIGURE 5.2 MATRICES TRIDIMENSIONNELLES D'EXCITATION-EMISSION DE LUTHER MARSH.....	63

FIGURE 5.3 MATRICES TRIDIMENSIONNELLES D'EXCITATION-EMISSION DE LA SRFA.	64
FIGURE 5.4 MATRICES TRIDIMENSIONNELLES D'EXCITATION-EMISSION DE LA SRHA.	64

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1.1 PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES ETR.	5
TABLE 2.1 MAIN PEAKS OF FLUOROPHORES AND THEIR CHARACTERISTICS (PARLANTI, 2000).	26
TABLE 2.2 DOM OPTICAL PARAMETERS CALCULATED FROM ABSORBANCE ($E2/E3$, $SUVA_{254}$, S_R ; $N = 3$) AND FLUORESCENCE (FI , BIX ; $N = 1$) SPECTRA.	33
TABLE 2.3 CALCULATED EC_{50} OF LA FOR <i>C. FUSCA</i> AFTER 96 H OF EXPOSURE IN THE ABSENCE AND PRESENCE (3 MG C.L^{-1}) OF DOM; MHSM-2; $PH = 5.0$; ($N = 3$). VALUES IN SQUARE BRACKETS REPRESENT THE 95% CONFIDENCE INTERVALS).....	40
TABLE 2.4 COMPOSITION IN TOTAL CONCENTRATION (M) OF MHSM-2 AND MHSM-R SOLUTIONS.....	46
TABLE 2.5 INPUT DATA OF HA AND FA CONCENTRATIONS FOR WHAM MODELLING.	46
TABLE 2.6 RELATIONSHIP STRENGTH BETWEEN PREDICTED AND MEASURED $[LA^{3+}]$, REPRESENTED BY THE REGRESSION PARAMETER R^2 , BETWEEN DIFFERENT INPUT DATA SCENARIOS OF $[HA]$ AND $[FA]$ IN WHAM FOR EACH DOM.	47

LISTE DES ÉQUATIONS

$\mathbf{L} = \mathbf{v} \times \mathbf{p}$ (EQUATION 2.1)	30
--	----

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Abs	Absorbance
AF4	Fractionnement par couplage flux-force avec flux asymétrique
ANOVA	<i>Analysis of variance</i>
BIX	Indice d'activité biologique
BL	Bannister Lake
BLM	Modèle du ligand biotique
Cd	Cadmium
CDOM	<i>Chromophoric dissolved organic matter</i>
CE ₅₀	Concentration entraînant 50 % de l'effet maximal observé
Cu	Cuivre
COD	Carbone organique dissous
COT	Carbone organique total
Da	Dalton
EDTA	Acide éthylène-diamine-tétra-acétique
EEM	Matrice d'excitation-émission
ETR	Éléments de terres rares
Fe	Fer
FI	Indice de fluorescence
HIX	Indice d'humification
IET	Technique d'échange ionique
La	Lanthane
LM	Luther Marsh
MALLS	Détecteur à diffusion de lumière multi-angle
MES	Acide 2-(<i>N</i> -morpholino) éthanosulfonique
MOD	Matière organique dissoute
MOP	Matière organique particulaire
Ni	Nickel
PARAFAC	<i>Parallel factor analysis</i>
Pb	Plomb
PES	Polyethersulfone
POD	Phosphore organique dissous
PUF	Ultrafiltration partielle

S _R	Rapport de pente spectrale
SRFA	<i>Suwannee river fulvic acid</i>
SRHA	<i>Suwannee river humic acid</i>
UV/Vis	Ultraviolet-visible
WHAM	<i>Windermere Humic Acid Model</i>
Zn	Zinc

1 INTRODUCTION GENERALE

1.1 Mise en contexte du projet

L'écotoxicologie est un domaine relativement récent, dont les origines remontent au milieu du 20^e siècle, et qui est dédié à l'étude des impacts des contaminants sur l'environnement. Les métaux sont d'un grand intérêt écotoxicologique et les activités anthropiques participent à leur présence croissante dans les milieux aquatiques, par les activités minières par exemple. Parmi eux, les éléments de terres rares (ETR) jouent un rôle essentiel dans le développement de nouvelles technologies vertes, ainsi que dans la plupart des technologies électroniques modernes et dans les produits industriels et médicaux. Les émissions vers les environnements aquatiques devraient donc augmenter sous la forme d'émission par les eaux usées industrielles, les déchets électroniques et le ruissellement de surface, par exemple sur des sites d'extraction minière. D'ailleurs, l'étude de la distribution des terres rares dans les systèmes aquatiques montre l'influence des activités anthropiques, comme les émissions industrielles de lanthane dans le Rhin (Kulaksız & Bau, 2011), ou des systèmes de traitement des eaux usées contaminées par le gadolinium dans la région de Berlin (Bau & Dulski, 1996). Les valeurs seuils de toxicité du lanthane envers les organismes aquatiques ont pu être résumées dans une publication de Herrmann et al. (2016), et montrent que ce métal peut être toxique envers les organismes même à de faibles concentrations (de l'ordre du ppm). Même si les publications sur les données écotoxicologiques des terres rares sont en augmentation depuis plusieurs années, il est nécessaire de prendre en compte les variables qui influencent la spéciation chimique des métaux en solution, et donc leur biodisponibilité envers les organismes aquatiques. Par exemple, la présence de matière organique dissoute (MOD) est un paramètre important à prendre en compte, puisqu'elle complexe les métaux, notamment avec ses groupes fonctionnels carboxyliques et phénoliques (Tipping, 2002). L'étude de son influence sur la toxicité montre qu'elle contribue généralement à diminuer leur toxicité envers les organismes aquatiques, mais cet effet est encore peu quantifié, et dépend du métal étudié ainsi que des conditions expérimentales (pH, force ionique) (Al-Reasi et al., 2012; Vigneault & Campbell, 2005). Il est donc important de se rapprocher des conditions environnementales pour pouvoir prédire au mieux la toxicité des métaux en milieu aquatique.

Des modèles informatiques de spéciation chimique prenant en compte la présence de MOD, comme le *Windermere Humic Aqueous Model* ou WHAM, ne sont pas encore assez exacts lorsque les résultats sont comparés à des techniques expérimentales pour certains métaux

(Leguay et al., 2016; Mueller et al., 2012b). En effet, les résultats sont sensibles à la qualité des données thermodynamiques, qui sont en constante évolution. De plus, il a été démontré qu'il est non seulement important de considérer les propriétés de complexation de la MOD avec les métaux pour l'étude de leur toxicité, mais aussi l'influence métabolique et physiologique directe de la MOD sur les organismes (Parent et al., 1996).

L'extrême diversité de la composition de la MOD en fait une variable difficile à caractériser et l'influence de sa source ou de sa nature sur la biodisponibilité et la toxicité des métaux est encore peu comprise, et dépend des métaux étudiés. Ce projet a donc pour but d'évaluer l'influence de la composition de la MOD sur la biodisponibilité et la toxicité d'un ETR, le lanthane, chez l'algue verte unicellulaire *Chlorella fusca*. Le lanthane est un métal d'intérêt puisqu'il est largement utilisé dans plusieurs domaines, comme le craquage pétrolier, les technologies vertes, et même parfois en agriculture. Il fait également partie des terres rares les plus abondantes dans l'environnement (Hermann et al., 2016). Deux MOD naturelles provenant d'un lac (Bannister Lake) et d'un marais (Luther Marsh) en Ontario (Canada), ainsi que les standards d'acides humiques et fulviques de la rivière Suwannee (États-Unis), SRHA et SRFA, obtenus de l'International Humic Substances Society (IHSS), ont été utilisés et caractérisés selon leurs propriétés optiques. Des tests de toxicité de 96 h à pH 5,0 ont été effectués avec une gamme de concentration en lanthane (10 à 5000 nM) et 3 mg C·L⁻¹ de MOD. Les résultats de toxicité ont donc été comparés entre les MOD et avec la condition sans MOD, et le lien entre la composition chimique de la MOD et la toxicité du lanthane a été exploré. La spéciation du lanthane a été déterminée grâce à deux techniques expérimentales (technique d'échange ionique et ultrafiltration partielle), dont les résultats ont été comparés aux prédictions du logiciel WHAM VII. Ces résultats sont présentés et discutés dans l'article intitulé *Comparaison de la biodisponibilité et la toxicité du lanthane, en présence de matières organiques de différentes provenances*, présenté en deuxième partie de ce mémoire.

1.2 Les terres rares

1.2.1 Caractéristiques

Les ETR sont un groupe de métaux comprenant les quinze lanthanides, ainsi que le scandium et l'yttrium, pour leurs analogies de propriétés chimiques avec ces derniers. La série des éléments des lanthanides commence par le lanthane, de numéro atomique 57, et se termine par le lutécium de numéro 71. Tout comme pour le groupe des actinides, ils sont représentés dans une ligne en dehors du tableau périodique de Mendeleïev (Figure 1.1). Les terres rares peuvent être classées en deux groupes en fonction de leur configuration électronique : les terres rares légères (du

lanthane au gadolinium) et les terres rares lourdes (du terbium au lutécium, ainsi que le scandium et l'yttrium au vu de leurs rayons ioniques et de leurs propriétés chimiques, similaires aux éléments de cette catégorie).

Terres rares légères
Terres rares lourdes

H																	He	
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne	
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar	
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr	
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe	
Cs	Ba	La-Lu	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn	
Fr	Ra	Ac-Lr	Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt										
Lanthanides																		
		La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu		
Actinides																		
		Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr		

Figure 1.1 Tableau périodique identifiant les terres rares (modifié de Geology.com).

Le terme de « terres rares » est historiquement associé à la difficulté de les isoler sous une autre forme chimique que l'oxyde (appelé « terre » à l'époque). Il fait également référence à leur faible concentration dans les minerais (Leveque et al., 2001). En revanche, ils sont relativement abondants dans la croûte terrestre, dont les principales réserves sont distribuées dans 34 pays (Figure 1.2) (Chen, 2011). Leur abondance naturelle est comparable à celle d'autres métaux plus usuels, comme le cobalt, l'étain ou le plomb, et globalement elle est plus importante que celles de l'argent ou de l'or (Cascales et al., 2017).

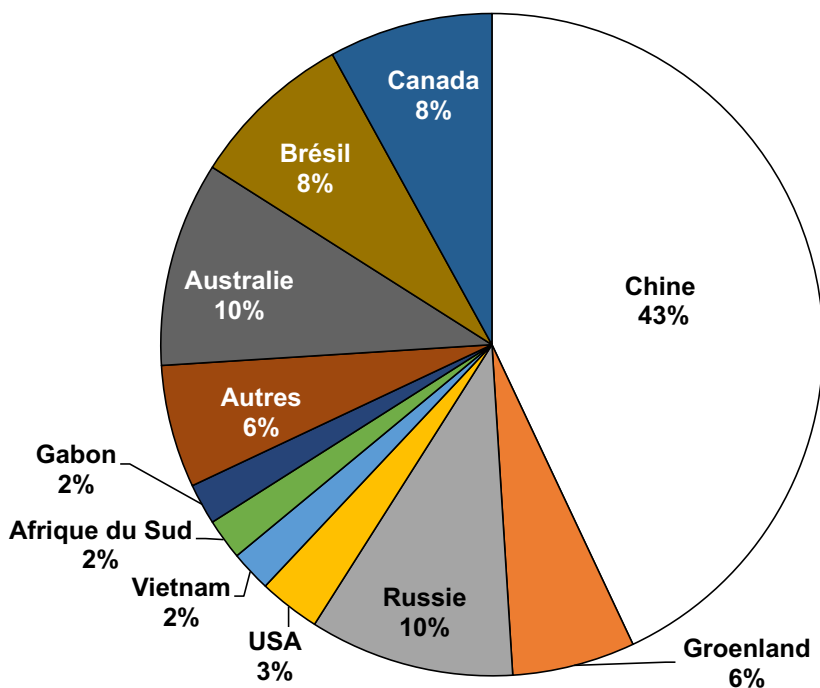


Figure 1.2 Pourcentage des ressources mondiales en ETR, réparties par pays. La catégorie « Autres » regroupe les données de tous les autres pays (par exemple, l'Afghanistan, l'Argentine, la Finlande, le Pérou, la Suède, etc.) (d'après les données de Weng et al., 2015).

Les terres rares ont des propriétés chimiques très similaires. Pour comprendre ces propriétés, il faut s'intéresser à leur structure électronique et leur configuration (Tableau 1.1). La chimie de coordination de ces métaux est largement dominée par le degré d'oxydation +III, résultant de la perte des électrons sur les couches électroniques 6s et 5d (Cotton, 2006). C'est le cas du lanthane par exemple. Mais certains lanthanides peuvent exister au degré +II (par exemple, l'euporium et le samarium) ou +IV (par exemple le cérium) (Cotton, 2006). Également, à mesure que la charge nucléaire augmente du La au Lu, les électrons sont ajoutés à la couche électronique interne 4f, plutôt que sur les couches électroniques externes (Cotton, 2006). Ainsi, les couches 4f participent peu aux liaisons chimiques. Au final, le seul paramètre variant le long de la série de ces éléments est la taille de l'ion (quantifiée à l'aide du rayon ionique). En effet, du début à la fin de la série, le rayon ionique décroît régulièrement, phénomène appelé « contraction lanthanidique », atteignant 20 % de la distance maximale à la fin de la série (Sonke & Salters, 2006). En revanche, les lanthanides possèdent des propriétés physiques différentes (notamment des propriétés magnétiques, spectrales et catalytiques remarquables), qui expliquent leurs utilisations variées dans plusieurs domaines (Goonan, 2011).

Tableau 1.1 Propriétés physico-chimiques des ETR.

<i>Élément</i>	<i>Numéro atomique</i>	<i>Masse moléculaire</i>	<i>État d'oxydation</i>
Sc	21	44,96	3
Y	39	88,91	3
La	57	138,91	3
Ce	58	140,12	3 ou 4
Pr	59	140,91	3
Nd	60	144,24	3
Pm	61	145,00	3
Sm	62	150,36	2 ou 3
Eu	63	151,97	2 ou 3
Gd	64	157,25	3
Tb	65	158,93	3 ou 4
Dy	66	162,50	3
Ho	67	164,93	3
Er	68	167,25	3
Tm	69	168,94	3
Yb	70	173,04	2 ou 3
Lu	71	174,97	3

1.2.2 Utilisations

Les ETR ont été découverts pour la première fois en 1788. Cependant, la production et la consommation annuelles mondiales d'ETR étaient inférieures à 5 000 tonnes métriques d'oxydes de terres rares avant les années 1950. Jusqu'aux années 1960, ils étaient même rarement utilisés (Chakhmouradian & Wall, 2012). Depuis les années 1960, les applications des terres rares se sont progressivement étendues à la vie quotidienne, et par conséquent la production et la consommation mondiales d'ETR ont connu une augmentation significative au cours des décennies suivantes (Chakhmouradian & Wall, 2012).

Au vu de leurs propriétés chimiques, les terres rares sont utilisées en métallurgie en tant qu'agent de stabilité, dans les batteries électrochimiques ou comme catalyseurs dans le craquage de pétrole et dans la postcombustion automobile (Goonan, 2011). Les applications liées à leurs propriétés optiques requièrent une pureté à 99,99 % ou plus, et sont reliées à la fabrication de verres et céramiques, de lasers et de luminophores (Cascales et al., 2017). Enfin, l'utilisation de leurs propriétés magnétiques a permis la mise au point d'aimants de plus en plus performants et façonnables (Cascales et al., 2017). Les ETR ont également été utilisés en agriculture afin

d'augmenter la productivité et la qualité des cultures agricoles, une pratique principalement observée en Chine, où les engrais commerciaux sont enrichis en terres rares (Tommasi et al., 2020).

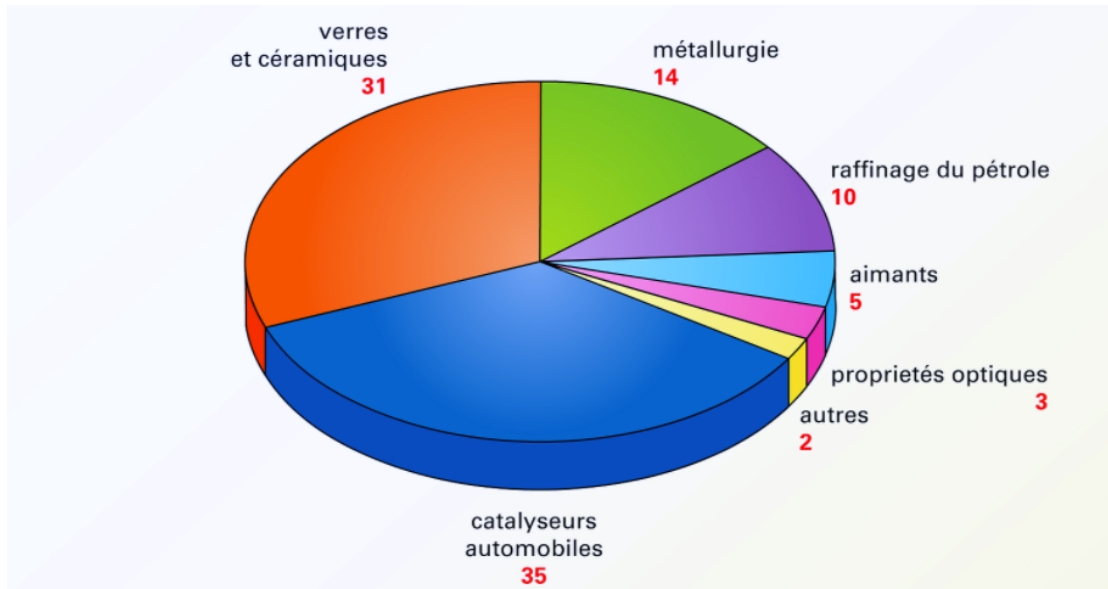


Figure 1.3 Répartition (%) par secteur d'activité de l'utilisation des terres rares (Cascales et al. 2017, d'après les données de J.B. Hedrick, US Geological Survey, 2009).

Plus particulièrement, le lanthane est principalement utilisé comme additif pour le verre, dans les convertisseurs catalytiques automobiles, pour les batteries au nickel, pour la fabrication des pierres à briquet, ou encore en métallurgie, toujours sous la forme d'oxyde de lanthane (Goonan, 2011). Sous forme de carbonate de lanthane, il est utilisé comme chélateur de phosphate en médecine. Il est également utilisé dans la fabrication du Phoslock[®], une argile bentonite modifiée qui est de plus en plus utilisée comme outil de géo-ingénierie pour le contrôle des rejets de phosphore présent dans les sédiments du lit des lacs (Spears et al., 2013). La Figure 1.4 présente la part d'utilisation du lanthane dans ces différents domaines. Il représente d'ailleurs le deuxième lanthanide, après le cérium, le plus consommé globalement, relativement aux autres.

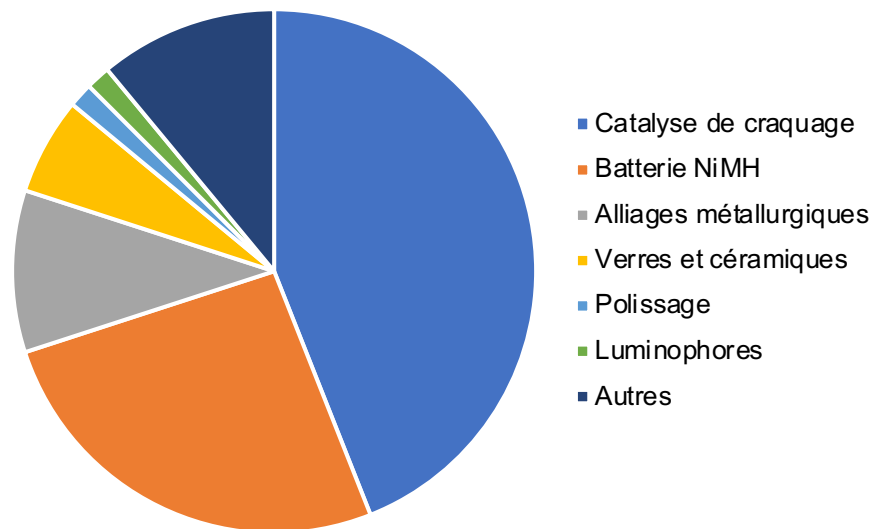


Figure 1.4 Principaux usages du lanthane (d'après les données de Goonan, 2011).

Au final, les ETR sont de plus en plus utilisées dans le secteur des hautes technologies, dont la demande ne cesse d'augmenter, notamment en ce qui concerne la fibre optique, les aimants et les convertisseurs catalytiques (Chakhmouradian & Wall, 2012, Chen, 2011). De plus, la demande globale en terres rares pour le secteur des énergies propres, pour lequel le lanthane est l'un des éléments le plus utilisés, est prévue d'augmenter d'ici 2030 (Chakhmouradian & Wall, 2012). D'un point de vue de leur fin de vie, il est à noter que les terres rares ne sont majoritairement pas recyclées (Goonan, 2011). Cette demande croissante pour les ETR pourrait donc avoir un impact sur leur présence dans l'environnement superficiel (Kulaksız & Bau, 2011).

1.3 Contamination des systèmes aquatiques

1.3.1 Introduction dans l'environnement

Présents dans la croûte terrestre, il est naturel de retrouver les ETR dans les systèmes aquatiques suite à des phénomènes d'érosion ou de resuspension. D'ailleurs, le lanthane est la troisième terre rare la plus abondante dans la croûte terrestre, après le cérium et le néodyme (Leveque et al., 2001). Les retombées atmosphériques de particules chargées en éléments de terres rares participent également au bruit de fond géochimique mesuré dans l'environnement.

Les activités anthropiques contribuent aussi à l'introduction de ces éléments dans l'environnement. C'est principalement lors de leur extraction et leur affinage que les terres rares vont être libérées, puis retrouvées dans les systèmes aquatiques par des phénomènes de

ruissellement (EPA 2012). Plus de 250 sortes de minéraux contenant des terres rares sont connus (Hu et al., 2004). Cependant, seuls certains d'entre eux ont une importance commerciale, pour la production industrielle (métaux, alliages, composés, engrais). Parmi eux on retrouve le minerai le plus abondant, la monazite, qui est un orthophosphate de terres rares et de thorium, puis la bastnaésite, un fluorocarbonate riche en terres cériques, et enfin le xénotime, également un orthophosphate, riche en terres yttriques, mais actuellement peu utilisé (Cotton, 2006). En Chine, il est également possible de retrouver des terres rares dans des argiles, dont les minerais sont les plus exploités actuellement, dans des mines à ciel ouvert (Cotton, 2006). Lorsqu'elles sont utilisées comme catalyseurs, c'est par les effluents industriels qu'elles seront introduites dans les milieux aquatiques (Goonan, 2011). Les rejets d'eaux usées et les dépôts atmosphériques participent également à leur présence croissante dans l'environnement. Les raffineries de pétrole par exemple, émettent des ETR sous forme particulière provenant des catalyseurs de craquage de pétrole (principalement La, Ce et Sd) (Pacyna & Pacyna, 2001). Les terres rares peuvent enfin être retrouvées dans les sols agricoles suite à l'utilisation d'engrais (Goonan, 2011). D'ailleurs, les concentrations de ces métaux dans les sols peuvent atteindre des valeurs élevées en raison de leur faible mobilité (Sneller et al., 2000).

1.3.2 Concentrations mesurées

Typiquement, les concentrations des ETR dans la croûte terrestre suivent la règle d'Oddo-Harkins, selon laquelle les éléments (de numéro atomique supérieur à 4) sont plus abondants lorsque leur numéro atomique est pair, que quand il est impair. Cet effet est illustré à la Figure 1.5, avec une distribution décroissante avec l'augmentation du numéro atomique (Markert, 1987). Les concentrations naturelles relevées par MacMillan et al. (2019) pour les ETR dans les eaux douces de surface et dans les sédiments se trouvaient respectivement entre $8,3 \cdot 10^{-6}$ et $0,002 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, et $41,7$ et $36,2 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}$. Les concentrations dans les eaux douces de surface pour le lanthane se situaient entre $3,0 \cdot 10^{-6}$ et $0,0008 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (MacMillan et al., 2019). L'augmentation des apports anthropiques aux systèmes naturels peut cependant altérer de façon permanente les signatures naturelles des terres rares (Noack et al., 2014).

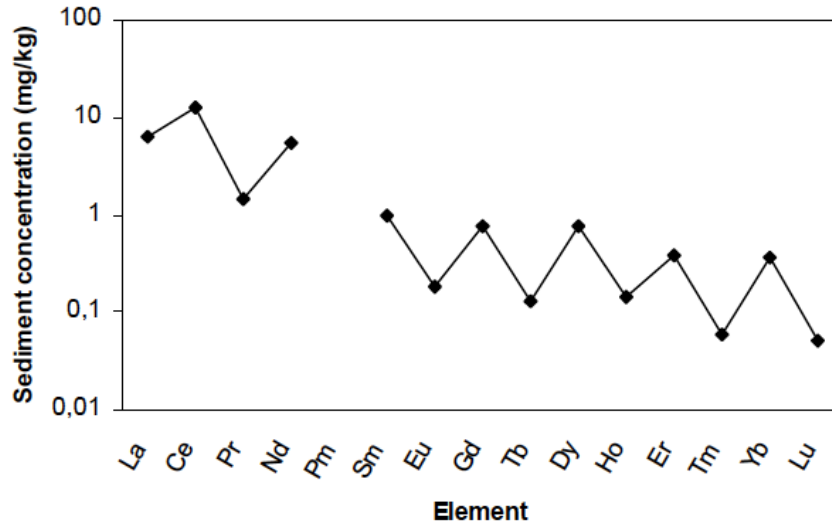


Figure 1.5 Distribution des ETR dans les sols (selon Markert, 1987).

Une étude menée par Spears et al. (2013) a permis de mettre en évidence l'augmentation des concentrations en lanthane associée à l'utilisation de Phoslock[®], un produit composé d'argile et de lanthane visant à capter le phosphore émis par les sédiments du cours d'eau, dans 16 lacs (Royaume-Uni, Pays-Bas, Allemagne, Nouvelle-Zélande). Les concentrations totales de lanthane dans les eaux de surface et de fond étaient inférieures à 0,001 mg·L⁻¹ dans tous les lacs avant l'application, mais atteignaient des concentrations respectives entre 0,026 et 2,30 mg·L⁻¹ et de 0,0002 à 0,14 mg·L⁻¹ après l'application (Spears et al., 2013). Les activités anthropiques ont également affecté les concentrations en ETR dans le Rhin. Leur distribution dans ce fleuve montre l'impact anthropique sur la contamination au gadolinium, couramment observée dans les rivières des pays densément peuplés, possédant un système de santé très développé (Kulaksız & Bau, 2011). Cependant, le Rhin transporte également des concentrations anormalement élevées de lanthane d'origine anthropique, et attribuées aux effluents d'une usine de production de catalyse de craquage, destinée aux raffineries de pétrole. Des concentrations en ETR et lanthane dissous respectives de 52 mg·kg⁻¹ et 49 mg·kg⁻¹ ont pu être retrouvées dans le fleuve (Kulaksız & Bau, 2011). En Chine, la ville de Baotou est caractérisée par la présence importante de résidus miniers en ETR, et les concentrations en terres rares totales dans le sol peuvent atteindre jusqu'à 28 g·kg⁻¹ (Kynicky et al., 2012), contaminant ensuite les systèmes aquatiques par les eaux de ruissellement. Les eaux usées rejetées par ces usines entraînent également avec elles une importante contamination en terres rares sur de longues distances (Kynicky et al., 2012). Suite à l'augmentation des concentrations en ETR dans les environnements aquatiques, une étude réalisée par Sneller et al. (2000), a permis de calculer les concentrations maximales

permises en utilisant des données écotoxicologiques. Pour le lanthane, elle est de $10,1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ pour les eaux douces de surface et de $4,7 \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ pour les sédiments. Cependant, ces valeurs peuvent être biaisées par la précipitation du lanthane avec le phosphate présent dans le milieu (Sneller et al., 2000). Les valeurs seuils provisoires des recommandations fédérales canadiennes pour la qualité de l'environnement pour le lanthane dans l'eau et dans les sédiments sont respectivement de $2,59 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ et $0,038 \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Dixit, 2021 ; communication personnelle). Ces valeurs sont cependant provisoires, les valeurs définitives n'étant pas encore publiées. Ces résultats soulignent donc la nécessité d'étudier le devenir et l'impact des ETR dans les environnements aquatiques, au vu de leur rejet croissant dans l'environnement.

1.3.3 Distribution et spéciation

Dans les milieux aquatiques, les métaux se répartissent entre les formes d'ion libre (M^{n+}) ou complexés à des ligands inorganiques (ex. : OH^- , Cl^- , F^- , SO_4^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, CO_3^{2-}), ou organiques (ex. : matière organique dissoute), avec lesquels les lanthanides se lient facilement (Moermond et al., 2001). D'ailleurs, en raison de leur forte affinité pour les colloïdes et les particules, ceux-ci sont principalement responsables du transport et de la distribution des lanthanides dans les cours d'eau (Herrmann et al., 2016). Leur répartition entre ces espèces, dissoutes libres ou complexées et particulaires constitue leur spéciation chimique et physique.

La spéciation de ces métaux est influencée par les conditions physico-chimiques et la composition du milieu, comme le pH, la force ionique et la présence de différents agents complexant organiques et inorganiques (Herrmann et al., 2016). Parmi les formes de lanthanides complexées, la matière organique est l'agent complexant majoritaire. Les concentrations de métal, sous forme d'ion libre et en complexe avec de la matière organique, auront une influence sur la quantité de métal lié aux sites de liaisons présents à la surface de la membrane cellulaire des organismes aquatiques (Campbell & Fortin, 2013). Il est donc nécessaire d'étudier la spéciation chimique des lanthanides dans le milieu, pour la prédiction de la prise en charge et la toxicité de ces métaux.

1.4 Biodisponibilité et toxicité du lanthane

1.4.1 Toxicité sur les microorganismes

Pour l'évaluation des risques environnementaux, il est possible d'utiliser les concentrations d'effet obtenues sur des organismes, lors d'études expérimentales en laboratoire. Les résultats

statistiques des tests de toxicité sont généralement rapportés en fonction de la concentration efficace à 50 % (CE₅₀) (Sebaugh, 2011). Elle correspond à la concentration entraînant 50 % de l'effet maximal observé. La diversité des seuils d'effet obtenue pour la toxicité du lanthane en milieu aquatique montre qu'il existe de nombreuses variations entre les conditions expérimentales des différentes études. En effet, la biodisponibilité et la toxicité des métaux sont influencées par la composition du milieu d'exposition, notamment le pH, la force ionique et la présence d'agents complexant, mais aussi par le modèle biologique (Herrmann et al., 2016). Les effets d'inhibition de croissance cellulaire par le lanthane varient donc largement avec des CE₅₀ pour les algues unicellulaires comprises entre 0,45 mg·L⁻¹ pour *Raphidocelis subcapitata* (Stauber and Binet, 2000) et 13,0 mg·L⁻¹ pour *Scenedesmus subspicatus*. Cependant, la CE₅₀ de 0,45 mg·L⁻¹ obtenue par Stauber & Binet (2000) doit être interprétée avec prudence selon les auteurs, en raison des pertes de lanthane mesurées au cours de l'essai biologique, puisque celui-ci précipite en formant des complexes avec le phosphate présent dans le milieu. Aussi, la présence d'ions calcium a montré une réduction de la toxicité du lanthane et du cérium sur *Chlorella fusca* (Aharchaou et al., 2020).

Au niveau physiologique, le La³⁺ inhibe de manière réversible la phototaxie de *Chlamydomonas reinhardtii* en affectant la pompe à calcium (Das et al., 1988). Il bloque le transport électrogénique du Ca²⁺ lors d'une réponse photophobe chez l'algue bleu-vert *Phormidium uncinatum*, même à de faibles concentrations (Das et al., 1988). L'inhibition de la photosynthèse des plantes est connue pour être l'une des bases physiologiques des dommages occasionnés par le lanthane (Hu et al., 2016). Parallèlement, une étude de la nature chimique de l'interaction métal-microbe (par diffraction des rayons X et spectroscopie FTIR) a montré l'implication importante des groupes carboxyles et phosphates dans la liaison du lanthane par la biomasse bactérienne, et le déplacement du potassium et calcium cellulaire (Kazy et al., 2006). L'accumulation de lanthane se trouvait dans toute la cellule bactérienne, avec quelques dépôts granulaires à la périphérie de la cellule et dans le cytoplasme (Kazy et al., 2006).

Par rapport aux effets, une étude réalisée par Beaubien (2015) sur l'algue *C. fusca* pour ses travaux de maîtrise montre un effet stimulateur de la croissance algale, qui parfois était supérieure à celle des témoins, pour de faibles concentrations de lanthane ou de cérium. Cependant, après une certaine concentration, le lanthane devenait toxique pour l'algue, diminuant ainsi sa densité cellulaire. D'après les résultats de toxicité du lanthane sur l'algue verte unicellulaire *C. fusca*, une CE₅₀ de 0,56 ± 0,28 mg La³⁺·L⁻¹ a été obtenue pour une exposition de 96 h, et de 0,60 ± 0,06 mg La³⁺·L⁻¹ selon la concentration en ion libre calculée, sur 120 h.

Pour le lanthane et le cérium, l'utilisation de ligands organiques simples a démontré que la concentration en ions libres calculée était un bon indicateur de toxicité (Aharchaou et al., 2020). L'inhibition de la croissance des algues était également corrélée aux concentrations intracellulaires de lanthanides. L'augmentation de la concentration de calcium ambiant a protégé les algues testées en réduisant la quantité de lanthanide internalisée dans les cellules. Ces résultats suggèrent qu'à pH constant (5,5), l'accumulation et la toxicité des terres rares sont liées à la concentration en ions libres et à la concentration ambiante de calcium, comme prédit par le modèle de ligand biotique (BLM) (Aharchaou et al., 2020).

1.4.2 Modèle du ligand biotique

La spéciation d'un métal, les propriétés biologiques et physiologiques de l'organisme exposé et les paramètres physico-chimiques du milieu sont donc des paramètres importants pour étudier la biodisponibilité des métaux. L'utilisation du modèle du ligand biotique, qui détaille les interactions entre les métaux traces dissous et les organismes vivants, permet de prédire la biodisponibilité de ces contaminants pour des organismes (Campbell & Fortin, 2013). Il est maintenant reconnu que la toxicité et l'internalisation de la plupart des métaux traces sont proportionnelles à la concentration de métal libre en solution. Les prédictions du BLM sur la biodisponibilité de plusieurs métaux dont les ETR ont pu être confirmées par des études en laboratoire, dans des milieux synthétiques sans MOD (Aharchaou et al., 2020). Ainsi, plus la proportion en ion libre dans le milieu augmente, plus la biodisponibilité et la toxicité du métal envers les organismes exposés sont également importantes. Par ailleurs, les complexes formés entre le métal et la MOD présents dans le milieu peuvent également contribuer à la prise en charge et la toxicité du métal sur l'organisme (Campbell & Fortin, 2013). En effet, comme les ions libres en solution, ces complexes organiques peuvent également se lier à des sites sur la surface de la membrane cellulaire des organismes. Toutefois, si ces complexes se dissocient avant l'étape d'internalisation, le lien entre métal libre et accumulation est maintenu.

1.5 Interactions avec la MOD

La matière organique représente un mélange complexe et hétérogène de composés aux propriétés chimiques variées et provient des êtres vivants (par sécrétion/excrétion) ou par décomposition après leur mort, de la production primaire dans les eaux naturelles, ainsi que des rejets anthropiques (Tipping, 2002). Elle provient donc de différentes sources, en fonction de son introduction dans les systèmes aquatiques. La matière organique autochtone provient

directement du biote présent dans le milieu et la matière organique allochtone provient de sources terrestres naturelles ou de rejets anthropiques. L'apport de ces sources varie largement de façon spatiale et temporelle.

La MOD est quantifiable principalement par la mesure de carbone organique dissous (COD), étant donné qu'il est son principal constituant, soit environ 50 %. Elle contient également de l'hydrogène et de l'oxygène, formant de nombreux groupes fonctionnels comme les acides carboxyliques et phénoliques (Thurman, 1985). On retrouve aussi en faible quantité de l'azote, du phosphore et du soufre dans la structure de la MOD. C'est un composant majeur des eaux naturelles et usées, avec des concentrations en eau de surface variant de 1 à 15 mg C·L⁻¹ (Mostofa et al., 2013). Cependant, certains systèmes avec des eaux très colorées peuvent atteindre des concentrations jusqu'à 30 mg C·L⁻¹, comme la rivière Suwannee, située dans une zone marécageuse au sud-est des États-Unis.

La matière organique peut être définie comme un ensemble complexe de molécules dans un continuum de tailles variant de 0,1 nm à 1 µm (Figure 1.6), et peut être séparée physiquement en fonction de la taille des pores du filtre utilisé. En effet, la fraction de matière organique qui passe à travers un filtre de généralement 0,45 µm ou 0,70 µm est appelée dissoute bien qu'incluant également les phases colloïdales (1 nm à 1 µm); l'autre fraction qui est retenue par le filtre est considérée comme particulaire (Perdue & Ritchie, 2003).

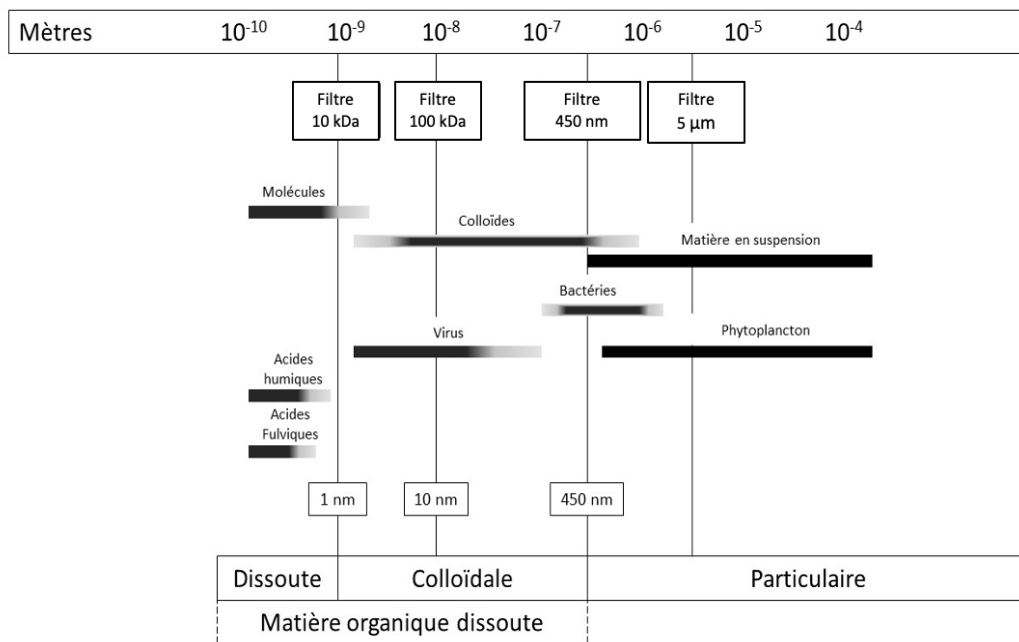


Figure 1.6 Représentation du continuum de taille de la matière organique dans les environnements aquatiques. Modifiée à partir de (Aiken et al., 2011).

La MOD joue un rôle crucial dans plusieurs processus physiques, chimiques et biologiques de l'écosystème. Étant un ligand important pour les métaux dissous, elle participe à la formation de nano-colloïdes organiques/inorganiques (Aiken et al., 2011). De ce fait, les colloïdes régissent le transport, la spéciation et la toxicité de plusieurs métaux traces dissous dans les eaux naturelles (Perdue & Ritchie, 2003). Parallèlement, les métaux pourraient aussi affecter les caractéristiques physico-chimiques de la MOD, comme la masse moléculaire ou encore la fluorescence (Cuss & Guéguen, 2015). Une étude réalisée par Liu & Gonzalez (2000) a montré que le pH et la force ionique étaient des variables importantes à prendre en compte pour l'étude de l'adsorption des métaux (dans ce cas, le plomb, le cuivre et le cadmium) sur les acides humiques particuliers. Cette étude a également montré que l'adsorption dépend du métal, avec une affinité plus importante pour le plomb que pour les deux autres métaux. La MOD est également impliquée dans de nombreuses interactions directes et indirectes avec les organismes d'eau douce : non seulement en complexant les ions métalliques, mais également en induisant un stress oxydatif, interférant avec la photosynthèse et la croissance, ou en fournissant des nutriments (Lee et al., 2009).

Plusieurs études permettent de valider le BLM, en montrant l'effet protecteur de la MOD sur la toxicité des métaux (Al-Reasi et al., 2012; Bury et al., 1999; Klinck et al., 2005; Macoustra et al., 2019; Richards et al., 2001; Schwartz et al., 2004). La complexation du mercure avec de la matière organique naturelle (2-10 mg C·L⁻¹) réduit la biodisponibilité du métal sur les branchies de truites arc-en-ciel, et donc sa toxicité envers l'organisme (Klinck et al., 2005). En se basant sur les concentrations totales en argent, la présence de MOD (0-5 mg C·L⁻¹) a un effet protecteur sur deux espèces de poissons, attribué à la réduction de la biodisponibilité du métal dans le milieu (Bury et al., 1999). Dans le même sens, la MOD (4, 6 et 10 mg C·L⁻¹) a eu un effet protecteur de la toxicité du cadmium, du cuivre, de l'argent, du plomb et du cobalt sur *Oncorhynchus mykiss* (Richards et al., 2001; Schwartz et al., 2004). Macoustra et al. (2019) montrent également une réduction de la toxicité du cuivre chez l'algue *Chlorella sp* en présence de MOD, et mettent en lumière la variabilité des résultats de complexation et de réponse biologique, en fonction de l'origine et la composition des MOD testées. La nature de la MOD (taille moléculaire, degré d'aromaticité) et la source pourraient donc avoir une influence sur la toxicité des complexes formés avec les métaux, mais celle-ci n'est pas encore bien définie. Dans une étude réalisée par Al-Reasi et al. (2012), plusieurs prédicteurs de qualité de sept MOD ont été évalués pour leur influence sur leur effet protecteur sur des néonates de *Daphnia magna* contre la toxicité du cuivre. Leurs résultats montrent que les MOD plus grosses, plus hydrophobes, plus aromatiques, avec une teneur plus élevée en substances humiques et d'origine terrigène étaient

plus protectrices de la toxicité du cuivre. Une étude réalisée par Chen et al. (2018) a permis de mettre en évidence l'influence de la source de la MOD sur la spéciation de plusieurs métaux, notamment le plomb, le zinc et le cadmium. Pour les mêmes conditions expérimentales (pH, concentration en carbone organique dissous et métal total, force ionique), les MOD allochtones montraient une capacité de complexation plus élevée que les MOD autochtones (Chen et al., 2018).

D'autres études ont permis de mettre en évidence l'influence métabolique et physiologique directe des complexes de MOD et métaux, sur les algues (Boullemant et al., 2004; Parent et al., 1996; Sanchez-Marin & Beiras, 2011; Vigneault et al., 2000; Zhao & Wilkinson, 2015). Une étude réalisée par Campbell et al. (1997) a montré que la matière organique dissoute (substances humiques de référence à 0-20 mg C·L⁻¹) pouvait s'adsorber sur les surfaces biologiques de cellules phytoplanctoniques et de branchies de poissons. Le complexe neutre de cadmium diethyldithiocarbamate est davantage internalisé en présence de SRHA à pH 5,5, où l'association des acides humiques avec les membranes algales est renforcée à pH acide (par rapport à une condition à pH de 7,0) (Boullemant et al., 2004). L'argent est également davantage pris en charge par deux algues vertes en présence de SRHA, mais ne résulte pas en une diminution des croissances algales (Chen et al., 2013). Ceci pourrait s'expliquer d'après les auteurs, par une augmentation de l'adsorption d'argent en présence de SRHA seulement à la surface des membranes cellulaires, sans être réellement internalisé. D'après les résultats de Vigneault et al. (2000), il a été montré que les substances humiques et fulviques augmentaient la perméabilité des membranes biologiques aux substances métalliques lipophiles, favorisant ainsi leur prise en charge par le phytoplancton. D'ailleurs, les résultats obtenus par Sanchez-Marin & Beiras (2011) montrent qu'en présence de trois MOD différentes, la biodisponibilité du plomb pour une algue augmente par rapport à une exposition sans MOD. L'interprétation par les auteurs de ces résultats a conduit à l'hypothèse suivante : l'adsorption de la MOD sur les surfaces cellulaires augmente les interactions entre les complexes Pb-MOD et les surfaces membranaires des algues. Ces résultats soulignent donc l'importance de considérer non seulement les propriétés de complexation des métaux avec la MOD, mais aussi son influence métabolique et physiologique directe sur les organismes (Parent et al., 1996), afin de mieux comprendre son influence sur la toxicité des métaux.

Les travaux réalisés au sein de l'équipe du professeur Fortin mettent parfois en lumière des contradictions avec le BLM. Par exemple, d'après les résultats de maîtrise d'Hourtané (2019), la toxicité du platine était plus importante en présence de SRHA (10 et 20 mg C·L⁻¹) pour deux

espèces d'algues. Ces résultats, eux-aussi, montrent l'importance de mieux comprendre l'impact de la MOD sur la toxicité des métaux.

1.6 Objectifs du projet

L'utilisation croissante du lanthane, un métal d'intérêt en écotoxicologie, pourrait amener à une augmentation des concentrations environnementales. Le modèle du ligand biotique a été vérifié dans de nombreuses études pour plusieurs métaux (Aharchaou et al., 2020; Al-Reasi et al., 2012, 2011), mais comporte cependant des exceptions, comme avec le plomb et la présence de MOD ou d'acides humiques (Sanchez-Marin & Beiras, 2011). La détermination des CE_{50} pour les différents tests de toxicité réalisés dans les travaux de maîtrise de Rahal (2018) au sein de l'équipe du professeur Fortin, montre qu'en présence de SRHA, le lanthane est plus toxique pour l'algue verte unicellulaire *Chlorella fusca*. En effet, une CE_{50} de 89 ± 21 nM (exprimée sur la base de lanthane libre) a été obtenue pour le lanthane en présence de $3 \text{ mg C}\cdot\text{L}^{-1}$ de SRHA, et une CE_{50} plus élevée de 611 ± 46 nM pour une exposition sans ligand organique. Ceci indique que le métal est davantage toxique pour l'organisme en présence de matière organique. De plus, l'internalisation du lanthane était plus importante en présence de SRHA, tout en considérant les concentrations en La^{3+} dans les milieux d'expositions. Le modèle du ligand biotique ne peut donc s'appliquer dans ce cas, et l'hypothèse soulevée pour expliquer ces résultats est la modification de la perméabilité membranaire des cellules algales par la SRHA (Rahal, 2018). De ce fait, davantage de lanthane serait internalisé et l'effet biologique en est donc plus important. Le projet actuel s'inscrit donc dans la continuité de ces résultats. Le modèle biologique utilisé est le même, il s'agit d'une algue verte unicellulaire d'eau douce, *Chlorella fusca*, cultivée depuis plusieurs années dans les laboratoires de l'INRS (Figure 1.7). Sa biologie est bien connue, et elle est tolérante à un milieu relativement acide (Parent, 1991), ce qui permet de réaliser des expositions à un pH de 5,0. Se situant à la base du réseau trophique, les microalgues sont des modèles biologiques largement utilisés pour les études en écotoxicologie.



Figure 1.7 Chlorella fusca au microscope x1000 (American Society of Plant Biologists, 2010).

Ce mémoire s'inscrit dans un projet de recherche financé par Environnement et Changement Climatique Canada dans le but d'étudier la mobilité, la biodisponibilité et la toxicité des métaux. L'objectif de ce projet est donc de comprendre l'influence de la variabilité chimique de la MOD sur la biodisponibilité et la toxicité du lanthane chez *C. fusca*. Dans le cadre de ce mémoire, l'article intitulé *Comparaison de la biodisponibilité et la toxicité du lanthane entre des matières organiques de différentes provenances* sera présenté en deuxième partie, afin de répondre à cet objectif. Quatre matières organiques ont été sélectionnées pour ce projet, en fonction de leur composition et de leur provenance. Deux d'entre elles sont des acides humiques et fulviques provenant de la rivière Suwannee (États-Unis) : SRHA et SRFA. Elles ont été obtenues de l'International Humic Substances Society (IHSS) et extraites selon leur protocole. Les deux autres sont des matières organiques naturelles, provenant d'un lac et d'un marais en Ontario, respectivement Bannister Lake et Luther Marsh (Al-Reasi et al., 2012). Elles ont été concentrées par osmose inverse, et traitées pour réduire les concentrations des cations métalliques à l'aide d'une résine échangeuse de cations, à pH acide. Suivant cet objectif, des tests de toxicité ont été réalisés pour chaque condition (sans MOD et avec chaque MOD, à une concentration fixe de $3 \text{ mg C}\cdot\text{L}^{-1}$, avec des expositions de 96 h, à plusieurs concentrations de lanthane. La densité cellulaire mesurée a permis de déterminer la toxicité, et la filtration des algues en fin d'exposition de déterminer l'accumulation. La spéciation du lanthane a été vérifiée au début (0 h) et à la fin (96 h) de chaque exposition, par échange ionique et ultrafiltration partielle. Les MOD ont également été caractérisées grâce à leurs propriétés d'absorbance dans l'UV-Visible et de fluorescence. Une méthode récente de fractionnement par couplage flux-force avec flux

asymétrique (AF4) a également permis de déterminer les différentes classes de tailles de molécules qui composent ces MOD, et de déterminer avec quelle classe de tailles le lanthane a le plus d'affinité, en dosant les fractions collectées par ICP-MS. L'hypothèse soulevée suit les résultats obtenus par Rahal (2018) et est la suivante : la présence de matière organique augmentera la toxicité du lanthane chez *Chlorella fusca* en présence de matière organique, par rapport à la condition sans ligand organique, pour de mêmes concentrations de La^{3+} . L'influence de la composition de la MOD sur son adsorption aux membranes cellulaires n'est, à ce jour, pas encore connue, mais il est possible d'émettre l'hypothèse que les MOD allochtones, plus hydrophobes, auront plus de facilité à s'adsorber sur les algues, augmentant ainsi les effets sur la membrane cellulaire.

2 ARTICLE SCIENTIFIQUE

Impact of organic matter of different origins on lanthanum speciation, bioavailability and toxicity toward a green alga

Comparaison de la biodisponibilité et de la toxicité du lanthane, en relation avec sa spéciation, chez une algue verte unicellulaire, en présence de matières organiques de différentes provenances

Louise Zilber¹, Edith Parlanti², Claude Fortin¹

¹ *Institut National de la Recherche Scientifique – Centre Eau Terre Environnement, Québec, Canada*

² *Univ. Bordeaux, CNRS, EPOC, EPHE, UMR 5805, F-33600 Pessac, France*

Titre de la revue ou de l'ouvrage :

To be submitted to Environmental Chemistry

Contribution des auteurs :

Louise Zilber : Réalisation des expériences, analyse des données et interprétation des résultats, rédaction

Édith Parlanti : Planification des objectifs de recherche, direction et révision des travaux de recherche, interprétation des résultats, révision du manuscrit

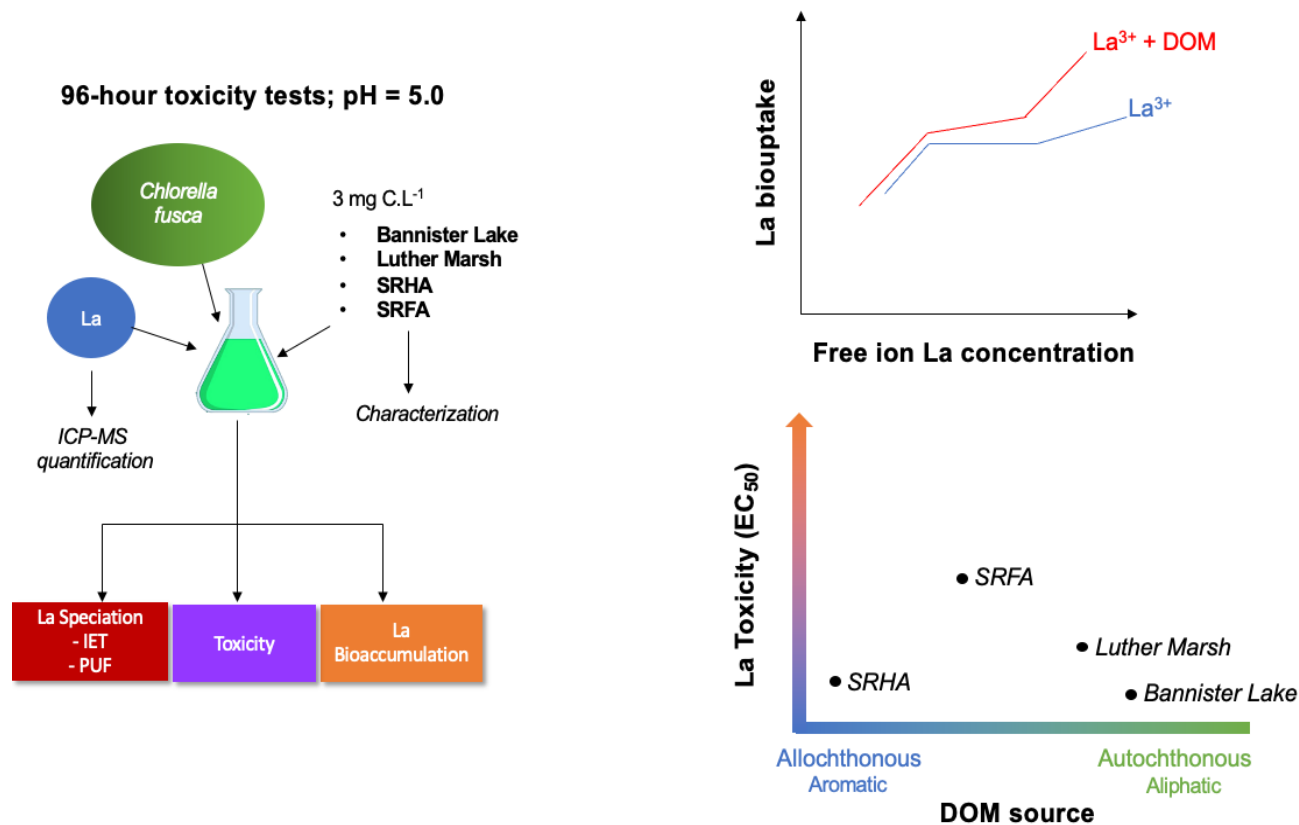
Claude Fortin : Planification des objectifs de recherche, direction et révision des travaux de recherche, interprétation des résultats, révision du manuscrit

2.1 Abstract

Natural dissolved organic matter (DOM) is a heterogeneous mixture of a variety of organic compounds, with a great importance for the environmental fate of metals and their ecotoxicity. However, its complex nature and variable composition make the understanding of its role a challenge. Lanthanum has a strong affinity for DOM and is one of the rare earth elements that is widely used in many electronic and green technologies, and for which the demand may potentially increase for the foreseeable future. The present study examines the links between the optical and chemical properties of organic matter and its influence on the bioavailability and toxicity of La toward the green microalga *Chlorella fusca*. A total of four DOMs, two natural organic matter samples from Ontario and two Suwannee River fulvic and humic acids, were characterized by absorbance and fluorescence spectroscopy. The concentration of free metal ion La^{3+} measured by Ion Exchange Technique (IET) and Partial Ultrafiltration (PUF) was compared with predictions of the Windermere Humic Aqueous Model (WHAM), and good correlations around the 1:1 line were found although predictions were closer to measured values at high total metal concentrations ($> 1000 \text{ nM}$) compared to low metal concentrations. Toxicity tests over 96 h at $\text{pH} = 5.0$ were conducted with and without $3 \text{ mg C}\cdot\text{L}^{-1}$ of each DOM. The presence of DOM exacerbated the toxicity of La and its accumulation in algal cells. A positive significant relationship was found between the aromatic character of DOM and the calculated effective concentrations, indicating that more autochthonous-like DOM increases La toxicity better than the allochthonous-like DOM.

Keywords: *Chlorella fusca*, metal speciation, Biotic ligand model, absorbance, fluorescence, DOM quality

2.2 Graphical abstract



2.3 Introduction

Dissolved organic matter (DOM) is ubiquitous in aquatic systems, with concentrations generally varying from 1 to 15 mg C·L⁻¹ (Mostofa et al., 2013). It is a complex and heterogeneous mixture of compounds with various chemical properties that naturally comes from living beings (by secretion/excretion) or decomposition within the watershed, as well as from anthropogenic sources. DOM plays a crucial role in several physical, chemical and biological processes in aquatic systems, being the main source of carbon. The most studied operational fractions of DOM are a combination of humic (HA) and fulvic (FA) acids, also called “humic substances (HS)”. In general, DOM comprises a large number of molecules with various structures and properties such as those found in carbohydrates, proteins or amino acids. The chemical structure of DOM provides metal-binding properties with moieties such as carboxyl, phenol and thiol functional groups (Thurman, 1985).

The presence of DOM can therefore alter metal speciation and bioavailability toward aquatic organisms. According to the currently accepted paradigm, the biotic ligand model (BLM), the free

metal ion is the key species to be considered when studying the bioavailability and toxicity of metals in solution (Campbell & Fortin 2013). When metals are bound by DOM, their bioavailability and toxicity generally decrease, and so do the biological responses (Campbell & Fortin 2013). This model has seldom been verified in systems containing DOM but there is some evidence that for Cu and Cd, in the presence of Suwannee River humic or fulvic acids, bioavailability can be predicted by the free metal ion concentration (Lamelas & Slaveykova, 2007; Vigneault & Campbell, 2005). DOM can therefore affect metal toxicity because of its complexation properties, but it can also directly affect microalgal membranes. Indeed, DOM has been shown to stimulate microalgal growth by enhancing uptake of essential nutrients such as iron (Lee et al., 2009). DOM can also adsorb to algal surfaces as the result of a hydrogen bonding mechanism involving electronegative functional groups present in the DOM and on the cell surface, and as a result of hydrophobic interactions (Ojwang & Cook, 2013). This latter trend has been confirmed by DOM loss from the solution, when phytoplankton cells were present at pHs ranging from 4 to 7 (Campbell et al., 1997), and by electrophoretic mobility measurements at pH 5 (Knauer & Buffle 2001). This surface adsorption of DOM can possibly increase metal uptake by algae. Lamelas et al. (2009) have shown that Pb uptake flux and binding to internalization and adsorption sites were higher in the presence of Suwannee River humic acid ($10 \text{ mg C}\cdot\text{L}^{-1}$). This result was interpreted as a result of an increase in Pb binding to the internalization sites, forming ternary complexes (Pb-HA-alga). Other studies have shown a modification of algal membrane permeability by DOM (Parent et al., 1996; Vigneault et al., 2000), and an influence of DOM hydrophobicity on its affinity for cell membranes (Al-Reasi et al., 2012). Several studies have investigated the influence of DOM quality and physicochemical properties on metal toxicity (Al-Reasi et al., 2013, 2012, 2011), but questions remain unanswered because of the extreme heterogeneity and complexity of DOM.

Lanthanum (La) has a strong affinity for DOM and in circumneutral and alkaline aquatic systems is expected to be mostly complexed with natural organic ligands (Hermann, 2016). Naturally present in the environment, La is a metal of interest because it is one of the rare earth elements widely used in electronic and modern technologies, and needed for renewable energy resources, for which the demand is predicted to increase for the next several years (Dutta et al., 2016; Zhou et al., 2017). Its exploitation and increasing use therefore highlight the need to study its toxicity, in light of its speciation in the presence of natural DOM. It was in this context that we investigated the toxicity of La toward the unicellular freshwater alga *Chlorella fusca*, in the presence of DOM from different sources. At the base of the trophic chain, microalgae are of great interest for ecotoxicological studies, given their ecological importance and their high surface/volume ratios.

Algae such as *C. fusca* are widely used for chronic toxicity tests due to their ease of harvest and their short generation time.

The objective of this work was to determine the influence of different DOMs and their composition on the speciation of La, on the uptake of La by *C. fusca* and its subsequent toxicity. The binding of La by DOM was determined by partial ultrafiltration (PUF), an ion-exchange technique (IET) and asymmetrical flow field-flow fractionation (AF4). In parallel, the uptake and toxicity of La to *C. fusca* were determined through 96 h exposures at pH 5.0 with 3 mg C·L⁻¹ of DOM, by measuring intracellular metal content and growth inhibition, respectively. Finally, the optical properties of each DOM were characterized by UV-visible and fluorescence spectroscopy, while their size and binding to La were investigated using AF4.

2.4 Material and methods

2.4.1 Material and reagents

Before their use, all materials related to algal culture were rinsed three times with deionized water, then soaked during 24 h in 10 % (v/v) nitric acid, rinsed again three times with deionized water and three times with ultrapure water (18 MΩ·cm), and finally dried under a laminar flow hood, and autoclaved at 121 °C for 15 min.

Lanthanum was added from a standard solution (PlasmaCAL) of 1002 ± 6 mg La·L⁻¹ obtained from the dissolution of La₂O₃ in 4% HNO₃. For the preparation of the exposure media, intermediate solutions were prepared for different La concentrations, the dilution being carried out with ultrapure water.

The Suwannee River humic (SRHA) and fulvic (SRFA) acids were obtained from the International Humic Substances Society (IHSS; HA catalog number: 3S101H and FA catalog number: 1S101F). Solutions of 250 mg·L⁻¹ were prepared by dissolving HA and FA powders in 10 mM NaOH. The solutions were then stirred for 24 hours in the dark, filtered through a 0.45 µm polyethersulfone (PES) filter, and stored at 4 °C, protected from light. Natural DOM samples were collected from a lake (Bannister Lake) and a marsh (Luther Marsh) in Ontario, Canada (Al-Reasi et al., 2012). Removal of metal cations was done using a cation exchange resin at acidic pH. Solutions were then filtered through a 0.45 µm PES filter and stored in a dark and cool place (4 °C). An analysis of the dissolved organic carbon (DOC; Shimadzu Vcph) present in all stock DOM solutions was carried out in order to verify their concentration. A calibration curve was made

for each analysis (with a homemade stock solution of 1000 mg·L⁻¹ of total organic carbon (TOC)) and a standard solution of 100 mg C·L⁻¹ of TOC (batch number: S170309025; SCP Science) was used as a control. Targeted DOC concentrations were fixed at 3 mg C·L⁻¹ for all DOM used. This concentration is well within the typical values observed in natural systems and it results in significant complexation of La (Leguay et al., 2016).

2.4.2 DOM characterization

Absorbance spectroscopy

The fraction of DOM that absorbs in both ultraviolet and visible light is called colored or chromophoric dissolved organic matter (CDOM). UV-visible absorption spectroscopy was used to determine general properties of DOM, using the Aqualog (Horiba Jobin-Yvon) spectrophotometer. Several parameters can be calculated from absorbance spectra (recorded between 200 and 800 nm), in order to characterize the aromatic character of DOM and to approximate its size. First, the Specific UV Absorbance (SUVA) parameter, expressed in L·mg C⁻¹·m⁻¹, is the UV absorbance at 254 nm, measured in units of absorbance per meter of path length, normalized for dissolved organic carbon (DOC) concentration (Weishaar et al., 2003). It is correlated with the degree of aromaticity of DOM. Also, the ratio E2/E3 represents the absorbance at 254 nm divided by the absorbance at 365 nm and is often used to characterize aromaticity and molecular size: the ratio increases with decreasing aromaticity and size (Peuravuori and Pihlaja, 1997; Thomsen et al., 2002). Finally, the ratio of spectral slopes (S_R) is calculated as the ratio of the slope of the absorbance spectrum for short wavelengths (S_{275-295 nm}) to the spectral slope of longer wavelengths (S_{350-400 nm}). The S_R ratio is negatively correlated with the size of the DOM: when S_R increases, DOM molecular weight decreases (Helms et al., 2008).

Excitation-emission matrix fluorescence spectroscopy

Chromophoric DOM components possess fluorescence properties which provide further information about its composition and source and alteration processes in aquatic environments. Fluorescence is a very sensitive technique that allows a small volume of DOM sample to be quickly characterized even at low sample concentrations. Excitation-emission matrix (EEM) fluorescence spectra were recorded using an Aqualog spectrofluorometer (Horiba, Jobin-Yvon), equipped with a double excitation monochromator, a 150-Watt Xenon lamp, with a 5 nm bandpass, and 2-s integration time at wavelengths of 240–800 nm at 5-nm intervals. The samples were placed in a 1 cm path length quartz cuvette thermostatically controlled at 20 °C. Emission spectra were collected with high CCD detector gain at approximately 0.58 nm (1 pixel) intervals

at wavelengths between 245 and 830 nm. The sample EEM spectra were obtained by subtracting the EEM blank spectrum of ultrapure water (Milli-Q, Millipore) daily recorded under the same conditions as those for the DOM samples. The intensity and position of the fluorescence maxima were considered to characterize the observed peaks (Table 2.1). Fluorescence intensities were normalized to the area under the Raman peak of an ultrapure water blank at an excitation wavelength of 350 nm, and are expressed in Raman units (R.U.). EEM data treatment was performed with TreatEEM software.

Table 2.1 Main peaks of fluorophores and their characteristics (Parlanti, 2000).

<i>Peak</i>	<i>Excitation (nm)</i>	<i>Emission (nm)</i>	<i>Fluorophore type</i>
α'	230-260	380-480	Aromatic / hydrophobic and fresh material
α	330-370	420-480	Mature aromatic / hydrophobic
β	310-320	360-410	Material freshly produced by biological activity
γ	270-280	300-350	Protein-like material from bacterial activity in the medium

Fluorescence indices, such as the biological activity index (BIX) and the fluorescence index (FI), can provide information on the origin and source of DOM. The BIX index is calculated from the emission spectrum at 310 nm excitation wavelength by dividing the fluorescence intensity emitted at 380 nm by that emitted at 430 nm (Huguet et al., 2009). Increasing BIX is linked to a greater presence of the β fluorophore in natural water samples, and reflects a predominant autochthonous origin of DOM and the presence of freshly produced organic matter in the environment. The FI index corresponds to the ratio of fluorescence emission intensities at 450 to 500 nm for an excitation wavelength of 370 nm. Values > 1.9 typically reflect an aquatic or microbial contribution and < 1.3 a terrestrial contribution (McKnight et al., 2001).

Asymmetrical flow field-flow fractionation

Each DOM size fraction was characterized using AF4 (Eclipse 3 from Wyatt Technology Europe) coupled with a UV/Vis detector (HP1200 series, Agilent). The AF4 was equipped with a separation channel with a spacer of 490 μm and a 1 kDa PES membrane (NADIR NP010). A mobile phase containing 5 mM NaNO_3 at pH 6.8 was used. The detector flow rate was set at $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. The volume of injection was 1 mL with an inject flow rate of $0.3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. The separation conditions were optimized as follows: 5 min of sample injection and 6 min of relaxation with a focus flow rate of $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, followed by elution with a constant cross-flow rate of

4 mL·min⁻¹ for 5 min, then a linear gradient cross-flow from 4 mL·min⁻¹ to 0 mL·min⁻¹ for 10 min, and finally no cross-flow for 5 min. Between each sample injection, an ultrapure water blank was run and the sample injection system was purged.

2.4.3 Algae culture conditions

The unicellular green alga *Chlorella fusca* was obtained from the Canadian Phycological Culture Centre (University of Waterloo, Canada). The strain is known as *Chlorella fusca* var. *vacuolata* Shihira and Krauss (CPCC #89). Algae were cultured in polycarbonate Erlenmeyer flasks in sterile modified high-salt medium (MHSM-2, composition detailed in **Supporting information**, Table 2.4) at pH 5.0 (buffered with 10 mM MES; 2-ethanesulfonic acid). This pH was selected to avoid the formation of colloidal forms that have been observed at circumneutral pHs for cerium (El-Akl et al., 2015). Organic phosphorus (β -glycerol phosphate) was used at a concentration of 10 μ M instead of inorganic phosphate to avoid the problem of La precipitation (Aharchaou et al., 2020; Joonas et al., 2017). All stock solutions (nutrients and trace metals) for the preparation of MHSM-2 were prepared from ultrapure water and high-purity chemicals. These solutions were all filtered through a 0.2 μ m Millipore polycarbonate membrane, except for the 0.10 M NaOH solution which was filtered through a 0.2 μ m PES membrane. This latter membrane was pre-immersed in ultrapure water 24 h before use. Stock solutions were sterilized by autoclaving at 121 °C for 15 min, and stored at 4 °C protected from light. MHSM-2 medium was also autoclaved under the same conditions before use. The cultures were placed on a stirring plate (~ 60 rpm) in an environmental growth chamber (Conviron CMP4030) at 20.0 \pm 0.1 °C and under a continuous light intensity of 100 \pm 10 μ E·m⁻²·s⁻¹. Algae were maintained by transferring (under sterile conditions) 2 mL of the culture into 100 mL of fresh sterile MHSM-2 growth medium, every two weeks. Absence of bacterial contamination was checked monthly by plating onto agar gel.

2.4.4 Exposure conditions

Metal exposures were performed in sterile MHSM-2 medium. Uptake and toxicity of La were determined in the absence and presence of DOM. Each exposure medium was prepared and left to equilibrate for 72 h before algal inoculation. Algae were kept in the exponential growth phase during the 4 days preceding inoculation. For this latter step, the algae were filtered and collected on a 2.0 μ m polycarbonate filter. They were then rinsed three times with 10 mL of EDTA-free rinse medium (without trace elements and MES buffer, MHSM-R composition detailed in **Supporting information**, Table 2.4), then resuspended in fresh MHSM-2 medium. Cell density was checked

in the resuspended algae medium using a particle counter (Coulter Counter Multisizer III) and the algae were inoculated in order to obtain an initial cell density between 15 000 and 20 000 cells·mL⁻¹. The inoculated Erlenmeyer flasks were then placed in the growth chamber, under the same conditions as mentioned above for the algal culture.

Cells were exposed to La (10 – 5 000 nM) and DOM (0 or 3 mg C·L⁻¹) during 96 h at pH 5.0. An aliquot of each Erlenmeyer was taken every 24 hours in order to measure the cell density and average surface area of the cells with the particle counter. To do so, a 1-mL sample was taken and placed in a cuvette, for a 10 mL final volume using Isoton II solution as diluent. A blank containing only Isoton II solution was analyzed at the start and the end of each use. The pH was measured daily in one Erlenmeyer flask per concentration and remained constant throughout the experiment (4.98 ± 0.02). For the determination of total lanthanum in solution, aliquots were taken every 24 h and centrifuged at 5 000 rpm for 10 min, then the supernatant was recovered and acidified with HNO₃ for analysis by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS; XSeries 2, Thermo Scientific). A control exposure experiment without algae was carried out under the same exposure conditions (MHSM-2; pH = 5.0, n = 3) for 96 h, and La concentrations did not significantly vary ($p > 0.05$) during the exposure (less than 7 %), suggesting that metal adsorption on the container walls was negligible. For exposures in the presence of DOM, TOC was indirectly determined by measuring fluorescence using a spectrofluorometer, at the same frequency as the total La concentration and pH measurements (i.e., every 24 h during the 96 h toxicity tests). The excitation wavelength was set at 350 nm for an emission wavelength of 463 nm. A range of standards with measured concentrations of TOC (0-6 mg C·L⁻¹) were used to obtain a calibration curve. TOC concentrations determined in this manner tended to increase with time ($p > 0.05$), up to 11 % (as a mean for all experiments and all La concentrations). The excretion of organic compounds by algae cells was likely responsible for the observed increase. On the other hand, the measured La concentrations decreased 12 % with time (as a mean for all experiments and La concentrations), due to adsorption and assimilation by the algae. This change was however not significant ($p > 0.05$), so that La remained stable over time for all experiments. Other analytical measurements (PUF, IET and AF4; see next section) were carried out at the beginning (0 h) and the end (96 h) of the exposure.

After 96 h, all Erlenmeyer flasks were filtered through two superposed 2.0 µm polycarbonate filters (Millipore). The upper filter was used to quantify lanthanum accumulated by algae while the lower filter was used to control for potential La adsorption onto the filter membrane. The filtrate was recovered to determine the total concentration of La, La speciation and HA concentration in

solution. The algae on the filters were rinsed twice with 10 mL of a MHSM-R rinse solution containing 1 mM EDTA, to remove La bound to the surface of algal cells. La was quantified in the upper (intracellular La) and lower (background adsorption control) filters after being dried at 70 °C for 48 hours, and digested in Teflon tubes with 5 mL of concentrated HNO₃ (70 %) and 1 mL of H₂O₂ at 95 °C for 4 h. The final volume was completed to 50 mL with ultrapure water. Digestion quality controls were carried out, at the same time as the algae digestions, with a certified reference material from lichen (IAEA-336; certified value of 0.66 mg.kg⁻¹ [0.56-0.76; 95% confidence interval]). Average recovery of this digested reference material was 94 % (n = 5). There were no significant differences between the obtained values and the reference La value of the standard. Metal accumulation per cell was finally calculated by normalizing the results by the mean cell population at 96 h.

2.4.5 La speciation

The speciation of La in the exposure media without organic matter was calculated using MINEQL+ software (Version 5.0). In the media with DOM, the Windermere Humic Acid Model software (WHAM, model version 7.0.5) was used to calculate the proportion of free La³⁺. The model requires as input the concentrations of humic and fulvic acids. Three scenarios were tested for predicting the La-binding by DOM (**Supporting information**, Table 2.5): 1) the fulvic and humic acid concentrations are taken into account based on the PARAFAC data from Al-Reasi et al. (2011) (humic fraction of SRHA and LM) and the data provided as % FA and HA for BL (S. Smith and J. McGeer, personal communication); 2) only the fulvic acid fraction is taken into account; 3) the binding capacities of DOM are expressed as a function of its fulvic acid concentration, which represents 65% of the carbon contained in all DOM (Bryan et al., 2002; Stockdale et al., 2015; Tipping et al., 2008).

Ion-exchange technique (IET)

The IET was used to determine free La concentrations in each exposure medium as described by Leguay et al. (2016). This speciation technique is based on the establishment of an equilibrium between the free metal ion contained in solution and the binding sites on the resin in the presence of sufficient competing cations. The resin was equilibrated by a batch equilibration approach. Briefly, the following steps were followed: first 9 mg of the resin (Dowex 50W-X8, 50–100 mesh, Sigma Aldrich #60H0614) were weighed and successively put in contact with (1) 10 mL of 1.5 M HNO₃ for 4 min, (2) 10 mL of ultrapure water for 30 s, (3) 20 mL of 1.0 M NaOH for 4 min, (4) 10 mL of ultrapure water for 30 s, (5) 10 mL of NaNO₃ 1.0 M for 2 min, repeated 5 times, and (6)

50 mL of sample until equilibrium is reached (24 h according to Leguay et al. 2016). Between each of these steps, a centrifugation at 5 000 rpm for 10 min was performed, to remove the supernatant. Total La concentrations in the supernatant were measured by ICP-MS after the equilibrium had been reached. The concentration of La^{3+} can be obtained from the eluted La from the resin. Elution of the La bound to the resin was accomplished with the following steps: (1) resin rinsed two times with 10 mL of ultrapure water, (2) 10 mL of 1.5 M HNO_3 was added and left for 5 hours, and repeated three times. These three elutions provided a La recovery > 95 %. Finally, La^{3+} concentrations were calculated following Equation 2.1.

$$[\text{La}^{3+}] = \frac{V_{(\text{el})} \times [\text{La}]_{\text{el}}}{\lambda \times m_r} \quad (\text{Equation 2.1})$$

where $[\text{La}^{3+}]$ is the free ion concentration of La ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), $V_{(\text{el})}$ is the elution volume (mL), $[\text{La}]_{\text{el}}$ is the concentration of La in the eluate ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), m_r is the mass of the resin (g), and λ is the calculated distribution coefficient ($387 \pm 51 \text{ L} \cdot \text{g}^{-1}$; $n = 5$; MHSM-2 + $\text{NaNO}_3 = 0.1 \text{ M}$; $\text{pH} = 5.0$). This coefficient was first determined for a given electrolyte conditions with solutions of known $[\text{La}^{3+}]$, having the same cationic composition, pH and equilibration time as the samples. Due to IET requirements, La^{3+} concentrations were determined using an ionic strength of 0.1 M, by adding NaNO_3 to the medium. Since the exposure media had a lower ionic strength (0.02 M), PUF was also performed in these two conditions, for comparison.

Partial ultrafiltration (PUF)

Polycarbonate tubes (Vivaspin; Sartorius) with 3 kDa PES membranes were used for the PUF technique. To remove glycerine from the membranes, which is an important source of organic carbon that could interfere with carbon content of our samples, they were washed according to the following steps: the membranes were first soaked in ultrapure water for 96 h, then 20 mL of fresh ultrapure water was added and centrifuged during 35 min at 5 000 rpm (4300 g), three times. The membranes were then soaked again in ultrapure water for 48 h, and three centrifugations under the same conditions as before were carried out. This last step was repeated one more time. For each experiment, 20 mL of exposure medium was centrifuged for 8 min at 5 000 rpm, so that only a small volume (2-4 mL) can pass through the membrane (hence the “partial” UF). This was done to minimize changes in metal speciation in the retentate over time in which the total volume decreases during centrifugation while the total organic carbon remains constant, resulting in an increase in DOC concentration. The retentates and filtrates were collected for ICP-MS dosage of

La and fluorescence measurements of HA concentration. La^{3+} was calculated from the La ultrafiltrable fraction concentration (in which HA should not be present), using MINEQL+ to account for complexation by EDTA and inorganic ligands (see Leguay et al. (2016) for the thermodynamic data used). A mass balance calculation was performed to verify organic matter recovery. The percentages of organic carbon measured in the ultrafiltrates were always less than 10 %. Lanthanum mass balances were also calculated for all experiments and the recovery was higher than 87 %. As mentioned above, PUF was both determined in media with an ionic strength of 0.02 M and 0.1 M.

2.4.6 La quantification (ICP-MS)

The La concentration in the different samples were measured by ICP-MS (ThermoScientific model X series II). The instrument was calibrated before each analysis with a $1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ reference multi-elements solution (Li, Be, Co, Ba, Ce, In and U). The detection limit was between 2 and $4 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$. No interference was present. The isotopes ^{115}In and ^{205}Tl were used as internal standards. The calibration curve was prepared with solutions of different concentrations of La (between 0 and $20 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). This curve was then validated with a PlasmaCal certified standard (C00-061-406) at a concentration of $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, and diluted to reach $0.5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, resulting in recoveries of 97.2 ± 3.7 (n = 102) and 97.5 ± 3.4 % (n = 104) respectively.

2.4.7 Data treatment

Statistical analyses

The R software with R studio was used for the statistical analyses of this work. The error was set at $\alpha = 0.05$. One-way analysis of variance (ANOVA) followed by the Tukey's post hoc test was used for differences in EC_{50} in experiments with various DOMs, for the methodology verifications of PUF and IET and for the digestion method. To do so, normality was checked with the Shapiro-Wilks test and homogeneity of variance with Levene test. Differences between mean values of La and total organic carbon (TOC) concentration and pH over time were performed using the non-parametric equivalent of ANOVA, the Kruskal-Wallis test. The relationship between each DOM quality parameters and La^{3+} effective concentrations (EC_{50} values) was performed by linear regression. To do so, four conditions must be verified: centering of the residuals (graphical method), independence of the residuals (Durbin-Watson test), homoscedasticity or homogeneity (Goldfeld-Quandt test) and normality (Shapiro-Wilks test).

Dose-responses

The Toxicity Relationship Analysis Program (TRAP; USEPA) was used to fit the relative cell density versus the La concentrations measured over the experiment, from the toxicity test data. The data from the dose-response curves obtained were used to produce graphs with SigmaPlot software. The TRAP software also provides the EC₅₀ (with confidence intervals), which indicate the concentration of La needed for a 50% inhibition of algal cell yield after 96 h of exposure.

PARAFAC

The trilinear decomposition algorithm PARAFAC (Parallel Factor Analysis) was used with MATLAB software (R14-6.5) and the DOMFluor toolbox (ver. 1.7). It is a multidimensional procedure which decomposes a whole EEM spectra dataset into different independent groups of fluorescent components. This data analysis consists of building a linear model by estimating the excitation and emission spectra of fluorophores and the coefficient applied to each of these matrices. The multi-way PARAFAC model was run for 1 to 6 components with non-negativity constraints as described by Stedmon & Bro (2008).

2.5 Results and Discussion

2.5.1 DOM characterization

Absorbance indices

The calculated values of the E2/E3 index (Table 2.2) suggest that LM and the SRHA have higher molecular weight and more aromatic DOM, compared to BL and the SRFA. The study by Al-Reasi et al. (2012) also showed that LM had a lower value for this index than BL. The S_R ratio results (Table 2.2) confirm this molecular weight classification, more precisely in the following order: LM > SRHA > SRFA > BL. According to the values of the SUVA index (Table 2.2), the most terrigenous DOMs (SRHA, SRFA, LM) are more aromatic than BL. These results show that the most autochthonous DOM (Bannister Lake) has lower molecular weight and aromaticity.

Fluorescence indices

The fluorescence index (FI) can be used to determine the origin of DOM. Autochthonous DOM, which is microbially derived in the water column, is generally characterized by a FI value of > 1.9, whereas terrigenous DOM, which is derived from higher plant degradation, has a value around 1.3 (McKnight et al., 2001). The values obtained for the FI (from 0.90 to 1.29 for the tested DOM

samples) were outside the range of McKnight et al. (2001). Nonetheless, the results (Table 2.2) lead to the conclusion that there is a dominant terrestrial contribution for all organic matter tested. However, according to the results of Al-Reasi et al. (2012), the value obtained for BL was 1.46, which points to a mixed origin of DOM. The FI value obtained in our study for BL, although lower than that measured by Al-Reasi et al. (2012), remains nevertheless the highest value of the four studied DOMs, suggesting a higher microbial contribution for this sample. Finally, the FI values obtained for the SRHA and SRFA were of the same order of magnitude as those reported in the literature (0.84-1.06 for the SRHA and <1.2 for the SRFA) (Ateia et al., 2017; Awfa et al., 2020; Korak et al., 2013). In addition, the BIX index can be used to characterize the autochthonous production of DOM due to biological activity. Values > 0.8 suggest the presence of freshly produced organic matter in the environment, while values around 0.5 represent terrigenous and/or mature material. According to our results (Table 2.2), LM and especially BL, are characterized by a mixture of sources with the presence of recent autochthonous material (significant biological activity of the environment), while the extracted humic and fulvic acids present a terrestrial signature.

Table 2.2 DOM optical parameters calculated from absorbance (E2/E3, SUVA₂₅₄, S_R; n = 3) and fluorescence (FI, BIX; n = 1) spectra. The values represent means ± standard deviations.

<i>DOM</i>	<i>E2/E3</i>	<i>SUVA</i> (L·mg C ⁻¹ ·m ⁻¹)	<i>S_R</i>	<i>Fluorescence</i> <i>Index (FI)</i>	<i>Biological</i> <i>Index (BIX)</i>
Bannister Lake (BL)	4.36 (± 0.22)	1.01 (± 0.02)	0.84 (± 0.04)	1.29	0.71
Luther Marsh (LM)	3.60 (± 0.12)	2.08 (± 0.04)	0.64 (± 0.03)	1.08	0.68
Suwannee River Humic Acids (SRHA)	3.62 (± 0.08)	2.11 (± 0.02)	0.70 (± 0.02)	0.90	0.36
Suwannee River Fulvic Acids (SRFA)	4.58 (± 0.44)	2.03 (± 0.02)	0.73 (± 0.02)	1.10	0.42

EEM fluorescence

The EEM spectra of DOM were processed by PARAFAC (67 samples). A 4-component model was thus determined and validated, explaining 94.4 % of the variability of the entire dataset (Murphy et al., 2014). The spectra of the four components determined by PARAFAC (Figure 2.1) present a relatively high background noise in the signal, due to strong scattering of the diluted samples. All components identified in the study were correlated with OpenFluor's database fluorescence spectra (Murphy et al., 2014). Components C1, C2, C3 and C4 were respectively

matched with a total of 70, 1, 62 and 11 studies. The first two components (C1 and C2), which contribute to the fluorescence of the α' and α bands, correspond to terrigenous material commonly found in fresh waters and generally associated with high molecular weights and aromatic material of terrestrial origin (Du et al., 2020; Osburn et al., 2016; Peleato et al., 2017). Component C3 is associated with a protein-like material (Catalán et al., 2020; Guéguen et al., 2014; Kida et al., 2019), since its emission maximum is below 400 nm, similar to the γ fluorophore (Fellman et al., 2008). Component C4 corresponds to the β fluorophore and to freshly produced material (Huguet et al., 2009; Gao and Guéguen, 2017) or to a microbially derived humic-like component (Derrien et al., 2019). The fluorescence intensity in Raman units of each DOM component is shown in Figure 2.2. The distribution of the four components determined by PARAFAC shows a predominance of C3 and C4 for the natural DOM of Bannister Lake and Luther Marsh, reflecting a mixture of sources with a strong autochthonous biological contribution. In contrast, the distribution is logically dominated by C1 and C2 for the IHSS humic substances SRFA and SRHA.

The complexation of metals with DOM generally leads to changes in different regions of its EEM fluorescence spectrum, with quenching (or enhancement) of emission intensities (Antunes et al., 2007; Ohno et al., 2008). In particular, fluorescence quenching has been widely used to study DOM-metal interactions (Manciulea et al., 2009; Wei et al., 2015; Wu et al., 2011). However, our results show that the presence of La does not seem to modify the fluorescence of DOM (i.e. the maximal intensities of the fluorophores and the FI and BIX indices; $p > 0.05$ or the component composition as indicated by PARAFAC analysis; $p > 0.05$). The absence of quenching is probably due to the relatively low metal concentrations and low pH used in our study as observed by others for Sm (Nduwayezu et al., 2016).

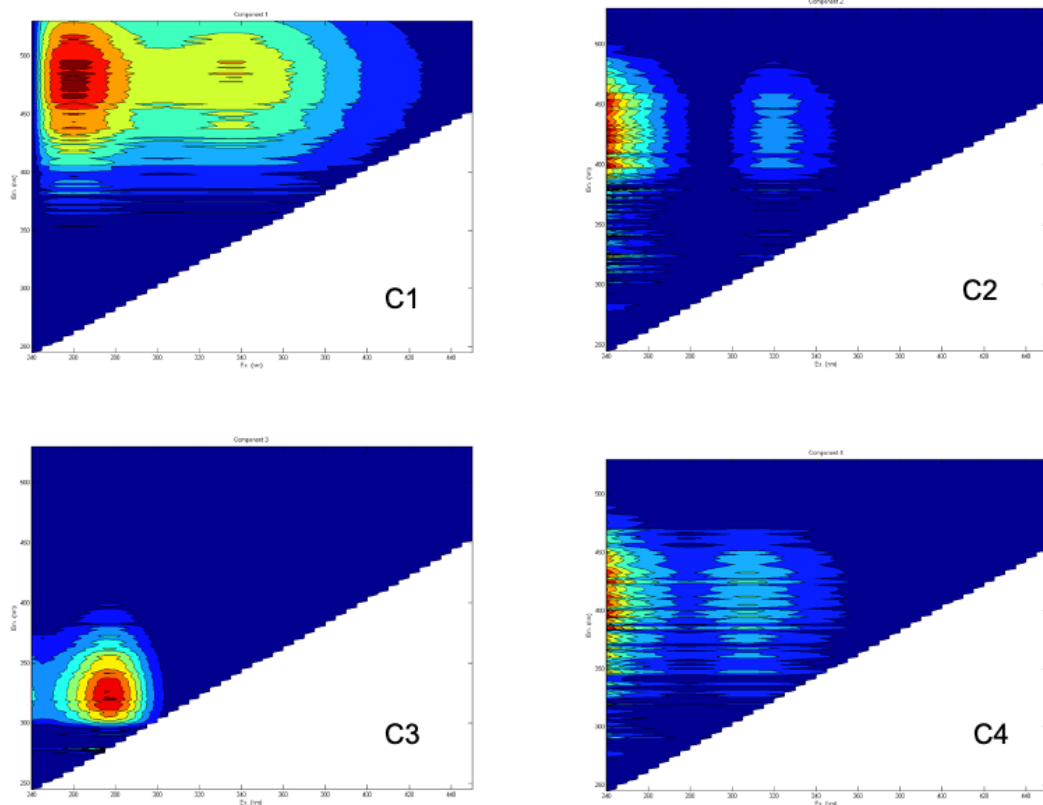


Figure 2.1 EEM matrices of the four components determined by PARAFAC.

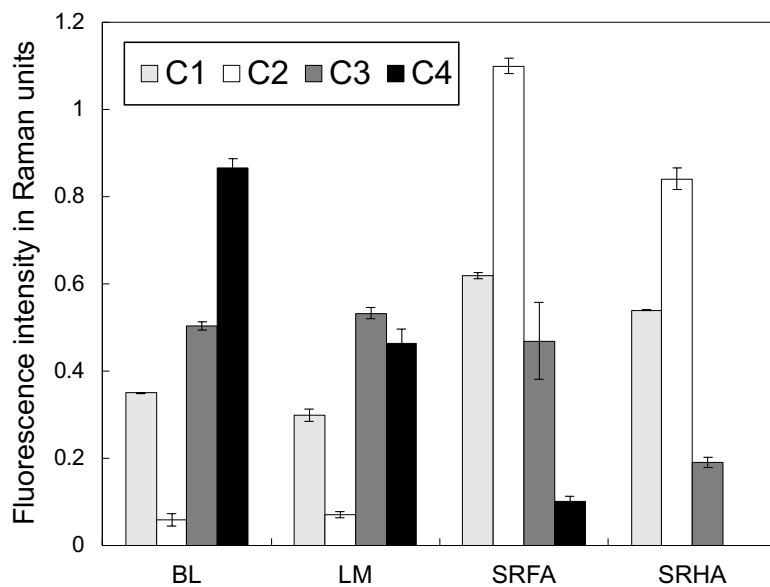


Figure 2.2 Fluorescence intensity (R.U.) of each component identified by PARAFAC analysis in DOM.

AF4

Asymmetric Flow Field-Flow Fractionation (AF4) is a non-destructive chromatographic-like separation method, and is suitable for a wide range of molecule and particle sizes (between 1 and 1000 nm). It allows molecules to be separated according to their diffusion coefficient, the separating force being a flow, perpendicularly to the direction of the mobile phase flow. As a result, and due to the parabolic form of the mobile phase flow, the smaller size molecules are eluted earlier than the largest ones. In order to achieve good sample fractionation, several parameters affecting the separation efficiency must be optimized. In this work, the method has been optimized in order to obtain adequate fractograms (i.e. the recovery rate, the shape of the peaks and the repeatability of the method) for all DOMs (detailed in section 1.4.2). According to the results obtained (Figure 2.3), it can be seen that Luther Marsh has three size classes of molecules, Bannister Lake has two, and SRHA and SRFA have one.

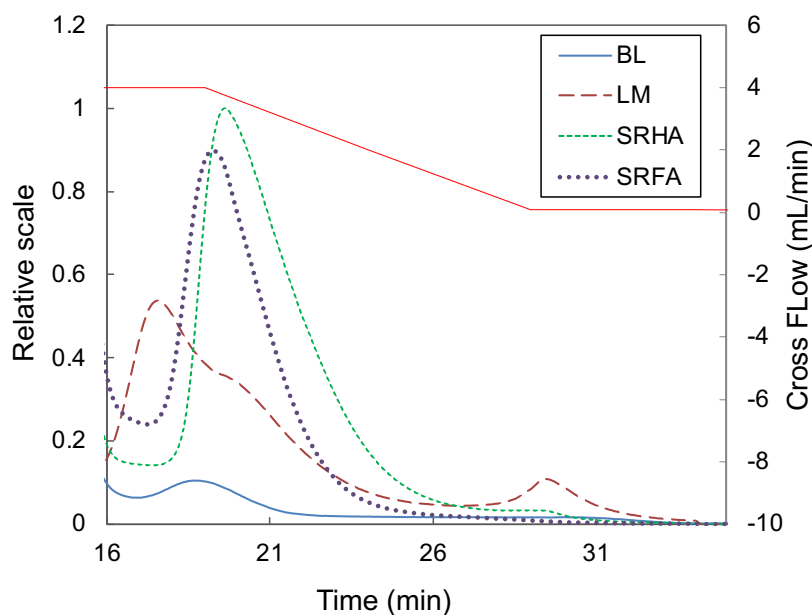


Figure 2.3 Fractograms of the different DOM obtained by UV detection as a function of retention time (1 kDa PES membrane, elution program with cross-flow $4 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ decreasing linearly to $0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ for 20 min). The cross-flow is represented by the red line.

2.5.2 Speciation

According to the fractograms obtained by AF4, La modified the size distribution of molecules for BL and LM (fewer classes), as well as their size (increased) by changing the retention time as shown for LM in Figure 2.4. The different size classes of the LM DOM sample with La ([La] = 5000 nM) were collected to quantify La by ICP-MS. Assuming that no changes in speciation occurs during the analysis, the results indicate that La was predominantly associated with the smallest molecular size class of LM (**Supporting Information**, Figure 2.9).

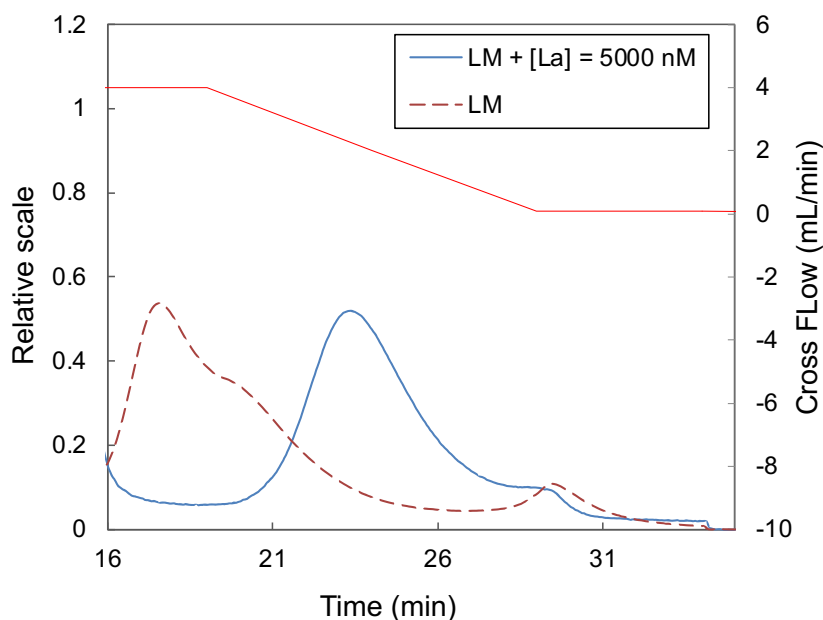


Figure 2.4 Fractograms of Luther Marsh with and without La (5000 nM) obtained by UV detection as a function of retention time (1 kDa PES membrane, elution program with cross-flow of 4 mL·min⁻¹ decreasing linearly to 0 mL·min⁻¹ for 20 min). The cross-flow is represented by the red line.

In the medium without organic matter, La³⁺ was the dominant species in solution based on thermodynamic calculations using MINEQL+, followed by LaEDTA (ranging from 48 to 3% as [La] is increased) and LaSO₄²⁻ (0.7% to 1.2%), while all other species were below 1% of the mean measured total La concentrations.

Comparison between PUF at 0.02 M and 0.1 M showed no significant differences for all DOM, except for SRHA. At 0.1 M ionic strength, the fraction of La bound to DOM showed no significant differences between IET and PUF. Finally, no significant differences were obtained between the % of La complexation with DOM between the start (0 h) and the end (96 h) of the exposure, for

both the IET and PUF methods. Values obtained with PUF were used for all subsequent data analyses.

In the presence of $3 \text{ mg C}\cdot\text{L}^{-1}$ of DOM, free La^{3+} concentrations decreased due to the strong complexation of La by DOM. For all La concentrations, there were no significant differences ($p > 0.05$) in La complexation among DOM types. Furthermore, the metal binding curves, represented by $[\text{La}^{3+}]$ versus $[\text{La}]_{\text{tot}}$, compared among DOMs (Figure 2.5) were similar. In a speciation study by Chen et al. (2018), the comparison of several metals (Pb, Zn and Cd) in the presence of different DOM samples (which included BL, LM and SRHA) showed that Pb was the metal for which the DOM source had the highest impact while for Cd and Zn few differences were observed. This could be explained by the metal affinity for complexation ($\text{Pb} > \text{Zn} \geq \text{Cd}$). Lanthanum would be expected to have a binding affinity for DOM that is closer to that of Pb than those of Cd and Zn, given the hard character of La and its +3 electronic charge. The absence of any apparent differences between DOM sources in our case could be due to the relatively low pH used (5.0 as opposed to 8.0 in Chen et al. 2018) that would shield most high pK_a functional groups such as phenolic and amine groups.

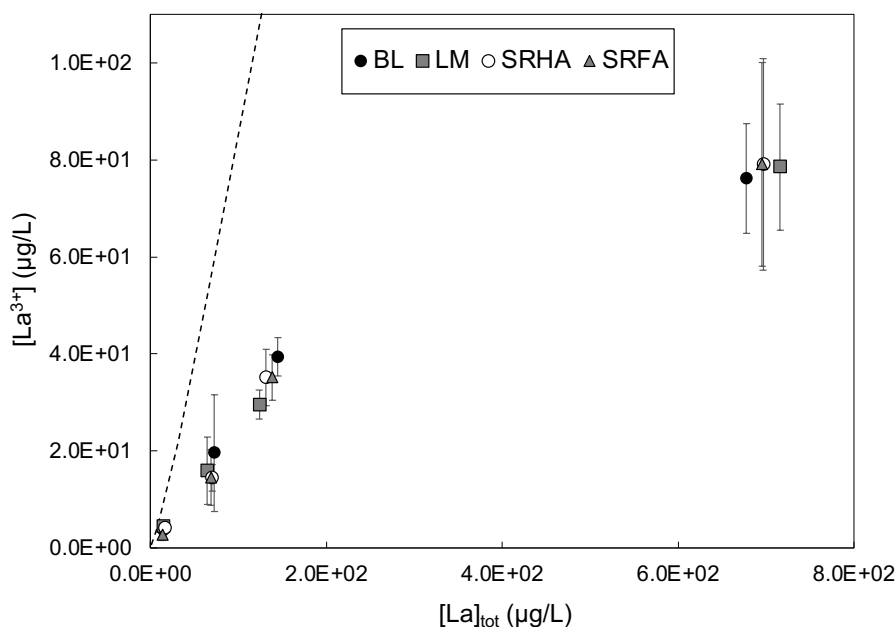


Figure 2.5 $[\text{La}^{3+}]$ versus $[\text{La}]_{\text{tot}}$ between DOMs ($3 \text{ mg C}\cdot\text{L}^{-1}$) at $\text{pH} = 5.0$ in MHSM-2 media. The dotted line corresponds to the medium without DOM. The values represent mean \pm standard deviation.

The concentrations of La^{3+} measured experimentally and calculated using WHAM VII were compared, and a good relationship with $[\text{La}^{3+}]$ measured by PUF was obtained, which is presented in the **Supporting Information** (Figure 2.8). At low La concentrations, complexation of La by DOM was overestimated by WHAM and measured values were slightly higher (less than 1 order of magnitude). In contrast, lower measured values (also less than 1 order of magnitude) than the predicted ones were obtained for high La total concentrations. For these concentrations, there was more complexation by DOM than predicted by WHAM. To investigate the impact of how organic carbon is entered into WHAM input data, three different scenarios were tested. The best agreement between calculated and measured La^{3+} was for the scenario using specifically determined fulvic and humic components (Table 2.6). More precisely, natural DOMs (BL and LM) had a stronger relationship when 65% of humic fraction was taken into account, and the two Suwannee River with the estimated fulvic concentration. In their work, Mueller et al. (2012) measured spectroscopically the proportion of FA by absorbance and fluorescence measurements in tested DOM, with the aim of incorporating this measure into WHAM. The relationships obtained were in good agreement for Cd, Cu, Zn and Ni, and demonstrated that DOM input parameters could be adjusted based on spectroscopic characteristics of the DOM to improve predictions by chemical speciation models. The authors pointed out that the affinity constants used in WHAM should also be adjusted, especially for Ni (Mueller et al., 2012). In other work, the performance of WHAM in predicting free metal ion concentrations varied with the metal considered and the analytical technique used to measure it (Batley et al., 2004; Chen et al., 2018; Fortin et al., 2010; Lofts et al., 2008; Mueller et al., 2012b; Stockdale et al., 2015). Since the biotic ligand model of acute metal toxicity is implemented using the WHAM model, it is clearly necessary to predict free metal ion concentrations of in solution as accurately as possible.

2.5.3 Toxicity and bioaccumulation

Toxicity

The dose-response curves (Figure 2.6) and the resulting EC_{50} (Table 2.3) show higher toxicity based on measured free $[\text{La}^{3+}]$ in the presence of organic matter, compared to the condition without. Although the addition of DOM reduced the EC_{50} determined on the basis of the total La concentration in the medium, DOM did not protect as much as anticipated based on the measured free La^{3+} concentration. In the absence of DOM, the final yield of the culture (cell density after 96 h) remained close to that of the control up to $\sim 100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ free La^{3+} whereas in the presence of DOM, cultures were highly inhibited at that concentration. These results are in contradiction with

the assumptions of the BLM, since the EC_{50} obtained, expressed as the free ion concentrations, are not similar between the experiments in the presence and in the absence of organic matter. The EC_{50} values expressed as the free ion concentration were very similar (i.e., the confidence intervals overlapped) for LM, BL and SRHA, whereas in the medium with SRFA the EC_{50} value was higher than for the other DOM samples.

The EC_{50} values expressed as total dissolved La (Table 2.3) are much higher than the typical environmental concentrations, and also higher than the maximum permissible concentrations proposed by Sneller et al. (2000). Therefore, according to these results, La should not pose a direct risk at least for this species in natural aquatic systems unless a significant anthropogenic input occurs. The EC_{50} values obtained in the absence of organic ligands are much lower than most values reported in the literature according to the review on lanthanum aquatic toxicity from Hermann et al. 2016. In a recent study by Aharchaou et al. (2020), the toxicity of La on the same biological model as this work, *Chlorella fusca*, was studied in relation to metal speciation. They compared media with simple monomeric organic ligands such as malic acid or NTA and media without ligands. Their EC_{50} values expressed as free La^{3+} were comparable between the different tested conditions (with and without an organic ligand), which suggest that the BLM can be used to predict La accumulation in algae in their conditions. Our DOM containing media results were in good agreements with their conditions with malic acid or NTA, but not for the condition without organic ligands, expressed as the free La^{3+} . The experimental conditions in our study and that of Aharchaou et al. (2020) were slightly different (i.e., pH = 5.5 and absence of organic phosphorus for Aharchaou et al. (2020); pH = 5.0 for the present study with the presence of organic P), which may partly explain the difference in EC_{50} observed in the absence of DOM. Nevertheless, our data set clearly shows that the addition of DOM results in higher-than-expected toxicity based on the measured free La^{3+} ion concentrations.

Table 2.3 Calculated EC_{50} of La for *C. fusca* after 96 h of exposure in the absence and presence ($3 \text{ mg C}\cdot\text{L}^{-1}$) of DOM; MHSM-2; pH = 5.0; (n = 3). Values in square brackets represent the 95% confidence intervals).

<i>Experimental condition</i>	EC_{50} [La_{total}] ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	EC_{50} [La^{3+}] ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
Bannister Lake	442 [262-592]	58 [49-67]
Luther Marsh	587 [478-700]	65 [59-70]
SRFA	918 [657-1340]	98 [70-137]
SRHA	547 [400-764]	71 [64-80]
Without DOM	1430 [327-6250]	1420 [7-6790]

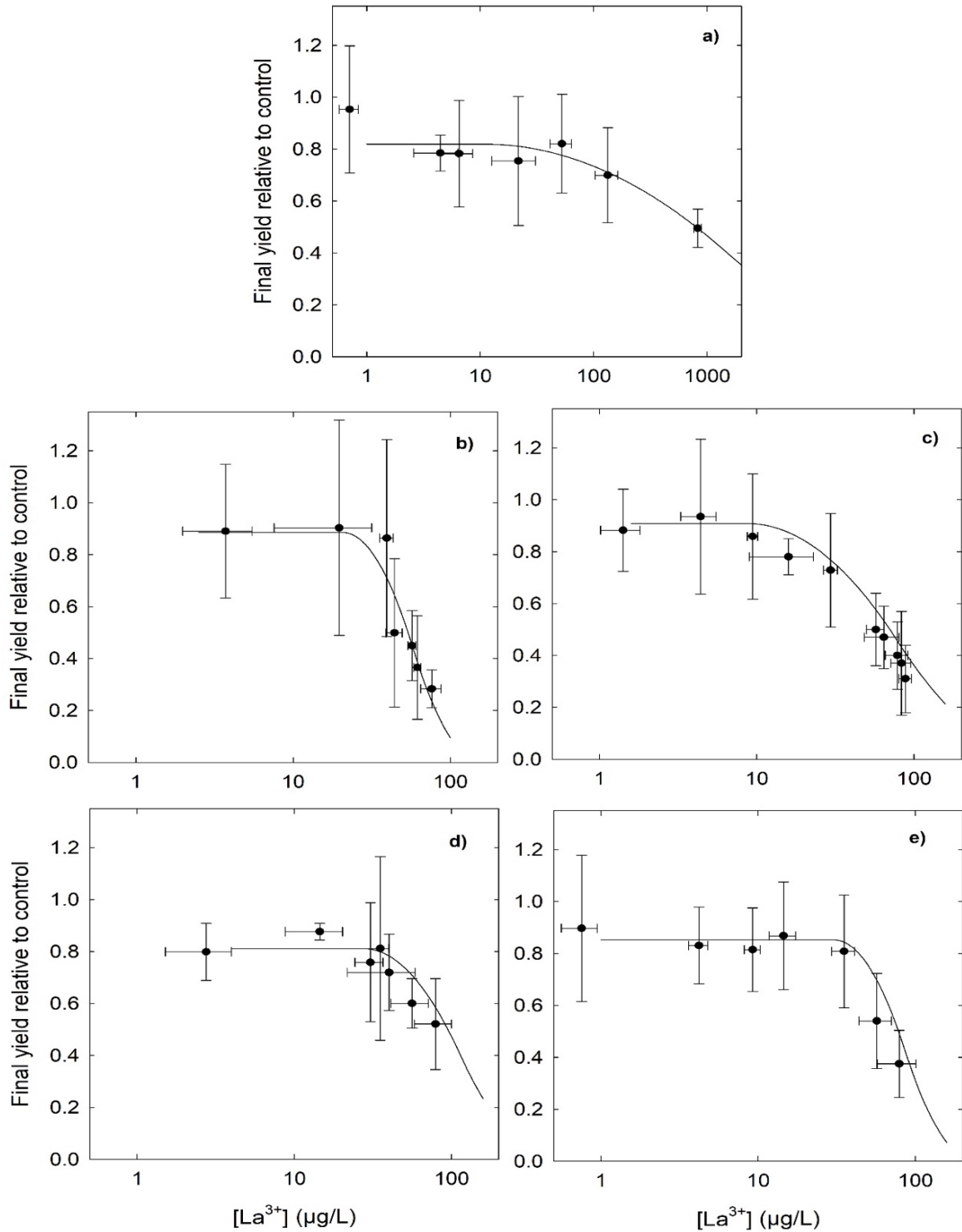


Figure 2.6 Dose-response curves for *C. fusca* as a function of PUF measured free La³⁺ concentrations a) Without DOM; and in the presence of 3 mg C·L⁻¹ of DOM b) Bannister Lake, c) Luther Marsh, d) SRFA and e) SRHA; in MHSM-2 for 96 h; pH = 5.0; (n = 3).

Bioaccumulation

Different trends were observed for the bioaccumulation of La (Figure 2.7) between the exposure with and without DOM. In the medium without organic matter, internalization reached a plateau between 10 and 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ before increasing again at the highest concentration tested. In the presence of DOM, a linear increase is observed with a change in slope at the onset of toxic effects. *C. fusca* internalizes much more La in media with DOM, compared to the condition without, with an order of magnitude difference on average around 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of free La^{3+} . At lower $[\text{La}^{3+}]$ (subtoxic concentration range; 20-40 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), however, accumulation seemed to remain in the same range for all exposure media while at the lowest La^{3+} concentrations ($\sim 1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), less La was accumulated in the presence of DOM than in its absence. Among the exposure conditions with DOM, *C. fusca* appears to accumulate more La in the presence of DOM from BL than in the experiments with the other DOM samples. The experiment with DOM from BL also provided the lowest EC_{50} . Once again, these results do not comply with the predictions of the BLM. Indeed, it seems that the presence of DOM promotes the entry of lanthanum into algal cells at high La concentrations, inducing greater toxicity than in the absence of DOM.

The results obtained by Vigneault et al. (2000) showed that the adsorption of organic matter to the algal membrane surface can alter the membrane permeability of cells. Another study by Slaveykova et al. (2003) with Pb describes changes in algal surface charge due to adsorption of SRFA. This hypothesis could partly explain their observed increase of Pb uptake in the presence of SRFA, compared to the same concentration of Pb^{2+} in the presence of synthetic ligands. We hypothesize that DOM is altering the permeability of algal membranes to some metals such as Pb and La, but clearly the exact mechanism remains to be elucidated.

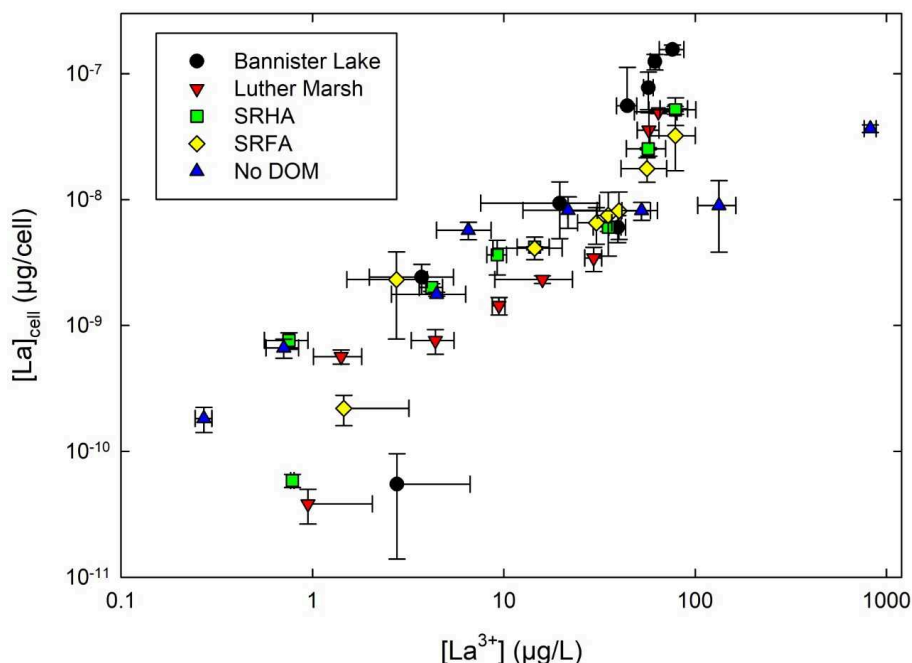


Figure 2.7 Internalized La by *C. fusca* cells after 96 h of exposure, as a function of free measured $[La^{3+}]$; comparison of conditions with ($3\text{ mg C}\cdot\text{L}^{-1}$) and without organic matter (log-log scale), in MHSM-2 medium; pH = 5.0; n = 3. The values represent means \pm standard deviations.

2.5.4 La toxicity as a function of optical parameters of DOM

Fluorescence

Relationships were explored between the optical parameters of DOM and the EC_{50} values expressed as free La^{3+} concentrations. The relationship between FI index and La toxicity to *C. fusca* was not statistically significant, although EC_{50} values do tend to decrease with increasing FI. In this case, the autochthonous-mixed BL organic matter promoted the most toxic conditions, based on La^{3+} EC_{50} and bioaccumulation values, in comparison with the other mostly allochthonous DOM. The relationship between BIX and the C2 component and La^{3+} toxicity was not significant either. However, the linear regression revealed that most variation in La^{3+} EC_{50} could be explained by the presence of the C1 component in DOMs ($r^2 = 0.8723$, $p = 0.04551$). These statistical results were obtained by removing two values of C1 for LM, which were aberrant (outside the scatter plot). In other words, approximately 87 % of the variability in La toxicity is explained by the aromatic character of DOM. Indeed, C1 is related to high molecular weights and aromatic material of terrestrial origin. Accordingly, SRHA and to a lesser extent SRFA exacerbated La toxicity less than DOM such as that from BL that contained less aromatic material.

In general, optically darker allochthonous DOM contributes to decrease metal toxicity more than does low-color autochthonous DOM (Al-Reasi et al., 2013; Luider et al., 2004; Richards et al., 2001; Schwartz et al., 2004). Al-Reasi et al. (2013) showed that autochthonous DOM, in their case the Bannister Lake DOM, was less protective against Cu toxicity to *D. magna* in terms of LC₅₀ values than terrigenous DOM. In a study conducted by Schwartz et al. (2004), the time to reach 50 % mortality (LT₅₀) for Cu and Pb to rainbow trout were well correlated to the source of some Canadian NOM samples. Allochthonous-like NOM decreased Cu and Pb toxicity more than did the autochthonous-like NOM. Another study by Richards et al. (2001) provided similar results for six metals (Pb, Hg, Cd, Cu, Ag, Co) with juvenile of rainbow trout, in the presence of 4, 6 and 10 mg C·L⁻¹ of NOM.

Absorbance indices

Relationships between E2/E3, S_R and SUVA indices of DOM and La³⁺ CE₅₀ values were not significant. The absorbance ratio of DOM in octanol versus water is obtained by measuring absorption at 254 nm of the aqueous and octanol fractions, of the sample. This absorbance ratio was not measured in this study, but it indicate the overall lipophilicity of DOM, and therefore the potential capacity of DOM molecules to be associated with other organic molecules, such as biological membranes (Al-Reasi et al., 2012). Al-Reasi et al. (2012) found a significant correlation between this index and Cu toxicity (LC₅₀), at 6 mg C·L⁻¹ DOM concentration. Due to their size, DOM molecules are unlikely to cross the plasma membrane but a lipophilic moiety could interact with the lipidic bilayer and alter its functions. This relationship was not significant at a DOM concentration of 3 mg C·L⁻¹ for Cu, but it could be a possible explanation for the increased uptake of La by *C. fusca* in the presence of DOM from with Bannister Lake. Indeed, the octanol/water absorbance coefficients at 254 nm for SRHA, Bannister Lake and Luther Marsh are respectively 0.030; 0.024 and 0.016 (Al-Reasi et al., 2011).

2.6 Conclusions

In this work, we determined the accumulation and toxicity of La in the absence and presence of DOM of different origins. Regarding accumulation, two patterns emerged: 1) at low ambient La³⁺ (up to ~20-40 µg·L⁻¹), where little or no toxicity is observed, accumulation was similar under all tested conditions and was overall related to free La³⁺ concentration; 2) at high ambient [La³⁺], DOM-containing media exhibited much greater toxicity than in the absence of DOM. This change in pattern suggests that DOM is exacerbating the toxic effects of La. The DOM quality predictors

tested were not significantly correlated with the effect of DOM on the toxicity of La, except for the C1 component. Indeed, a significant relationship was obtained with the aromatic character of DOM, indicating that the autochthonous-mixed BL organic matter, with a strong autochthonous biological contribution, induces more to toxicity than the other DOMs. For all DOM, predicted La^{3+} concentrations (using WHAM/Model VII) underestimated the measured free La^{3+} at low total La concentrations, and overestimated the measured free La^{3+} at high total La concentrations. Further studies are required to understand how DOM can enhance La toxicity toward algal cells.

2.7 Acknowledgments

The authors are grateful to Scott Smith and James McGeer for providing the natural organic matter samples from Ontario. Also, we would like to thank Kim Racine from INRS, Antoine Leyrat and Alexandra Coynel from Université de Bordeaux, EPOC, for the ICP-analyses of lanthanum. Funding provided by Environment and Climate Change Canada (Contribution Agreement for Metals in the Environment: Mitigating Environmental Risk and Increasing Sustainability, GCXE17S011) and the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (Grant STPGP 521467-18) is acknowledged. C. Fortin was supported by the Canada Research Chair Programme (grant number 950-231107).

2.8 Supporting information

Table 2.4 Composition in total concentration (M) of MHSM-2 and MHSM-R solutions.

<i>Chemical species</i>	<i>MHSM-2</i>	<i>MHSM-R without EDTA</i>	<i>MHSM-R with EDTA</i>
B(OH) ₃	3.01E-06	-	-
Ca	6.77E-05	6.77E-05	6.77E-05
Cl	4.20E-06	-	-
Co	1.09E-08	-	-
CO ₃	atm*	atm*	atm*
Cu	7.04E-08	-	-
Fe	5.92E-07	-	-
K	4.00E-03	4.00E-03	4.00E-03
Mg	8.12E-05	8.12E-05	8.12E-05
Mn	2.10E-06	-	-
MoO ₄	3.00E-08	-	-
Na	3.10E-03	3.10E-03	3.10E-03
NH ₄	9.37E-04	9.37E-04	9.37E-04
NO ₃	4.90E-03	4.90E-03	4.90E-03
β-glycerol phosphate (C ₃ H ₇ Na ₂ O ₆ P)	1.0E-05	1.0E-05	1.0E-05
SO ₄	8.12E-05	8.12E-05	8.12E-05
Zn	2.40E-08	-	-
MES	1.00E-02	-	-
EDTA	8.02E-07	-	1.00E-05

* In equilibrium with atmosphere

Table 2.5 Input data of HA and FA concentrations for WHAM modelling.

<i>DOM</i>	<i>[FA] + [HA]</i>		<i>65 % FA</i>		<i>[FA]</i>	
	<i>[FA] g·L⁻¹</i>	<i>[HA] g·L⁻¹</i>	<i>[FA] g·L⁻¹</i>	<i>[HA] g·L⁻¹</i>	<i>[FA] g·L⁻¹</i>	<i>[HA] g·L⁻¹</i>
BL	2.53e-3 *	2.76e-3 *	3.90e-3	-	2.53e-3 *	-
LM	1.20e-3 ***	4.80e-3 **	3.90e-3	-	1.20e-3 ***	-
SRHA	1.20e-3 ***	4.80e-3 **	3.90e-3	-	1.20e-3 ***	-
SRFA	4.80e-3 ***	1.20e-3 ***	3.90e-3	-	4.80e-3 ***	-

* Data provided by Scott smith and James McGeer

** Data from Al-Reasi *et al.* (2011)

*** Estimated data

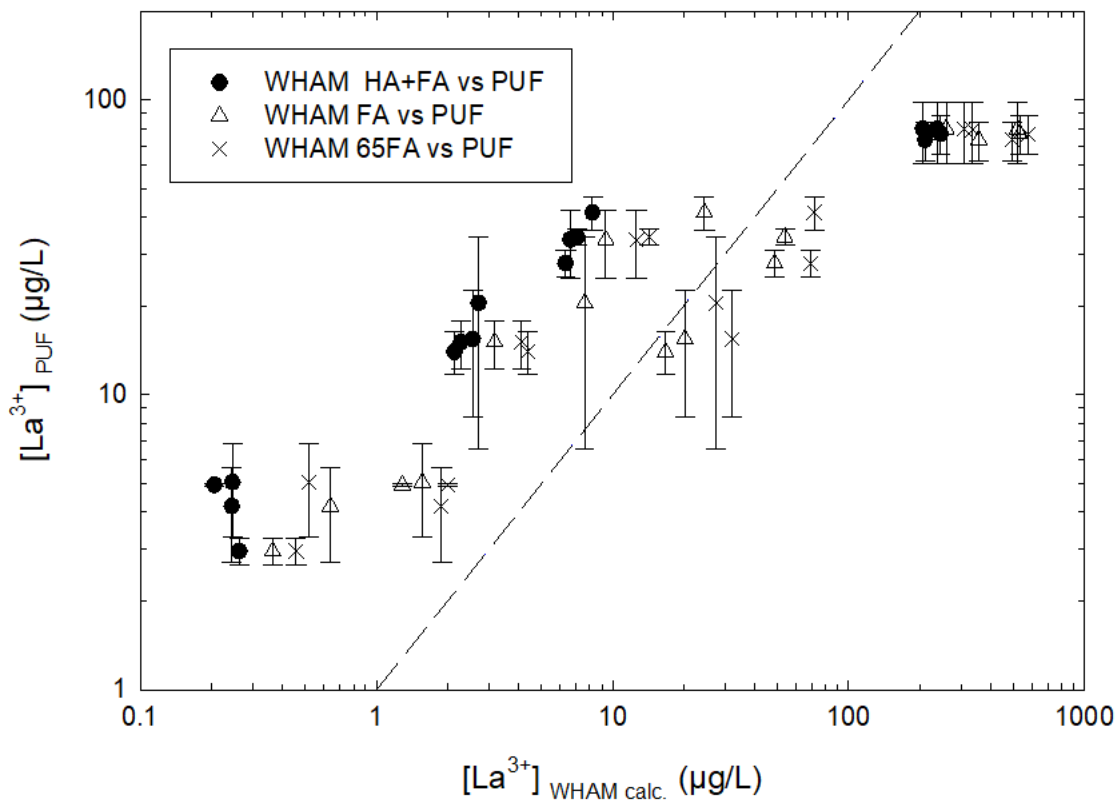


Figure 2.8 Relationship between $[La^{3+}]_{PUF}$ calculated and measured using WHAM/Model VII in the presence of $3 \text{ mg C}\cdot\text{L}^{-1}$ of DOM, in MHSM-2. Different WHAM scenarios are represented. The values are shown as means \pm standard deviations.

Table 2.6 Relationship strength between predicted and measured $\log_{10} [La^{3+}]$, represented by the regression parameter R^2 , between different input data scenarios of [HA] and [FA] in WHAM for each DOM.

DOM	Measured [FA] + [HA]	65 % FA	Measured [FA]
BL	0.81	0.87	0.83
LM	0.91	0.95	0.94
SRHA	0.87	0.87	0.93
SRFA	0.82	0.83	0.86

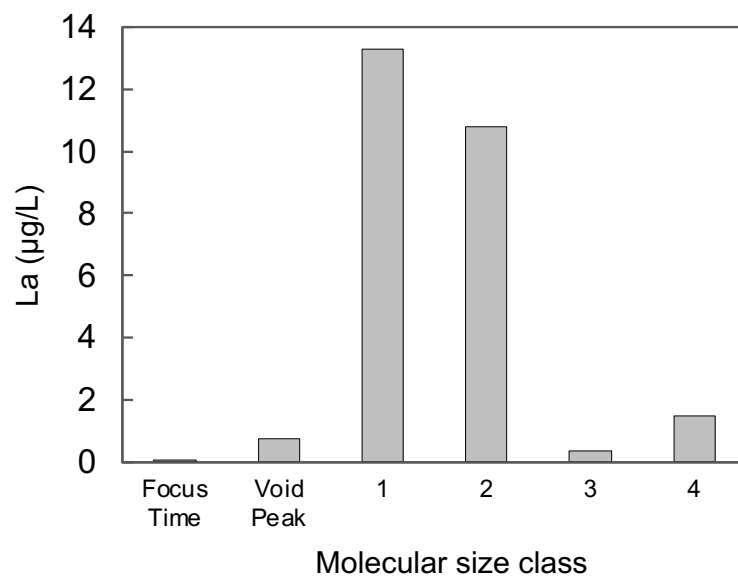


Figure 2.9 Mass of lanthanum quantified by ICP-MS in each size class of molecules of the LM DOM sample with La ($[La] = 5000 \text{ nM}$) separated by AF4 ($n = 1$). The numbers 1 to 4 refer to the size class of molecules collected in terms of their retention time: 1) 20 to 27 min; 2) 27 to 31 min; 3) 31 to 35 min and 4) 35 to 45 min.

3 DISCUSSION GÉNÉRALE ET CONCLUSION

3.1 Toxicité et biodisponibilité du lanthane en présence de MOD

Ce projet a permis de déterminer la toxicité et l'accumulation du lanthane chez l'algue verte unicellulaire *C. fusca* en relation avec sa spéciation. Les MOD testées provenaient de standards de substances humiques de la rivière Suwannee et de milieux naturels en Ontario. Des tests de toxicité sur *C. fusca* ont été réalisés à pH 5,0 pendant 96 h. La spéciation chimique du lanthane a été mesurée au début et à la fin des expositions, à l'aide de deux techniques : l'IET et l'ultrafiltration partielle. Les résultats expérimentaux ont pu être comparés aux prédictions du logiciel WHAM, et ont montré qu'en fonction de la concentration en lanthane, le logiciel n'était pas en mesure de prédire correctement l'affinité du lanthane pour nos différentes MOD. Ce genre d'écart entre les concentrations mesurées et prédites par le logiciel a déjà été documenté pour plusieurs autres métaux (Fortin et al., 2010; Mueller et al., 2012b; Muresan et al., 2011). Il y a donc une nécessité d'ajuster certains paramètres comme les constantes d'affinité, ainsi que la proportion de MOD active dans la complexation des métaux, afin de prédire au mieux les concentrations en ions libres des cations métalliques en solution. D'autant plus que ces prédictions sont généralement utilisées pour évaluer le risque de toxicité des métaux envers les organismes. Le modèle du ligand biotique a déjà été vérifié pour plusieurs métaux en présence de standards d'acides humiques (Lamelas et al., 2009; Lamelas and Slaveykova, 2007; Vigneault and Campbell, 2005) et de MOD naturelles (Al-Reasi et al. 2012). Cependant, d'après les résultats obtenus dans ce projet, les CE_{50} , exprimées en fonction des concentrations en ions libres, n'étaient pas similaires entre les milieux en présence et en absence de matière organique. La présence de MOD a plutôt augmenté la prise en charge du lanthane par les cellules algales, et exacerbé sa toxicité, par rapport à la condition sans matière organique. Parmi les MOD testées, *C. fusca* a semblé accumuler plus de lanthane en présence de celle provenant de Bannister Lake. Dans les expériences avec cette MOD, les résultats d'internalisation du La étaient de loin supérieurs à ceux pour les autres MOD, et la CE_{50} était également la plus basse.

Plusieurs indices ont été calculés par une caractérisation des MOD en spectroscopie de fluorescence et d'UV-visible, afin d'obtenir des informations sur la nature et la composition de celles-ci. L'indice de fluorescence FI a été calculé afin d'avoir des informations sur la source et l'origine des matières organiques testées. Les valeurs obtenues étaient relativement faibles par rapport aux valeurs référencées par McKnight et al. (2001), mais ont permis de montrer la

contribution terrestre pour toutes les MOD. L'apport de la littérature scientifique a montré une influence plutôt mixte pour Bannister Lake (Al-Reasi et al., 2011). Le calcul de l'indice BIX a pu valider que Bannister Lake se caractérisait par un mélange de sources, avec la présence d'un matériel autochtone récent (activité biologique importante du milieu). Cet indice a également permis de montrer une signature mixte similaire pour Luther Marsh. Parallèlement, Bannister Lake et Luther Marsh ont été caractérisés par un mélange de sources, avec une contribution biologique importante, à l'aide de la décomposition PARAFAC des spectres de fluorescence. Les indices d'absorbance calculés ont permis de montrer que les composés organiques colorés composant la MOD d'origine allochtone ont des poids moléculaires et une aromaticité plus importante que les matières organiques autochtones.

Les tests de corrélation entre ces différents paramètres optiques et les CE_{50} calculées n'ont pas montré de relations significatives, sauf pour le composant C1, déterminé par PARAFAC. En effet, environ 87 % de la variabilité de la toxicité est expliquée par le caractère aromatique, d'origine terrestre, de la MOD. En d'autres mots, plus la matière organique est d'origine autochtone, plus elle augmente la toxicité du lanthane envers *C. fusca*. Ces résultats confirment donc que les MOD provenant de Bannister Lake, avec une matière organique d'origine autochtone-mixte dont la composition est dominée par un matériel fraîchement produit dans le milieu, est celle qui a le plus d'effet sur la toxicité du lanthane. Une hypothèse également soulevée pour expliquer les résultats obtenus est l'adsorption de la MOD sur les membranes algales. Quelques études antérieures ont permis de mettre en évidence l'influence physiologique directe de la MOD sur les algues (Boullemant et al., 2004; Parent et al., 1996; Sanchez-Marin & Beiras, 2011; Vigneault et al., 2000; Zhao & Wilkinson, 2015). C'est également l'hypothèse soulevée par Rahal (2018) dans son mémoire de maîtrise, pour expliquer l'augmentation de la toxicité du lanthane en présence de SRHA. Cette hypothèse est d'ailleurs cohérente avec les résultats de toxicité et de bioaccumulation obtenus. Nos travaux vont donc à l'encontre des modèles de prédiction de la toxicité des métaux déjà établis, et laissent à de nouveaux projets de recherche l'opportunité de compléter les informations sur ce sujet.

3.2 Perspectives

Dans l'environnement naturel où les ligands organiques sont omniprésents, les modèles classiques sont parfois peu susceptibles de prédire adéquatement la biodisponibilité des terres rares pour les algues vertes. L'exemple du lanthane fait exception aux prédictions du BLM, et il serait intéressant de continuer à étudier la toxicité de ce métal en présence de MOD. Des travaux

supplémentaires sont donc nécessaires pour déterminer les mécanismes qui entraînent une augmentation de la toxicité et de la prise en charge du lanthane en présence de matière organique. Également afin de mieux comprendre l'influence de la MOD sur sa toxicité, il serait pertinent d'étudier les voies d'entrées du lanthane dans les cellules algales.

Comme les standards d'acides humiques et fulviques ne sont pas représentatifs de la matière organique en milieu aquatique naturel, il serait intéressant de comparer les corrélations entre les propriétés optiques et les CE_{50} , avec les données d'autres matières organiques naturelles, pour le lanthane. D'autres conditions expérimentales pour les tests de toxicité pourraient également être testées, comme l'influence du pH. Enfin, il serait intéressant de voir si l'augmentation de la toxicité en présence de MOD est observée pour d'autres lanthanides, comme le cérium.

Finalement, l'AF4 est une méthode de séparation prometteuse pour l'étude des interactions entre métaux et MOD. Dans ce projet, la méthode a été optimisée afin d'obtenir les meilleurs fractogrammes pour toutes les MOD. Dans le futur, il serait intéressant d'optimiser une méthode différente pour les matières organiques naturelles, et les standards d'acide humique et fulvique. Le couplage de cette méthode avec une méthode de quantification des métaux (ICP-MS) a permis de distinguer les classes de taille de molécules pour lesquelles le lanthane avait le plus d'affinité. Il serait intéressant pour de futurs projets de comparer cette distribution pour plusieurs concentrations en lanthane et parmi différentes MOD.

4 BIBLIOGRAPHIE

- Aharchaou, I., Beaubien, C., Campbell, P.G.C., Fortin, C., 2020. Lanthanum and cerium toxicity to the freshwater green alga *Chlorella fusca*: applicability of the biotic ligand model. *Environmental Toxicology and Chemistry* **39**, 996–1005. <https://doi.org/10.1002/etc.4707>
- Aiken, G.R., Hsu-Kim, H., Ryan, J.N., 2011. Influence of dissolved organic matter on the environmental fate of metals, nanoparticles, and colloids. *Environmental Science & Technology* **45**, 3196–3201. <https://doi.org/10.1021/es103992s>
- Al-Reasi, H.A., Scott Smith, D., Wood, C.M., 2012. Evaluating the ameliorative effect of natural dissolved organic matter (DOM) quality on copper toxicity to *Daphnia magna*: improving the BLM. *Ecotoxicology* **21**, 524–537. <https://doi.org/10.1007/s10646-011-0813-z>
- Al-Reasi, H.A., Wood, C.M., Smith, D.S., 2013. Characterization of freshwater natural dissolved organic matter (DOM): Mechanistic explanations for protective effects against metal toxicity and direct effects on organisms. *Environment International* **59**, 201–207. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.06.005>
- Al-Reasi, H.A., Wood, C.M., Smith, D.S., 2011. Physicochemical and spectroscopic properties of natural organic matter (NOM) from various sources and implications for ameliorative effects on metal toxicity to aquatic biota. *Aquatic Toxicology* **103**, 179–190. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.02.015>
- Antunes, M.C.G., Pereira, C.C.C., Esteves da Silva, J.C.G., 2007. MCR of the quenching of the EEM of fluorescence of dissolved organic matter by metal ions. *Analytica Chimica Acta* **595**, 9–18. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.12.017>
- Ateia, M., Apul, O.G., Shimizu, Y., Muflihah, A., Yoshimura, C., Karanfil, T., 2017. Elucidating adsorptive fractions of natural organic matter on carbon nanotubes. *Environmental Science & Technology* **51**, 7101–7110. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b01279>
- Awfa, D., Ateia, M., Fujii, M., Yoshimura, C., 2020. Photocatalytic degradation of organic micropollutants: Inhibition mechanisms by different fractions of natural organic matter. *Water Research* **174**, 115643. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115643>
- Batley, G.E., Apte, S.C., Stauber, J.L., 2004. Speciation and bioavailability of trace metals in water: progress since 1982. *Australian Journal of Chemistry* **57**, 903. <https://doi.org/10.1071/CH04095>
- Bau, M., Dulski, P., 1996. Anthropogenic origin of positive gadolinium anomalies in river waters. *Earth and Planetary Science Letters* **143**, 245–255. [https://doi.org/10.1016/0012-821X\(96\)00127-6](https://doi.org/10.1016/0012-821X(96)00127-6)
- Beaubien, C., 2015. Toxicité de deux lanthanides (La, Ce) sur l’algue verte *Chlorella fusca*. Mémoire. Québec, Université du Québec, Institut national de la recherche scientifique, maîtrise en sciences de l’eau, 109 p.

- Boullemant, A., Vigneault, B., Fortin, C., Campbell, P.G.C., 2004. Uptake of neutral metal complexes by a green alga: influence of pH and humic substances. *Australian Journal of Chemistry* **57**, 931-936. <https://doi.org/10.1071/CH04093>
- Bryan, S.E., Tipping, E., Hamilton-Taylor, J., 2002. Comparison of measured and modelled copper binding by natural organic matter in freshwaters. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C. Toxicology & Pharmacology* **133**, 37-49. [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(02\)00083-2](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(02)00083-2)
- Bury, N.R., Galvez, F., Wood, C.M., 1999. Effects of chloride, calcium, and dissolved organic carbon on silver toxicity: Comparison between rainbow trout and fathead minnows. *Environmental Toxicology and Chemistry* **18**, 56-62. <https://doi.org/10.1002/etc.5620180108>
- Campbell, P.G.C, Twiss, M.R., Wilkinson, K.J., 1997. Accumulation of natural organic matter on the surfaces of living cells: implications for the interaction of toxic solutes with aquatic biota. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **54**, 2543-2554. <https://doi.org/10.1139/f97-161>
- Campbell, P.G.C., Fortin, C., 2013. Biotic Ligand Model. In 'Encyclopedia of Aquatic Ecotoxicology' (Eds. Féraud, J.-F., Blaise, C.). Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 237-246. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5704-2_23
- Cascales, C., Maestro, P., Porcher, P.-C., Puche, R.S., 2017. Lanthane et lanthanides. *Encyclopædia Universalis* [en ligne]. URL : <https://www.universalis.fr/encyclopedie/lanthane-et-lanthanides/>
- Catalán, N., Pastor, A., Borrego, C.M., Casas-Ruiz, J.P., Hawkes, J.A., Gutiérrez, C., Schiller, D., Marcé, R., 2020. The relevance of environment vs. composition on dissolved organic matter degradation in freshwaters. *Limnology and Oceanography* **66**, 306-320. <https://doi.org/10.1002/lno.11606>
- Chakhmouradian, A.R., Wall, F., 2012. Rare earth elements: minerals, mines, magnets (and more). *Elements* **8**, 333-340. <https://doi.org/10.2113/gselements.8.5.333>
- Chen, W., Guéguen, C., Smith, D.S., Galceran, J., Puy, J., Companys, E., 2018. Metal (Pb, Cd, and Zn) binding to diverse organic matter samples and implications for speciation modeling. *Environmental Science & Technology* **52**, 4163-4172. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b05302>
- Chen, Z., 2011. Global rare earth resources and scenarios of future rare earth industry. *Journal of Rare Earths* **29**, 1-6. [https://doi.org/10.1016/S1002-0721\(10\)60401-2](https://doi.org/10.1016/S1002-0721(10)60401-2)
- Chen, Z., Porcher, C., Campbell, P.G.C., Fortin, C., 2013. Influence of humic acid on algal uptake and toxicity of ionic silver. *Environmental Science & Technology* **47**, 8835-8842. <https://doi.org/10.1021/es401085n>
- Copetti, D., Finsterle, K., Marziali, L., Stefani, F., Tartari, G., Douglas, G., Reitzel, K., Spears, B.M., Winfield, I.J., Crosa, G., D'Haese, P., Yasserli, S., Lürling, M., 2016. Eutrophication management in surface waters using lanthanum modified bentonite: a review. *Water Research* **97**, 162-174. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.11.056>

- Cotton, S., 2006. Lanthanide and Actinide Chemistry. ISBN: 978-0-470-01005-1. 280 p.
- Cuss, C.W., Guéguen, C., 2015. Relationships between molecular weight and fluorescence properties for size-fractionated dissolved organic matter from fresh and aged sources. *Water Research* **68**, 487–497. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.10.013>
- Das, T., Sharma, A., Talukder, G., 1988. Effects of lanthanum in cellular systems: a review. *Biological Trace Element Research* **18**, 201–228. <https://doi.org/10.1007/BF02917504>
- Derrien, M., Shin, K.-H., Hur, J., 2019. Biodegradation-induced signatures in sediment pore water dissolved organic matter: Implications from artificial sediments composed of two contrasting sources. *Science of the Total Environment* **694**, e133714. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133714>
- Du, Y., Lu, Y., Roebuck, J.A., Liu, D., Chen, F., Zeng, Q., Xiao, K., He, H., Liu, Z., Zhang, Y., Jaffé, R., 2020. Direct versus indirect effects of human activities on dissolved organic matter in highly impacted lakes. *Science of the Total Environment* **752**, e141839. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141839>
- Dutta, T., Kim, K.-H., Uchimiya, M., Kwon, E.E., Jeon, B.-H., Deep, A., Yun, S.-T., 2016. Global demand for rare earth resources and strategies for green mining. *Environmental Research* **150**, 182–190. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.05.052>
- El-Akl, P., Smith, S., Wilkinson, K.J., 2015. Linking the chemical speciation of cerium to its bioavailability in water for a freshwater alga: bioavailability of Ce in water. *Environmental Toxicology and Chemistry* **34**, 1711–1719. <https://doi.org/10.1002/etc.2991>
- Fellman, J.B., D'Amore, D.V., Hood, E., Boone, R.D., 2008. Fluorescence characteristics and biodegradability of dissolved organic matter in forest and wetland soils from coastal temperate watersheds in southeast Alaska. *Biogeochemistry* **88**, 169–184. <https://doi.org/10.1007/s10533-008-9203-x>
- Fortin, C., Couillard, Y., Vigneault, B., Campbell, P.G.C., 2010. Determination of Free Cd, Cu and Zn concentrations in lake waters by in situ diffusion followed by column equilibration ion-exchange. *Aquatic Geochemistry* **16**, 151–172. <https://doi.org/10.1007/s10498-009-9074-3>
- Gao, Z., Guéguen, C., 2017. Size distribution of absorbing and fluorescing DOM in Beaufort Sea, Canada Basin. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* **121**, 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2016.12.014>
- Gonzalez V., Vignati D.A.L., Leyval C., Giamberini L., 2014. Environmental fate and ecotoxicity of lanthanides: Are they a uniform group beyond chemistry? *Environment International* **71**, 148-157. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.06.019>
- Goonan, T.G., 2011. Rare earth elements-end use and recyclability (No. 2011–5094) 'Scientific Investigations Report. USGS, États-Unis.
- Guéguen, C., Cuss, C.W., Cassels, C.J., Carmack, E.C., 2014. Absorption and fluorescence of dissolved organic matter in the waters of the Canadian Arctic Archipelago, Baffin Bay, and

- the Labrador Sea. *Journal of Geophysical Research Oceans* **119**, 2034–2047. <https://doi.org/10.1002/2013JC009173>
- Helms, J.R., Stubbins, A., Ritchie, J.D., Minor, E.C., Kieber, D.J., Mopper, K., 2008. Absorption spectral slopes and slope ratios as indicators of molecular weight, source, and photobleaching of chromophoric dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography* **53**, 955–969. <https://doi.org/10.4319/lo.2008.53.3.0955>
- Herrmann, H., Nolde, J., Berger, S., Heise, S., 2016. Aquatic ecotoxicity of lanthanum – A review and an attempt to derive water and sediment quality criteria. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **124**, 213–238. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.09.033>
- Hourtané, O., 2019. Etude du rôle de la matière organique naturelle dans l'accumulation et la toxicité du platine chez différents producteurs primaires d'eau douce. Mémoire. Québec, Université du Québec, Institut national de la recherche scientifique, maîtrise en sciences de l'eau, 154 p.
- Hu, H., Wang, L., Li, Y., Sun, J., Zhou, Q., Huang, X., 2016. Insight into mechanism of lanthanum (III) induced damage to plant photosynthesis. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **127**, 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.01.008>
- Hu, Z., Richter, H., Sparovek, G., Schnug, E., 2004. Physiological and biochemical effects of rare earth elements on plants and their agricultural significance: a review. *Journal of Plant Nutrition* **27**, 183–220. <https://doi.org/10.1081/PLN-120027555>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2009.03.002>
- Joonas, E., Aruoja, V., Olli, K., Syvertsen-Wiig, G., Vija, H., Kahru, A., 2017. Potency of (doped) rare earth oxide particles and their constituent metals to inhibit algal growth and induce direct toxic effects. *Science of the Total Environment* **593–594**, 478–486. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.184>
- Kazy, S.K., Das, S.K., Sar, P., 2006. Lanthanum biosorption by a *Pseudomonas* sp.: equilibrium studies and chemical characterization. *Journal of Industrial Microbiology* **33**, 773–783. <https://doi.org/10.1007/s10295-006-0108-1>
- Kida, M., Kojima, T., Tanabe, Y., Hayashi, K., Kudoh, S., Maie, N., Fujitake, N., 2019. Origin, distributions, and environmental significance of ubiquitous humic-like fluorophores in Antarctic lakes and streams. *Water Research* **163**, e114901. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.114901>
- Klinck, J., Dunbar, M., Brown, S., Nichols, J., Winter, A., Hughes, C., Playle, R.C., 2005. Influence of water chemistry and natural organic matter on active and passive uptake of inorganic mercury by gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology* **72**, 161–175. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.11.013>
- Knauer, K., Buffle, J., 2001. Adsorption of fulvic acid on algal surfaces and its effect on carbon uptake. *Journal of Phycology* **37**, 47–51. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2001.037001047.x>

- Korak, J.A., Dotson, A.D., Summers, R.S., Rosario-Ortiz, F.L., 2014. Critical analysis of commonly used fluorescence metrics to characterize dissolved organic matter. *Water Research* **49**, 327–338. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.11.025>
- Kulaksız, S., Bau, M., 2011. Rare earth elements in the Rhine River, Germany: First case of anthropogenic lanthanum as a dissolved microcontaminant in the hydrosphere. *Environment International* **37**, 973–979. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2011.02.018>
- Lamelas, C., Pinheiro, J.P., Slaveykova, V.I., 2009. Effect of humic acid on Cd(II), Cu(II), and Pb(II) uptake by freshwater algae: kinetic and cell wall speciation considerations. *Environmental Science & Technology* **43**, 730–735. <https://doi.org/10.1021/es802557r>
- Lamelas, C., Slaveykova, V.I., 2007. Comparison of Cd(II), Cu(II), and Pb(II) biouptake by green algae in the presence of humic acid. *Environmental Science & Technology* **41**, 4172–4178. <https://doi.org/10.1021/es063102j>
- Lamelas, C., Wilkinson, K.J., Slaveykova, V.I., 2005. Influence of the composition of natural organic matter on Pb bioavailability to microalgae. *Environmental Science & Technology* **39**, 6109–6116. <https://doi.org/10.1021/es050445t>
- Lee, J., Park, J.H., Shin, Y.S., Lee, B.C., Chang, N.I., Cho, J., Kim, S.D., 2009. Effect of dissolved organic matter on the growth of algae, *Pseudokirchneriella subcapitata*, in Korean lakes: the importance of complexation reactions. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **72**, 335–343. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.01.013>
- Leguay, S., Campbell, P.G.C., Fortin, C., 2016. Determination of the free-ion concentration of rare earth elements by an ion-exchange technique: implementation, evaluation and limits. *Environmental Chemistry* **13**, 478. <https://doi.org/10.1071/EN15136>
- Leveque, A., Sabot, J.L., Maestro, P., 2001. Lanthanides. In 'Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology' (Ed. John Wiley & Sons, Inc.). John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. <https://doi.org/10.1002/0471238961.1201142019010215.a01.pub2>
- Liu, A., Gonzalez, R.D., 2000. Modeling adsorption of copper(II), cadmium(II) and lead(II) on purified humic acid. *Langmuir* **16**, 3902–3909. <https://doi.org/10.1021/la990607x>
- Lofts, S., Tipping, E., 2011. Assessing WHAM/Model VII against field measurements of free metal ion concentrations: model performance and the role of uncertainty in parameters and inputs. *Environmental Chemistry* **8**, 501. <https://doi.org/10.1071/EN11049>
- Lofts, S., Tipping, E., Hamilton-Taylor, J., 2008. The chemical speciation of Fe(III) in freshwaters. *Aquatic Geochemistry* **14**, 337–358. <https://doi.org/10.1007/s10498-008-9040-5>
- Luiders, C.D., Crusius, J., Playle, R.C., Curtis, P.J., 2004. Influence of natural organic matter source on copper speciation as demonstrated by Cu binding to fish gills, by ion selective electrode, and by DGT gel sampler. *Environmental Science & Technology* **38**, 2865–2872. <https://doi.org/10.1021/es030566y>
- Macoustra, G., Holland, A., Stauber, J., Jolley, D.F., 2019. The effect of various natural dissolved organic carbon on copper lability and toxicity to the tropical freshwater microalga, *Chlorella*

- sp. *Environmental Science & Technology* **53**, 2768-2777. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b04737>
- MacMillan, G.A.; Clayden, M.G.; Chetelat, J.; Richardson, M.C.; Ponton, D.E.; Perron, T.; Amyot, M., 2019. Environmental drivers of rare earth element bioaccumulation in freshwater zooplankton. *Environmental Science & Technology* **53**, 1650-1660. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b05547>
- Malcolm, R.L., MacCarthy, Patrick., 1986. Limitations in the use of commercial humic acids in water and soil research. *Environmental Science & Technology* **20**, 904-911. <https://doi.org/10.1021/es00151a009>
- Manciulea, A., Baker, A., Lead, J.R., 2009. A fluorescence quenching study of the interaction of Suwannee River fulvic acid with iron oxide nanoparticles. *Chemosphere* **76**, 1023-1027. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.04.067>
- Markert, B., 1987. The pattern of distribution of lanthanide elements in soils and plants. *Phytochemistry* **26**, 3167-3170. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)82463-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)82463-2)
- McKnight, D.M., Boyer, E.W., Westerhoff, P.K., Doran, P.T., Kulbe, T., Andersen, D.T., 2001. Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity. *Limnology and Oceanography* **46**, 38-48. <https://doi.org/10.4319/lo.2001.46.1.0038>
- Moermond, C.T.A., Tijink, J., van Wezel, A.P., Koelmans, A.A., 2001. Distribution, speciation, and bioavailability of lanthanides in the Rhine-Meuse estuary, The Netherlands. *Environmental Toxicology and Chemistry* **20**, 1916-1926. <https://doi.org/10.1002/etc.5620200909>
- Mostofa, K.M.G., Yoshioka, T., Mottaleb, A., Vione, D. (Eds.), 2013. Photobiogeochemistry of organic matter 'Environmental Science and Engineering. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-32223-5>
- Mueller, K.K., Fortin, C., Campbell, P.G.C., 2012a. Spatial variation in the optical properties of dissolved organic matter (dom) in lakes on the Canadian precambrian shield and links to watershed characteristics. *Aquatic Geochemistry* **18**, 21-44. <https://doi.org/10.1007/s10498-011-9147-y>
- Mueller, K.K., Lofts, S., Fortin, C., Campbell, P.G.C., 2012b. Trace metal speciation predictions in natural aquatic systems: incorporation of dissolved organic matter (DOM) spectroscopic quality. *Environmental Chemistry* **9**, 356-368. <https://doi.org/10.1071/EN11156>
- Muresan, B., Pernet-Coudrier, B., Cossa, D., Varrault, G., 2011. Measurement and modeling of mercury complexation by dissolved organic matter isolates from freshwater and effluents of a major wastewater treatment plant. *Applied Geochemistry* **26**, 2057-2063. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2011.07.003>
- Murphy, K.R., Stedmon, C.A., Wenig, P., Bro, R., 2014. OpenFluor- an online spectral library of auto-fluorescence by organic compounds in the environment. *Analytical Methods* **6**, 658-661. <https://doi.org/10.1039/C3AY41935E>

- Nduwayezu, I., Mostafavirad, F., Hadioui, M., Wilkinson, K.J., 2016. Speciation of a lanthanide (Sm) using an ion exchange resin. *Analytical Methods* **8**, 6774–6781. <https://doi.org/10.1039/C6AY02018F>
- Noack, C.W., Dzombak, D.A., Karamalidis, A.K., 2014. Rare earth element distributions and trends in natural waters with a focus on groundwater. *Environmental Science & Technology* **48**, 4317–4326. <https://doi.org/10.1021/es4053895>
- Ohno, T., Amirbahman, A., Bro, R., 2008. Parallel factor analysis of excitation–emission matrix fluorescence spectra of water soluble soil organic matter as basis for the determination of conditional metal binding parameters. *Environmental Science & Technology* **42**, 186–192. <https://doi.org/10.1021/es071855f>
- Ojwang L.M. & Cook R.L., 2013. Environmental conditions that influence the ability of humic acids to induce permeability in model membranes. *Environmental Science & Technology* **47**, 8280–8287. <https://doi.org/10.1021/es4004922>
- Osburn, C.L., Boyd, T.J., Montgomery, M.T., Bianchi, T.S., Coffin, R.B., Paerl, H.W., 2016. Optical proxies for terrestrial dissolved organic matter in estuaries and coastal waters. *Frontiers in Marine Science* **2**, 127. <https://doi.org/10.3389/fmars.2015.00127>
- Pacyna J.M. & Pacyna E.G., 2001. An assessment of global and regional emissions of trace metals to the atmosphere from anthropogenic sources worldwide. *Environmental Reviews* **9**, 269–298. <https://doi.org/10.1139/a01-012>
- Parent, L., 1991. Biodisponibilité de l'aluminium dans les eaux douces en relation avec les pluies acides. Thèse. Québec, Université du Québec, Institut national de la recherche scientifique, Doctorat en sciences de l'eau, 492 p.
- Parent, L., Twiss, M.R., Campbell, P.G.C., 1996. Influences of natural dissolved organic matter on the interaction of aluminum with the microalga *Chlorella*: a test of the free-ion model of trace metal toxicity. *Environmental Science & Technology* **30**, 1713–1720. <https://doi.org/10.1021/es950718s>
- Parlanti, E., Wörz K., Geoffroy L., Lamotte M., 2000. Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. *Organic Geochemistry* **31**, 1765–1781. [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(00\)00124-8](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(00)00124-8)
- Peleato, N.M., Sidhu, B.S., Legge, R.L., Andrews, R.C., 2017. Investigation of ozone and peroxone impacts on natural organic matter character and biofiltration performance using fluorescence spectroscopy. *Chemosphere* **172**, 225–233. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.118>
- Perdue, E.M., Ritchie, J.D., 2003. 5.10 Dissolved organic matter in freshwaters. In *Surface and Ground Water, Weathering, and Soils*, Vol. 5, Treatise on Geochemistry (eds. J. I. Drever, H. D. Holland and K. K. Turekian). Elsevier-Pergamon, Oxford. pp. 273–318.
- Peuravuori, J., Pihlaja, K., 1997. Molecular size distribution and spectroscopic properties of aquatic humic substances. *Analytica Chimica Acta* **337**, 133–149. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(96\)00412-6](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(96)00412-6)

- Rahal, R., 2018. Toxicité du lanthane chez l'algue verte *Chlorella fusca* en présence de matière organique naturelle. Mémoire. Québec, Université du Québec, Institut national de la recherche scientifique, maîtrise en sciences de l'eau, 76 p.
- Richards, J.G., Curtis, P.J., Burnison, B.K., Playle, R.C., 2001. Effects of natural organic matter source on reducing metal toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and on metal binding to their gills. *Environmental Toxicology and Chemistry* **20**, 1159–1166. <https://doi.org/10.1002/etc.5620200604>
- Sanchez-Marin, P., Beiras, R., 2011. Adsorption of different types of dissolved organic matter to marine phytoplankton and implications for phytoplankton growth and Pb bioavailability. *Journal of Plankton Research* **33**, 1396–1409. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbr039>
- Schwartz, M.L., Curtis, P.J., Playle, R.C., 2004. Influence of natural organic matter source on acute copper, lead, and cadmium toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environmental Toxicology and Chemistry* **23**, 2889–2899. <https://doi.org/10.1897/03-561.1>
- Sebaugh J.L., 2011. Guidelines for accurate EC50/IC50 estimation. *Pharmaceutical Statistics* **10**, 128–134. <https://doi.org/10.1002/pst.426>
- Slaveykova, V.I., Wilkinson, K.J., Ceresa, A., Pretsch, E., 2003. Role of fulvic acid on lead bioaccumulation by *Chlorella kesslerii*. *Environmental Science & Technology* **37**, 1114–1121. <https://doi.org/10.1021/es025993a>
- Sneller, F., Kalf, D., Weltje, L., Van Wezel, A., 2000. Maximum permissible concentrations and negligible concentrations for rare earth elements (REEs). *National Institute of Public Health and the Environment RIVM—601501011*.
- Sonke, J.E. & Salters J.M., 2006. Lanthanide-humic substances complexation. I. Experimental evidence for a lanthanide contraction effect. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **70**, 1495–1506. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2005.11.017>.
- Spears, B.M., Lürling, M., Yasserli, S., Castro-Castellon, A.T., Gibbs, M., Meis, S., McDonald, C., McIntosh, J., Sleep, D., Van Oosterhout, F., 2013. Lake responses following lanthanum-modified bentonite clay (Phoslock®) application: an analysis of water column lanthanum data from 16 case study lakes. *Water Research* **47**, 5930–5942. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.07.016>
- Stauber, J.L., Binet, M.T., 2000. Canning river phoslock field trial – ecotoxicity testing final report. Report No: ET317R. CSIRO Centre for Advanced Analytical Chemistry Energy Technology, Australia
- Stedmon, C.A., Bro, R., 2008. Characterizing dissolved organic matter fluorescence with parallel factor analysis: a tutorial. *Limnology and Oceanography: Methods* **6**, 572–579. <https://doi.org/10.4319/lom.2008.6.572>
- Stockdale, A., Tipping, E., Lofts, S., 2015. Dissolved trace metal speciation in estuarine and coastal waters: comparison of WHAM/Model VII predictions with analytical results: Trace metal speciation in estuarine and coastal waters. *Environmental Toxicology and Chemistry* **34**, 53–63. <https://doi.org/10.1002/etc.2789>

- Thomsen, M., Dobel, S., Lassen, P., Carlsen, L., Bügel Mogensen, B., Erik Hansen, P., 2002. Reverse quantitative structure–activity relationship for modelling the sorption of esfenvalerate to dissolved organic matter. *Chemosphere* **49**, 1317–1325. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00510-6](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00510-6)
- Thurman, E.M., 1985. Organic geochemistry of natural waters 'Developments in biogeochemistry. M. Nijhoff ; Distributors for the U.S. and Canada, Kluwer Academic, Dordrecht ; Boston : Hingham, MA, USA.
- Tipping, E., 2002. Cation binding by humic substances. Vol.12 Cambridge University Press, Cambridge.
- Tipping, E., Vincent, C.D., Lawlor, A.J., Lofts, S., 2008. Metal accumulation by stream bryophytes, related to chemical speciation. *Environmental Pollution* **156**, 936–943. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.05.010>
- Tommasi, F., Thomas, P.J., Pagano, G., Perono, G.A., Oral, R., Lyons, D.M., Toscanesi, M., Trifuoggi, M., 2020. Review of rare earth elements as fertilizers and feed additives: a knowledge gap analysis. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **81**, 531–540. <https://doi.org/10.1007/s00244-020-00773-4>
- Vigneault, B., Campbell, P.G.C., 2005. Uptake of cadmium by freshwater green algae: effects of ph and aquatic humic substances. *Journal of Phycology* **41**, 55–61. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2005.04068.x>
- Vigneault, B., Percot, A., Lafleur, M., Campbell, P.G.C., 2000. Permeability changes in model and phytoplankton membranes in the presence of aquatic humic substances. *Environmental Science & Technology*. **34**, 3907–3913. <https://doi.org/10.1021/es001087r>
- Wei, J., Han, L., Song, J., Chen, M., 2015. Evaluation of the interactions between water extractable soil organic matter and metal cations (Cu(II), Eu(III)) using excitation-emission matrix combined with parallel factor analysis. *International Journal of Molecular Sciences* **16**, 14464–14476. <https://doi.org/10.3390/ijms160714464>
- Weishaar, J.L., Aiken, G.R., Bergamaschi, B.A., Fram, M.S., Fujii, R., Mopper, K., 2003. Evaluation of specific ultraviolet absorbance as an indicator of the chemical composition and reactivity of dissolved organic carbon. *Environmental Science & Technology* **37**, 4702–4708. <https://doi.org/10.1021/es030360x>
- Weng, Z., Jowitt, S.M., Mudd, G.M., Haque, N., 2015. A detailed assessment of global rare earth element resources: opportunities and challenges. *Economic Geology* **110**, 1925–1952. <https://doi.org/10.2113/econgeo.110.8.1925>
- Wu, F., Cai, Y., Evans, D., Dillon, P., 2004. Complexation between Hg(II) and dissolved organic matter in stream waters: an application of fluorescence spectroscopy. *Biogeochemistry* **71**, 339–351. <https://doi.org/10.1007/s10533-004-0058-5>
- Wu, J., Zhang, H., He, P.-J., Shao, L.-M., 2011. Insight into the heavy metal binding potential of dissolved organic matter in MSW leachate using EEM quenching combined with PARAFAC analysis. *Water Research* **45**, 1711–1719. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.11.022>

- Yamashita, Y., Boyer, J.N., Jaffé, R., 2013. Evaluating the distribution of terrestrial dissolved organic matter in a complex coastal ecosystem using fluorescence spectroscopy. *Continental Shelf Research* **66**, 136–144. <https://doi.org/10.1016/j.csr.2013.06.010>
- Zhao, C.-M., Wilkinson, K.J., 2015. Biotic ligand model does not predict the bioavailability of rare earth elements in the presence of organic ligands. *Environmental Science & Technology* **49**, 2207–2214. <https://doi.org/10.1021/es505443s>
- Zhou, B., Li, Z., Chen, C., 2017. Global potential of rare earth resources and rare earth demand from clean technologies. *Minerals* **7**, e203. <https://doi.org/10.3390/min7110203>

5 ANNEXE

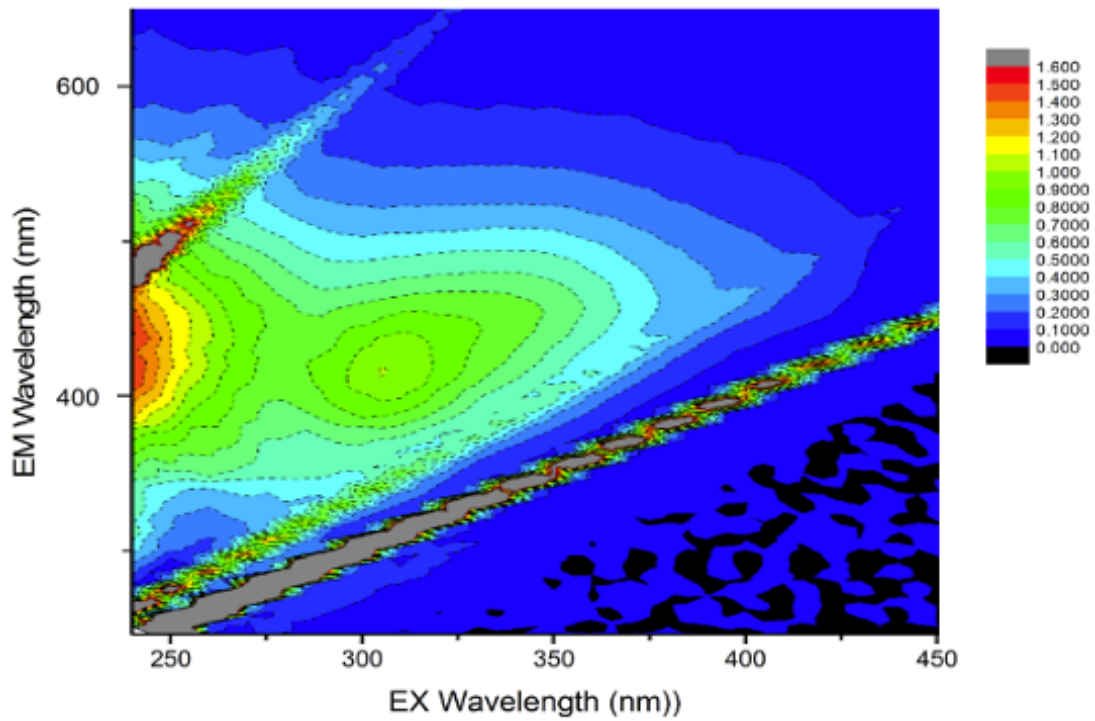


Figure 5.1 Matrices tridimensionnelles d'excitation-émission de Bannister Lake.

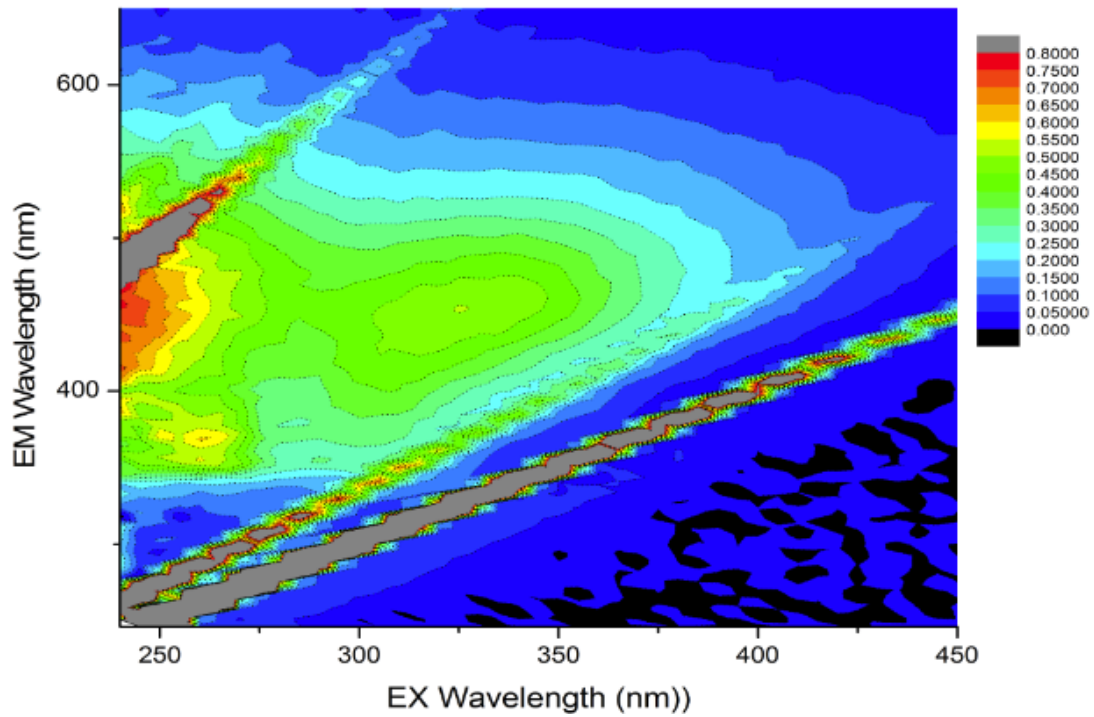


Figure 5.2 Matrices tridimensionnelles d'excitation-émission de Luther Marsh.

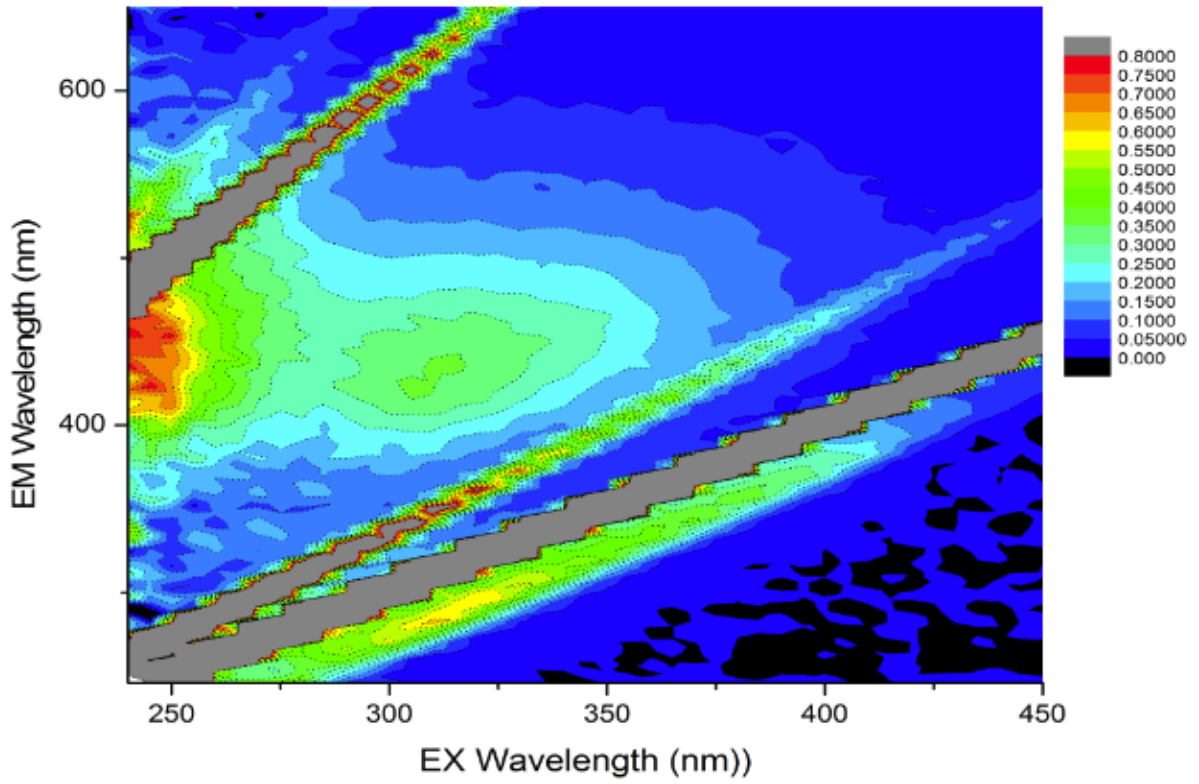


Figure 5.3 Matrices tridimensionnelles d'excitation-émission de la SRFA.

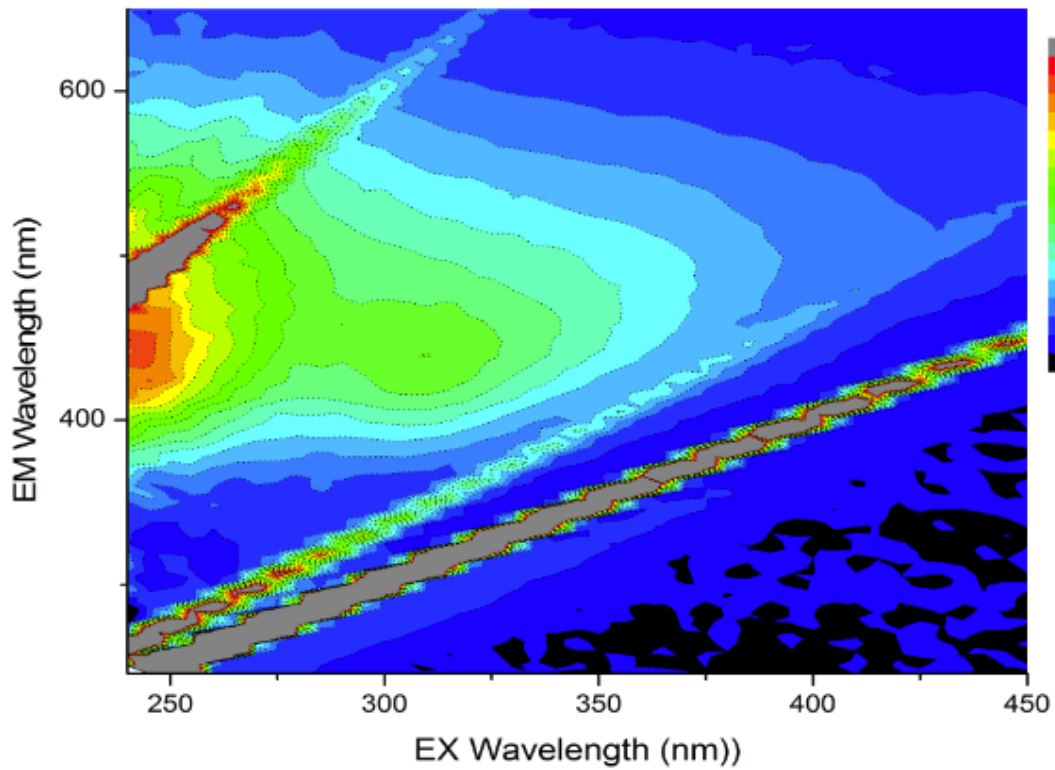


Figure 5.4 Matrices tridimensionnelles d'excitation-émission de la SRHA.