NNT : 0000AIXM0000

# THÈSE DE DOCTORAT

Soutenue à Aix-Marseille Université
Le 13 décembre 2024 par


## Pauline MARTINOT


# Distribution et réactivité du Black Carbon dissous en milieu côtier : application à la baie de Marseille (France) et au delta du fleuve Rouge - golfe du Tonkin (Vietnam)

**Discipline**
Science de l'Environnement

**Spécialité**
Océanographie

**École doctorale**
ED 251

**Laboratoire/Partenaires de recherche**
Institut Méditerranéen d'Océanologie

| | |
|---|---|
| **Emma ROCHELLE-NEWALL**<br>Directrice de recherche, IRD | Rapportrice |
| **Arnaud HUGUET**<br>Directeur de recherche, CNRS | Rapporteur |
| **Melika Baklouti**<br>Professeure, AMU | Examinatrice, Présidente du jury |
| **Eva Ortega-Retuerta**<br>Chargée de recherche, CNRS | Examinatrice |
| **Xavier MARI**<br>Directeur de recherche, IRD | Directeur de thèse |
| **Marc TEDETTI**<br>Directeur de recherche, IRD | Co-directeur de thèse |
| **Cam Tu VU**<br>Maître de conférence, USTH | Invitée |

*A mes parents,*

*A toute ma famille.*

*« A mes chiens qui ont fait de moi un maître,*
*A mes maîtres qui m'ont donné du chien. »*

S. de Groodt

*"Not all who wander are lost."*

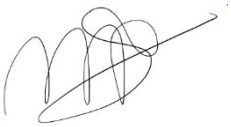
J. R. R. Tolkien

# Affidavit

Je soussignée, Pauline Martinot, déclare par la présente que le travail présenté dans ce manuscrit est mon propre travail, réalisé sous la direction scientifique de Xavier Mari et Marc Tedetti, dans le respect des principes d'honnêteté, d'intégrité et de responsabilité inhérents à la mission de recherche. Les travaux de recherche et la rédaction de ce manuscrit ont été réalisés dans le respect à la fois de la charte nationale de déontologie des métiers de la recherche et de la charte d'Aix-Marseille Université relative à la lutte contre le plagiat.

Ce travail n'a pas été précédemment soumis en France ou à l'étranger dans une version identique ou similaire à un organisme examinateur.

Fait à Hanoï, le 13 septembre 2024



Cette œuvre est mise à disposition selon les termes de la Licence Creative Commons Attribution - Pas d'Utilisation Commerciale - Pas de Modification 4.0 International.

# Liste de publications et participation aux conférences

## Liste des publications réalisées dans le cadre du projet de thèse :

1. **Martinot, P. L.**, Guigue, C., Guyomarc'h, L., Mari, X., Nguyen, H. A. C., Vu, C. T., Boettcher, L., Thi, H. N. D., Niggemann, J., Dittmar, T., Tedetti, M., 2024. "Optical characterization of water-soluble fractions of ship soot particles: Implication for the fluorescence detection of ship pollution in marine waters". *Marine Chemistry.* 2024. (publié)
2. Dominutti, P. A., Mari X., Jaffrezo, J-L., Ngoc Dinh, V. T., Chifflet, S., Guigue, C., Guyomarc'h, L., Vu, C.T., Darfeuil, S., Ginot, P., Elazzouzi, R., Mhadhbi, T., Voiron, C., **Martinot, P.L.**, Uzu, G. "Disentangling fine particles ($PM_{2.5}$) composition in Hanoi, Vietnam: Emission sources et oxidative potential". *Science of the Total Environment*. 2024. (publié)
3. **Martinot, P. L.**, Mari, X., Guigue, C., Chifflet, S., Guyomarc'h, L., Misson, B., Dignan, C., Barani, A., Pradel, N., Cuny, P., Pringault, O., Benavides, M., Van Wambeke, F., Vu, C. M., Tedetti, M. "Assessing the bioavailability of black carbon-derived dissolved organic matter for marine heterotrophic prokaryotes". *Science of the Total Environment*. 2023. (publié) + corrigendum
4. Tedetti, M., Tronczynski, J., Carlotti, F., Pagano, M., Sammari, C., Bel Hassen, M., Ben Ismail, S., Desboeufs, K., Poindron, C., Chifflet, S., Abdennadher, M., Amri, S., Bănarua, D., Ben Abdallah, L., Bhairy, N., Boudriga, I., Bourin, A., Brach-Papa, C., Briant, N., Cabrol, L., Chevalier, C., Chouba, L., Coudray, S., Daly Yahia, M.N., de Garidel-Thoroni T., Dufour, A., Dutay, J.-C., Espinasse, B., Fierro, P., Fornier, M., Garcia, N., Giner, F., Guigue, C., Guilloux, L., Hamza, A., Heimbürger-Boavida, L.-E., Jacquet, S., Knoery, J., Lajnef, R., Makhlouf Belkahia, N., Malengros, D., **Martinot, P.L.**, Bosse, A., Mazur, J.-C., Meddeb, M., Misson, B., Pringault, O., Quéméneur, M., Radakovitch, O., Raimbault, P., Ravel, C., Rossi, V., Rwawi, C., Sakka Hlaili, A., Tesán Onrubia, J.A., Thomas, B., Thyssen, M., Zaaboub, N.,

Zouari, A., Garnier, C., 2022. “Contamination of planktonic food webs in the Mediterranean Sea: Setting the frame for the MERITE-HIPPOCAMPE oceanographic cruise (spring 2019)”. *Marine Pollution Bulletin*. 2023. (publié)

5. **Martinot, P. L.**, Guigue, C., Guyomarc’h, L., Mari, X., Nguyen, H. A. C., Vu, C. T., Boettcher, L., Thi, H. N. D., Niggemann, J., Dittmar, T., Tedetti, M., 2024. “First data on dissolved Black Carbon in the coastal Northwestern Mediterranean Sea”. *Environmental Science & Pollution Research.* 2024. (soumis)
6. Lory, C., Dulaquais, G., Camps, M., Fourquez, M., Whitby, H., Fourrier, P., Mathieu, L., **Martinot, P. L.**, Guieu, C., Bonnet, S., 2022. “Extracellular polymeric substances (EPS) released by *Crocosphaera watsonii*: an overlooked ligand making iron highly bioavailable iron”. *Limnology & Oceanography Letters*. 2024. (soumis)

## Participation aux conférences au cours de la période de thèse :

1. M. Tedetti, **P. L. Martinot**, C. Guigue, X. Mari, L. Guyomarch, H. Hajjoul, S. Mounier, R. Redon, H. A. C. Nguyen, L. Boettcher, T. H. N. Dang, J. Niggemann, T. Dittmar. 2024. “*Results restitution and final conclusion*”. Projet européen MarTERA ERA-NET MATE. 2024.
2. **P. L. Martinot**, C. Guigue, V. Q. D. Dang, T. Q. M. Duong, V. H. Bui, L. Guyomarc’h, X. Mari, C. T. Vu, M. Tedetti. 2023. “*First results of field measurements of dissolved organic matter (DOM) et black carbon (DBC) in Red River delta*”. Kick-off meeting – IRN SootSea. Hanoï, Vietnam. 2023.
3. Guigue, C., **Martinot, P.L.**, Guyomarc’h, L., Dang, V.Q.D., Duong, T.Q.M., Bui, V.H., Vu, C.T., Mari, X., Tedetti, M., 2023. Set up of Dissolved Black Carbon (DBC) analysis method at MIO (Marseille, France) and USTH (Hanoi, Vietnam). Présentation orale. IRN SOOT-SEA phase 2 Kick-off meeting. VAST-USTH, Hanoi, Vietnam, 7-8 décembre 2023.
4. Tedetti, M., Guigue, C., **Martinot, P.L.**, Guyomarc’h, L., Mari, X., Vu, C.T., Bui, V.H., 2023. Biogeochemical cycle and impact of combustion products (PAHs, Black Carbon) in the coastal and marine environment. Présentation orale. Meeting Institut

CARE, Université de Technologie d'Ho Chi Min Ville (HCMCUT), Ho Chi Minh Ville, Vietnam, 23 mai 2023.

5. **P. L. Martinot**, C. Guigue, V. Q. D. Dang, T. Q. M. Duong, V. H. Bui, C. T. Vu, M. Tedetti. 2023. "*Sampling strategy for field measurements of dissolved organic matter (DOM) et black carbon (DBC) in Red River*". Kick-off meeting – LMI Lotus. Hanoï, Vietnam. 2023.
6. **P. L. Martinot**, C. Guigue, L. Guyomarc'h, X. Mari, N. H. Anh Chu, C. T. Vu, O. Würl, S. Emig, L. Boëttcher, T. H. N. Dang, J. Niggemann, T. Dittmar, M. Tedetti. 2023. "*A new fluorescence sensor for in situ measurements of dissolved black carbon derived from maritime traffic*". Congrès ASIA Pacific Network. Hanoï, Vietnam. 2023.
7. **P. L. Martinot**, C. Guigue, L. Guyomarc'h, X. Mari, N. H. Anh Chu, C. T. Vu, O. Würl, S. Emig, L. Boëttcher, T. H. N. Dang, J. Niggemann, T. Dittmar, M. Tedetti. 2022. "*A new fluorescence sensor for in situ measurements of dissolved black carbon derived from maritime traffic*." Congrès Ocean Optic XXV. Quy Nhon, Vietnam. 2023. **Best speaker award.**
8. **P. L. Martinot**, M. Tedetti. 2022. "*Assessment et prospects for improvement of the DBC sensor regarding the discrimination of humic et soot signatures*". Projet Européen MarTERA ERA-NET quarterly meeting. 2022.
9. **P. L. Martinot**, X. Mari, C. Guigue, S. Chifflet, L. Guyomarc'h, B. Misson, C. Dignan, N. Pradel, P. Cuny, O. Pringault, M. Benavides, F. Van Wamkeke, C. T. Vu, M. Tedetti. 2022. "*Study of the bioavailability of organic matter derived from black carbon for marine heterotrophic prokaryotes*". 29ème congrés des doctorants l'Ecole doctorale des Sciences de l'Environnement. Marseille, France. 2022.
10. **P. L. Martinot**, M. Tedetti. 2021. "*Flux et reactivity of dissolved black carbon (DBC) in coastal environments. Application to the Red River Delta - Gulf of Tonkin area*". Lotus International Joint Laboratory (LMI) Days. Toulouse, France. 2021.
11. Tedetti, M., Guigue, C., **Martinot, P.L.**, Goutx, M., Bhairy, N., Grenz, C., Mari, X., Guyomarc'h, L., Thi Hong, N.D., Niggemann, J., Dittmar, T., Chu Nguyễn, H. A., Vu, C.T., 2021. Optical sensors for in situ measurements of dissolved PAHs and Black Carbon in aquatic environment: Proposal for use in Vietnam. Présentation orale. Meeting LMI LOTUS, Toulouse, 23-24 novembre 2021.

# Résumé

Cette thèse visait à approfondir les connaissances sur la distribution, les flux et la réactivité biologique et chimique du Black Carbon dissous (DBC), en lien avec la matière organique dissoute (DOM), en milieu côtier. Des campagnes de terrain ont été menées dans la baie de Marseille (1 campagne), l'estuaire de la Van Uc (2 campagnes) et le bras principal du delta du fleuve Rouge au Vietnam (3 campagnes). En laboratoire, les propriétés optiques de solutions de DOM_BC ont été comparées à celles de la DOM marine et terrestre. Les réactivités biologique et chimique de la DOM_BC et du DBC ont été évaluées via une expérience de biodégradation impliquant des procaryotes hétérotrophes marins et des expériences de quenching de fluorescence avec des hydrocarbures aromatiques polycycliques (PAHs).

Dans la baie de Marseille, la concentration moyenne de DBC était de 15.0 ± 5.1 µg C $L^{-1}$, avec des valeurs élevées près des voies de navigation, reflétant l'influence du trafic maritime. Dans l'estuaire de la Van Uc, la concentration moyenne de DBC était de 27.9 ± 12.7 µg C $L^{-1}$, et maximale en novembre, après la saison des pluies. Plusieurs sources locales ont été identifiées, et les concentrations de DBC diminuait de la rivière vers l'estuaire, reflétant l'impact de la phototransformation pendant le transport vers l'océan. Dans le fleuve Rouge, les concentrations de DBC variaient de 29.0 ± 10.2 µg C $L^{-1}$ en mars à 65.6 ± 12.4 µg C $L^{-1}$ en septembre. Les concentrations de DBC décroissantes de la ville d'Hanoï vers l'estuaire en juin étaient cohérentes avec l'apport majoritaire du fleuve à l'estuaire. À l'inverse, les concentrations de DBC croissantes vers l'estuaire en mars et septembre semblaient attribuables à des phénomènes d'intrusions d'eau souterraine autour de Hanoï diluant le DBC en amont en saison sèche, et aux relargages de plus grandes quantités de DBC lessivées par les pluies et transportées par patchs le long du fleuve en septembre. Nous avons estimé que le delta du fleuve Rouge serait responsable d'environ 0.14 % des flux mondiaux de DBC vers l'océan.

L'étude des propriétés optiques de la DOM_BC a permis de proposer un indice de fluorescence, le COX, pertinent pour détecter les produits de combustion en milieu marin. L'expérience de biodégradation a montré une diminution du DBC de 27 à 45 % en 3 mois, selon l'origine du BC, accompagnée d'une baisse de la teneur en DOM_BC (DOC, PAHs, FDOM). La biodisponibilité du DBC était influencée par l'origine, l'oxydation du BC et la dynamique des communautés procaryotes. Les coefficients de partage ($K_{DOC}$) entre la DOM_BC et les

PAHs (phénanthrène et benzo[a]pyrène), mesurés par quenching de fluorescence, étaient de 18 et 265 × $10^3$ L kg $C^{-1}$, soit supérieurs à ceux de la DOM naturelle.

Ces résultats confirment le DBC comme une composante non réfractaire de la DOM côtière et océanique. Des analyses moléculaires complémentaires, comme par FT-ICR-MS, clarifieraient les sources et approfondiraient nos connaissances sur la modification du DBC par les processus biotiques et abiotiques.

**Mots-clefs :** Black Carbon dissous, Matière organique dissoute, Méditerranée, Delta du Fleuve Rouge, Vietnam, Biodisponibilité, Association, Propriétés optiques

# Abstract

This thesis aimed to deepen the understanding of the distribution, fluxes, and biological and chemical reactivity of dissolved Black Carbon (DBC) in connection with dissolved organic matter (DOM) in coastal environments. Field campaigns were conducted in the Bay of Marseille (1 campaign), the Van Uc estuary (2 campaigns), and the main branch of the Red River Delta in Vietnam (3 campaigns). In the laboratory, the optical properties of DOM_BC solutions were compared with those of marine and terrestrial DOM. The biological and chemical reactivities of DOM_BC and DBC were assessed through a biodegradation experiment involving marine heterotrophic prokaryotes and quenching fluorescence experiments with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs).

In the Bay of Marseille, the average DBC concentration was 15.0 ± 5.1 µg C $L^{-1}$, with higher values near shipping lanes, reflecting the influence of maritime traffic. In the Van Uc estuary, the average DBC concentration was 27.9 ± 12.7 µg C $L^{-1}$, peaking in November, after the rainy season. Several local sources were identified, and DBC concentrations decreased from the river to the estuary, reflecting the impact of phototransformation during transport to the ocean. In the Red River, DBC concentrations ranged from 29.0 ± 10.2 µg C $L^{-1}$ in March to 65.6 ± 12.4 µg C $L^{-1}$ in September. The decreasing DBC concentrations from Hanoi to the estuary in June were consistent with the river's main contribution to the estuary. In contrast, the increasing DBC concentrations toward the estuary in March and September were attributed to groundwater intrusions around Hanoi diluting DBC upstream in the dry season, and larger quantities of DBC washed by rain and transported in patches along the river in September. We estimated that the Red River Delta would be responsible for about 0.14% of global DBC fluxes to the ocean.

The study of the optical properties of DOM_BC led to the proposal of a fluorescence index, COX, relevant for detecting combustion products in marine environments. The biodegradation experiment showed a decrease in DBC of 27 to 45% over 3 months, depending on the BC origin, accompanied by a decrease in DOM_BC content (DOC, PAHs, FDOM). The bioavailability of DBC was influenced by the origin, oxidation of BC, and the dynamics of associated prokaryotic communities. The partition coefficients (KDOC) between DOM_BC

and PAHs (phenanthrene and benzo[a]pyrene), measured by fluorescence quenching, were 18 and 265 × $10^3$ L kg $C^{-1}$, higher than those of natural DOM.

These results confirm DBC as a non-refractory component of coastal and oceanic DOM. Complementary molecular analyses, such as FT-ICR-MS, would help clarify the sources and deepen our understanding of DBC modification by biotic and abiotic processes.

**Keywords:** Dissolved Black Carbon, Dissolved Organic Matter, Mediterranean, Red River Delta, Vietnam, Bioavailability, Association, Optical properties

# Remerciements

*Je tiens tout d'abord à remercier très sincèrement Emma Rochelle-Newall et Arnaud Huguet de m'avoir fait l'honneur d'être rapporteur-trice-s de ce manuscrit. Je remercie également Eva Ortega Retuerta d'avoir accepté d'être examinatrice de mon travail, ainsi que Melika Baklouti pour son rôle d'examinatrice et de présidente de ce jury. Je remercie aussi Cam Tu Vu d'avoir accepté mon invitation à ma soutenance de thèse.*

*Je tiens à exprimer toute ma gratitude à mes deux directeurs de thèse, Xavier Mari et Marc Tedetti. Xavier, merci pour ton soutien depuis le Master 2, pour ton encadrement et pour tes conseils avisés sur la grande thématique du Black Carbon. Marc, merci pour ton accompagnement depuis la Licence, pour ta formation en laboratoire, au bureau, sur le bateau, en visio… pour tous tes conseils, et pour ton investissement auprès de moi au cours de ces six dernières années. Un grand merci à vous deux de m'avoir fait confiance et d'avoir mis en œuvre les moyens nécessaires pour me permettre d'effectuer ces travaux de recherche dans les meilleures conditions possibles.*

*Ce travail a été réalisé au sein de l'Institut Méditerranéen d'Océanologie (MIO) à Marseille et à l'Université des Sciences et Technologies de Hanoï (USTH) au Vietnam.*

*Je souhaite tout d'abord remercier Valérie Michotey, directrice du MIO, ainsi que les équipes Chimie des Environnements Marins (CEM) et BIOGEOCHIMIE pour leur accueil et leur bienveillance.*

*Un remerciement particulier à Catherine Guigue pour son enseignement, ses précieux conseils et sa rigueur scientifique, qui ont accompagné tout mon travail de thèse, et bien plus.*

*Je remercie la plateforme PACEM, en particulier Nicole Garcia pour ses analyses des sels nutritifs et Patrick Raimbault pour son travail sur les analyses de la chlorophylle, du carbone et de l'azote particulaire.*

*Merci à Aude Barani et à Morgane Didry pour les mesures en cytométrie en flux réalisées au sein de la plateforme PRECYM, et leur aide dans l'interprétation des résultats.*

*Merci à Sandrine Chifflet pour les analyses de métaux dans nos échantillons, et à Vincent Fauvelle pour les expériences de quenching sur les contaminants émergents.*

*Je souhaite également remercier Karine Leblanc pour ses discussions enrichissantes et ses précieux conseils, qui ont grandement facilité notre culture de phytoplancton. Merci à la plateforme culture pour son soutien technique indispensable au bon déroulement de cette partie du projet.*

*Un grand merci à tous les membres du projet BLACKMATTERS, en particulier : Philippe Cuny, France Van Wambeke, Benjamin Misson, Olivier Pringault, Nathalie Pradel et Mar Benavides, pour leur aide dans l'interprétation des résultats sur la partie microbiologie, leur implication dans l'écriture de l'article et leur bienveillance.*

*Merci à Léa Guyomarc'h pour son implication dans les analyses chimiques réalisées en France.*

*Merci à Stéphane Mounier et Houssam Hajjoul pour les mesures de temps de vie de fluorescence et la formation dont j'ai pu bénéficier à Toulon.*

*Merci à l'équipe du Service Atmosphère-Mer (SAM) pour son accompagnement technique au cours des campagnes à Marseille. Merci aux membres de l'équipage de l'Antédon II, au capitaine Patrick, ainsi qu'à Arnaud et Enzo, pour leur aide en mer.*

*Un grand merci à Edith Parlanti (EPOC) pour ses conseils sur les expériences de complexation de la DOM en Master 2, et pour sa bienveillance en tant que membre de mon comité de suivi individuel. A ce titre, je remercie également Melika Baklouti pour son enseignement en Licence et en Master, et pour avoir continué cet accompagnement en tant que membre de mon comité de suivi individuel.*

*Merci à Mateo Leger-Pigout, responsable des doctorants 2023 et compagnon d'étude depuis 8 ans, pour son aide administrative, sa présence au bout du fil et son amitié.*

*Plus généralement, je remercie l'ensemble des équipes scientifiques et administratives du MIO, qui m'ont accueillie dès mes premiers stages de licence jusqu'à la fin de ce doctorat.*

*Je remercie sincèrement Dinh Thi Mai Tan et Jean-Marc Lavest, rectrice et recteur de l'USTH, pour leur accueil, ainsi que Luc Le Calvez, directeur du département Recherche, Innovation et Transfert de l'USTH, pour son accompagnement et ses conseils.*

*Merci à Thanh Ngo-Duc et à toute l'équipe du Département Space and Applications (SA) pour leur accueil chaleureux, leurs conseils, et leur accompagnement bienveillant pendant ces deux années.*

*Merci à Mai Huong et Sylvain Ouillon (LEGOS), directrice et directeur du département Water-Environment-Oceanography (WEO), ainsi qu'à toute l'équipe WEO pour leur accueil et leur soutien technique et scientifique pendant mon séjour au Vietnam.*

*Merci à Cam Tu Vu pour ses conseils et son soutien au laboratoire de l'USTH.*

*Un grand merci à Van Hoi Bui (WEO), pour toutes les campagnes sur le fleuve Rouge qui n'auraient pas été possibles sans lui, pour son aide sur le bateau et ses conseils.*

*Merci au département de coopération internationale (ICO) pour leur soutien administratif au cours de mon séjour.*

*Une pensée particulière pour Sylvain, Alexis Chaigneau (LEGOS) et Alexei Sentchev (LOG), pour leur aide considérable pendant ma toute première campagne vietnamienne dans l'estuaire de la Van Uc.*

*Je remercie Tuan Canh Nguyen (VNU) et Duc Cuong Nguyen (VNU) pour leur accueil à la Vietnam National University et la mise à disposition de leur spectrofluorimètre pour les mesures de fluorescence sur les échantillons du fleuve Rouge et de la rivière Van Uc.*

*Je souhaite également remercier Thi Phuong Quynh Le (INPC) pour ses conseils sur la stratégie d'échantillonnage du fleuve Rouge et toutes les discussions intéressantes qui ont suivi.*

*Un grand merci à Duy Vinh Vu (IMER) pour l'organisation des campagnes à Van Uc et son accueil chaleureux à chacune de mes visites à l'Institute of Marine Environment and Resources de Haïphong.*

*Je souhaite également remercier toute l'équipe de l'Institute for Chemistry and Biology of the Marine Environment (ICBM-UNOL) pour leur gentillesse lors de nos échanges dans le cadre du projet européen MATE. Merci à Thorsten Dittmar, Jutta Niggemann, Thi Hong Nhung Dang et Léa Boettcher pour les analyses de DBC réalisées à l'ICBM, leurs conseils et leur aide à la rédaction des articles. Un remerciement particulier à Sven Emig et Oliver Wurl pour leur accueil à l'ICBM lors de mon séjour en Allemagne en septembre 2022.*

*Un grand merci aux stagiaires qui m'ont apporté leur aide en laboratoire et sur le terrain au cours de cette thèse : Nguyen Hoang Anh Chu pour la caractérisation des propriétés optiques et les campagnes à Marseille, Vu Qui Dac Dang et Mai Duong Thi Quynh pour leur aide au laboratoire de l'USTH et sur les campagnes fleuve Rouge.*

*Un grand merci à toute l'équipe de la représentation IRD Hanoï pour leur soutien indispensable au bon déroulement de ma (grande !) mission au Vietnam. Merci à Edmond Dounias pour son accueil chaleureux sur le chantier et pour avoir mis toutes les ressources possibles à ma disposition pour mon travail de thèse. Un merci particulier à Van Quan Nguyen, conducteur expérimenté et bienveillant, pour tous les allers-retours le long du fleuve Rouge, les glacières trop lourdes, les siestes indispensables côté passager, et tous les cà phê offerts tôt le matin.*

*J'ai une pensée particulière pour tous les enseignants du parcours mer de Licence et du Master Océanographie, en particulier : Melika Baklouti pour ses enseignements en physique puis en modélisation, Anne Petrenko pour m'avoir transmis le goût de l'optique marine, et Frédéric Diaz pour son enseignement passionné et passionnant de la biogéochimie marine.*

*Je remercie l'École Doctorale 251 des Sciences de l'Environnement pour m'avoir accueillie et soutenue tout au long de ce parcours doctoral. Merci à Jean-Christophe Poggiale, pour son rôle d'enseignant au début de mon parcours, puis de directeur de l'École Doctorale, pour sa disponibilité et son soutien administratif tout au long de ma thèse.*

*Je remercie Aix-Marseille Université de m'avoir accordé une bourse MENRT pour la réalisation de ces travaux de recherche.*

*Merci à l'Académie Française, qui m'a soutenue financièrement pendant ma troisième année de thèse, et qui a donné à ce travail scientifique une dimension littéraire inattendue.*

*Si j'ai eu la chance d'être entourée scientifiquement et administrativement par de nombreuses personnes tout au long de cette thèse, il est aussi essentiel de remercier celles et ceux qui m'ont apporté (tout !) le reste ;*

***Un immense merci à ma grande famille.***

*À mes parents, pour leur soutien et leur dévouement sans faille au cours de ces 8 années d'études, et bien avant, pour les valeurs qu'ils m'ont transmises et pour leur confiance. À mon père, pour ta présence et ta chaleur dans les moments difficiles. À ma mère, pour ta bienveillance infinie dans la réalisation de mes projets et pour tes conseils avisés en temps de crise. Votre présence et vos encouragements sont pour moi les piliers fondateurs de ce que je suis et de ce que je fais. Pardon à vous deux pour la distance, merci infiniment pour votre soutien.*

*À ma grande sœur Sophie, ma mie ! Mon étoile du berger, éclaireuse d'une fratrie pas si facile à guider. Merci infiniment pour ta bienveillance, ton recul, ta sagesse, pour nos envolées philosophiques et nos grandes discussions sur la vie. Merci d'être venue jusqu'au bout du monde pour me donner tes conseils. Avec une guide comme toi, on ne peut jamais se perdre.*

*À ma grande sœur Chloé, mon rayon de soleil montpelliérain ! Pour tes conseils, ton soutien, pour nos balades au bord du Lèze et nos après-midis au Petit Travers. Tu sais toujours comment me changer les idées et me rassurer. Je suis toujours à la maison si tu es là, merci infiniment d'être toi.*

*À ma grande sœur Margaux, ma doudou ! Ma fidèle acolyte depuis les plages de Calpé, merci pour ton soutien, ta présence, et pour les fous rires qui viennent rapidement quand on est ensemble. On a partagé tant de choses toutes ces années ; ces souvenirs sont mes trésors, merci d'être là.*

*Merci à mes (beaux-)frères !*
*À Mathieu, spécialiste du rougail saucisse et monstre du Trivial Pursuit, merci pour ton accueil chaleureux à Paris et pour ces moments partagés au Vietnam !*
*À Romain, sportif infatigable et pro des brochettes, merci pour ton accueil, tes conseils, ta gentillesse et ton regard toujours bienveillant envers moi à chaque étape.*
*À Corentin, travailleur acharné et adversaire redoutable à Splendor, je ne compte plus les années ! Merci pour ta bienveillance.*

*Une pensée particulière pour ma petite Louise, qui me pardonne toujours rapidement le temps passé loin d'elle, et à mon petit Jules, bientôt lui aussi chef de fratrie, vous êtes les preuves vivantes de l'amour !*

*À Mamy, merci de m'avoir transmis le goût des sciences naturelles dès mes premiers pas, nos premières balades en forêt et au bord de mer. Merci d'avoir su avant moi ce dont j'étais capable, et de m'y avoir tant poussée.*

***Un immense merci à mes amis formidables.***

*À Robin, meilleur compagnon de route, collègue, coloc, et ami qu'on puisse avoir. Merci pour ton soutien inébranlable ces 7 dernières années, de nos premiers cours à la fin de nos thèses, pour ces fous rires incontrôlables en amphi et nos discussions jusqu'au bout de la nuit sur ma terrasse luminyenne, pour ta gentillesse et ta bienveillance. J'ai toujours pu compter sur toi, merci infiniment.*

*À ma Victoria, on ne compte plus les années !! Tu étais là à tous les hauts et à tous les bas, peu de gens ont vécu les choses d'aussi près. Les années nous changent mais ne changent pas notre complicité. Merci pour tes risottos aux crevettes, tes tisanes, ton humour, ton écoute et tes encouragements.*

*À mes amis Catalans-ou-presque !*

*Merci à Lucas pour ses conseils et son recul sur l'épreuve de la thèse, pour sa première relecture ! et à France pour son soutien et sa bienveillance, merci à vous deux d'être venus*

*jusqu'à Hanoï ! À Franck et Betty, pour votre soutien de longue date, votre accueil et nos parties de jeux endiablés, merci pour vos encouragements.*

*Aux « potes d'école de Tom » qui sont devenus « nos potes de France » ! Camille, Thibaut, Caro, JB, Sam, pour votre visite à Hanoï et tous ces super moments partagés à la mer et à la montagne !*

*À mes « copains de Hanoï » ! En particulier, merci à Dorothée pour ton soutien et ta douceur, à Olivier pour ta gentillesse et tes ginto extra dry, merci à vous deux pour votre amitié et votre présence le 10 février 2023 !*

*Un grand merci à Laetitia et Christopher, alias Titi et Toto ! Pour nos aventures vietnamiennes, nos trips en moto, nos innombrables soirées à discuter de tout. Merci pour votre soutien pendant ma thèse et bien plus encore, pour votre gentillesse et votre aide à bien des égards. Il a fallu traverser la planète pour vous rencontrer, et je ne regrette rien !*

*Merci à ma petite Lucie pour tous ces super moments ensemble au boulot comme au perso, merci de m'avoir donné le sourire peu importe la situation, pour ton écoute et ton soutien, mon séjour n'aurait pas été le même sans toi !*

*Un grand merci à Marc et Cathy. À Marc, qui a été aussi bien directeur de thèse que témoin de mariage, conseiller avisé de cinéma, critique de séries et reviewer redoutable ! Merci encore pour ton soutien et ta franchise. À Cathy, pour nos innombrables heures au labo et nos apéros post-boulot, pour tes conseils et ta bienveillance, pour tous nos fous rires. Merci infiniment à vous deux.*

*Et bien sûr, merci à Tom, mon très cher mari. Merci de m'avoir soutenue dans ce projet et depuis si longtemps, de m'avoir fait confiance, de m'avoir donné des ailes tout en gardant mes pieds sur terre. Merci pour ta force tranquille et ton calme dans la tempête. Merci pour tout.*

# Table des matières

**Affidavit** **2**
**Liste de publications et participation aux conférences** **4**
**Résumé** **7**
**Abstract** **9**
**Remerciements** **11**
**Table des matières** **16**
**1. Introduction générale et objectifs de thèse** **19**

1.1. Introduction générale ..... 19

1.1.1. Le Black Carbon, définition et contexte historique ..... 19
1.1.2. Etat de l'art des émissions mondiales de Black Carbon ..... 23
1.1.3. Du Black Carbon au Black Carbon dissous - Voie d'entrée en mer et importance pour le milieu marin ..... 26

1.2. Objectifs de thèse ..... 33

1.2.1. Les objectifs du travail de thèse ..... 33
1.2.2. Déroulement de la thèse – stratégie ..... 33
1.2.3. Organisation du manuscrit ..... 35

**2. Matériel et Méthodes** **37**

2.1. Zones d'étude et stratégie d'échantillonnage ..... 37

2.1.1. Baie de Marseille – Méditerranée Nord Occidentale ..... 37
2.1.2. Delta du fleuve Rouge – golfe du Tonkin, Vietnam ..... 40
2.1.3. Bras principal du fleuve rouge (Hanoï-Ba Lat) ..... 44
2.1.4. Fleuve et estuaire Van Uc ..... 45

2.2. Travail expérimental de laboratoire ..... 46

2.2.1. Préparation et caractérisation des propriétés optiques des solutions de DOM_BC ..... 46
2.2.2. Expérience de biodégradation de la DOM_BC et du DBC ..... 50
2.2.3. Expérience de quenching de fluorescence de la DOM_BC ..... 56

2.3. Analyse du DBC par la méthode BPCAs ..... 60

2.3.1. Principe de la méthode et évolution des formules ..... 60
2.3.2. Extraction en phase solide (SPE) ..... 62
2.3.3. Production des BPCAs et quantification par GC-MS et HPLC-DAD ..... 65

2.4. Analyses optiques et traitement de données automatisé de la CDOM/FDOM .. ..... 67

2.4.1. Analyses de fluorescence et d'absorbance ..... 67
2.4.2. Traitement des données d'absorbance et de fluorescence..... 69
2.4.3. Détermination des indices d'absorbance et fluorescence ..... 70
2.4.4. Modélisation PARAFAC pour le traitement des MEEFs ..... 71

2.5. Autres analyses réalisées dans le cadre de la thèse ..... 73

2.5.1. Analyses Chimiques ..... 73
2.5.2. Analyses biologiques..... 77

2.6. Instruments utilisés en France et au Vietnam et synthèse des analyses..... 79

**3. Caractérisation des propriétés optiques de la DOM_BC 81**

3.1. Contexte de l'étude..... 81
3.2. Indices optiques de la DOM_BC..... 83
3.3. Déconvolution du signal de fluorescence de la DOM_BC au sein de la DOM naturelle ..... 89
3.4. Proposition de l'indice de fluorescence COX pour la détection des produits de combustion en milieu marin..... 94
3.5. Conclusion..... 99

**4. Variabilités spatiales et saisonnières du DBC et de la DOM en milieu côtier anthropisé 101**

4.1. Baie de Marseille..... 101

4.1.1. Concentrations de DBC ..... 101
4.1.2. Propriétés optiques de la DOM ..... 108

4.2. Estuaire de la rivière Van Uc ..... 110

4.2.1. Concentrations de DBC et DOC..... 110
4.2.2. Propriétés optiques de la DOM ..... 120
4.2.3. Estimation des flux de DBC dans le golfe du Tonkin par la rivière Van Uc ..... 125

4.3. Conclusion..... 127

**5. Variabilités spatiales et saisonnières du DBC et de la DOM dans le bras principal du fleuve Rouge 129**

5.1. Paramètres physiques et physico-chimiques, et charge en particules..... 129
5.2. Variabilité saisonnière des concentrations de DBC et DOC..... 131
5.3. Variabilités spatiales et saisonnières des concentrations de DBC et DOC... 134
5.4. Indices optiques de la DOM..... 139

5.4.1. Variabilité saisonnière ..... 139
5.4.2. Variabilité spatiale ..... 143
5.4.3. Application du COX ..... 144

5.5. Estimations des flux de DBC du système deltaïque du fleuve Rouge ..... 146
5.6. Conclusions ..... 148

**6. Réactivité biologique et biodégradation de la DOM_BC et du DBC 150**

6.1. Contexte de l'étude ..... 150
6.2. Contenu des solutions DOM_BC à T0 ..... 151
6.3. Evolution temporelle des paramètres chimiques, optiques et biologique au cours de la biodégradation ..... 155

6.3.1. DOC, DBC et d-PAHs ..... 155
6.3.2. Fluorophores de la FDOM ..... 157
6.3.3. Eléments traces métalliques dissous (d-TM) ..... 158
6.3.4. Nutriments, DON et DOP ..... 159
6.3.5. Dynamique des procaryotes hétérotrophes et des nanoflagellés ..... 159

6.4. Composition de la DOM_DBC en relation avec le type de BC ..... 163
6.5. Biodisponibilité de la DOM _DBC et réponses microbiennes ..... 165
6.6. Conclusion ..... 169
6.7. Réestimation de la biodisponibilité du DBC ..... 170

**7. Réactivité chimique de la DOM_BC 172**

7.1. Contexte de l'étude ..... 172

7.1.1. Réactivité de la DOM_BC vis-à-vis des PAHs ..... 173
7.1.2. Relation entre composition moléculaire, réactivité chimique et indice optique de la DOM ..... 176

7.2. Conclusion ..... 177

**8. Conclusion et perspectives 179**
**Références 186**
**Liste des figures 213**
**Liste des tableaux 220**
**Annexes 222**
**Articles scientifiques 240**

# 1. Introduction générale et objectifs de thèse

## 1.1. Introduction générale

### 1.1.1. Le Black Carbon, définition et contexte historique

Le **Black Carbon (BC)**, ou carbone suie, correspond aux particules carbonées formées lors de la combustion incomplète de la matière organique. Cette combustion incomplète pouvant être d'origine naturelle (feux de forêt) ou anthropique, *i.e.*, issue de l'activité humaine (combustion de la biomasse, de combustibles fossiles, de déchets) (Fig. 1, Fig. 2). Le BC est donc produit sous forme de particules (dans la suite de ce manuscrit le terme « BC » désignera donc de façon implicite du BC *particulaire*). Considéré comme un polluant atmosphérique emblématique (Brimblecombe, 1987), le BC a été mis en évidence dans l'atmosphère dès les années 1970 et 1980 (Levin et Lindberg, 1979; Heintzenberg, 1982; Andreae, 1983).

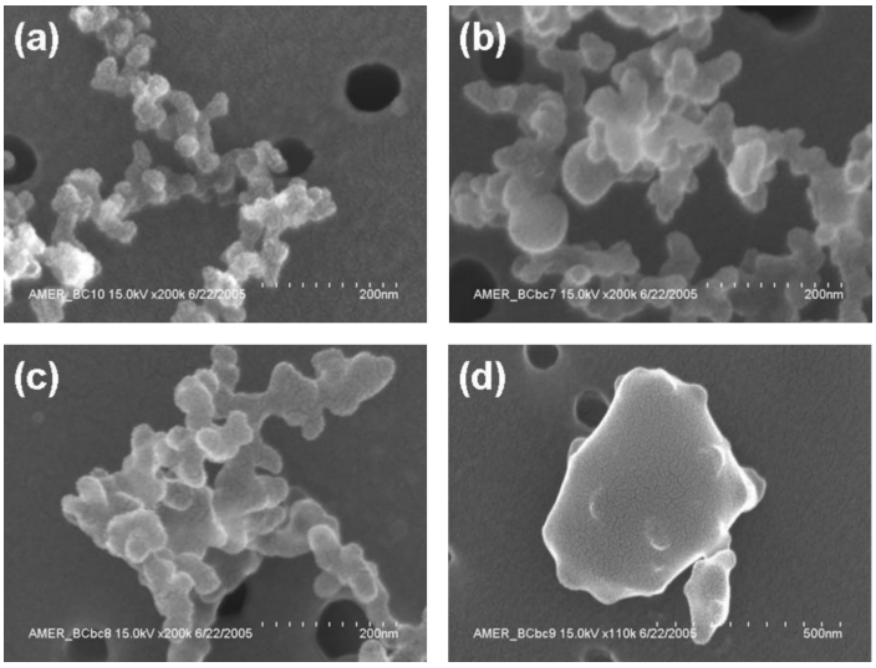



**Figure 1**. Exemple d'images au microscope électronique à balayage (MEB) d'agrégats fractals de sphérules de Black Carbon (BC) (Slowik et al., 2007).

Ces dernières années, le BC a reçu une attention particulière en raison de ses effets sur le changement climatique et la santé humaine, et a de ce fait été intégré comme facteur forçant par plusieurs organisations internationales telles que le Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat (GIEC), l'Organisation mondiale de la santé (OMS), l'Organisation météorologique mondiale (OMM) et La Climate et Clean Air Coalition (CCAC). Le BC a la capacité d'absorption de la lumière la plus forte de toutes les particules atmosphériques, et il est considéré comme 2$^{ème}$ ou 3$^{ème}$ contributeur le plus important au réchauffement climatique après le dioxyde de carbone ($CO_2$), et peut-être le méthane ($CH_4$), bien que de grandes incertitudes subsistent encore quant à son rôle exact dans le forçage radiatif (Bond et al., 2013; Ruppel et al., 2021). En plus de sa capacité à réchauffer l'atmosphère par absorption du rayonnement solaire direct et diffus lorsque les particules sont en suspension, le BC possède également une grande capacité à réchauffer les surfaces recouvertes de neige et de glace sur lesquelles il se déposent, en diminuant leur albédo.

Les premières études sur le cycle environnemental du BC ont été synthétisées dans la monographie *Black Carbon in the Environment* par E.D. Goldberg (1985). Dans cette synthèse, Goldberg avance l'idée du BC comme une substance hautement réfractaire résultant de la combustion de la biomasse, et suggère que le BC aurait une durée de vie environnementale extrêmement longue, pouvant contribuer de manière significative aux réserves de carbone à cycle lent de la planète. La géochimie organique du BC est devenue de plus en plus pertinente pour répondre à un certain nombre de questions sur le cycle du carbone et le climat, y compris le stockage à long terme de la matière organique dans les sédiments océaniques, le stockage et la dynamique du carbone dans les sols, la formation et la décomposition du carbone organique dissous (DOC), le paléoclimat et le bilan radiatif de la Terre. De plus, en raison de leur structure poreuse et de leur grande surface spécifique (Fig. 1), les particules de BC absorbent également d'autres produits issus de la combustion incomplète tels que les métaux, les polluants organiques persistants ou les hydrocarbures aromatiques polycycliques (PAHs) (Ni et al., 2014). Le cycle du BC impacte ainsi le transport à large échelle de contaminants d'intérêt pour l'environnement et les écosystèmes. Les travaux effectués sur le BC dans les années 1980 et 1990 ont souligné son caractère hautement réfractaire et son rôle potentiellement important dans les réservoirs de carbone à cycle lent, comme les sédiments océaniques et les sols (Fig. 2) (Herring, 1985; Wolbach et Anders, 1989; Haumaier et Zech, 1995; Skjemstad et al., 1996; Suman et al., 1997; Gustafsson et Gschwend, 1998; Masiello et Druffel, 1998, 2001; Middelburg et al., 1999; Schmidt et Noack, 2000).

Dans son ouvrage, Masiello (2004) a poursuivi le travail de synthèse de Goldberg (1985), confrontant l'ancienne théorie du BC entièrement réfractaire à des études plus récentes qui suggèrent un rôle plus dynamique du BC dans le cycle du carbone (Decesari et al., 2002; Kim et al., 2004). Par ailleurs, l'hypothèse selon laquelle le BC serait fortement réfractaire, impliquant des processus de dégradation inexistants ou extrêmement lents, suggère l'accumulation de réservoirs de carbone réfractaire très important. Cependant, jusqu'au début des années 2010, très peu de recherches avaient été menées sur les mécanismes responsables de la perte de BC, et encore moins sur les facteurs biotiques ou abiotiques impliqués dans son élimination (Fig. 2).

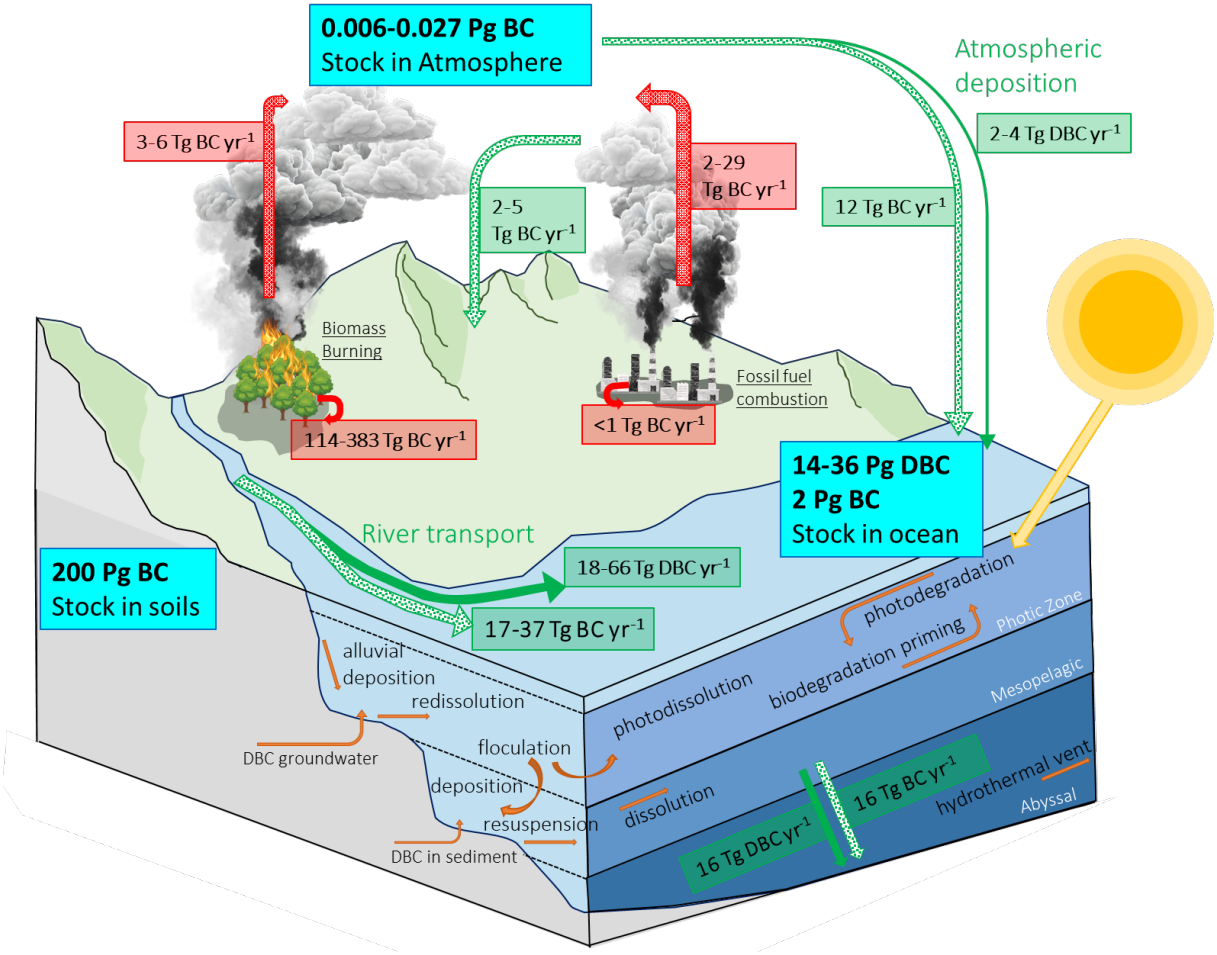



**Figure 2.** Schéma général du cycle du Black Carbon dissous (DBC) et particulaire (BC) des eaux continentales à l'océan ouvert (flux en rouge et vert, stocks en bleu, processus de transformation en orange), en intégrant les estimations récentes des flux et stocks de Coppola et al. (2018), Wagner et al. (2018), Jones et al. (2020), Fang et al. (2021a), Yamashita et al. (2022).

Si le BC présente un fort intérêt depuis les années 1980, un enjeu de dénomination et de définition analytique subsiste, rendant la comparaison de ces données et la cohésion scientifique

difficiles. Des divergences apparentes ont longtemps persisté dans les techniques analytiques disponibles pour l'analyse du BC, pouvant mener à des estimations des concentrations naturelles de BC variant d'un facteur supérieur à 500 pour un même échantillon analysé par différentes méthodes (Schmidt et al., 2001). Ces divergences étaient dues à : 1) l'absence d'une définition commune du BC; 2) la sous-estimation potentielle de la détection du BC par certaines méthodes (*i.e.*, l'incapacité à détecter le matériel issu de la combustion); et 3) la sur-détection potentielle du BC par certaines méthodes (*i.e.*, la détection de matériaux non dérivés de la combustion). À mesure que l'intérêt pour le BC a progressé, le manque de comparaisons de méthodes et l'absence d'un langage commun sont devenus des obstacles. L'idée que le BC existe comme un continuum de particules de taille/nature différentes en fonction de l'origine du matériel brûlé et de la température de combustion est devenu un modèle adéquat pour comprendre les méthodes et la géochimie du BC. Ce modèle, initialement suggéré par Hedges et al. (2000), repris par Masiello (2004) puis étayé par Wagner et al. (2018), aide également à comprendre la pertinence des différentes techniques d'analyse du BC au regard du type de particule ciblées (Fig. 3).

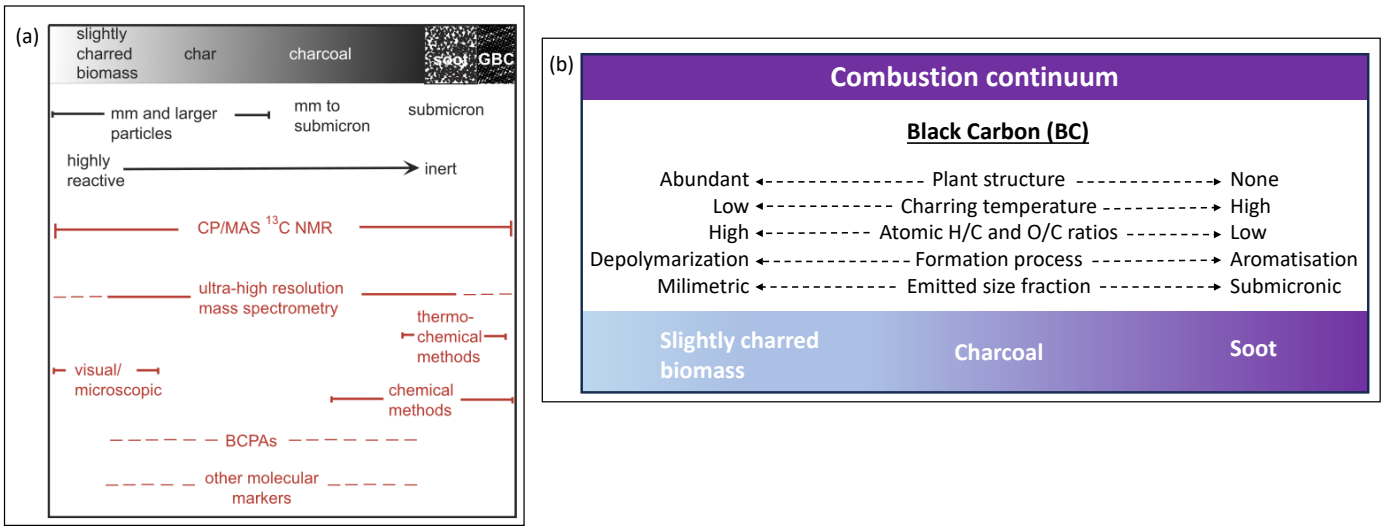



**Figure 3.** Modèle du Black Carbon (BC) comme continuum de particules de combustion proposé par Masiello (2004) (a) puis redéfinit par Wagner et al. (2018) (b, modifié d'après Wagner et al. (2018) et Coppola et al. (2022)).

La taille, et donc la transportabilité des particules composant le continuum de combustion, diminue avec l'augmentation de la température de combustion et influence à terme le réservoir dans lequel les particules de BC pénètrent (Fig. 3). Les particules de taille millimétrique généralement associées à la biomasse légèrement carbonisée se déposent dans un rayon de 100 m de la source de combustion (Clark et Patterson, 1997), tandis que les particules submicroniques, associées à la suie, peuvent rester en suspension dans l'atmosphère pendant

des mois (Ogren et al., 1983), si elles ne sont pas soumises à l'oxydation ou au nettoyage de la colonne d'air par la pluie. La capacité des particules à rester en suspension dans l'air et à éviter leur stockage dans le sol augmente à mesure que la taille des particules diminue. Les premiers axes de recherche sur le BC se sont donc concentrés sur l'estimation de la capacité de transport des particules, elle-même liée à la température de combustion et à l'origine du matériel brûlé (Fig. 3). Ces axes de recherche ont démontré l'hétérogénéité des molécules constituant ce continuum de combustion, suggérant une répartition du BC dans tous les compartiments terrestres et océaniques.

Suite à la publication du modèle de Hedges et al. (2000) et de la synthèse de Masiello (2004), les premières preuves de la présence de **BC dissous (DBC)** dans les eaux naturelles ont été apportées par l'identification de structures de noyaux aromatiques condensés *via* la spectrométrie de masse à ultra-haute résolution dans l'acide humique du sol de cendres volcaniques (Kramer et al., 2004), dans les eaux interstitielles du sol (Hockaday et al., 2006) et dans les eaux de fleuve (Kim et al., 2004). Le modèle de Wagner et al. (2018) intègre cette notion de solubilité des particules de BC, notamment liée au degré de condensation aromatique du matériel créé lors de la combustion (Fig. 3). Le transfert de DBC de la terre vers l'océan représenterait ainsi un puits majeur pour le BC terrestre et une source importante de DBC marin (Fig. 2) (Mannino et Harvey, 2004; Preston et Schmidt, 2006; Dittmar et Paeng, 2009).

### 1.1.2. Etat de l'art des émissions mondiales de Black Carbon

Les émissions de BC dans l'environnement peuvent être divisées en deux grandes catégories : celles générées par la combustion de combustibles fossiles et celles générées par la combustion des déchets. La première catégorie est dominée par les activités de production d'énergie électrique et thermique, les transports et les activités industrielles. La seconde est dominée par les brûlages extérieurs de déchets solides et agricoles et inclut également les feux de forêt et de savane. Toutes ces sources produisent du BC à des taux différents, et co-émettent du **carbone organique (OC)** en quantité variables. Par exemple, le BC émis *via* la combustion ouverte contient un ratio de carbone organique sur BC (OC:BC) plus important que le BC produit par la combustion des combustibles fossiles. L'implication de chaque source diffère selon les régions du monde, en raison des différences dans les mixtes énergétiques utilisés, des pratiques agricoles, des normes d'émission, etc. (Fig. 4). Le détail de la répartition mondiale présentée par Bond et al. (2004) pour l'année 2000 soutenait que 42% des émissions de BC

provenaient de la combustion ouverte de biomasse, 18% de la combustion de biocarburants résidentiels, 14% du transport routier, 10% de l'industrie et de la production d'énergie, et 6% de l'utilisation résidentielle de charbon et d'autres combustibles.

Une répartition régionale des émissions proposée par Klimont et al. (2017) montre que les pays en voie de développement contribuent à hauteur de ~65% aux émissions totales de BC (Fig. 4, Fig. 5).

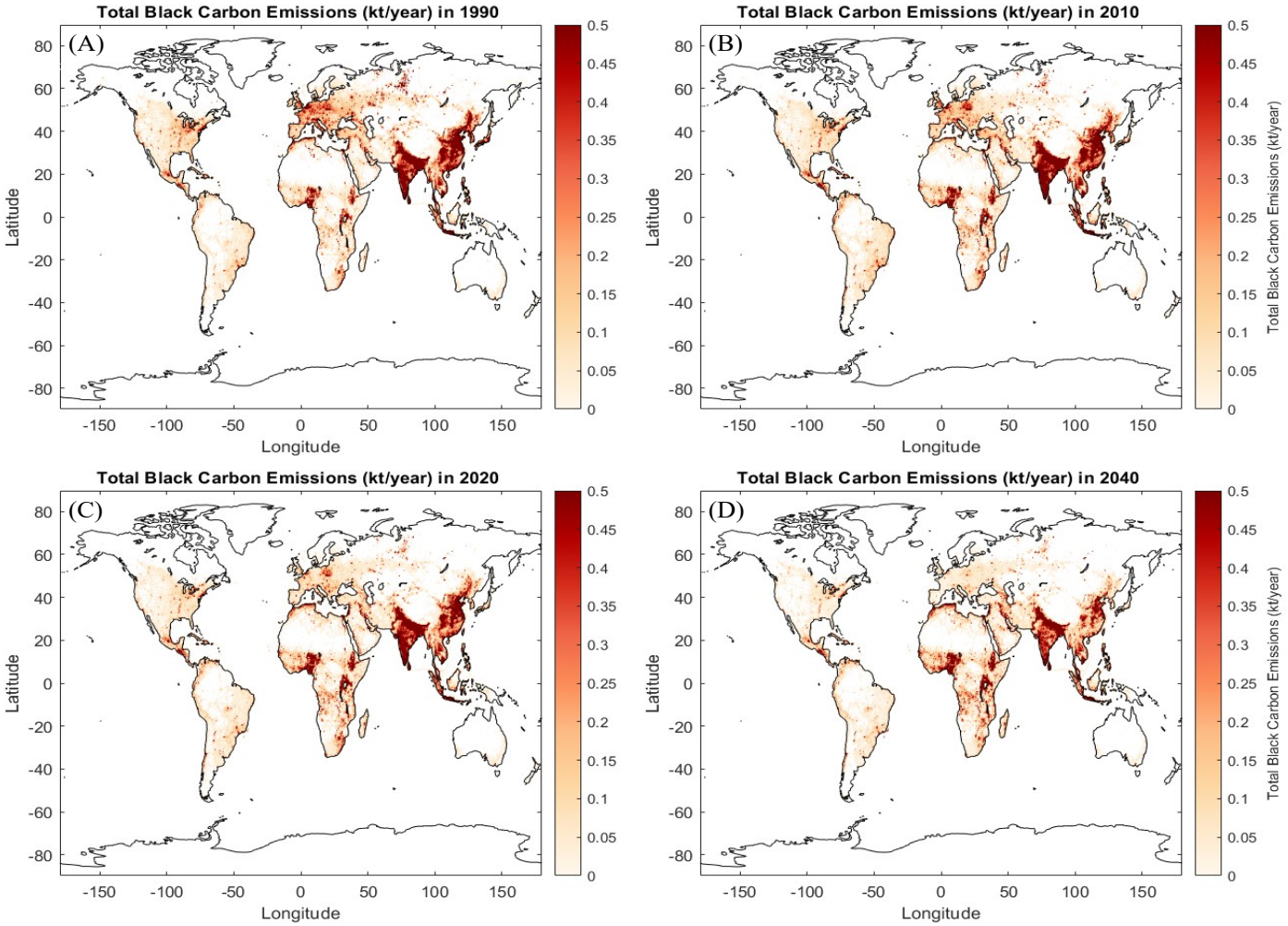



**Figure 4.** Cartes de distribution mondial du Black Carbon (BC) dans l'atmosphère en 1990 (A), 2010 (B), 2020 (C) et 2040 (D) réalisées à partir des données de Klimont et al. (2017). Le jeu de données d'émission développé a été utilisé dans des simulations de modèles de transport atmosphérique et climatique régionaux et mondiaux pour l'année 2020 (C) et 2040 (D). Les cartes ont été produites à partir des jeux de données en accès libres sur http://www.iiasa.ac.at/web/home/research/researchPrograms/air/Global_emissions.html.

Si l'Europe, l'Amérique du Nord et la Russie représentent ensemble entre 10 et 13% des émissions totales (Bond et al., 2007; Cofala et al., 2007; Klimont et al., 2017), ces émissions proviennent principalement de la combustion de combustibles fossiles, et ce au-dessus de 40° de latitude nord. Par conséquent ces émissions, qui présentent de faibles ratios OC:BC, ont un

impact disproportionné sur le réchauffement climatique, en raison de leur plus forte contribution à la fonte des glaces aux latitudes élevées (Klimont et al., 2017). L'Afrique contribuerait à 14% des émissions mondiales de BC, tandis que la Chine, l'Inde et le reste de l'Asie représenteraient 46% des émissions mondiales de BC, et principalement constituées d'émissions de BC contribuant au réchauffement (Fig. 4) (Bond et al., 2004; Klimont et al., 2017). En Amérique latine, les émissions contribueraient à environ 5% des émissions mondiales de BC en 2010 (Klimont et al., 2017). L'évolution des législations nationales en termes d'utilisation du charbon comme sources d'énergie s'est montrée efficace pour la diminution des émissions de BC terrestre en Europe entre 1990 et 2010 (Fig. 4a, b) (Klimont et al., 2017). De la même manière, la mise en place des plans quinquennaux de transitions économiques et sociales en Chine a également impacté la distribution des émissions en Asie (Fig. 4a, b). Néanmoins, si des variations des émissions sont visibles sur des durées décennales, la distribution de ces émissions est encore caractérisée par des régions de « hot spots », particulièrement regroupées en Asie de l'Est et du Sud-Est (Fig. 4, Fig. 5).

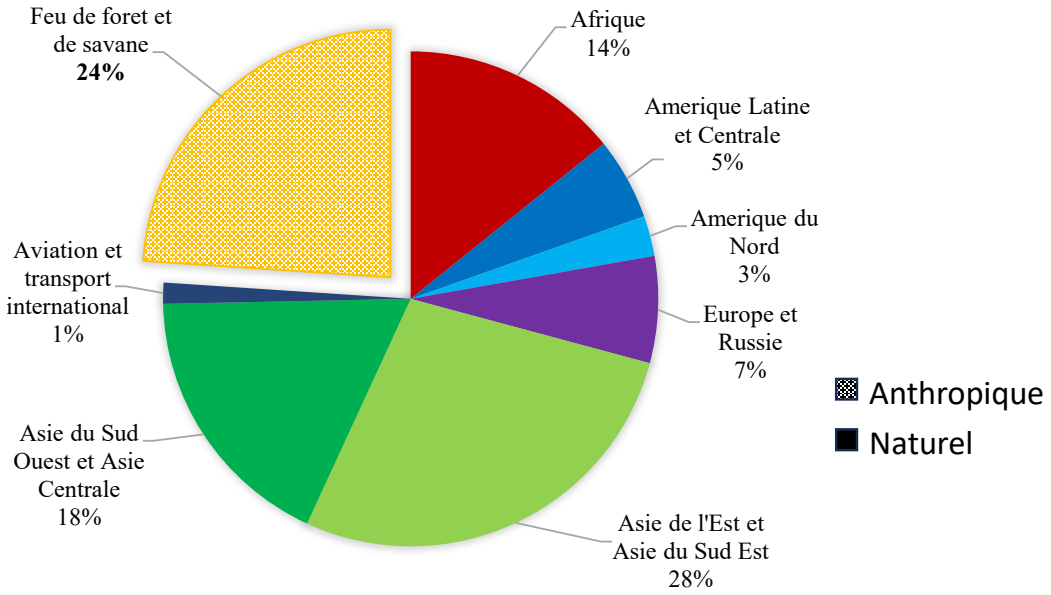



**Figure 5.** Répartition mondiale des émissions de Black Carbon (BC) par région, reproduit d'après Klimont et al. (2017).

Comme évoqué précédemment, le transport, et donc le devenir, de ces particules est intrinsèquement liée à leur taille, qui détermine leur mise en suspension et leur transport à plus ou moins longue distance dans l'atmosphère. Si les feux de biomasse à ciel ouvert sont la principale source de BC dans l'environnement, les grandes particules produites, souvent millimétriques, se situent à une extrémité du continuum de combustion (Fig. 3). La majorité de ces émissions demeurent ainsi sur les sites de combustions à un taux de 114-383 Tg $an^{-1}$, et

seule une petite partie, correspondant à la fraction fine de suie produite, rejoint l'atmosphère (3-6 Tg $an^{-1}$) (Fig. 2). Il est important de noter que le BC produit *via* les feux de biomasse contient beaucoup plus de OC, et contribueraient moins au réchauffement climatique (Bice et al., 2009). En effet, la biomasse, composée de matières organiques complexes, brûle de manière moins complète et à des températures variables, générant davantage de OC non brûlé. En comparaison, le BC issu des combustibles fossiles, qui sont plus homogènes et brûlent à des températures plus élevées et de manière plus complète, contient moins de OC. La partie du BC émise dans l'atmosphère sous forme d'aérosols provient ainsi principalement de la combustion de combustibles fossiles, responsable de l'émission de 2-29 Tg $an^{-1}$ de BC dans l'atmosphère (Fig. 2).

Les particules de BC submicroniques produites lors de la combustion de combustibles fossiles peuvent rester en suspension dans l'atmosphère pendant des mois (Ogren et al., 1983), et la fraction restant sur site serait < 1 Tg $an^{-1}$. En prenant en compte ces deux principales sources (feux de biomasse, combustibles fossiles), le flux annuel de BC dans l'atmosphère (5-35 Tg $an^{-1}$ selon Coppola (2018) ou 6-24 selon Coppola et al. (2022)) demeure beaucoup plus faible que le dépôt de BC sur les sites de combustion (114-383 Tg $an^{-1}$) (Bird et al., 2015). Les petites particules de BC émises dans l'atmosphère peuvent ainsi être transportées sur de longues distances, et atteindre des environnements éloignés tels que l'océan ouvert (Fig. 2) (Masiello, 2004).

### 1.1.3. Du Black Carbon au Black Carbon dissous - Voie d'entrée en mer et importance pour le milieu marin

L'étude de Kim et al. (2004) a fortement impacté les théories des années 1980 et 1990, en démontrant pour la première fois la présence d'un matériau semblable au BC dans la **matière organique dissoute (DOM)** océanique. Cette observation majeure suggère que le BC peut être dégradé et inclus dans les réservoirs de carbone actif de la terre. De nombreuses interrogations ont dès lors été soulevées concernant les processus séparant l'émission de BC lors de la combustion incomplète de son arrivée dans le compartiment de la DOM. A partir de 2004, deux hypothèses principales ont été proposées concernant les sources de BC dans le compartiment de la DOM océanique : 1) Le dépôt atmosphérique de petites particules de BC qui pourrait constituer une source significative de OC pour les systèmes fluviaux (Masiello et Druffel,

1998); 2) Le BC étant l'un des principaux composants de l'OC du sol (Glaser et al., 1998; Gélinas et al., 2001) et le carbone des substances humiques du sol constituant une part importante du DOC fluvial (Ertel et al., 1986), le lixiviat du sol devrait représenter une source importante de BC fluvial (Fig. 2). Actuellement, ces hypothèses restent les plus fortement admises dans la communauté scientifique (Voir 1.1.3).

En rencontrant le milieu aquatique, le BC peut rester sous forme particulaire ou intégrer le compartiment dissous (DBC) en fonction de son hydrophobicité (Wagner et al., 2017). Les estimations les plus récentes indiquent que le BC émis dans l'atmosphère rejoint l'océan sous forme de DBC et de BC à des taux de 2–4 Tg C $an^{-1}$ et ~12 Tg C $an^{-1}$, respectivement (Jurado et al., 2008; Bao et al., 2017; Fang et al., 2021a). Le BC retenu sur les continents rejoint quant à lui l'océan *via* les fleuves sous forme, lui aussi, de DBC (18–66 Tg C $an^{-1}$) et de BC (17–37 Tg C $an^{-1}$) (Fig. 2) (Jaffé et al., 2013; Santín et al., 2016; Jones et al., 2020; Fang et al., 2021a), servant de source continue de carbone pyrogénique pour les eaux intérieures, côtières et océaniques (Jaffé et al., 2013; Santín et al., 2016). Ainsi, les apports totaux annuels (atmosphère + fleuves) de DBC et BC à l'océan atteindraient respectivement 20–70 Tg C $an^{-1}$ et 29–49 Tg C $an^{-1}$. A titre de comparaison, ces apports totaux de BC à l'océan (49–119 Tg C $an^{-1}$) seraient ~10 fois supérieurs à ceux des débris plastiques (4.8–12.7 Tg $an^{-1}$; Jambeck et al., 2015). Considérant que les apports de DOC à l'océan par les fleuves sont de l'ordre de 205 à 250 Tg C $an^{-1}$ (Hedges et al., 1997; Dai et al., 2012), le DBC représenterait de 7 à 33% du flux de DOC fluviatile (Fig. 2).

A nouveau, la définition même du DBC étant intrinsèquement liée à la fraction moléculaire ciblée par les techniques d'analyses, des divergences ont émergé au sein de la communauté scientifique, soulignant la nécessité d'une définition commune permettant la comparaison des résultats. Bien que la composition moléculaire du BC soit largement contrôlée par le matériau source et la température de combustion (Schimmelpfennig et Glaser, 2012), la composition moléculaire du DBC est en outre modulée par la solubilité des composés spécifiques du BC (Fig. 6) (Wagner et al., 2018).

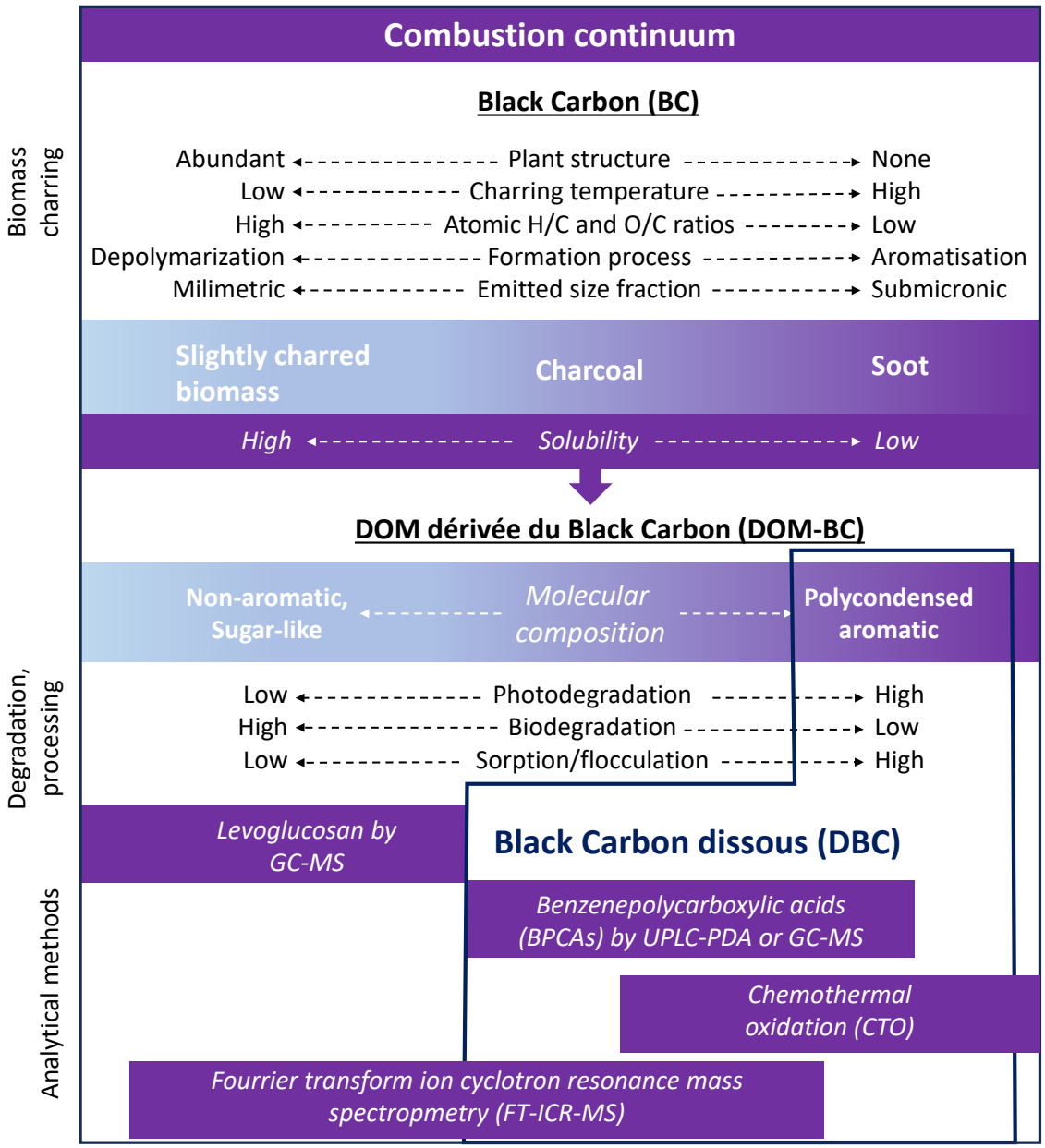



**Figure 6.** Continuum de combustion, modifié par Tedetti (2023) et Martinot (2024) à partir de Wagner et al. (2018) et Coppola et al. (2022), qui intègre 1) la composition du Black Carbon particulaire (BC) (slighty charred biomass, charcoal, soot) en fonction de la température de carbonisation de la matière organique, 2) la composition et la réactivité de la matière organique dissoute dérivée de ce Black Carbon (DOM_BC) (non-aromatic sugar-like jusqu'au polycondesned aromatic) en fonction de la solubilité du Black Carbon, et 3) les méthodes analytiques liées au dosage de cette DOM_BC. Au sein de cette dernière, le Black Carbon dissous (DBC) correspond uniquement à la fraction aromatique polycondensée déterminée par les méthodes BPCAs et CTO (Wagner et al., 2021).

Il est important de préciser que le BC dans la phase dissoute (*i.e.*, BC passant à travers un filtre de taille de pores de 0.2 à 0.7 µm) englobe un ensemble hétérogène de molécules organiques pyrogéniques issues du continuum de combustion, allant des molécules non aromatiques et biomolécules de type sucres (anhydrosucres) jusqu'aux groupements

aromatiques polycondensés (Wagner et al., 2018). Cet ensemble hétérogène de composés organiques peut se définir comme de la **DOM dérivée du BC, que l'on nommera dans cette thèse « DOM_BC »**. Au sein de cette DOM_BC, le DBC est considéré comme étant uniquement des molécules à ~7 noyaux aromatiques polycondensées présentant des fonctions carboxyliques (COOH) (Fig. 7), *i.e.*, des PAHs fonctionnalisés, telles qu'évaluées par les méthodes des acides benzène-polycarboxyliques (BPCAs) (voir Chapitre 2) ou de l'oxydation thermochimique (CTO).

Même si les techniques optiques (spectroscopie de fluorescence et d'absorbance) sont utilisées depuis plusieurs années pour le dosage de la DOM océanique (Coble, 2007) et la détection des biochars dans les sols (Jamieson et al., 2014; Lian et Xing, 2017; Azeem et al., 2023), elles n'ont pas été pleinement exploitées pour identifier spécifiquement la signature (aromatique) de la DOM_BC et du DBC.

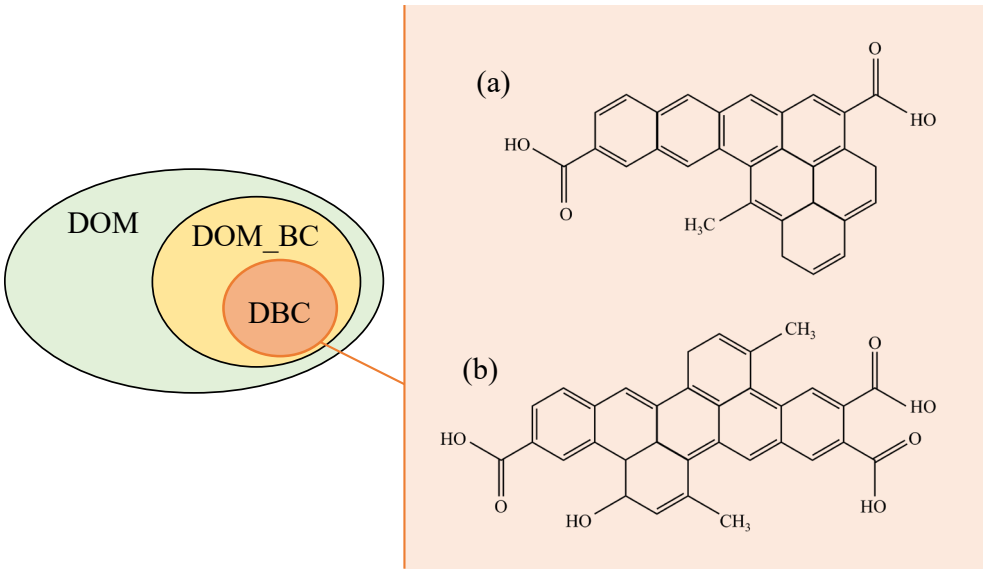



**Figure 7.** Exemple de molécules de DBC au sein de la DOM_BC.

Le DBC est désormais reconnu comme une composante majeure du budget global du carbone (Mannino et Harvey, 2004; Dittmar et Paeng, 2009; Jaffé et al., 2013; Bao et al., 2017). Ubiquiste dans les eaux naturelles, le DBC a été détecté depuis les eaux intérieures jusqu'aux eaux océaniques dont les fleuves et rivières (Stubbins et al., 2015; Wagner et al., 2019; Jones et al., 2020), les ruisseaux (Yamashita et al., 2021), les eaux souterraines sous-marines (Seidel et al., 2014), les estuaires (Mannino et Harvey, 2004), les eaux côtières (Coppola et al., 2015; Fang et al., 2017; Fang et al., 2021a), la microcouche de surface marine (Mari et al., 2014, 2017), l'océan ouvert (Ziolkowski et Druffel, 2010; Nakane et al., 2017; Mori et al., 2021) et

l'océan profond (Dittmar et Koch, 2006; Stubbins et al., 2012; Coppola et Druffel, 2016). Le DBC représente la fraction majoritaire du BC dans l'océan (14-36 Pg C; Fig. 2), et participerait ainsi de façon significative (de 2 à 5.5%) au réservoir de DOM océanique (~650 Pg C) (Hansell et al., 2009).

Si les fleuves ont initialement été considérés comme la source majeure de DBC à l'océan (Wagner et al., 2018), les écarts observés entre le renouvellement théorique du stock de DBC océanique à partir du flux global de DBC fluvial (< 1000 ans) et l'âge apparent du DBC océanique mesuré par le $^{14}C$ (1 à 2 ordres de grandeur plus élevés) soulèvent des questions importantes. De même, la différence entre la signature isotopique du carbone (valeurs de $\delta^{13}C$) du DBC océanique et celle du DBC fluvial, où le DBC océanique est enrichi d'environ 6‰ en $^{13}C$ par rapport à son homologue fluvial, est notable. Par conséquent, il a été suggéré que le DBC fluvial puisse être séquestré et/ou rapidement dégradé avant d'atteindre l'océan ouvert, et que le DBC océanique puisse provenir d'une autre source, autre que fluviale, dont la signature $\delta^{13}C$ serait plus proche de la sienne (Wagner et al., 2019, 2021). Ces observations mettent en évidence le fait que le cycle et les processus de transformation du DBC dans les eaux marines restent mal compris (Wagner et al., 2018; Qi et al., 2020), et que l'étude des systèmes fluviatiles et estuariens est fondamentale à la compréhension du cycle du DBC et, par conséquent, du BC.

Bien que des études récentes montrent que les particules de BC déposées en mer adsorbent efficacement la matière organique et les nutriments, influençant ainsi les activités des procaryotes hétérotrophes libres et attachés aux particules (Mari et al., 2014, 2017, 2019; Benavides et al., 2019), l'impact du DBC sur les cycles biogéochimiques et les activités planctoniques en mer n'a été que très peu étudié. La structure aromatique et polycondensée du DBC confèrerait à ce dernier une forte réactivité chimique lui permettant de subir/d'initier de nombreux processus de transformation (Stubbins et al., 2012; Wagner et al., 2018), comme la sorption sur les particules en suspension, la transformation photochimique (ou phototransformation) (Fu et al., 2016; Gao et al., 2023) ou encore l'association avec des composés dissous minéraux et organiques (*i.e.*, nutriments et contaminants) (Fu et al., 2018; Li et al., 2020; Chen et al., 2022). L'ensemble de ces processus pourraient alors : 1) modifier sélectivement la composition moléculaire du DBC, 2) impacter sa séquestration ou son élimination et 3) modifier les équilibres biogéochimiques déjà en place dans le milieu marin. D'autre part, en considérant le DBC comme une matière organique aromatique d'origine anthropique ou non-anthropique, sa présence en concentrations variables dans le milieu et sa capacité à interagir avec les contaminants organiques et métaux pourrait modifier leurs

réactivités chimique et biologique, en particulier leur biodisponibilité, bioaccumulation et toxicité (Fig. 5) (Fang, 1998; Bejarano et al., 2005; Durjava et al., 2007; Chen et al., 2008; Lee et al., 2011; Liu et al., 2016).

De plus, si le DBC est considéré comme un substrat bioréfractaire en raison de sa structure chimique, sa capacité réelle à être assimilé/recyclé par les procaryotes hétérotrophes marins n'a pas été réellement investiguée. Il a été rapporté que la DOM_BC obtenue à partir d'expériences de lixiviation de charbon de bois, de chêne carbonisé et de biochars étaient biodisponible pour les consortiums microbiens des sols et des rivières (Qi et al., 2020; Bostick et al., 2021; Wagner et al., 2021; Goranov et al., 2022). Cette biodégradation a été plutôt attribuée aux constituants organiques de faible poids moléculaire (LMW) (biomolécules) de la DOM_BC, tandis que le DBC proprement dit (*i.e.*, fraction aromatique polycondensée de cette DOM_BC mesurée par la méthode des BPCAs) semblait être plus résistant à la dégradation microbienne (Bostick et al., 2021; Wagner et al., 2021; Yamashita et al., 2022). En revanche, pour Qi et al. (2020) et Goranov et al. (2022), la fraction aromatique de la DOM_BC était aussi assimilée et intégrée à la biomasse de la communauté microbienne. Djaoudi et al. (2020) ont observé que la DOM lixiviée d'aérosols anthropiques était biodisponible pour les procaryotes hétérotrophes marins avec une contribution de DOC labile à la DOM totale d'environ 25%. Cependant, le DBC, probablement présent dans cette DOM dérivée d'aérosols anthropiques, n'a pas été dosé lors de cette expérience (Djaoudi et al., 2020). Les observations récentes soulignent la nécessité d'étudier plus en profondeur la biodisponibilité et l'impact potentiel du DBC et de la DOM_BC sur les procaryotes marins.

Aussi, bien que le DBC soit un élément clé dans l'étude de l'influence du BC sur le cycle du carbone océanique, ses flux, sa distribution, ainsi que sa réactivité face aux facteurs abiotiques et biotiques dans le continuum eaux douces-eaux marines restent encore largement méconnus (Fig. 8).

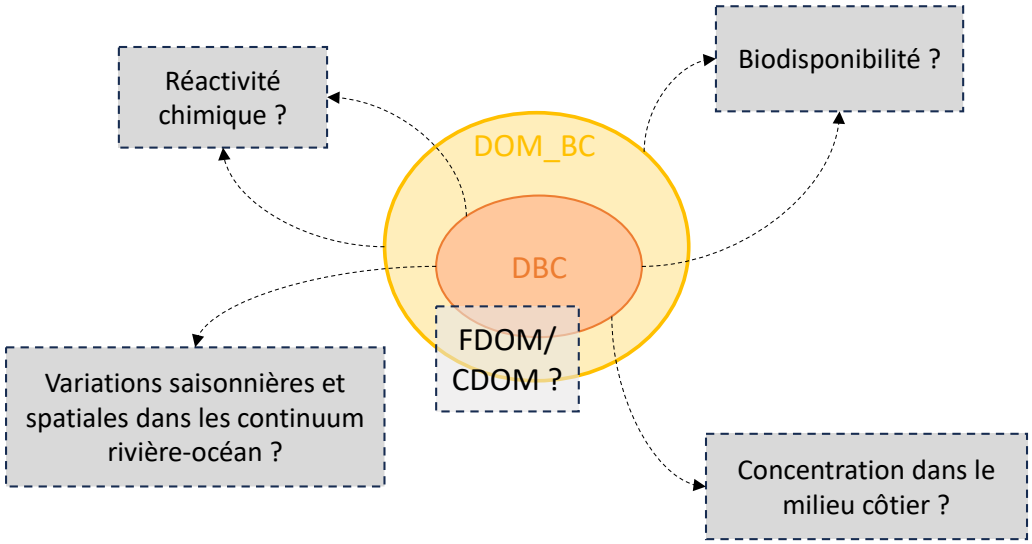



**Figure 8.** Synthèse des différentes questions actuelles sur la distribution et la réactivité du DBC et de la DOM_BC.

L'Asie du Sud-Est est l'un des principaux « hot spots » d'émission de BC anthropique à l'échelle globale (Fig. 4). Le Vietnam est un pays côtier (littoral de plus de 3200 km), l'un des plus peuplés d'Asie du Sud-Est, dans lequel la majeure partie de la population vit dans des zones dont l'altitude ne dépasse pas quelques mètres. Le delta du fleuve Rouge, situé au nord du Vietnam (voir section 2.1.2), abrite l'une des plus fortes densités démographiques au monde et représente une zone côtière particulièrement intéressante pour l'étude DBC. Ce système fluviatile est fortement influencé par le climat de mousson et par l'intense activité humaine (Le et al., 2017), et représente un axe de trafic maritime très important dans la région jusqu'au golfe du Tonkin. Malgré son intérêt majeur pour les questions liées au cycle du DBC et à son transfert dans le compartiment océanique, aucune mesure n'a été réalisée dans le delta à ce jour.

En Méditerranée, la baie de Marseille présente elle aussi un intérêt majeur pour l'étude du DBC en raison de son anthropisation croissante et du fort trafic maritime qu'elle accueille (voir section 2.1.1). Les études récentes suggèrent notamment que le trafic maritime pourrait être responsable de plus de 25% des émissions locales des particules fines inférieures à 2.5 µm ($PM_{2.5}$) autour des ports de la ville (Chevet et al., 2024). Malgré le fort intérêt que représente ce site Méditerranéen pour l'étude du DBC en milieu côtier, aucune mesure de DBC n'y a à ce jour été effectuée à notre connaissance.

## 1.2. Objectifs de thèse

### 1.2.1. Les objectifs du travail de thèse

Dans le cadre de cette problématique, le but général de ce travail de thèse est d'améliorer les connaissances actuelles sur la distribution et la réactivité du DBC en milieu marin côtier et fluvial dans des environnements impactés par la pollution au BC. Mes 3 objectifs principaux sont les suivants :

1) Caractériser les propriétés optiques (absorbance et fluorescence) de la DOM_BC et du DBC de différentes origines (suies de bateau, machines industrielles alimentées au diesel, combustion de biomasse, poussière urbaine) et comparer ces propriétés optiques à celles de la DOM naturelle, terrestre et marine.
2) Déterminer les distributions spatiale et temporelle du DBC, en lien avec le contexte hydrodynamique et biogéochimique, dans 3 environnements côtiers anthropisés : un site de Méditerranée (baie de Marseille) et 2 sites du delta du fleuve Rouge au Nord Vietnam (rivière et estuaire Van Uc et bras principal du fleuve Rouge).
3) Evaluer la réactivité biologique de la DOM_BC et du DBC, *i.e.,* leur biodisponibilité vis-à-vis des bactéries hétérotrophes marines, et de leur réactivité chimique, *i.e.,* leur capacité à interagir et à complexer avec des contaminants organiques dissous (PAHs).

Pour atteindre ces objectifs, des travaux expérimentaux en laboratoire ont été menés pour examiner les propriétés optiques, la réactivité chimique et la réactivité biologique de la DOM_BC et du DBC. Des campagnes de terrain ont également été réalisées dans les trois zones d'étude : la baie de Marseille (France, avril et mai 2022), l'estuaire de la rivière Van Uc (Vietnam, mars et novembre 2023), et le bras principal du fleuve Rouge (Vietnam, mars, juin et septembre 2023). Ces campagnes et travaux expérimentaux ont été associés à des analyses en laboratoire et du traitement de données.

### 1.2.2. Déroulement de la thèse – stratégie

Ma première année de thèse à l'Institut Méditerranéen d'Océanologie (MIO, Marseille – France) a été majoritairement consacrée à la composante expérimentale. Cette dernière comprenait la caractérisation des propriétés optiques de solutions de DOM_BC en laboratoire

ainsi que l'étude de leurs réactivités chimique et biologique. Durant cette première année, une grande variété de solutions de DOM_BC ont donc été préparées, et une base de données contenant les principales caractéristiques de fluorescence et d'absorbance de ces solutions a été produite. Concernant la réactivité chimique de la DOM_BC et du DBC, des expériences de quenching de fluorescence avaient été réalisées avant le début de ma thèse, lors de mon stage de Master 2, et mon travail de thèse a débuté par l'analyse et l'interprétation de ces résultats. La réactivité biologique de la DOM_BC et du DBC a été explorée à travers une expérience de biodégradation par des procaryotes hétérotrophes marins, qui s'est déroulée durant l'été 2021. Les analyses, le traitement des données et l'interprétation des résultats se sont étendus jusqu'à la fin de ma première année de thèse.

Le travail réalisé pendant cette première année de thèse a bénéficié d'un fort soutien technique de la part de l'équipe CEM du MIO, notamment par la mise au point d'une méthode de mesure du DBC par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) par C. Guigue, basée sur la méthode existante par chromatographie liquide (HPLC). À la suite de ce travail de développement méthodologique et de caractérisation optique, les campagnes de prélèvements en baie de Marseille ont été réalisée en avril et mai 2022.

Mes deuxième et troisième années de thèse se sont déroulées à l'Université des Sciences et Technologie de Hanoi (USTH – Vietnam) et ont été principalement consacrées au travail de terrain de suivi du fleuve Rouge (trois campagnes en 2023) et de l'estuaire de la rivière Van Uc (deux campagnes en 2023). Associés à ces campagnes, le traitement des échantillons ainsi que toutes les analyses ont été menés au Vietnam, à l'USTH et à la Vietnam National University (VNU) en 2023 et 2024.

La stratégie globale de ce travail de thèse peut être résumée en 2 points : 1) le développement des outils techniques, analytiques et de traitement de données au MIO à Marseille et une première application de ces outils dans un milieu anthropisée Méditerranéen, et 2) le transfert, l'installation et l'utilisation de ces outils au Vietnam, avec les partenaires, pour l'étude du DBC dans le delta du fleuve Rouge, région de hot spot mondial de BC.

Cette thèse a bénéficié d'un co-encadrement entre le MIO (X. Mari, M. Tedetti) et l'USTH (C. T. Vu) et s'est inscrite dans le cadre programmatique et financier suivant :

- Projet CNRS EC2CO « *Détermination des coefficients de partage entre matière organique dissoute et contaminants chimiques dans le milieu côtier* » (COMATIC; 2019-2021; PI : M. Tedetti).

- Projet européen MarTERA ERA-NET « *Maritime Traffic Emissions: A monitoring network* « (MATE; 2020-2023; PI MIO : M. Tedetti).
- Réseau de Recherche International l'IRD « *Impact du Black Carbon en Asie du Sud-Est* « (IRN SOOT-SEA; 2018-2026; PIs : X. Mari, M. Tedetti et G. Uzu).
- Laboratoire Mixte International de l'IRD « *Study center of the land-ocean-atmosphere regional coupled system* « (LMI LOTUS; 2018-2027; PIs : T. Ngo-Duc, M. Herrmann).
- Projet IRD-Action Sud « *Black Carbon dissous en milieu marin : biodisponibilité potentielle pour les procaryotes hétérotrophes et pouvoir de complexation avec les contaminants* « (BLACKMATTERS; 2021-2022; PIs : M. Tedetti, M. Benavides).
- Projet Coopération Ambassade de France au Vietnam « *Suivi in situ et à haute fréquence du Black Carbon dissous dans le fleuve Rouge (nord Vietnam) par fluorimètre submersible innovant »* (BLACK-IN-RED; 2022-2023; PI : M. Tedetti).

### 1.2.3. Organisation du manuscrit

Le **Chapitre 2** développe l'aspect méthodologique de mon travail de thèse. Il inclut une description complète des différents sites d'étude, ainsi que des stratégies d'échantillonnage spécifiques à chaque site. Les protocoles analytiques appliqués aux échantillons naturels et aux solutions de laboratoire y sont également exposés. Ce chapitre présente aussi la méthodologie de mes travaux expérimentaux et précise les instruments utilisés lors des campagnes de prélèvement et des analyses en France et au Vietnam. Le **Chapitre 3** traite de la caractérisation des propriétés optiques de la DOM_BC issue de BC de différentes origines. Les résultats de cette étude, aboutissant à la proposition d'un nouvel indice de fluorescence, sont rapportés sous forme d'article (article publié dans *Marine Chemistry*). Le **Chapitre 4** sur les variabilités spatiale et temporelle des concentrations de DBC en milieu côtier anthropisé contient deux sous-parties, l'une sur la baie de Marseille (article soumis à *Environnemental Science & Pollution Research*) et l'autre sur l'estuaire de la rivière Van Uc (article en préparation). Le **Chapitre 5** approfondit la notion de variabilité temporelle et spatiale des concentrations en DBC et de la qualité de la DOM fluorescente dans la zone d'étude Nord Vietnam au travers du cas du fleuve Rouge, échantillonné trois fois au cours de l'année 2023 (article en préparation). Le **Chapitre 6** concerne la réactivité biologique du DBC et les résultats de l'expérience de biodégradation réalisée au MIO Marseille (article publié dans *Science of the Total Environment*). Le **Chapitre 7** s'intéresse à la réactivité chimique du DBC et de la DOM naturelle vis à vis des PAHs dissous, explorée au travers de trois expériences de quenching de

fluorescence (article en préparation). Enfin, le **Chapitre 8** présente les conclusions générales de ce travail, en rappelant les principaux résultats obtenus dans ces différents chapitres, ainsi que les perspectives envisagées à la suite de cette étude.

# 2. Matériel et Méthodes

## 2.1. Zones d'étude et stratégie d'échantillonnage

### 2.1.1. Baie de Marseille – Méditerranée Nord Occidentale

**Zone d'étude.** Malgré sa taille limitée (~0.7% de l'océan mondial en surface, ~0.25% en volume), la mer Méditerranée est connue pour être un hot spot de biodiversité, abritant de 4 à 18% de la diversité marine mondiale (Bianchi et Morri, 2000; UNEP/MAP-RAC-SPA, 2008), et est considérée comme l'un des environnements marins les plus complexes au monde en raison de la diversité et des échelles des processus physiques qui s'y déroulent, tels que la circulation thermohaline, la formation d'eaux profondes, les gyres de sous-bassin… (Pinardi et Masetti, 2000; D'Ortenzio et Ribera d'Alcalà, 2009). La Méditerranée est globalement classée comme une zone marine oligotrophe puisque sa production primaire est généralement faible et la concentration totale de chlorophylle *a* dans les eaux libres ne dépasse guère 2-3 µg $L^{-1}$, ce qui est attribuable à des concentrations relativement faibles en nutriments (Durrieu De Madron et al., 2011; Marañón et al., 2021). Une autre caractéristique de la Méditerranée est sa forte exposition à la contamination chimique (Laird, 1991; UNEP/MAP, 2012). En effet, les activités humaines intenses issues des 23 pays riverains (urbanisation, agriculture, tourisme, industrialisation, transport maritime, aquaculture, surpêche) induisent des apports importants de divers contaminants chimiques, tandis que le statut semi-fermé de cette mer limite la possibilité de leur dilution (Tedetti et al., 2023).

Les eaux de la Méditerranée Nord Occidentale sont sujettes à une forte pression anthropique due à la densité de population côtière, aux activités industrielles et aux routes maritimes intenses (Durrieu De Madron et al., 2011; Suaria et al., 2016; Chevet et al., 2024). Marseille, dans le sud de la France, est la deuxième ville la plus peuplée du pays et le principal port méditerranéen pour les marchandises. Le port de Marseille-Fos gère annuellement 3 millions de personnes et 77 millions de tonnes de marchandises, entraînant un trafic

international significatif dans la baie de Marseille. Cette zone côtière fait également face à diverses sources de contamination *via* les rivières, les eaux de ruissellement, les effluents, et les dépôts atmosphériques (Perez et al., 2005; Chevet et al., 2024). Elle est aussi fortement influencée par le fleuve Rhône, qui représente aujourd'hui la principale source d'eau douce en Méditerranée (Moutin et al., 1998; Sempéré et al., 2000). Le Rhône est le plus grand fleuve de France en termes de débit, agissant comme une voie importante d'entrée de contaminants en Méditerranée Nord Occidentale (Lipiatou et Saliot, 1991; Lepage et al., 2022). En raison de ces facteurs, la zone côtière Rhône-Fos-Marseille apparaît comme une zone d'intérêt pour l'étude du DBC en Méditerranée Nord Occidentale.

**Stratégie d'échantillonnage.** Deux campagnes ont été menées dans la zone côtière Rhône-Fos-Marseille en avril et mai 2022 à bord du navire océanographique (N/O) *Antédon 2*. Lors de ces campagnes, 28 stations ont été échantillonnées du sud-est de la baie de Marseille à l'embouchure du Rhône (Fig. 9).

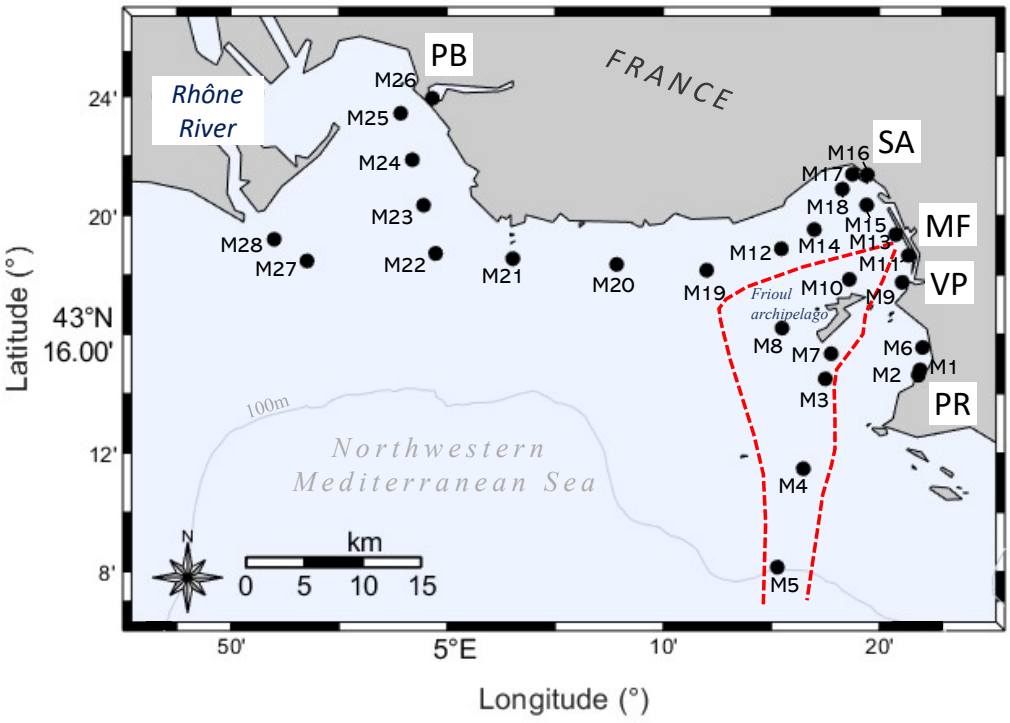



**Figure 9.** Carte des stations échantillonnées lors des campagnes réalisées en avril et mai 2022 dans la zone Rhône-Fos-Marseille (Méditerranée Nord Occidentale, sud de la France). Les points noirs correspondent aux stations échantillonnées et les lignes rouges pointillées représentent les principaux chenaux de navigation. Zones portuaires : PB = Port de Bouc; SA = Saumaty; MF = Marseille-Fos; VP = Vieux Port; PR = Pointe Rouge. Carte réalisée à l'aide de Matlab (R2023b).

Plusieurs ports ont été visités, et des échantillons ont été prélevés à l'intérieur et à l'extérieur des zones portuaires du Vieux Port (VP), de Marseille-Fos (MF), de la Pointe Rouge (PR), de Saumaty (SA) et de Port-de-Bouc (PB). Une attention particulière a été portée à l'échantillonnage des principales routes maritimes commerciales et touristiques, dont la majorité part de MF, quittant la baie par le sud en passant de chaque côté de l'archipel du Frioul (Fig. 9).

**Protocoles de prélèvement et de filtration.** Les échantillons ont été prélevés dans l'eau de subsurface à une profondeur d'environ 1 m à l'aide d'une bouteille Niskin X, *i.e.,* une bouteille Niskin revêtue de téflon dont les ressorts de fermeture en acier inoxydable sont montés à l'extérieur pour éviter la contamination de l'échantillon (Fig. 10a), déployée depuis le pont arrière du navire par un treuil hydraulique.

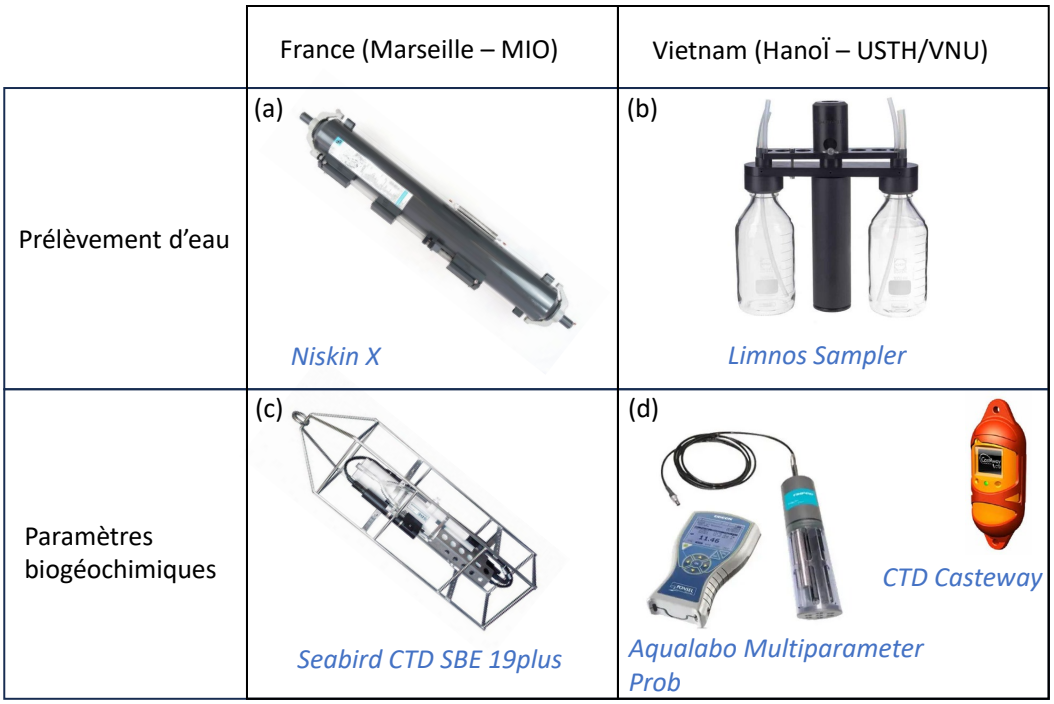



**Figure 10.** Présentation des différents outils de prélèvements et de mesures utilisées lors des campagnes réalisées en France (a, c) et au Vietnam (b, d).

L'eau collectée a été ensuite transférée (sans utiliser de tuyaux) dans des bouteilles en polycarbonate Nalgene® nettoyées préalablement à l'acide et à l'eau ultra-pure (eau Milli-Q) (Tedetti et al., 2023). Les bouteilles Nalgene ont été rincées trois fois avec l'échantillon avant remplissage puis stockées dans des glacières, à l'obscurité, au frais. En plus des échantillons d'eau, des profils de température et salinité ont été obtenus à l'aide d'une sonde conductivité-température-profondeur (CTD) Seabird Electronics 19*plus* déployée également depuis le treuil hydraulique (Fig 10c). De retour au laboratoire, les échantillons ont été filtrés sous une faible

pression de vide (< 50 mm Hg) *via* une pompe électrique sur des filtres en fibre de verre GF/F Whatman® pré-calcinés (de 47 mm de diamètre et ~0.7 µm de taille de pores) à l'aide d'un système de filtration en verre pré-calciné (450 °C, 6 h). Pour l'analyse du DBC, l'eau filtrée sur GF/F a été transférée dans des bouteilles en verre (Schott®) de 500 mL pré-calcinées avec bouchons doublés d'une pastille téflon et stockées à -20 °C à l'obscurité jusqu'aux analyses. Pour le DOC et la DOM chromophorique (CDOM) et fluorescente (FDOM), l'eau filtrée sur GF/F a été transférée dans des tubes en verre de 20 mL, pré-calcinés avec bouchons doublés de téflon, et stockée à 4 °C jusqu'aux analyses. Pour le DOC, les échantillons ont été acidifiés avec 20 µL d'acide sulfurique ($H_2SO_4$ 95%, Sigma Aldrich®).

### 2.1.2. Delta du fleuve Rouge – golfe du Tonkin, Vietnam

**Zone d'étude.** **L'Asie du Sud-Est** est considéré comme l'un des principaux hot spots mondial de BC anthropique en termes d'émission, de concentration et de dépôt (Fig. 4). Le **Vietnam**, qui est le 3ème pays le plus peuplé d'Asie du Sud-Est (99 millions d'habitants en 2022), possède plus de 3 200 km de côtes sur la mer de Chine méridionale (ou mer de l'Est du Vietnam), et est répertorié comme l'une des zones les plus polluées au monde (Wolf et al., 2022). Le Vietnam a connu une augmentation rapide de la consommation de charbon entre 2011 et 2021, avec un taux moyen de 11% par an (Do et Burke, 2023), ce qui a fortement contribué à aux émissions de gaz et de particules. Ces émissions représentant plus de 70% des émissions totales de $CO_2$ dues à la combustion de combustibles dans le pays (IEA, 2023).

La région du **delta du fleuve Rouge, au nord du Vietnam** (Fig. 11), présente une densité démographique parmi les plus élevées au monde (> 1 000 habitants $km^{-2}$), regroupant des zones rurales et industrielles très peuplées et de grands centres urbains/portuaires (villes de Hanoï et Haiphong). Cette région, qui subit une forte pression anthropique due à une urbanisation rapide et à des activités industrielles et agricoles croissantes, contribue à plus d'un quart du PIB national et à 20% de la production de riz du pays.

**Le fleuve Rouge** est le 2ème cours d'eau du Vietnam (derrière le Mékong), avec un bassin versant de 169 000 $km^2$, une longueur de 1 150 km et un débit moyen de 3 640 $m^3\ s^{-1}$. Ce débit varie entre 1 500 $m^3\ s^{-1}$ (minimum 430 $m^3\ s^{-1}$) de novembre à avril (saison sèche) et 7 000 $m^3\ s^{-1}$ (maximum 30 000 $m^3\ s^{-1}$) de mai à octobre (saison humide). Prenant sa source en Chine, il traverse ensuite des régions densément peuplées du Nord Vietnam pour se jeter, *via* 8 bras

différents (dont le bras principal « Hanoï-Ba Lat » et le bras « Van Uc » - nos sites d'étude) dans le **golfe du Tonkin**, qui correspond au bras nord-ouest de la mer de Chine méridionale (Fig. 11). Le golfe du Tonkin, qui se situe entre le Vietnam et la Chine, est fermé à l'Est par la péninsule de Leizhou et l'île Hainan. Il est assez peu profond dans son ensemble (< 60 m) et accueil notamment la baie d'Hạlong, site inscrit au patrimoine mondial de l'UNESCO depuis 1994, située au Nord-Ouest près de Haïphong, 2ème plus grand port et 3ème plus grande ville du Vietnam.

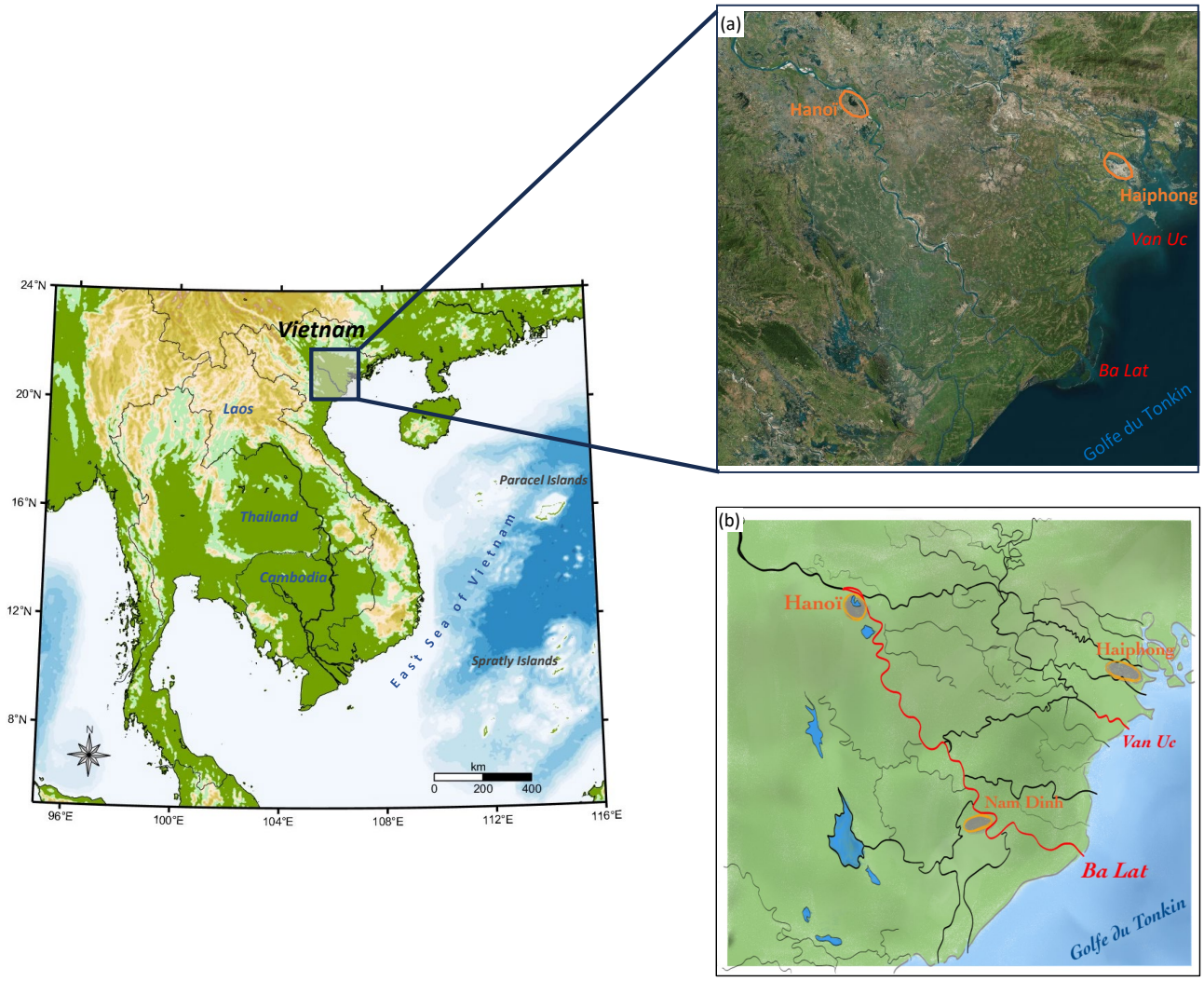



**Figure 11.** Image satellite (a) et dessin schématique du delta du fleuve Rouge (b), incluant les zones échantillonnées dans le cadre de cette thèse, *i.e.*, bras principal du fleuve Rouge (« Hanoï-Ba Lat ») et rivière/estuaire Van Uc (en rouge).

**Le bras principal du fleuve Rouge** regroupe 22.5% du débit total du delta, soit environ $32.5 \times 10^9$ m³ par an, et 22.3% de l'apport de sédiment au golfe du Tonkin, soit environ $7.8 \times 10^9$ t (Vinh et al., 2014). Le régime de débit est fortement impacté par les saisons des pluies et des sécheresses : la saison des crues (débit élevé) va de mai à octobre, avec des débits

maximaux généralement observés en juin-juillet, tandis que la saison de débit faible est plus longue et s'étend de novembre à mars. Cette répartition inégale des précipitations et des débits dans tout le bassin provoque des inondations et des engorgements d'eau pendant la saison des pluies et des pénuries d'eau pendant la saison sèche (Quach, 2011).

Le bras principal du fleuve Rouge traverse la ville de **Hanoï** (capitale du pays) et rejoint la mer (golfe du Tonkin) par **l'estuaire de Ba Lat** (Fig. 11). Ce bras principal est le siège d'activités industrielles et agricoles majeurs du delta. Premièrement, avec plus de 8.5 millions d'habitants, Hanoï représente l'une des deux plus grandes économies du Vietnam, et est l'une des villes à la croissance la plus rapide et les plus densément peuplées d'Asie du Sud-Est. Ces dernières décennies, Hanoï a connu une croissance démographique substantielle, une expansion urbaine, un développement industriel et une augmentation du nombre de véhicules sur ses routes (Ly et al., 2018; Hien et al., 2020). La circulation routière, le brûlage à ciel ouvert de biomasse, la combustion de charbon et les activités industrielles ont été identifiés comme des sources importantes de polluants atmosphériques dans la ville (Cohen et al., 2010; Hien et al., 2021; Dominutti et al., 2024). Hanoï possède également plusieurs stations d'épuration qui traitent une grande partie des eaux usées de la ville avant leur déversement dans le fleuve Rouge. Cependant, la capacité de ces stations est souvent insuffisante par rapport au volume des effluents générés par la population et les industries de la ville. D'autre part, plusieurs zones industrielles entourant Hanoï, dont celles de Thang Long et de Bac Thang Long, abritent diverses industries, notamment des usines de production de textiles, de produits chimiques et de transformation alimentaire. Dans les zones rurales autour de Hanoï, notamment dans des villages comme Bat Trang, la production de briques et de céramiques est réalisée dans des fours qui brûlent la plupart du temps du charbon, du bois, ou d'autres combustibles fossiles. Ces fours traditionnels émettent non seulement des particules fines, mais aussi des polluants organiques volatils qui peuvent être transportés dans le fleuve *via* les précipitations.

Après avoir traversé Hanoï, le bras principal du fleuve Rouge (« Hanoï-Ba Lat ») continu sa route au travers de plaines majoritairement agricoles avant d'arriver à la ville de Nam Dinh, à 50 km de l'embouchure. Malgré le caractère moins peuplé de cette section du fleuve, les zones semi-industrielles et artisanales ainsi que les incendies agricoles restent des sources régulières de pollution. A partir de Nam Dinh, connue pour son industrie du textile, le fleuve Rouge commence à être influencé par les intrusions d'eau de mer et les cycles des marées (diurnes) jusqu'à son arrivé en mer (estuaire de Ba Lat).

**La rivière Van Uc** correspond au 3ème bras du fleuve Rouge, en termes de débit d'eau (14.5% du débit total du système vers le golfe du Tonkin, soit environ 17.7 × $10^9$ $m^3$ par an) et d'apports de sédiments (14.4% soit 5.1 × $10^6$ t par an) (Vinh et al., 2014). Elle est située à l'est du bras principal, au sud-ouest de la péninsule de Do Son, proche de la ville de Haiphong (Fig. 11). **L'estuaire de la rivière Van Uc** est un environnement côtier dynamique, essentiel pour la transition entre les eaux douces du delta du fleuve Rouge et les eaux marines du golfe du Tonkin. L'estuaire comporte un chenal profond (10-12 m) et étroit (20-30 m), avec un fond s'élevant vers les berges. Fortement impacté par les activités agricoles, aquacoles et industrielles qui l'entourent, en plus de recevoir une partie des eaux du delta, l'estuaire est également influencé par les variations saisonnières marquées du système de moussons subtropicales d'Asie du Sud-Est et par les marées diurnes qui dominent la région. L'extension du panache du fleuve Rouge dans le golfe du Tonkin présente une forte variabilité saisonnière, influencée à la fois par le débit du fleuve, mais aussi par les régimes de vents et de marées. En hiver, le panache est étroit et colle la plupart du temps la côte en raison du courant descendant et du vent de nord-est, tandis qu'en été, le vent de mousson du sud-ouest fait s'écouler le panache au large (Nguyen-Duy et al., 2021).

Le delta du fleuve Rouge est caractérisé par deux saisons distinctes : la saison des pluies de mai à octobre et la saison sèche de novembre à avril de l'année suivante. Pendant la saison des pluies, les vents soufflant du sud-sud-est apportent des masses d'air humide dans le bassin, entraînant des températures élevées et de fortes précipitations; pendant la saison sèche, la circulation atmosphérique s'inverse en direction du nord-est, apportant des masses d'air sec dans le bassin, induisant un temps plus frais et peu de pluie. Les précipitations annuelles varient de 1 200 à 4 800 mm $an^{-1}$, présentant les valeurs les plus élevées pendant la saison des pluies, de mai à septembre, tandis que les précipitations les plus faibles se situent entre décembre et février pendant la saison sèche. Environ 80% des précipitations ont lieu pendant la saison des pluies, et les valeurs les plus élevées sont généralement mesurées en juillet (Quach, 2011).

La région du delta du fleuve Rouge – golfe du Tonkin est donc représentative d'un système fluvial-côtier d'Asie du Sud-Est fortement influencé par le climat de mousson subtropicale, l'hydrodynamique marine côtière et les activités humaines. Même si quelques travaux ont été réalisés ces dernières années sur l'impact du BC dans la baie d'Halong (Mari et al., 2017, 2019; Benavides et al., 2019) ou sur les flux de carbone organique dans le fleuve Rouge (Le et al., 2017; Nguyen et al., 2018), la distribution, les flux, et la réactivité du DBC

dans la région du delta du fleuve Rouge – golfe du Tonkin n'ont pas été investigués jusqu'à présent.

### 2.1.3. Bras principal du fleuve rouge (Hanoï-Ba Lat)

**Stratégie d'échantillonnage.** Un transect de ~200 km correspondant au bras principal du fleuve Rouge reliant la ville de Hanoï à l'estuaire de Ba Lat a été échantillonné 3 fois, en mars, juin et septembre 2023 à bord d'un bateau navette du port de Do Son. Ces trois périodes de prélèvement ont permis de couvrir la variabilité saisonnière : mars en saison sèche, juin au début de la saison humide et des premières pluies, et septembre à la fin de la saison humide (juillet et aout étant, en général, les mois les plus pluvieux de l'année). Le long de ce transect, 20 stations ont été échantillonnées sur un maillage régulier de 10 km, la première station étant située à ~4 km en amont de Hanoï, et la dernière station à l'embouchure de l'estuaire de Ba Lat (Fig. 11). Les prélèvements ont été effectués au milieu du fleuve pour s'éloigner de l'effet de berge, à 2 profondeurs : 1 et 5 m.

**Protocoles de prélèvement et de filtration.** Les échantillons d'eau ont été prélevés à 1 et 5 m à l'aide d'un échantillonneur d'eau Limnos (Fig. 10b) équipé de 2 bouteilles en verre SCHOTT® de 1 L pré-calcinées. L'échantillonneur, fixé à une corde métrée et lesté, était immergé dans l'eau manuellement en position fermé à partir du pont tribord du bateau. Une fois l'échantillonneur et les bouteilles arrivés à la profondeur requise, le messager était déployé pour impacter l'échantillonneur, libérer des tubulures et ainsi permettre le remplissage des bouteilles. Une fois celles-ci remplies, le système était remonté à bord. L'eau collectée était transférée dans des bouteilles en plastique DEPH, préalablement lavées en laboratoire avec de l'eau ultra-pure, puis avec l'échantillon. En plus des prélèvements d'eau, des mesures de température et salinité ont été réalisées à l'aide d'une CTD Casteway (Fig. 10d). Le pH et la concentration en oxygène dissous ($O_2$) ont été déterminés à l'aide d'une sonde multiparamétrique Aqualabo® (Fig. 10d) (transfert d'une partie de l'échantillon dans le cache de la sonde, mesure acquise après 5 min de stabilisation).

Le reste de l'échantillon d'eau (entre 500 mL et 1 L) a été filtré à bord à travers des filtres GF/F Whatman (47 mm de diamètre) pré-calcinés (500 °C, 6 h) et pré-pesés, en utilisant un système de filtration en polysulfone et une pompe à vide manuelle. L'eau filtrée sur GF/F a été transférée dans sa bouteille DEPH d'origine, et conservée à bord à l'obscurité et au frais.

De retour au laboratoire, cette eau filtrée a été sous échantillonnée. Une partie a été transférée dans des bouteilles en verre (Schott®) de 500 mL pré-calcinées avec bouchons doublés d'une pastille téflon et stockées à -20 °C à l'obscurité pour les analyses de DBC. Une autre partie a été transférée dans des tubes en verre de 20 mL pré-calcinés avec bouchons doublés de téflon et stockée à 4 °C pour les analyses de DOC (avec ajout de 20 µL de $H_2SO_4$ 95%), CDOM et FDOM.

### 2.1.4. Fleuve et estuaire Van Uc

**Stratégie d'échantillonnage.** Deux campagnes de prélèvements et mesures ont été conduites en mars et novembre 2023 dans la rivière et l'estuaire Van Uc à bord du même bateau navette que celui utilisé pour les campagnes du fleuve Rouge. Des échantillons ont été collectés dans la rivière Van Uc, le long du gradient de salinité, ainsi que dans l'estuaire. Les deux périodes couvertes, bien que toutes deux situées en saison sèche, présentaient des caractères saisonniers différents : mars, avant la saison des pluies, et novembre, fin des dernières pluies et début de la saison sèche suivante. La stratégie d'échantillonnage de la première campagne était centrée sur les gradients de salinité. La rivière Van Uc a été échantillonnée jusqu'à 20 km en amont de l'embouchure à 2 reprises : en période de marée descendante et en période de marée montante. Une station fixe a également été réalisée pendant 24 h à l'embouchure de la rivière pour saisir l'intrusion du front de salinité entrant à marée montante. Enfin, plusieurs stations ont été échantillonnées dans le panache de la rivière. La deuxième campagne présentait davantage de stations marines et moins de stations de faible salinité. Lors de cette campagne, l'objectif était de couvrir une zone plus large, et d'explorer le gradient côte-large de la qualité de la DOM.

**Protocoles de prélèvement et de filtration.** Les profondeurs d'échantillonnage, les protocoles de prélèvement et de filtration des échantillons, ainsi que de mesures des paramètres physico-chimiques réalisés sur le site Van Uc étaient les mêmes que ceux décrits plus haut pour le bras principal du fleuve Rouge (section 2.1.3).

## 2.2. Travail expérimental de laboratoire

### 2.2.1. Préparation et caractérisation des propriétés optiques des solutions de DOM_BC

Plusieurs solutions de DOM_BC ont été préparées en vue de la caractérisation de leurs propriétés optiques (voir Chapitre 3). Plusieurs litres d'eau de mer ont été collectés en janvier et mars 2021 à bord du N/O *Antédon 2* à une profondeur de 10 m à la station d'observation SOLEMIO dans la baie de Marseille (43°14.3'N, 5°17.3'E) à l'aide d'une pompe Téflon ASTI (modèle PFD2) installée à bord et connectée à un tube en Téflon immergé. L'eau de mer ramenée à bord a ensuite été filtrée en ligne à travers un filtre GF/F pré-calciné de 142 mm (Whatman®) en utilisant un porte-filtre en Téflon. De retour au laboratoire, cette eau a été immédiatement filtrée et sous-échantillonnée pour les mesures optiques et analyses de DBC et DOC (voir section 2.3, section 2.4 et section 2.5.1).

Des solutions de DOM_BC ont été préparées à partir des matériaux suivants (Tableau 1) :

1) Le Matériau de Référence Certifié (CRM) « particules de diesel » (DPM; NIST 2975, Sigma-Aldrich), qui est une norme de référence pour les particules d'échappement diesel générées par un chariot élévateur industriel alimenté au diesel (Singh et al., 2010; Farahani et al., 2021), appelé dans le Chapitre 3 DPM-1_3. Ce matériel a également été utilisé pour la préparation de la DOM_BC nommé $D_{REF}$ dans le Chapitre 6 (voir section 2.2.2) et Diesel dans la Chapitre 7 (voir section 2.2.3). Le DPM a été utilisé tel quel (DPM-1 et DPM-2) et après oxydation sous ozone (DPM-3) à l'aide d'un générateur SOG-1 (UVPA97, Analytik Jena) (Martinot et al., 2023).

2) Deux matériaux de char-BC lignocellulosiques, à savoir le char-BC de bois et le char-BC végétal, préparés à partir de la combustion (450 °C, sous atmosphère d'azote) de bois de châtaignier (*Castanea sativa*) et de paille de riz (*Oryza sativa*), respectivement, fournis par le Département de Géographie de l'Université de Zurich, Suisse (Dr. M. Schmidt; https://www.geo.uzh.ch/en/units/2b/Services/BC-material/) (Hammes et al., 2008; Kaal et al., 2012). Le char-BC de bois (châtaignier) et le char-BC végétal (riz) sont appelés ci-après CH-1 et CH-2.

3) Le CRM « poussière urbaine » (urban dust, UD, NIST 1649B, Sigma-Aldrich), appelé ci-après UD-1_2.

4) Des échantillons environnementaux collectés en 2020 et 2021 en France (suie de navire du port de Marseille : SS-1), en Allemagne (suie de navire du port de Hambourg : SS-2_8), et au Vietnam avec de la suie de navire du port de Haiphong (SS-9_10) et des particules atmosphériques ($PM_{2.5}$ et bulk) de la ville de Hanoi (UD-3_5).

Ces particules de BC (standards et échantillons naturels) ont été introduites de 3.3 à 240 mg, selon leur hydrophobicité, dans des volumes d'eau de mer filtrée sur 0.2 µm de 150 à 1000 mL contenue dans des bouteilles en verre (Tableau 1).

En plus de l'eau de mer, le DPM et l'UD ont également été préparés dans de l'eau ultra-pure (DPM-2 et UD-1, respectivement), tandis que le DPM oxydé a été préparé uniquement dans de l'eau ultra-pure (DPM-3). Pour reproduire des conditions de dissolution du BC similaires à celles pouvant se produire dans les eaux de surface, les solutions ont été placées sur une table d'agitation (140 tr/min; Tableau 1). Seul l'échantillon SS-1, qui a été collecté directement à l'intérieur de la cheminée du navire, a nécessité l'utilisation d'un bain à ultrasons pour la dissolution des particules. Après 24 h d'agitation, les solutions de BC ont été filtrées à travers des filtres GF/F de 47 mm pré-calcinés et pré-pesés puis sur des filtres en polycarbonate (PC) de 0.2 µm, ou directement à travers des filtres PC de 0.2 µm (Tableau 1).

En raison de la présence potentielle de PAHs dissous (d-PAHs) dans la DOM_BC, un standard de PAH a été préparé et inclus lors des analyses PARAFAC pour aider à identifier les fluorophores présents dans ces solutions. Le phénanthrène (Phe) a été sélectionné car 1) il a déjà été trouvé dans les solutions de DPM et de SS (Martinot et al., 2023), 2) c'est l'un des d-PAHs LMW les plus abondants trouvés dans les eaux côtières, les eaux impactées par le trafic maritime et les eaux portuaires (Guigue et al., 2011; Zaghden et al., 2022), et 3) il présente une signature de fluorescence bien définie et une forte capacité de fluorescence (Ferretto et al., 2014).

Les solutions de Phe ont été préparées à partir d'un standard de Phe acheté chez Sigma-Aldrich (> 98%) (Tableau 1). Une solution mère (50 mg $L^{-1}$) a été préparée en solubilisant le solide pur dans du méthanol (qualité HPLC, Rathburn). À partir de la solution mère, des solutions individuelles avec des concentrations finales en Phe comprises entre 1 et 50 µg $L^{-1}$ ont été préparées dans de l'eau ultra-pure (Tableau 1). La quantité de méthanol dans ces solutions de Phe était toujours inférieure à 0.1% du volume total de la solution afin d'éviter un effet de cosolvant (Wang et al., 2015).

**Tableau 1.** Protocole pour la préparation des solutions de DOM dérivée des particules de BC (DOM_BC), DOM d'origine terrestre (DOM_TER), DOM d'origine marine (DOM_MAR), et du standard de phénanthrène (Phe) (Martinot et al., 2024).

| | Abbr. | Type de materiel | Type de solvant | Volume (mL) | Particules (mg) | Solubilisation | Filtration |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **DOM_BC** | DPM-1 | DPM (NIST2975, Sigma-Aldrich) | Eau de mer filtrée (0.2 µm) | 1000 | 201.6 | Bouteille en verre, table d'agitation (140 rpm) pendant 24 h, T° ambiante | Filtre GF/F (0.7 µm) puis filtre 0.2 µm |
| | DPM-2 | | Eau ultra-pure | | 201.4 | | |
| | DPM-3 | DPM oxydé (NIST2975, Sigma-Aldrich) | | 200 | 30 | | |
| | CH-1 | Charbon de bois (chestnut) | Eau de mer filtrée (0.2 µm) | | 100 | | |
| | CH-2 | Charbon de végétaux (rice) | | | 100 | | |
| | UD-1 | Poussière urbaine (NIST 1649B, Sigma-Aldrich) | Eau ultra-pure | 1000 | 104.3 | | |
| | UD-2 | | Eau de mer filtrée (0.2 µm) | | 103.7 | | |
| | UD-3 | Poussière urbaine Hanoi $PM_{2.5}$ 2020 | | | 135.1 | | |
| | UD-4 | Poussière urbaine Hanoi Bulk 2020 | | | 240 | | |
| | UD-5 | Poussière urbaine Hanoi $PM_{2.5}$ 2021 | | 150 | 30.7 | | Filtre 0.2 µm |
| | SS-1 | Suie de bateau *Antedon* (France) | | 300 | Collecté sur filtre GF/F | Bain ultrasons (1h) | |
| | SS-2 | Suie de bateau *WSA* (Allemagne) | | 150 | 32.6 | Bouteille en verre, table d'agitation (140 rpm) pendant 24 h, T° ambiante | Filtre GF/F (0.7 µm) puis filtre 0.2 µm |
| | SS-3 | | | | 26.5 | | |
| | SS-4 | | | | 42 | | |
| | SS-5 | | | | 35.3 | | |
| | SS-6 | | | | 33.6 | | |
| | SS-7 | Suie de bateau *DG3* (Allemagne) | | | 32.8 | | |
| | SS-8 | Suie de bateau *Meteor* (Allemagne) | | | 3.3 | | |
| | SS-9 | Suie de bateau Cargo (Vietnam) | | | 30.9 | | Filtre 0.2 µm |
| | SS-10 | | | | 31.4 | | |
| **DOM_TER** | HS-1 | Substances humiques (SRNOM, #2R101N, IHSS) | Eau ultra-pure | 500 | 50 | | |
| | HS-2 | | Eau de mer filtrée (0.2 µm) | | 51.1 | | Filtre GF/F (0.7 µm) puis filtre 0.2 µm |
| **DOM_MAR** | Phyto | Culture de *in vitro Dunaliella Tertiolecta* | | NA | NA | NA | |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **d-PAH** | Phe | Phénanthrène (Sigma-Aldrich) | | 130 | 50 | Solution mère dans méthanol, dilution dans l'eau ultra-pure | Filtre 0.2 µm |

Les solutions de DOM terrestre (DOM_TER) ont été préparées dans de l'eau ultra-pure (HS-1) et de l'eau de mer filtrée sur 0.2 µm (HS-2) à partir d'environ 50 mg de matière organique naturelle de la rivière Suwannee (SRNOM, #2R101N; International Humic Substance Society-IHSS), en suivant le même protocole que pour les solutions de DOM_BC (Tableau 1). Le SRNOM a été obtenu à partir de 36 890 L d'eau de rivière filtrée, concentrée 40 fois sur le terrain par osmose inverse, dessalée par échange de cations, lyophilisée et homogénéisée. Il contient un mélange hétérogène complexe de substances humiques mais aussi non humiques (Green et al., 2015).

Les solutions de DOM marine (DOM_MAR) ont été préparées à partir d'une culture de phytoplancton de l'algue verte halotolérante unicellulaire *Dunaliella Tertiolecta* (Phyto) (Tableau 1). Pour cette étude, un milieu de culture spécifique a été développé en utilisant de l'eau de mer naturelle et des sels nutritifs, sans ajout d'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) ni de vitamines, ces derniers étant des substrats carbonés pouvant fournir du DOC en concentrations élevées. La dynamique de croissance de la souche non axénique de *D. Tertiolecta* cultivée dans le milieu de culture sans EDTA ni vitamines a été suivie pendant 5 mois par des mesures régulières de la chlorophylle *a* (Chla) et des concentrations de DOC. Une fois la concentration de DOC ayant atteint le niveau souhaité (~280 µM), la culture a été filtrée à travers GF/F puis 0.2 µm (filtres PC, abondamment rincés à l'eau ultra-pure), et considérée comme la solution DOM_MAR contenant des composés organiques provenant uniquement des activités phytoplanctoniques et bactériennes (Tableau 1).

Pour toutes les solutions de DOM (DOM_BC, DOM_TER, DOM_MAR), les filtrats GF/F et 0.2 µm ont été sous-échantillonnés pour des mesures de fluorescence, d'absorbance et de DOC (voir section 2.4 et section 2.5.1). En ce qui concerne la mesure des concentrations en DBC par la méthode BPCA, seuls les filtrats de 0.2 µm des solutions de DOM_BC ont été utilisés. Toutes les solutions et filtrats ont été stockés à 4 °C à l'obscurité jusqu'à leur analyse (voir section 2.3).

**Traitement statistiques.** A partir de toutes les solutions préparées, un premier jeu de donnée a été définit, comprenant toutes les solutions de DOM_BC, ainsi que les solutions de

DOM_TER et DOM_MAR (Tableau 1). Sur ce premier jeu de données, une analyse en composantes principales (PCA) et une analyse de classement hiérarchique (HCA) ont été effectuées, basées sur une matrice de corrélation de Pearson. Un second jeu de données a également été définit, exploité et traité avec une modélisation PARAFAC (voir section 2.4.4). Il incluait uniquement les solutions de DOM_BC préparées avec la suie de navire (SS) et les particules de diesel (DPM), les solutions individuelles de Phe (Tableau 1), et les solutions SS et DPM enrichies en Phe. Le test de Student (t-test) a été appliqué pour comparer les moyennes entre deux groupes. Le seuil de signification a été fixé à $p < 0.05$ pour toutes les analyses et tests effectués. Tous les traitements statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel XLSTAT 2023.1.3.1407.

### 2.2.2. Expérience de biodégradation de la DOM_BC et du DBC

**Collecte d'eau de mer et filtration.** Pour réaliser l'expérience de biodégradation de la DOM_BC présentée dans le Chapitre 6, de l'eau de mer a été collectée et filtrée pour préparer 1) des solutions de DOM naturelle (eau de mer filtrée sur 0.2 µm), 2) des solutions stock de DOM_BC (fabriquées à partir du mélange de divers matériaux de BC avec de l'eau de mer filtrée sur 0.2 µm), et 3) l'assemblage procaryotique naturel, c'est-à-dire un inoculum bactérien concentré (fabriqué à partir d'eau de mer filtrée sur 0.8 µm). L'eau de mer a été prélevée à une profondeur de 5 m à la station SOLEMIO (baie de Marseille).

Pour les solutions de DOM naturelle et les solutions stock de DOM_BC, 60 L d'eau de mer ont été collectés à bord du N/O *Antédon 2* le 5 mai 2021 (Fig. 12) à l'aide d'une pompe pneumatique en téflon ASTI. L'eau de mer a été pompée à bord dans des tubes en téflon, et filtrée en ligne à travers un filtre GF/F pré-calciné de 142 mm (Whatman®). L'eau de mer filtrée sur GF/F a été stockée dans trois bouteilles en polycarbonate de 20 L (Nalgene®) pré-nettoyées, rincées trois fois avec de l'eau de mer avant remplissage. De retour au laboratoire, cette eau de mer a été transférée dans 12 bouteilles en verre de 5 L (Schott®) pré-calcinées (Fig. 12). La concentration en DOC de l'eau de mer filtrée sur GF/F était de 80 µM (Annexe 1).

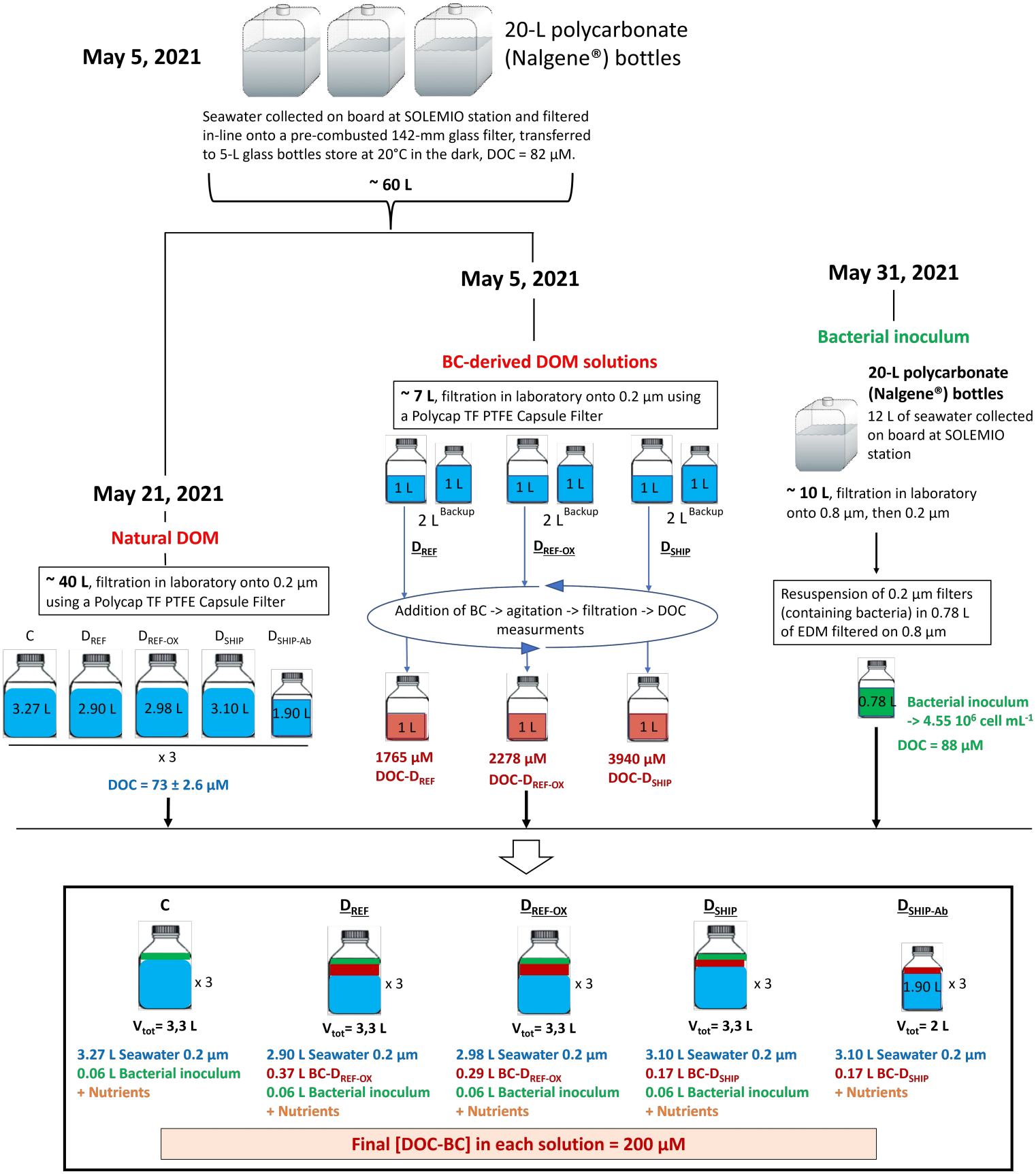



**Figure 12.** Schéma résumant la préparation des différentes solutions utilisées pour mener l'expérience de biodégradation de la matière organique dissoute dérivée du Black Carbon (DOM_BC) par des procaryotes hétérotrophes marins, c'est-à-dire la DOM naturelle, les solutions mères de DOM_BC, et les solutions d'incubation pour les 5 traitements en triplicata (15 bouteilles d'incubation) : C (contrôle), DREF (diesel), DREF-OX (diesel oxydé), DSHIP (suie

de bateau collectée dans le port de Haiphong, Vietnam) et $D_{SHIP-Ab}$ (condition « abiotique » avec suie de bateau) (Martinot et al., 2023).

Environ 7 L de cette eau de mer filtrée sur GF/F ont été utilisés pour préparer les solutions stock de DOM_BC en filtrant immédiatement sur 0.2 µm à l'aide d'un filtre capsule en PTFE Polycap TF (0.2 µm, 1000 $cm^2$, Whatman®) monté en ligne sur une pompe péristaltique avec des tubes en silicone pour la circulation de l'eau (Fig. 12). L'ensemble de filtration a été soigneusement rincé avec 20 L d'eau ultra-pure, puis rincé avec 1 L d'eau de mer filtrée sur GF/F avant de recueillir 6 L d'eau de mer filtrée sur 0.2 µm dans des bouteilles en verre pré-calcinées. Cette eau de mer filtrée sur 0.2 µm, dont la concentration en DOC était de 82 µM (Annexe 1), a été utilisée pour préparer les solutions stock de DOM_BC (Fig. 12) et a été stockée à 4 °C dans l'obscurité avant utilisation.

Environ 53 L de cette eau de mer filtrée sur GF/F ont été utilisés pour préparer la DOM naturelle. Cette eau de mer a été conservée au laboratoire dans des bouteilles en verre de 5 L pendant environ deux semaines à 20 °C à l'obscurité pour être légèrement « vieillie » afin de réduire les niveaux de fond de DOC dans l'eau (Nyholm et Kristensen, 1992; Wennberg et al., 2022). Les bouteilles ont été ouvertes et agitées à intervalles réguliers.

Le 21 mai 2021, environ 40 L de cette eau de mer filtrée sur GF/F ont été filtrés sur 0.2 µm à travers le filtre capsule en PTFE Polycap TF comme décrit ci-dessus, Des sous-échantillons ont été prélevés pour la détermination des concentrations en DOC et en nutriments inorganiques. La concentration en DOC variait de 70 à 75 µM. La concentration en silicate [$Si(OH)_4$] variait de 5.2 à 6.8 µM. Les concentrations en nitrate ($NO_3^-$), nitrite ($NO_2^-$), ammonium ($NH_4^+$) et phosphate ($PO_4^{3-}$) étaient très faibles (< 0.04 µM) (Annexe 1).

L'eau de mer filtrée sur GF/F légèrement vieillie restante (~13 L) a également été filtrée sur 0.2 µm (le 25 mai 2021), mais dans des conditions stériles sous un faible vide (< 50 mm Hg) avec un filtre en PC de 0.2 µm (diamètre 47 mm, Nuclepore), soigneusement rincé avec de l'acide chlorhydrique (HCl) à 10%, de l'eau ultra-pure et de l'eau de mer avant utilisation, monté sur un système de filtration en polysulfone de 47 mm permettant de collecter le filtrat directement dans une bouteille en verre. Des conditions stériles ont été suivies en stérilisant tout l'équipement (système de filtration, bouteilles en verre, etc.) par autoclave et en travaillant autant que possible sous une hotte à flux laminaire. L'eau de mer filtrée sur 0.2 µm récupérée a été stockée dans trois bouteilles en verre pré-calcinées de 2 L (remplies à 1.90 L) et utilisée comme DOM naturelle pour le traitement sans ajout de l'inoculum bactérien (Fig. 12). Toutes

les bouteilles ont été stockées à 20 °C à l'obscurité quelques heures avant d'être utilisées pour préparer les solutions d'incubation et l'expérience de biodégradation.

Pour la préparation de l'inoculum bactérien concentré, 12 L d'eau de mer ont été collectés le 31 mai 2021 avec une bouteille GO-FLO et stockés dans une bouteille en PC de 20 L pré-nettoyée. De retour au laboratoire, 10 L de cette eau de mer ont été filtrés sous faible vide *via* une unité de filtration en verre de 47 mm sur des filtres en PC de 0.8 µm puis de 0.2 µm (Nuclepore) qui avaient été soigneusement rincés avant utilisation. Les filtres de 0.2 µm contenant l'assemblage procaryotique naturel ont été remis en suspension dans 780 mL d'eau de mer filtrée sur 0.8 µm stockée dans une bouteille en verre de 1 L pré-calcinée (Fig. 12). Des mesures de cytométrie ont permis de s'assurer d'une concentration suffisante de procaryotes marins dans la solution (4.55 $10^6$ cellules $mL^{-1}$) pour réaliser l'expérience de biodégradation. La concentration en DOC dans cette solution était de 88 µM (Annexe 1). L'inoculum bactérien concentré a été stocké pendant quelques heures à 20 °C à l'obscurité avant d'être utilisé pour préparer les solutions d'incubation et pour l'expérience de biodégradation.

**Préparation des solutions de DOM_BC.** Trois types différents de matériel BC ont été utilisés pour cette expérience de biodégradation. 1) du matériel standard « Diesel particulate matter » (DPM, aussi utilisé en Chapitre 3 et Chapitre 7; NIST 2975, Sigma-Aldrich, présenté en section 2.2.1) appelé « $D_{REF}$ » dans le Chapitre 6. 2) Le DPM oxydé, également présenté en section 2.2.1, ci-après désignée sous le nom de « $D_{REF-OX}$ ». 3) De la suie collectée en février 2021 dans la cheminée d'un navire marchand (longueur : 140 m, largeur : 25 m, capacité de charge : 22 000 tonnes) fonctionnant au fioul lourd (HFO) qui était amarré dans le port de Haiphong, le principal port maritime du nord du Vietnam. Cette suie est ci-après désignée sous le nom de « $D_{SHIP}$ » (Fig. 12).

Pour obtenir les concentrations de DOC souhaitées dans les solutions stock de DOM_BC, des quantités relativement importantes de particules de $D_{REF}$ et de $D_{REF-OX}$ (qui sont des matériaux fortement hydrophobes) ont été progressivement ajoutées à l'eau de mer filtrée sur 0.2 µm préalablement préparée. Entre 243 et 783 mg de particules de $D_{REF}$ et entre 204 et 500 mg de particules de $D_{REF-OX}$ ont été introduits dans leurs bouteilles en verre respectives de 2 L, et les solutions ont été placées dans un bain à ultrasons pendant environ 3 h pour solubiliser les particules. Les solutions solubilisées ont ensuite été filtrées sur GF/F pré-calciné de 47 mm. La concentration en DOC a été mesurée sur ces solutions filtrées sur GF/F. La procédure (ajout de particules, bain à ultrasons, filtration, mesure de DOC) a été répétée quatre fois pour les particules de $D_{REF}$ et trois fois pour les particules de $D_{REF-OX}$ afin d'atteindre les concentrations

de DOC ciblées (voir ci-dessous). Au total, 2326 mg de particules de $D_{REF}$ et 1287 mg de particules de $D_{REF\text{-}OX}$ ont été introduits dans 1 L d'eau de mer filtrée sur 0.2 µm (Annexe 2). Les particules $D_{SHIP}$, beaucoup plus solubles dans l'eau que les particules de $D_{REF}$ et $D_{REF\text{-}OX}$, ont été introduites en une seule fois (713 mg) (Annexe 2). Les trois solutions filtrées sur GF/F ont finalement été filtrées sur 0.2 µm pour fournir les solutions stock de DOM_BC de 1 L pour les trois matériaux ($D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$, $D_{SHIP}$). Ces solutions stock ont été préparées le 18 mai 2021 (Fig. 12).

Dans ces solutions stock de DOM_BC, les concentrations en DOC liées à l'ajout de BC étaient de 1763, 2276 et 3938 µM pour les matériaux $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ et $D_{SHIP}$, respectivement. Les concentrations de nutriments inorganiques dans ces trois solutions sont rapportées dans l'Annexe 1. Les solutions ont été stockées pendant quelques heures à 20 °C à l'obscurité avant d'être utilisées pour préparer les solutions d'incubation et pour l'expérience de biodégradation.

**Préparation des solutions d'incubation et de l'expérience de biodégradation.** Cinq traitements ont été préparés et incubés pendant 90 jours en triplicata (ce qui donne 15 bouteilles d'incubation) : quatre conditions biotiques (avec présence de l'inoculum bactérien) et une condition « abiotique » (sans l'inoculum bactérien). Les quatre conditions biotiques étaient les traitements $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ et $D_{SHIP}$ (= solution de DOM naturelle + solution stock de DOM_BC provenant de $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ ou $D_{SHIP}$ + inoculum bactérien), ainsi qu'un traitement témoin (« C ») sans ajout de DOM_BC (= solution de DOM naturelle + inoculum bactérien) (Fig. 12). La condition abiotique était $D_{SHIP\text{-}Ab}$ : traitement $D_{SHIP}$ sans l'inoculum bactérien (= solution de DOM naturelle + solution stock de DOM_BC provenant de $D_{SHIP}$).

Les solutions d'incubation ont été préparées le 1er juin 2021 dans des bouteilles en verre de 5 L pré-calcinées (pour les traitements C, $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ et $D_{SHIP}$) ou dans des bouteilles en verre de 2 L (pour le traitement $D_{SHIP\text{-}Ab}$), contenant la DOM naturelle à des volumes de 2900–3270 mL (pour C, $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ , $D_{SHIP}$) ou 1900 mL (pour $D_{SHIP\text{-}Ab}$) (Tableau 2). Les solutions stock de DOM_BC ont été ajoutées à des volumes de 100–370 mL. Ensuite, 60 mL de la solution d'inoculum bactérien concentré ont été ajoutés à chaque bouteille d'incubation pour les traitements C, $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ et $D_{SHIP}$, et des solutions stock de $NO_3^-$ et $PO_4^{3-}$ ont été ajoutées à des volumes de 0 à 1 mL. Les volumes finaux totaux des solutions d'incubation étaient d'environ 3330 mL pour les traitements C, $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ et $D_{SHIP}$, et 2000 mL pour $D_{SHIP\text{-}Ab}$ (Fig. 12; Tableau 2). Les bouteilles d'incubation ont été doucement agitées pendant quelques

minutes pour bien mélanger les solutions. Des concentrations finales d'environ 200 µM de DOC dérivé du BC (DOC_BC) et d'environ 270 µM de DOC total (c'est-à-dire DOC_BC + DOC dérivé de la DOM naturelle + DOC dérivé de l'inoculum bactérien) ont été obtenues pour les traitements DREF, DREF-OX et DSHIP, et 73 µM de DOC pour le traitement C. Ces concentrations finales de 200 µM de DOC_BC dans les solutions d'incubation étaient conformes aux concentrations de DOC mesurées dans les eaux marines côtières impactées par les apports atmosphériques et fluviaux de BC, *i.e.*, jusqu'à 133 µM de DOC dans les eaux de surface et jusqu'à 279 µM de DOC dans la microcouche de surface de la baie d'Halong, Vietnam (Mari et al., 2017). Du $NO_3^-$ et du $PO_4^{3-}$ ont été ajoutés aux solutions d'incubation pour éviter une limitation en nutriments inorganiques pendant l'incubation de 90 jours. Les concentrations finales théoriques de DOC et de nutriments inorganiques dissous dans les solutions d'incubation sont rapportées dans l'Annexe 3.

**Tableau 2.** Volumes (en mL) des différentes solutions ajoutées (DOM naturelle, solutions mères de DOM_BC, inoculum bactérien, solutions mères de $NO_3^-$ et $PO_4^{3-}$) pour la préparation des solutions d'incubation utilisées pour réaliser l'expérience de 90 jours de biodégradation de DOM_BC par des procaryotes hétérotrophes marins sous 5 traitements en triplicata (3 bouteilles) : C (contrôle), DREF (diesel), DREF-OX (diesel oxydé), DSHIP (suie de bateau) et DSHIP-Ab (suie de bateau « abiotique ») (Martinot et al., 2023).

| | C | DREF | DREF-OX | DSHIP | DSHIP-Ab |
|---|---|---|---|---|---|
| Natural DOM | 3270 | 2900 | 2980 | 3100 | 1900 |
| DOM_BC stock solutions | 0 | 370 | 290 | 170 | 100 |
| Bacterial inoculum | 60 | 60 | 60 | 60 | 0 |
| $NO_3^-$ stock solution (39 mM) | 1 | 0.5 | 0.6 | 0.8 | 0.5 |
| $PO_4^{3-}$ stock solution (5.7 mM) | 1 | 0 | 0.5 | 0.9 | 0.5 |
| Total vol. of incubation solutions | 3332 | 3331 | 3331 | 3332 | 2000 |

Une fois les solutions d'incubation bien mélangées, le premier point d'échantillonnage a été effectué (T0; le 1er juin 2021), après quoi les solutions C, DREF, DREF-OX et DSHIP (dans des bouteilles de 5 L) ont été transférées dans des bouteilles en verre ambrée de 2.5 L pré-calcinées. L'incubation a été réalisée pendant 90 j dans l'obscurité dans une salle thermostatée à 20 °C, avec les 15 bouteilles ouvertes et secouées à intervalles réguliers. Les points d'échantillonnage ont été réalisés aux 1er (T1), 2ème (T2), 3ème (T3), 7ème (T4), 30ème (T5) et 90ème jours (T6; le 31 août 2021) pour déterminer les principaux paramètres chimiques et microbiologiques (Annexe 4, Annexe 5). Une partie de cette eau échantillonnée a été immédiatement filtrée sous un faible vide à travers des filtres GF/F pour les analyses de DOC, de l'azote organique dissous (DON), du phosphore organique dissous (DOP), de la CDOM, de la FDOM, du DBC, des d-PAHs, et

des nutriments inorganiques dissous, ou à travers des filtres seringue en polyesthersulfone de 0.2 µm pré-nettoyés (SUPOR Acrodisc) dans une salle blanche de classe ISO-5 pour des analyses ultérieures des éléments traces dissous (d-TM) (voir section 2.3, section 2.4 et section 2.5.1). Des aliquotes ont également été prélevées sans filtration pour des analyses/mesures de l'abondance bactérienne (BA), de la production bactérienne (BP), de la respiration bactérienne (BR) et de l'abondance des nanoflagellés hétérotrophes (voir section 2.5.2) (Annexe 4, Annexe 5).

### 2.2.3. Expérience de quenching de fluorescence de la DOM_BC

**Préparation des solutions de DOM_BC et de DOM terrestre et marine.** Pour les besoins des expériences de quenching de fluorescence présentées dans le Chapitre 7, deux solutions mères de DOM_BC ont été préparées à partir 1) du standard DPM (présenté en section 2.2.1 et aussi utilisé en Chapitre 3 et Chapitre 6) appelé « Diesel » dans le Chapitre 7 et 2) un échantillon naturel de particules atmosphériques de type $PM_{2.5}$ collecté en 2020 à Hanoï (présenté en section 2.2.1 et aussi utilisé en Chapitre 3) appelé « Hanoï dust » dans le Chapitre 7. Des solutions de DOM terrestre et marine ont également été préparées afin de comparer le pouvoir d'association du DBC à celui de la DOM naturelle vis-à-vis des d-PAHs. Les solutions de DOM terrestre ont été préparées dans l'eau de mer et dans l'eau ultra-pure à partir de substances humiques standards de type Suwannee River Natural Organic (présentées en section 2.2.1 et également utilisé dans le Chapitre 3). La solution mère de DOM marine provient de la culture phytoplanctonique de l'algue verte unicellulaire halotolérante *Dunaliella Tertiolecta*, présentée en section 2.2.1. La préparation de toutes ces solutions a suivi le protocole présenté en section 2.2.1 (Tableau 1).

**Expériences de quenching de fluorescence.** Au total, 5 expériences de quenching de fluorescence ont été mises en œuvre pour déterminer le pouvoir d'association de la DOM_BC et de la DOM naturelle vis-à-vis de deux PAHs d'intérêt : 1) le **phénanthrène (Phe, $C_{14}H_{10}$)**, composé de 3 noyaux benzéniques et d'origine pétrogénique, qui est l'un des PAHs les plus abondants dans la phase dissoute de l'eau de mer (Berrojalbiz et al., 2011; Guigue

et al., 2014), et 2) le **benzo(a)pyrène (BaP, $C_{20}H_{12}$)**, composé à 5 noyaux benzéniques et d'origine pyrogénique, qui est l'un des PAHs les plus toxiques pour le biota.

Le quenching, ou extinction de fluorescence, fait référence à tout processus entrainant la diminution de l'intensité de fluorescence d'un fluorophore. Dans le cadre de ce travail, nous avons étudié le quenching statique résultant de la formation, à l'état fondamental, d'un complexe stable non-fluorescent entre la DOM et les d-PAHs, observé *via* la diminution de l'intensité de fluorescence des PAHs avec l'ajout croissant de DBC/DOM (Fig. 13).

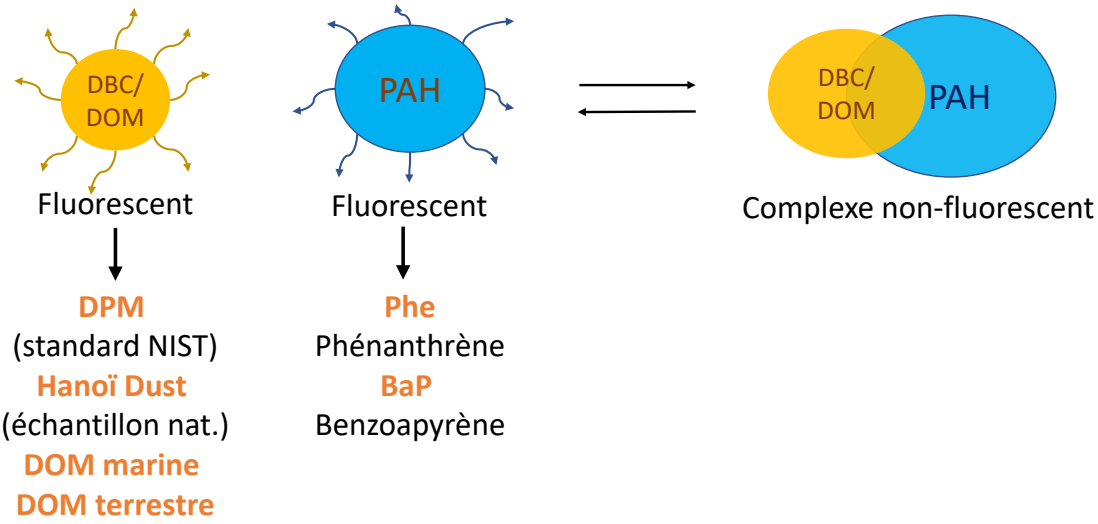



**Figure 13.** Schéma conceptuel du phénomène de quenching (extinction) de fluorescence lors de la formation d'un complexe DOM-PAH à l'état fondamental (non-fluorescent).

Les expériences de quenching ont été réalisées pour deux solutions de DBC : le DPM et le HD (dans l'eau de mer), ainsi que les deux solutions de DOM terrestre (SH-MQ et SH-EDM) et la solution de DOM marine. Pour ces cinq expériences, les solutions mères de DOM ont été diluées dans l'eau de mer filtrée sur 0.2 µm (et dans l'eau ultra-pure pour la SH-MQ) pour obtenir une gamme de solutions de DBC/DOM de concentrations en DOC allant de 0.5 à 4, 8, 10 ou 12 mg C $L^{-1}$, en fonction du type de solution. Ces différentes solutions ont été ensuite introduites dans des tubes en verre ambré de 4 mL (145 à 180 tubes par expérience), conservés à 4 °C à l'obscurité avant utilisation (Fig. 14). En parallèle, pour chaque PAH, des dilutions ont été effectuées à partir de la solution mère (faite dans du méthanol) pour obtenir des solutions de concentrations allant de 100 à 5000 µg $L^{-1}$ (dans un volume de 100 mL avec 10% de méthanol), conservées à 4 °C à l'obscurité avant utilisation. Pour réaliser les cinétiques concentrations, 40 µL de chaque solution de PAH ont été introduits dans les 4 mL de solution de DOM, permettant d'obtenir ainsi des concentrations finales en PAHs de 1 à 50 µg $L^{-1}$ dans

les solutions de DOM (dans 0.1% de méthanol) (Peuravuori et al., 2002). De cette manière, trois types de série d'échantillons ont été préparées pour chaque expérience de quenching : 1) des séries contenant des concentrations croissantes de DOM, 2) des séries contenant des concentrations croissantes de PAHs, et 3) des séries contenant une concentration fixe de PAHs et une concentration croissante de DOM. Les tubes ont été ensuite agités au Vortex pendant 30 s puis placés sur la table d'agitation (110 rpm) pendant 24 h à l'obscurité pour établir l'équilibre moléculaire entre la DOM et le PAH (Pan et al., 2007).

Une fois l'équilibre moléculaire atteint, des mesures de fluorescence (MEEFs) et d'absorbance ont été réalisées sur tous les échantillons, puis une modélisation PARAFAC a été appliquée sur l'ensemble des MEEFs corrigées (voir section 2.4).

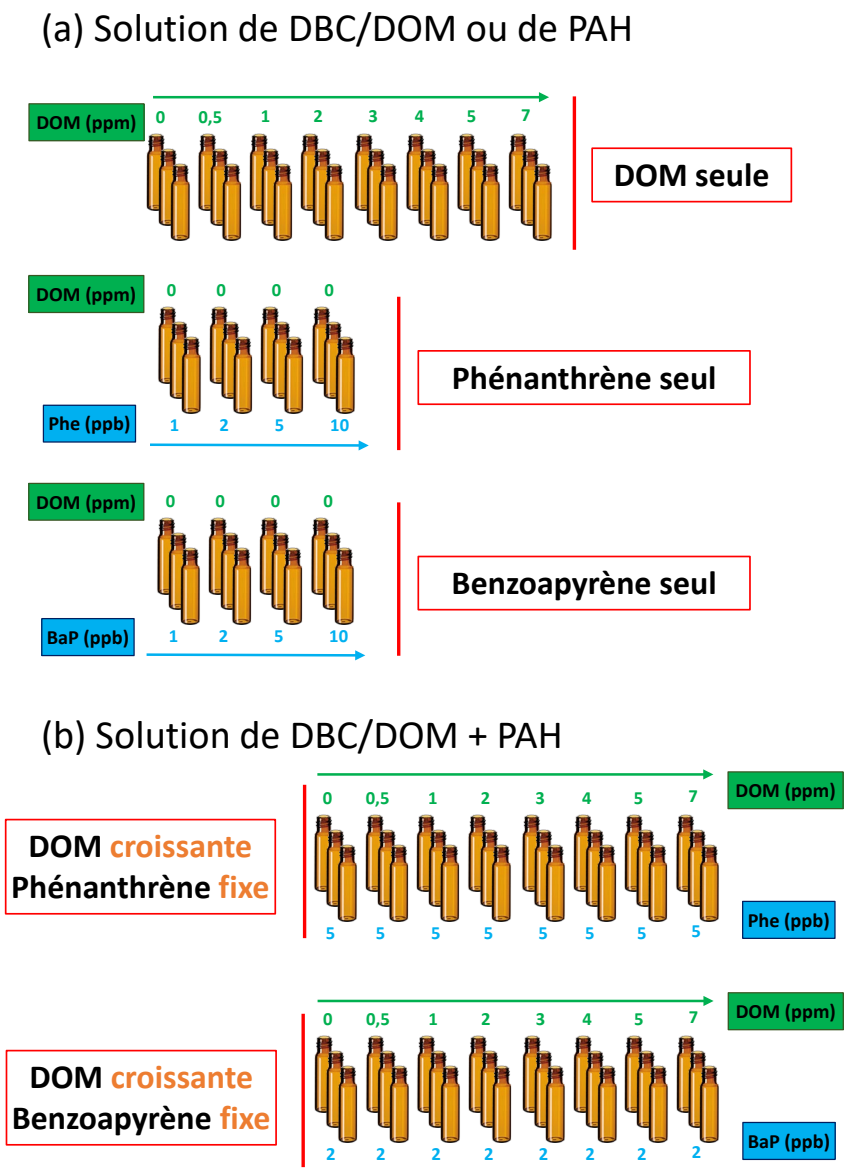



**Figure 14.** Schéma résumant la préparation des différentes séries d'échantillons pour chaque expérience de quenching de fluorescence.

**Détermination des coefficients de partage $K_{DOC}$.** A partir des fluorophores mis en évidence par les modèles PARAFAC appliqués aux échantillons issus des expériences de quenching de fluorescence, nous avons utilisé deux méthodes pour la détermination des coefficients de partage $K_{DOC}$ entre le DBC/la DOM et les deux PAHs. La première repose sur l'équation (1) de Stern-Volmer (Gauthier et Sham, 1986), qui traduit la diminution de l'intensité de fluorescence d'un fluorophore (dans notre cas le Phe et le BaP) par l'ajout d'un quencher (le DBC/la DOM) selon la formule suivante :

$$\frac{F_0}{F} = K_{DOC} \times [DOC] + 1 \qquad (1)$$

où $F_0$ et $F$ sont les intensités de fluorescence des fluorophores de type Phe ou BaP issues du PARAFAC (en QSU), respectivement en absence et en présence de DOM, et [DOC] la concentration en DOC de la DOM (en mg C $L^{-1}$). Ainsi, la valeur de $K_{DOC}$ (exprimée généralement en L kg $C^{-1}$) est la valeur de la pente de cette droite. Cette équation suppose qu'il n'y a que du quenching statique (par formation de complexe non-fluorescent à l'état fondamental) entre le DBC, la DOM et les PAHs, et que le quenching dynamique (désactivation du fluorophore à l'état excité) est négligeable, ce qui est vérifié par la linéarité de la relation entre $F_0$ / F et [DOC] (Lakowicz, 2006).

La seconde méthode utilisée pour la détermination des $K_{DOC}$ est celle du bilan de masse proposée par Hur et Schlautman (Hur et al., 2014). Les $K_{DOC}$ ont été calculés en utilisant la formule suivante :

$$K_{DOC} = \frac{[HAP - DOC]}{[DOC][PAH]_{libre}} \qquad (2)$$

où [DOC] est la concentration en DOC de la DOM (en mg C $L^{-1}$), $[PAH]_{libre}$ la concentration du Phe ou du BaP libre (non-complexé) (en µg $L^{-1}$), déterminée dans les échantillons par calibrage externe de l'intensité de fluorescence du PAH individuel en fonction de sa concentration dans l'eau de mer, et [HAP-DOC] la concentration du Phe ou du BaP complexée à la DOM (en µg $L^{-1}$), déterminée en retirant $[HAP]_{libre}$ à la concentration en PAH individuel totale introduite dans l'échantillon (en µg $L^{-1}$).

## 2.3. Analyse du DBC par la méthode BPCAs

### 2.3.1. Principe de la méthode et évolution des formules

Trois méthodes principales sont actuellement employées pour le dosage du DBC dans l'eau : 1) l'analyse des acides benzene-polycarboxyliques (BPCAs), 2) l'oxydation thermochimique (CTO) et 3) la spectrométrie de masse à ultra-haute résolution (FT-ICR-MS). Dans le cadre de cette thèse, les concentrations en DBC ont été déterminées par l'analyse des BPCAs par chromatographie en phase liquide à haute performance couplée à la détection par barrette de diodes (HPLC-DAD) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS). La méthode BPCAs a initialement été développée pour mesurer le BC dans les sols (Glaser et al., 1998), puis adaptée pour quantifier le DBC dans l'eau (Dittmar, 2008; Ziolkowski et al., 2011). Bien que cette méthode ait été développée pour l'étude du carbone aromatique condensé pyrogénique, son utilisation s'est étendue aux classes de carbone aromatique condensé non pyrogénique, telles que celles présentes dans le pétrole brut et les fractions d'asphaltènes (Goranov et al., 2021; Podgorski et al., 2021).

La méthode de Dittmar (2008) repose sur l'oxydation par l'acide nitrique ($HNO_3$) des formes aromatiques polycondensées constitutives du DBC à partir de DOM extraite par extraction en phase solide (SPE). La structure la plus probable du DBC étant des molécules à 7 cycles, montrant divers degrés de fonctionnalisation, et contenant en moyenne 33.4 atomes de carbone. Dans cette méthode, le DBC est donc définit comme la portion aromatique condensée du DOC qui passe à travers un filtre (généralement de 0.2 à 0.7 µm de taille de pores) et est détectable en tant que marqueurs moléculaires BPCA après oxydation à l'$HNO_3$. L'oxydation des molécules de DBC produit un mélange de BPCAs substitués, dont des acides benzéniques tri- (B3CAs), tétra- (B4CAs), penta- (B5CA) et hexa-carboxyliques (B6CA) (Dittmar, 2008; Ziolkowski et al., 2011). Lorsque ces molécules à 7 cycles sont oxydées par l'$HNO_3$, elles produisent en moyenne, pour chacune d'elles, un seul B6CA, un seul B5CA, ou un B3CA et un B4CA (Fig. 15).

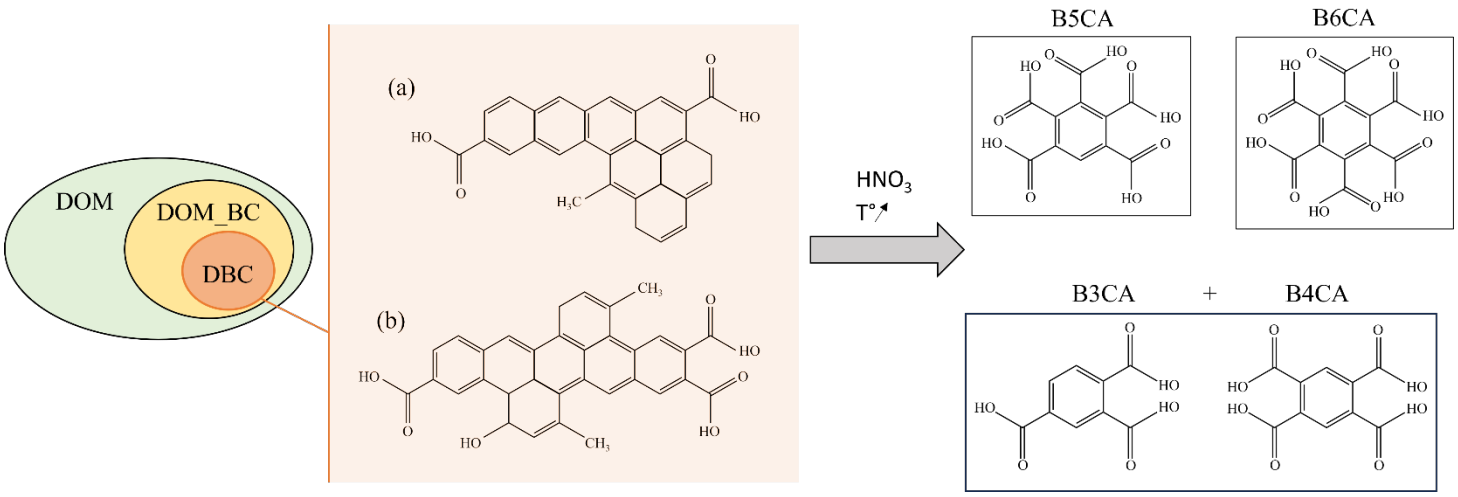



**Figure 15.** Principe de l'oxydation des molécules de black carbon dissous (DBC) en acides benzene-polycarboxyliques (BPCAs). Le DBC constitue une partie de la matière organique dissoute (DOM). Les deux exemples de structures moléculaires possibles de DBC présentées (a, b) ont été proposés par Dittmar et Koch (2006). Lorsque les molécules de DBC sont oxydées à l'acide nitrique ($HNO_3$) à température élevée, elles produisent des BPCAs.

En supposant une efficacité de réaction de 100% pour la production de BPCAs à partir de ces molécules à 7 cycles de DBC, la concentration de DBC dans l'eau de mer (en nM ou µM de C) peut être estimée à partir des concentrations individuelles de BPCAs (nM ou µM) selon la formule suivante (Dittmar, 2008; Stubbins et al., 2015; Yamashita et al., 2022) :

$$[DBC] = 33.4 \left( [B6CA] + [B5CA] + 0.5\,[B4CA] + 0.5\,[B3CA] \right) \quad (3)$$

Néanmoins, il a été démontré que l'oxydation des échantillons non pyrogéniques produisait des BPCAs moins substitués (B3CAs et B4CAs), potentiellement *via* des réactions de carbonisation lors de l'oxydation de grandes quantités de OC (> 5 mg-OC par 2 mL d'$HNO_3$) (Kappenberg et al., 2016). Également, la présence de B3CA et B4CA libres dans le milieu naturel détectés en concentrations significatives pourrait entrainer une surestimation des concentrations en BPCAs produit par l'oxydation (Barton et al., 2024). Pour ces raisons, une formule intégrant uniquement les B5CA et B6CA est aujourd'hui privilégiée :

$$[DBC] = 0.0891 \left( [B6CA + B5CA] \right)^{0.9175} \quad (4)$$

Il est important de noter que la méthode BPCA détecte les produits de l'oxydation moléculaire (et non les structures natives de DBC) (Fig. 10), qui ne représentent qu'une fraction

du carbone aromatique condensé présent dans l'échantillon original. Les facteurs de conversion actuels pour traduire les concentrations de BPCAs en concentrations de DBC sont basés sur les modèles d'oxydation des standards de PAHs (Ziolkowski et al., 2011) et les données de FT-ICR-MS (Dittmar, 2008). Bien que les modèles d'oxydation ne soient pas totalement prévisibles, les structures aromatiques condensées plus grandes tendent à produire des BPCAs de plus grande taille. Il est important de noter que les processus biotiques comme la biodégradation (Martinot et al., 2023) et abiotiques comme la photodégradation (Stubbins et al., 2012) peuvent affecter non seulement la concentration, mais aussi la structure moléculaire du DBC, en modifiant à la fois sa qualité et son degré de condensation aromatique. Ces transformations entraînent ainsi une variation de l'abondance relative des BPCAs déterminés par chromatographie.

Grâce à la méthode BPCA, il est possible de calculer des ratios moléculaires tels que B6CA/B5CA et B6CA+B5CA/B3CA+B4CA+B5CA+B6CA (B6CA+B5CA/all), fournissant des informations sur la proportion des structures aromatiques condensées au sein du pool de BPCAs mesurés. Des ratios BPCAs élevés reflètent un degré de condensation aromatique plus important des molécules de DBC originelles, ce qui correspond à une plus grande complexité structurelle en termes de nombre et d'organisation des cycles aromatiques. Ces informations sont particulièrement précieuses pour l'étude du cycle du DBC, car un degré de condensation aromatique élevé est souvent associé à du matériel pyrogénique formé à des températures plus grandes (Fig. 6). Cette complexité structurelle accrue confère au DBC une plus grande stabilité chimique, le rendant potentiellement plus résistant aux processus biotiques et abiotiques, ce qui pourrait prolonger son temps de résidence dans le milieu marin. D'autre part, la variabilité spatiale et/ou temporelle de ces ratios peut être reliée à une diversité de sources de DBC et/ou suggérer la présence de processus biotique et abiotique qui modifient localement le degré de condensation aromatique du DBC.

### 2.3.2. Extraction en phase solide (SPE)

La première étape du protocole est l'extraction en phase solide (SPE) des échantillons d'eau. La SPE est une technique sélective de préparation, pré-concentration et purification d'échantillons avant analyse chromatographique. Les échantillons d'eau filtrée sur GF/F sont tout d'abord acidifiés à pH 2 pour protoner les molécules de la DOM et permettre leur adsorption efficace sur la résine conditionnée de la cartouche SPE. Les bouteilles contenant les échantillons ont été pesées et leur poids exact notés.

Les cartouches de SPE utilisées dans ce protocole étaient les cartouches Agilent Bond Elut PPL (1 g, 6 mL). Celles-ci sont remplies de résine polymère styrène-divinylbenzène qui doit d'abord être conditionnée pour permettre l'extraction de la DOM à partir de l'eau filtrée. Le conditionnement des cartouches s'est fait en 5 étapes :

1) Rinçage de la cartouche avec 5 mL de méthanol de qualité analytique.
2) Remplissage de la cartouche avec 5 mL de méthanol, fermeture de la cartouche et conservation en l'état au moins 12 h.

A ce stade, les cartouches pouvaient être conservées au réfrigérateur pendant plusieurs semaines avant utilisation.

3) Rinçage (2 fois) de la cartouche avec 5 mL de méthanol et vidage complet de la cartouche en injectant de l'air à la seringue.
4) Rinçage (2 fois) de la cartouche avec 5mL d'eau ultra-pure et vidage complet de la cartouche en injectant de l'air à la seringue.
5) Rinçage (2 fois) de la cartouche avec 5 mL d'eau ultra-pure préalablement acidifiée à pH 2.

Une fois les cartouches conditionnées, la SPE des échantillons filtrés et acidifiés pouvait être mise en place tel qu'illustré en Fig. 16. Chaque cartouche était étiquetée en cohérence avec l'échantillon associé.

Le passage de l'échantillon dans le tube était amorcé à l'aide d'une seringue, permettant le rinçage du tube avant d'être connecté à la cartouche. Lorsque l'intégralité de l'échantillon était passé sur la cartouche, celle-ci était rincée deux fois avec 5 mL d'eau ultra-pure acidifiée (pH 2) pour permettre l'élimination du sel retenu par les résines (Fig. 16a). L'eau restante dans la cartouche était purgée délicatement à l'aide d'une seringue, et les cartouches étaient positionnées sous une hotte aspirante et séchées à l'azote. Les bouteilles d'échantillon vides étaient à nouveau pesées et leur poids noté pour s'assurer du volume exact concerné par l'extraction. Une fois les cartouches entièrement sèches, elles étaient repositionnées sur leur portoir pour procéder à l'extraction de la DOM retenue par les résines (Fig. 16b).

Des tubes ambrés de 9 mL propres, étiquetés et pré-pesés étaient placés sous les cartouches avant de procéder à l'élution. Cinq mL puis 4 mL de méthanol étaient ajoutés progressivement dans la cartouche et collectés dans le tube correspondant. Une seringue d'aire était utilisée pour purger délicatement la cartouche et s'assurer que tout son contenu s'était déversé dans le tube (Fig. 16b). Les tubes pleins étaient pesés.

L'extrait méthanol obtenu était ensuite aliquoté pour les analyses de SPE_DOC (0.5 g) et de SPE_FDOM (0.2-0.5 g) à l'aide d'une pipette pasteur. L'ajout de chaque aliquote dans de nouveaux tubes propres et étiquetés s'est fait sur une balance de laboratoire pour s'assurer du volume prélevé.

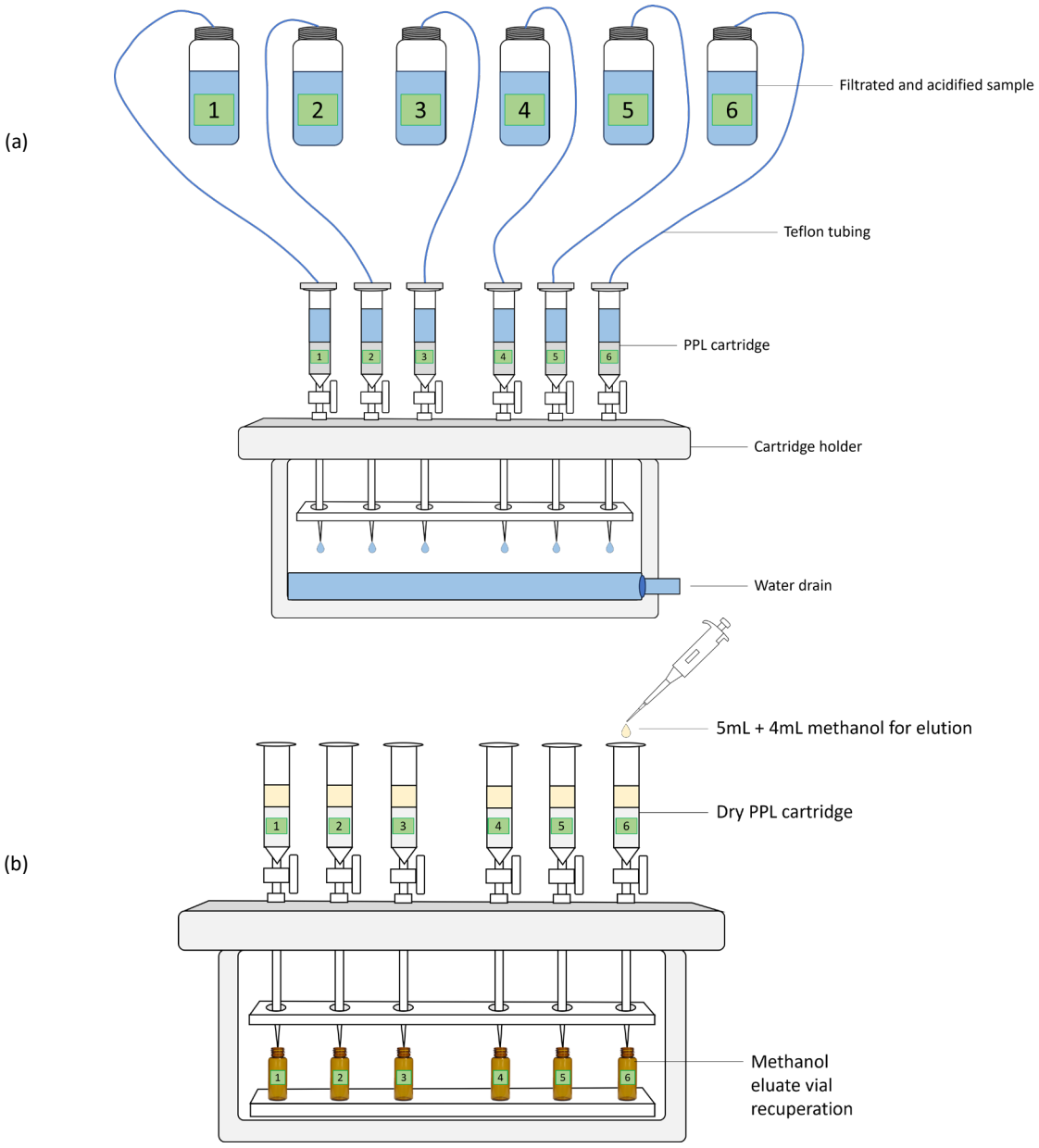



**Figure 16.** Représentation schématique de la procédure SPE utilisée sur les échantillons d'eau filtrée sur GF/F pour les analyses de DBC : passage des échantillons (filtrés et acidifiés) sur cartouche PPL (a) et élution des cartouches au méthanol (b).

### 2.3.3. Production des BPCAs et quantification par GC-MS et HPLC-DAD

**Digestion/oxydation de l'extrait pour la production des BPCAs.** Le restant de l'extrait méthanol était réduit en volume puis introduit dans une ampoule en verre de 5 mL, où il y était évaporé à sec. Un volume de 0.5 mL d'$HNO_3$ (70%, redistillé, Sigma) était ajouté dans l'ampoule, puis celle-ci était scellée et placée dans un réacteur de minéralisation DAB-3-250 mL en inox muni d'un insert PTFE de 250 mL pouvant accueillir 7 ampoules. L'évaporation de l'échantillon et l'acidification du résidu étaient réalisés sous une hotte aspirante pour protéger le manipulateur des vapeurs nitreuses. Cinq mL d'eau étaient ajoutés dans l'insert afin que l'ampoule n'explose pas pendant l'étape d'oxydation. Le réacteur était ensuite placé dans une étuve à 170 °C pendant 6 h (Fig. 15). Après refroidissement total du réacteur, ce dernier était ouvert sous hotte aspirante. L'ampoule était ensuite refroidie quelques minutes à -18 °C, afin de recondenser les vapeurs, puis ouverte.

**Dérivatisation des BPCAs pour analyse par GC-MS.** Concernant les échantillons collectés en Méditerranée Nord Occidental, les extraits oxydés (contenant les BPCAs) étaient repris dans quelques centaines de mL de méthanol. Un standard interne de quantification, l'acide biphényle -2,2'- dicarboxylique (BCA, Sigma) était alors ajouté (100 µL d'une solution à 10 µg $mL^{-1}$ dans le méthanol) ainsi que du réactif de dérivatisation (réaction de méthyl estérification), le triméthylsilyl-diazométhane dans l'hexane [$(CH_3)_3SiCHN_2$, Sigma], pour produire des méthyl-esters de BPCAs (Me-BPCAs) (Fig. 17).

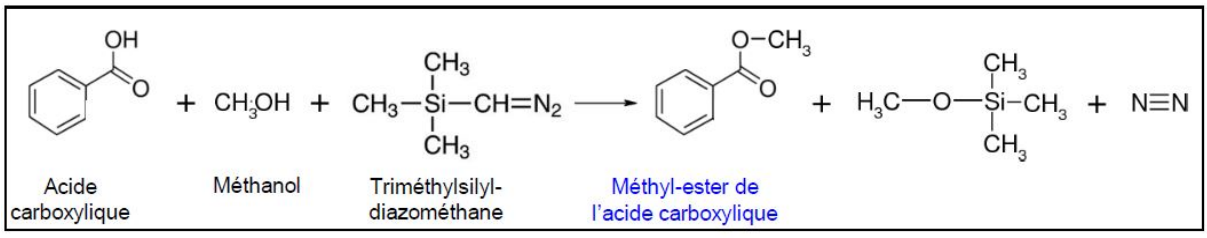



**Figure 17.** Schéma réalisé par Tedetti (2023) de la technique de dérivatisation (réaction de méthyl estérification) des acides carboxyliques en présence de méthanol et de triméthylsilyl-diazométhane [$(CH_3)_3SiCHN_2$] pour produire les méthyl-esters de BPCAs (Me-BPCAs) qui ont été analysés en GC-MS (Guigue et al.).

Cette étape de méthyl estérification des BPCAs permet de rendre ces derniers plus stables thermiquement, plus hydrophobes et plus volatils, assurant ainsi leur détection par GC-MS. Une

fois la dérivatisation achevée, les échantillons étaient évaporés à sec, repris dans 1 mL de dichlorométhane puis injectés en GC-MS (Guigue et al.).

**Injection en GC-MS.** Les Me-BPCAs ont été analysés au MIO-Marseille par GC-MS (Trace-ISQ GC ultra) équipée d'une colonne DB-5MS Ultra Inert. Les températures de l'injecteur, de la ligne de transfert et de la source étaient de 250, 300 et 250 °C, respectivement. Le débit du gaz vecteur (hélium) était de 1.2 mL $min^{-1}$. La programmation de température du four était la suivante : 60 °C pendant 1 min puis 290 °C (avec une rampe de 10 °C $min^{-1}$) pendant 10 min (Zhong et al., 2019). L'identification des Me-BPCAs était confirmée par le temps de rétention et la mesure en mode Single Ion Monitoring (SIM) des composés. La quantification était basée sur la réponse des Me-BPCAs par rapport à la réponse et à la quantité de standard interne de BCA introduite. Une fois les concentrations des BPCAs déterminées, nous avons appliqués la formule (3) ou (4) en fonction des études pour estimer la concentration en DBC dans les échantillons d'eau (eau douce et eau de mer).

**Injection en HPLC-DAD.** Concernant les échantillons collectés au Vietnam, les extraits méthanol oxydés (contenant les BPCAs) étaient d'abord évaporés à sec puis repris dans 500 µL de phase mobile A préparée à partir de tetrabutylammonium bromide (4 mM), d'hydrogénophosphate de potassium (5 mM) et de phosphate de monopotassium (5 mM) dans de l'eau ultra-pure. Les échantillons étaient ensuite analysés (sans étape de dérivatisation) à l'USTH-Hanoï par HPLC équipé d'un détecteur à diodes array (HPLC-DAD, Ultimate 3000, ThermoScientific, USA) et d'une colonne XBridge C18 selon le protocole de Dittmar (2008). Le volume d'injection était de 50 µL et le débit de 0.18 mL $min^{-1}$. Les paramètres chromatographiques et les gradients de mélange des phases mobiles sont présentés en Tableaux 3 et 4, respectivement. Les BPCAs ont été identifiés en fonction du temps de rétention et des spectres d'absorbance (220–380 nm), et quantifiés à l'aide du signal d'absorbance à 240 nm (Dittmar, 2008). Une fois les concentrations des BPCAs déterminées, nous appliquions la formule (4) pour estimer la concentration en DBC dans les échantillons d'eau de mer.

**Tableau 3.** Paramètres chromatographiques utilisés pour la mesure par HPLC-DAD des BPCAs réalisées à l'USTH dans les échantillons d'eau collectés dans le delta du fleuve Rouge.

| Paramètres | Réglages |
|---|---|
| Colonne | XBridge C18 3.5 µm 2.1x150 mm |
| Phase mobile A | - Tetrabutylammonium brimide 4 mM<br>- Phosphate de monopotassium 5 mM<br>- Hydrogénophosphate de potassium 5 mM |

| | |
|---|---|
| Phase mobile B | Méthanol |
| Débit | 0.18 mL $min^{-1}$ |
| Température colonne | 16 °C |
| Volume d'injection | 50 µL |
| Identification | Retention time et absorbance spectra (220-380 nm) |
| Quantification | Absorption at 240 nm |
| Gamme de calibration | 5-500 µM |

**Tableau 4.** Gradients de mélange de la phase mobile appliqués pour la mesure par HPLC-DAD des BPCAs réalisées à l'USTH dans les échantillons d'eau collectés dans le delta du fleuve Rouge.

| Temps (min) | Volume de phase mobile B (%) |
|---|---|
| 0 | 20 |
| 5 | 20 |
| 55 | 30 |
| 57 | 80 |
| 62 | 80 |
| 64 | 20 |
| 75 | 20 |

# 2.4. Analyses optiques et traitement de données automatisé de la CDOM/FDOM

## 2.4.1. Analyses de fluorescence et d'absorbance

**Spectroscopie de fluorescence.** Les mesures de fluorescence de la DOM (FDOM) ont été réalisées avec un spectrofluorimètre (Hitachi F-7000 au MIO et Horiba Fluormax-4 à l'USTH / VNU), dont la lampe xénon à arc court de 150 W permet des mesures à des longueurs d'onde d'excitation ($\lambda_{Ex}$) et d'émission ($\lambda_{Em}$) de 200 à 700 nm, sélectionnées grâce à deux monochromateurs simples. Le signal lumineux est mesuré par deux tubes photomultiplicateurs (PMT), l'un utilisé comme détecteur de référence du rayonnement émis par la lampe, l'autre comme détecteur de la lumière de fluorescence émise par l'échantillon. Chaque mesure de fluorescence est enregistrée en mode ratio (signal détecteur échantillon / référence) permettant une correction instantanée des variations d'intensité (spectrale et temporelle) de la lampe.

Les principales mesures de fluorescence acquises dans le cadre de cette étude étaient des matrices d'excitation-émission de fluorescence (MEEFs), *i.e.*, des successions de spectres d'émission à différentes $\lambda_{Ex}$, aboutissant à la production d'une matrice d'intensités de fluorescence en fonction de $\lambda_{Ex}$ et $\lambda_{Em}$. Avant analyse, les échantillons étaient ramenés à température ambiante dans le noir puis transférés dans une cuve en quartz suprasil de 1 cm (170-2600 nm; HELLMA). Entre chaque analyse, la cuve était rincée successivement avec de l'eau ultra-pure, du méthanol et l'échantillon. Les MEEFs étaient générées sur une gamme de $\lambda_{Ex}$ de 200 à 500 nm pour le spectrofluorimètre Hitachi F-7000 (Marseille) et de 240 à 500 nm pour le spectrofluorimètre Fluoromax-4 (Hanoï) avec un pas de 5 nm, et sur une gamme de $\lambda_{Em}$ de 280 à 550 nm (Marseille) et de 290 à 550 nm (Hanoï) avec un pas de 2 nm. La vitesse de balayage utilisée était de 1200 nm $min^{-1}$, les largeurs de fentes de 5 nm, le temps d'intégration de 0.5 s (Tedetti et al., 2012; Martias et al., 2018). Avant chaque série d'échantillons, deux MEEFs d'eau ultra-pure (blancs) étaient effectuées, et l'intensité du pic de diffusion Raman de l'eau ultra-pure était enregistrée à $\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ = 275/303 nm. L'étalonnage de l'appareil a été réalisé à partir de solutions de quinine de sulfate de 0.2 à 50 µg $L^{-1}$ diluées dans du $H_2SO_4$ à 0.05 M.

**Spectroscopie d'absorbance.** Les mesures de spectre d'absorbance ont été effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre (Shimadzu UV-Vis 2450 au MIO et VWR UV-6300PC à l'USTH) pour déterminer les coefficients d'absorption de la DOM (CDOM) et permettre l'application des corrections de l'effet d'écran sur les mesures d'intensités de fluorescence. Les échantillons étaient ramenés à température ambiante dans le noir avant chaque analyse puis transférés dans la même cuve que celle utilisée pour les mesures de fluorescence. Les spectres d'absorbance étaient générés en mode simple faisceau, entre 200 et 800 nm avec un pas de 1 nm, une largeur de fente de 1 nm et une vitesse de balayage de 230 nm $min^{-1}$ (Ferretto et al., 2017; Tedetti et al., 2020). Avant chaque série d'analyse d'échantillons, une nouvelle ligne de base était mesurée par l'instrument (sans cuve), puis deux spectres d'absorbance étaient réalisés sur l'eau ultra-pure (blancs). La précision des mesures d'absorbance était > 97% sur la gamme 220-700 nm.

### 2.4.2. Traitement des données d'absorbance et de fluorescence

Les données d'absorbance et de fluorescence acquises ont été traitées selon la séquence suivante :

**Conversion des valeurs d'absorbance en coefficients d'absorption.** Toutes les valeurs d'absorbance [A(λ); sans unité] ont été corrigées par les blancs et la dérive potentielle de la ligne de base, puis converties en valeurs de coefficients d'absorption [a(λ); $m^{-1}$] selon la formule :

$$a(\lambda) = \frac{A(\lambda) \times 2.303}{L} \qquad (5)$$

où $L$ est la longueur du trajet optique (0.01 ou 0.1 m) qui dépend de la taille de la cuve utilisée (1 cm ou 10 cm) et 2.303 le facteur permettant la conversion de la valeur de $A(\lambda)$ de log décimal ($\log_{10}$) en log népérien ($\log_n$).

**Correction de l'effet d'écran.** Dans les milieux présentant une forte absorption en raison d'une concentration élevée en chromophores, le modèle de Beer-Lambert n'est plus respecté car l'augmentation de l'intensité de fluorescence n'est plus linéaire avec l'augmentation de la concentration en fluorophores, et tend à s'infléchir. L'effet d'écran représente donc ce phénomène d'inhibition (diminution) de l'intensité de fluorescence dû à une absorption élevée. Pour tenir compte de l'absorption à la fois du rayonnement d'excitation (effet d'écran primaire) et du rayonnement d'émission (effet d'écran secondaire), un facteur 0.5 est utilisé dans la correction, qui permet de prendre en compte les deux types d'absorption qui se produisent dans le trajet optique de la cuve. Ainsi, les intensités de fluorescence des échantillons ont été corrigées de l'effet d'écran en appliquant la formule (Ohno, 2002) :

$$I_{corr} = \frac{I}{10^{-b(a_{Ex}-a_{Em})}} \qquad (6)$$

où $I_{corr}$ est l'intensité de fluorescence corrigée de l'effet d'écran, $I$ l'intensité de fluorescence mesurée sur l'échantillon, $b$ la longueur du trajet optique de la cuve multipliée par le facteur 0.5, et $a_{Ex}$ et $a_{Em}$ respectivement les coefficients d'absorption aux $\lambda_{Ex}$ et $\lambda_{Em}$ de fluorescence de $I$.

**Correction par le blanc et conversion en unité quinine sulfate des intensités de fluorescence.** Les spectres moyens calculés à partir des différents spectres de fluorescence de l'eau ultra-pure (blancs), ont été soustraits à chaque série de spectres de fluorescence des échantillons. Ces intensités de fluorescence (corrigées) des échantillons ont été converties en unité quinine sulfate (QSU), où 1 QSU correspond à l'intensité de fluorescence de 1 µg $L^{-1}$ de quinine sulfate dans l'$H_2SO_4$ 0.05 M à $\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ = 350/450 nm. La conversion en QSU a été effectuée en divisant les valeurs de fluorescence (en unité relative) par la pente moyenne de l'équation de la régression linéaire de la droite de calibrage de la quinine de sulfate (Murphy et al., 2008). Les coefficients de détermination ($R^2$) des droites de calibration étaient > 0.96.

Dans le cadre de cette thèse, j'ai mis en place une procédure sous MATLAB® pour automatiser ces différentes étapes de traitement à partir des données brutes d'absorbance et de fluorescence (fichiers .txt des spectro-fluorimètre et -photomètre). Le développement de ces routines MATLAB a débuté en France, et le jeu de données acquis au cours de cette thèse, ainsi que l'utilisation de différents types de spectro-photomètres et -fluorimètres, ont permis de rendre la procédure plus largement applicable.

Cette automatisation présente un double intérêt : elle réduit considérablement le temps nécessaire aux corrections et élimine les erreurs humaines potentielles, assurant ainsi un traitement uniforme et cohérent des échantillons. Ces routines ont d'ailleurs déjà été diffusées auprès d'étudiants (français, vietnamiens, thaïlandais), qui ont été formés à leur utilisation, leur permettant de bénéficier de ce processus optimisé pour leurs propres analyses.

### 2.4.3. Détermination des indices d'absorbance et fluorescence

**Absorbance spécifique aux UV à 254 nm ($SUVA_{254}$).** Le $SUVA_{254}$ est un indicateur du degré d'aromaticité de la DOM (Weishaar et al., 2003; Ferretto et al., 2017).

Il est calculé en normalisant l'absorbance à 254 nm par la concentration en DOC (en mg $L^{-1}$). Le $SUVA_{254}$ est exprimé en L $m^{-1}$ $mg^{-1}$ et est souvent associé à la présence de substances humiques et autres composés aromatiques dans l'eau (qui absorbent fortement à 254 nm).

**Indice d'activité biologique (BIX).** Le BIX est un indicateur du niveau de fraîcheur de la DOM (Huguet et al., 2009). Il est calculé en divisant l'intensité de fluorescence à $\lambda_{Em}$ = 380 nm par l'intensité de fluorescence à $\lambda_{Em}$ = 430 nm, à $\lambda_{Ex}$ = 310 nm. Une valeur élevée de BIX indique une caractère « frais » de la DOM, caractéristique d'une activité biologique autochtone récente dans les échantillons.

**Indice d'humification (HIX).** Le HIX est utilisé pour quantifier le degré d'humification de la DOM (Ohno, 2002). Il est calculé en divisant l'intégrale des intensités de fluorescence entre $\lambda_{Em}$ 435 et 480 nm par l'intégrale des intensités de fluorescence entre $\lambda_{Em}$ 300 et 345 nm, à $\lambda_{Ex}$ = 254 nm. Le HIX est basé sur le principe que les spectres d'émission des molécules fluorescentes se déplacent vers des longueurs d'onde plus grandes au fur et à mesure que l'humification de la DOM progresse (en raison de rapports H:C plus faibles). Le HIX est par extension un indicateur de l'âge/du caractère réfractaire de la DOM, des valeurs élevées reflétant une DOM plus humifiée et vieillie (Ohno, 2002).

D'autres indices de fluorescence et d'absorbance ont été utilisés de façon ponctuelle pour des besoins spécifiques, et seront décrits plus longuement dans les parties concernées. Dans le cadre de ce doctorat, j'ai également mis en place une procédure sous MATLAB® pour automatiser le calcul de ces indices à partir des fichiers corrigés de fluorescence et d'absorbance.

### 2.4.4. Modélisation PARAFAC pour le traitement des MEEFs

L'analyse factorielle parallèle (PARAFAC) est une méthode multivariée largement employée pour étudier la fluorescence de la DOM (Stedmon et al., 2003). Le PARAFAC est basé sur un algorithme tri-linéaire utilisant la méthode itérative des moindres carrés pour séparer les signatures de fluorescence (pouvant être superposées) contenues dans des mélanges complexes, tels que les MEEFs. Il autorise ainsi l'identification des fluorophores les plus représentatifs présents au sein d'un jeu de données MEEFs (en fournissant leurs spectres d'excitation et d'émission individuels) et leur quantification au sein de chaque échantillon, en fournissant leur intensité de fluorescence dans chaque MEEF.

L'analyse PARAFAC souscrit à un certain nombre d'hypothèses/conditions (Stedmon et al., 2003; Stedmon et Bro, 2008; Murphy et al., 2013) : 1) Les fluorophores suivent la loi de Beer-Lambert, *i.e.*, leur intensité de fluorescence est proportionnelle à leur concentration. Ceci sous-entend qu'ils ne subissent pas d'effet d'écran. Dans nos données, l'effet d'écran a été éliminé à partir des mesures d'absorbance. 2) Chaque fluorophore est caractérisé par des spectres d'excitation et d'émission qui lui sont propres. Un fluorophore peut avoir plusieurs maxima d'excitation, mais un seul maximum d'émission. Par exemple, les bandes de diffusion de Raman et Rayleigh, qui ne sont pas considérées comme des fluorophores, ne sont pas modélisées avec le PARAFAC. Elles doivent donc être éliminées avant d'appliquer la procédure. Aussi, une variation de la concentration d'un fluorophore doit impliquer une modification de son intensité de fluorescence mais pas un changement de l'allure de ses spectres d'excitation et d'émission. 3) Il n'y a pas d'interaction entre les fluorophores, et la présence d'un fluorophore ne modifie pas les spectres d'excitation et d'émission des autres fluorophores. 4) Les échantillons (MEEFs) du jeu de données doivent être relativement homogènes en termes de composition en fluorophores et d'intensités de fluorescence. Par ailleurs, un nombre minimal de 20-30 MEEFs est requis pour réaliser un modèle PARAFAC robuste.

Pour appliquer PARAFAC, l'ensemble des MEEFs corrigées/converties en QSU sont importées séparément dans la routine DOMFluor toolbox v1.6 sous MATLAB® (Stedmon et Bro, 2008) puis transformées, par empilement, en un cube à trois dimensions défini par les $\lambda_{Ex}$, $\lambda_{Em}$ et le nombre de MEEFs. Ce cube est décrit par l'équation (7) où $x_{i,j,k}$ est l'intensité de fluorescence de l'échantillon $i$ mesurée à la longueur d'émission $j$ et à la longueur d'excitation $k$, $F$ le nombre de fluorophores présents dans chaque échantillon, les variables $a_{i,f}$, $b_{j,f}$ et $c_{k,f}$ respectivement le score (*i.e.*, l'estimation de la quantité) du fluorophore $f$ dans l'échantillon $i$, l'estimation de la charge du spectre d'émission du fluorophore $f$ à la longueur d'onde $j$, et l'estimation de la charge du spectre d'excitation du fluorophore $f$ à la longueur d'onde $k$, et $\varepsilon_{i,j,k}$ le résidu (erreur) de l'échantillon $i$ aux longueurs d'onde $j$ et $k$ (*i.e.*, variabilité non-expliquée par le modèle).

$$x_{i,j,k} = \sum_{f}^{F} a_{i,f} b_{j,f} c_{k,f} + \varepsilon_{i,j,k} \qquad \begin{matrix} i = 1,2,\dots,I \\ j = 1,2,\dots,J \\ k = 1,2,\dots,K \end{matrix} \qquad (7)$$

Les sorties du modèle sont les variables $a_{i,f}$, $b_{j,f}$ et $c_{k,f}$. Ainsi, le PARAFAC résout l'équation (7) en utilisant la méthode itérative des moindres carrés pour déterminer les valeurs des variables $a_{i,f}$, $b_{j,f}$ et $c_{k,f}$. En définissant *a priori* un nombre de fluorophores $F$, des itérations

successives vont permettre d'estimer la structure de chaque fluorophore en minimisant l'erreur résidus. La solution du modèle est trouvée quand l'algorithme atteint le minimum global.

Les différentes étapes de la procédure PARAFAC sont les suivantes : 1) Assemblage des MEEFs en cube de données et suppression des bandes de diffusion de Raman et Rayleigh d'ordre 1 et 2 dans chacune des MEEFs; 2) Exploration du jeu de données pour détecter la présence d'échantillons « atypiques » *via* l'inspection des résidus $\varepsilon$ (résidu = données – modèle) et le calcul du poids de chaque échantillon dans le modèle. Pendant cette étape d'exploration du jeu de données, la variance expliquée par les modèles initiaux est fournie (généralement > 97-98%); 3) Validation du modèle PARAFAC, en fonction du nombre de fluorophores définis par l'utilisateur, selon différents critères : la valeur (la plus faible possible) et la forme du résidu (doit-être du bruit et pas un fluorophore), la valeur de la variance expliquée (la plus élevée possible), la cohérence des spectres d'excitation et d'émission des fluorophores proposés, la validation de la « *split-half analysis* « (séparation du jeu de données en 4 groupes qui sont ensuite combinés deux à deux pour former 4 combinaisons de « *halfs* » sur lesquels est appliqué indépendamment le modèle PARAFAC), l'initialisation aléatoire du modèle (10 itérations en partant de valeurs aléatoires, et sélection de l'itération pour laquelle le résidu est le plus faible), et enfin la comparaison des spectres d'excitation et d'émission issus de ce dernier avec ceux fournis par les 4 « *halfs* » lors de la « *split-half analysis* » réalisée par l'application du test de similarité « *tucker core consistency* ». Si les tests de similarité sont concluants (au moins 3 tests validés sur les 4), le modèle PARAFAC est considéré comme robuste et est validé. Les sorties du modèle PARAFAC validé sont donc les spectres d'excitation et d'émission des fluorophores les plus représentatifs du jeu de données, ainsi que les intensités de fluorescence (en QSU) de ces derniers au sein de chaque échantillon.

## 2.5. Autres analyses réalisées dans le cadre de la thèse

### 2.5.1. Analyses Chimiques

**Carbon organique dissous (DOC).** La détermination des concentrations en DOC a été effectuée par méthode d'oxydation à haute température couplée à une détection infrarouge non dispersive du $CO_2$ par un analyseur de carbone Shimadzu TOC-V (Sohrin et Sempéré, 2005; Fourrier et al., 2022). Avant l'injection, les échantillons (acidifiés par l'ajout de 20 µL

d'$H_2SO_4$ 95%) étaient purgés de leur carbone inorganique par bullage pendant 2 min avec de l'air exempt de $CO_2$. L'exactitude et le blanc du système de l'instrument ont été déterminés en analysant des références d'eau certifiées (batch 10-19, Hansell Laboratory, Miami, Floride, USA). Les analyses de DOC ont été réalisées en France et au Vietnam sur TOC-V Shimadzu. La procédure d'analyse était nominalement précise à 2%. Concernant les valeurs de DOC associés à des solutions préparées en laboratoire (Chapitre 3, Chapitre 6, et Chapitre 7), les concentrations en DOC présentées ont été corrigés du DOC du solvant utilisé (eau de mer ou eau ultra-pure), et représente donc le DOC provenant de la solubilisation des particules de BC.

**Matière en suspensions (SPM).** Les concentrations en matières en suspension (SPM) ont été déterminées à partir des filtres GF/F issus des filtrations des échantillons d'eau prélevés au cours des campagnes réalisées au Vietnam (voir section 2.1.3 et section 2.1.4). Entre 400 et 800 mL d'eau ont été filtrés en fonction des campagnes. Après filtration, les filtres ont été rincés avec 200 mL d'eau ultra-pure pour enlever les sels. Ensuite, ils ont été séchés pendant 24 h à 40 °C en étuve et pesés sur une balance de haute précision. Le calcul des concentrations en SPM a été réalisé en prenant en compte la masse du filtre avant filtration, le volume d'eau filtré et la masse du filtre après filtration/rinçage/séchage.

**Hydrocarbures aromatiques polycycliques dissous (d-PAHs).** Les mesures de concentrations en d-PAHs ont été réalisées dans le cadre de l'expérience de biodégradation de la DOM_BC (voir section 2.2.2 et Chapitre 6). Les échantillons d'eau filtrés sur GF/F ont été dopés avec un mélange de standards de PAHs deutérés (substituts) : Nap-d8, Fl-d10, Phe-d10, Flu-d10 et BaP-d12 (voir abréviations des PAHs plus bas), puis extraits en utilisant l'extraction liquide-liquide (LLE) avec du dichlorométhane ($CH_2Cl_2$) (2 × 60 mL par litre) selon la méthode développée par Guigue et al. (2015). Ces extraits ont ensuite été concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif avant de changer le solvant pour du *n*-hexane. Les extraits d'hexane ont ensuite été purifiés pour séparer la fraction hydrocarbures des composés plus polaires. Les extraits ont été fractionnés dans une colonne de silice de 500 mg préalablement activée à 500 °C pendant 4 h, puis partiellement désactivée avec de l'eau ultra-pure (2% p/p). Les PAHs ont été élués en utilisant 3 mL de *n*-hexane/$CH_2Cl_2$ (3:1 v/v). Cette étape a été suivie d'une réduction du solvant avant analyse et de l'ajout d'un mélange de

standards deutérés : Ace-$d_{10}$, Ant-$d_{10}$, Pyr-$d_{10}$, Chr-$d_{12}$ et Per-$d_{12}$ (voir abréviations des PAHs plus bas).

Les PAHs ont été analysés par GC-MS (Trace-ISQ GC ultra, ThermoElectron) fonctionnant à une énergie d'ionisation de 70 eV, avec de l'hydrogène (1-2 mL $min^{-1}$) comme gaz vecteur. La colonne capillaire (DB-5MS Ultra Inert, Agilent Technologies) mesurait 30 m de longueur avec un diamètre interne de 0.25 mm et une épaisseur de film de 0.25 µm. Les températures de l'injecteur (utilisé en mode splitless) et du détecteur étaient de 250 et 320 °C, respectivement. Les PAHs ont été identifiés et quantifiés en mode plein balayage (scan) et en selected ion mode (SIM) simultanément (Barhoumi et al., 2023).

Les procédures de contrôle qualité ont été strictement suivies tout au long du processus d'échantillonnage et de traitement en laboratoire. Elles incluaient le contrôle/validation de l'étalonnage et du réglage de la GC-MS, des blancs, des limites de détection/quantification de la méthode (LODs/LOQs), et des récupérations de substituts. Des solutions de référence pour l'étalonnage (standards externes non deutérés), c'est-à-dire un mélange de 16 PAHs parents (04071, Fluka, 47543-U, Supelco, d'autres de Sigma), ont été utilisées pour identifier et quantifier les composés. Les LOQs variaient de 100 à 300 pg $L^{-1}$. Les valeurs des blancs étaient inférieures aux LODs ou LOQs. Les récupérations de substituts étaient supérieures à 70%. Par conséquent, toutes les données rapportées ici n'ont été ni corrigées des blancs ni corrigées des récupérations. Les solvants (Rathburn Chemicals Ltd, Écosse) étaient de qualité HPLC. Les standards et la poudre de purification (Merck, Sigma Aldrich, France) étaient respectivement de pureté ≥ 98% et de grade de haute pureté.

Au total, 19 PAHs parents et 15 groupes de PAHs alkylés ont été détérminés. Les PAHs parents étaient les suivants : naphtalène (Nap), acénaphtylène (Acy), acénaphtène (Ace), fluorène (Fl), dibenzothiophène (DBT), phénanthrène (Phe), anthracène (Ant), fluoranthène (Flu), pyrène (Pyr), benz[a]anthracène (BaA), chrysène (Chr), benzo[b]fluoranthène (BbF), benzo[k]fluoranthène (BkF), benzo[e]pyrène (BeP), benzo[a]pyrène (BaP), pérylène (Per), dibenz[a,h]anthracène (DahA), benzo[g,h,i]pérylène (BghiP) et indéno[1,2,3-cd]pyrène (IcdP). Les PAHs alkylés étaient les homologues méthyl-, diméthyl- et triméthyl- du Nap, Fl, Phe, Ant, Flt, Pyr, BaA et Chr.

**Nutriments inorganiques dissous.** La mesure des nutriments inorganiques dissous a été réalisée dans le cadre de l'expérience de biodégradation de la DOM_BC (voir section 2.2.2 et Chapitre 6). Les échantillons d'eau filtrés sur GF/F ont été transférés dans des flacons en

polycarbonate propres de 50 mL et stockés à -20 °C quelques jours avant l'analyse. Les silicates [$Si(OH)_4$], nitrates ($NO_3^-$), nitrites ($NO_2^-$) et phosphates ($PO_4^{3-}$) ont été analysés par une procédure colorimétrique automatisée standard, en utilisant un AutoAnalyzer III (AA3) à flux continu de Seal Analytical, conformément au protocole d'Aminot et Kérouel (2004). L'ammonium ($NH_4^+$) a été analysé par fluorescence, selon Holmes et al. (1999) et Taylor et al. (2007). Les limites de détection de ces ions étaient comprises entre 0.02 et 0.05 µM.

**Azote et phosphore organiques dissous (DON et DOP).** La détermination des concentrations en azote et phosphore organique dissous (DON et DOP) a été effectuée dans le cadre de l'expérience de biodégradation de la DOM_BC (voir section 2.2.2 et Chapitre 6). Les échantillons d'eau filtrés sur GF/F ont été transférés dans des flacons en verre de 100 mL préalablement calcinés et stockés à -20 °C quelques jours avant l'analyse. L'azote et le phosphore organique dissous total (TDON et TDOP) ont été déterminés par colorimétrie après oxydation chimique humide au persulfate (Raimbault et al., 1999). Le DON et le DOP ont été estimés après soustraction de la fraction inorganique dissoute d'azote (DIN : $NO_3^- + NO_2^- + NH_4^+$) et de phosphore (DIP : $PO_4^{3-}$) des fractions dissoutes totales (TDN et TDP).

**Éléments traces métalliques dissous (d-TM).** Le dosage des éléments traces métalliques dissous (d-TM) a été mené dans le cadre de l'expérience de biodégradation de la DOM_BC (voir section 2.2.2 et Chapitre 6). Les échantillons d'eau filtrés sur 0.2 µm ont été transférés dans des flacons FEP propres de 60 mL, acidifiés (HCl ultrapure, pH 1) et stockés à 4 °C jusqu'à l'analyse. Les concentrations des d-TM, à savoir l'aluminium (Al), le vanadium (V), le chrome (Cr), le fer (Fe), le cobalt (Co), le nickel (Ni), le cuivre (Cu), le zinc (Zn), l'arsenic (As), l'antimoine (Sb), le plomb (Pb) et l'uranium (U), ont été mesurées directement par spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif avec dilution de gaz argon (iCAP-Q, Thermo Scientific) après acidification ($HNO_3$ ultrapure 1% v/v) en utilisant l'indium comme standard interne pour la correction de la dérive de masse (Field et al., 1999; Quéméneur et al., 2020). Des échantillons de blancs et d'eau de mer certifiée (CASS-6) ont été analysés selon le même protocole pour évaluer l'efficacité de la méthode. Les blancs étaient en dessous de la limite de détection, et la récupération du CASS-6 était de 100 ± 15%, à l'exception du Cr (132%) et du V (142%).

### 2.5.2. Analyses biologiques

Les analyses de paramètres biologiques présentées ci-dessous ont été réalisées dans le cadre d'une expérience de biodégradation de DOM_BC qui a été détaillée dans la section 2.2.2 et dans le Chapitre 6.

**Abondance des procaryotes hétérotrophes (BA).** Les échantillons (1.8 mL) ont été fixés avec 18 µL d'une solution de conservation (glutaraldéhyde, 0.25% final – acide pluronic, 0.01% final), maintenus pendant 15 min à température ambiante dans l'obscurité, puis stockés à -80 °C jusqu'à l'énumération des procaryotes hétérotrophes (HP) par cytométrie en flux. Après décongélation, les échantillons ont été colorés avec du SYBR Green (concentration finale 1X) pendant 15 min dans l'obscurité, et les HP ont été comptés à l'aide d'un cytomètre en flux Accuri C6 (BD Biosciences). Cinquante µL d'échantillon ont été analysés à un débit de 35 µL $min^{-1}$. Des microsphères de polystyrène non fluorescentes (Flow Cytometry Size Calibration Kit, Thermo Fisher Scientific) ont été utilisées comme standard de taille. Les particules considérées comme des HP mesuraient moins de 2.0 µm, présentaient une faible complexité (faible diffusion latérale), émettaient une fluorescence verte et aucune fluorescence rouge (Grégori et al., 2001). Les données ont été acquises à l'aide du logiciel BD Accuri CFlow Plus. Les BA ont été exprimées en cellules par millilitre (cell $mL^{-1}$).

**Abondance des nanoflagellés hétérotrophes.** Lors de la collecte, 1980 µL d'échantillon ont été fixés avec 20 µL de glutaraldéhyde contenant de l'acide pluronic, et congelés à -80 °C avant analyse. Lors de l'analyse, 25 µL de billes de comptage Trucount™ (BDBiosciences - lot de 49050 billes/tubes dans 0.5 mL de fluide de gaine/acide pluronic) et 15 µL de billes de référence Fluoresbrite™ de 2 µm de diamètre (Polysciences) ont été ajoutés à 1200 µL d'échantillon décongelé. Les analyses ont été effectuées sur un cytomètre en flux CytoFlex (Beckman Coulter) de la plateforme de cytométrie en flux PRECYM (https://precym.mio.osupytheas.fr/) (volume d'acquisition : 1000 µL, vitesse d'acquisition : 120 µL $min^{-1}$) en utilisant la fluorescence verte (recueillie à l'aide d'un filtre 530/30BP) pour discriminer les cellules hétérotrophes et éliminer les cellules non hétérotrophes. Les données ont été acquises et analysées à l'aide du logiciel Beckman Coulter CytExpert 2.3.

**Mesure de production des procaryotes hétérotrophes (BP).** La production procaryotique hétérotrophe a été estimée à partir des taux de synthèse des protéines *via* l'incorporation de leucine tritiée ($^3H$) en utilisant la technique de microcentrifugation comme détaillé dans (Van Wambeke et al., 2020). En bref, des sous-échantillons de 1.5 mL ont été incubés dans l'obscurité à 20 °C pendant une durée comprise entre 0.3 et 2 h selon les activités attendues. La leucine a été ajoutée à une concentration finale de 20 nM (en utilisant un mélange de leucine froide et radioactive, activité spécifique : 100 Ci $mole^{-1}$). La linéarité de l'incorporation de leucine dans le temps et la dilution isotopique ont été vérifiées périodiquement à l'aide de séries temporelles et de cinétiques de concentration. Le facteur de conversion leucine-carbone utilisé était de 1.5 kg C $moL^{-1}$.

**Mesure de respiration bactérienne (BR).** Les échantillons ont été transférés dans des flacons Winkler de 1 mL dans lesquels la concentration en $O_2$ a été mesurée en continu à l'aide de microsondes à oxygène. Les microsondes (Unisense, Danemark) sont conçues avec une cathode de garde externe (Revsbech, 1989) ce qui permet une très faible consommation d'$O_2$ par les électrodes elles-mêmes (4.7 à 47 $10^{-7}$ mmol $O_2$ $h^{-1}$). Les sondes ont un temps de réponse inférieur à 1 s et une précision de 0.1 µM. La concentration d'$O_2$ a été mesurée à intervalles réguliers sur une période de 24 h. Chaque point de mesure correspond à l'acquisition continue des sondes par ordinateur à 1 Hz pendant 60 s. La BR a ensuite été déterminée à partir de la pente de la courbe $O_2$ *vs* temps mesurée sur une période de 3 à 5 h, que nous avons supposée suffisamment courte pour minimiser les changements dans la BA ou la BP dans les flacons Winkler. Le point de départ pour le calcul de la pente a été défini en fonction de la diminution significative observée de l'$O_2$ (0.5 µM) au cours du temps d'incubation. La consommation d'$O_2$ a été convertie en BR (en µg C $L^{-1}$ $h^{-1}$) en supposant un quotient respiratoire de 1. À partir des mesures de production bactérienne (BP) et de respiration bactérienne (BR), l'efficacité de croissance bactérienne (BGE) a été calculée en divisant la BP par la somme de la BP et de la BR. Le BGE représente ainsi le pourcentage du carbone organique assimilé par les bactéries qui est converti en biomasse, le reste étant « perdu » sous forme de respiration. Un BGE élevé indique une conversion plus efficace du carbone en biomasse bactérienne.

## 2.6. Instruments utilisés en France et au Vietnam et synthèse des analyses

Ce travail de thèse a bénéficié d'un parc analytique conséquent en France (MIO, Marseille), au Vietnam (USTH, VNU, Hanoi) et en Allemagne (ICBM, Oldenburg) pour les analyses de DBC, DOC et DOM (Fig. 18).

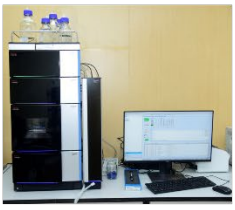
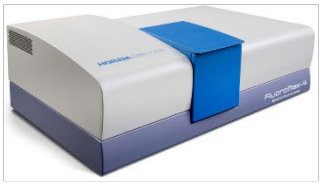
| | France (Marseille – MIO) | Vietnam (Hanoï – USTH/VNU) | Allemagne (Oldenburg – ICBM) |
|---|---|---|---|
| Chromatographie |  *Thermo GC-MS* |  *Thermo HPLC (USTH)* |  *Waters Acquity UPLC (ICBM)* |
| Analyseur TOC |  *Schimadzu TOC-V* | | |
| Spectrofluorimètre |  *Hitachi F-7000* |  *Horiba Fluoromax-4 (VNU)* | |
| Spectrophotomètre |  *Shimadzu UV-Vis 2450* |  *VWR UV-6300PC (USTH)* | |

**Figure 18.** Photos des différents appareils utilisés en France (MIO), au Vietnam (USTH et VNU) et en Allemagne (ICBM) pour les analyses de DBC, DOC et propriétés optiques de la DOM.

Le travail expérimental de laboratoire concernant la caractérisation des propriétés optiques de la DOM_BC (Chapitre 3) a été conduit en étroite collaboration avec l'*Institute for*

*Chemistry et Biology of the Marine Environment* (ICBM, Allemagne) dans le cadre du projet européen MATE. Dans ce contexte, les analyses optiques ont été effectuées en France, et les mesures de DBC par HPLC-DAD, à l'ICBM par l'équipe de T. Dittmar (Tableau 5). Concernant le travail expérimental associé à la réactivité chimique et biologique de la DOM_BC/du DBC (Chapitre 6 et Chapitre 7), les analyses optiques et chromatographiques ont été menées en France au MIO (Tableau 5). Enfin, en ce qui concerne les analyses associées au travail de terrain (Chapitre 4 et Chapitre 5), toutes les analyses ont été effectuées dans le pays du site d'étude. Ainsi, la totalité des analyses associées aux campagnes réalisées en baie de Marseille ont été faite au MIO, et celles associées aux campagnes fleuve Rouge et Van Uc ont été réalisées à l'USTH (DBC, DOC, CDOM) et à la VNU (FDOM) (Tableau 5).

**Tableau 5.** Synthèse des sites et instruments d'analyses chromatographiques et optiques.

| **Série d'échantillons** | **DBC** | | **FDOM** | | **CDOM** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Solutions de laboratoire (caractérisation optique) | HPLC-DAD | *Allemagne (ICBM)* | Hitachi-F7000 | *France (MIO)* | Shimadzu UV-Vis 2450 | *France (MIO)* |
| Solutions de laboratoire (réactivité chimique et biologique) | GC-MS | *France (MIO)* | Hitachi-F7000 | *France (MIO)* | Shimadzu UV-Vis 2450 | *France (MIO)* |
| Campagnes Marseille | GC-MS | *France (MIO)* | Hitachi-F7000 | *France (MIO)* | Shimadzu UV-Vis 2450 | *France (MIO)* |
| Campagnes fleuve Rouge | HPLC-DAD | *Vietnam (USTH)* | Horiba Fluoromax-4 | *Vietnam (VNU)* | VWR UV-6300PC | *Vietnam (USTH)* |
| Campagnes Van Uc | HPLC-DAD | *Vietnam (USTH)* | Horiba Fluoromax-4 | *Vietnam (VNU)* | VWR UV-6300PC | *Vietnam (USTH)* |

# 3. Caractérisation des propriétés optiques de la DOM_BC

Ce chapitre est une version modifiée et traduite de l'article « *Optical characterization of black carbon-derived DOM: Implication for the fluorescence detection of fuel combustion products in marine waters* » (Martinot et al., 2024) publiée en juillet 2024 dans Marine Chemistry. Cette partie de mon travail de thèse s'inscrit dans le cadre programmatique du projet européen MarTERA MATE. Une grande variété de solutions de DOM_BC de différentes origines ont été préparées en laboratoire et leurs propriétés optiques ont été comparées à celles de la DOM naturelle, terrestre et marine. L'objectif principal de cette caractérisation optique était de mettre en évidence la fluorescence spécifique de la DOM_BC, en particulier de celle issue de suies de bateaux. Le matériel et méthodes associé à ce chapitre est disponible en section 2.2.1.

## 3.1. Contexte de l'étude

L'économie mondiale repose fortement sur le trafic maritime, qui permet le transport de plus de 90% des marchandises mondiales (Ji et El-Halwagi, 2020). Par conséquent, le secteur maritime est une source importante de polluants pour l'air et l'eau (Capaldo et al., 1999; Corbett et al., 2007; Fuglestvedt et al., 2009). Le BC est parmi les polluants principaux émis par le transport maritime.

Le BC émis par les navires lors de la combustion de carburant (0.05-0.08 Tg $an^{-1}$) représente jusqu'à 1.6% des émissions mondiales de BC (Comer et al., 2015) et représente 7-21% des émissions de $CO_2$ équivalentes des navires (Olmer et al., 2017). Cependant, ces estimations de BC sont basées sur des études ayant principalement considéré des navires avec des moteurs modernes et bien entretenus (Tier II, 2011-2015 et Tier III, 2016+), et non les moteurs plus anciens utilisant du fioul lourd (Tier 0, avant 2000 et Tier I, 2000-2010), alors que ces derniers constituent 84% de la flotte mondiale (Johansson et al., 2017). Il est donc très probable que les émissions de BC du trafic maritime et leur contribution aux émissions mondiales de BC soient sous-estimées (Comer et al., 2015; Johnson et al., 2016).

Le BC émis par les navires, comme les autres particules de BC, a une durée de vie relativement courte dans l'atmosphère (Bond et al., 2013), et finit par entrer dans l'océan où une fraction peut passer en phase dissoute. Dans les eaux marines, la partition du BC entre les phases particulaire et dissoute dépend de sa solubilité et de son hydrophobicité, qui sont déterminées par ses propriétés physico-chimiques et sa structure/composition chimique, elles-mêmes contrôlées par la nature du matériau original soumis à la combustion, la température de combustion, et les processus de vieillissement/oxydation subis par les particules de BC une fois produites (Wagner et al., 2018).

Dans la myriade de composés organiques dont est constituée la DOM_BC (incluant le DBC), il y a des d-PAHs, en particulier des PAHs LMW (2 à 3 cycles aromatiques) (Popovicheva et al., 2009; Farahani et al., 2021; Martinot et al., 2023). Bien que les PAHs LMW soient principalement considérés comme des produits pétrogéniques et émis par le trafic maritime principalement *via* les rejets de pétrole, ils peuvent aussi être liés aux résidus de combustion et être présents dans la DOM_BC en raison de leur hydrophobicité relativement faible.

Les techniques optiques, c'est-à-dire la spectroscopie d'absorbance et de fluorescence, ainsi que les analyses multivariées, telles que le PARAFAC, sont utilisées depuis des décennies pour la détection et la caractérisation de la DOM naturelle et anthropique dans l'environnement aquatique (Coble, 2007; Martínez-Pérez et al., 2019; Nelson et Siegel, 2012; Tedetti et al., 2016). Une étude récente des propriétés optiques de la DOM_BC de type biochar à partir de biomasses terrestres a mis en évidence la variabilité de la composition moléculaire et du degré de condensation aromatique de ce matériau en fonction de l'origine et de la température de combustion, ainsi que la présence d'une forte signature de type humique dans ses matrices de fluorescence (Jamieson et al., 2014; Qu et al., 2016; Wu et al., 2019). Cependant, peu de choses sont encore connues concernant la caractérisation optique de la DOM_BC issus des navires, bien que la structure aromatique polycondensée de ce matériel soit supposée être hautement photoréactive (Stubbins et al., 2012, 2015; Martinot et al., 2023). Pourtant, sa caractérisation optique pourrait être pertinente pour approfondir les connaissances sur la composition de la DOM anthropique dans l'environnement marin, et pour identifier et surveiller les pollutions provenant des navires/combustion de carburant dans les eaux marines, en particulier dans les zones portuaires et les principales routes maritimes (Johansson et al., 2017).

Dans ce contexte, les objectifs de cette étude étaient : 1) de caractériser les propriétés optiques (absorbance et fluorescence) de la DOM_BC émises par les navires mais aussi de la

DOM issue des particules de BC d'autres origines (machine industrielle alimentée au diesel, biomasse, poussières urbaines) en relation avec la DOM terrestre et marine, afin de tenter de mettre en évidence la signature optique spécifique associée à la suie des navires; 2) de valider un modèle PARAFAC à partir du jeu de données DOM des navires, et de relier les intensités de fluorescence des fluorophores dérivés du PARAFAC à la concentration en DBC déterminée au niveau moléculaire par la technique BPCAs; 3) en plus de la détermination des rapports et indices existants de fluorescence et d'absorbance de la DOM, de proposer un nouvel indice de fluorescence dédié à la détection de la pollution provenant des navires/combustion de carburants dans les eaux marines.

## 3.2. Indices optiques de la DOM_BC

La concentration en DOC de l'eau de mer filtrée sur 0.2 µm utilisée pour préparer les solutions de DOM_BC était de 65-72 µM. Indépendamment de ce DOC de fond, les concentrations de DOC dues à l'ajout de particules de BC étaient de 152-245 µM (DPM-1_3), 139-161 µM (CH-1_2), 170-910 µM (UD-1_5) et 29-3030 µM (SS-1_10) dans les solutions de DOM_BC, tandis que les concentrations de DOC dues à l'ajout de SRNOM étaient de 2997-8185 µM (HS-1_2) dans les solutions de DOM_TER. La croissance et l'activité de la culture de phytoplancton ont libéré 280 µM de DOC (Phyto) dans la solution de DOM_MAR. Le pH des solutions de DOM faites dans l'eau ultra-pure et l'eau de mer était respectivement de 5.00-6.63 et 7.26-8.20. La déviation de la linéarité entre l'intensité de fluorescence mesurée et la concentration de matière organique, engendrée par des concentrations élevées en chromophores de nos échantillons (effet d'écran) (Miller et al., 2010), a été minimisée en corrigeant toutes nos intensités de fluorescence par les valeurs d'absorbance (Baker, 2001; Baddi et al., 2013; Murphy et al., 2013).

Les MEEFs les plus représentatives des solutions de DOM_BC, DOM_TER et DOM_MAR sont présentés en Fig. 19. Pour une meilleure visualisation et comparaison de ces MEEFs entre elles, leurs intensités de fluorescence ont été corrigées du fond de DOC de l'eau de mer et normalisées aux concentrations de DOC issues de l'ajout des particules de BC (DOC_BC). La correction proposée par Zepp et al. (2004) a été appliquée afin d'éliminer les pics de diffusion Rayleigh et Raman des MEEFs lors du post-traitement, ce qui permet de rendre la représentation des MEEFs plus claire et plus comparable.

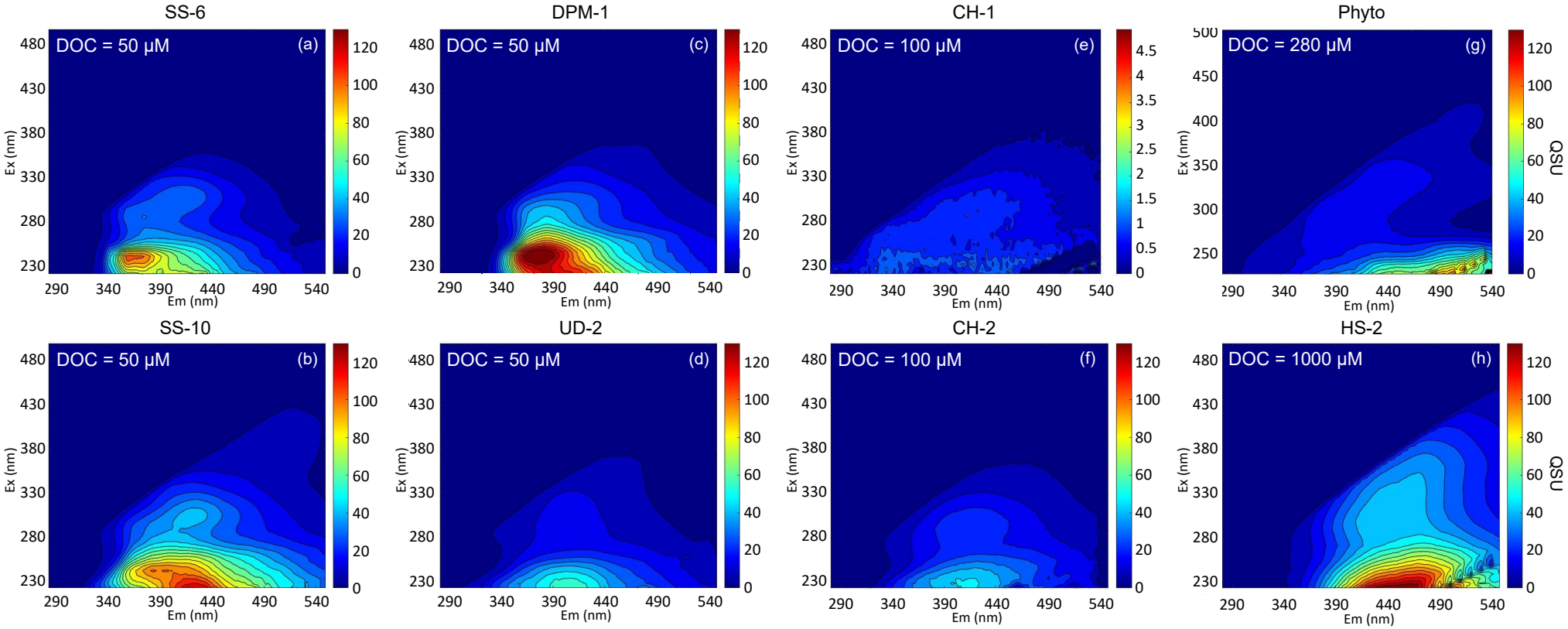



**Figure 19**. Plot des MEEFs correspondant aux solutions de DOM préparée à partir d'eau de mer filtrée sur 0.2 µm et de particules de BC (DOM_BC) issues de suie de navire [SS-6 (a) et SS-10 (b)], de particules de diesel [DPM-1 (c)], de poussière urbaine [UD-2 (d)], de charbon de bois et de végétaux [CH-1 (e) et CH-2 (f)], ainsi que d'une solution de DOM marine (DOM_MAR) provenant d'une culture de phytoplancton [Phyto (g)] et d'une solution de DOM terrestre (DOM_TER) [HS-2 (h)] provenant de la solubilisation d'un standard de substances humiques. Les intensités de fluorescence sont données en QSU et ont été normalisées aux concentrations appropriées de DOC ajouté.

Concernant la DOM_BC, les échantillons SS-6, 10 et DPM-1 présentaient les intensités de fluorescence les plus élevées, c'est-à-dire > 140 QSU pour DPM-1 et jusqu'à > 120 QSU pour SS-6 et SS-10 à 50 µM de DOC-BC, avec la présence d'un fluorophore dominant à $\lambda_{Ex1}$, $\lambda_{Ex2}/\lambda_{Em}$ de 225-240, 290-300/370-380 nm (principalement visible pour DPM-1 à $\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ = 240/375 nm) et d'un fluorophore dominant à $\lambda_{Ex1}$, $\lambda_{Ex2}/\lambda_{Em}$ de 215-220, 300-320/400-420 nm (principalement visible sur SS-6, 10) (Fig. 19a-c). En raison des intensités de fluorescence élevées et de l'étalement spectral de ces signatures, il est possible que d'autres fluorophores sous-jacents aient été présents dans les échantillons, mais difficiles à identifier en utilisant uniquement la détection visuelle des pics sur les MEEFs.

En revanche, la DOM dérivée de la poussière urbaine (UD-2) et du char-BC (CH-2) présentait des intensités de fluorescence plus faibles (~40 QSU à 50 et 100 µM de DOC_BC, respectivement) avec la présence de fluorophores à des longueurs d'onde d'émission légèrement plus élevées ($\lambda_{Ex1}$, $\lambda_{Ex2}/\lambda_{Em}$ = 210-220, 300-320/410-425 nm) (Fig. 19d, f), tandis que CH-1 était caractérisé par des intensités de fluorescence très faibles (Fig. 19e). Les fluorophores observés dans les échantillons DPM-1, SS-6, 10, UD-2 et CH-2 ont déjà été observés dans une grande variété d'aérosols urbains naturels collectés en Chine et attribués à la présence de composés issus de processus de combustion et de sources industrielles (Chen et al., 2020). Par ailleurs, le fluorophore à $\lambda_{Em}$ = 370-380 nm dans DPM-1 et SS-6, 10 pourrait refléter la présence d'espèces faiblement oxygénées associées aux sources de combustion industrielle et/ou primaire (Chen et al., 2020), et le fluorophore à $\lambda_{Em}$ = 410-425 nm dans UD-2, la contribution de composés hautement oxygénés généralement associés à la poussière (Chen et al., 2016).

La DOM phytoplanctonique (DOM_MAR) montrait des intensités de fluorescence faibles comparées à la DOM_BC (~100 QSU à 280 µM de DOC) et une fluorescence « étalée » sur une large gamme spectrale (Fig. 19g), reflétant les dynamiques complexes de production/dégradation de la DOM par couplage phytoplancton-procaryotes hétérotrophes. En effet, les fluorophores de type protein-like détectés à de courtes longueurs d'onde ($\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ = 275/310, 275/340 nm) correspondaient probablement à des substrats labiles produits directement par le phytoplancton, comme montré dans une grande diversité de groupes de micro-phytoplancton (Retelletti Brogi et al., 2020).

Par ailleurs, les fluorophores de type humique, fortement visibles à des longueurs d'onde plus élevées ($\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ = 350-400/450-500 nm), pourraient provenir de l'activité de reminéralisation des procaryotes hétérotrophes entraînant une production de DOM réfractaire

(Rochelle-Newall et Fisher, 2002). La DOM_TER (HS-2) présentait des intensités de fluorescence élevées à $\lambda_{Em}$ entre 400 et 500 nm pour $\lambda_{Ex}$ de 220-250 nm (Fig. 19h). Pour des $\lambda_{Ex}$ plus élevées, la signature de fluorescence s'étendait vers des $\lambda_{Em}$ plus élevées (jusqu'à 500 nm). Ces signatures étaient typiques de celles décrites pour les substances humiques d'origine terrestre (Peuravuori et al., 2002; Hur et al., 2009). Dans l'ensemble, les fluorophores des solutions de DOM_BC se situaient dans un domaine spectral entre celui des fluorophores de type protéique ($\lambda_{Ex}$ = 225-285 nm; $\lambda_{Em}$ = 310-350 nm) et celui des fluorophores de type humique ($\lambda_{Ex}$ = 250-350 nm; $\lambda_{Em}$ = 420-500 nm) de la DOM_MAR et de la DOM_TER (Coble, 2007). Les différents indices et rapports d'absorbance et de fluorescence des solutions de DOM sont présentés dans le Tableau 6.

**Tableau 6.** Indices et rapports d'absorbance et de fluorescence déterminés pour les échantillons filtrés sur 0.2 µm de DOM_BC (SS, DPM, UD, CH), DOM_TER (HS) et DOM_MAR (Phyto), ainsi que pour l'eau de mer filtrée sur 0.2 µm.

| **Solutions de DOM** | **$SUVA_{254}$** ($L\ mg\ C^{-1}\ m^{-1}$) | **HIX** | **BIX** | **$\lambda_{Em}$** (nm) | **$F_{max}$/DOC** ($QSU\ \mu M\ C^{-1}$) | **FQY** (QSU m) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Eau de mer | 2.7 | 3.4 | 1.2 | 420 | 0.07 | 2.6 |
| SS-1 | 16.1 | 51.6 | 0.5 | 428 | 1.08 | 5.7 |
| SS-2 | 16.5 | 71.4 | 0.4 | 424 | 1.25 | 6.4 |
| SS-3 | 18.0 | 10.3 | 0.9 | 378 | 1.45 | 6.9 |
| SS-4 | 19.3 | 32.6 | 0.6 | 418 | 1.18 | 5.2 |
| SS-5 | 27.5 | 24.8 | 0.7 | 400 | 3.40 | 5.8 |
| SS-6 | 19.4 | 44.9 | 0.5 | 416 | 1.61 | 7.0 |
| SS-7 | 17.7 | 20.2 | 0.6 | 398 | 2.08 | 10.0 |
| SS-8 | 6.4 | 5.6 | 0.9 | 420 | 0.46 | 6.0 |
| SS-9 | 5.1 | 7.9 | 0.8 | 426 | 0.23 | 3.9 |
| SS-10 | 5.2 | 5.8 | 0.9 | 420 | 0.32 | 5.3 |
| DPM-1 | 18.9 | 34.8 | 0.8 | 401 | 2.37 | 10.4 |
| DPM-2 | 19.4 | 34.3 | 1.0 | 382 | 2. 76 | 11.5 |
| DPM-3 | 20.9 | 10.4 | 0.5 | 424 | 0.21 | 0.8 |
| UD-1 | 4.4 | 6.6 | 1.0 | 404 | 0.58 | 11.0 |
| UD-2 | 8.5 | 9.8 | 0.9 | 416 | 0.76 | 7.3 |
| UD-3 | 16.3 | 39.5 | 0.7 | 407 | 1.32 | 6.9 |
| UD-4 | 22.0 | 21.6 | 0.6 | 398 | 1.75 | 6.7 |
| UD-5 | 17.5 | 22.5 | 0.6 | 420 | 1.01 | 4.8 |
| CH-1 | 4.8 | 1.7 | 0.8 | 424 | 0.02 | 0.2 |
| CH-2 | 4.6 | 12.3 | 0.7 | 414 | 0.46 | 6.5 |
| Phyto | 2.0 | 9.9 | 1.1 | 444 | 0.28 | 0.9 |
| HS-1 | 2.8 | 44.1 | 0.4 | 460 | 0.30 | 9.2 |
| HS-2 | 4.3 | 59.5 | 0.5 | 474 | 0.11 | 1.4 |

Afin d'obtenir une vue d'ensemble de la distribution des échantillons de DOM selon ces indices et rapports, une analyse en composantes principales (PCA) et une analyse de classification hiérarchique (HAC) ont été réalisées pour les variables $SUVA_{254}$, HIX, BIX, $\lambda_{Em}$ et $F_{max}$/DOC (Fig. 20). L'axe principal F1, qui expliquait 49% de la variabilité totale des échantillons, était positivement influencé par les paramètres $F_{max}$/DOC, $SUVA_{254}$, et négativement par $\lambda_{Em}$, ces trois variables montrant des corrélations linéaires significatives entre elles ($R^2 = 0.60$ à $0.80$, $n = 24$, $p < 0.05$). Le second axe F2, qui représentait 38% de la variabilité totale des échantillons, était positivement associé à BIX et négativement à HIX, et dans une moindre mesure à $\lambda_{Em}$ ($R^2 = 0.71$, $n = 24$, $p < 0.05$ pour HIX par rapport à BIX) (Fig. 20).

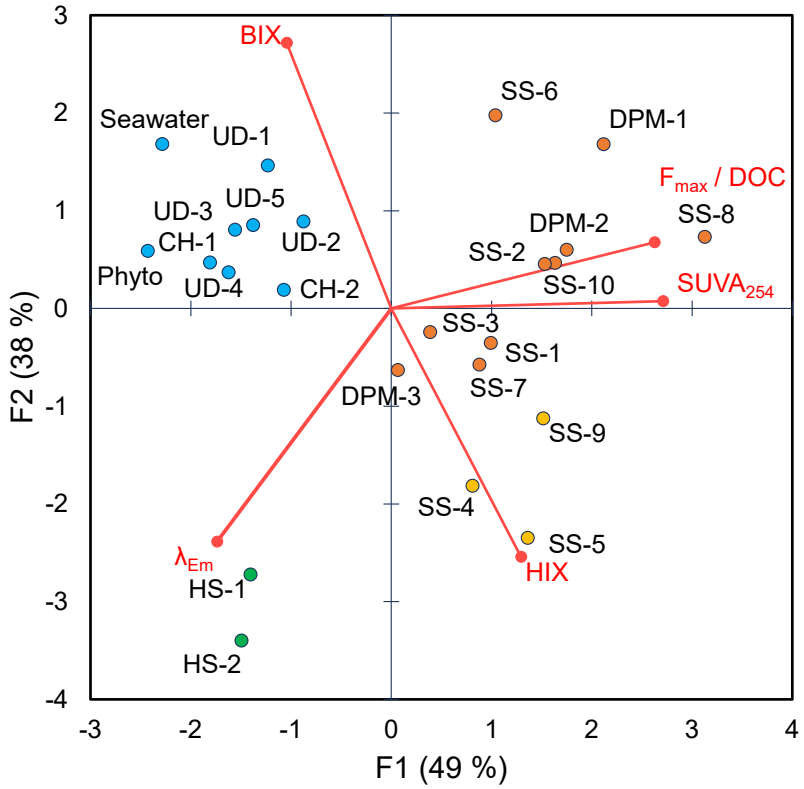



**Figure 20.** Biplot de l'analyse en composantes principales (PCA) standardisée sur les échantillons filtrés sur 0.2 µm de DOM_BC, DOM_TER et DOM_MAR, ainsi que sur l'eau de mer filtrée sur 0.2 µm. Le cercle de corrélation des variables est en rouge, et les échantillons sont regroupés par couleur selon la classification hiérarchique ascendante (HAC) : en jaune et orange pour la suie de navire (SS) et les particules de diesel (DPM), en bleu pour la poussière urbaine (UD), le char de bois et de végétaux (CH), la DOM_MAR (Phyto) et l'eau de mer, et en vert pour la DOM_TER (HS).

Les échantillons de suie de navire (SS) et de DPM étaient caractérisés par les valeurs de $F_{max}$/DOC et $SUVA_{254}$ les plus élevées, les valeurs de $\lambda_{Em}$ les plus faibles, et des valeurs de BIX et HIX très variables par rapport aux autres échantillons (Tableau 6; Fig. 20). De plus, ce groupe

montrait généralement des valeurs beaucoup plus élevées que celles rapportées dans la littérature sur les sols thermiquement altérés (McKay et al., 2020; Fischer et al., 2023). La grande variabilité des valeurs de HIX et BIX au sein des échantillons de SS et DPM a conduit à l'apparition de deux groupes dans cet ensemble de données, visibles dans la PCA et confirmés par la HAC : un groupe comprenant SS-4, 5, 9 (points jaunes sur Fig. 20), caractérisé par des valeurs de HIX particulièrement élevées, et un autre groupe comprenant SS-1_3, 6_8, 10 et DPM-1_2 (points orange sur Fig. 20), classifié au travers de valeurs de HIX plus faibles et de BIX plus élevées. Dans l'ensemble, les échantillons de SS et DPM présentaient une capacité de fluorescence et d'absorption beaucoup plus élevée (normalisée aux valeurs de DOC) par rapport à la DOM dérivée de la poussière urbaine (UD-2), du char-BC (CH-2), de la DOM_TER et de la DOM_MAR. Leur $SUVA_{254}$, très élevée associé à la $\lambda_{Em}$ la plus faible, suggérait que les échantillons de SS et DPM étaient dominés par des composés organiques aromatiques et de poids moléculaire intermédiaire. Par exemple, les PAHs à 4 cycles ou plus, faiblement solubles s'ils ne sont pas fonctionnalisés, sont également suspectés de contribuer à ce matériau aromatique hautement photoréactif, en plus des PAHs LMW comme discuté par Chen et al. (2014) et Chen et al. (2022).

La PCA a également mis en évidence un groupe comprenant UD-1_5 et CH-1_2 (Fig. 20), qui montrait des valeurs de $F_{max}$/DOC et $SUVA_{254}$ plus faibles, et des valeurs de $\lambda_{Em}$ plus élevées, ainsi que des valeurs de BIX élevées et de HIX faibles (Tableau 6). Bien que ces valeurs de $SUVA_{254}$ soient plus proches de celles rapportées dans la littérature sur les sols thermiquement altérés, les valeurs de HIX associées restaient en moyenne beaucoup plus élevées que celles enregistrées dans des études antérieures (McKay et al., 2020; Fischer et al., 2023). La DOM de ce groupe était probablement plus altérée et photo-oxydée, ce qui suggère la présence de composés plus oxygénés dans ces échantillons (Chen et al., 2020). Selon la PCA et la HAC, les échantillons d'eau de mer et de Phyto faisaient partie de ce groupe UD et CH. Ces échantillons de DOM marine différaient du groupe SS+DPM mais aussi des échantillons UD+CH par des valeurs de Fmax/DOC, $SUVA_{254}$ et HIX les plus faibles, ainsi que des valeurs de BIX et $\lambda_{Em}$ les plus élevées (Tableau 6; Fig. 19). Cela soulignait le caractère autochtone, biologique et moins photoréactif de la DOM_MAR par rapport à la DOM_BC, avec, en même temps, une contribution de matériel de poids moléculaire plus élevé reflétant la production de DOM réfractaire par les procaryotes hétérotrophes (Rochelle-Newall et Fisher, 2002; Retelletti Brogi et al., 2020).

Enfin, le groupe DOM_TER (HS-1_2), avec des valeurs de $F_{max}$/DOC et $SUVA_{254}$ faibles, les valeurs de $\lambda_{Em}$ et HIX les plus élevées, ainsi que les valeurs de BIX les plus faibles (Tableau 6; Fig. 19), était plutôt représentatif d'une matière humifiée/dégradée de poids moléculaire élevé qui a subi des processus de transformation physique, chimique et microbiologique à partir de matière organique des sols terrestres et des plantes. Au sein de chaque groupe identifié par la PCA et la HAC, aucune différence significative n'a été observée entre les solutions préparées dans l'eau de mer et celles préparées dans l'eau ultra-pure.

## 3.3. Déconvolution du signal de fluorescence de la DOM_BC au sein de la DOM naturelle

Bien que les résultats présentés ci-dessus aient mis en évidence les caractéristiques optiques de la DOM_BC issues des navires (SS) et engins industriels (DPM) par rapport à d'autres échantillons de DOM_BC (UD, CH) et aux échantillons de DOM_TER et DOM_MAR (HS, Phyto), une analyse PARAFAC a été effectuée spécifiquement sur les échantillons de SS et DPM, incluant les filtrats à 0.7 et 0.2 µm, avec l'ajout des échantillons de Phe et DPM + Phe. L'objectif était d'extraire et d'identifier les fluorophores les plus représentatifs présents dans les échantillons de SS et DPM (difficiles à identifier à partir des MEEFs en raison du chevauchement des pics; Fig. 15a-c), puis de déterminer si ces fluorophores dérivés du PARAFAC pouvaient être associés moléculairement au DBC. Le Phe a été utilisé comme standard interne dans les échantillons de SS et DPM pour aider à identifier un composant de type Phe en plus des fluorophores potentiellement liés au DBC.

Les cartes de contour et les caractéristiques spectrales des trois composants (C1-C3) identifiés et validés par le PARAFAC sont présentées en Fig. 20. Pour tous les composants, de multiples correspondances fortes ($TCC_{ex\times em} > 0.95$) ont été observées (80, 5 et 21 correspondances pour C1, C2 et C3, respectivement) dans la base de données OpenFluor (https://openfluor.lablicate.com/). Le composant C2 avait 33 composants correspondants avec $TCC_{ex\times em} > 0.9$. Ces correspondances dans la littérature de la base de données OpenFluor ont associé le composant C1 à une signature de type humique, liée à des composés relativement aromatiques et de haut poids moléculaire (Wünsch et al., 2017; Zito et al., 2019, 2023; Kida et al., 2021), le composant C2 à un contaminant de type PAHs (Murphy et al., 2006) / DOM

dérivée du pétrole (Brünjes et al., 2022; Harsha et al., 2023), et le composant C3 à une DOM humique d'origine terrestre (Romero et al., 2019; Maurischat et al., 2022).

C1 exhibait un maximum d'excitation primaire < à 255 nm et un pic secondaire à 315 nm, avec un maximum d'émission à 428 nm. Il correspondait donc aux pics A + C dans la classification de Coble (1996) et au composant 3 dans la classification d'Ishii et Boyer (2012). C1 était présent dans les échantillons de SS, DPM, SS + Phe et DPM + Phe, mais pas dans les échantillons de Phe (Fig. 21). Ce composant, associé au matériau de type humique, a été trouvé dans divers environnements aquatiques tels que les eaux marines, les estuaires, les lacs et les ruisseaux agricoles/forestiers, et est suspecté d'être issu d'activités biologiques autochtones et de matière organique terrestre ou anthropique (Cuss et Guéguen, 2013; Ishii et Boyer, 2012; Stedmon et Markager, 2005). Cependant, des pics similaires à C1 ont également été identifiés dans des extraits de biochar et associés à des produits de pyrolyse contenant des substances de type humique aromatique qui ont montré se décomposer à des températures de pyrolyse plus élevées (Uchimiya et al., 2013; Jamieson et al., 2014).

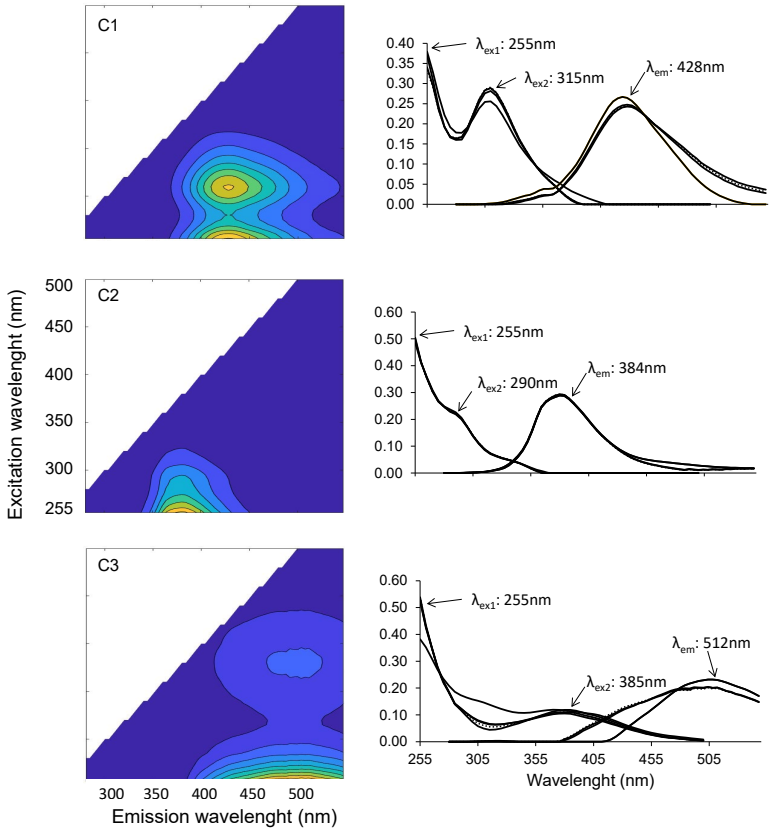



**Figure 21.** Plots et caractéristiques spectrales des trois composants (C1-C3) validés par le modèle PARAFAC pour 118 MEEFs des solutions de DOM_BC, Phe, SS + Phe et DPM + Phe filtrées sur GF/F et 0.2 µm. Les graphiques sur la colonne de droite montrent les spectres de fluorescence d'excitation (à gauche) et d'émission (à droite). Les lignes pointillées

correspondent aux résultats de validation des *split half analyses*. Les maxima d'excitation et d'émission ($\lambda_{Ex}$ et $\lambda_{Em}$) de chaque composant sont indiqués.

C2 présentait un maximum d'excitation < à 255 nm avec un léger épaulement à 290 nm, et un maximum d'émission à 384 nm (Fig. 21). Son domaine spectral de fluorescence était très proche de celui du Phe dissous dans l'eau (Cory et McKnight, 2005; Mueller et al., 2012; Ferretto et al., 2014). C2 était présent dans tous les échantillons : SS, DPM, Phe, SS + Phe et DPM + Phe. C1 et C2 représentaient ensemble en moyenne 76% de la fluorescence totale des échantillons. Logiquement, C1 et C2 correspondaient aux fluorophores dominants qui étaient observés sur les MEEFs dans les échantillons de SS (principalement C1) et de DPM (principalement C2) (Fig. 21a-c), et dont les maxima de fluorescence ont été utilisés dans la PCA (Fig. 19).

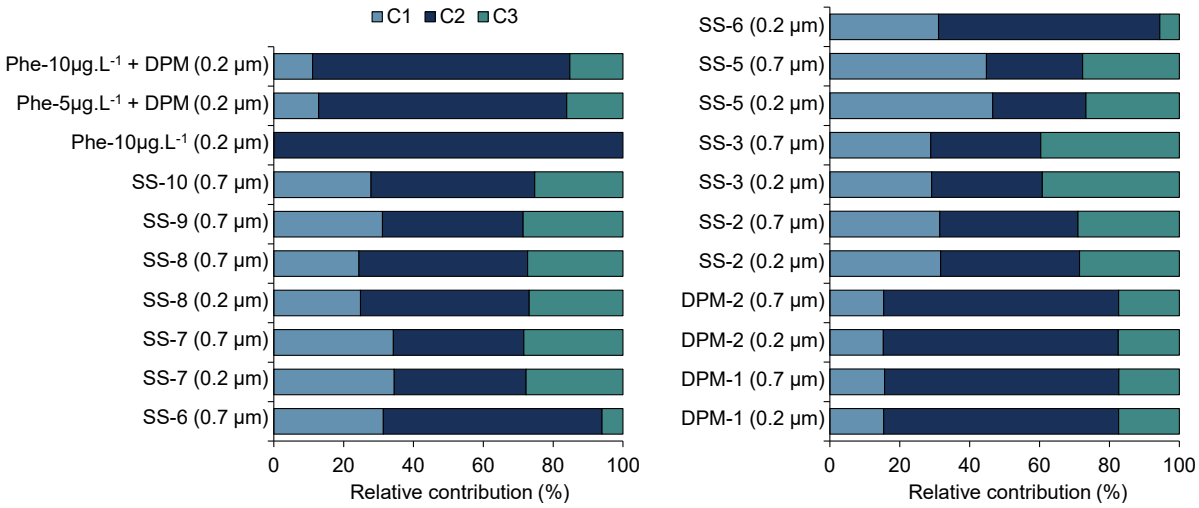



**Figure 22.** Contribution relative des composants C1, C2 et C3 identifiés par PARAFAC à la fluorescence totale mesurée dans les solutions de SS, DPM, Phe et DPM + Phe.

C3 avait un maximum d'excitation principal < à 255 nm, un maximum d'excitation secondaire à 385 nm, et un maximum d'émission à 512 nm (Fig. 21). Il correspondait aux pics A + C dans la classification de Coble (1996) et au composant 2 dans la classification d'Ishii et Boyer (2012). C3 a été détecté dans les échantillons de SS, DPM, SS + Phe et DPM + Phe, mais pas dans les échantillons de Phe (Fig. 22). Il était similaire aux composants représentatifs des substances humiques des sols (Singh et al., 2010; Stedmon et Markager, 2005). Il a été détecté dans de nombreux environnements aquatiques et associé à la matière organique terrestre ainsi qu'à des activités autochtones (Cuss et Guéguen, 2012; Fellman et al., 2008). C3 était très probablement de poids moléculaire plus élevé, plus hydrophobe et plus photodégradable par

rapport à C1, comme l'indiquent ses longueurs d'onde d'excitation et d'émission plus élevées (Fig. 20; Ferretto et al., 2017). C3 était minoritaire dans la fluorescence totale des échantillons (en moyenne 24%), et était donc difficile à identifier *via* les MEEFs présentées en Fig. 15.

La relation entre l'intensité de fluorescence du composant C2 et la concentration de Phe dissous pour différents échantillons de Phe, SS + Phe et DPM + Phe ($R^2 = 0.92$, n = 15, $p < 0.05$) (Fig. 23) confirme l'identification de C2 comme fluorophore de type Phe dans les échantillons de SS et DPM, et est cohérente avec les observations récentes de la présence de Phe dissous (mesuré par GC-MS) dans les solutions de DOM_BC issues de la suie de navire et du DPM (Martinot et al., 2023).

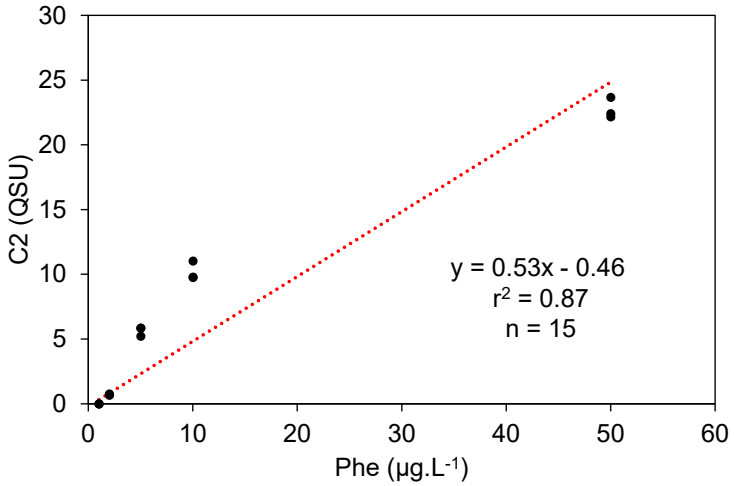



**Figure 23.** Relation entre l'intensité de fluorescence du composant C2 (en QSU) et la concentration de phénanthrène dissous (Phe) (en µg $L^{-1}$) ajoutée dans les solutions de SS et DPM. La ligne rouge en pointillés correspond à une régression linéaire pondérée.

En revanche, les intensités de fluorescence de C1 et C3 présentaient des relations linéaires positives significatives avec les concentrations de DBC mesurées dans les solutions de SS et DPM ($R^2 = 0.90$-$1.00$, n = 18-39, $p < 0.05$). Les corrélations linéaires étaient plus fortes avec C3 qu'avec C1, et en tenant compte des échantillons de DPM par rapport aux échantillons de SS (Fig. 24a-f). Cette dernière observation peut s'expliquer par le fait que les échantillons de DPM provenaient d'une dilution en série à partir d'une solution mère de DPM, tandis que les échantillons de SS étaient indépendants les uns des autres, provenant de diverses origines. Ainsi, les trois composants PARAFAC présents dans les solutions de SS et DPM étaient associés moléculairement au Phe dissous (C2) (Fig. 22) et au DBC (C1 et C3) (Fig. 24a-f). Il convient de noter que certaines relations entre la concentration des composés et l'intensité de fluorescence des composants PARAFAC ne sont pas entièrement linéaires (Fig. 23, Fig. 24a, e).

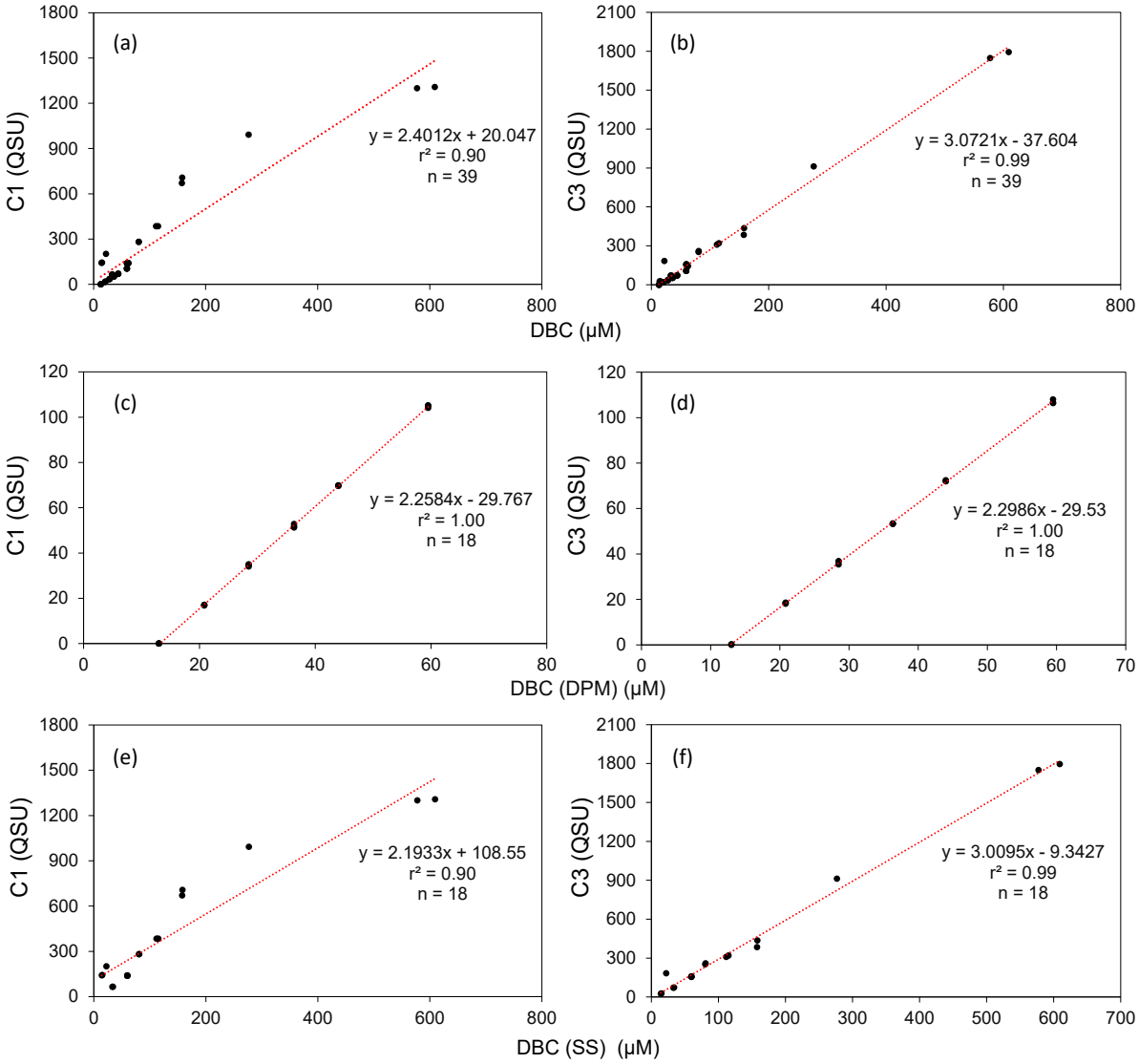



**Figure 24.** Relations linéaires entre les intensités de fluorescence du composant C1 (a, c, d) ou du composant C3 (b, d, f) (en QSU) et la concentration en Black Carbon dissous (DBC) (en µM) dans les solutions SS et DPM combinées (a, b), les solutions de DPM (c, d), et les solutions de SS (e, f).

Ces figures laissent apparaître une inhibition de la fluorescence aux concentrations les plus élevées, bien que nos intensités de fluorescence aient été corrigées des effets d'écran en utilisant les mesures d'absorbance. Cependant, compte tenu du fait que ces régressions ne sont pas utilisées pour déterminer les concentrations des composés, et afin de pouvoir comparer ces relations entre elles, nous avons préféré conserver le modèle linéaire pour toutes les solutions. Ces corrélations sont cohérente au regard du lien entre le domaine spectral de fluorescence et la structure moléculaire du composé fluorescent (c'est-à-dire l'augmentation de $\lambda_{Ex}$ et $\lambda_{Em}$ avec le degré d'aromaticité/le nombre d'électrons pi conjugués de la molécule; Ferretto et al., 2014).

En effet, tandis que C2, qui affichait les $\lambda_{Ex}$ et $\lambda_{Em}$ les plus courtes, était associé au Phe (molécule aromatique à 3 cycles), C1 et C3, qui montraient des $\lambda_{Ex}$ et $\lambda_{Em}$ plus élevées, étaient liés au DBC (molécules aromatiques fonctionnalisées de 5 à 8 cycles).

Les fluorophores C1 et C3 identifiés dans nos échantillons de SS et DPM, et liés à la concentration en DBC, sont, comme mentionné précédemment, également connus pour être présents dans divers écosystèmes aquatiques et dérivés de matériaux humiques autochtones et allochtones. D'autre part, il est également important de noter la possibilité d'un chevauchement spectral, dû à l'étendue des signatures de fluorescence dans la gamme d'analyse, en particulier pour le composant C1. Les solutions étudiées résultent de la solubilisation des particules de BC, ce qui a modifié la composition chimique du milieu en introduisant du DBC mais également des d-PAHs, qui peuvent être intégrés dans l'ensemble de la fluorescence (Popovicheva et al., 2009; Buffaloe et al., 2014; Farahani et al., 2021; Martinot et al., 2023). Plusieurs études ont également mis en évidence la présence de signatures de fluorescence de type humique dans la DOM_BC de type biochar (Jamieson et al., 2014), un matériel de type acide fulvique étant le composant principal de la DOM à basse température de pyrolyse, et un matériel de type acide humique dominant à haute température (Qu et al., 2016; Wu et al., 2019). Cela est en accord avec nos résultats, soulignant le lien étroit entre les signatures de fluorescence de la DOM_BC dérivée des matériaux de combustion des navires/carburants et la DOM dérivée des substances humiques. Malgré ce lien, l'analyse conjointe de tous les indices de fluorescence et d'absorbance calculés dans cette étude permet de distinguer clairement le groupe de DOM_BC dérivées de la combustion et celui de DOM dérivées des substances humiques (Fig. 20).

## 3.4. Proposition de l'indice de fluorescence COX pour la détection des produits de combustion en milieu marin

Dans les sections précédentes, nous avons mis en évidence les signatures de fluorescence spécifiques des solutions de DOM_BC de type SS et de DPM par rapport à celles des autres DOM_BC, DOM_TER et DOM_MAR, sans toutefois pouvoir discriminer finement/séparer les signatures de fluorescence entre SS et DPM. Nous n'avons donc pas mis en exergue une signature unique de BC pour les navires, mais plutôt une signature de BC plus largement liée à la combustion des carburants. Sur la base de ces résultats, nous proposons donc

un nouvel indice de fluorescence, appelé COX (COmbustion indeX), pour la détection dans les eaux marines de DOM dérivée de particules de BC/suie provenant de la combustion de carburants.

Pour la détermination du COX, nous proposons de soustraire l'intensité de fluorescence du deuxième pic du composant C3 ($\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ = 385/512 nm), qui peut également être associé à des matériaux de type humique terrestre dans les eaux marines, de l'intensité de fluorescence du premier pic du composant C1 ($\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ = 255/428 nm), qui est fortement corrélé à la concentration en DBC (Fig. 21, Fig. 24), après avoir corrigé ces valeurs de fluorescence de l'effet d'écran. Des études antérieures ont rapporté que la teneur en DOM libérée par les produits de combustion était fortement corrélée à la température de pyrolyse, des températures plus élevées conduisant à des quantités de DOC plus faibles (Wu et al., 2019). En raison de cette variabilité des concentrations de DOC, le COX est normalisé par la concentration de DOC (mg $C^{-1}$ $L^{-1}$) et est finalement déterminé en utilisant la formule suivante :

$$COX = \frac{I_{(\lambda ex=255\ /\lambda em=428)} - I_{(\lambda ex=385\ /\lambda em=512)}}{DOC} \quad (8)$$

La formule COX, qui est basée sur la fluorescence des composants PARAFAC C1 et C3, est donc une version affinée de l'indice Fmax/DOC utilisé dans la PCA qui était déjà très pertinent pour discriminer les échantillons de navires et de diesel des autres solutions de DOM (Tableau 6; Fig. 19). Grâce au calcul du COX sur nos solutions de DOM, nous avons pu discriminer 1) la DOM_TER (COX : 5.2-5.6 QSU L mg $C^{-1}$), 2) la DOM_BC UD et CH-2 (COX : 14.7-41.3 QSU L mg $C^{-1}$), et 3) la DOM_BC SS et DPM (36.6-110.6 QSU L mg $C^{-1}$) (Fig. 24).

Le COX représentait mieux les différences entre la suie de navires et la poussière urbaine que les indices de fluorescence connus (HIX, BIX) (Tableau 6), et la normalisation par la concentration en DOC a permis de classer la signature de fluorescence indépendamment de la quantité de matière solubilisée (Fig. 25). De plus, la taille des pores du filtre ne semblait pas avoir d'impact significatif sur les valeurs de COX, malgré la teneur élevée en matière organique des échantillons. Il est à noter que la valeur de COX de DPM-3, dont l'oxydation était destinée à imiter/reproduire le BC ayant transité dans l'atmosphère, était presque 10 fois plus faible que celle de DPM-1_2 (Fig. 25). Cet indice permettrait donc de distinguer la matière organique de type humique (avec des valeurs de COX plus faibles) de la DOM dérivée de la suie de navire/combustion de carburants (valeurs de COX plus élevées). La poussière urbaine, un compartiment hétérogène résultant d'un mélange de produits de combustion et de poussière, ainsi que CH-2, se situaient à des valeurs de COX intermédiaires (Fig. 25).

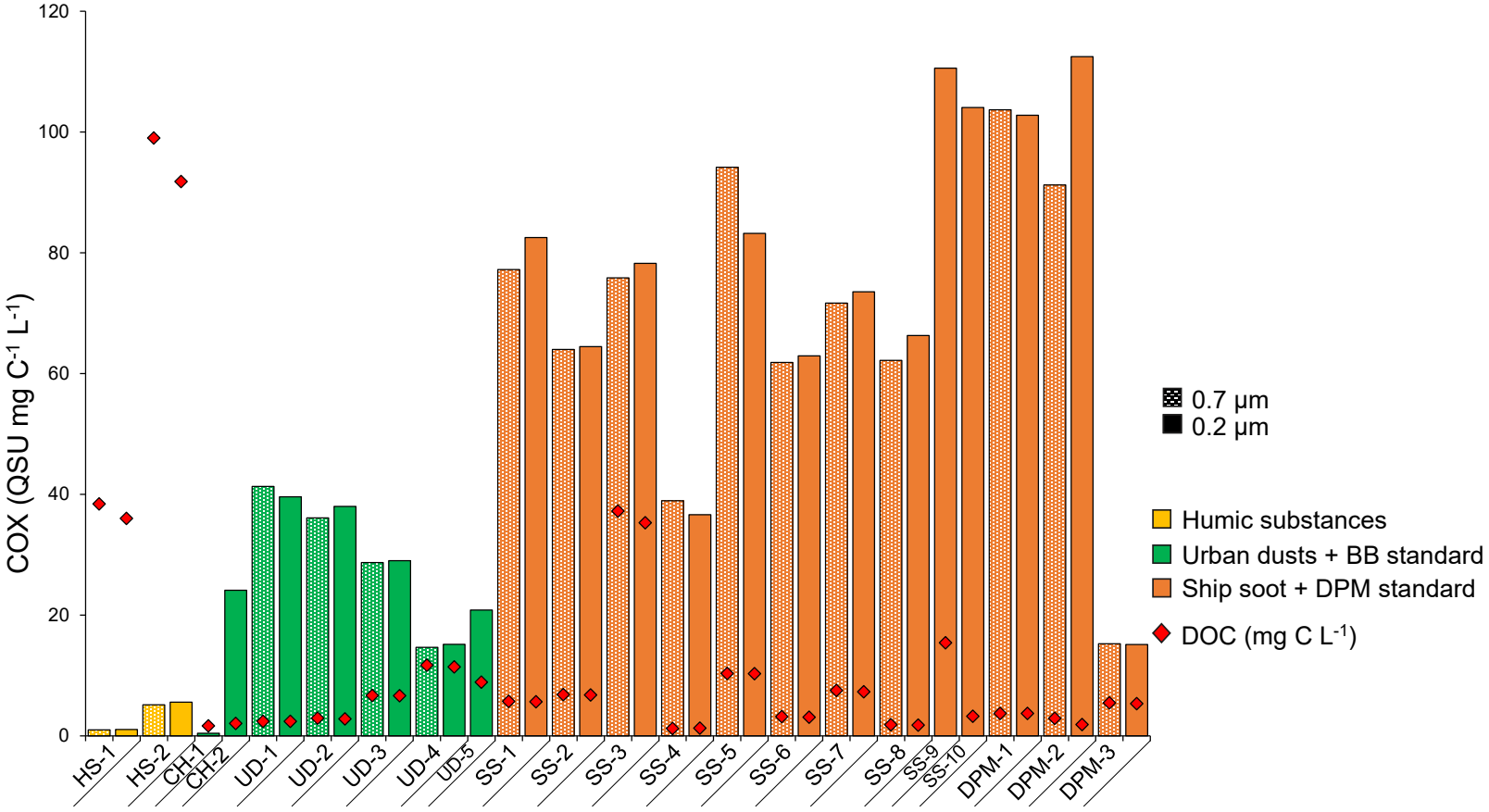



**Figure 25.** COmbustion indeX (COX en QSU L mg $C^{-1}$) déterminé et concentration de DOC (mg C $L^{-1}$) mesurée pour la DOM_BC, *i.e.*, DPM et SS (en orange), UD et CH (en vert), et la DOM_TER (HS) (en jaune). Les couleurs claires et foncées correspondent respectivement aux filtrats GF/F (0.7 µm) et de 0.2 µm.

Pour tester la fiabilité de l'indice COX pour les échantillons naturels des zones côtières marines, nous avons utilisé le jeu de données de Ferretto et al. (2017) et sélectionné 55 échantillons de Méditerranée Nord Occidentale correspondant à 3 zones différentes : 1) Port-de-Bouc (PB, 12 m de profondeur), un port situé dans le golfe de Fos-sur-mer sur la route des navires pétroliers, qui reçoit des eaux douces de l'étang de Berre par le canal de Caronte et du Rhône, conduisant à un mélange de signatures d'origines diverses : naturelles (terrestre et biologique) et anthropiques (pétrogénique et pyrogénique), 2) Couronne (CO, 90 m de profondeur), un site côtier marin situé à 6 km de PB entre l'embouchure du Rhône/golfe de Fos-sur-mer et la baie de Marseille, et 3) SOLEMIO (SO, 60 m de profondeur), la station d'observation côtière située dans la baie de Marseille (Fig. 26).

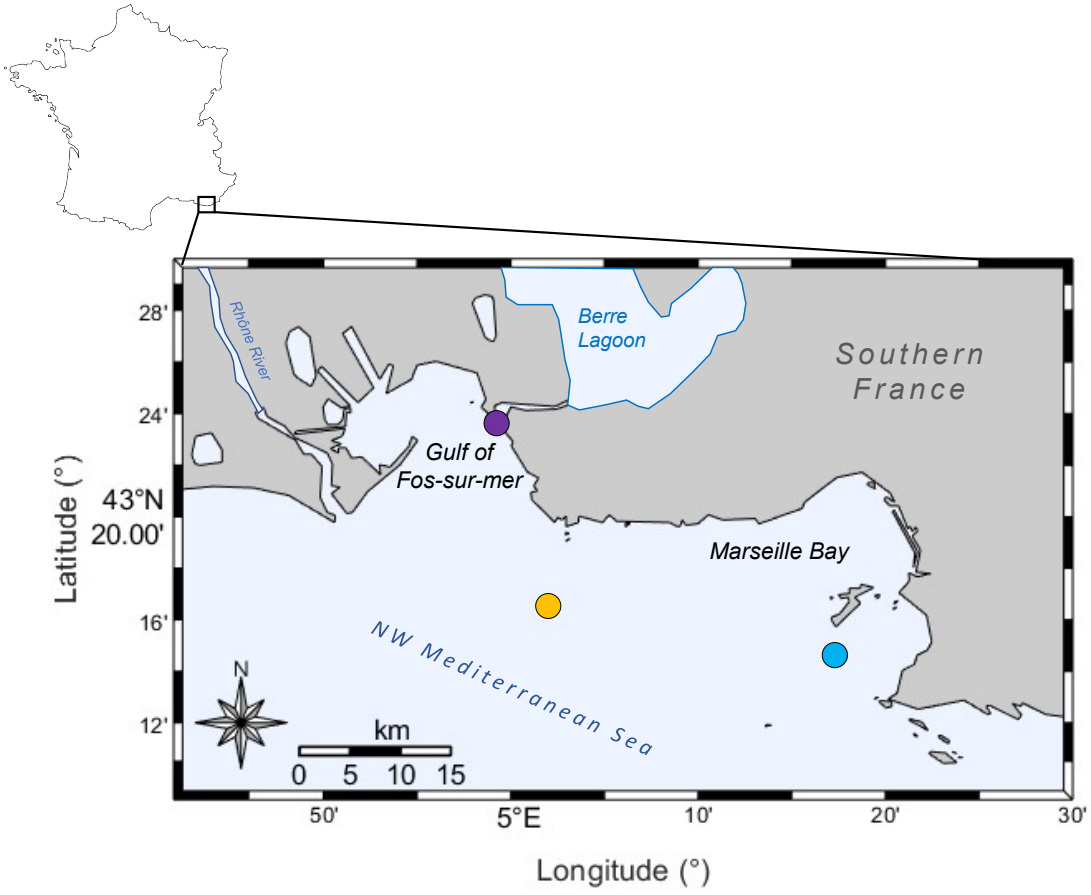



**Figure 26.** Localisation des stations de Port-de-Bouc (PB, en orange), Couronne (CO, en vert) et SOLEMIO (SO, en bleu) dans la baie de Marseille en mer Méditerranée Nord Occidentale, échantillonnées par Ferretto et al. (2017) entre janvier 2011 et janvier 2012.

L'utilisation des indices BIX et HIX sur ce jeu de données n'a révélé aucune différence significative entre les 3 stations d'échantillonnage (BIX : PB = 1.01 ± 0.03; CO = 0.93 ± 0.17; SO = 0.98 ± 0.14; HIX : PB = 2.87 ± 0.65; CO = 2.30 ± 1.0; SO = 2.13 ± 0.40) (Fig. 27). De

même, les concentrations en DOC ont fourni des informations sur la quantité de DOM, montrant occasionnellement des valeurs élevées près du port (Fig. 28) mais n'ont pas fourni d'éléments pertinents sur sa qualité. En revanche, en comparant les valeurs de COX entre les sites, les échantillons de PB ont montré des valeurs significativement plus élevées par rapport à ceux de CO et SO (t-test, $p < 0.05$) (Fig. 28).

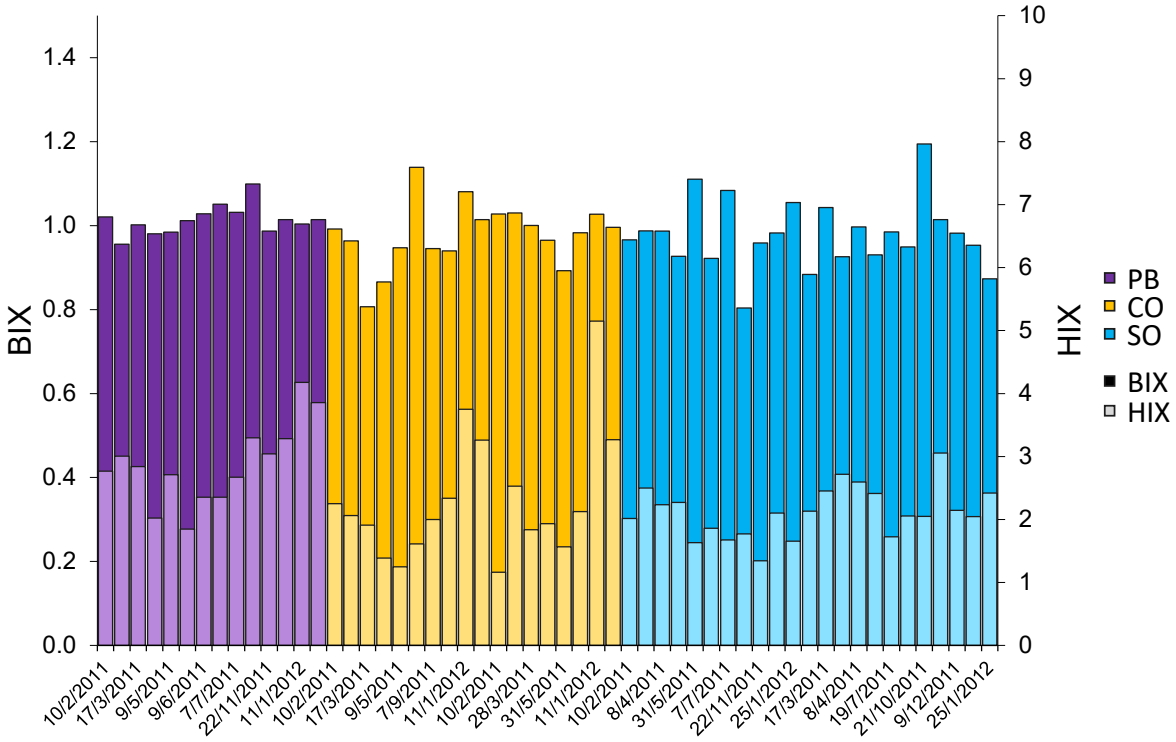



**Figure 27.** HIX et BIX déterminés pour 55 MEEFs d'échantillons collectés aux sites Port-de-Bouc (PB), Couronne (CO) et SOLEMIO (SO) entre le golfe de Fos-sur-mer et la baie de Marseille, fournis par Ferretto et al. (2017).

Les valeurs moyennes de COX des échantillons de PB, CO et SO étaient respectivement de 3.4 ± 1.6, 1.2 ± 0.2 et 1.5 ± 0.4 QSU L mg $C^{-1}$, soulignant des valeurs de COX plus élevées dans les zones portuaires/impactées par les navires que dans les eaux marines côtières moins impactées. Enfin, la variabilité observée des valeurs de COX à la station PB était plus forte que celle observée pour CO et SO pendant l'année d'échantillonnage. En considérant le COX comme un indicateur de combustion, cette variabilité confirme que cette station pourrait être particulièrement sujette à la pollution par la suie des navires ou, plus généralement, à la pollution liée aux produits de combustion de carburants.

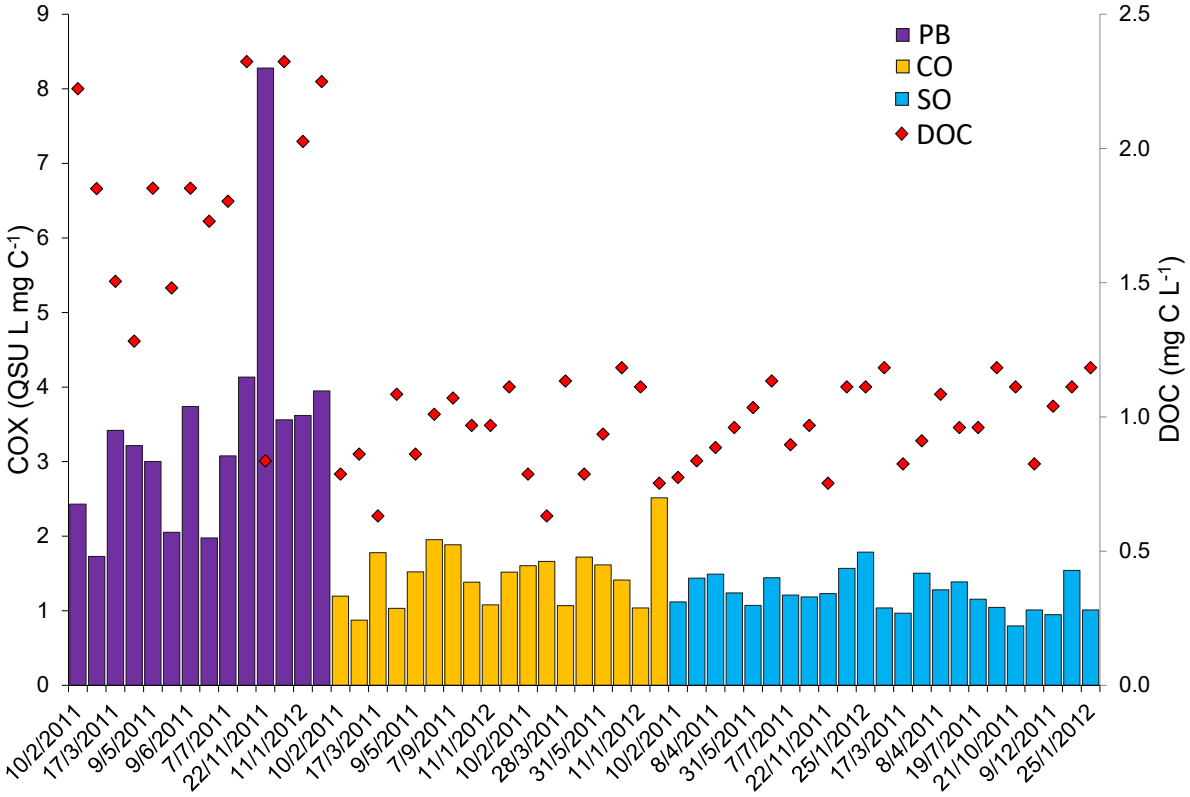



**Figure 28.** COmbustion indeX (COX en QSU L mg $C^{-1}$) déterminé et concentration en DOC (mg C $L^{-1}$) mesurée pour 55 échantillons aux sites Port-de-Bouc (PB), Couronne (CO) et SOLEMIO (SO) entre le golfe de Fos-sur-mer et la baie de Marseille, fournis par Ferretto et al. (2017).

Par conséquent, sur la base du travail initial de caractérisation optique mené dans cette étude, nous proposons l'indice COX comme un indicateur potentiellement pertinent pour surveiller la pollution liée aux résidus de combustion, y compris la suie des navires dans les eaux marines. Une application plus large de cet indice dans des études futures, ainsi que sa corrélation avec les concentrations en DBC mesurées dans les environnements naturels, est nécessaire pour valider et renforcer cette proposition.

## 3.5. Conclusion

Dans l'ensemble, les fluorophores des solutions de DOM_BC se situaient dans un domaine spectral entre celui des fluorophores de type protéine ($\lambda_{Ex}$ = 225-285 nm; $\lambda_{Em}$ = 310-350 nm) et celui des fluorophores de type humique ($\lambda_{Ex}$ = 250-350 nm; $\lambda_{Em}$ = 420-500 nm). Les échantillons de suie de navires et de DPM se sont distingués par des valeurs de $F_{max}$/DOC et $SUVA_{254}$ particulièrement élevées, ainsi que par des valeurs de $\lambda_{Em}$ plus faibles. Cette

association de $SUVA_{254}$ très élevés à des $\lambda_{Em}$ faibles suggère une dominance de composés organiques aromatiques et de poids moléculaire intermédiaire. Néanmoins, la variabilité des valeurs de HIX et BIX au sein des échantillons de suie de navires a conduit à la formation de deux groupes distincts dans cet ensemble de données, malgré leur origine commune. Les intensités de fluorophores dérivés de PARAFAC des solutions de DOM_BC de navires et de diesel ont montré des corrélations significatives avec les concentrations de DBC, soulignant la contribution du DBC à leur fluorescence. La variabilité des propriétés optiques et des concentrations de DBC observée dans la DOM_BC issue des navires semblait indiquer un lien spécifique entre leur composition moléculaire / leurs fluorophores, et des facteurs tels que le type de carburant utilisé, les caractéristiques du moteur et la température de combustion du navire. Les échantillons naturels et les standards de poussières urbaines, qui possèdent probablement une composition plus mixte et une proportion de BC « véritable » plus faible que les suies, ont montré une capacité de fluorescence et d'absorption beaucoup plus faible.

Ces tendances générales permettent de mieux comprendre le comportement optique de la DOM_BC et sa position dans le domaine de fluorescence de la DOM en milieu marin. Cependant, la variabilité observée selon les échantillons suggère que la composition moléculaire, variable selon l'origine et les processus de transformation du BC (et de la DOM_BC), est un aspect fondamental à explorer pour confirmer les différences de composition suggérées par le regroupement PCA et HCA, et affiner notre compréhension des propriétés optiques de la DOM_BC.

Ces résultats nous permettent de proposer l'indice COX pour détecter et suivre la pollution liée à la combustion des navires et des carburants dans les eaux marines. L'indice COX doit être testé sur d'autres jeux de données de fluorescence avec des contenus variables en DBC et substances humiques, pour confirmer son applicabilité générale dans la discrimination entre signatures terrestres de type humique et empreintes de DOM de type combustion. Enfin, concernant la pollution au BC spécifiquement lié au trafic maritime, de futures études devraient aborder l'impact des types de carburant et de moteur sur les propriétés optiques (y compris l'indice COX) et le contenu moléculaire du DOM_BC des navires.

# 4. Variabilités spatiales et saisonnières du DBC et de la DOM en milieu côtier anthropisé

## 4.1. Baie de Marseille

Les résultats de cette section sont issus de l'article « *First Data on Dissolved Black Carbon in the Coastal Northwestern Mediterranean Sea* » soumis à Environnemental Science & Pollution Research en septembre 2024.

### 4.1.1. Concentrations de DBC

Les concentrations de DBC dans la zone Rhône-Fos-Marseille en avril-mai 2022 variaient de 9.0 à 27.1 µg C $L^{-1}$, avec une valeur moyenne de 15.0 ± 5.1 µg C $L^{-1}$ (Fig. 29a; Tableau 7). Ces concentrations se situaient dans la gamme de concentrations rapportées pour des études utilisant la même méthode analytique et la même formule BPCA-to-DBC (Tableau 8). Elles étaient plus élevées que les concentrations déterminées dans les océans ouverts du Sud, du Pacifique et de l'Atlantique (Dittmar et Paeng, 2009; Ziolkowski et Druffel, 2010), mais similaires ou inférieures aux concentrations mesurées en zone côtière (Tableau 8) (Fang et al., 2021a; Marques et al., 2017; Zhang et al., 2023).

Il convient de noter que si les concentrations de DBC avaient été calculées en utilisant la formule de Dittmar (2008) (c'est-à-dire en utilisant les B3CA et B4CA en plus des B5CA et B6CA), les concentrations dans la zone Rhône-Fos-Marseille auraient été proches de celles observées en mer de Chine méridionale par Fang et al. (2017), et significativement plus élevées que celles mesurées dans l'océan Atlantique par Ziolkowski et Druffel (2010) (Tableau 8).

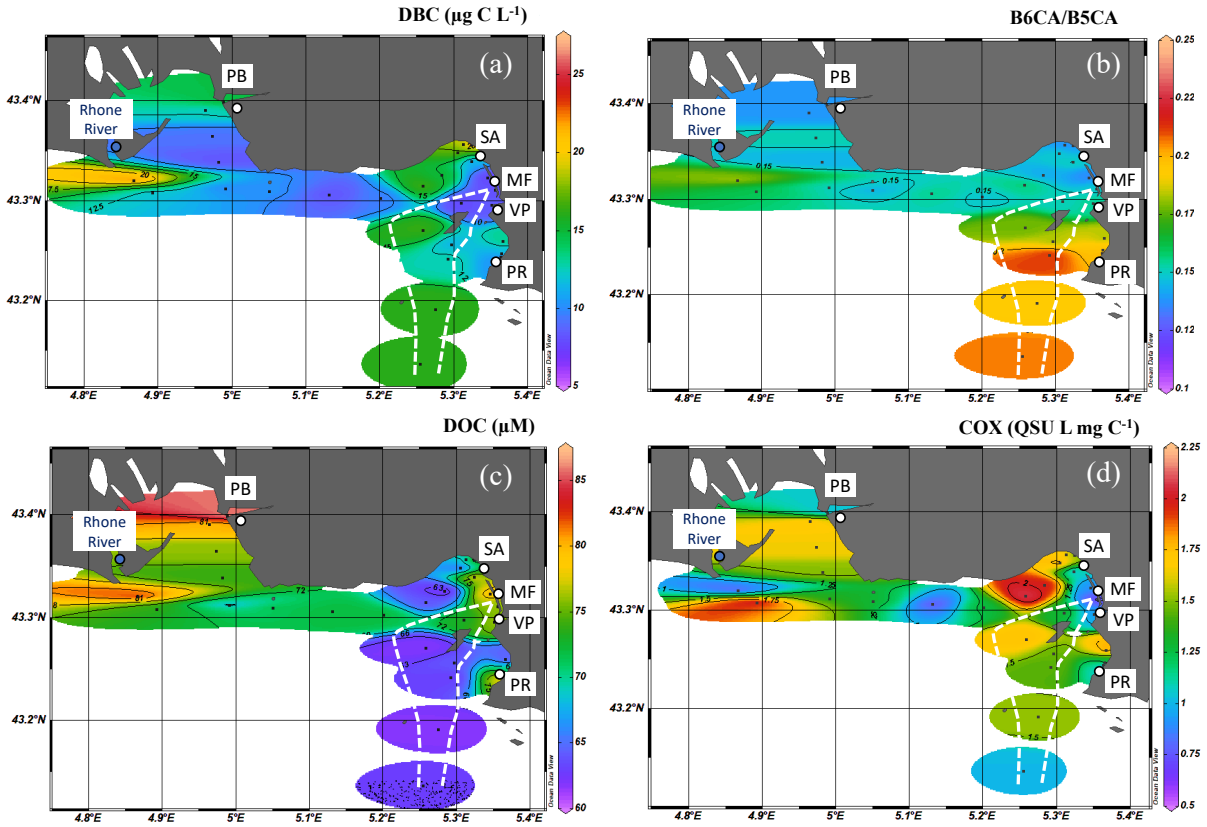



**Figure 29.** Distribution spatiale de (a) la concentration de DBC (µg C $L^{-1}$), (b) le ratio B6CA/B5CA, (c) la concentration de DOC (µM) et (d) l'indice de fluorescence COX (QSU L mg $C^{-1}$) déterminés dans la zone côtière Rhône-Fos-Marseille, en mer Méditerranée Nord Occidentale en avril-mai 2022. Les points noirs, blancs et bleus correspondent respectivement aux stations échantillonnées, aux principaux ports et à l'embouchure du Rhône, et les lignes blanches pointillées représentent les principales voies de navigation. Figure créée à l'aide du logiciel Ocean Data View (version 5.7.0, interpolation par moyenne pondérée) (Martinot et al., 2024, soumis).

Les concentrations de DBC étaient significativement plus élevées à l'embouchure du Rhône (M28 : 27.1 µg C $L^{-1}$) et dans les zones portuaires de SA (M16-M18 : 22.5 ± 2.6 µg C $L^{-1}$) et de PB (M25-M26 : 16.0 ± 2.6 µg C $L^{-1}$) que dans toutes les autres stations (13.3 ± 3.8 µg C $L^{-1}$) (t-test, $p < 0.05$) (Fig. 29a; Tableau 7). Un gradient décroissant de concentrations en DBC a été observé entre l'embouchure du Rhône et les stations situées à 3 km (M27 : 13.4 µg C $L^{-1}$) et 12 km (M22 : 11.4 µg C $L^{-1}$), suivant le gradient croissant de salinité enregistré à ces trois stations (M28 : 37, M27 : 37.5 et M22 : 38.3) (Fig. 29a; Tableau 7; Fig. 9).

**Tableau 7.** Température, salinité, concentration en Black Carbon dissous (DBC), ratio d'acides benzène polycarboxyliques B6CA/B5CA, concentration en carbone organique dissous (DOC), ratio DBC/DOC (%) et indices optiques de la matière organique dissoute ($SUVA_{254}$, BIX, HIX, COX) déterminés sur les échantillons d'eau de mer collectés à 1 m de profondeur à chaque station visitée dans la zone côtière Rhône-Fos-Marseille en avril-mai 2022.

| Station | Latitude (°N) | Longitude (°E) | Température (°C) | Salinité | DBC (µg C $L^{-1}$) | B6CA/B5CA | DOC (µM) | DBC/DOC (%) | $SUVA_{254}$ (L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$) | BIX | HIX | COX (QSU L mg $C^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| M1 (PR) | 43.24 | 5.36 | 17.63 | 38.15 | 9.9 | 0.20 | 85 | 1.0 | 2.23 | 1.13 | 1.60 | 0.88 |
| M2 (PR) | 43.25 | 5.36 | 17.57 | 38.24 | 15.4 | 0.20 | 64 | 2.0 | 2.32 | 1.13 | 1.68 | 1.42 |
| M3 | 43.24 | 5.29 | 18.26 | 38.24 | 15.0 | 0.21 | 63 | 2.0 | 2.12 | 1.03 | 1.61 | 1.44 |
| M4 | 43.19 | 5.27 | 18.96 | 38.22 | 19.3 | 0.19 | 62 | 2.6 | 2.05 | 1.40 | 1.63 | 1.53 |
| M5 | 43.14 | 5.25 | 18.96 | 38.22 | 19.4 | 0.21 | 63 | 2.6 | 2.90 | 1.41 | 1.63 | 1.01 |
| M6 (PR) | 43.26 | 5.37 | 18.96 | 38.22 | 15.8 | 0.18 | 64 | 2.1 | 2.32 | 1.12 | 1.71 | 1.83 |
| M7 | 43.26 | 5.30 | 18.12 | 38.24 | 13.5 | 0.18 | 64 | 1.8 | 1.94 | 1.11 | 1.57 | 1.47 |
| M8 | 43.27 | 5.26 | 18.07 | 38.21 | 19.7 | 0.18 | 62 | 2.6 | 2.11 | 1.59 | 1.66 | 1.74 |
| M9 (VP) | 43.30 | 5.35 | 17.31 | 38.10 | 9.8 | 0.16 | 76 | 1.1 | 2.20 | 1.24 | 1.43 | 0.95 |
| M10 | 43.30 | 5.31 | 17.59 | 38.26 | 9.2 | 0.15 | 73 | 1.0 | 2.03 | 1.11 | 1.47 | 1.30 |
| M11 (VP) | 43.31 | 5.36 | 17.34 | 38.23 | 9.6 | 0.15 | 76 | 1.1 | 2.21 | 1.28 | 1.25 | 0.72 |
| M12 | 43.31 | 5.26 | 17.75 | 38.22 | 19.8 | 0.16 | 64 | 2.6 | 1.87 | 1.37 | 1.64 | 2.07 |
| M13 (MF) | 43.32 | 5.35 | 17.35 | 38.24 | 9.0 | 0.14 | 79 | 0.9 | 2.44 | 1.22 | 1.34 | 0.92 |
| M14 | 43.33 | 5.28 | 17.41 | 38.23 | 17.9 | 0.14 | 62 | 2.4 | 1.97 | 1.70 | 1.65 | 2.00 |
| M15 | 43.34 | 5.32 | 17.59 | 38.27 | 12.0 | 0.15 | 78 | 1.3 | 2.30 | 1.07 | 1.41 | 1.00 |
| M16 (SA) | 43.36 | 5.32 | 18.35 | 38.20 | 25.4 | 0.14 | 76 | 2.8 | 2.54 | 1.24 | 1.54 | 1.41 |
| M17 (SA) | 43.36 | 5.31 | 17.61 | 38.14 | 21.7 | 0.14 | 67 | 2.7 | 2.05 | 1.17 | 1.74 | 1.76 |
| M18 | 43.35 | 5.30 | 17.68 | 38.27 | 20.4 | 0.15 | 64 | 2.7 | 1.97 | 1.11 | 1.62 | 1.85 |
| M19 | 43.30 | 5.20 | 18.22 | 38.27 | 11.3 | 0.15 | 72 | 1.3 | 1.89 | 1.54 | 1.29 | 1.27 |
| M20 | 43.31 | 5.13 | 17.86 | 38.26 | 9.4 | 0.16 | 72 | 1.1 | 2.82 | 1.24 | 1.44 | 0.76 |
| M21 | 43.31 | 5.05 | 18.44 | 38.23 | 12.2 | 0.14 | 72 | 1.4 | 2.31 | 1.14 | 1.20 | 1.29 |
| M22 | 43.31 | 4.99 | 18.68 | 38.29 | 11.4 | 0.15 | 67 | 1.4 | 2.73 | 1.34 | 1.27 | 1.31 |

| | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| M23 | 43.34 | 4.98 | 18.64 | 38.30 | 9.7 | 0.14 | 74 | 1.1 | 2.09 | 1.27 | 1.46 | 1.52 |
| M24 | 43.36 | 4.97 | 18.21 | 38.27 | 10.9 | 0.15 | 76 | 1.2 | 1.84 | 1.08 | 1.64 | 1.66 |
| M25 (PB) | 43.39 | 4.96 | 18.23 | 37.50 | 14.1 | 0.14 | 79 | 1.5 | 2.06 | 2.46 | 1.22 | 1.82 |
| M26 (PB) | 43.40 | 4.99 | 18.12 | 36.25 | 17.8 | 0.14 | 87 | 1.7 | 2.61 | 1.19 | 1.37 | 0.93 |
| M27 | 43.31 | 4.89 | 17.75 | 37.54 | 13.4 | 0.16 | 74 | 1.5 | 2.21 | 2.59 | 1.31 | 2.44 |
| M28 (Rhône) | 43.32 | 4.87 | 17.71 | 36.97 | 27.1 | 0.18 | 83 | 2.7 | 3.38 | 1.10 | 1.92 | 0.74 |

**Tableau 8.** Comparaison des concentrations de DBC déterminées dans la zone côtière Rhône-Fos-Marseille, en mer Méditerranée Nord Occidentale (la présente étude), l'estuaire de la rivière Van Uc, dans le delta du fleuve Rouge, au Nord Vietnam (voir section 4.2) et le bras principal du fleuve Rouge (voir section 5.1) avec celles rapportées dans la littérature pour l'océan ouvert, d'autres environnements côtiers et d'autres systèmes fluviaux. Tableau traduit et modifié à partir de Martinot et al. (2024, soumis).

| Zone d'étude | DBC (µg C $L^{-1}$) | Méthode | Référence |
|---|---|---|---|
| Mer Méditerranée NO côtière | **9-27.1** | SPE-BPCA | Cette étude (section 4.1) |
| Estuaire rivière Van Uc (Vietnam) | **3.6-66** | SPE-BPCA | Cette étude (section 4.2) |
| Fleuve Rouge, bras principal | **9.60-86.4** | SPE_BPCA | Cette étude (section 5.1) |
| Ruisseau mineur arctique | **20-880** | SPE-BPCA[a] | Guggenberger et al. (2008) |
| Océan austral | *7.32-10.56* | SPE-FT-ICR-MS[b] | Dittmar et Paeng (2009) |
| Océan Atlantique et Pacifique | *0.96-3.96* | UDOM-BPCA[c] | Ziolkowski et Druffel (2010) |
| Rivières mondiales | **2-2770** | SPE-BPCA | Jaffé et al. (2013) |
| Rivières arctiques | **140-1510** | SPE-BPCA | Stubbins et al. (2015) |
| Océan Atlantique, Pacifique et Arctique | *16.8-31.2* | SPE-BPCA | Coppola et Druffel (2016) |
| Océans Pacifique et Arctique | *4.8-15.48* | SPE-BPCA | Nakane et al. (2017) |
| Mer de Chine méridionale | *5.88-19.2* | SPE-BPCA | Fang et al. (2017) |
| Baie d'Halong, Vietnam | *16.8-78* | SPE-BPCA | Mari et al. (2017) |
| Rivière Paraíba do Sul (PSR)<br>Affluents PSR<br>Estuaires PSR | **60-420**<br>**36-312**<br>**3.6-204** | SPE-BPCA | Marques et al. (2017) |
| Mer côtière de Chine | *50.28-111.24* | SPE-BPCA | Fang et al. (2021a) |
| Océan Arctique occidental et mer de Béring | *8.04-50.16* | SPE-BPCA | Fang et al. (2021b) |
| Mer de Chine orientale côtière | *20.04-230.04* | SPE-BPCA | Zhang et al. (2023) |
| Estuaire du sud-est de la Chine | **31.2-85.2** | SPE-BPCA | Zhao et al. (2023) |

[a]SPE-BPCA signifie que le DBC a été extrait en utilisant une cartouche de phase solide et déterminé en utilisant la méthode BPCA.
[b]SPE-FT-ICR-MS signifie que le DBC a été extrait en utilisant une cartouche de phase solide et quantifié par FT-ICR-MS.
[c]UDOM-BPCA signifie que le DBC a été extrait du DOC ultrafiltré (≥1000 Da) et déterminé en utilisant la méthode BPCA.
Les concentrations de DBC en gras ont été déterminées par la formule de Stubbins et al. (2015).
Les concentrations de DBC en italique ont été déterminées par la formule de Dittmar (2008).

Dans les zones de SA et PB, les concentrations de DBC diminuaient d'environ 20% en moyenne de l'intérieur à l'extérieur du port. Enfin, les échantillons prélevés le long des principales voies maritimes de la baie de Marseille présentaient également des concentrations significativement plus élevées (M3, M6-M8, M12, M14, M18 : 17.4 ± 2.7 µg C $L^{-1}$) que ceux

prélevés dans des stations côtières peu fréquentées (M10, M19-M24 : 10.6 ± 1.16 µg C $L^{-1}$) (t-test, $p < 0.05$) (Fig. 29a; Tableau 7).

Les ratios moléculaires B6CA/B5CA déterminés à partir de nos échantillons variaient de 0.14 à 0.21, avec une valeur moyenne de 0.16 ± 0.02 (Fig. 29b; Tableau 7). Ces valeurs étaient dans la gamme rapportée dans la littérature, et proches de celles mesurées dans le sud-est de la Chine pendant la saison sèche (Zhang et al., 2023) et dans les rivières arctiques (Stubbins et al., 2015). Les stations affichant les ratios les plus élevés étaient M3 (0.21), située à 6 km de la côte, les stations situées sur les principales voies de navigation (M3-M5, M7-M8, M12, M14 : 0.20 ± 0.03), et l'embouchure du Rhône (M28 : 0.18). Un gradient décroissant du ratio B6CA/B5CA a été observé de l'embouchure du fleuve aux stations situées à 3 km (M27 : 0.16) et à 12 km (M22 : 0.16). Enfin, les zones portuaires de SA et PB, caractérisées par de fortes concentrations de DBC, présentaient toutes deux l'un des ratios les plus bas de l'ensemble des données (0.14) (Fig. 29b; Tableau 7).

La concentration de DOC variait de 62 à 87 µM avec une valeur moyenne de 71 ± 8 µM (Fig. 29c; Tableau 7) et montrait un fort découplage avec les concentrations de DBC. Les valeurs maximales ont été mesurées à PR (M1 : 85 µM), PB (M26 : 87 µM) et à l'embouchure du Rhône (M28 : 83 µM). Les stations échantillonnées entre 500 m et 1 km des principaux ports de Marseille exhibaient des concentrations globalement plus élevées (78 ± 4 µM) que le reste de la baie, avec un gradient décroissant de DOC observé de la côte vers le large. Cependant, certaines stations échantillonnées à l'intérieur du port (M2, M16, M17; profondeur de la colonne d'eau < 5 m) présentaient des concentrations de DOC bien plus faibles, et la zone sud des principales voies de navigation affichait également concentrations de DOC les plus faibles de la zone d'étude (63 ± 1 µM) (Fig. 29c; Tableau 7).

Le ratio DBC/DOC variait de 0.95 à 2.8% avec une moyenne de 1.8 ± 0.7% (Tableau 7). Sa variation suivait globalement celle de la concentration de DBC, avec des valeurs maximales à l'embouchure du Rhône (2.7%) et une diminution avec l'augmentation de salinité. Ces valeurs de ratio sont cohérentes avec celles précédemment rapportées dans les zones côtières. Elles étaient en moyenne plus élevées que celles de la mer de Chine méridionale (1.3%) (Fang et al., 2017; Fang et al., 2021a). SA (M16) et les principales voies de navigation ont également montré des ratios DBC/DOC plus élevés que le reste de la baie (2.8 et 2.3 ± 0.7%, respectivement). En revanche, la région de PB affichait un ratio DBC/DOC relativement faible de 1.7%, tandis que les ports de MF, VP et PR présentaient les ratios les plus bas (1.1 ± 0.13%). Bien que la plupart des travaux menés dans les rivières et les estuaires avec des salinités

beaucoup plus faibles rapportent des ratios DBC/DOC plus élevés, la majorité d'entre eux soulignent la diminution de ce ratio avec l'augmentation de la salinité (Marques et al., 2017; Zhao et al., 2023), ce qui a également été observé dans notre étude.

Les concentrations de DBC enregistrées ici suggèrent que le Rhône pourrait être une source significative de DBC dans la région Rhône-Fos-Marseille. Le DBC transporté par le fleuve présentait, d'un point de vue moléculaire, un degré de condensation aromatique (donné par le ratio B6CA/B5CA) cohérent avec celui du DBC mesuré dans les rivières pendant les périodes sèches (Bao et al., 2023; Zhang et al., 2023; Zhao et al., 2023). Étant donné que les campagnes d'échantillonnage ont été réalisées au printemps, une période caractérisée par de faibles précipitations et donc un débit minimal du Rhône, nous pouvons supposer que les apports d'eau douce plus importants à d'autres périodes de l'année (*i.e.*, automne-hiver) conduisent à des augmentations des teneurs en DBC dans cette zone côtière. Les concentrations en DBC relativement élevées au site portuaire PB peuvent être considérées à la lumière du trafic maritime généré par le port, mais aussi des apports d'eau douce de l'étang de Berre *via* le canal de Caronte (Ferretto et al., 2017). Les différences dans les ratios B6CA/B5CA entre l'embouchure du Rhône et l'entrée du canal de Caronte est compréhensible compte tenu des différences de fréquentation du trafic maritime et de l'origine de l'eau douce dans ces deux régions, suggérant différentes sources de DBC, y compris les dépôts atmosphériques. Le gradient de concentration mesuré à PB et SA suggère que ces deux zones portuaires étaient responsables, dans une certaine mesure, des variations des concentrations de DBC à petite échelle dans ces zones.

Enfin, les principales voies de navigation de la baie (M1-M8) étaient caractérisées par des concentrations de DBC significativement élevées avec un haut degré de condensation aromatique (c'est-à-dire un ratio B6CA/B5CA élevé). De manière surprenante, ces ratios élevés ($0.19 \pm 0.01$) mesurés dans les principales voies de navigation étaient concentrés dans les stations du sud de la baie de Marseille, et aucun gradient de ces ratios n'était détectable entre les ports fréquentés et le sud de la baie. Bien qu'un gradient ait effectivement été observé dans les zones affectées par les apports d'eau douce (B6CA/B5CA variant de 0.14 à 0.18 à l'embouchure du Rhône) et autour des ports (B6CA/B5CA variant de 0.14 à 0.16 pour SA et VP), la variabilité du degré de condensation aromatique du DBC mesurée dans la zone Rhône-Fos-Marseille souligne globalement qu'une diversité de sources de DBC existe dans cet environnement.

### 4.1.2. Propriétés optiques de la DOM

L'indice COX variait de 0.72 à 2.44 QSU L mg $C^{-1}$, avec une valeur moyenne de 1.39 ± 0.45 QSU L mg $C^{-1}$ et était du même ordre de grandeur que celui présenté par Martinot et al. (2024) dans la même zone (Fig. 29d; Tableau 7). Une valeur particulièrement basse de COX a été mesurée à l'embouchure du Rhône (0.74 QSU L mg $C^{-1}$), associée à une forte intensité de fluorescence de matériel de type humique. De plus, un COX légèrement plus élevé a été observé dans le port de PB (0.93 QSU L mg $C^{-1}$), c'est-à-dire à l'entrée du canal de Caronte combinant à la fois des apports d'eau douce et du trafic maritime. Des valeurs de COX particulièrement élevées ont été enregistrées à 5 km de la côte, près de SA dans la baie de Marseille (M12 et M14 : ~2.0 QSU L mg $C^{-1}$) (Fig. 29d; Fig. 9; Tableau 7), ainsi qu'autour de l'archipel du Frioul où les concentrations en DBC étaient également plus élevées que dans le reste de la baie. En général, dans la baie de Marseille, les variations de COX suivaient de près les variations des concentrations en DBC (Fig. 29a, c). Cependant, dans la région Rhône - canal de Caronte, les stations de plus fortes concentrations en DBC (M28, M27) affichaient des valeurs de COX plus faibles. Dans cette zone, où une salinité plus faible soulignait également les apports d'eau douce de l'étang de Berre et du Rhône, l'indice COX semblait suivre les variations des ratios B6CA/B5CA (Fig. 29b, c).

Les valeurs de $SUVA_{254}$ et de HIX déterminées dans la zone Rhône-Fos-Marseille allaient de 1.84 à 3.38 L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$ et de 1.20 à 1.92 L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$, respectivement. Des valeurs élevées ont été trouvées aux stations impactées par le Rhône et le canal de Caronte, confirmant la contribution des substances humiques d'origine terrestre à ces stations (Tableau 7) (Para et al., 2010; Ferretto et al., 2017). Les stations autour de PB montraient également des valeurs de $SUVA_{254}$ plus élevées que celles du centre de la baie de Marseille, soulignant les apports d'eau douce de l'étang de Berre *via* le canal de Caronte et du Rhône. Bien que des valeurs de $SUVA_{254}$ plus importantes aient été mesurées à MF, VP et PR (moyenne : 2.3 ± 0.1 L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$), elles étaient en moyenne seulement 13% plus élevées que celles enregistrées aux stations le long des principales voies de navigation. Les valeurs de BIX varient de 1.03 à 2.6 et étaient les plus élevées à 10 km de l'embouchure du Rhône et à 5 km de l'entrée du canal de Caronte, suggérant une activité biologique printanière, déjà observée par Ferretto et al. (2017).

Les corrélations de Pearson réalisées sur l'ensemble des données excluant les stations impactées par des apports d'eau douce (matériel humique terrestre) (M26-M28; Fig. 9; Tableau 9) ont indiqué des corrélations positives significatives entre la concentration en DBC et l'indice

COX, et entre la concentration en DBC et l'indice HIX (R = 0.59, n = 25, p = 0.002), tandis que les corrélations étaient très faibles avec BIX et $SUVA_{254}$ (Tableau 9). Dans un deuxième temps, la station située à l'intérieur du port de Saumaty (M16) a également été exclue des corrélations (Fig. 9). En effet, cette station, échantillonnée à 1 m de profondeur dans une colonne d'eau de 5 m, est suspectée d'avoir reçu des apports de matériel humique provenant de la remise en suspension des sédiments causée par les manœuvres du navire en faible profondeur. Étant donné que l'indice COX est particulièrement sensible à la présence de substances humiques, il est probable que la valeur très basse de COX enregistrée à M16 soit due à la présence de matériel fluorescent de type humique provenant des sédiments remis en suspension.

**Tableau 9.** Corrélations de Pearson entre les concentrations de DBC et divers indices optiques de la DOM (COX, HIX, BIX, $SUVA_{254}$) déterminés aux stations sélectionnées. Les valeurs de p significatives sont indiquées en gras.

| | | COX | | HIX | | BIX | | $SUVA_{254}$ | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | *p* | *R* | *p* | *R* | *p* | *R* | *p* | *R* |
| Stations avec apport d'eau douce exclues | DBC (n = 25) | **0.002** | 0.59 | **0.002** | 0.59 | 0.51 | 0.14 | 0.82 | 0.05 |
| | | *p* | *R* | *p* | *R* | *p* | *R* | *p* | *R* |
| Stations avec apport d'eau douce + M16 exclues | DBC (n = 24) | **0.000** | 0.67 | **0.001** | 0.65 | 0.40 | 0.18 | 0.38 | 0.19 |

Par conséquent, en excluant M16, les corrélations entre la concentration de DBC et l'indice COX, ainsi qu'entre la concentration de DBC et l'indice HIX étaient plus élevées (R = 0.67-0.65, n = 24, $p \leq 0.001$), tandis que les corrélations entre les concentrations de DBC et les indices BIX et $SUVA_{254}$ restaient très faibles (Tableau 9). Bien que l'indice COX est supposé corriger l'influence des substances humiques sur le signal de fluorescence des produits de combustion, il n'a pas montré de corrélation plus forte que le HIX avec la concentration en DBC dans cette étude. Il serait donc pertinent d'envisager une modification du COX à l'avenir afin de mieux isoler la contribution des substances non humiques à l'intensité du signal de fluorescence ciblé. D'autre part, une application plus étendue du COX dans des zones côtières marines avec de faibles niveaux de substances humiques pourrait permettre de mieux évaluer son efficacité.

# 4.2. Estuaire de la rivière Van Uc

## 4.2.1. Concentrations de DBC et DOC

**Concentrations de DBC.** Les concentrations de DBC déterminées dans la rivière et l'estuaire Van Uc variaient de 8.4 à 66 µg C $L^{-1}$ (moyenne : 27.9 ± 12.7 µg C $L^{-1}$, n = 53) en mars 2023, et de 3.6 à 50.4 µg C $L^{-1}$ (moyenne 27.08 ± 11.4 µg C $L^{-1}$, n = 21) en novembre 2023 (Fig. 30a).

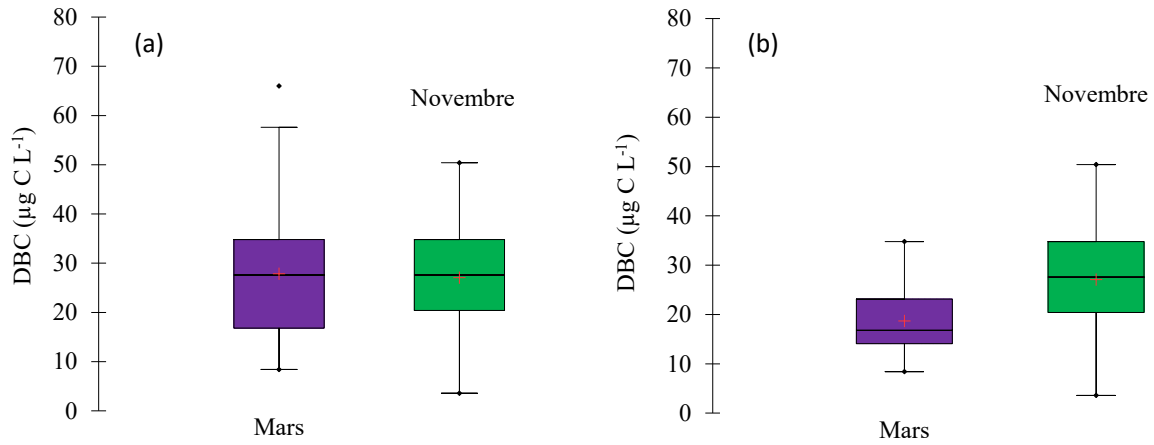



**Figure 30.** Boxplots des concentrations de DBC (µg C $L^{-1}$) déterminées dans la rivière et l'estuaire Van Uc (delta du fleuve Rouge, golfe du Tonkin, Nord Vietnam) en mars et novembre 2023 pour toutes les stations visitées (a) et pour les stations dont les salinités étaient comprises entre 23 et 32 (b).

Ces valeurs se situaient dans les gammes de concentrations rapportées pour des études utilisant la même méthode analytique et la même formule BPCA-to-DBC et étaient significativement plus élevées que celle mesurées en Méditerranée côtière Nord Occidentale dans la section précédente (section 4.1, Tableau 8). Ces concentrations étaient également plus élevées que celles mesurées dans les océans ouverts du Sud, du Pacifique et de l'Atlantique (Dittmar et Paeng, 2009; Ziolkowski et Druffel, 2010), mais similaires à celles rapportées par Zhao et al. (2023) dans l'estuaire de la rivière Jiulong situé au sud-est de la Chine. La salinité de l'ensemble des échantillons était comprise entre 0 et 32 (Fig. 30a). Si les stations de rivière n'ont pas été échantillonnées en novembre, une différence significative a néanmoins été observée entre les concentrations de DBC de mars (18.7 ± 8 µg C $L^{-1}$) et celles de novembre (27.1 ± 11.4 µg C $L^{-1}$) pour les stations de salinités « marines », *i.e.*, comprises entre 23 et 32 (t-test, $p < 0.05$, n = 21) (Fig. 30b).

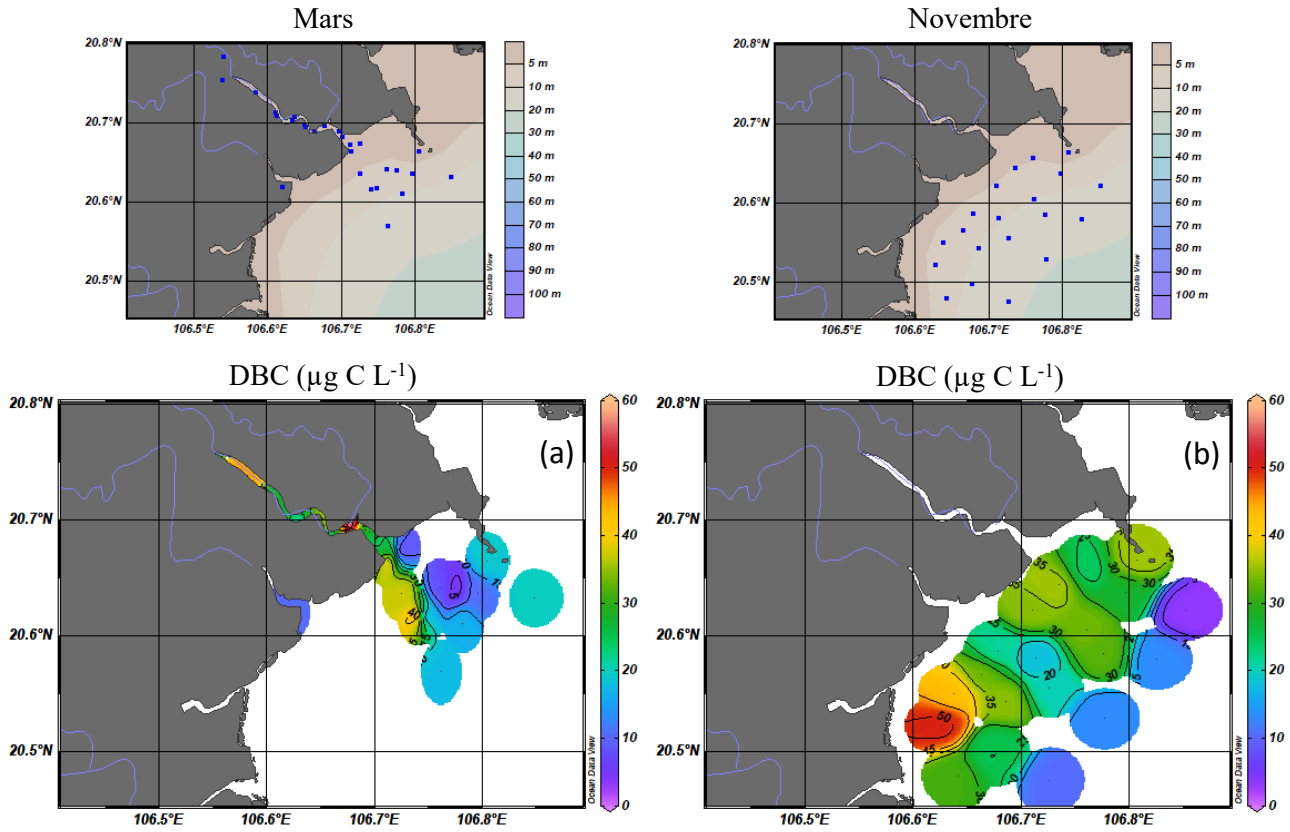



**Figure 31.** Distribution spatiale de la concentration de DBC (µg C $L^{-1}$) déterminée en mars (a) et en novembre 2023 (b) dans la rivière et l'estuaire Van Uc (delta du fleuve Rouge, golfe du Tonkin, Nord Vietnam). Figure créée à l'aide du logiciel Ocean Data View (version 5.7.0, interpolation par moyenne pondérée).

Au cours de la campagne de mars, plusieurs transects amont-aval de la rivière Van Uc ont été effectués à 1) marée montante, 2) marée descendante et 3) étale de marée. La majorité des échantillons fluviaux ont été prélevés lors de la marée montante. Si les intrusions d'eau de mer ont pu être observées par la mesure de salinité, elles n'ont pas affecté la couche supérieure (moins de 1.5 m de profondeur) dans laquelle les échantillons d'eau ont été prélevés. En mars, la concentration maximale de DBC (57.6 µg C $L^{-1}$) a été mesurée à marée montante dans la rivière Van Uc, près d'une berge accueillant l'un de ses petits affluents (Fig. 31a). Ce pic dans les concentrations de DBC à l'intérieur de la rivière semblait être très localisé (Fig. 31a). En novembre, une concentration maximale de 50.4 µg C $L^{-1}$ a été relevée au sud-ouest de la baie, dans le panache de la rivière Diêm Hô. Une dilution de cette eau chargée en DBC semblait se produire vers le Nord-Est, comme indiqué par les concentrations des stations environnantes (Fig. 31b). Le panache de la rivière Van Uc montrait des concentrations relativement homogènes, autour de 30-35 µg C $L^{-1}$, en mars et novembre. Concernant les stations situées au nord de la baie, près du port de Do Son, des concentrations significativement plus élevées ont été observées en novembre, confirmant la tendance décrite dans la Fig. 30. Les ratios

B6CA/B5CA variaient de 0.12 à 0.45 (moyenne : 0.253 ± 0.08) en mars et de 0.12 à 0.32 (moyenne : 0.243 ± 0.05) en novembre (Fig. 32), et se situaient dans la gamme de ratios donnée par Zhang et al. (2023) pour la mer de Chine Sud-Est. Aucune différence significative n'est apparue entre mars et novembre pour ce ratio.

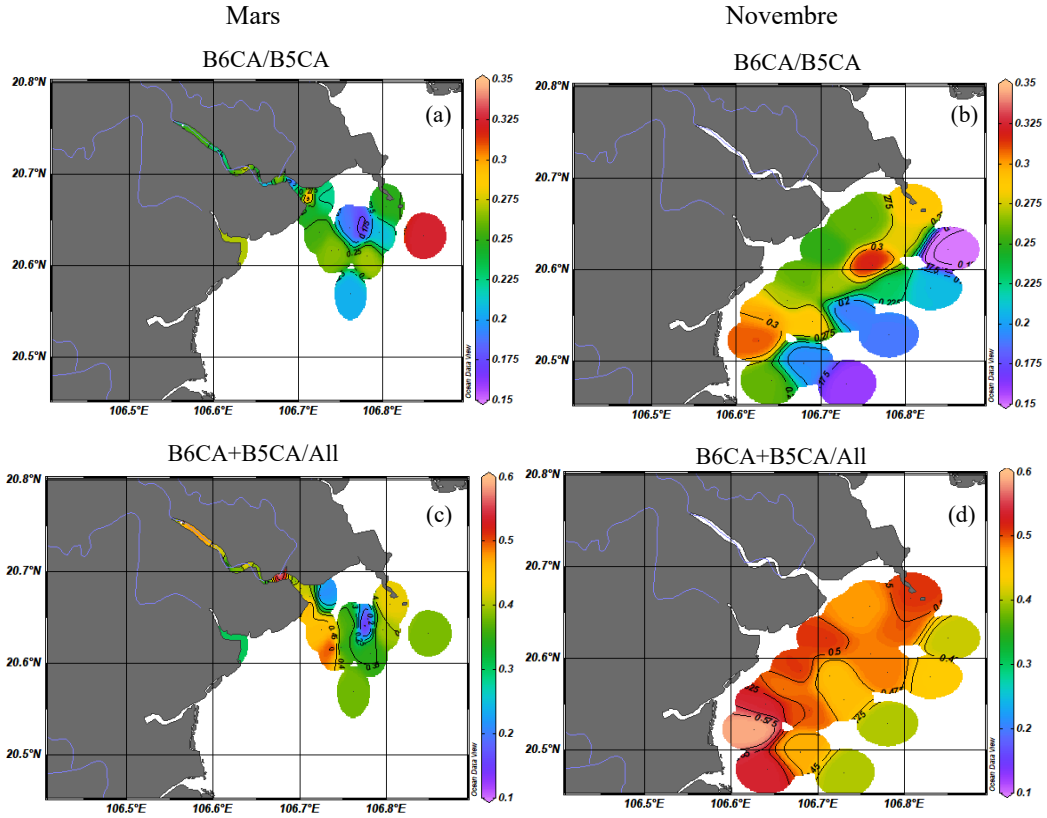



**Figure 32.** Distribution spatiale des ratios B6CA/B5CA (a, b) et des ratios B6CA+B5CA/all (c, d) determinés en mars et novembre 2023 dans la rivière et l'estuaire Van Uc (delta du fleuve Rouge, golfe du Tonkin, Nord Vietnam). Figure créée à l'aide du logiciel Ocean Data View (version 5.7.0, interpolation par moyenne pondérée).

Les ratios B6CA+B5CA/all variaient de 0.14 à 0.73 (moyenne : 0.40 ± 0.11) en mars et de 0.40 à 0.59 (moyenne : 0.48 ± 0.05) en novembre (Fig. 32). Ils étaient donc significativement plus élevés en novembre qu'en mars. De manière générale, la distribution spatiale du ratio B6CA+B5CA/all suivait celle des concentrations de DBC aux deux périodes échantillonnées (Fig. 32). D'autre part, nous remarquons que la partie fluviale et estuarienne échantillonnée en mars montrait des ratios très variables sur une échelle spatiale relativement petite. La variabilité de ces ratios, synonyme d'une variabilité dans le degré de condensation aromatique du DBC, suggère qu'une diversité de sources de ce dernier existe dans cette région.

**Concentrations de DOC.** Les concentrations de DOC variaient de 82 à 123 µM et ne montraient pas de différences significatives entre mars (102.1 ± 10.7 µM) et novembre (102.7 ± 9.8 µM). Elles étaient globalement plus faibles que celles rapportées dans la littérature pour le système deltaïque du fleuve Rouge (Le et al., 2017) (Fig. 33a).

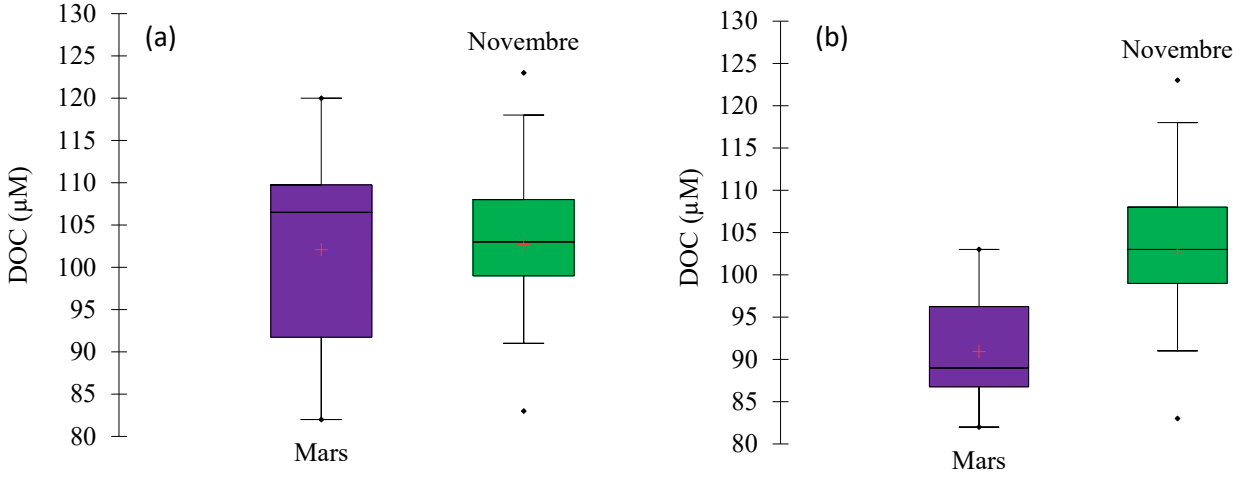



**Figure 33.** Boxplots des concentrations de DOC (µM) déterminées dans la rivière et l'estuaire Van Uc (delta du fleuve Rouge, golfe du Tonkin, Nord Vietnam) en mars et novembre 2023 pour toutes les stations visitées (a) et pour les stations dont les salinités étaient comprises entre 23 et 32 (b).

Comme pour le DBC, les concentrations de DOC étaient significativement plus élevées en novembre (102.7 ± 9.8 µM) qu'en mars (90.9 ± 6.6 µM) pour les échantillons dont la salinité était comprise entre 23 et 32 (t-test, $p < 0.05$, $n = 24$) (Fig. 33b). En mars, la teneur maximale en DOC était enregistrée dans la partie la plus en amont du fleuve (116 µM, station non visible sur le fond de carte proposé par Ocean Data View), et un gradient décroissant était observé jusqu'à son embouchure (101 µM) (Fig. 34a). Le panache du fleuve était marqué par des concentrations plus élevées que le reste de la baie et ce, aux deux mois échantillonnés. En novembre, où le fleuve n'a pas été échantillonné, la concentration maximale (123 µM) se situait au sud-ouest de l'embouchure et correspondait probablement au panache de la rivière Van Uc qui se dirigeait vers le Sud-Ouest en suivant la côte comme décrit par Nguyen-Duy et al. (2021) (Fig. 34b). L'embouchure de la rivière Diêm Hô, au sud-ouest de la baie, était également marquée par des concentrations plus élevées en DOC en novembre (113 µM) (Fig. 34b). Il est important de noter que, si la rivière Van Uc domine la rivière Diêm Hô en terme de débit, celle-ci est moins impactée par les intrusions d'eau de mer et par les marées diurnes de la zone, ce qui explique notamment que les salinités les plus faibles aient été mesurées à son embouchure

au mois de novembre (Annexe 6). En mars et en novembre, les concentrations de DOC diminuaient de la côte vers le large, alors qu'elles étaient plus importantes en novembre qu'en mars pour les stations situées à plus d'1 km de la côte (Fig. 33, Fig. 34).

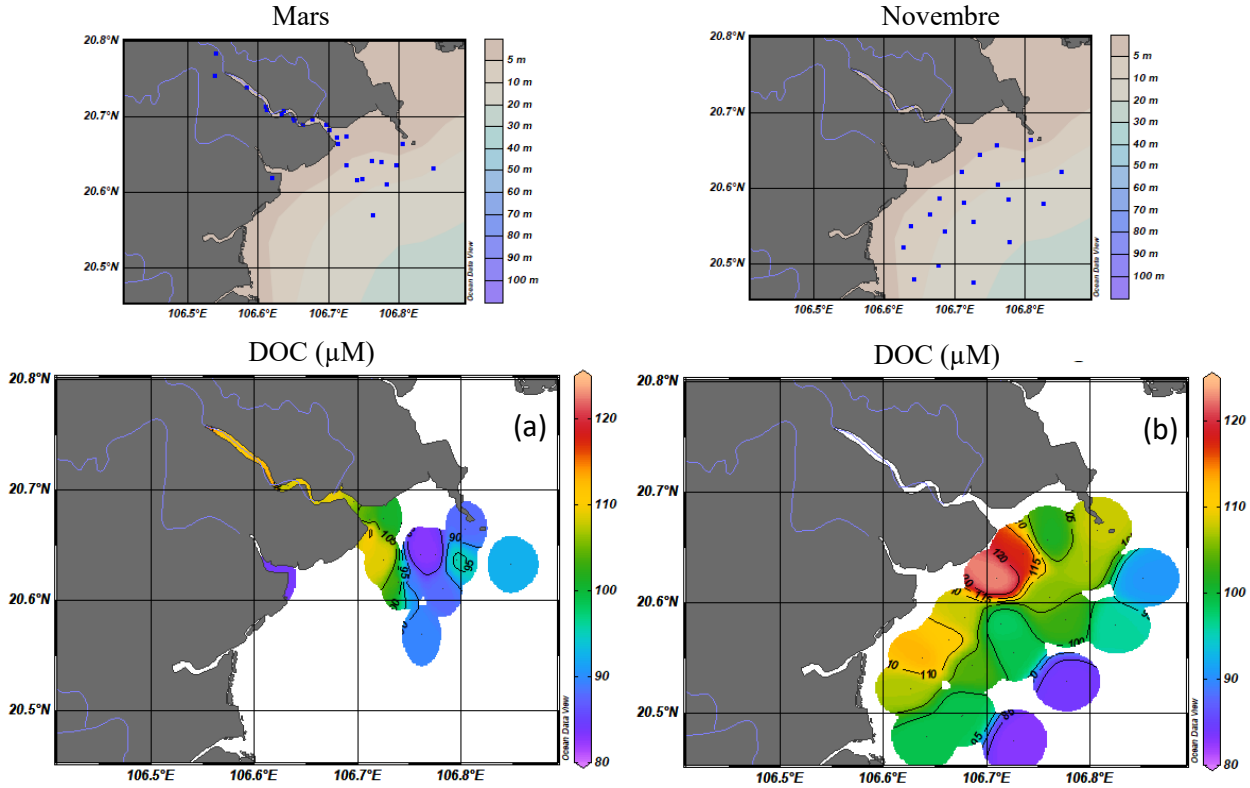



**Figure 34.** Distribution spatiale de la concentration de DOC (µM) déterminée en mars (a) et en novembre 2023 (b) dans la rivière et l'estuaire Van Uc (delta du fleuve Rouge, golfe du Tonkin, Nord Vietnam). Figure créée à l'aide du logiciel Ocean Data View (version 5.7.0, interpolation par moyenne pondérée).

Les ratios DBC/DOC s'échelonnaient de 0.77 à 5.09% (moyenne : 2.22 ± 0.93%) en mars et de 0.33 à 3.93% (moyenne : 2.15 ± 0.81%) en novembre, et se trouvaient donc dans la gamme des ratios observés pour l'océan global (2% en moyenne, d'après Dittmar et Paeng (2009)). A nouveau, les deux campagnes se sont avérées significativement différentes sur la gamme de salinité 23 à 32 (t-test, $p < 0.05$) : 24 en mars et 21 en novembre.

**Comportement du DBC et du DOC le long des gradients de salinité.** En mars, où le gradient de salinité était très prononcé (de 0 à 32), la concentration en DBC présentait une corrélation négative non significative avec la salinité ($R^2 = 0.3$, n = 58) (Fig. 35a), alors que la concentration en DOC exhibait une corrélation négative significative avec la salinité ($R^2 = 0.87$, n = 58) (Fig. 35c). En novembre, par contre, les concentrations en DBC et en DOC étaient toutes les deux corrélées négativement et significativement à la salinité

($R^2$ = 0.73 et 0.51, n = 21, respectivement) sur un gradient de 22 à 32 (Fig. 35b, d). Sur cette même gamme de salinité (22-32), la corrélation DBC *vs* salinité était toujours non significative en mars (Fig. non montrée). Le ratio DBC/DOC suivait les tendances observées pour la concentration en DBC, en présentant une corrélation significative avec la salinité en novembre ($R^2$ = 0.7) et non significative en mars (Fig. 35e, f).

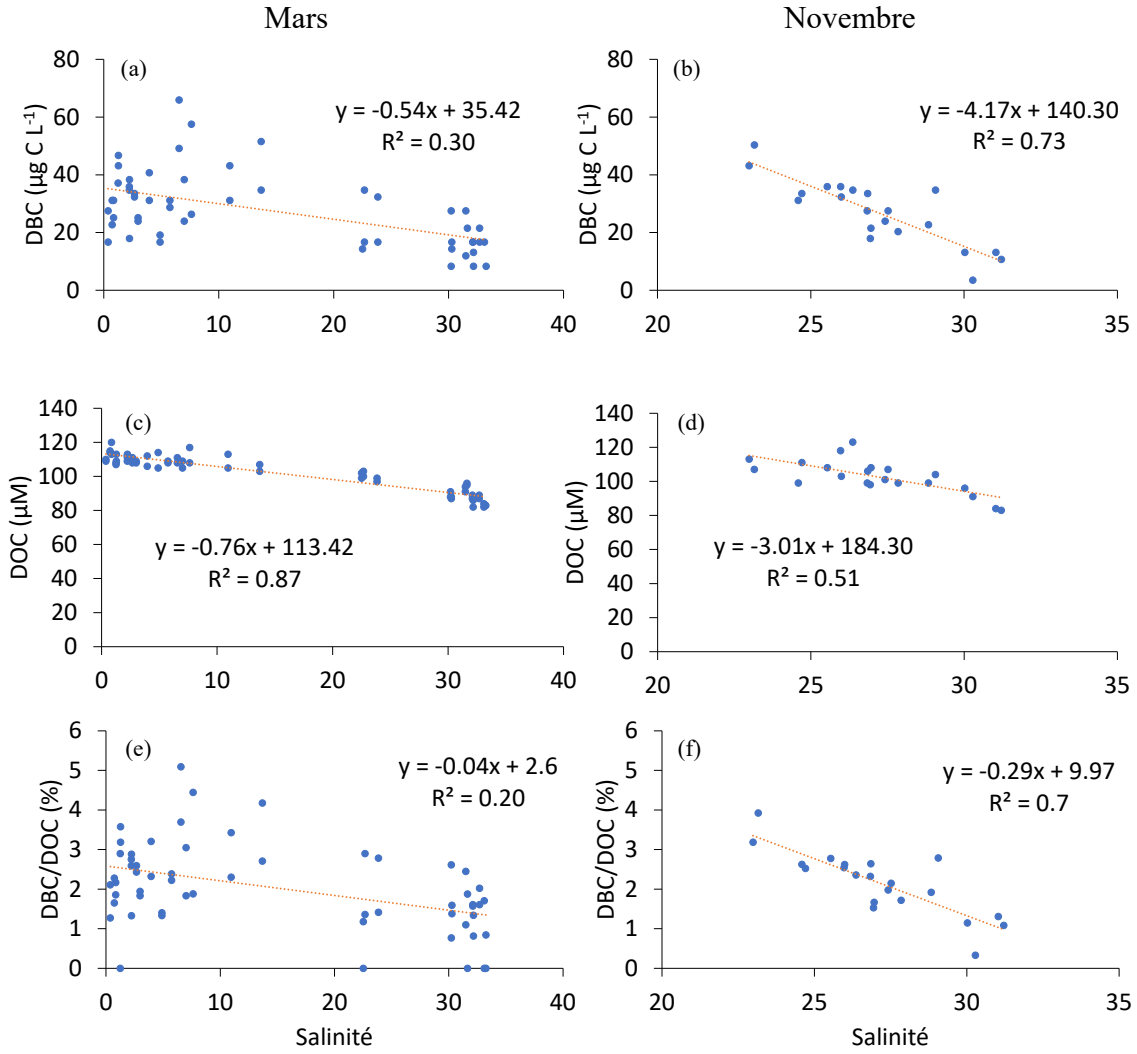



**Figure 35.** Relations linéaires négatives entre la salinité et la concentration de DBC (a, b) (en µg C $L^{-1}$), DOC (c, d) (en µM) et le ratio DBC/DOC (e, f) (en %) mesurés en mars et novembre 2023 dans la rivière et l'estuaire Van Uc.

De manière générale, la campagne de mars permet une étude plus complète de la distribution de ces concentrations sur le gradient de salinité. En séparant les 29 stations du mois de mars (échantillonnées en duplicata) en 4 groupes de salinité (S < 5, 5 < S < 15, 15 < S < 25 et S > 25), nous observons bien cette tendance non-linéaire des concentrations en DBC avec la salinité (Fig. 36a). Le groupe des échantillons de salinité comprise entre 5 et 15 présentait la plus grande variabilité dans les concentrations en DBC. Malgré cette variabilité, ce groupe

montrait des concentrations de DBC significativement plus élevées que les groupes des échantillons de salinité inférieure à 5 et de salinité supérieure à 15 (Fig. 36a). Il est important de rappeler que, si les cycles de marée montante et descendante n'ont pas impacté l'évolution spatiale de la salinité en surface, la majorité des échantillons fluviaux ont été prélevés lors de la marée montante.

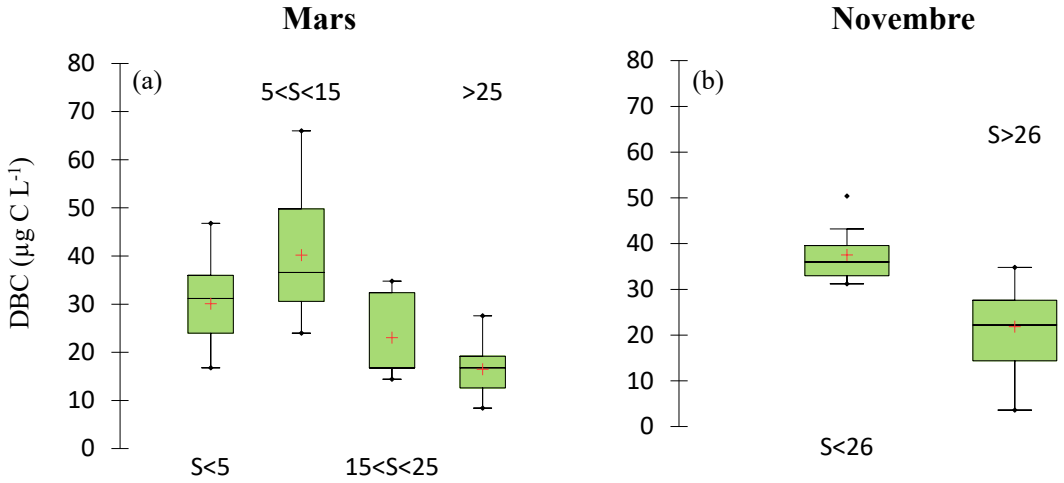



**Figure 36.** Boxplots des concentrations de DBC (µg C $L^{-1}$) mesurées à différentes salinités au mois de mars et novembre 2023.

Si la campagne de novembre n'a pas permis de couvrir un tel gradient de salinité, elle a néanmoins permis un échantillonnage conséquent du panache de la rivière Van Uc, qui s'étendait plus largement dans la baie à cette période, comme le montrent les mesures de salinité, pH et $O_2$ (Annexe 6). En novembre, une différence significative a également été observée entre les échantillons présentant une salinité inférieure à 26 et ceux présentant une salinité supérieure à 26 (Fig. 36b), confirmant la tendance évoquée précédemment d'une eau de rivière plus chargée en DBC. De tels gradients de concentrations entre la rivière et la mer, combinés aux corrélations négatives entre les concentrations de DBC et la salinité à des périodes d'échantillonnage différentes, indiquent que les apports fluviaux sont la principale source de DBC dans cette région côtière, confirmant les résultats de Fang et al. (2021a) en Mer de Chine.

Il est reconnu que la zone estuarienne est une zone dynamique sur le plan physique, subissant l'influence de marées diurnes et d'intrusions d'eau de mer qui peuvent influencer la distribution verticale des composés chimiques dans la colonne d'eau. Il est également important de rappeler que les échantillons ont été prélevés en surface, et que leurs valeurs de salinité ont été globalement homogènes malgré les différents stades de marée au cours desquels nous avons échantillonné. Si le DBC se comportait de manière conservatrice, c'est-à-dire influencé

uniquement par le mélange de l'eau douce et de l'eau de mer, une relation linéaire aurait dû être observée entre les concentrations de DBC et la salinité. Or, la présence de concentrations en DBC plus élevées que celles attendues pour des salinités comprises entre 5 et 15 indiquait un comportement non conservatif du DBC sur le gradient de salinité et suggèrait ainsi un apport ou une production de DBC supplémentaire dans cette zone.

En mars, les ratios B6CA/B5CA et B6CA+B5CA/all n'exhibaient aucune corrélation significative avec la salinité ($R^2$ = 0.02-0.06, n = 58) (Fig. 37a, c), alors qu'ils montraient une corrélation négative significative avec cette dernière en novembre ($R^2$ = 0.49-0.77, n = 21) (Fig. 37b, d).

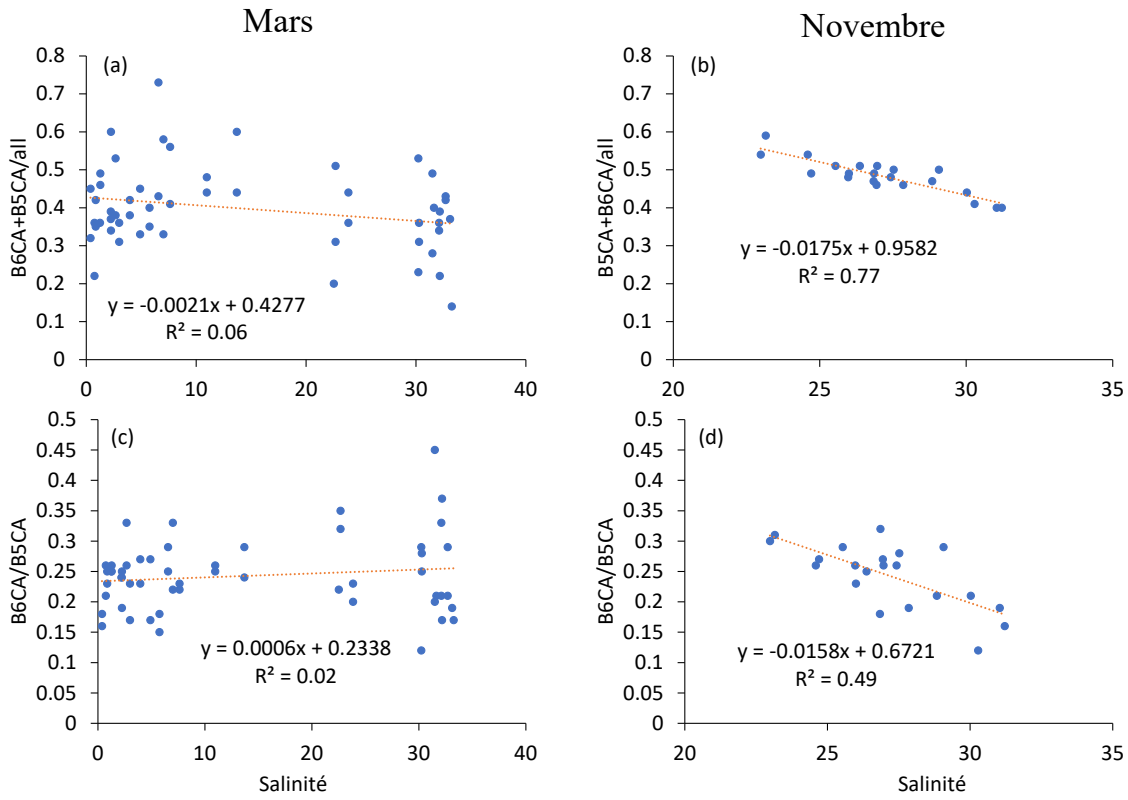



**Figure 37.** Relations linéaires entre la salinité et les ratios B6CA+B5CA/all (a, b) et B6CA/B5CA déterminés en mars et novembre 2023 dans la rivière et l'estuaire Van Uc.

Enfin, si comme pour le DBC (Fig. 36) nous représentons les ratios B6CA+B5CA/all et B6CA/B5CA en les regroupant par gamme de salinités, nous observons à nouveau un pic dans la gamme de salinités de 5 à 15 pour le ratio B6CA+B5CA/all au mois de mars (Fig. 38a). Ce pic n'apparaissant pas pour le ratio B6CA/B5CA (Fig. 38b), qui reflète la partie la plus condensée du DBC. Ainsi, sur la gamme de salinités 5-15, les concentrations de DBC (Fig. 35a, 30a), les rapports DBC/DOC (Fig. 35e), et les ratios moléculaires B6CA+B5CA/all (Fig. 37a, 32a) observés étaient plus élevés que ceux attendus si le DBC avait eu un comportement

complètement conservatif sur l'ensemble du gradient de salinité. Cet écart traduit un apport particulier de DBC, de qualité différente, dans la zone de salinités 5-15 (*i.e.*, embouchure de la rivière Van Uc).

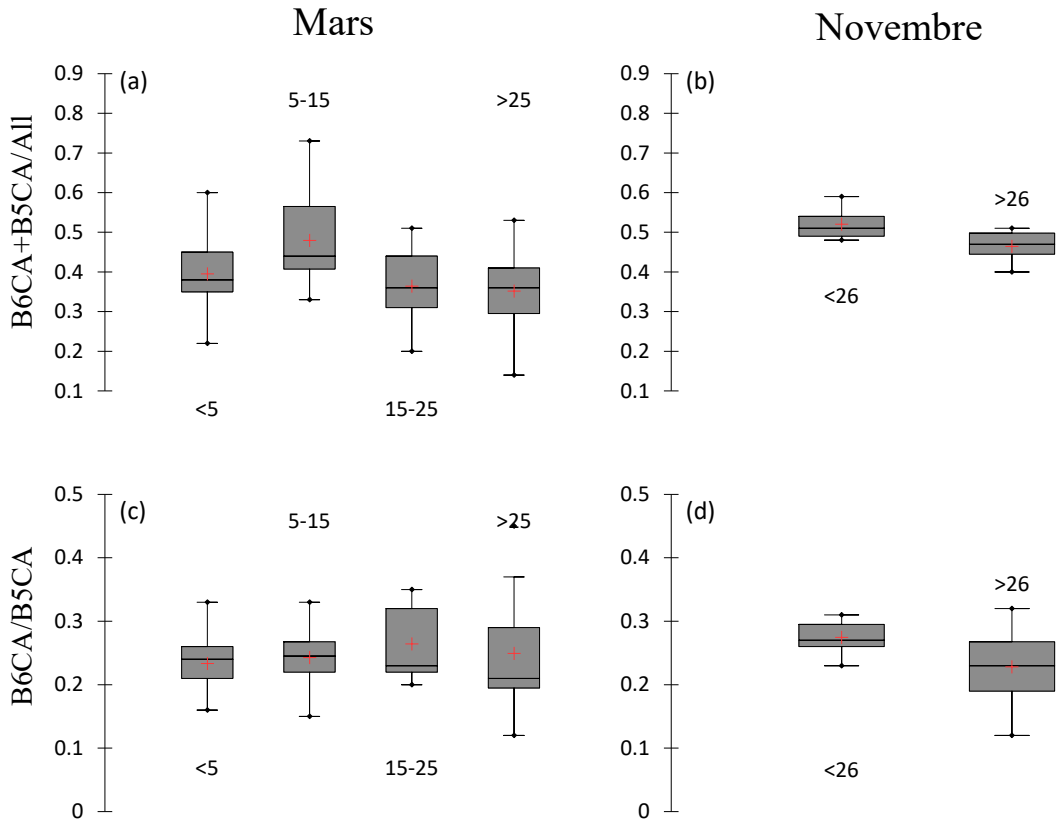



**Figure 38.** Boxplots des ratios de B6CA+B5CA/all (a, b) et B6CA/B5CA (c, d) déterminés pour différents groupes de salinité au mois de mars et novembre 2023.

Deux hypothèses majeures peuvent être émises pour expliquer le comportement non-conservatif du DBC dans le gradient de salinité observé en mars. D'une part, l'une des caractéristiques marquantes des estuaires est la formation du maximum de turbidité estuarien (ETM). Ce phénomène résulte généralement d'une combinaison de la circulation gravitationnelle, des asymétries de marée et de la stratification des eaux, qui piège les particules en suspension dans une zone spécifique de l'estuaire (Allen et al., 1980; Uncles et al., 2010; Vinh et Ouillon, 2021). L'ETM influence directement la répartition des matières dissoutes, car les processus de floculation et de resuspension à l'intérieur de cette zone favorisent les processus d'adsorption/désorption (Goni et al., 2005). Bien que l'ETM se forme généralement à des profondeurs intermédiaires, les échanges verticaux dans la colonne d'eau peuvent entraîner l'ascension de composés dissous ou associés à des particules vers la surface (Van Maren et Hoekstra, 2004). Puisque que les concentrations en SPM n'ont pas été déterminées sur l'ensemble de la colonne d'eau à ces stations, il est difficile de confirmer la formation d'un

ETM dans l'environnement échantillonné. Néanmoins, les profils CTD réalisés aux stations de salinité comprises entre 5 et 15 souligne le caractère stratifié de la colonne lié à l'intrusion d'eau de mer en profondeur, créant un état propice à la formation d'un ETM (Fig. 39).

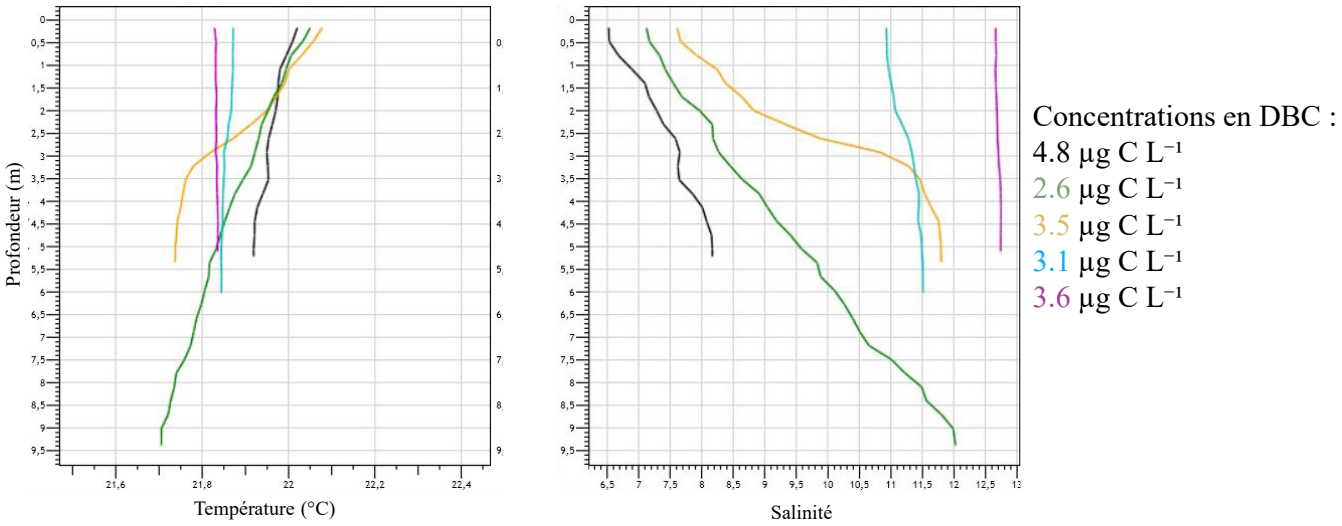



**Figure 39.** Profil de température (°C) et de salinité mesuré aux stations échantillonnées à marée montante pour les salinités comprises entre 5 et 15. Les moyennes des concentrations de DBC (µg C $L^{-1}$) mesurées en duplicata à chaque station sont rappelées à droite.

D'un point de vue géographique, même si les affluents de la rivière Van Uc sont variables selon les saisons et les périodes de crues, on notera la présence d'une arrivée d'eau provenant de la rivière Đa Độ à environ 3 km en amont de l'embouchure de la rivière Van Uc. La concordance géographique entre l'arrivée de cet affluent dans la Van Uc, la zone de salinités 5-15 et les valeurs associées élevées de DBC pourrait suggérer que cet apport d'eau est responsable de l'augmentation locale significative de la concentration en DBC, et que le matériel apporté est significativement différent de celui transporté initialement par la Van Uc et caractérisé par un degré de condensation aromatique plus important.

Le mois de novembre quant à lui présentait une composition moléculaire du DBC plus homogène. Les ratios B6CA/B5CA suivaient globalement la même tendance que les concentrations en DBC le long du gradient de salinité (Fig. 37b, d). En considérant le jeu de données à notre disposition, il est difficile de confirmer ou d'infirmer l'impact de la rivière Đa Độ sur la quantité et la qualité du DBC en novembre (profils de température et salinité tracés en noir, Fig. 39). Il est toutefois important de rappeler que, comme pour l'ensemble du delta, le débit de la rivière Van Uc est significativement plus élevé en novembre qu'en mars (voir section 2.1.2). Les processus de dilution, de mélange et de turbulence associés aux débits plus élevés

pourraient réduire les variations spatiales des concentrations en DBC et de ses ratios moléculaires (Johnson et Thornton, 1987).

Néanmoins, si le phénomène de dilution était le seul responsable, en dehors de la zone de salinité 5-15, du gradient décroissant des concentrations en DBC, on s'attendrait à ce que les ratios moléculaires des BPCAs sur le gradient de salinité restent relativement constants. Ce n'est pas le cas ici, où le ratio B6CA+B5CA/all montrait clairement une tendance à la diminution avec l'augmentation de la salinité en mars et en novembre (à l'exception de l'embouchure de la rivière Đa Độ identifiée comme une possible source locale de DBC) (Fig. 37a, b, Fig. 32a, b). Cette diminution du ratio B6CA+B5CA/all au niveau spatial indiquait une diminution du degré de condensation aromatique du DBC pendant son transport le long du continuum fleuve-océan (voir section 2.3.3). Ceci pourrait être lié à la phototransformation du DBC le long de son transport vers la mer (Coppola et al., 2014; Masiello et Louchouarn, 2013; Stubbins et al., 2012; Wagner et al., 2019). En effet, les fleuves étant les principales sources de mobilisation du DBC de la terre à l'océan, les distances et donc les durées d'exposition du DBC au rayonnement solaire atteignant les fleuves, les mers côtières puis l'océan ouvert augmentent progressivement. Les expériences de phototransformation ont révélé que le rayonnement solaire éliminait préférentiellement les structures aromatiques polycondensées (caractérisés par les B6CA et B5CA), aboutissant ainsi à une diminution du ratio B6CA+B5CA/all (Stubbins et al., 2012; Masiello et Louchouarn, 2013; Wagner et Jaffé, 2015). Les transformations moléculaires du DBC induites par le rayonnement solaire ont également été observées dans des régions géographiquement étendues, telles que la mer de Chine méridionale occidentale (Fang et al., 2017), les eaux de surface de l'océan Atlantique (Dittmar et Paeng, 2009), et même dans la cryosphère à l'échelle mondiale (Khan et al., 2017). Le processus de phototransformation a été identifié comme un puits dominant du DBC océanique, avec un flux estimé de 20 à 490 Tg $an^{-1}$ (Wagner et Jaffé, 2015). Il convient de mentionner que, en plus de la phototransformation, la diminution des ratios BPCAs observés ici dans l'estuaire Van Uc pourrait également être liée à des processus biotiques tels que la biodégradation du DBC par les procaryotes hétérotrophes (voir Chapitre 6).

### 4.2.2. Propriétés optiques de la DOM

**Indices de fluorescence.** Pour l'étude de la qualité de la DOM dans la région estuarienne de la rivière Van Uc, 4 indices de fluorescence ont été déterminés : le HIX, le BIX,

le $SUVA_{254}$ et le COX. Le HIX montrait des valeurs particulièrement élevés dans la partie fluviale (S < 5), caractéristique d'un environnement riche en matière organique de type humique. Ces valeurs étaient similaires aux valeurs maximales mesurées par Dalmagro et al. (2017) dans le système fluvial tropical brésilien en saison humide. Néanmoins, elles étaient plus élevées que celles reportées par Wang et al. (2019) dans la rivière Nanfeihe située au sud-est de la Chine. Même si les valeurs de HIX étaient supérieures en mars (12.40 ± 3.57) par rapport à novembre (10.33 ± 2.39) (t-test, $p < 0.05$), HIX présentait une corrélation négative significative avec la salinité à ces deux périodes ($R^2$ = 0.82-0.95) (Fig. 40a).

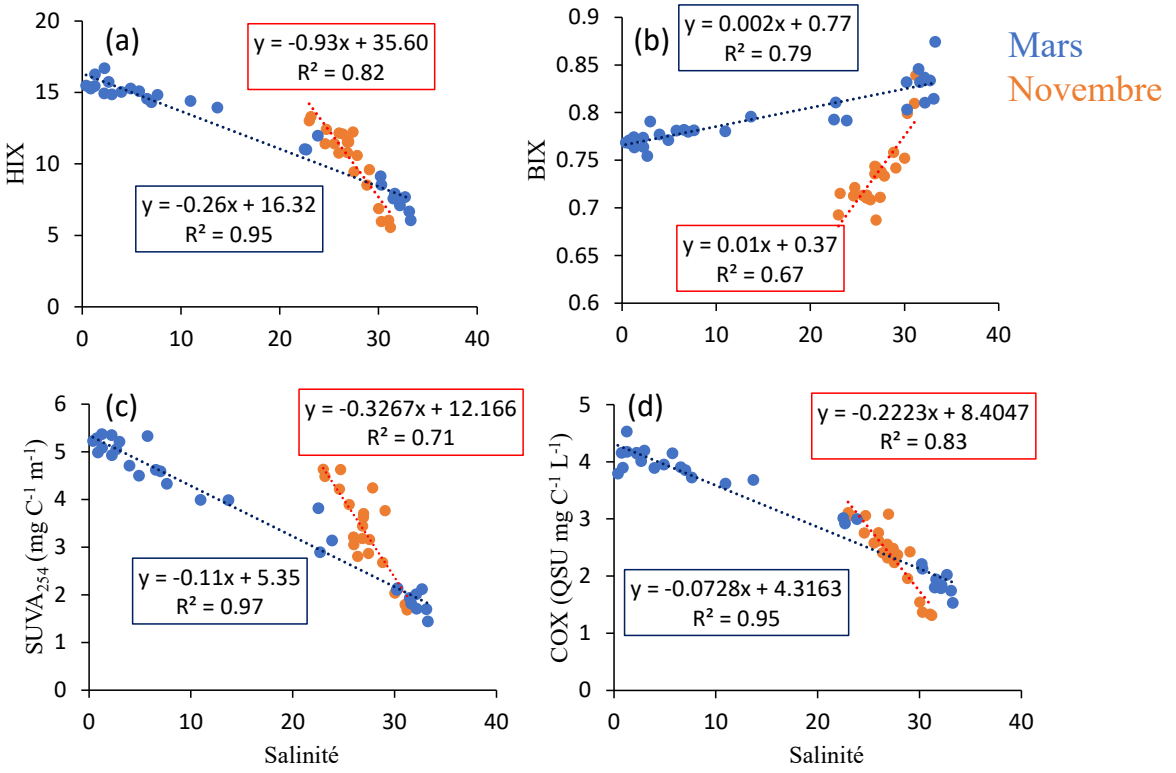



**Figure 40.** Relations linéaires entre la salinité et l'indice humique (HIX) (a), l'indice biologique (BIX) (b), l'absorbance spécifique aux UV à 254 nm ($SUVA_{254}$, en L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$) (c) et l'indice de combustion (COX, en QSU mg $C^{-1}$ $m^{-1}$) (d) déterminés en mars et novembre 2023 dans la rivière et l'estuaire Van Uc.

Les valeurs de BIX variaient de 0.69 à 0.87 sur l'ensemble du jeu de données, et étaient inférieures à celles rapportées par Wang et al. (2019) dans un système fluviale similaire. Ces valeurs de BIX présentaient une corrélation positive significative avec la salinité ($R^2$ = 0.67-0.79), et étaient significativement plus élevées en mars (0.79 ± 0.03) qu'en novembre (0.74 ± 0.04) (Fig. 40b).

Les valeurs de $SUVA_{254}$ s'échelonnaient de 1.44 à 5.37 L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$ sur l'ensemble du jeu de données, et aucune différence significative n'était relevée entre les deux périodes. Ces

valeurs de $SUVA_{254}$ étaient du même ordre de grandeur que celles déterminées par Helms et al. (2008) dans le système estuarienne de la baie de Chesapeake (USA). Également, elles se rapprochaient de celles déterminées par Fischer et al. (2023) dans les eaux de surface d'un bassin versant du Colorado (USA). La corrélation négative du $SUVA_{254}$ avec la salinité était particulièrement forte en mars ($R^2 = 0.97$) mais était significative également en novembre ($R^2 = 0.71$) (Fig. 40c).

Les tendances de ces indices dans le gradient de salinité (diminution du HIX et du $SUVA_{254}$, et augmentation du BIX avec l'augmentation de salinité) traduisent la décroissance de la fraction de DOM d'origine terrestre (aromatique et de poids moléculaire élevé), avec dans le même temps, l'augmentation de la proportion de DOM d'origine autochtone (fraiche, labile) de la rivière vers la mer. La forte empreinte terrestre de la DOM (observée au travers des fortes valeurs de HIX et $SUVA_{254}$) est en accord avec le système deltaïque du fleuve Rouge, caractérisé par des substrats meubles particulièrement cultivés, et une végétation dense enrichissant continuellement la couche d'humus terrestre, elle-même régulièrement lessivée par des pluies abondantes.

Néanmoins, il est relativement rare de relever dans un même environnement des valeurs de BIX aussi élevés en présence de HIX aussi grands. Cette observation indique qu'une activité biologique était présente dans le fleuve et responsable d'une production non-négligeable de matière fraîche et labile. Les coefficients d'absorption mesurés à 254, 325 et 350 nm calculés sur ces échantillons vont dans le sens de cette hypothèse, en présentant elles aussi de fortes corrélations négatives avec la salinité (Annexe 7, Annexe 8).

Pour tous les indices optiques décrits, les pentes des droites de régression linéaire étaient au minimum deux fois plus élevées en novembre qu'en mars (Fig. 40). Cette augmentation des pentes pour le HIX et le $SUVA_{254}$ entre mars et novembre suggère à la fois 1) que la rivière Van Uc était plus riche en DOM fluorescente dans les salinités inférieures à 20 (non-échantillonnées en novembre), et 2) qu'un phénomène de dilution plus rapide des eaux de la rivière dans l'estuaire a eu lieu en novembre, et résultait en des concentrations de DOM fluorescente plus faibles qu'en mars aux salinités supérieures à 30.

Le premier point pourrait être expliqué par la période de lessivage intense des sols pendant les moussons estivales induisant un apport de DOM fluorescente dans la rivière en novembre, tandis que le second pourrait être expliqué par les débits plus élevés relevés au mois de novembre (Johnson et Thornton, 1987) (Fig. 38). Il est important de rappeler que les salinités les plus faibles en novembre n'ont pas été enregistrées à l'embouchure de la rivière Van Uc

mais à celui de la rivière de Diêm Hô, située au sud-ouest de la baie. Malgré cela, la proximité et l'origine commune des deux affluents, ainsi que les valeurs mesurées dans les salinités marines communes aux deux campagnes permettent d'interpréter ces variations de la qualité de la DOM fluorescente le long du gradient de salinité. De manière générale, la bonne linéarité des relations entre les indices optiques et la salinité, avec des points globalement bien superposés (peu dispersés) sur les droites de régression (Fig. 40, Annexe 7, Annexe 8), mettent en évidence le caractère conservatif de la CDOM et FDOM le long du gradient de salinité, indiquant que les processus de dilution/mélange des eaux jouent un rôle majeur dans l'évolution de cette DOM de la rivière vers la mer. Ceci ne signifie pas qu'aucune production *in situ* et/ou apports de sources latérales ne se produisent, mais ces processus, s'ils existent, ne sont pas les forceurs dominants de la distribution de la CDOM et FDOM observée dans l'estuaire (Guo et al., 2007; Raymond et Spencer, 2015). Ce comportement conservatif observé pour la DOM contraste nettement avec celui du DBC présenté précédemment, qui présente un caractère non-conservatif, particulièrement dans la gamme de salinité comprise entre 5 et 15.

**Application du COX.** Enfin, les valeurs de l'indice de combustion COX proposé par Martinot et al. (2024) variaient entre 1.31 et 4.53 QSU mg $C^{-1}$ $m^{-1}$, et étaient significativement plus élevées en mars qu'en novembre, en suivant fidèlement les variations du HIX sur le gradient de salinité. L'indice COX a été calculé uniformément sur l'ensemble des échantillons du jeu de données, et la corrélation entre COX et concentration en DBC est représentée en Fig. 41. En prenant l'ensemble des données, le COX montrait une corrélation linéaire positive avec les concentrations en DBC. Cette corrélation était légèrement plus faible que celle du HIX avec ces mêmes concentrations de DBC ($R^2$ = 0.35 contre $R^2$ = 0.38). Cette relation COX-DBC était influencée par l'abondance d'échantillons d'eau de rivière, très riches en substances humiques, qui affectaient grandement le signal de fluorescence ciblé par le COX. Comme discuté dans le Chapitre 3, la superposition spectrale du signal de fluorescence des matières humiques avec celui du DBC diminuait mécaniquement les valeurs de COX, particulièrement pour les eaux dont la salinité était inférieure à 25 (Fig. 41).

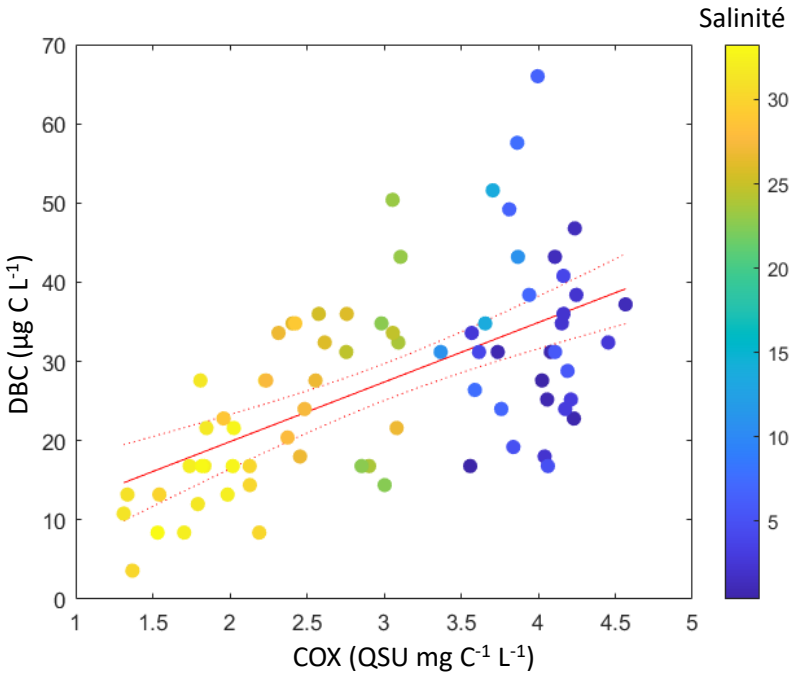



**Figure 41.** Relation linéaire entre l'indice de combustion (COX, en QSU mg $C^{-1}$ $m^{-1}$) et la concentration de DBC (en µg C $L^{-1}$) déterminés en mars et novembre 2023 dans la rivière et l'estuaire Van Uc. Les points de données sont colorés en fonction de la salinité. La ligne rouge pleine représente la courbe de régression linéaire ajustée (Fit) avec les bandes de confiance à 95% indiquées en pointillés.

En considérant uniquement les échantillons dont les valeurs de salinité étaient supérieures à 23, la corrélation du COX avec les concentrations de DBC était légèrement meilleure que celle avec le HIX (Fig. 42). Ces observations confirment 1) le potentiel de l'indice COX pour la détection du DBC en milieu côtier marin et 2) sa limité dans les zones de mélange et dans les gradients de salinité avec de fortes teneurs en substances humiques terrestres, comme évoqué dans la section 4.1.1.

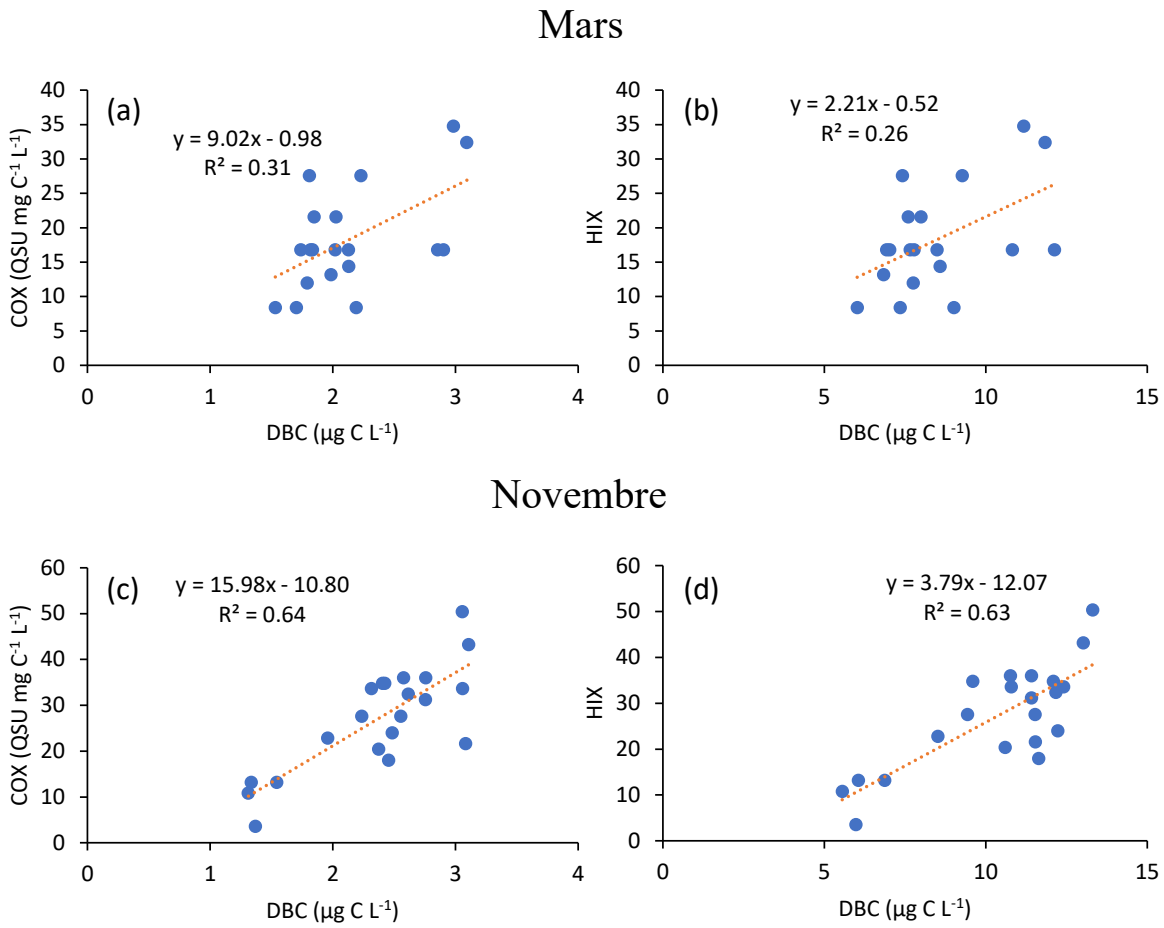



**Figure 42.** Relations linéaire entre la concentration de DBC (en µg C $L^{-1}$) et les indices optiques COX (a, c) (en QSU mg $C^{-1}$ $m^{-1}$) et HIX (b, d) mesurés en mars et novembre 2023 dans la rivière Van Uc et son estuaire.

### 4.2.3. Estimation des flux de DBC dans le golfe du Tonkin par la rivière Van Uc

A partir des concentrations en DBC mesurées en mars et novembre 2023 dans la rivière Van Uc et des débits de mars et de novembre mesurés à 10 km de l'embouchure et moyennés sur 5 années (de 2018 à 2022), nous avons estimé les flux de DBC dans le golfe du Tonkin (mer de l'Est du Vietnam, Pacifique Nord). Les mesures de débits dans la rivière Van Uc sont fortement impactées par les intrusions de marées. Afin de simplifier ces estimations de flux, nous avons décidé de nous concentrer sur les débits moyens maximum de chaque période. De la même manière, nous avons considéré les concentrations maximales de DBC à l'embouchure de la rivière Van Uc aux deux périodes. Les flux de DBC ont ainsi été calculés en multipliant les concentrations en DBC (µg C $L^{-1}$) par le débit d'eau (L $an^{-1}$) en mars et en novembre

(Tableau 10). Cette approche permet d'estimer la capacité maximum de la rivière Van Uc à apporter du DBC en milieu marin.

**Tableau 10.** Estimation des flux annuels de DBC (Gg C $an^{-1}$) de la rivière Van Uc au golfe du Tonkin, et contribution annuelle aux apports totaux de DBC au milieu marin par les fleuves (%) estimés par Jones et al. (2020) (a, 18 Tg $an^{-1}$) et par Fang et al. (2021a) (b, 66 Tg $an^{-1}$).

| | | | | Contribution à l'apport mondial de DBC à l'océan par les fleuves (%) | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | DBC (Gg C $an^{-1}$) | Estimation basse[a] | Estimation haute[b] |
| **Cette étude** | Van Uc | Mars 2023 | **3.5** *± 0.3* | 0.019 | 0.005 |
| | | Nov. 2023 | **3.3** *± 0.1* | 0.018 | 0.005 |
| Fang et al. (2018) | Chine côtière | Aout 2013 | 16.3 | 0.091 | 0.025 |
| | | Aout 2014 | 6.4 | 0.036 | 0.010 |

L'étude menée par Fang et al. (2018) s'est concentrée sur 3 environnement différents échantillonnés quasi-simultanément : la rivière Jaune, la mer côtière de Bohai et l'océan ouvert Pacifique. De forts gradients de salinité ont ainsi été échantillonnés, et les concentrations de DBC ont varié d'un maximum de 455 µg C $L^{-1}$ dans la rivière à un minimum de 1.08 µg C $L^{-1}$ dans l'océan ouvert. Les calculs de flux ont été réalisés à partir d'une valeur de débit mesurée à chaque station au moment du prélèvement à l'intérieur de la rivière Jaune (Tableau 10). Il est important de souligner que l'étude de Fang et al. (2018) a été réalisée en saison humide, et que les valeurs de flux dans la rivière Van Uc ont été calculés à partir des débits et concentrations maximum mesurés. Cette première estimation de flux de DBC à l'océan (golfe du Tonkin, mer de l'Est du Vietnam, Pacifique Nord) par la rivière Van Uc, bien que très modeste, suggère le potentiel de contribution d'apport de DBC du delta du fleuve Rouge dans sa totalité. Si il est estimé que la rivière Van Uc représente environ 14.5% du débit total du système vers le golfe du Tonkin, le delta du fleuve Rouge pourrait être responsable de jusqu'à 0.13% des apports mondiaux de DBC à l'océan par les rivières (Jones et al., 2020; Fang et al., 2021a). Cette estimation sera à nouveau discutée dans le Chapitre 5 dédié à l'étude du bras principal du delta du fleuve Rouge.

## 4.3. Conclusion

Les deux études réalisées dans la baie de Marseille et dans la rivière et l'estuaire Van Uc ont révélé des dynamiques complexes et distinctes en ce qui concerne les variabilités spatiale et saisonnière du DBC et de la DOM. Bien que ces deux environnements côtiers soient soumis à des pressions anthropiques importantes, les mécanismes qui régissent les variations du DBC et de la DOM diffèrent sensiblement, mettant en lumière la diversité des processus qui les affectent.

En Méditerranée Nord Occidentale, la variabilité des concentrations de DBC et son degré de condensation aromatique indiquaient une diversité de sources potentielles de BC, et donc de DBC. Le trafic maritime se distinguait comme une source majeure, contribuant à un enrichissement en DBC de niveau de condensation aromatique plus élevé le long des voies de navigations et autour des zones portuaires. Le Rhône serait aussi un vecteur de DBC, même s'il apparait difficile d'apprécier sa contribution réelle au regard de notre jeu de données. Cette étude a été menée au printemps, et il est très probable que l'influence du Rhône sur les concentrations de DBC et son degré de condensation change avec les saisons et les périodes de crues. Aussi, réaliser ce type de campagne en automne, lorsque les apports d'eau douce du Rhône sont les plus importants, permettrait de mieux estimer les flux et la variabilité spatiale de ces concentrations de DBC.

Dans la région de Van Uc, les concentrations en DBC mesurées dans l'estuaire et la rivière montraient que les rivières étaient les principaux vecteurs et sources de DBC pour l'estuaire, jouant ainsi un rôle central dans la dynamique du DBC et de la DOM. Une source secondaire de DBC a été identifiée en amont de l'embouchure, liée à l'arrivée d'un affluent local. Les données acquises suggèrent également la présence d'un ETM qui pourrait modifier localement les flux de DBC à l'estuaire. Les ratios de BPCAs, qui diminuaient progressivement avec la salinité, indiquaient une modification de la qualité du DBC le long du gradient de salinité et sont cohérents avec les hypothèses évoquées dans la littérature d'une phototransformation progressive du DBC dans les continuum rivière-océan.

À l'avenir, des études seraient nécessaires pour explorer les processus spécifiques qui régissent la variabilité du DBC et de la DOM dans ces deux régions. Dans la baie de Marseille, une investigation plus approfondie des sources côtières, combinée à une analyse détaillée des émissions des navires, pourrait permettre de mieux comprendre les contributions relatives du trafic maritime et des autres apports anthropiques. Des études isotopiques, par exemple,

pourraient être utiles pour tracer les origines du DBC et discriminer ses sources marines et ses sources terrestres. De même, l'intégration de modèles de transport pourrait aider à quantifier l'impact du Rhône et des autres flux fluviaux sur la dynamique du DBC et de la DOM dans la baie.

Pour la région de Van Uc, les futurs travaux pourraient se concentrer sur la quantification des contributions des sources locales de DOM, ainsi que sur l'étude des processus de phototransformation à différentes échelles spatio-temporelles. L'impact des saisons et des événements météorologiques extrêmes sur la phototransformation du DBC, en particulier, pourrait offrir des perspectives nouvelles sur la façon dont ces processus influencent la qualité de l'eau et le cycle du carbone dans cette région. Aussi, des mesures à fines échelles de l'hydrodynamique et des matières en suspension permettrait de mieux comprendre l'impact de la présence d'un ETM sur les variations saisonnières des flux de DBC à l'océan.

# 5. Variabilités spatiales et saisonnières du DBC et de la DOM dans le bras principal du fleuve Rouge

## 5.1. Paramètres physiques et physico-chimiques, et charge en particules

Les valeurs de température, salinité, pH et particules en suspension (SPM) mesurées à 1 et 5 m de profondeur aux différentes stations échantillonnées le long du bras principal du fleuve Rouge (du fleuve vers l'estuaire de Balat) aux trois périodes (mars, juin, septembre 2023) sont présentées en Fig. 43. Les transects ont été effectués au même stade de marée pour chaque période échantillonnée, et la partie concernée par l'intrusion d'eau de mer détectable en surface a toujours été échantillonnée à marée montante (Annexe 9). La température de l'eau variait fortement selon les saisons, passant de 22.9 ± 0.2 °C en mars à 31.2 ± 0.5 °C en juin puis à 29.3 ± 0.3 °C en septembre (Fig. 43a). La seule différence significative relevée entre les valeurs de température à 1 et 5 m se situait dans le gradient de salinité des 10 derniers km avant l'embouchure, au mois de juin. En dehors de ces deux stations, la température sur la couche 1-5 m était particulièrement homogène (Fig. 43a).

Aux trois périodes, la salinité était de 0 de la ville de Hanoï jusqu'à 30 km de l'embouchure, puis augmentait rapidement aux trois dernières stations avant l'embouchure (Fig. 43b). Alors que les mois de mars et septembre ne montraient aucune différence significative de salinité entre les deux profondeurs, le mois de juin était marqué par la plus forte valeur de salinité du jeu de données à 5 m de profondeur (26.1) et la plus faible valeur en surface (5.5) à la dernière station du transect. Si les trois transects ont été échantillonnés à marée montante, celui de juin a été réalisé proche de la condition de marée haute et pendant une période de pluie, ce qui expliquerait à la fois la proportion plus importante d'eau de mer à 5 m de profondeur et la plus grande dessalure en surface à cette dernière station (Fig. 43b).

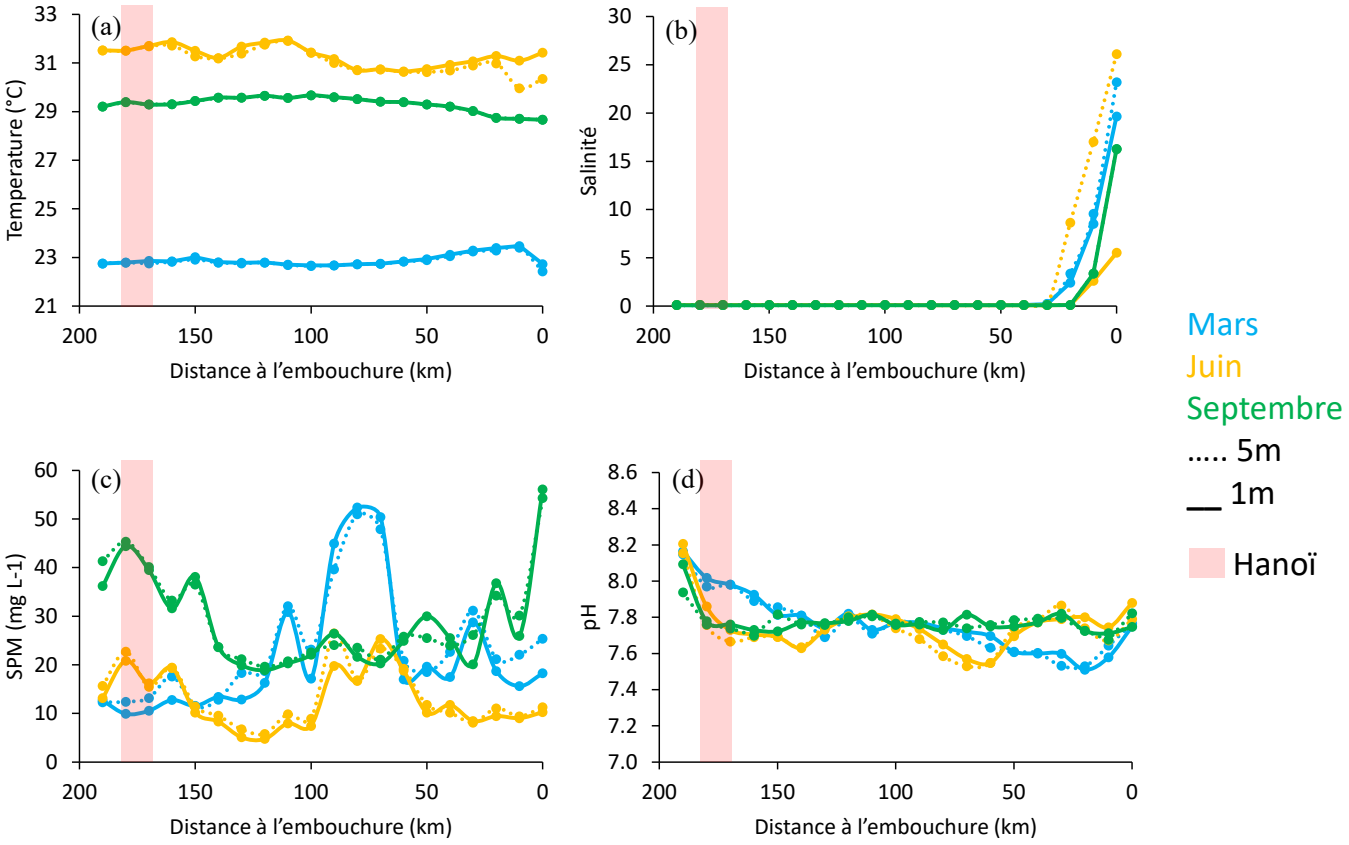



**Figure 43.** Variabilité spatiale de la température (°C) (a), de la salinité (b), de la concentration en particules en suspension (SPM en mg $L^{-1}$) (c) et du pH (d) déterminés sur les échantillons collectés le long du bras principal du fleuve Rouge en mars (bleu), juin (jaune) et septembre 2023 (vert). Les lignes en pointillées représentent les paramètres déterminés à 5 m de profondeur et les lignes pleines à 1 m de profondeur.

La concentration en SPM était très variable le long du transect, avec des valeurs moyennes de 22.6 ± 12.2 mg $L^{-1}$ en mars, 13.1 ± 5.8 mg $L^{-1}$ en juin et 32.7 ± 16.8 mg $L^{-1}$ en septembre (Fig. 43c). Ces valeurs étaient dans la gamme de concentrations en SPM rapportée par Piton et al. (2020) dans l'estuaire de la Van Uc. De fortes concentrations étaient observées entre 50 et 100 km de l'embouchure en mars (51 mg $L^{-1}$) et en juin (23 mg $L^{-1}$). Cette zone, à ces deux périodes, présentait une faible profondeur d'eau. En revanche, en septembre, la hauteur d'eau y était plus importante en raison de l'augmentation du flux d'eau du fleuve post pluies et la concentration en SPM y était beaucoup plus faible (Fig. 43c).

La valeur moyenne de pH pour l'ensemble des trois transects était de 7.76 ± 0.1, ce qui est en accord avec les valeurs rapportées par Hoang et al. (2018). Le pH ne présentait aucune différence significative entre les trois périodes, ni entre les deux profondeurs échantillonnées (Fig. 43d). Au trois premières stations du transect, *i.e.*, les stations traversant la ville de Hanoï, le pH montrait une diminution significative, et ce pour les trois périodes. Les valeurs les plus

stables le long du transect étaient enregistrées en septembre, tandis que le mois de juin exhibait une plus grande variabilité, et une augmentation de pH environ 10 km après la ville. En mars, le pH diminuait régulièrement de Hanoï jusqu'à 30 km de l'embouchure. Aux trois périodes, les valeurs de pH augmentaient dans les 30 derniers km jusqu'à l'embouchure pour atteindre 7.75 ± 0.1 (Fig. 43d).

## 5.2. Variabilité saisonnière des concentrations de DBC et DOC

Les concentrations de DBC et DOC déterminées à 1 et 5 m de profondeur dans le bras principal du fleuve Rouge ne présentaient aucune différence significative (données non montrées). Aussi, elles ont été moyennées pour fournir une seule valeur de concentration dans la tranche d'eau 0-5 m. En considérant l'ensemble des échantillons du transect (et les 2 profondeurs de prélèvement), les concentrations de DBC étaient en moyenne de 29 ± 10.2 µg C $L^{-1}$ en mars, 42.3 ± 11.5 µg C $L^{-1}$ en juin et 65.6 ± 12.4 µg C $L^{-1}$ en septembre (Fig. 44a). Ces valeurs se situaient dans les plages de concentrations en DBC rapportées dans la littérature, notamment par Zhao et al. (2023) dans la région estuarienne du sud-est de la Chine, et se rapprochaient de celles déterminées dans la rivière Van Uc dans la section précédente (Tableau 8). Les concentrations de DBC dans le bras principal du fleuve Rouge augmentaient donc significativement de mars à septembre, avec des valeurs en fin de saison humide (septembre) jusqu'à 2 fois supérieures à celles observées en saison sèche (mars) (Fig. 44a).

Les concentrations de DOC en saison sèche (mars : 66.5 ± 4.4 µM) étaient significativement plus faibles qu'en période humide (juin : 99.2 ± 17.6 µM et septembre : 93.3 ± 13.9 µM) sur l'ensemble du transect, même si, contrairement au DBC, les concentrations de DOC était plus élevées en juin qu'en septembre (Fig. 44b). De manière générale, la variabilité des concentrations de DOC était plus importante en saison humide qu'en saison sèche.

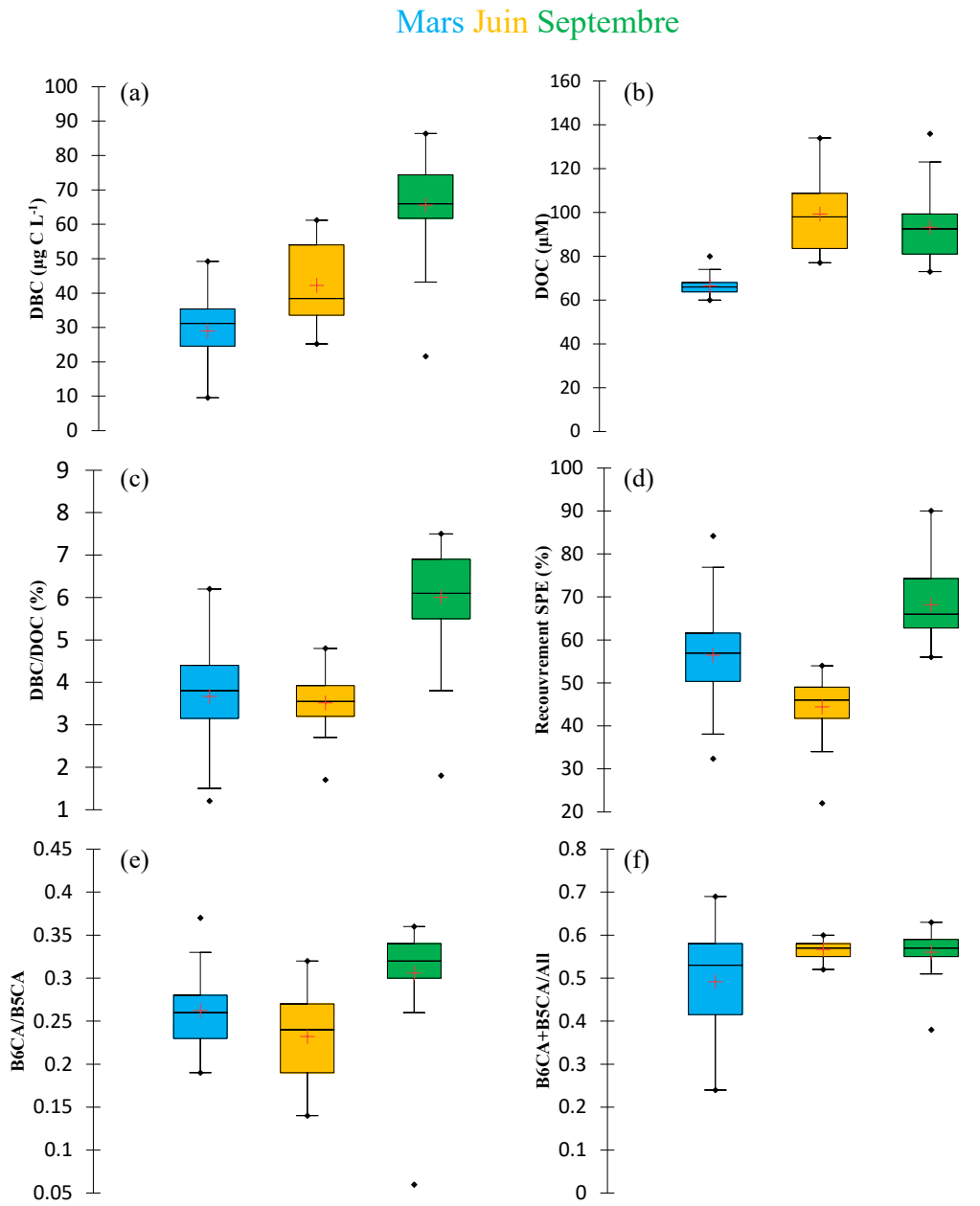



**Figure 44.** Boxplots des variations saisonnières des concentrations en DBC (en µg C $L^{-1}$) (a) et en DOC (en µM) (b), des rapports DBC/DOC (%) (c), du taux de recouvrement de DOC par l'extraction SPE (%) (d), ainsi que des ratios B6CA/B5CA (e) et B6CA+B5CA/all (f) déterminés en mars (bleu), juin (jaune), et septembre 2023 (vert) dans le bras principal du fleuve Rouge.

Le pourcentage DBC/DOC augmentait lui aussi de mars (3.6% en moyenne) à septembre (6% en moyenne), avec, comme pour le DBC, les valeurs les plus élevées en septembre (Fig. 44c). Les valeurs de DOC étant restées globalement stable entre juin et septembre, l'augmentation importante du ratio DBC/DOC soulignait un changement dans la composition de la DOM, plus riche en DBC à la fin de la saison humide. Ce changement de

composition de la DOM était également visible sur le pourcentage de recouvrement de DOC par l'extraction SPE, qui augmentait fortement en septembre (Fig. 44d).

De la même manière, les ratios B6CA/B5CA étaient significativement plus élevés en septembre (0.31) qu'en mars et juin (0.26 et 0.23, respectivement), et traduisaient donc un degré de condensation aromatique plus élevé du DBC après la saison des pluies (Fig. 44e). Cette différence n'étant pas visible sur les ratios B6CA+B5CA/all, elle semblait d'avantage concerner la partie la plus condensée du DBC (Fig. 44f).

Ces descriptions générales mettent en évidence les fluctuations saisonnières des concentrations en DBC et de son niveau de condensation aromatique en lien avec le régime de pluies tropicales de la région. Les premières pluies de juin semblaient corrélées avec une augmentation des concentrations de DBC dans le fleuve Rouge, tandis que le mois de septembre, qui accueillait les dernières pluies importantes de l'année, présentait des concentrations encore plus élevées et un degré de condensation nettement plus grand. Bien que 3 campagnes soient limitées pour saisir la totalité de la variabilité saisonnière des concentrations en DBC dans le fleuve Rouge, ces résultats confortent l'hypothèse d'un enrichissement du fleuve par les pluies qui charrient du BC continental jusqu'au système fluvial. D'autre part, en faisant l'hypothèse que la ville de Hanoï représente la principale zone d'émission de BC sur le transect échantillonné, une corrélation pourrait exister entre les concentrations de BC atmosphérique mesurées en ville et les concentrations de DBC retrouvées dans le fleuve. Les concentrations en particules fines de diamètre < 2.5 µm ($PM_{2.5}$) dans l'atmosphère, ainsi que leur composition chimique ont été déterminées au niveau annuel sur un site urbain de Hanoï par Dominutti et al. (2024). Les résultats de cette étude soulignent une augmentation des concentrations en $PM_{2.5}$ en automne, et un maximum atteint en hiver, tandis que ces concentrations diminuaient progressivement au printemps pour atteindre un minimum annuel en été (Fig. 45). Lorsque les concentrations en $PM_{2.5}$ dans l'air diminuaient de l'hiver à l'été, les concentrations de DBC dans le fleuve augmentaient. La principale hypothèse qui peut être émise au regard de nos données est le lien entre l'arrivée en saison humide, qui agirait comme un vecteur de transfert des particules $PM_{2.5}$ du compartiment atmosphérique vers le compartiment fleuve. Afin d'évaluer plus précisément l'efficacité et le délai de ce transfert, il serait pertinent d'étudier d'avantage le degré de condensation du DBC et de le comparer aux signatures des principales sources d'émission de $PM_{2.5}$.

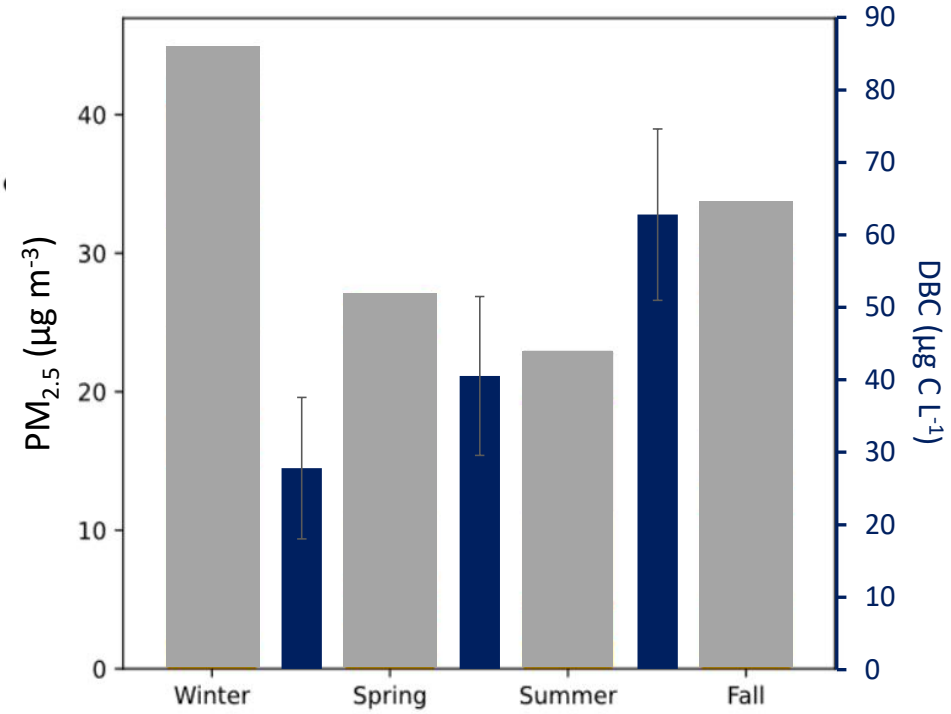



**Figure 45.** Concentrations en particules $PM_{2.5}$ (en µg $m^{-3}$) mesurées dans l'air à Hanoï en 2019 et 2020 (axe de gauche) et concentrations de DBC (en µg C $L^{-1}$) mesurées dans le bras principal du fleuve Rouge au cours des campagnes des 20-21 mars, 13-14 juin et 26-17 septembre 2023 (axe de droite). Figure modifiée à partie de Dominutti et al. (2024).

Dominutti et al. (2024) ont observé que la masse totale du facteur de combustion du charbon présentait une saisonnalité, avec des contributions plus élevées en hiver et plus faibles en été, corrélée à l'augmentation de la demande en énergie pendant les mois d'hiver. Concernant le DBC, les ratios B6CA/B5CA indiquaient un degré de condensation aromatique plus élevé en septembre, à la fin de la saison des pluies. Une étude plus approfondie des caractéristiques moléculaires du DBC et des SPM collectées dans le fleuve permettrait de renforcer le lien entre les émissions de $PM_{2.5}$ identifiées par Dominutti et al. (2024) à Hanoï et la qualité du DBC dans le fleuve Rouge quelques mois plus tard.

## 5.3. Variabilités spatiales et saisonnières des concentrations de DBC et DOC

La majorité des stations échantillonnées dans le fleuve Rouge présentaient des salinités inférieures à 0.1, rendant difficile l'étude de la distribution du DBC dans le bras principal du

delta, de la même manière que dans l'estuaire de la Van Uc. Les concentrations de DOC suivaient globalement une augmentation de Hanoï à l'estuaire en mars et septembre, tandis qu'une diminution était observée en juin (Fig. 46a). Les concentrations de DBC le long du transect présentait des fluctuations plus importantes, avec des concentrations relativement plus dispersées, rendant difficile l'identification de tendances saisonnières ou spatiales significatives (Fig. 46b). En mars et septembre, des concentrations plus élevées de DBC et DOC étaient observées dans la zone estuarienne par rapport au reste du fleuve, tandis qu'en juin, cette zone montrait des concentrations de DBC et DOC plus faibles que celles observées en amont du fleuve (Fig. 46c, d).

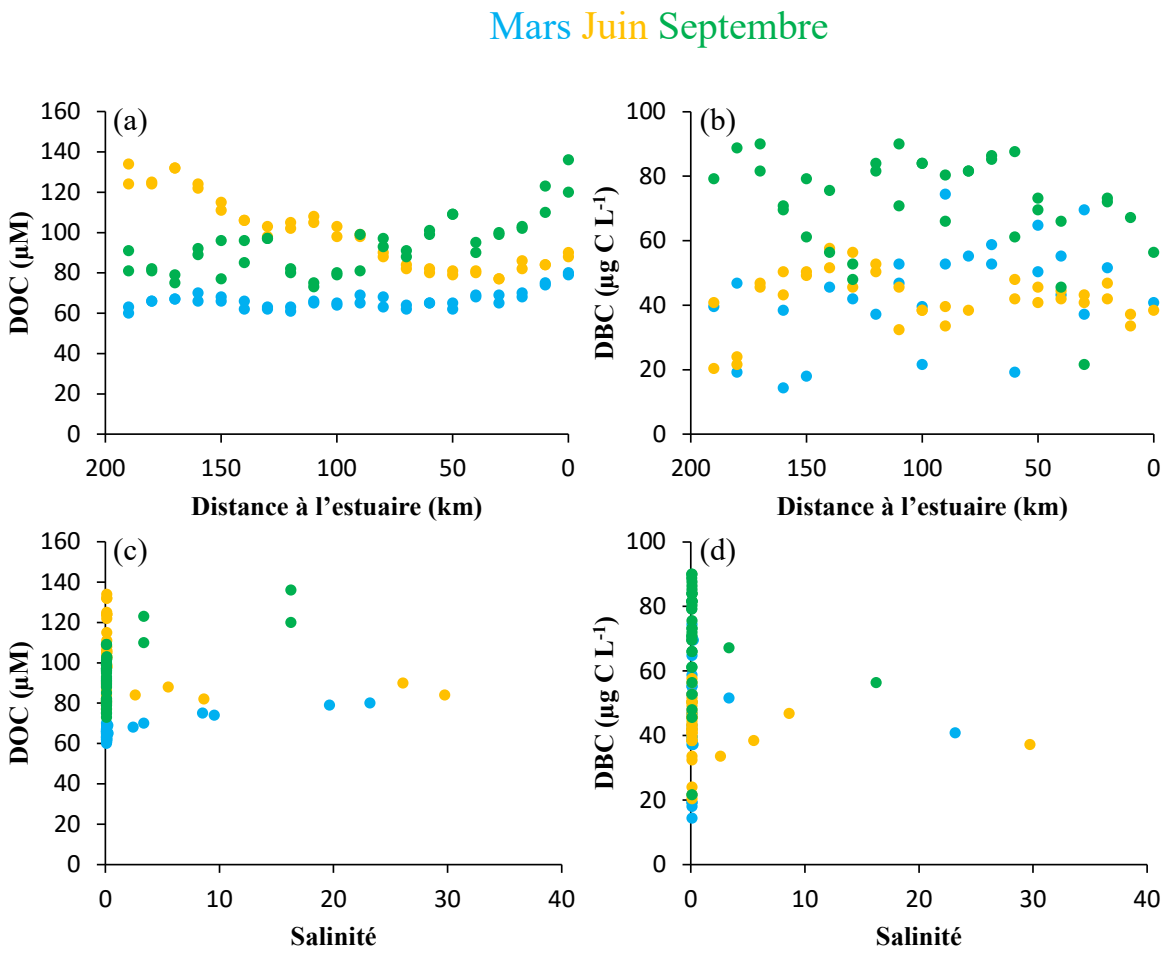



**Figure 46.** Evolution des concentrations de DOC (en µM) et DBC (en µg C $L^{-1}$) en fonction de la distance à l'estuaire (a, b, respectivement) et de la salinité (c, d, respectivement), déterminées en mars, juin et septembre 2023 dans le bras principal du fleuve Rouge.

En raison de la diversité des usages des sols le long du transect réalisé dans le bras principal du fleuve Rouge, l'étude de la variabilité spatiale des concentrations de DBC peut être abordée au travers d'une séparation en 3 zones géographiques (Z1, Z2, Z3). Cette séparation

permet entre autres d'isoler la ville de Hanoï, que nous considérons comme la source anthropique la plus importante du transect, et d'étudier son impact sur la qualité de la DOM et les concentrations de DBC le long du fleuve au cours de l'année.

La partie Z1 correspond au 6 premières stations échantillonnées et couvre une distance d'environ 60 km correspondant principalement à la zone entourant la ville d'Hanoï. Cette section inclut également plusieurs zones industrielles présentent dans la banlieue de la ville dont la zone industrielle de Thang Long et de Bac Thang Long ainsi que le village de Bat Trang, qui abritent diverses industries, notamment des usines de production de textiles, de briques et de céramiques, de produits chimiques, et de transformation alimentaire. La section Z2 correspond à un transect de 11 stations couvrant environ 110 km de fleuve et est associée à la partie la plus rurale et la moins peuplée du transect. Dans cette section, les zones semi-industrielles et artisanales ainsi que les incendies agricoles restent des sources potentielles régulières de pollution. Enfin, la section Z3 correspond à la portion la plus courte, de 3 stations (30 km), démarrant à la ville de Nam Dinh connue pour son industrie du textile, et s'étendant jusqu'à l'estuaire de Ba Lat. Dans cette section, le fleuve Rouge commence à être influencé par les intrusions d'eau de mer et les cycles des marées jusqu'à son arrivé à l'embouchure (Fig. 43b).

Alors qu'en mars et en septembre, les concentrations en DBC augmentaient le long du fleuve, *i.e.*, de Z1 à Z3 (de 69 et 17%, respectivement), le mois de juin présentait au contraire une diminution des concentrations en DBC de presque 33% de Z1 (Hanoï) vers Z3 (l'estuaire) (Fig. 47a). Les concentrations de DBC des sections Z1 et Z3 étaient significativement différentes entre elles, et ce aux 3 périodes (t-test, $p < 0.05$) (Fig. 47a). Ce gradient des concentrations de DBC de Z1 à Z3 (augmentation en mars et septembre, diminution en juin) s'observait aussi pour les concentrations de DOC, particulièrement en juin (diminution de 29% de Z1 à Z3) et en septembre (augmentation de 36% de Z1 à Z3) (t-test, $p < 0.05$) (Fig. 47b). Ces gradients spatiaux dans les concentrations de DBC et DOC n'étaient pas aussi visibles sur les ratios moléculaires. Des différences significatives étaient néanmoins visibles entre Z1 et Z3 aux mois de juin et septembre pour les ratios B6CA/B5CA, et au mois de mars pour les ratios B6CA+B5CA/all (Fig. 47c, d) (t-test, $p < 0.05$).

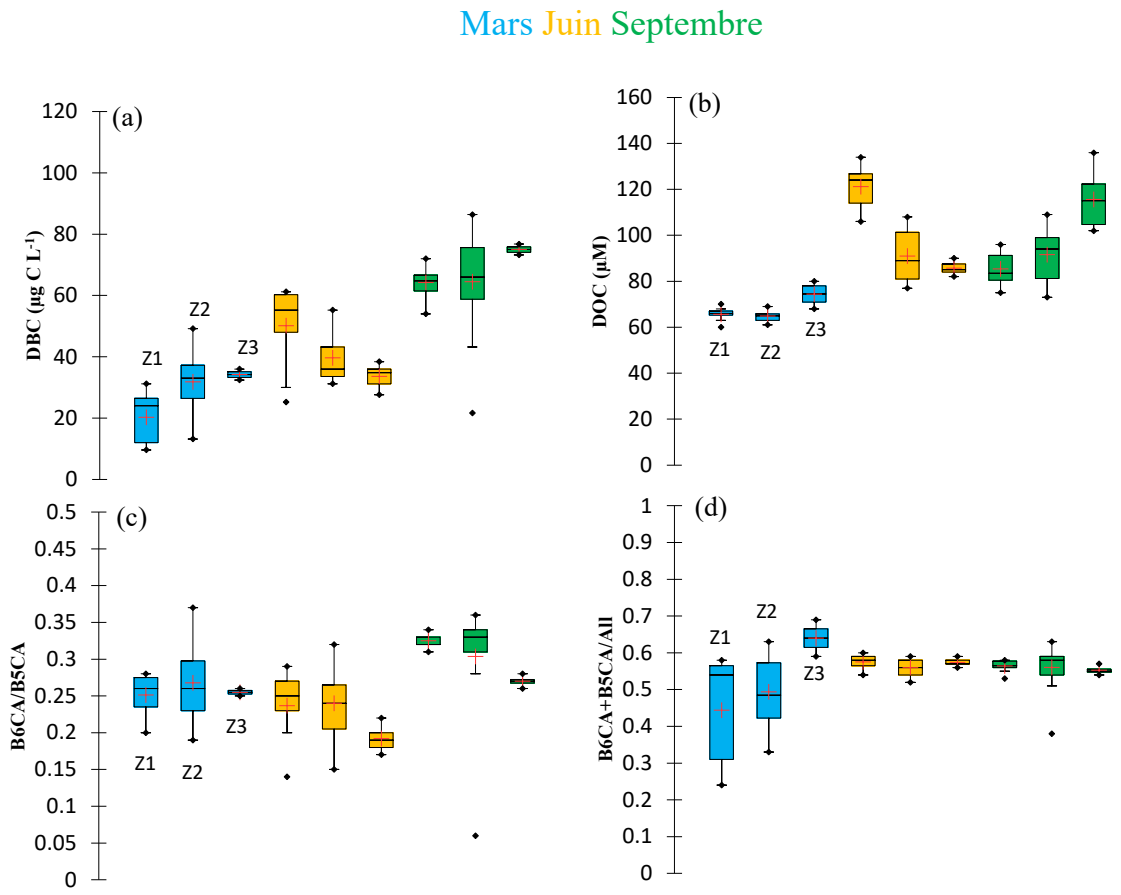



**Figure 47.** Boxplot des variations spatiales et saisonnières des concentrations de DBC (en µg C $L^{-1}$) (a) et DOC (en µM) (b), ainsi que des ratios B6CA/B5CA (c) et B6CA+B5CA/all (d) déterminés en mars (bleu), juin (jaune), et septembre 2023 (vert) dans le bras principal du fleuve Rouge.

La variabilité spatiale des concentrations en DBC présentée en Fig. 46 ainsi que les tendances observées par la classification des stations en trois zones géographiques (Fig. 47) soulignent un comportement apparemment non conservatif du DBC dans le fleuve, puisque la majorité des points, pour une même salinité de 0, exhibaient des concentrations très fluctuantes en DBC, variant également selon les saisons. En juin, la diminution des concentrations de DBC, concomitante à une décroissance des ratios B6CA/B5CA (Fig. 47c), pourrait indiquer l'action du rayonnement solaire et la phototransformation du DBC, comme suspecté également dans l'estuaire de la Van Uc (voir section 4.2). Il convient également de rappeler que les concentrations plus faibles observées en Z3 (zone estuarienne) ne résulteraient pas uniquement de la phototransformation, mais seraient aussi influencées par le mélange avec l'eau de mer, moins riche en DBC.

La phototransformation pourrait être un puits important pour le DBC dans le système fluvial, et expliquer la diminution nette observée, comme suggéré par Spencer et al. (2009) et

Stubbins et al. (2008). Si l'on calcul de façon simple la vitesse du courant de surface dans le fleuve Rouge à partir d'une moyenne de la profondeur et du débit du fleuve à cette période, nous pouvons estimer une diminution du ratio B6CA/B5CA entre Z1 et Z3 de 21% en 29 jours en juin, et de 18% en 30 jours en septembre (Annexe 10). L'étude menée par Stubbins et al. (2012) a révélé qu'une exposition au rayonnement solaire de 28 jours d'eau profonde de l'Atlantique Nord induisait une décroissance du ratio B6CA/B5CA de 28%. La convergence de ces ordres de grandeurs va dans le sens d'une modification du degré de condensation aromatique du DBC par la phototransformation. Les tendances observées en mars et septembre ne signifient pas qu'aucune phototransformation n'a lieu à ces périodes, mais que la diminution des concentrations de DBC (et la diminution des ratios moléculaires) liée aux processus photochimiques pourrait être masquée par d'autres processus majoritaires à ces périodes.

Deux hypothèses peuvent être avancées pour expliquer l'augmentation de la teneur en DBC le long du fleuve Rouge en mars et septembre. Premièrement, l'impact de la ville de Hanoï pourrait entraîner des épisodes de dépôts/transferts particulièrement importants et soudains, liés principalement aux épisodes de pluies (Dominutti et al., 2024). Ce phénomène de « relargage » et de transport serait particulièrement intense en période de pluie, et donc majoritairement présent en septembre dans notre étude. L'augmentation des concentrations de DBC observée en Z3 (et non en Z1) en septembre pourrait ainsi s'expliquer par un décalage temporel entre un dépôt massif de BC à Hanoï et son transport, sous l'effet des pluies, vers l'aval du transect. En raison de ce décalage, les concentrations élevées de DBC seraient mesurées en aval du fleuve, plutôt qu'en amont, près de la ville. Néanmoins, aucune concentration de DBC n'a été déterminée en amont de Hanoï, et aucune concentration de BC atmosphérique n'a été mesurée dans la ville avant la période d'échantillonnage, pour appuyer cette hypothèse.

La deuxième hypothèse repose sur l'idée qu'en mars, durant la saison sèche, lorsque le débit et le niveau du fleuve sont bas, un apport significatif d'eau souterraine pourrait survenir dans la région de Hanoï. Bien que de nombreuses études aient relevé l'importance des réserves d'eau souterraine de Hanoï et l'influence du fleuve Rouge sur leur qualité (Nguyen et al., 2015; Hung Vu et Merkel, 2019), aucun travail n'a encore tenté d'estimer précisément leur contribution au bras principal du fleuve en termes de volume. En revanche, dans d'autres systèmes fluviaux tropicaux, les apports d'eau souterraine ont été identifiés comme significatifs, voire dominants, durant la saison sèche (Dittmar et al., 2012; Marques et al., 2017). Ces apports d'eau souterraine à Hanoï potentiellement importants en mars et caractérisés par une teneur plus faible en DBC pourraient entraîner une dilution des concentrations de DBC

dans la zone Z1. En effet, les eaux souterraines sont généralement pauvres en DBC (Dittmar et al., 2012; Stubbins et al., 2015; Marques et al., 2017; McDonough et al., 2022). Ce DBC présent dans les eaux souterraines est par ailleurs caractérisé par des ratios moléculaires plus faibles (faible proportion de composés aromatiques polycondensés) (McDonough et al., 2022). Ainsi, les intrusions d'eau souterraine en période sèche dans la région de Hanoï pourraient rendre compte des concentrations de DBC plus faibles en Z1 par rapport à Z2 et Z3, en expliquant également la stabilité des ratios B6CA/B5CA et l'augmentation des ratios B6CA+B5CA/all observés le long du fleuve (Fig. 47c, d).

Il a d'ailleurs aussi été démontré que, avec l'augmentation des précipitations, le chemin hydrologique est susceptible d'intégrer également les couches actives du sol riches en composés organiques et en charbon (Guggenberger et al., 2008; Stubbins et al., 2015). L'intégration de ces couches est particulièrement importante à considérer dans la région Nord Vietnam, où le charbon représente encore aujourd'hui la première source de production d'énergie (Cohen et al., 2010). L'implication de ces couches actives pendant la période de pluie dans cette région viendrait renforcer l'effet de lessivage des sols, et l'apport de DBC dans le fleuve Rouge (Dittmar et al., 2012) le long du transect.

## 5.4. Indices optiques de la DOM

### 5.4.1. Variabilité saisonnière

Pour l'étude des propriétés optiques de la DOM dans le bras principal du fleuve Rouge, 4 indices ont été sélectionnés : le $SUVA_{254}$, le coefficient d'absorption à 350 nm ($a_{CDOM}$ (350)), le HIX, le BIX et le COX (Fig. 48). Les valeurs de $SUVA_{254}$ variaient significativement au niveau saisonnier, diminuant de 6.91 ± 1.17 L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$ en mars à 5.75 ± 0.84 L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$ en juin, et augmentant à 9.63 ± 1.40 L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$ en septembre (t-test, $p < 0.05$) (Fig. 48a). Ces valeurs de $SUVA_{254}$ étaient globalement plus élevées que celles mesurées dans l'estuaire de la Van Uc en mars et novembre de la même année, et se rapprochait des valeurs mesurées par Zhao et al. (2018) dans la rivière Songhua (Chine) et par Dashti et Malakahmad (2015) dans la rivière Kinta (Malaisie).

Les valeurs de $a_{CDOM}(350)$ mesurées dans le fleuve Rouge étaient significativement plus élevées en septembre (3.85 ± 0.30 $m^{-1}$) qu'en mars (1.72 ± 0.44 $m^{-1}$) et juin (2.06 ± 0.41 $m^{-1}$) (t-test, $p < 0.05$) (Fig. 48b). Les valeurs de mars et juin se rapprochaient de celles observées par Guo et al. (2007) dans les eaux douces estuariennes chinoises, tandis que les valeurs de

septembre étaient proches de celles rapportées par Shen et al. (2012) dans la rivière Mississipi et Atchafalaya au Mexique, pour des concentrations de DOC trois fois supérieures à celles mesurées dans le fleuve Rouge.

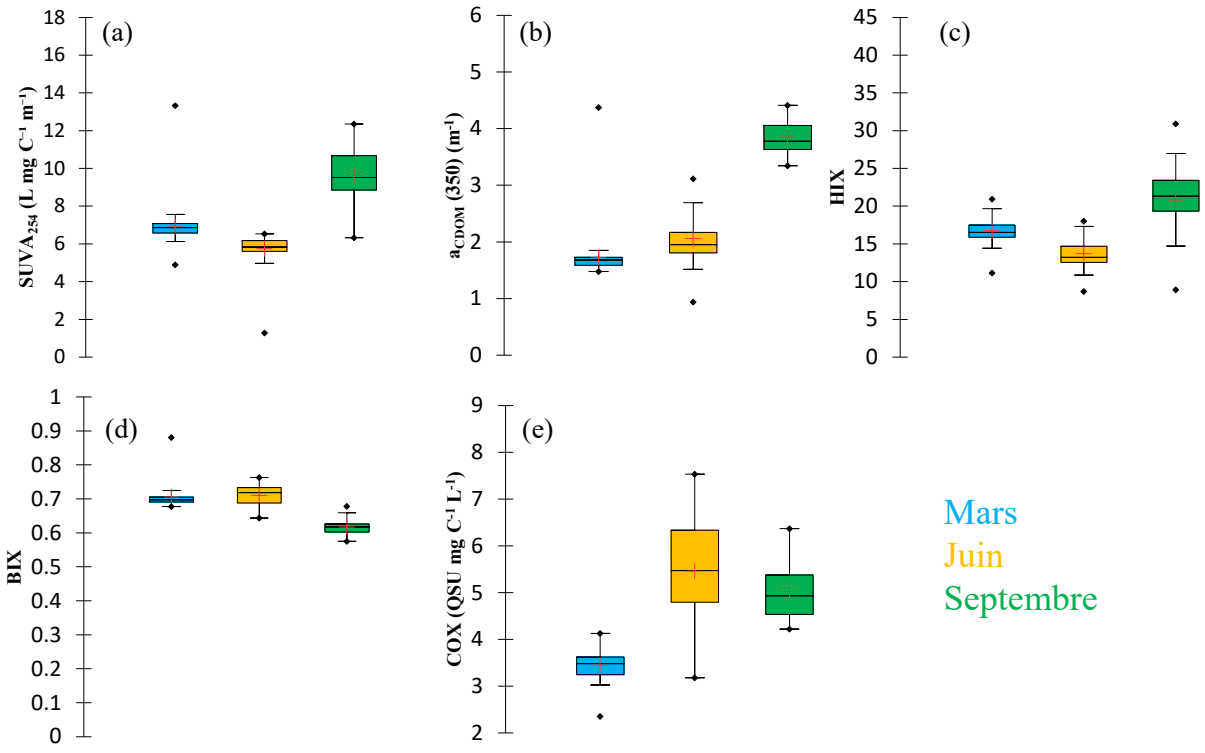



**Figure 48.** Boxplots des variations saisonnières de l'absorbance spécifique aux UV à 254 nm ($SUVA_{254}$, en L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$) (a), du coefficient d'absorption à 350 nm ($a_{CDOM}$ (350), en $m^{-1}$) (b), de l'indice humique (HIX) (c), de l'indice biologique (BIX) (d) et de l'indice de combustion (COX, en QSU mg $C^{-1}$ $L^{-1}$) (e) déterminés en mars (bleu), juin (jaune), et septembre 2023 (vert) dans le bras principal du fleuve Rouge.

Les valeurs de HIX montraient la même tendance saisonnière que le $SUVA_{254}$, en passant de 16.8 ± 1.9 en mars à 13.7 ± 1.9 en juin, et en augmentant à 20.8 ± 4.5 en septembre (Fig. 48c). Des valeurs similaires ont été relevées dans un système fluvial tropical brésilien par Dalmagro et al. (2017) qui ont également observé l'augmentation du HIX pendant la période humide. Enfin, les valeurs de BIX exhibaient un pattern opposé, avec des valeurs maximales en mars et en juin (0.71 ± 0.03) et significativement plus faibles en septembre (0.62 ± 0.02) (Fig. 48d), en accord avec les tendances saisonnières et l'ordre de grandeur rapportés par Wang et al. (2019) dans la rivière Nanfeihe en Chine.

Enfin, les valeurs de l'indice de combustion COX, proposé par Martinot et al. (2024), étaient significativement plus élevées en juin et en septembre (5.46 ± 1 et 5.03 ± 0.6 QSU mg $C^{-1}$ $L^{-1}$, respectivement) qu'en mars (3.45 ± 0.34 QSU mg $C^{-1}$ $L^{-1}$) (Fig. 48e). En mars, les

valeurs de COX mesurées dans le bras principal du fleuve Rouge étaient comparables à celles observées dans la rivière Van Uc à la même période (Fig. 40d). En revanche, les valeurs de COX calculées en juin et septembre étaient les plus élevées obtenues pour les échantillons naturels prélevés dans le delta du fleuve Rouge. Il est important de noter que, dans cette étude du bras principal du fleuve Rouge, la dynamique du COX n'a pas suivi celle du HIX, contrairement à ce qui a été observé dans l'estuaire de la rivière Van Uc (voir section 4.2.2).

Afin d'obtenir une représentation synthétique de la distribution saisonnière des échantillons du fleuve Rouge, une ACP, basée sur une matrice de corrélation de Pearson, a été réalisée pour les variables optiques ($SUVA_{254}$, $a_{CDOM}(350)$, BIX, HIX, COX) et les paramètres chimiques (DBC, DOC) (Fig. 49). L'axe principal F1, qui expliquait 55% de la variabilité totale au sein des échantillons, était forcé positivement par les paramètres $a_{CDOM}(350)$ et DBC, et dans une moindre à $SUVA_{254}$ et HIX, et négativement par le BIX (Fig. 49). L'axe secondaire F2, qui rendait compte de 29% de la variabilité totale au sein des échantillons, était associé positivement au COX et au DOC ($R^2 = 0.88$, $n = 98$, $p < 0.05$ entre les deux paramètres) (Fig. 49). Le mois de mars, qui présentait de fortes valeurs de BIX, était aussi négativement forcée par les indices d'aromatisation de la DOM (DBC, $SUVA_{254}$), et présentait des valeurs de HIX plus élevées que le mois de juin, malgré la similitude des valeurs de BIX entre les deux campagnes. Le mois de juin, correspondant à la fin de la saison sèche/l'arrivée des premières pluies, présentait une répartition des points plus étalée sur l'axe F1, forcée à la fois positivement par des fortes valeurs de BIX et négativement par le HIX et le $SUVA_{254}$. La DOM de juin semblait ainsi afficher une forte composante biologique, mais se distinguait du mois de mars par des valeurs de DBC et $a_{CDOM}(350)$ plus élevées (Fig. 49). Enfin, le mois de septembre, bien que particulièrement marquée par la DOM terrestre et humique au travers des plus fortes valeurs de $SUVA_{254}$, $a_{CDOM}(350)$, HIX et DBC, exhibait aussi une répartition étalée des points, légèrement forcée par le DOC et le COX (Fig. 49).

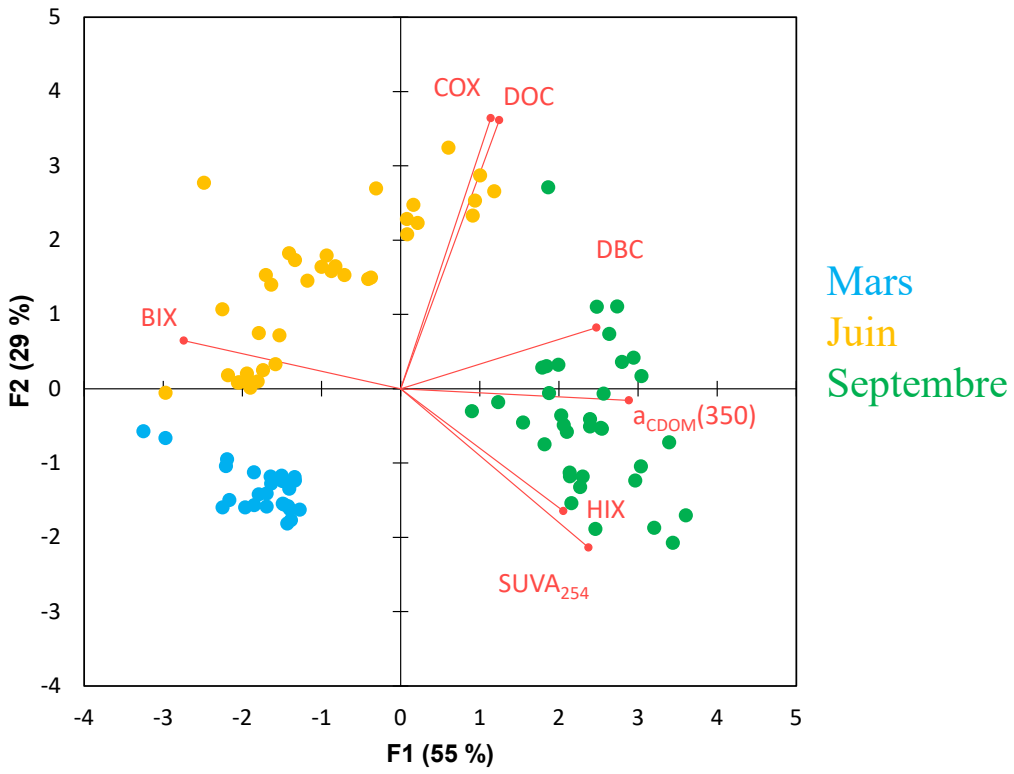



**Figure 49.** Biplot de l'analyse en composantes principales (ACP) représentant le cercle de corrélation des variables (indices, DOC et DBC en rouge) et la distribution des échantillons récoltés mars (en bleu), juin (en jaune) et septembre 2023 (en vert) dans le bras principal du fleuve Rouge sur les axes F1 et F2.

Ces tendances rejoignent les observations précédentes sur l'humification de la DOM du fleuve à la saison des pluies. La présence d'une signature biologique identifiée dans le fleuve, dont la proportion était particulièrement importante en saison sèche mais dont l'évolution n'était pas entièrement corrélée aux signatures humiques, suggère que l'activité biologique autochtone du fleuve était majoritaire en mars, lorsque les apports terrestres étaient minoritaires.

L'amplitude et la variabilité saisonnière des indices soulignent l'influence des cycles hydrologiques sur la quantité et la qualité de la DOM dans le fleuve Rouge. En septembre, après la période des pluies, les valeurs élevées de $SUVA_{254}$, $a_{CDOM}(350)$ et HIX révèlaient une prédominance de DOM aromatique et humique d'origine terrestre, probablement liée aux apports massifs de matière organique des sols et des végétaux érodés par les pluies. À l'inverse, au printemps et début d'été (mars et juin), les valeurs plus élevées de BIX indiquaient une proportion plus importante de DOM non aromatique et d'origine autochtone, probablement associée à l'activité planctonique dans le fleuve.

Ces résultats montrent que la dynamique saisonnière influençait non seulement la quantité, mais aussi la qualité de la DOM, avec une composante plus labile et biologique en

saison sèche, suivie d'une augmentation des composés humiques et réfractaires en période humide.

### 5.4.2. Variabilité spatiale

Les variations spatiales des indices optiques sélectionnés (Z1, Z2, Z3) sont illustrées en Fig. 50. Les évolutions spatiales du $SUVA_{254}$ et du HIX étaient très similaires : une stabilité ou une diminution non significative de Z1 à Z3 en mars et en juin, tandis qu'une diminution significative était observée de Z1 à Z3 en septembre (Fig. 50a, c). Concernant l'indice $a_{CDOM}(350)$, les valeurs augmentaient significativement de Z1 à Z3 en mars, et diminuaient significativement de Z1 à Z3 en juin et en septembre (Fig. 50b). Les valeurs de BIX, quant à elles, restaient stables de Z1 à Z2, puis augmentaient de manière significative en Z3 en mars, tandis qu'elles augmentaient linéairement et significativement de Z1 à Z3 en juin et en septembre (Fig. 50d). Enfin, les valeurs de COX diminuaient significativement de Z1 à Z3 en mars et en juin, tandis qu'elles croissaient en septembre (Fig. 50e).

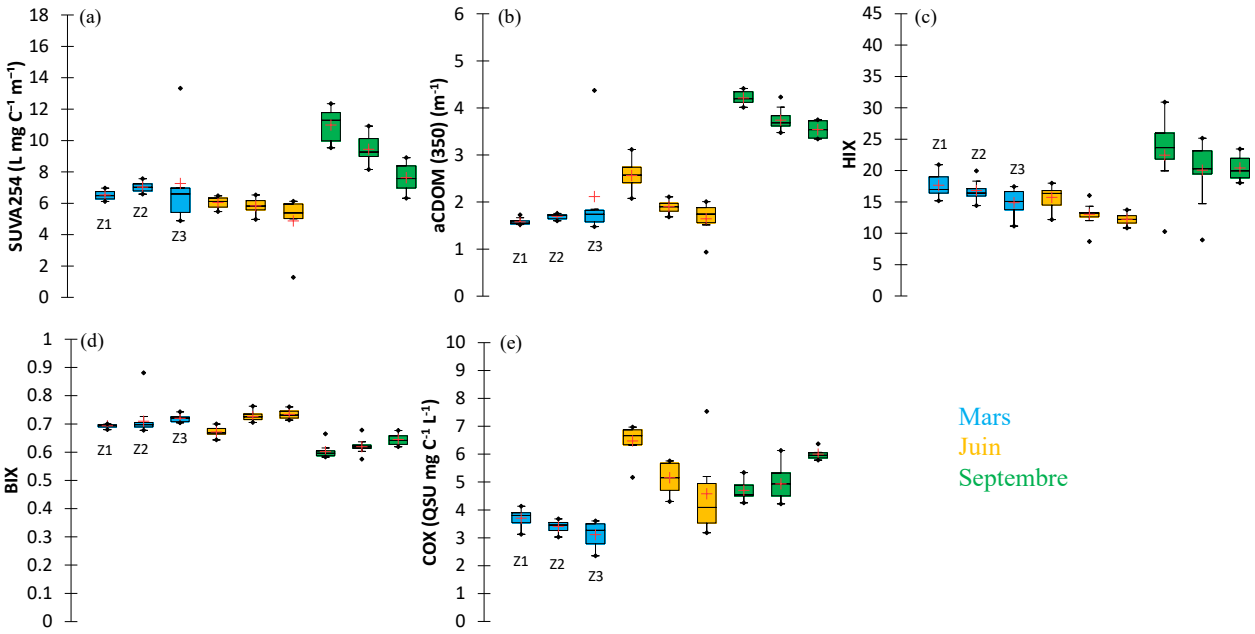



**Figure 50.** Boxplot des variations spatiales et saisonnières de l'absorbance spécifique aux UV à 254 nm ($SUVA_{254}$, en L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$) (a), du coefficient d'absorption à 350 nm ($a_{CDOM}$ (350), en $m^{-1}$) (b), de l'indice humique (HIX) (c), de l'indice biologique (BIX) (d) et de l'indice de combustion (COX, en QSU mg $C^{-1}$ $L^{-1}$) (e) déterminés en mars (bleu), juin (jaune), et septembre 2023 (vert) dans le bras principal du fleuve Rouge.

Ces variations mettent en évidence une fraction plus importante de DOM d'origine terrestre et humique dans la partie fluviale, et une proportion plus élevée de DOM d'origine autochtone dans la partie estuarienne (Amaral et al., 2020).

La zone Z1 en mars se distinguait de celles de juin et septembre en affichant des valeurs de $SUVA_{254}$ et de $a_{CDOM}(350)$ plus faibles que celles observées en Z2 et Z3. De plus, aucune différence significative n'a été constatée dans les valeurs de BIX entre Z1 et Z2 en mars, tandis qu'en juin et septembre, les valeurs de BIX augmentaient de manière progressive et significative de Z1 à Z2, puis de Z2 à Z3. Globalement, la CDOM/FDOM de Z1 en mars était donc caractérisée par des valeurs de BIX plus élevées et des valeurs de $SUVA_{254}$ et $a_{CDOM}(350)$ plus faibles que celles attendues au vu des gradients spatiaux observés en juin et septembre. Ces observations renforcent l'hypothèse d'une intrusion d'eau souterraine autour de Hanoï en mars, en accord avec les résultats de Wang et al. (2022) en Chine du sud. Ces auteurs ont montré que les eaux souterraines se distinguaient par des valeurs de $a_{CDOM}(350)$ significativement plus faibles que celles de leurs rivières, des différences d'une ampleur similaire à celles que nous avons observées entre Z1 en mars, et Z1 en juin et septembre. Bien que les eaux souterraines présentent généralement un degré d'humification élevé, leurs intrusions dans les fleuves ne sont pas systématiquement associées à des variations visibles du HIX, notamment dans les systèmes deltaïques tropicaux où le niveau d'humification de l'eau du fleuve est naturellement élevée (Huang et al., 2015). Ainsi, Wang et al. (2022) ont conclu que la CDOM souterraine était de type humique et révélait des signes d'activité biologique, associant donc cette CDOM à une activité microbienne. L'intrusion de cette eau souterraine riche en substances humiques pourrait également expliquer les tendances observées dans les variations spatiales du COX en mars, qui apparaît « trop élevé » en Z1 par rapport aux concentrations mesurées de DBC.

Bien que cette intrusion d'eau souterraine puisse expliquer les variations spatiales des concentrations en DBC (Fig. 47a) et de son degré de condensation aromatique (Fig. 47c) ainsi que l'évolution des indices optiques (Fig. 50), il reste difficile de confirmer cette hypothèse d'intrusion en l'absence de mesures effectuées en amont de la ville de Hanoï, *i.e.,* avant la nappe souterraine (Hung Vu et Merkel, 2019).

### 5.4.3. Application du COX

L'indice COX a été calculé de manière uniforme sur l'ensemble des échantillons du jeu de données, et la corrélation entre COX et la concentration de DBC est illustrée en Fig. 51. Aucune corrélation n'a été observée entre le COX et la concentration de DBC, et la répartition

géographique des stations le long du transect ne semblait influencer cette absence de relation (Fig. 51). Cette observation confirme l'inadéquation du COX pour les échantillons fluviaux, qui sont particulièrement riches en substances humiques et perturbent de fait le signal de fluorescence ciblé pour la détection des produits de combustion, comme discuté dans la section 4.2.2. En raison du faible gradient de salinité échantillonné durant ces campagnes, il n'a pas été possible d'évaluer pleinement l'efficacité du COX dans la zone estuarienne du bras principal du fleuve Rouge.

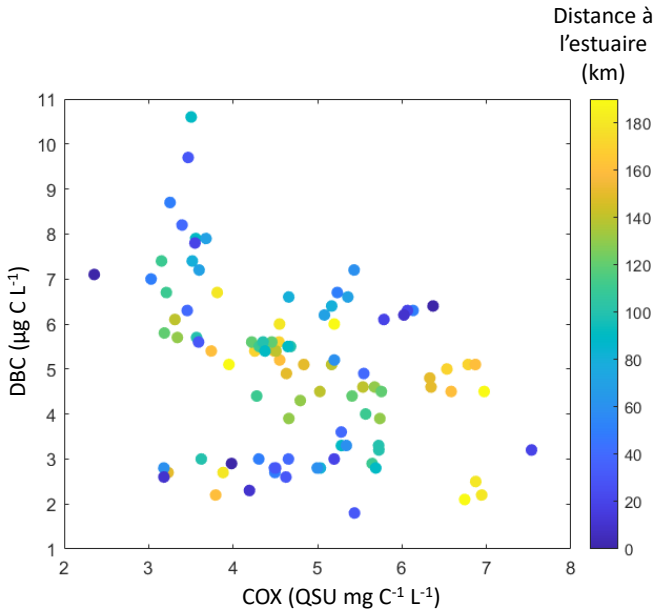



**Figure 51.** Evolution de l'indice de combustion (COX, en QSU mg $C^{-1}$ $m^{-1}$) en fonction de la concentration de DBC (en µg C $L^{-1}$) déterminés en mars, juin et septembre 2023 dans le bras principal du fleuve Rouge. Les points de données sont colorés en fonction de la distance à l'estuaire (km).

Néanmoins, si le phénomène de superpositions de signatures de fluorescence avec les matières humiques affecte l'efficacité du COX dans les environnement fluviaux, l'utilisation des indices d'absorbance pourrait représenter un outil plus adapté pour l'identification des substances aromatiques polycondensées tels que le DBC dans les systèmes fluviaux. En effet, alors que le HIX est le COX ne présentaient aucune corrélation significative avec le DBC dans

le bras principal du fleuve Rouge, le coefficient d'absorption à 350 nm [$a_{CDOM}(350)$] décrit précédemment exhibait une meilleure corrélation avec le DBC que le fluorophore C1 ($R^2$ = 0.62, n = 98, $p < 0.05$) et aucune corrélation avec la concentration de DOC (Tableau 11). Dans notre cas, $a_{CDOM}(350)$ semblait être plus sélectif, moins impacté par les substances humiques, et donc plus utile à la détection du DBC en milieu fluvial.

Il est important de noter que cette corrélation entre $a_{CDOM}(350)$ et la concentration de DBC s'est avérée non-significative dans l'estuaire de la Van Uc et dans la baie de Marseille à des salinités supérieures à 2 (voir Chapitre 4). De la même manière, une corrélation significative était observée dans le bras principal du fleuve Rouge entre les concentrations de DBC et les pentes spectrales des coefficients d'absorption entre 275 et 295 nm ($R^2 = 0.63$, $n = 98$, $p < 0.05$) et 350 et 400 nm ($R^2 = 0.61$, $n = 98$, $p < 0.05$).

**Tableau 11.** Coefficients de détermination ($R^2$) des relations linéaires entre les paramètres DOC et DBC et les indices $SUVA_{254}$, $a_{CDOM}(350)$, HIX et COX déterminés en mars, juin, et septembre, ainsi que pour les données agrégées (M+J+S). Les coefficients de détermination significatifs sont écrits en gras.

| | **$SUVA_{254}$** | | **$a_{CDOM}(350)$** | | **HIX** | | **COX** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | DOC | DBC | DOC | DBC | DOC | DBC | DOC | DBC |
| Mars (M) | *0.01* | *0.02* | *0.08* | *0.08* | *0.3* | *0.11* | **0.42** | *0.03* |
| Juin (J) | *0.03* | *0.01* | **0.77** | *0.23* | 0.4 | *0.11* | *0.06* | *0.02* |
| Septembre (S) | **0.81** | *0.01* | *0.25* | *0* | *0.01* | *0.01* | *0.32* | *0* |
| M+J+S | *0.01* | *0.33* | *0.17* | **0.62** | *0* | *0.12* | *0.01* | *0.01* |

Ces tendances suggèrent que les indices d'absorbance pourraient permettre d'affiner la détection de structures moléculaires aromatiques polycondensées caractéristiques du DBC, particulièrement dans les environnements fluviaux riches en matière humique florescente. Si dans son état actuel le COX semblait présenter un intérêt pour la détection du DBC en milieu marin côtier, une deuxième version de cet indice, intégrant un facteur correctif lié à l'absorbance de l'échantillon, pourrait être envisagé. De futures études se concentrant uniquement sur des échantillons de rivières seront nécessaires pour renforcer cette approche.

## 5.5. Estimations des flux de DBC du système deltaïque du fleuve Rouge

A partir des concentrations de DBC mesurées en mars, juin et septembre 2023 dans le bras principal du fleuve Rouge, et des débits mesurés dans le fleuve Rouge moyennés sur 5 années (de 2018 à 2022), il est possible d'estimer les flux de DBC au golfe du Tonkin. Compte

tenu des écarts de concentrations et de débits entre la Z1 et la Z3 définit dans cette étude, il nous a semblé préférable d'associer un calcul de flux saisonnier à ces deux zones séparément. De la même manière que pour les flux calculés dans l'estuaire de la Van Uc (voir Chapitre 4), c'est le potentiel du fleuve Rouge à apporter du DBC à l'océan qui sera discuté. Dans la première partie du fleuve Rouge (Z1), les flux de DBC ont été calculés à partir des débits mesurés à la station Son Tay située en amont de la ville de Hanoï. Cette dernière est donc localisée avant la séparation du fleuve en deux bras, et présente les débits maximaux sur le transect échantillonné. Les flux plus importants calculés à Z1 par rapport à Z3 semblaient cohérents avec la morphologie deltaïque du fleuve Rouge, qui se divise en de nombreux canaux (Tableau 12).

**Tableau 12.** Estimation des flux annuels de DBC (Gg C $an^{-1}$) du fleuve Rouge (Z1 et Z3) au golfe du Tonkin et contribution annuelle aux apports totaux de DBC au milieu marin par les fleuves (%) estimés par Jones et al. (2020) (a, 18 Tg $an^{-1}$) et par Fang et al. (2021a) (b, 66 Tg

| | | | | Contribution à l'apport mondiale de DBC à l'océan par les fleuves (%) | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | DBC (Gg $an^{-1}$) | Estimation basse[a] | Estimation haute[b] |
| fleuve Rouge | Z1 | Mars | **0.81** ± *0.35* | 0.00 | 0.00 |
| | | Juin | **10.62** ± *2.99* | 0.06 | 0.02 |
| | | Septembre | **20.68** ± *1.79* | 0.11 | 0.03 |
| fleuve Rouge | Z3 | Mars | **0.37** ± *0.03* | 0.00 | 0.00 |
| | | Juin | **0.99** ± *0.13* | 0.01 | 0.00 |
| | | Septembre | **5.81** ± *0.12* | 0.03 | 0.01 |
| Van Uc | Chapitre 3 | Mars | 3.5 ± *0.3* | 0.02 | 0.01 |
| | | Novembre | 3.32 ± *0.1* | 0.02 | 0.00 |
| Fang et al. (2018) | Chine côtière | Aout 2013 | 16.3 | 0.09 | 0.02 |
| | | Aout 2014 | 6.4 | 0.04 | 0.01 |

D'après Vinh et al. (2014), l'estuaire de Ba Lat (Z3), représenterait 22.5% du débit total du delta du fleuve Rouge. En se basant sur les flux de DBC calculés à Ba Lat, le delta du fleuve Rouge pourrait être responsable de 0.01%, 0.02% et 0.14% des apports mondiaux de DBC à l'océan en mars, juin et septembre, respectivement. Ces estimations sont cohérentes avec celles calculées autour de la ville de Hanoï en juin et septembre (0.06 et 0.11%), que l'on peut considérer comme regroupant une majeure partie de l'eau du delta (Tableau 12, Fig. 9).

Par ailleurs, pour les mois de juin et septembre, ces estimations sont du même ordre de grandeur que celles calculées par Fang et al. (2018) pendant la saisons des pluies, et particulièrement proches de celles relevées en 2014 (0.04%). Si une concordance existe dans la

variabilité saisonnière des flux de DBC mesurés autour de Hanoï et ceux mesurés à l'estuaire de Ba Lat, il est important de noter que les estimations réalisées à partir des mesures faites dans la rivière Van Uc en mars sont largement supérieures. En effet, en se basant sur les estimations des flux calculés à Van Uc et sur la proportion du débit du delta passant par cette estuaire, le delta pourrait être responsable de 0.13% des apports mondiaux en mars et en juin (Chapitre 4, Annexe 11). Il est important de rappeler que les campagnes réalisées dans la région ont concerné majoritairement la rivière en mars et l'estuaire en juin. Alors qu'une variabilité importante dans les concentrations en DBC a été relevée dans la rivière, l'estuaire quant à lui reflètait l'apport de différents affluents. Cette différence de stratégie d'échantillonnage en mars et en novembre dans la région Van Uc affecte les flux calculés et leur interprétation possible. Néanmoins, nos estimations restent un bon indicateur de l'ordre de grandeurs de ces flux.

## 5.6. Conclusions

Cette étude a examiné les variations spatiales et saisonnières des concentrations de DBC et DOC, ainsi que les caractéristiques optiques de la DOM dans le bras principal du fleuve Rouge. Les résultats mettent en évidence la complexité des dynamiques biogéochimiques de ce système fluvial, fortement influencées par la saisonnalité et les pressions anthropiques.

Les concentrations de DBC montraient une variabilité marquée au cours de l'année, avec un pic durant la saison humide (jusqu'à 65.6 µg C $L^{-1}$ en septembre), en concomitance avec les précipitations saisonnières qui charrient des quantités importantes de matière organique et de BC du continent vers le fleuve. En comparaison, les concentrations de DOC suivaient des tendances saisonnières similaires, mais l'augmentation en saison humide était plus modérée. Cette observation suggère une modification de la composition de la DOM, avec une plus grande proportion de DBC en fin de saison humide.

L'évolution spatiale des concentrations de DBC variait toutefois selon les périodes d'échantillonnage. En juin, une diminution d'environ 50% des concentrations de DBC était observée entre Hanoï (Z1) et l'estuaire (Z3), probablement due à la phototransformation des composés humiques dans les eaux deltaïques. En revanche, en mars et septembre, les concentrations de DBC augmentaient progressivement vers l'estuaire. Deux hypothèses principales sont proposées pour expliquer ces variations :

1. **L'hypothèse d'un apport fluvial et atmosphérique local** : les précipitations dans la région de Hanoï pourraient entraîner un transfert important de BC vers le fleuve, augmentant ainsi les concentrations en DBC le long du transect en mars et septembre. Ces apports seraient renforcés par le lessivage des sols riches en matière organique issue de la combustion du charbon, encore largement utilisé dans la région.
2. **L'hypothèse d'un apport souterrain saisonnier** : en saison sèche (mars), les faibles débits du fleuve pourraient favoriser une infiltration accrue des eaux souterraines, connues pour être pauvres en DBC et présenter une signature moléculaire différente. Ce phénomène pourrait expliquer l'augmentation des concentrations en DBC de Hanoï vers l'estuaire.

L'analyse optique de la DOM tend à confirmer la seconde hypothèse pour le mois de mars, en montrant des variabilités dans ses indices optiques de fluorescence et d'absorbance, qui confirment l'intrusion d'eau souterraine. Les indices $SUVA_{254}$, $a_{CDOM}(350)$ et HIX traduisaient une DOM plus riche en composés humiques aromatiques après la période des pluies en septembre, probablement liée aux apports massifs de matière organique terrestre lessivée par les précipitations. En revanche, en mars, les valeurs de BIX plus élevées indiquaient une source plus fraîche dans la DOM. D'autre part, les valeurs plus faibles de $SUVA_{254}$ et de $a_{CDOM}(350)$ et plus fortes de BIX en Z1 par rapport à Z2 et Z3 en mars viennent renforcer l'hypothèse d'une intrusion d'eau souterraine autour de Hanoï.

Les flux de DBC vers l'océan, estimés à partir des débits du fleuve Rouge, indiquaient que le système deltaïque pourrait contribuer jusqu'à 0.14% des apports mondiaux de DBC durant la saison humide et sont cohérents avec les valeurs de flux rapportés en Chine et ceux estimés dans le Chapitre 4. Ce résultat confirme le rôle du fleuve Rouge comme vecteur majeur de transfert de carbone organique vers les écosystèmes marins, en particulier en période de pluies intenses.

En conclusion, le fleuve Rouge présentait des dynamiques complexes de transport de DBC et de DOM, fortement influencées par la saisonnalité et les activités humaines. Les apports de BC/DBC, principalement liés aux précipitations et aux émissions anthropiques dans la région de Hanoï, montraient une forte variabilité spatio-temporelle. Des études complémentaires sur les sources souterraines et leurs importances en saison sèche ainsi que sur les mécanismes de phototransformation seraient nécessaires pour mieux comprendre ces processus et quantifier précisément les flux de carbone vers le milieu marin.

# 6. Réactivité biologique et biodégradation de la DOM_BC et du DBC

Le Chapitre 6 est une version traduite de l'article « *Assessing the bioavailability of black carbon-derived dissolved organic matter for marine heterotrophic prokaryotes*» (Martinot et al., 2023) publiée en aout 2023 dans Science of the Total Environment. La réactivité biologique de la DOM_BC et du DBC a été explorée au travers d'une expérience de biodégradation réalisée au MIO durant l'été 2021, qui a confronté de la DOM_BC de diverses origines à une communauté de procaryotes hétérotrophes marins collectée en baie de Marseille.

Cet article (publié en 2023) présente des concentrations en DBC calculées à partir de l'équation (3) présentée en Chapitre 2 (section 2.3), c'est-à-dire en utilisant les concentrations en B3CA, B4CA, B5CA et B6CA. Néanmoins, au regard des connaissances actuelles sur le biais potentiel d'inclure les B3CA et B4CA dans le calcul de la concentration en DBC (les B3CA et B4CA peuvent en effet exister sous forme libre dans le milieu aquatique; Barton et al., 2024), un paragraphe a été ajouté en fin de Chapitre 6 pour comparer les résultats obtenus en 2023 avec l'équation (3) avec ceux recalculés en 2024 *via* l'équation (4).

Le matériel et méthodes associé à ce chapitre est disponible en section 2.2.2.

## 6.1. Contexte de l'étude

Outre sa photoréactivité et son implication dans les processus abiotiques (Stubbins et al., 2012, 2015; Gao et al., 2023), la DOM_BC est également soumise à des processus biotiques. Des travaux récents se sont en effet intéressés à la biodisponibilité potentielle de la DOM_BC pour les communautés microbiennes. Ces études ont principalement porté sur la DOM_BC obtenue à partir d'expériences de lixiviation sur du charbon de bois, du chêne carbonisé et du biochar, et des communautés bactériennes/microbiennes issues des sols et des rivières (Qi et al., 2020; Zhang et al., 2020; Bostick et al., 2021; Chen et al., 2022; Goranov et al., 2022). Elles ont révélé le caractère biodisponible de la DOM_BC, attribuable à ses constituants de faible poids moléculaire, tandis que le DBC lui-même (molécules polycondensées déterminées par la méthode BPCA) présentait un comportement plus ambivalent, c'est-à-dire soit résistant à la dégradation microbienne (Bostick et al., 2021; Wagner et al., 2021; Yamashita et al., 2022) soit plutôt assimilable par les microorganismes (Qi et al., 2020; Goranov et al., 2022). Ces derniers

auteurs ont également souligné que l'origine du matériel pyrogénique à partir duquel la DOM était produite jouait un rôle important dans sa composition moléculaire et donc dans son assimilation et sa biodégradation potentielle par les procaryotes hétérotrophes. Ces observations mettent en lumière la nécessité d'approfondir les recherches sur la réactivité biologique de la DOM_BC et du DBC de différentes origines pour les procaryotes hétérotrophes.

Dans ce contexte, nous avons investigué pour la première fois la biodisponibilité de la DOM_BC et du DBC pour une communauté naturelle de procaryotes hétérotrophes marins. Nous avons mené une expérience de biodégradation *in vitro* pendant 90 jours sur un assemblage procaryotique collecté dans les eaux côtières méditerranéennes exposé à la DOM_BC provenant de trois types de particules de combustion de combustibles fossiles. Au cours de ces 90 jours d'incubation, des sous-échantillons ont été prélevés pour la détermination de divers paramètres chimiques, notamment les concentrations en nutriments, DOC, DBC, d-PAHs, CDOM et FDOM, ainsi que divers paramètres microbiologiques clés, tels que l'abondance, la production et la respiration des procaryotes hétérotrophes marins.

## 6.2. Contenu des solutions DOM_BC à T0

Des différences sont apparues entre les témoins et les 4 traitements à base de BC ($D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$, $D_{SHIP}$, $D_{SHIP\text{-}Ab}$), soulignant l'impact de l'ajout et du type de BC sur la composition des solutions de DOM_BC. Au début de l'incubation (T0), les concentrations de DOC, proportionnelles à la quantité de BC introduite dans l'eau de mer, étaient significativement plus élevées dans les traitements BC (moyenne : 244–266 µM) que dans le témoin (C) (moyenne : 74 µM) (t-test, $p < 0.05$), bien que légèrement plus faibles dans $D_{REF\text{-}OX}$ (moyenne : 244 µM) que dans $D_{REF}$ et $D_{SHIP}$/$D_{SHIP\text{-}Ab}$ (moyenne : 265 µM) (t-test, $p < 0.05$) (Tableau 13). Les concentrations de DON étaient plus élevées dans les 4 traitements BC (moyenne : 8–12 µM) que dans C (moyenne : 3 µM) (t-test, $p < 0.05$), avec les valeurs les plus élevées dans $D_{SHIP}$/$D_{SHIP\text{-}Ab}$ (moyenne : 12 µM) (t-test, $p < 0.05$). En revanche, les concentrations de DOP ne montrait aucun enrichissement dans les traitements BC par rapport à C (moyenne : < 0.2 µM) (Tableau 13).

**Tableau 13.** Contenu et caractéristiques en CDOM/FDOM des solutions DOM_BC au début (T0) de l'expérience de biodégradation pour les cinq traitements : C (contrôle), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (diesel oxydé), $D_{SHIP}$ (suie de bateau) et $D_{SHIP\text{-}Ab}$ (suie de bateau « abiotique »). Les valeurs correspondent à la moyenne et à l'écart-type des triplicatas (trois bouteilles) pour chaque traitement. Pour chaque paramètre, les valeurs avec des lettres en exposant différentes (a, b, c ou d) sont significativement différentes (t-test, $p < 0.05$).

| **Concentrations finales** | **C** | **$D_{REF}$** | $D_{REF\text{-}OX}$ | **$D_{SHIP}$** | $D_{SHIP\text{-}Ab}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| DOC (µM) | $74 \pm 1^{a}$ | $264 \pm 3^{b}$ | $244 \pm 4^{c}$ | $265 \pm 3^{b}$ | $266 \pm 1^{b}$ |
| DON (µM) | $2.9 \pm 1.7^{a}$ | $9.1 \pm 0.2^{b}$ | $8.4 \pm 0.8^{b}$ | $11.8 \pm 0.2^{c}$ | $11.7 \pm 0.2^{c}$ |
| DOP (µM) | $0.1 \pm 0.1^{a}$ | $0.2 \pm 0.0^{a}$ | $0.2 \pm 0.0^{a}$ | $0.1 \pm 0.0^{a}$ | $0.1 \pm 0.0^{a}$ |
| DBC (µg C $L^{-1}$) | $12 \pm 2^{a}$ | $939 \pm 82^{b}$ | $869 \pm 121^{b}$ | $974 \pm 70^{b}$ | $940 \pm 172^{b}$ |
| DBC/DOC (%) | 1.3 | 29.6 | 29.6 | 31.0 | 29.5 |
| d-PAHs (ng $L^{-1}$) | $13.7 \pm 2.3^{a}$ | $26.9 \pm 9.5^{b}$ | $23.1 \pm 1.6^{b}$ | $309 \pm 92^{c}$ | $258 \pm 69^{c}$ |
| d-TM (µg $L^{-1}$) | $29.7 \pm 18.5^{a}$ | $36.2 \pm 1.0^{a}$ | $31.6 \pm 2.3^{a}$ | $34.0 \pm 2.0^{a}$ | $30.6 \pm 1.8^{a}$ |
| $Si(OH)_4$ (µM) | $9.5 \pm 0.5^{a}$ | $15.2 \pm 1.1^{b}$ | $10.7 \pm 1.6^{a}$ | $9 \pm 0.4^{a}$ | $5.5 \pm 0.2^{c}$ |
| $NO_3^-$ (µM) | $12.6 \pm 0.1^{a}$ | $7.4 \pm 0.0^{b}$ | $8.5 \pm 0.2^{c}$ | $10 \pm 0.1^{d}$ | $10 \pm 0.0^{d}$ |
| $NO_2^-$ (µM) | $0.0 \pm 0.0^{a}$ | $2.0 \pm 0.0^{b}$ | $0.8 \pm 0.0^{c}$ | $0.3 \pm 0.0^{d}$ | $0.3 \pm 0.0^{d}$ |
| $NH_4^+$ (µM) | $0.1 \pm 0.1^{a}$ | $2.4 \pm 0.1^{b}$ | $2.9 \pm 0.1^{c}$ | $2.3 \pm 0.1^{b}$ | $2.3 \pm 0.1^{b}$ |
| $PO_4^{3-}$ (µM) | $1.8 \pm 0.0^{a}$ | $1.6 \pm 0.0^{b}$ | $1.6 \pm 0.0^{c}$ | $1.7 \pm 0.0^{d}$ | $1.8 \pm 0.0^{d}$ |
| **Indices CDOM/FDOM** | **C** | **$D_{REF}$** | $D_{REF\text{-}OX}$ | **$D_{SHIP}$** | $D_{SHIP\text{-}Ab}$ |
| HIX | $2.0 \pm 0.0^{a}$ | $37.3 \pm 8.6^{b}$ | $34.5 \pm 2.0^{b}$ | $49.4 \pm 1.9^{c}$ | $49.8 \pm 1.4^{c}$ |
| BIX | $1.0 \pm 0.1^{a}$ | $0.9 \pm 0.0^{b}$ | $0.8 \pm 0.0^{c}$ | $0.5 \pm 0.0^{d}$ | $0.5 \pm 0.0^{d}$ |
| $SUVA_{254}$ (L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$) | $1.7 \pm 0.1^{a}$ | $13.9 \pm 0.4^{b}$ | $11.5 \pm 0.2^{c}$ | $18.8 \pm 0.1^{d}$ | $18.7 \pm 0.3^{d}$ |
| $a_{CDOM}(254)$ ($m^{-1}$) | $1.6 \pm 0.1^{a}$ | $43.2 \pm 0.5^{b}$ | $33.7 \pm 0.1^{c}$ | $60.0 \pm 0.3^{d}$ | $59.7 \pm 1.0^{d}$ |

DOC : carbone organique dissous; DON : azote organique dissous; DOP : phosphore organique dissous; DBC : black carbon dissous; d-PAHs : hydrocarbures aromatiques polycycliques dissous; d-TM : éléments métalliques traces dissous; $Si(OH)_4$ : silicates; $NO_3^-$ : nitrates; $NO_2^-$ : nitrites; $NH_4^+$ : ammonium; $PO_4^{3-}$ : phosphates; HIX : indice humique; BIX : indice biologique; $SUVA_{254}$ : absorbance UV spécifique à 254 nm; $a_{CDOM}(254)$ : coefficient d'absorption de la CDOM à 254 nm.

Les concentrations de DBC étaient significativement plus élevées dans les 4 traitements BC (moyenne : 869–974 µg C $L^{-1}$) que dans C (moyenne : 12 µg C $L^{-1}$) (Tableau 13) (t-test, $p < 0.05$), et les ratios DBC/DOC étaient également plus élevés dans les 4 traitements BC (moyenne : 30–31%) que dans C (moyenne : 1%) (t-test, $p < 0.05$). Dans les cinq traitements, plus de 60% des BPCAs mesurés correspondaient à des BPCAs avec 3 et 4 groupes carboxyle (B3CA, B4CA), tandis que les BPCAs avec 5 et 6 groupes carboxyle (B5CA, B6CA) ne représentaient que 28% de la concentration totale de DBC dans $D_{REF}$ et $D_{REF\text{-}OX}$, et 18% dans $D_{SHIP}$ et $D_{SHIP\text{-}Ab}$ (Fig. 52).

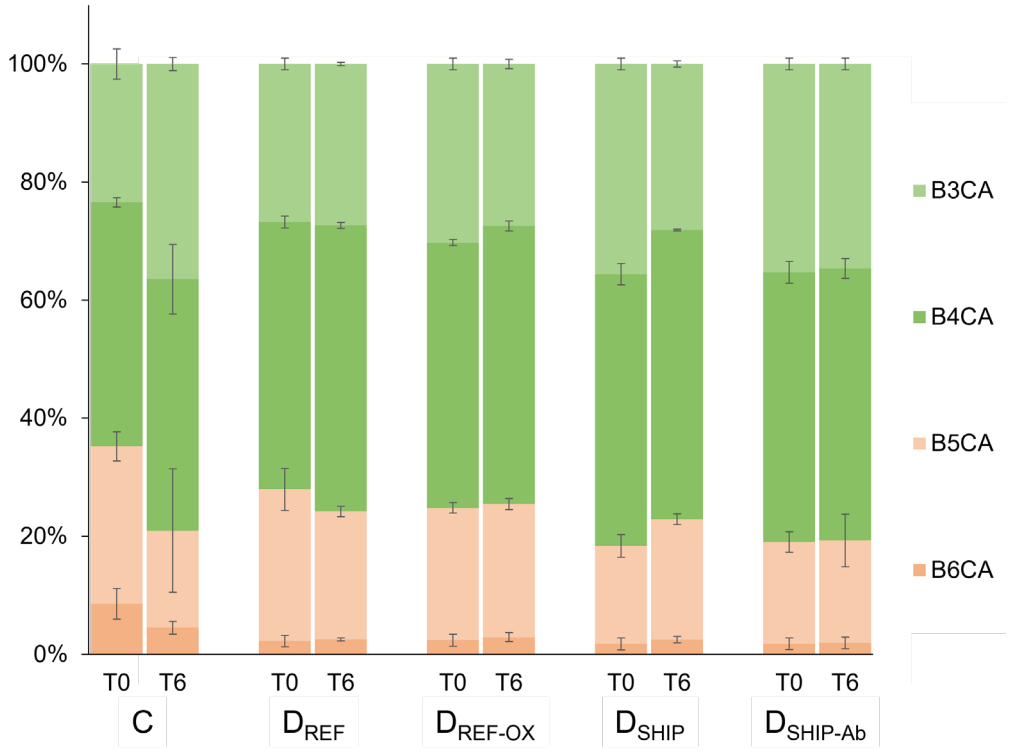



**Figure 52.** Abondances relatives (en %) des acides benzene-polycarboxyliques (BPCA, en µg C $L^{-1}$) au (a) début (T0) et (b) à la fin (T6 : 90 jours) de l'expérience de biodégradation de la DOM_BC pour les quatre traitements biotiques : C (contrôle), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (diesel oxydé), $D_{SHIP}$ (suie de bateau), et $D_{SHIP\text{-}Ab}$ (suie de bateau « abiotique »). Le gradient de couleur vert représente les molécules ayant un faible nombre de groupes carboxyles (B3CA, B4CA) et le gradient de couleur orange représente les molécules ayant un nombre élevé de groupes carboxyles (B5CA, B6CA).

Les concentrations de d-PAHs étaient légèrement plus élevées dans $D_{REF\text{-}OX}$ (moyenne : 23–27 ng $L^{-1}$) que dans C (moyenne : 14 ng $L^{-1}$) (t-test, $p < 0.05$), mais étaient d'un ordre de grandeur supérieur dans $D_{SHIP}$ et $D_{SHIP\text{-}Ab}$ (moyenne : 258-309 ng $L^{-1}$) (Tableau 13). De plus, la composition moléculaire des d-PAHs dans $D_{SHIP}$ et $D_{SHIP\text{-}Ab}$, qui montrait une dominance des dibenzothiophènes (représentant 80% du total des d-PAHs), était nettement différente de celle de $D_{REF}$ et $D_{REF\text{-}OX}$ (Fig. 53). Les naphtalènes et dibenzothiophènes apparaissaient comme les principaux composés dans $D_{REF}$ (31 et 36% du total des d-PAHs, respectivement), tandis que $D_{REF\text{-}OX}$ se caractérisait par une dominance des phénanthrènes (34%), naphtalènes (21%) et benzoanthracène + chrysène (16%), avec un très faible contenu en dibenzothiophène (~3%) (Fig. 53).

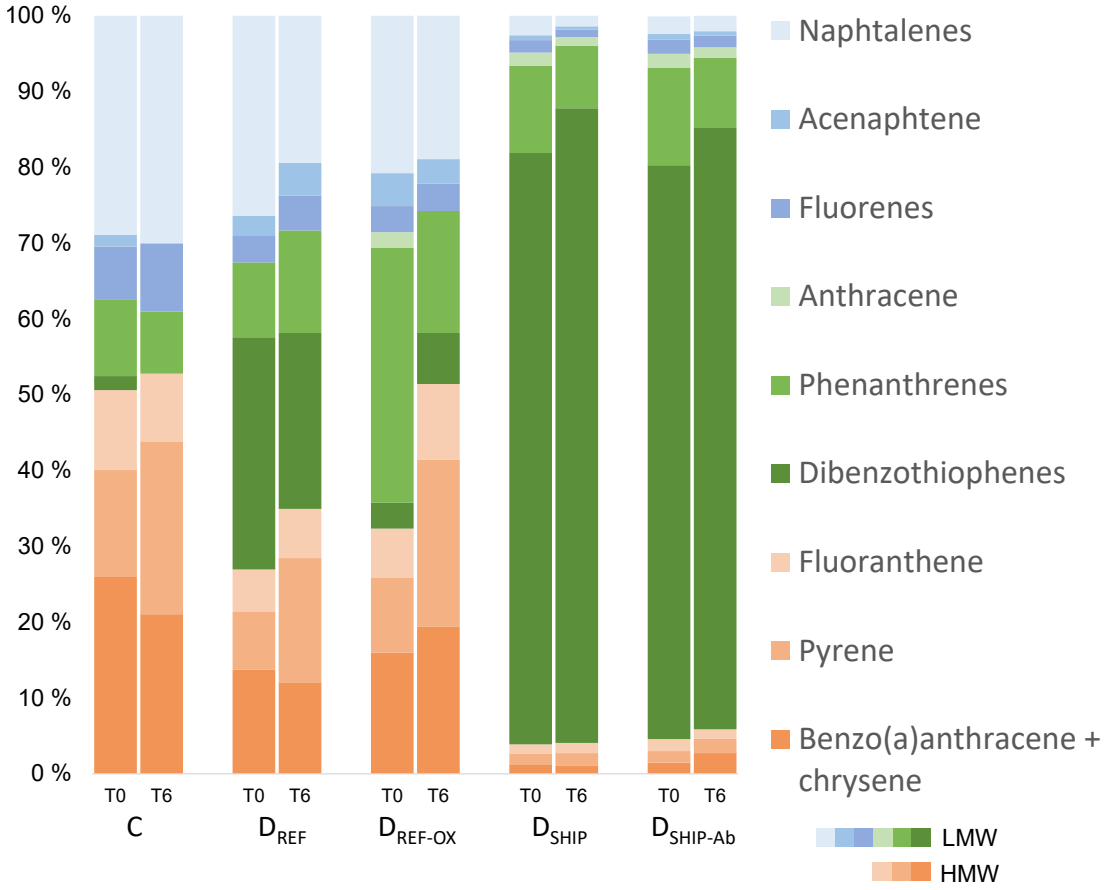



**Figure 53.** Abondances relatives (en %) des hydrocarbures aromatiques polycycliques dissous (d-PAHs, en ng $L^{-1}$) au (a) début (T0) et (b) à la fin (T6 : 90 jours) de l'expérience de biodégradation de la DOM_BC pour les quatre traitements biotiques : C (contrôle), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF-OX}$ (diesel oxydé), $D_{SHIP}$ (suie de bateau), et $D_{SHIP-Ab}$ (suie de bateau « abiotique »). Le gradient de couleur vert représente les PAHs de faible poids moléculaire (LMW) et le gradient de couleur orange représente les PAHs de poids moléculaire élevé (HMW).

Bien que les concentrations de d-TM ne diffèraient pas significativement entre les 5 traitements (moyenne : 30–36 µg $L^{-1}$) (Tableau 13), l'abondance relative des composés métalliques individuels montrait un effet clair de l'ajout de BC. Les 4 traitements BC étaient enrichis en Zn par rapport à C (en particulier $D_{REF}$ et $D_{REF-OX}$ où le Zn représentait 65% du total des d-TM), et $D_{SHIP}$ et $D_{SHIP-Ab}$ étaient enrichis en Fe (20% du total des d-TM) par rapport aux autres traitements (Annexe 12) (t-test, $p < 0.05$). Les concentrations de nutriments (après l'ajout de $NO_3^-$ et $PO_4^{3-}$ pour éviter les limitations; Tableau 13) ne différaient pas entre les 4 traitements BC (sauf pour $Si(OH)_4$ et $NO_2^-$, qui étaient plus élevés dans $D_{REF}$, et $Si(OH)_4$, qui était plus bas dans $D_{SHIP-Ab}$) et étaient globalement similaires à C (sauf pour $NO_2^-$ et $NH_4^+$, qui étaient plus bas dans C) (Tableau 13).

Enfin, les indices CDOM/FDOM calculés au début de l'expérience reflètaient l'enrichissement des 4 traitements BC en matériaux chromophoriques et fluorescents présentant

un très haut degré d'humification (HIX > 30), un faible indice biologique (BIX < 1), et un haut degré d'aromaticité ($SUVA_{254}$ > 10 L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$; $a_{CDOM}(254)$ > 30 $m^{-1}$) (Tableau 13). Les valeurs de HIX (49), $SUVA_{254}$ (19 L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$) et $a_{CDOM}(254)$ (60 $m^{-1}$) étaient les plus élevées dans $D_{SHIP}$/$D_{SHIP\text{-}Ab}$, tandis que les valeurs de HIX et $SUVA_{254}$ étaient plus faibles dans $D_{REF\text{-}OX}$ (35 et 12 L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$, respectivement) comparées à $D_{REF}$ (41 et 14 L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$, respectivement) (t-test, $p < 0.05$) (Tableau 13).

Ces différences dans la composition chimique des solutions de DOM_BC dans les 5 traitements au début de l'expérience ont influencé leur biodégradation par les procaryotes hétérotrophes marins et la réponse associée de ces organismes (voir ci-dessous).

## 6.3. Evolution temporelle des paramètres chimiques, optiques et biologique au cours de la biodégradation

### 6.3.1. DOC, DBC et d-PAHs

Au cours de l'expérience (de T0 à T6), les concentrations de DOC diminuaient de manière significative (t-test, $p < 0.05$) dans $D_{REF}$ (de 20%), $D_{REF\text{-}OX}$ (de 21%) et $D_{SHIP}$ (de 9%), mais ne diminuaient pas de manière significative dans C et $D_{SHIP\text{-}Ab}$ (Annexe 13). Les plus fortes diminutions étaient observées entre T1 et T2 (entre 1 et 2 jours d'incubation) (Annexe 13), ce qui correspondait à la période de croissance exponentielle des bactéries.

De T0 à T6, les concentrations de DBC diminuaient de manière significative (t-test, $p < 0.05$) dans $D_{REF}$ (de 38%), $D_{REF\text{-}OX}$ (de 31%) et $D_{SHIP}$ (de 22%), et de manière non significative dans $D_{SHIP\text{-}Ab}$, et restaient stables dans C (Fig. 54a).

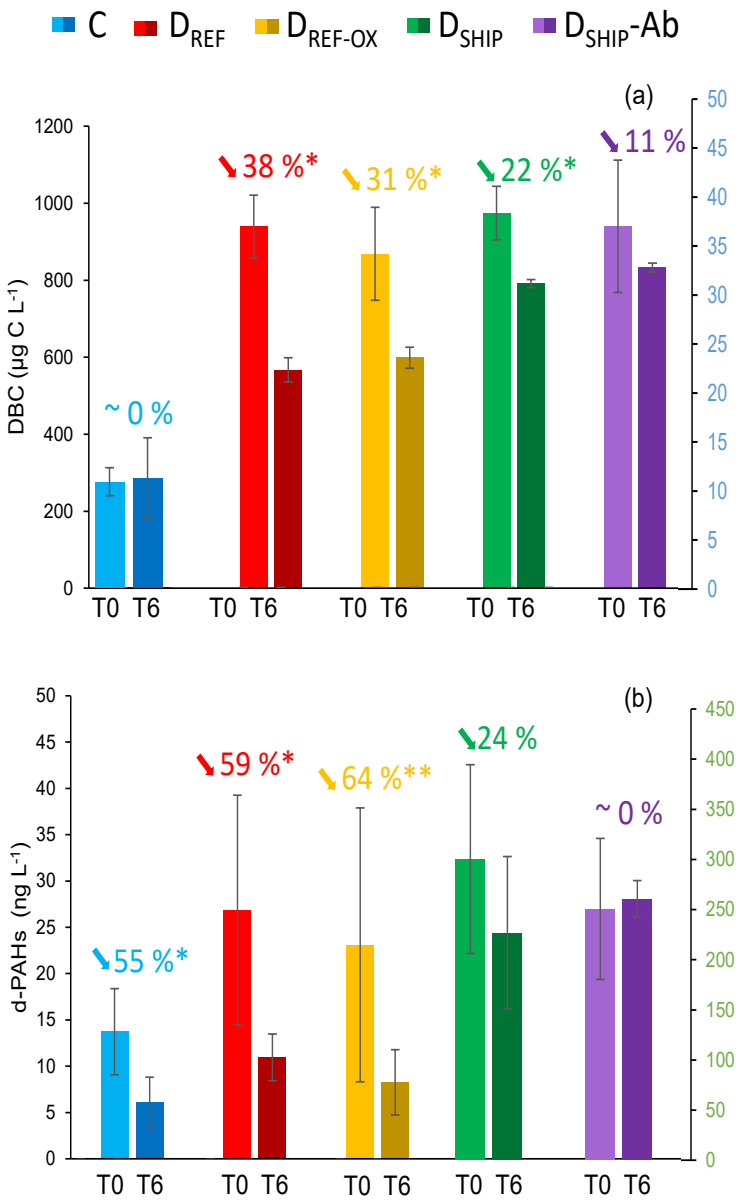



**Figure 54.** Concentrations de (a) Black Carbon dissous (DBC, en µg C $L^{-1}$) et (b) PAHs dissous (d-PAHs, en ng $L^{-1}$) au début (T0) et à la fin (T6 : 90 jours) de l'expérience de biodégradation de la DOM_BC pour les 4 traitements biotiques : C (contrôle), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF-OX}$ (diesel oxydé), $D_{SHIP}$ (suie de bateau) et $D_{SHIP-Ab}$ (suie de bateau « abiotique »). Le pourcentage de diminution entre T0 et T6 est indiqué. Lorsqu'elle est associée à un *, la figure reflète une diminution significative entre T0 et T6 (t-test, $p < 0.05$ pour * et $p < 0,1$ pour **). Deuxième échelle verticale : (a) en bleu pour le traitement C, (b) en vert pour le traitement $D_{SHIP}$. Les barres d'erreur correspondent à la déviation standard des triplicatas.

La proportion de B5CA + B6CA (par rapport au total des BPCAs) augmentait de façon significative entre le début (19%) et la fin (26%) de l'incubation dans $D_{SHIP}$ (t-test, $p < 0.05$), tandis qu'elle restait stable dans $D_{SHIP-Ab}$ (19%) (Fig. 52) et ne changeait dans $D_{REF-OX}$. Une tendance différente était observée dans $D_{REF}$, qui présentait une proportion légèrement inférieure de B5CA + B6CA à la fin de l'incubation (24%) qu'au début (27%). Les

concentrations de d-PAHs diminuaient entre T0 et T6 de 55 à 64% dans C, $D_{REF}$ et $D_{REF\text{-}OX}$ (t-test, $p < 0.05$ ou 0.1). Dans $D_{SHIP}$, la diminution de 24% n'était pas significative en raison des différences dans les triplicatas (t-test, $p = 0.2$), tandis que les concentrations de d-PAHs demeuraient stables dans $D_{SHIP\text{-}Ab}$ (Fig. 53b). Dans les traitements biotiques, les diminutions concernaient principalement les d-PAHs LMW (phénanthrènes, naphtalènes), tandis que les concentrations de d-PAHs de haut poids moléculaire (HMW) (fluoranthène, pyrène) restaient plus stables après 3 mois d'incubation (Fig. 53).

### 6.3.2. Fluorophores de la FDOM

Le modèle PARAFAC a identifié 5 composants FDOM (C1-C5) validés sur 105 échantillons collectés tout au long de l'expérience de biodégradation pour les différents traitements BC (Annexe 14). Ces fluorophores appartenaient à deux grandes classes. Premièrement, C1 et C4, avec des maxima à $\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ de 245, 295/375 nm et 235, 290/356 nm, respectivement, rejoignant les fluorophores de type protéique, avec C4 associé aux pics T et C1 proche du pic N (Coble et al., 2014). Deuxièmement, C2, C3 et C5, qui appartenaient aux fluorophores de type humique, avec C5 ($\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ de 260, 320/404 nm) lié aux pics A + M, C2 ($\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ de 230, 305/432 nm) lié aux pics A + M/C, et C3 ($\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ de 235, 365/484 nm) lié aux pics A + C (Coble et al., 2014) (Annexe 14).

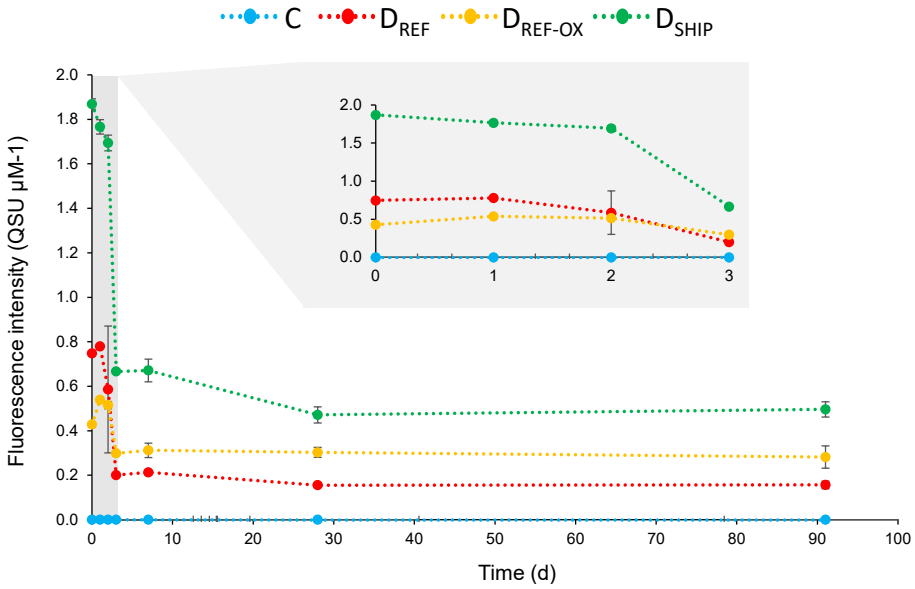



**Figure 55.** Évolution temporelle des intensités de fluorescence du composant (fluorophore) C2 de la FDOM ($\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ : 305/432 nm) normalisées par rapport au DOC (en QSU $\mu M^{-1}$) tout au long de l'expérience de biodégradation de la DOM_BC (jusqu'à T6 : 90 jours), en se concentrant sur les 3 premiers jours (jusqu'à T3 : 3 jours), pour les 4 traitements biotiques : C (contrôle), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (diesel oxydé) et $D_{SHIP}$ (suie de bateau). Les barres d'erreur correspondent à l'écart-type des triplicatas.

Le paragraphe suivant discute uniquement de l'évolution du fluorophore C2. Celui, qui n'a pas été détecté dans le traitement C, est en effet considéré comme le plus représentatif de la DOM_BC dans cette expérience, se rapprochant des caractéristiques spectrales de la DOM_BC identifiées dans le Chapitre 3 (Martinot et al., 2024). Au T0, les intensités de fluorescence de C2 de 6.5, 1.4 et 2.6 QSU dans $D_{SHIP}$, $D_{REF-OX}$ et $D_{REF}$, respectivement (Fig. 55; $D_{SHIP-Ab}$ non montré). L'intensité de fluorescence de C2 diminuait de manière significative de T0 à T6 dans tous les traitements BC (t-test, $p < 0.05$). En revanche, l'intensité de fluorescence de C2 dans le traitement C demeurait faible tout au long de l'expérience, sans changement significatif. Cette diminution était la plus marquée au cours des 3 premiers jours d'incubation (T3), après quoi l'intensité de fluorescence de C2 diminuait progressivement jusqu'à se stabiliser à la fin de l'expérience, entraînant une diminution globale de T0 à T6 de 83% dans $D_{REF}$, 76% dans $D_{SHIP}$ et 47% dans $D_{REF-OX}$ (Fig. 55). Cette décroissance de l'intensité de fluorescence de C2 était corrélée à la diminution de la concentration en DOC, comme en témoigne la corrélation linéaire positive significative observée entre les deux paramètres tout au long de l'expérience (de T0 à T6) et les trois traitements BC combinés ($r^2 = 0.66$, $n = 63$, $p < 0.05$) (Annexe 15).

### 6.3.3. Eléments traces métalliques dissous (d-TM)

Six éléments métalliques traces mesurés à T0, T3 et T6 ont été sélectionnés pour décrire la dynamique des d-TM tout au long du processus de biodégradation (Annexe 16; $D_{SHIP-Ab}$ non montré). Le cuivre (Cu) montrait une augmentation significative et progressive au cours de l'expérience. Dans le traitement $D_{REF-OX}$, la concentration finale en Cu était plus de 3 fois supérieure à la concentration initiale (0.32 µg $L^{-1}$ à T0 et 1.08 µg $L^{-1}$ à T6). Le zinc (Zn) affichait une diminution non significative pendant la biodégradation dans $D_{REF}$ et $D_{REF-OX}$, mais augmentait de manière significative dans C et $D_{SHIP}$ (t-test, $p < 0.05$). Les concentrations de fer (Fe) restaient relativement stables dans le temps dans C, $D_{REF}$ et $D_{REF-OX}$, mais augmentaient fortement dans $D_{SHIP}$ (~65%). Les concentrations de plomb (Pb) étaient relativement inchangées dans C, mais diminuaient de manière significative dans les trois traitements BC (Annexe 16).

### 6.3.4. Nutriments, DON et DOP

Les concentrations de DON et DOP étaient constantes au cours du temps (Annexe 17; $D_{SHIP-Ab}$ non montré). La concentration en $NO_2^-$ augmentait légèrement entre T3 et T6 dans $D_{REF-OX}$ et $D_{SHIP}$ (respectivement de 11.8 et 32.6%) mais n'exhibait aucune variation significative au cour du temps dans $D_{REF}$ (Annexe 18; $D_{SHIP-Ab}$ non montré). La concentration de $NH_4^+$ ne montrait aucune variation significative au cours du temps dans C. Elle diminuait de 11% entre T3 et T6 dans $D_{REF}$, et diminuait de manière significative entre T0 et T3 dans $D_{REF-OX}$ (de 43%) et $D_{SHIP}$ (de 14%). Elle augmentait ensuite de manière significative entre T3 et T6 (de 49% et 43%, respectivement) (t-test, $p < 0.05$) (Annexe 18). La concentration en $Si(OH)_4$ augmentait de manière significative au cours du temps dans tous les traitements (t-test, $p < 0.05$), tandis que les concentrations en $NO_3^-$ et $PO_4^{3-}$ restaient stables (non montrés dans les figures).

### 6.3.5. Dynamique des procaryotes hétérotrophes et des nanoflagellés

Pour les trois traitements BC ($D_{REF}$, $D_{REF-OX}$ et $D_{SHIP}$), l'abondance et la production bactériennes (BA et BP) présentaient une phase de latence (BA) ou une légère augmentation (BP) entre T0 et T1, suivie d'une augmentation plus nette entre T1 et T2 (BP) ou entre T1 et T3 (BA), avant de se stabiliser (Fig. 56a; Fig. 57a). La BP diminuait de T3 jusqu'à la fin de l'incubation (T6) tandis que la BA augmentait de T4 à T5 (Fig. 56a; Fig. 57a). Cette phase de stabilisation à T3 pour BA et BP était également associée à une forte augmentation de l'abondance des nanoflagellés hétérotrophes, qui s'atténuait ensuite progressivement jusqu'à la fin de la période d'incubation (Annexe 19). Le traitement C affichait un schéma différent, avec une phase exponentielle moins prononcée atteignant des valeurs de plateau plus faibles pour BA et BP que dans $D_{REF}$, $D_{REF-OX}$ et $D_{SHIP}$, suivie d'une diminution plus progressive de BA et BP de T3 à T6 (Fig. 56a; Fig. 57a). Dans cette condition, l'abondance des nanoflagellés hétérotrophes, proche de 0, ne montrait aucun changement significatif au cours du temps (Annexe 19). Bien que les schémas de BA et BP soient similaires entre les 3 traitements BC, il y avait des différences significatives dans les valeurs maximales de BA et BP ainsi que dans l'ampleur de l'augmentation de BA et BP autour de T3. En ce qui concerne BA, $D_{REF}$ et $D_{SHIP}$ ne montraient aucune différence significative à T3, atteignant respectivement $1.04\ 10^6$ et $1.06\ 10^6$ cellules $mL^{-1}$, tandis que $D_{REF-OX}$ était caractérisé par une BA significativement plus élevée

de 1.64 $10^6$ cellules $mL^{-1}$ à T3 (t-test, $p < 0.05$) (Fig. 56a). La BP présentaient également des différences significatives entre les traitements et au cours du temps (t-test, $p < 0.05$).

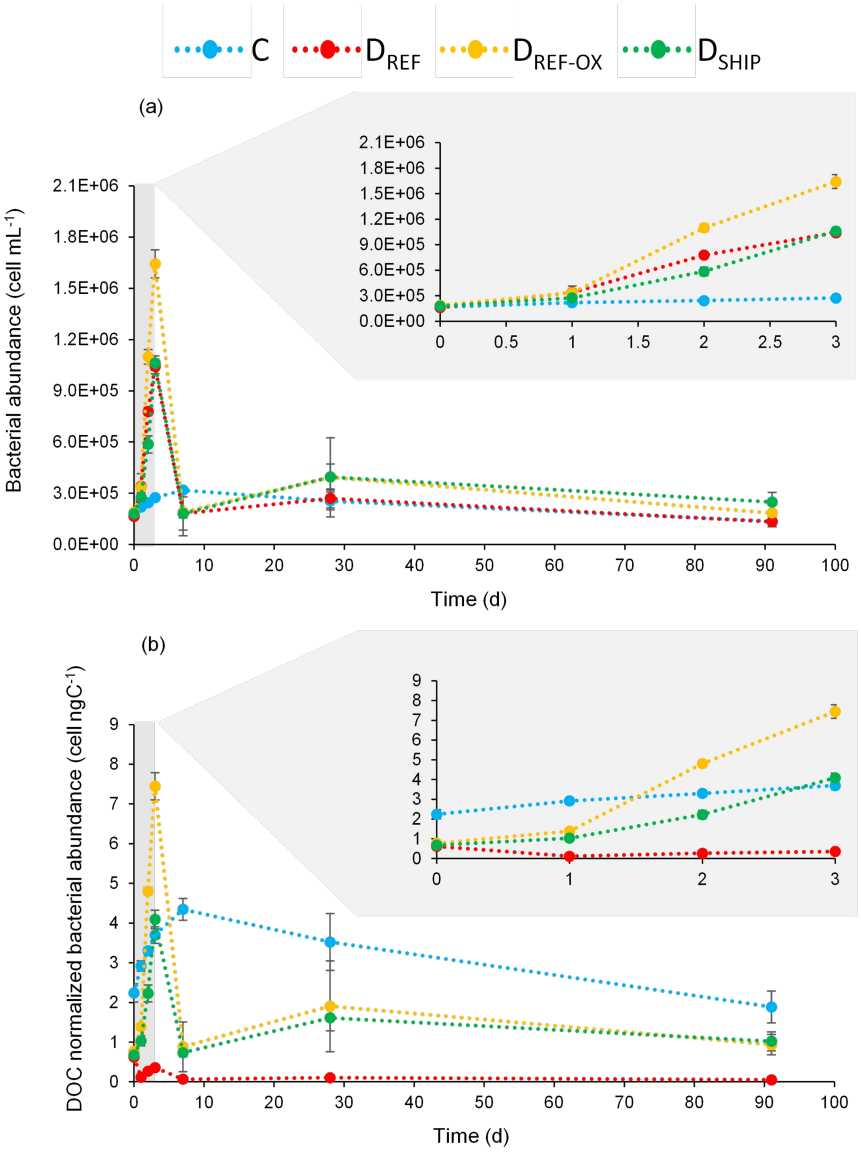



**Figure 56.** Évolution temporelle de (a) l'abondance bactérienne (cellules $mL^{-1}$) et (b) de l'abondance bactérienne normalisée par rapport au DOC (cellules ng $C^{-1}$) tout au long de l'expérience de biodégradation de la DOM_BC (jusqu'à T6 : 90 jours), avec un focus sur les 3 premiers jours (jusqu'à T3 : 3 jours), pour les 4 traitements biotiques : C (contrôle), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF-OX}$ (diesel oxydé) et $D_{SHIP}$ (suie de bateau). Les barres d'erreur correspondent à l'écart-type des triplicatas.

La BP évoluait de la même manière dans $D_{REF}$ et $D_{REF-OX}$ pendant le premier jour, mais atteignait ensuite un pic de 1.4 $10^3$ ng C $L^{-1}$ $h^{-1}$ dans $D_{REF-OX}$ à T3, comparé à 6.49 $10^2$ et 8.99 $10^2$ ng C $L^{-1}$ $h^{-1}$ à T2 pour $D_{SHIP}$ et $D_{REF}$, respectivement (Fig. 57a). $D_{SHIP}$, encore une fois, exhibait des valeurs de BP plus faibles que $D_{REF}$ et $D_{REF-OX}$ tout au long de l'expérience.

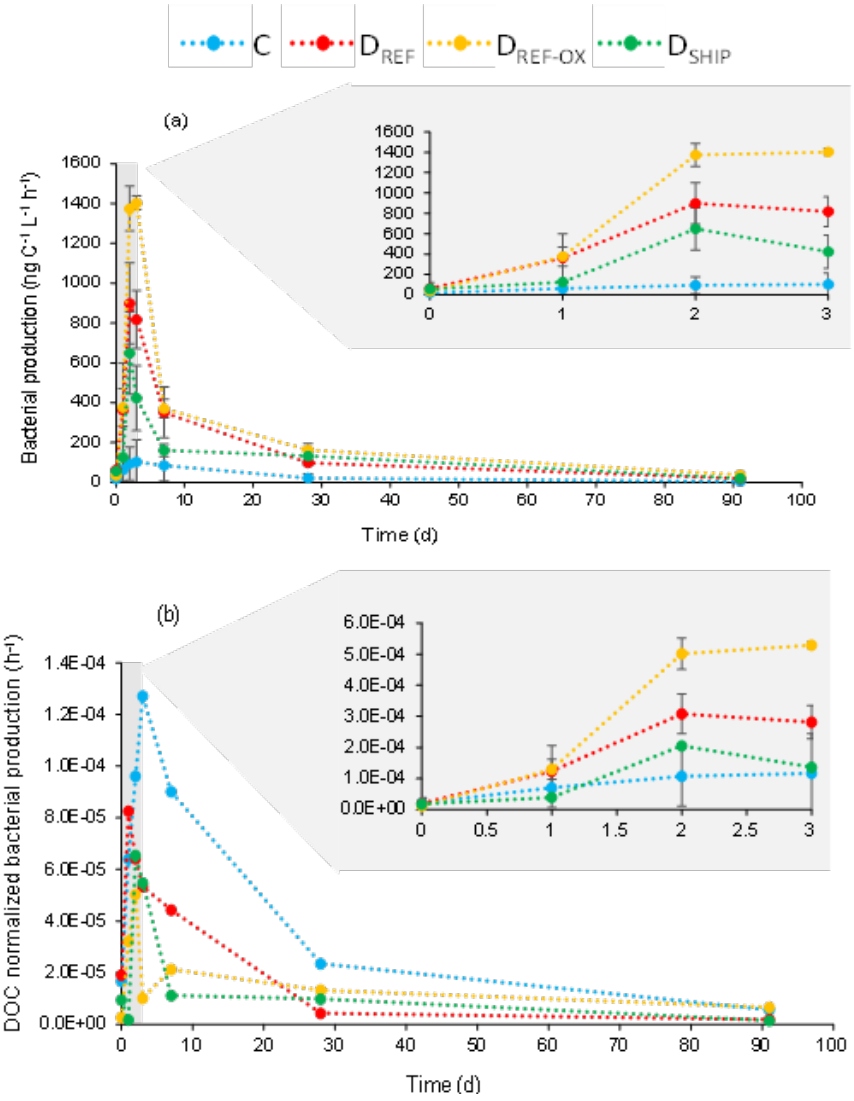



**Figure 57.** Évolution temporelle de (a) la production bactérienne (ng C $L^{-1}$ $h^{-1}$) et (b) de la production bactérienne normalisée par rapport au DOC ($h^{-1}$) (b) tout au long de l'expérience de biodégradation de la DOM_BC. (jusqu'à T6 : 90 jours), avec un focus sur les 3 premiers jours (jusqu'à T3 : 3 jours), pour les 4 traitements biotiques : C (contrôle), DREF (diesel), DREF-OX (diesel oxydé) et DSHIP (suie de bateau). Les barres d'erreur correspondent à l'écart-type des triplicatas.

De plus, pendant la phase de croissance (~T1–T3), nous avons observé une relation de type puissance négative entre BP et la respiration bactérienne (BR) ($R^2 = 0,69$, $n = 36$, $p < 0.05$) (Fig. 58), ce qui nous a permis de définir des zones d'activité dominante (BP *vs.* BR) pour chaque traitement durant la période entre T0 et T3, correspondant à la phase exponentielle observée dans tous les traitements. Toutes les incubations ont présenté deux phases au cours du temps pendant la phase exponentielle : une première phase à T0–T1, caractérisée par une BR élevée (BGE faible) et une deuxième phase à T2–T3 associée à une BP élevée (BGE élevée). De plus, les valeurs les plus élevées de BR (6.4 ng C $L^{-1}$ $h^{-1}$) et BP (1447.6 ng C $L^{-1}$ $h^{-1}$) étaient observées dans DREF-OX, où la plupart des points mesurés se situaient aux extrêmes de la

corrélation. $D_{REF-OX}$ montrait également les BGEs les plus élevés et les plus faibles pendant la phase exponentielle, mettant en exergue les plus fortes activités de production et de respiration par rapport aux autres traitements (Fig. 58). En revanche, dans $D_{REF}$, la plupart des points se situaient dans une activité de production dominante, avec des valeurs de respiration mesurées n'excédant pas 4 $10^4$ ng C $L^{-1}$ $h^{-1}$.

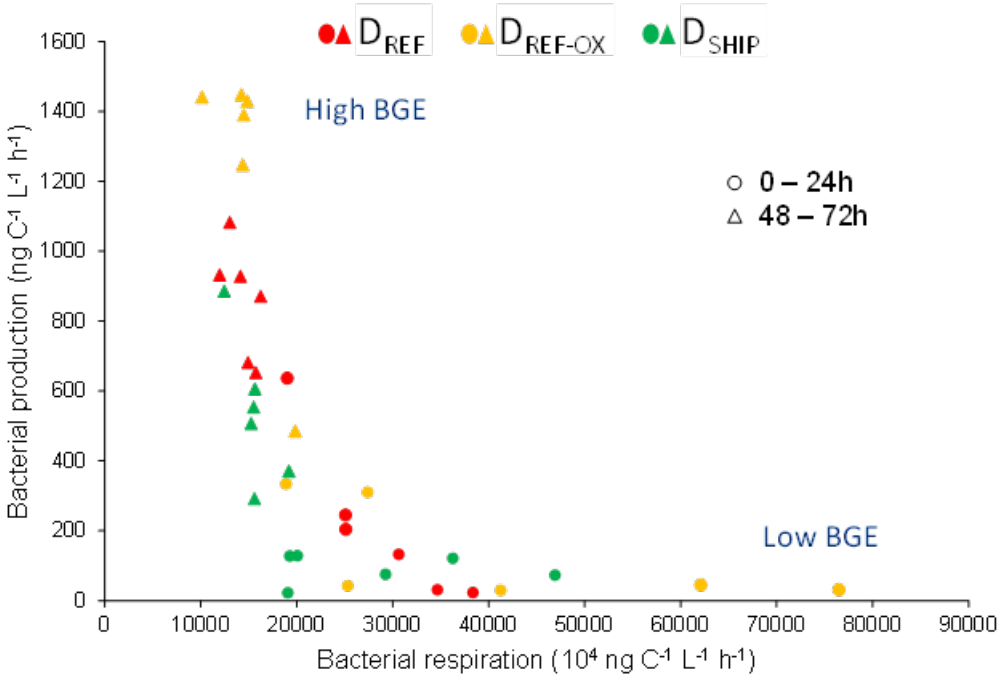



**Figure 58.** Relation (fonction de puissance) entre la respiration bactérienne (ng $C^{-1}$ $L^{-1}$ $h^{-1}$) et la production bactérienne (ng $C^{-1}$ $L^{-1}$ $h^{-1}$) pour les traitements $D_{REF}$, $D_{REF-OX}$ et $D_{SHIP}$ de T0 à T3 de l'expérience de biodégradation de la DOM_BC (n = 36).

$D_{SHIP}$ affichait une BP particulièrement faible au début de la phase exponentielle (atteignant un minimum de 22.7 ng C $L^{-1}$ $h^{-1}$), et les valeurs de BP mesurées dans ce traitement étaient presque toujours inférieures à 600 ng C $L^{-1}$ $h^{-1}$ (Fig. 58). Lorsque BA et BP étaient normalisées par rapport aux concentrations de DOC dérivées de l'ajout de BC, des valeurs de BP relativement homogènes étaient obtenues (Fig. 57b). Cependant, les différences entre $D_{REF}$, $D_{REF-OX}$ et $D_{SHIP}$ persistaient pour les valeurs de BA (Fig. 56b).

Le traitement $D_{SHIP-Ab}$, qui devait être abiotique, a montré des signes d'activité biologique, c'est-à-dire une abondance et une production bactériennes, dès T1 (1 jour) (Annexe 20), suggérant une contamination lors de la préparation de l'incubation à T0. La dynamique de croissance bactérienne dans $D_{SHIP-Ab}$ au cours du temps peut être divisée en deux phases : une première phase (P1) de T0 à T3 (0 à 3 jours) où l'abondance et la production bactériennes étaient

significativement plus faibles (t-test, $p < 0.05$) que dans le traitement $D_{SHIP}$, et une deuxième phase (P2) de T3 à T6 (3 jours à 90 jours) où $D_{SHIP-Ab}$ se rapprochait de $D_{SHIP}$ en termes d'activité biologique, sans toutefois atteindre des valeurs aussi élevées (Annexe 20). De plus, l'abondance et la production bactériennes normalisées au DOC demeuraient faibles dans $D_{SHIP-Ab}$ par rapport à C et $D_{SHIP}$ (en particulier pour l'abondance bactérienne) (Annexe 20) (t-test, $p < 0.05$).

## 6.4. Composition de la DOM_DBC en relation avec le type de BC

Le matériau de référence DPM ($D_{REF}$) a été utilisé comme échantillon standardisé dans de nombreuses études traitant des effets de la pollution atmosphérique par les particules fines sur la santé (Delfino et al., 2009; Brook et al., 2010; Apte et al., 2018; Farahani et al., 2021), mais aussi comme matériau de référence BC pour analyser le BC dans les sédiments (Elmquist et al., 2004), pour déterminer les composants d'adsorption et de partition des composés organiques sur le BC (Chiou et al., 2015), et pour observer la colonisation microbienne des particules de BC dans l'eau de mer côtière (Benavides et al., 2019). À notre connaissance, c'est la première fois que ce DPM est utilisé pour produire de la DOM dans le cadre d'une expérience de biodégradation impliquant des procaryotes hétérotrophes marins.

En plus du $D_{REF}$ oxydé ($D_{REF-OX}$), l'autre substrat utilisé pour évaluer la biodisponibilité de la DOM_BC était de la suie collectée dans la cheminée d'un navire marchand fonctionnant au fioul lourd (HFO) et amarré dans le port de Haiphong, au Vietnam ($D_{SHIP}$). Il est désormais reconnu que le transport maritime et les activités de navigation sont des sources importantes de particules, de polluants et de BC (Buffaloe et al., 2014; Huyen et al., 2022; Zhao et al., 2022). Des études récentes ont examiné la composition chimique des particules issues de la combustion de HFO par les navires et leurs effets potentiels sur la santé humaine (Popovicheva et al., 2009; Oeder et al., 2015; Corbin et al., 2018a, 2018b), mais à notre connaissance, aucun travail n'a abordé l'effet de la suie d'un navire et de sa fraction soluble dérivée sur les procaryotes hétérotrophes marins.

L'ajout de BC à l'eau de mer naturelle ($D_{REF}$, $D_{REF-OX}$, $D_{SHIP}$/$D_{SHIP-Ab}$) a conduit à de forts enrichissements de la DOM en DOC, DON, DBC, d-PAHs, ainsi qu'en CDOM et FDOM, et une augmentation importante du ratio DBC/DOC par rapport au traitement témoin (C) (Tableau 13). Cela fournit des preuves supplémentaires que les particules émises lors de la

combustion du diesel/HFO contiennent du CO, des PAHs et du BC (Popovicheva et al., 2009; Buffaloe et al., 2014; Corbin et al., 2018b; Farahani et al., 2021). Bien que le ratio DBC/DOC ait été relativement constant entre $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ et $D_{SHIP}$ (environ 30%), nous avons observé des différences significatives pour d'autres paramètres.

$D_{REF}$ et $D_{REF\text{-}OX}$ apportaient de faibles quantités de d-PAHs, avec seulement une augmentation d'un facteur 2 par rapport aux concentrations de d-PAHs dans le traitement C. L'apport beaucoup plus important de d-PAHs, avec une dominance des dibenzothiophènes (composés organosoufrés), dans $D_{SHIP}$/$D_{SHIP\text{-}Ab}$ par rapport à $D_{REF}$ et $D_{REF\text{-}OX}$ (Tableau 13; Fig. 53) est en accord avec les niveaux élevés de PAHs et de composés soufrés, dont les benzothiophènes, détectés dans la suie dérivée des HFO (Popovicheva et al., 2009; Corbin et al., 2018b; Zhao et al., 2022). Le fait que dans les trois solutions de DOM_BC, le contenu en d-PAHs soit dominé par des composés de LMW (Tableau 14) est en accord avec l'hydrophobicité plus faible de ces derniers (Farahani et al., 2021). Cependant, les concentrations de d-PAHs étaient globalement très faibles par rapport à la grande quantité de particules ajoutées, ce qui confirme l'hydrophobicité élevée de la plupart des composés liés aux particules. De plus, malgré des concentrations de DOC presque identiques, les contenus en CDOM et FDOM, ainsi que les degrés d'humification de la DOM (HIX) et d'aromaticité ($SUVA_{254}$), étaient beaucoup plus élevés dans $D_{SHIP}$/$D_{SHIP\text{-}Ab}$ que dans $D_{REF}$ et $D_{REF\text{-}OX}$ (Tableau 13; Annexe 3). Cela pourrait être dû à un contenu plus élevé en PAHs et autres composés aromatiques dans les particules de HFO ($D_{SHIP}$) par rapport aux particules provenant de carburants diesel plus légers ($D_{REF}$) (Corbin et al., 2018b). Concernant les d-TM, les principales différences étaient la proportion plus élevée de Zn dans $D_{REF}$ et $D_{REF\text{-}OX}$ par rapport à $D_{SHIP}$/$D_{SHIP\text{-}Ab}$, et la proportion plus élevée de Fe dans $D_{SHIP}$/$D_{SHIP\text{-}Ab}$ par rapport à $D_{REF}$ et $D_{REF\text{-}OX}$ (Annexe 12). Le Zn est plus souvent associé à l'activité industrielle qu'aux émissions du transport (Li et al., 2017), et a déjà été identifié comme l'un des d-TM les plus abondants dans le matériau de référence DPM, bien que sa concentration ait été trouvée plus faible que dans les échantillons de particules ambiantes (Farahani et al., 2021). Le Fe, un traceur connu des émissions des véhicules (Hulskotte et al., 2014; Charron et al., 2019), a déjà été rapporté comme l'un des d-TM dominants dans les échantillons de HFO et de PM (Corbin et al., 2018a), ce qui est en accord avec nos résultats.

L'oxydation photochimique du DPM (c'est-à-dire les différences entre $D_{REF}$ et $D_{REF\text{-}OX}$) ne montrait aucun effet significatif sur la proportion de DBC dans le DOC, ni sur la proportion de BPCAs dans le pool de DBC (Tableau 13; Fig. 52). De même, aucun effet de l'oxydation

photochimique n'était observé sur la composition des d-TM (Annexe 12). Cependant, l'oxydation photochimique conduisait à une diminution de la proportion de dibenzothiophènes dans le pool de d-PAHs (Fig. 53). Il convient de noter que la photodégradation des PAHs liés aux particules de diesel/suie a déjà été rapportée (Kim et al., 2013), bien que les PAHs particulaires semblent être moins sensibles à l'oxydation photochimique que les PAHs dissous en solution aqueuse (Neff, 2002), et que les dibenzothiophènes se sont révélés se dégrader lors des expériences d'oxydation photochimique (Liu et al., 2020). Enfin, la diminution nette des valeurs de $SUVA_{254}$ et $a_{CDOM}(254)$ de $D_{REF}$ à $D_{REF\text{-}OX}$ (Tableau 13) reflète la perte de matière dissoute chromophorique, aromatique et de haut poids moléculaire (HMW), ainsi que des modifications structurelles dans la DOM liées à l'oxydation (Ferretto et al., 2017).

L'ajout de DOM_BC dans l'eau marine a donc modifié substantiellement l'environnement chimique des procaryotes hétérotrophes. La DOM_BC s'est en effet comporté comme 1) une source de composés organiques labiles, et 2) une source de nutriments et de métaux pouvant potentiellement impacter la BP. Les concentrations de nutriments mesurées ici suggèrent que les procaryotes n'étaient pas limités en croissance et que les d-TM n'étaient pas associés à des différences majeures dans les activités de BP ou BR (Annexe 3, Annexe 12, Annexe 20). Nous avons donc considéré que la labilité du DOC et du DBC était le principal facteur limitant influençant BP, BR et l'évolution temporelle du DOC et du DBC.

## 6.5. Biodisponibilité de la DOM _DBC et réponses microbiennes

La présence de DOM_BC a conduit à une stimulation des activités bactériennes (par rapport au témoin C) dans les trois traitements BC ($D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ et $D_{SHIP}$). L'abondance et la production bactérienne (BA et BP) augmentaient de manière significative après une phase de latence relativement courte de 24 h. Cette stimulation, correspondant à la phase exponentielle de la croissance des procaryotes, était suivie par des périodes de stabilisation (phase stationnaire) et de diminution (Fig. 56, Fig. 57), ainsi que par une augmentation des prédateurs nanoflagellés hétérotrophes à T3, particulièrement marquée dans les expériences (Annexe 19). La phase de latence courte (24 h) suggère une biodisponibilité quasi-immédiate de la DOM_ BC (Lønborg et Álvarez-Salgado, 2012; Djaoudi et al., 2020). De plus, dans les trois traitements BC, l'augmentation de la BP et de la BR était associée à une consommation de DOM_ BC,

observée à travers les diminutions significatives des concentrations de DOC, DBC et d-PAHs de T0 à T6. Ces diminutions montraient que la DOM_ BC était biodisponible. Bien que des stimulations de la BP et de la BR, ainsi que la consommation de DOM_ BC, aient été enregistrées dans tous les traitements $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ et $D_{SHIP}$, les différences entre les traitements pourraient être liées aux substrats chimiques présents dans chaque solution de DOM_ BC et/ou à la composition/structure de la communauté microbienne marine associée à chacune de ces solutions.

Le traitement $D_{SHIP\text{-}Ab}$ ne pouvait pas être considéré comme véritablement abiotique en raison de la présence d'une communauté bactérienne active (Annexe 20). Néanmoins, cette communauté bactérienne, en particulier pendant P1, était beaucoup moins abondante et beaucoup moins active que celles des traitements biotiques BC, et n'induisait aucune diminution significative des concentrations de DOC, DBC et d-PAHs au cours de l'expérience (Annexe 9, Tableaux 13, 14).

**Tableau 14.** Concentrations de BPCA (µg C $L^{-1}$) mesurées dans les solutions de DOM_BC au début (T0) et à la fin (T6) de l'expérience de biodégradation pour les 4 traitements BC : $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (diesel oxydé), $D_{SHIP}$ (suie de bateau) et $D_{SHIP\text{-}Ab}$ (suie de bateau « abiotique »). Les valeurs et les pourcentages de dégradation correspondent à la moyenne et à l'écart-type des triplicatas (trois bouteilles) pour chaque traitement. Les valeurs en gras indiquent une diminution statistiquement significative (t-test, exposant a pour $p \leq 0.05$ et exposant b pour $p \leq 0.07$).

| | Treatments | T0 | T6 | Degradation (%) |
|---|---|---|---|---|
| B3CA | $D_{REF}$ | 1012 ± 86 | 623 ± 45 | **39.4**[a] ± 2.3 |
| | $D_{REF\text{-}OX}$ | 1048 ± 121 | 652 ± 17 | **37.2**[a] ± 7 |
| | $D_{SHIP}$ | 1457 ± 60 | 903 ± 20 | **38.0**[a] ± 2.4 |
| | $D_{SHIP\text{-}Ab}$ | 1374 ± 124 | 1212 ± 276 | 5 ± 8.4 |
| B4CA | $D_{REF}$ | 1704 ± 83 | 1105 ± 80 | **36.6**[a] ± 2 |
| | $D_{REF\text{-}OX}$ | 1742 ± 72 | 1120 ± 27 | **27.3**[b] ± 8.8 |
| | $D_{SHIP}$ | 1890 ± 181 | 1571 ± 12 | 16.4 ± 7.2 |
| | $D_{SHIP\text{-}Ab}$ | 1803 ± 370 | 1604 ± 17 | 8.4 ± 19.6 |
| B5CA | $D_{REF}$ | 900 ± 172 | 494 ± 11 | **49.6**[a] ± 7.1 |
| | $D_{REF\text{-}OX}$ | 780 ± 133 | 538 ± 41 | **30.2**[b] ± 7.1 |
| | $D_{SHIP}$ | 683 ± 110 | 655 ± 32 | 2.8 ± 11.6 |
| | $D_{SHIP\text{-}Ab}$ | 685 ± 175 | 602 ± 139 | 4.9 ± 44 |
| B6CA | $D_{REF}$ | 83 ± 5 | 57 ± 5 | **33**[a] ± 3.6 |
| | $D_{REF\text{-}OX}$ | 83 ± 2 | 69 ± 12 | 16.9 ± 14 |
| | $D_{SHIP}$ | 73 ± 12 | 80 ± 12 | 12.8 ± 29 |
| | $D_{SHIP\text{-}Ab}$ | 71 ± 15 | 66 ± 24 | -0.2 ± 49.9 |

**Tableau 15.** Concentrations d'hydrocarbures aromatiques polycycliques dissous (d-PAHs) de faible poids moléculaire (LMW) et de haut poids moléculaire (HMW) (µg $L^{-1}$) mesurées dans les solutions de DOM_BC au début (T0) et à la fin (T6) de l'expérience de biodégradation pour les 4 traitements de BC : $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (diesel oxydé), $D_{SHIP}$ (suie de navire), et $D_{SHIP\text{-}Ab}$ (suie de navire « abiotique »). Les valeurs et les pourcentages de dégradation correspondent à la moyenne et à l'écart type des triplicatas (trois bouteilles) pour chaque traitement. Les valeurs en gras indiquent une diminution statistiquement significative (t-test, $p \leq 0,1$).

| | Treatments | T0 | T6 | Degradation (%) |
|---|---|---|---|---|
| LMW | **$D_{REF}$** | 20 ± 8 | 7 ± 1 | **59.5** ± 14.5 |
| | **$D_{REF\text{-}OX}$** | 16 ± 4 | 4 ± 2 | **72** ± 17 |
| | **$D_{SHIP}$** | 297 ± 91 | 224 ± 55 | 23 ± 9.5 |
| | **$D_{SHIP\text{-}Ab}$** | 246 ± 68 | 253 ± 11 | -9.5 ± 33.5 |
| HMW | **$D_{REF}$** | 7 ± 2 | 4 ± 1 | **46** ± 10 |
| | **$D_{REF\text{-}OX}$** | 7 ± 3 | 4 ± 1 | 41.5 ± 12 |
| | **$D_{SHIP}$** | 12 ± 1 | 9 ± 1 | **20.5** ± 10 |
| | **$D_{SHIP\text{-}Ab}$** | 12 ± 1 | 16 ± 2 | -34 ± 24 |

Ainsi, avec la présence d'une communauté bactérienne plus petite, les concentrations de DOC, DBC et d-PAHs sont restées assez stables de T0 à T6. Par conséquent, cela montre qu'il n'y a pas eu d'effet significatif des processus abiotiques, tels que la sorption ou la floculation, sur les concentrations de DOC, DBC et d-PAHs de T0 à T6. Cela tend donc à confirmer que la diminution des concentrations de DOC, DBC et d-PAHs enregistrée au cours du temps dans les traitements $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ et $D_{SHIP}$ était principalement due aux procaryotes marins, avec un effet mineur des processus abiotiques (Bostick et al., 2021; Goranov et al., 2022).

$D_{REF\text{-}OX}$ a montré de loin les pics les plus élevés pour les abondances (BA) et les activités (BP et BR) au cours de l'expérience de biodégradation, avec les pentes les plus fortes pendant les phases exponentielles pour BA et BP, et le pic le plus élevé de BR atteint pendant les 72 premières heures. Ces activités plus élevées, en particulier pour la BR, étaient très probablement liées à l'oxydation photochimique des particules de diesel et à la production subséquente de substrats organiques oxydés dissous dans la solution de DOM_BC, ces derniers étant plus facilement et préférentiellement métabolisés par les bactéries (Crapart et al., 2021). Ces résultats sont en accord avec un grand nombre d'études démontrant que le carbone pyrogénique peut soutenir la respiration microbienne dans les sols (Khodadad et al., 2011; Zimmermann et al., 2012; Bamminger et al., 2014; Fang et al., 2014; Kuzyakov et al., 2014). La stimulation de la BR au début de la biodégradation par la présence de substrats oxydés explique probablement en partie le fait que les niveaux de BP étaient les plus élevés après 72 h d'incubation, ce qui a finalement conduit au BGE (rendement de croissance bactérien) le plus élevé pendant la phase

exponentielle. DREF-OX montrait également les plus fortes diminutions des concentrations de DOC et de d-PAHs entre T0 et T6 (21 et 64%, respectivement), ce qui est cohérent avec le fait qu'il atteignait les maxima de BP et de BR, bien qu'il ait montré une diminution légèrement inférieure de la concentration en DBC (31%) par rapport à DREF (38%). Comme mentionné précédemment, l'oxydation photochimique des particules de diesel entraînait une réduction significative de la proportion de dibenzothiophènes, connus pour avoir des effets toxiques sur les bactéries (comme discuté ci-dessous).

Les valeurs maximales de l'abondance des procaryotes hétérotrophes (BA) et des activités (BP et BR) étaient plus faibles dans le traitement DREF que dans le traitement DREF-OX. En l'absence de produits photo-oxydés, le métabolisme des procaryotes hétérotrophes s'est orienté vers l'anabolisme (BP), tandis que les diminutions des concentrations de DOC et de d-PAHs entre T0 et T6 dans DREF (20% et 59%, respectivement) étaient proches des diminutions enregistrées dans DREF-OX. Il est intéressant de noter que DREF présentait la plus forte diminution de la concentration en DBC (38%) et était le seul traitement à présenter une diminution significative des concentrations en B5CA + B6CA en plus des concentrations en B3CA + B4CA (Fig. 52; Tableau 14), ainsi qu'une diminution significative des PAHs HMW (Tableau 14). Cela suggère qu'en l'absence de composés oxydés biodisponibles, la communauté procaryote hétérotrophe pouvait utiliser la fraction plus condensée de la matière organique pour sa production de biomasse.

DSHIP affichait les valeurs les plus faibles en BA, BP et BR, ainsi que la plus faible diminution du DOC (9%), du DBC (22%) et des d-PAHs (24%) tout au long de l'expérience. Cela était probablement lié à la forte abondance de dibenzothiophènes (80% du total des d-PAHs) trouvée dans ce traitement. La forte toxicité de cet hydrocarbure a très probablement eu un impact important sur la communauté procaryotique (Van Afferden et al., 1990; Li et al., 2019; Ghosh et Mukherji, 2021), mais il semble que même sous de tels traitements, il y ait eu une diminution significative des concentrations de DOM_BC et de DBC au cours du temps. La diminution significative de la fluorescence du fluorophore C2 (Fig. 55), qui était fortement corrélée à la concentration en DOC (Annexe 1) mais pas à la concentration en DBC, indique une biodisponibilité du DBC lui-même, en plus de celle des autres composés présents dans le pool de DOM_BC.

À la fois le DOC et sa fraction DBC ont été assimilée par les procaryotes au cours de l'expérience. La consommation de DBC, observée dans toutes les incubations par la diminution des concentrations de BPCA (Fig. 54a; Tableau 14), met en évidence la biodisponibilité des

fractions les plus aromatiques et condensées au sein du continuum de molécules apportées par la solubilisation du BC. De plus, les changements dans la composition des BPCAs indiquent une variabilité de l'efficacité de la dégradation du DBC en fonction du type d'activité mesurée. Ces observations rejoignent celles de Qi et al. (2020) et Goranov et al. (2022), qui ont constaté que la fraction aromatique de la DOM_BC pouvait être assimilée et intégrée dans la biomasse des procaryotes hétérotrophes.

## 6.6. Conclusion

Dans cette étude, nous avons mesuré des diminutions significatives des concentrations de DOC, d-PAHs et DBC au couurs des 90 j d'incubation, ce qui révèle une biodisponibilité sur l'ensemble du continuum moléculaire résultant de la solubilisation du BC. La fraction biodisponible du DBC dépend de deux facteurs clés : 1) l'origine du BC, qui influence la composition, le niveau de condensation et l'oxydation de la matière libérée lors de sa dissolution, et 2) la dynamique de la communauté de procaryotes hétérotrophes dans un environnement contrôlé. Ces deux facteurs contribuent à un gradient de biodisponibilité du DBC et influencent également un changement dans le métabolisme bactérien, favorisant soit l'anabolisme, soit le catabolisme. D'après nos résultats, le DBC récemment introduit dans les eaux marines par la déposition de particules issues de la combustion de combustibles fossiles ne peut pas être considéré comme appartenant entièrement au compartiment réfractaire de la DOM, et donc ne peut pas être associé au stockage océanique à long terme. Le DBC doit être vu comme un matériel potentiellement accessible pour les procaryotes hétérotrophes marins, qui pourraient le dégrader sur une échelle de temps d'une année. Il est désormais essentiel d'étudier plus en profondeur la biodisponibilité du DBC provenant d'autres sources (d'autres types de particules issues de la combustion de combustibles fossiles ou de biomasse), en se concentrant en particulier sur sa composition moléculaire et son niveau d'oxydation à l'aide d'analyses FT-ICR-MS, mais aussi sur les différents assemblages procaryotes et leur capacité à s'adapter à l'utilisation de ce matériel organique. Un article compagnon dédié aux données sur la diversité bactérienne issues de cette expérience de biodégradation est actuellement en cours de préparation et traitera de l'impact du type de DOM_BC sur la structure et la diversité de la communauté procaryote hétérotrophe marine.

## 6.7. Réestimation de la biodisponibilité du DBC

Les concentrations en DBC mesurées au début et à la fin de la période d'incubation ont été re-calculées à partir des concentrations en B5CA et B6CA seulement, selon l'équation (4) (Chapitre 2) (Fig. 59). Puisque cette formule ne prend en compte que la partie la plus condensée des BPCAs, les concentrations en DBC recalculées sont inférieures à celles présentées précédemment (Fig. 59). Les diminutions significatives de concentrations en DBC sont toujours observées pour les conditions $D_{REF}$ et $D_{REF-OX}$ entre le début et la fin de la période d'incubation (45 et 27%, respectivement) (Fig. 54, Fig. 59). En revanche, la diminution significative de 22% observée précédemment pour la condition $D_{SHIP}$ chute à 1% et est non significative en utilisant les nouvelles valeurs de concentrations en DBC (Fig. 54, Fig. 59). Cette différence est cohérente avec la proportion des BPCAs mesurée précédemment dans ces échantillons, qui soulignait la dégradation préférentielle des B3CA et B4CA dans le traitement $D_{SHIP}$. Le traitement $D_{SHIP-Ab}$ montre toujours une diminution significative, cette fois moins élevée en prenant en compte uniquement les B5CA et les B6CA en comparaison des premières concentrations évoquées (Fig. 59). Enfin, le contrôle C montrait une diminution non significative entre le début et la fin de l'incubation, en présentant notamment une très grande variabilité entre les triplicatas pour T6 (Fig. 59).

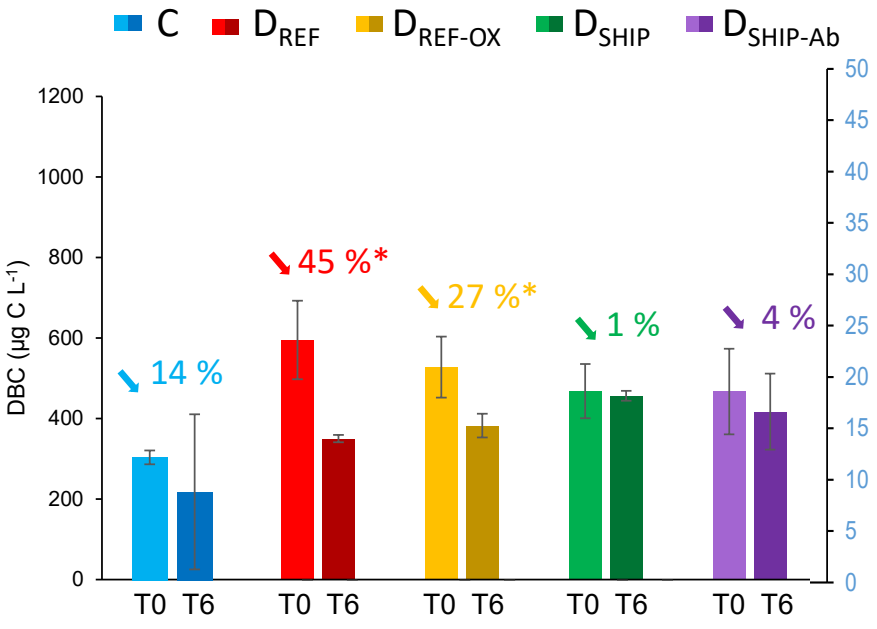



**Figure 59.** Concentrations de Black Carbon dissous (DBC, en µg C $L^{-1}$) au début (T0) et à la fin (T6 : 90 jours) de l'expérience de biodégradation de la DOM_BC pour les 4 traitements

biotiques : C (contrôle), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (diesel oxydé), $D_{SHIP}$ (suie de bateau) et $D_{SHIP\text{-}Ab}$ (suie de bateau « abiotique »). Le pourcentage de diminution entre T0 et T6 est indiqué. Lorsqu'elle est associée à un *, la figure reflète une diminution significative entre T0 et T6 (t-test, $p < 0.05$). La deuxième échelle verticale en bleu correspond au traitement C. Les barres d'erreur correspondent à la déviation standard des triplicatas.

Cette ré-évaluation des concentrations en DBC par l'application de la formule la plus récente de la littérature permet d'affiner les premières conclusions publiées en 2023 concernant la biodisponibilité du DBC. Les diminutions significatives des concentrations de DOC, de d-PAHs et de DBC calculées avec l'équation (4) confirment l'existence d'une biodisponibilité sur l'ensemble du continuum moléculaire résultant de la solubilisation du BC. Néanmoins, la biodisponibilité du DBC n'apparait plus dans le traitement $D_{SHIP}$, soulignant à nouveau le lien étroit entre efficacité de biodégradation et composition / origine du DBC.

# 7. Réactivité chimique de la DOM_BC

Le Chapitre 7 s'appuie sur des expériences de quenching de fluorescence réalisées au cours de mon stage de Master 2 en 2021 pour explorer la réactivité chimique de la DOM_BC vis-à-vis des PAHs. Les résultats majeurs sont présentés ci-dessous et comparés avec la littérature récente. Le matériel et méthodes associé à ce chapitre est disponible en section 2.2.3.

## 7.1. Contexte de l'étude

Il est reconnu depuis plusieurs décennies que la DOM joue un rôle fondamental dans les interactions avec les contaminants organiques dissous présents dans le milieu aquatique (Yang et al., 2016; Khan et al., 2017), modifiant ainsi la dynamique, la distribution et la toxicité de ces composés envers les organismes vivants (Liu et al., 2016). En effet, ces interactions aboutissent à la formation de complexes DOM-contaminants, qui présentent des caractéristiques physico-chimiques distinctes des contaminants à l'état libre. Ces complexes, plus volumineux et plus polaires que les contaminants libres, ont plus de difficulté à traverser les membranes lipidiques des cellules biologiques et à s'accumuler dans le biota. Ainsi, la présence de DOM dans le milieu permet de réduire la biodisponibilité des contaminants organiques dissous et donc leur toxicité potentielle (Hur et Kim, 2009). Bien que la grande majorité des études se soient concentrées jusqu'à présent sur les associations entre la DOM d'origine terrestre et les contaminants (de Perre et al., 2014; Bai et al., 2017), certaines études récentes ont mis en évidence la capacité de la DOM_DBC à interagir avec des contaminants organiques (Fu et al., 2018; Li et al., 2020; Chen et al., 2022; Gao et al., 2023). Malgré ces avancées, le nombre d'études sur la DOM_BC reste insuffisant compte tenu de la diversité des origines de DOM_BC.

L'évaluation de la capacité d'association entre la DOM et les contaminants organiques dissous repose sur le calcul du coefficient de partage eau-carbone organique dissous ($K_{DOC}$), un paramètre dont la valeur varie en fonction de la structure chimique de la DOM et du contaminant d'intérêt, mais également des propriétés physico-chimiques du milieu aquatique (voir section 2.2.3) (Ruiz et al., 2013). Par conséquent, la détermination du pouvoir d'association du DBC avec les contaminants organiques constitue un enjeu crucial pour

comprendre à la fois le cycle biogéochimique du DBC et son influence sur la toxicité des contaminants organiques dissous au sein des écosystèmes marins (Chapitre 1).

Dans cette optique, cette étude a pour objectif de déterminer, à l'aide d'expériences d'extinction (quenching) de fluorescence, le pouvoir d'association (*via* la mesure du $K_{DOC}$) entre les solutions de DOM_BC et deux PAHs d'intérêt, le phénanthrène (Phe) et le benzo(a)pyrène (BaP). Les résultats obtenus seront ensuite comparés à ceux mesurés pour la DOM d'origine terrestre et marine avec ces mêmes PAHs, afin d'évaluer les différences potentielles dans les capacités d'interaction entre ces diverses sources de DOM et les contaminants organiques. Cette comparaison pourrait fournir des informations pertinentes pour mieux appréhender le rôle du DBC dans la régulation de la biodisponibilité et de la toxicité des polluants organiques dans les environnements marins.

### 7.1.1. Réactivité de la DOM_BC vis-à-vis des PAHs

Les expériences de quenching de fluorescence ont été réalisées sur les solutions de DOM_BC (préparées à partir du standard DPM et de particules naturelles collectées à Hanoï noté HD), DOM marine, et DOM terrestre (eau de mer et eau ultra-pure). Un exemple des caractéristiques spectrales des fluorophores validés par modélisation PARAFAC appliquée sur les séries de MEEFs de ces expériences est présenté en Fig. 60. Des modèles PARAFAC à 4, 6 et 8 fluorophores ont été validés pour les expériences de quenching des SH-EDM, DPM, et HD-PM-20, respectivement. Parmi ces fluorophores, ceux correspondant aux contaminants fluorescents (Phe et BaP) ont été identifiés (Fig. 60; fluorophores 5 et 6, respectivement) et leurs intensités de fluorescence dans les sorties du modèle comparées à celles attendues au regard de leurs concentrations dans les solutions. Tous les autres fluorophores identifiés correspondent bien aux fluorophores du DBC/de la DOM_BC (Fig. 60; fluorophores 1, 2, 3 et 4).

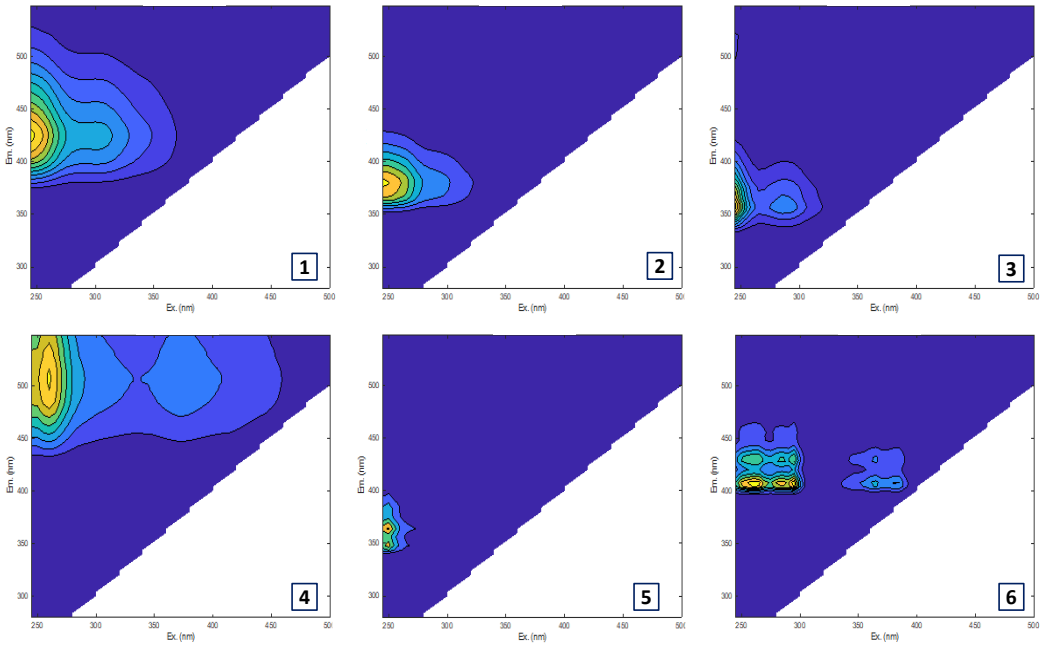



**Figure 60.** Fluorophores identifiés et validés par modélisation PARAFAC à partir des MEEFs issues de l'expérience de quenching de fluorescence de la solution de DOM_BC DPM avec le phénanthrène et benzo(a)pyrène.

Selon les expériences, une ou deux concentrations fixée(s) de contaminant a/ont été testée(s) et les $K_{DOC}$ ont été calculés avec les deux méthodes présentées précédemment. Le DBC montrait globalement une forte réactivité avec les PAHs, notamment pour le complexe DPM/BaP pour lequel les valeurs de $K_{DOC}$ s'échelonnaient de 91 × $10^3$ à 237 × $10^3$ L kg $C^{-1}$ selon les concentrations de BaP et la méthode employée. Cette réactivité s'est aussi exprimée avec le Phe pour lequel une valeur de $K_{DOC}$ de 39 × $10^3$ L kg $C^{-1}$ pour une concentration de 5 µg $L^{-1}$ et une valeur de 105 × $10^3$ L kg $C^{-1}$ pour une concentration de 10 µg $L^{-1}$ ont été déterminées par la méthode de Stern-Volmer (SV). Une valeur de $K_{DOC}$ d'environ 40 × $10^3$ L kg $C^{-1}$ était observée pour le complexe DOM marine-BaP. Cette dernière valeur peut être comparée à celle obtenue par Yang et al. (2016), qui ont estimé le $K_{DOC}$ entre de la DOM phytoplanctonique et le pyrène entre 14 × $10^3$ et 30 × $10^3$ L kg $C^{-1}$, soit des valeurs légèrement plus faibles que celle déterminée ici pour le BaP.

Les valeurs de $K_{DOC}$ des interactions DOM terrestre-Phe issues de nos expériences dans l'eau de mer (10 × $10^3$ L kg $C^{-1}$ méthode SV et HS) et dans l'eau ultra-pure (49 × $10^3$ L kg $C^{-1}$ méthode SV et 37 × $10^3$ L kg $C^{-1}$ méthode HS) étaient en accord avec celles de Poerschmann et al. (2000) (50 × $10^3$ L kg $C^{-1}$) et de De Perre et al. (2014) (32 × $10^3$ L kg $C^{-1}$). Ici encore, des valeurs de $K_{DOC}$ plus élevées ont été observées pour le BaP (Tableaux 16, 17). Par conséquent, pour chacun des complexes DOM-PAH étudiés, les ordres de grandeur des $K_{DOC}$ calculés

étaient en accord avec ceux de la littérature obtenus par quenching de fluorescence et micro-extraction en phase solide (SPME) (Tableau 17).

**Tableau 16.** Valeurs de $K_{DOC}$ ($\times 10^3$ L kg $C^{-1}$) déterminées pour chacune des solutions de DOM et contaminants étudiés selon la méthode Stern-Volmer et la méthode Hur-Schlautmann (Phe = phénanthrène, BaP = benzo(a)pyrène).

| | Stern-Volmer (SV) | | | | Hur-Schlautmann (HS) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Phe 5 µg $L^{-1}$ | Phe 10 µg $L^{-1}$ | BaP 2 µg $L^{-1}$ | BaP 5 µg $L^{-1}$ | Phe 5 µg $L^{-1}$ | Phe 10 µg $L^{-1}$ | BaP 2 µg $L^{-1}$ | BaP 5 µg $L^{-1}$ |
| DOM marine | - | 40 | - | - | - | 109 | - | - |
| DOM terrestre SH-MQ | 49 | - | 163 | - | 37 | - | 137 | - |
| DOM terrestre SH-EDM | 10 | - | 22 | - | 10 | - | 17 | - |
| DOM_BC Diesel | 39 | 105 | 91 | 217 | - | 171 | - | 237 |
| DOM_BC Hanoï Dust | 18 | - | 133 | - | 30 | - | 265 | - |

**Tableau 17.** Valeurs de $K_{DOC}$ reportées dans la littérature pour différents types de DOM et de PAHs (phénanthrène, pyrène, benzo(a)pyrène). Les deux méthodes les plus utilisées pour l'étude des propriétés d'association de la DOM sont représentées : QF (quenching de fluorescence) et SPME (micro-extraction en phase solide).

| | | | **$K_{DOC}$ (x $10^3$ L kg $C^{-1}$)** | |
|---|---|---|---|---|
| **Références** | **Méthode** | **Type de DOM** | Phe | BaP |
| De Perre et al. (2014) | SPME-GC-MS | Acide humique | 180 | - |
| | SPME-GC-MS | Acide humique | 380 | - |
| | QF | Acide humique | 32.4 | 7413 |
| Perminova et al. (1999) | QF | Acide humique | - | - |
| Gauthier et Sham (1986) | QF | Acide humique | - | - |
| Doll et al. (1999) | SPME-GC-MS | Acide humique | 10.5 | - |
| | QF | Acide humique | 128.8 | - |
| Poerschmann et al. (2000) | SPME-GC-MS | Acide humique | 19.9 | - |
| | QF | Acide humique | 50.1 | - |
| Yang et al. (2016) | QF | Phytoplanctonique | - | - |

Ces résultats suggèrent que la DOM libérée à partir de la solubilisation du BC est plus efficace que la DOM terrestre pour former des complexes avec les contaminants organiques de type PAHs, et rejoignent ains les observations de Fu et al. (2018). Les différences de $K_{DOC}$ observées entre les solutions de DOM terrestre préparées dans l'eau de mer et celles préparées dans l'eau ultra-pure suggèrent qu'un effet matrice influence également cette réactivité. D'autre part, la DOM_BC standard (DPM) exhibait une plus forte réactivité vis-à-vis du Phe que la DOM_BC provenant d'un échantillon naturel de poussières urbaines (HD), tandis que cette dernière montrait une plus forte réactivité avec le BaP. La caractérisation des propriétés optiques de ces deux DOM_BC présentée dans le Chapitre 3 soulignait déjà les différences de structures

moléculaires : le HD étant associée à une plus grande composante labile (BIX plus élevés) et moins aromatique, et le DPM à une plus forte composante humique (HIX élevés) et aromatique ($SUVA_{254}$ élevés) (voir Chapitre 3). Les différences observées entre les deux types de DOM_BC utilisée dans cette étude souligne l'importance des structures chimiques du DBC dans sa capacité à interagir avec les contaminants organiques, et rejoignent ainsi les observations de Chen et al. (2022) et Fu et al. (2018).

### 7.1.2. Relation entre composition moléculaire, réactivité chimique et indice optique de la DOM

Dans la suite de la démarche réalisée dans le Chapitre 3 qui consiste à identifier les différences de signatures optiques en lien avec la composition moléculaire de différentes DOM_BC, il est également possible d'étudier les relations potentielles entre propriétés optiques et capacité d'association de la DOM_DBC. Le $SUVA_{254}$ est considéré comme un bon indicateur du pourcentage d'aromaticité de la DOM, paramètre souvent évoqué pour son rôle dans sa réactivité chimique/photochimique. Le travail de caractérisation des propriétés optiques réalisé dans le Chapitre 3 a mis en avant la grande variabilité des valeurs de $SUVA_{254}$ au sein des solutions de DOM_BC préparées en laboratoire. Dans ce contexte, certaines valeurs de $K_{DOC}$ calculées avec la méthode de Stern-Volmer ont été choisies pour explorer leur relation avec le $SUVA_{254}$ (Fig. 61).

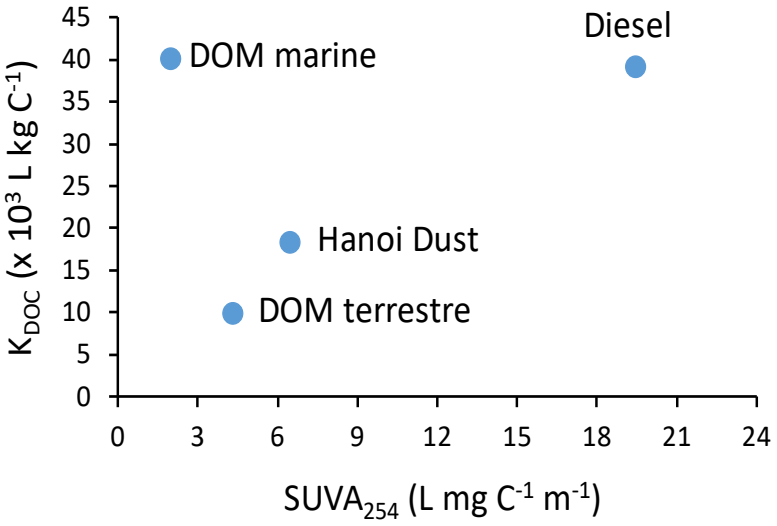



**Figure 61.** Relation entre le $SUVA_{254}$ (L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$) et le $K_{DOC}$ (x $10^3$ L kg $C^{-1}$) calculés pour le phénanthrène avec la méthode de Stern-Volmer.

Une relation linéaire entre $SUVA_{254}$ et $K_{DOC}$ semble exister en considérant les échantillons de DOM terrestre et de DOM_BC (Hanoï Dust et DPM/Diesel). Ceci pourrait donc

confirmer que les PAHs s'associent préférentiellement à la fraction aromatique de la DOM, particulièrement représentée dans la DOM_BC DPM. La corrélation forte entre la structure de la DOM et sa capacité d'association avec le Phe a déjà été discutée par Hur et al. (2014), tandis que la corrélation entre la structure de la DOM terrestre et sa capacité d'association avec d'autres contaminants organiques, tels que le bisphénol A et l'octylphénol a été reportée par Chuang et al. (2021). En revanche, pour la DOM marine, il apparait que son $K_{DOC}$ est « anormalement » élevé par rapport à sa valeur de $SUVA_{254}$. Ceci suggère que les interactions entre PAHs et DOM marine ne se font pas (ou pas uniquement) avec la composante aromatique de cette dernière. Les interactions pourraient s'établir avec les structures aliphatiques qui constituent la fraction plus labile de la DOM marine.

Les valeurs de $K_{DOC}$ déterminées dans cette étude entre les DOM_BC, terrestre et marine et les PAHs suggèrent que, dans le milieu marin côtier, pour une concentration moyenne de DOC de 1.5 mg C $L^{-1}$, les HAPs dissous présents dans l'eau se trouveraient entre 10% (cas du Phe) et 20% (cas du BaP, l'un des HAPs les plus toxiques pour les organismes vivants) à l'état complexé à la DOM.

## 7.2. Conclusion

Les expériences de quenching de fluorescence ont permis d'apprécier la capacité de d'association de la DOM_BC, et de la comparer avec celle de la DOM terrestre et marine. La DOM_BC montrait une réactivité vis-à-vis des PAHs comparable voir supérieure à celle de la DOM marine et terrestre, avec toutefois des différences en fonction du type de BC étudié. Ces différences rejoignent celles observées concernant la réactivité biologique du DBC (Chapitre 6) et les propriétés optiques des différentes DOM_BC étudiées (Chapitre 3). L'évaluation de cette réactivité chimique s'ajoute à celle de la réactivité biologique décrite précédemment (Chapitre 6), ce qui confirme l'importance de prendre en compte ces processus dans l'étude du cycle du DBC dans le milieu aquatique. Il est important de souligner que, puisque les concentrations en DBC n'ont pas été déterminées au cours des expériences de quenching de fluorescence, il est impossible d'affirmer que la réactivité chimique de la DOM_BC est dû en totalité et seulement au DBC en lui-même.

D'autre part, cette étude a permis de mettre en évidence un lien entre $SUVA_{254}$ et $K_{DOC}$, c'est-à-dire entre la structure moléculaire de la DOM (*i.e.*, aromaticité) et sa capacité à s'associer avec des polluants de type PAHs. De manière générale, cette relation entre indice optique et $K_{DOC}$ pourrait permettre de quantifier la réactivité de la DOM par des mesures

optiques, de mieux comprendre le transfert de ces contaminants dans la chaine trophique et estimer l'impact de cette pollution sur les écosystèmes. Dans le cadre de l'étude de la DOM_BC et du DBC, cette relation permettrait d'évaluer la réactivité chimique des DOM_BC de différentes origines. D'autres travaux seront nécessaires pour enrichir ces résultats et renforcer la robustesse de cette relation entre $K_{DOC}$ et $SUVA_{254}$, notamment en explorant des cinétiques de concentrations, divers BC et des polluants différents, et en accompagnant les expériences de quenching du dosage de DBC par la méthode BPCAs.

# 8. Conclusion et perspectives

Ce travail de thèse avait pour but d'améliorer les connaissances de la distribution et de la réactivité du DBC en milieu marin côtier et fluvial. Les principaux résultats obtenus ainsi que les perspectives dégagées, en lien avec les objectifs énoncés dans le Chapitre 1, sont présentés dans les paragraphes suivants et sont résumés en Fig. 62.

**Les propriétés optiques de la DOM_BC**

L'étude en laboratoire des propriétés optiques de diverses fractions de DOM_BC a permis de positionner leur signature de fluorescence entre celle des fluorophores de type protéique ($\lambda_{Ex}$ = 225-285 nm ; $\lambda_{Em}$ = 310-350 nm) et celle des fluorophores de type humique ($\lambda_{Ex}$ = 250-350 nm ; $\lambda_{Em}$ = 420-500 nm) (Fig. 62). Cette localisation rend l'identification de la DOM_BC difficile en milieu naturel en raison de la superposition spectrale, particulièrement dans les environnements riches en substances humiques, comme les fleuves. Les solutions de DOM_BC issues des suies de navires et du diesel standard DPM se sont distinguées par des valeurs élevées de $F_{max}$/DOC (entre 0.21 et 3.40 QSU µM $C^{-1}$) et de $SUVA_{254}$ (entre 5.1 et 27.5 L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$), ainsi que par des valeurs de $\lambda_{Em}$ plus faibles (entre 370 et 410 nm). Les échantillons naturels et les standards de poussières urbaines ont montré des capacités de fluorescence et d'absorption bien plus faibles. La variabilité observée dans les solutions de DOM_BC suggère que la composition moléculaire, qui varie selon l'origine et les processus de transformation du BC, est un aspect essentiel à explorer pour confirmer les différences de composition suggérées par les regroupements PCA et HCA, et pour affiner notre compréhension des propriétés optiques de la DOM_BC. L'analyse PARAFAC réalisée sur l'ensemble des solutions a permis d'identifier trois fluorophores : C1 ($\lambda_{Ex1}$-$\lambda_{Ex2}$/$\lambda_{Em}$ = 255-315/428 nm) et C2 ($\lambda_{Ex1}$-$\lambda_{Ex2}$/$\lambda_{Em}$ = 255-290/384 nm), qui ont significativement corrélé avec les concentrations de DBC mesurées dans les solutions, ainsi que C3 ($\lambda_{Ex1}$-$\lambda_{Ex2}$/$\lambda_{Em}$ = 255-385/512 nm), d'avantage associé aux matériaux de type humique terrestre dans les eaux marines.

L'indice COX, basé sur l'examen des indices optiques, des MEEFs et sur l'identification des fluorophores par PARAFAC, a été proposé pour la détection des produits de combustion en

milieu marin (Fig. 62). Cet indice a ensuite été calculé dans la baie de Marseille (1.39 ± 0.45 QSU L mg $C^{-1}$), dans l'estuaire de la Van Uc (entre 1.31 et 4.53 QSU L mg $C^{-1}$), et dans le bras principal du fleuve Rouge (entre 2.36 et 7.53 QSU L mg $C^{-1}$). Son application s'est révélée pertinente dans les environnements côtiers marins, mais limitée dans les environnements fluviaux, en raison de la richesse en substances humiques, qui se superposent à la fluorescence de la DOM_BC.

À l'avenir, il sera nécessaire de tester l'indice COX dans des environnements côtiers variés et d'envisager une nouvelle version de cet indice, intégrant les propriétés d'absorbance de la CDOM, afin d'améliorer la sélectivité du COX dans les milieux estuariens et fluviaux (Fig. 62).

**Distribution du DBC dans les milieu marins côtiers et estuaires**

Les deux zones côtières et estuariennes étudiées, la baie de Marseille et l'estuaire de la Van Uc ont toutes deux présenté des variations spatiales dans la distribution des concentrations de DBC. L'apparition ponctuelle de concentrations plus élevées que la moyenne du milieu met en évidence l'influence des sources locales variées (trafic maritime pour Marseille et affluent local pour Van Uc) sur la répartition de ces concentrations. La variabilité spatiale des ratios moléculaires du DBC va également dans ce sens.

Notre étude dans la baie de Marseille a montré l'importance du trafic maritime sur les concentrations de DBC (moyenne de 15.0 ± 5.1 µg C $L^{-1}$), avec des valeurs plus élevées observées dans les ports et les voies de navigation principales par rapport au reste de la baie (Fig. 62). Les stations échantillonnées à l'embouchure du Rhône et du canal de Caronte ont également révélé des concentrations de DBC et des ratios moléculaires distincts, mais ces deux sources d'eau douce ne semblent pas avoir affecté l'ensemble de la baie pendant la période d'échantillonnage (Fig. 62).

Les concentrations de DBC mesurées dans l'estuaire de la Van Uc ont montré d'importantes variations spatiales, allant de 8.4 à 66 µg C $L^{-1}$ en mars et de 3.6 à 50.4 µg C $L^{-1}$ en novembre (Fig. 62). Ces niveaux sont comparables à ceux rapportés dans la littérature pour les estuaires du Sud-Est de la Chine et sont plus élevés que ceux observés dans les océans ouverts du Pacifique Sud et de l'Atlantique. Bien qu'aucune variation temporelle globale ne soit visible sur l'ensemble des stations, incluant celles situées en rivière, les échantillons de la partie estuarienne révèlent des concentrations plus élevées en novembre, après la saison des

pluies, qu'en mars, en saison sèche. Cette variabilité temporelle dans la zone marine, ainsi que les corrélations négatives entre les concentrations de DBC et la salinité, confirment que les zones estuariennes accumulent du DBC sous l'influence des apports fluviaux, principaux contributeurs de DBC en milieu côtier estuarien (Fig. 62). L'analyse des ratios moléculaires de BPCAs dans cette zone d'étude a permis : 1) d'observer une diminution du degré de condensation aromatique du DBC depuis la rivière jusqu'à la mer, soulignant l'importance de la phototransformation subie par le DBC en milieu naturel et 2) de mettre en évidence une source locale et/ou une zone d'accumulation liée à un ETM à l'intérieur du fleuve, près de l'embouchure (Fig. 62). Néanmoins, cette dernière hypothèse, fondée sur les profils de température et de salinité mesurés dans la zone, ne peut être confirmée sans une analyse à fine échelle des concentrations de SPM le long de la colonne d'eau.

Ces deux études montrent l'importance des sources et des processus locaux agissant à fine échelle pour modifier significativement les concentrations et le degré de condensation aromatique du DBC. Pour mieux comprendre l'origine du DBC mesuré, il sera essentiel de compléter ces jeux de données par des analyses en FT-ICR-MS, afin de caractériser plus précisément les structures moléculaires présentes et de les associer aux sources locales et globales (Fig. 62). Aussi, ces analyses dans le cadre d'expériences de phototransformation permettraient de mieux appréhender l'effet du rayonnement solaire sur les structures moléculaires du DBC arrivant en mer, et par conséquent sa réactivité potentielle en milieu marin. Enfin, les processus physico-hydrologiques, tels que la formation d'ETM, qui agit comme une zone de piégeage local et temporaire, pourraient constituer un axe de recherche important pour estimer les flux de DBC dans les systèmes estuariens saisonnièrement stratifiés, comme le delta du fleuve Rouge (Fig. 62).

**Distribution du DBC dans le fleuve Rouge**

L'échantillonnage du bras principal du fleuve Rouge a révélé une variabilité spatiale (transect de 200 km) et temporelle (mars, juin, septembre) des concentrations en DBC. Pour l'ensemble des échantillons, les concentrations moyennes en DBC étaient de 29 ± 10.2 µg C $L^{-1}$ en mars, 42.3 ± 11.5 µg C $L^{-1}$ en juin, et 65.6 ± 12.4 µg C $L^{-1}$ en septembre (Fig. 62). Ces valeurs sont cohérentes avec celles observées dans l'estuaire de la Van Uc, et nettement plus élevées que celles mesurées dans la baie de Marseille durant cette thèse. L'augmentation des concentrations au fil de l'année s'explique probablement par le lessivage dû aux pluies et par

la libération des $PM_{2.5}$ accumulées en période sèche (Fig. 62). Les mesures optiques révèlent une DOM plus riche en composés humiques aromatiques après la saison des pluies en septembre, probablement en raison des apports massifs de matière organique terrestre charriée par les précipitations (Fig. 62).

Le maillage spatial réalisé dans le fleuve Rouge couvre une zone plus étendue que celui de la Van Uc, mais avec des stations plus éloignées les unes des autres, ce qui rend l'étude moins fine en termes de résolution. Cette configuration a pu conduire à un manque de détection de points extrêmes localisés comme ceux observés dans la Van Uc. Néanmoins, le suivi a permis de montrer des tendances linéaires de Hanoï à l'embouchure, avec une augmentation des concentrations en mars et septembre, et une diminution en juin. Alors que la baisse des concentrations le long du fleuve est cohérente avec l'hypothèse d'un apport par les fleuves au milieu marin et avec les observations faites dans la Van Uc, l'augmentation observée en mars et juin pourrait être attribuée à deux phénomènes principaux : 1) une intrusion d'eau souterraine dans le fleuve autour de Hanoï en saison sèche (mars), qui diluerait les concentrations de DBC ainsi que son degré de condensation aromatique aux abords de la ville et 2) un relargage de BC/DBC autour de Hanoï en septembre après des pluies intenses, créant des concentrations élevées de DBC transportées en patchs le long du fleuve (Fig. 62). Les ratios moléculaires et les indices optiques déterminés sur les échantillons appuient ces hypothèses. Bien que ces intrusions d'eau souterraine aient pu modifier localement le degré de condensation aromatique du DBC, une diminution des ratios moléculaires a été observée le long du fleuve, notamment en juin et septembre, confirmant aussi l'impact de la phototransformation sur la qualité du DBC, déjà observé dans l'estuaire de la Van Uc (Fig. 62).

Selon nos résultats, le delta du fleuve Rouge, qui représenterait environ 0.28% du débit fluvial mondial, pourrait être responsable d'environ 0.14% des flux mondiaux de DBC vers l'océan. Bien que cette contribution semble modeste, elle demeure significative dans un contexte régional, notamment pour le golfe du Tonkin, où le delta joue un rôle crucial pour l'écosystème local (Fig. 62).

Cette étude tend à confirmer l'importance de la ville de Hanoï dans la distribution saisonnière et spatiale des concentrations de DBC. Cependant, en l'absence de mesures effectuées en amont de la ville, il est difficile d'estimer précisément l'ampleur de sa contribution. De même, des mesures futures plus en amont dans le fleuve permettraient de mieux évaluer les intrusions d'eau souterraine suspectées dans notre étude. Ces intrusions pourraient également être investiguées grâce à des mesures de nitrates et/ou de phosphates,

particulièrement élevés dans les eaux souterraines, afin de mieux appréhender leur ampleur et leur saisonnalité. Enfin, des analyses complémentaires par FT-ICR-MS seraient particulièrement utiles pour attribuer une origine potentielle au DBC mesuré dans le fleuve et confirmer l'effet de relargage en patch observé en septembre (Fig. 62).

**Réactivité biologique et chimique de la DOM_BC**

Au cours de l'expérience de biodégradation, qui a exposé une communauté de procaryotes hétérotrophes à des DOM_BC d'origines diverses, des diminutions significatives (27 et 45%) de DOM_BC et de DBC ont été observées sur une période d'incubation de trois mois (Fig. 62). Par ailleurs, les mesures de différents paramètres biogéochimiques (nutriments, métaux, PAHs, CDOM) au cours de cette expérience ont confirmé l'impact notable de la solubilisation du BC sur le milieu. La réévaluation des résultats publiés en 2023, à l'aide de la formule de conversion BPCA-to-DBC la plus récente, a permis d'affiner ces conclusions. Elle a révélé que le DBC provenant des suies de bateaux (dont la proportion en PAHs, toxiques pour le biota, est plus élevée) n'a pas montré de biodisponibilité significative, malgré une dégradation générale de la DOM_BC dans ces incubations.

Nos résultats suggèrent que la fraction biodisponible du DBC est déterminée par deux facteurs principaux : 1) l'origine du matériau BC, qui influence la composition, le degré de condensation et l'oxydation des substances libérées lors de la dissolution, et 2) la dynamique des communautés procaryotes hétérotrophes dans un environnement contrôlé (Fig. 62). Ces deux facteurs créent un gradient de biodisponibilité du DBC et entraînent également des modifications du métabolisme bactérien, en favorisant alternativement des processus anaboliques ou cataboliques.

La réactivité chimique a également été étudiée, révélant la capacité de la DOM_BC à s'associer moléculairement à des contaminants tels que les PAHs, une capacité qui s'est avérée supérieure à celle de la DOM d'origine marine ou terrestre (Fig. 62). Dans le cadre de l'étude du cycle du BC/DBC, cette réactivité chimique est particulièrement importante, car elle pourrait, comme la biodisponibilité, constituer un puits de DBC dans le milieu marin. Cette hypothèse ne peut cependant pas être totalement confirmée dans notre étude, car les concentrations en DBC n'ont pas été mesurées au cours de l'expérience de quenching, et il a été observé durant la biodégradation qu'une diminution de la DOM_BC n'entraîne pas systématiquement une baisse significative du DBC.

Bien que la réactivité chimique propre du DBC ne puisse être confirmée par ce travail, la réactivité de la DOM_BC associée à la solubilisation des particules reste un aspect essentiel pour comprendre l'impact du DBC sur les cycles biogéochimiques, tant naturels qu'anthropiques, dans le milieu marin. Par ailleurs, l'ampleur de cette réactivité semble fortement influencée par la source du matériau BC, qui, comme démontré dans cette thèse, influe grandement la composition chimique de la DOM_BC (Fig. 62).

Il semble désormais important d'étudier de façon plus approfondie la réactivité biologique et chimique de la DOM_BC et du DBC provenant d'autres sources (par exemple, différents types de particules issues de la combustion de combustibles fossiles ou de biomasse), en se concentrant particulièrement sur sa composition moléculaire et son niveau d'oxydation *via* des analyses FT-ICR-MS. Dans le cadre de la réactivité biologique, il serait pertinent d'explorer d'autres assemblages biologiques et leur capacité d'adaptation à l'utilisation de ce matériau organique (Fig. 62). Pour ce qui est de la réactivité chimique, il serait intéressant d'expérimenter avec d'autres contaminants, ainsi qu'avec d'autres DOM naturelles particulièrement présentent dans les systèmes fluviaux, telles que celles du fleuve Rouge. Encore une fois, le couplage de ces mesures à des analyses FT-ICR-MS permettrait d'obtenir des informations fondamentales sur l'impact réel de la composition moléculaire et du niveau d'oxydation du DBC dans ses interactions avec l'environnement (Fig. 62).

L'étude des réactivités biologique et chimique, combinée aux processus suspectés, *i.e.*, phototransformation, ETM et intrusions d'eau souterraine dans le milieu naturel au cours de cette thèse, a mis en évidence la complexité du cycle du BC/DBC dans l'environnement. Si l'un des objectifs principaux de ce travail était d'explorer le comportement du DBC dans le continuum rivière-océan, ces résultats suggèrent qu'une multitude de processus biotiques et abiotiques peuvent influer sur les variations des concentrations de DBC et, à terme, sur l'estimation des flux de DBC vers l'océan. En plus d'influencer la quantité de DBC, ces processus modifient le degré de condensation aromatique du DBC, lequel impacte à nouveau sa réactivité physico-chimique et biologique. Les deux grands axes de cette thèse, à savoir « les flux/la répartition » et « la réactivité », sont donc étroitement liés et interdépendants. Il est primordial que les études futures tiennent compte de la dynamique du DBC et de la DOM_BC pour mieux appréhender leurs transferts, leurs sources et leurs puits dans le milieu marin.

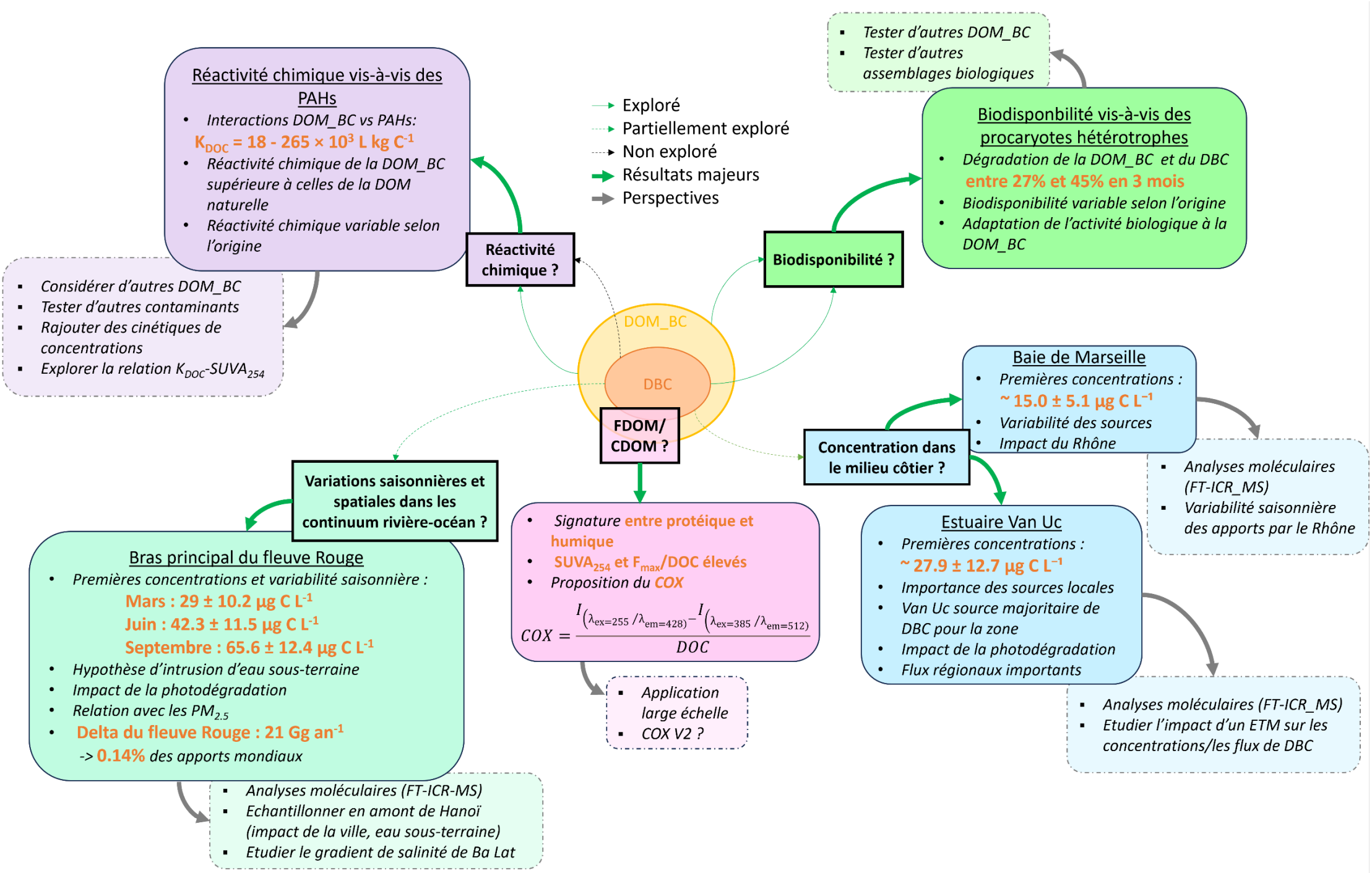



**Figure 62.** Schéma général de conclusions et perspectives du travail de thèse au regarde des objectifs initiaux fixés en Chapitre 1 (Fig, 8).

# Références


Allen, G.P., Salomon, J.C., Bassoullet, P., Du Penhoat, Y., De Grandpré, C., 1980. Effects of tides on mixing and suspended sediment transport in macrotidal estuaries. Sediment. Geol. 26, 69–90. https://doi.org/10.1016/0037-0738(80)90006-8

Amaral, V., Romera-Castillo, C., García-Delgado, M., Gómez-Parra, A., Forja, J., 2020. Distribution of dissolved organic matter in estuaries of the southern Iberian Atlantic Basin: Sources, behavior and export to the coastal zone. Mar. Chem. 226, 103857. https://doi.org/10.1016/j.marchem.2020.103857

Aminot, A., Kérouel, R., 2004. Hydrologie des écosystèmes marins: paramètres et analyses., Quae. ed. ISBN 2-84433-133-5.

Andreae, M.O., 1983. Soot carbon and excess fine potassium: Longrange transport of combustion-derived aerosols. Science 220, 1148–1151. https://doi.org/10.1126/science.220.4602.1148

Apte, J.S., Brauer, M., Cohen, A.J., Ezzati, M., Pope, C.A., 2018. Ambient PM $_{2.5}$ Reduces Global and Regional Life Expectancy. Environ. Sci. Technol. Lett. 5, 546–551. https://doi.org/10.1021/acs.estlett.8b00360

Azeem, M., Sun, T.-R., Jeyasundar, P.G.S.A., Han, R.-X., Li, H., Abdelrahman, H., Shaheen, S.M., Zhu, Y.-G., Li, G., 2023. Biochar-derived dissolved organic matter (BDOM) and its influence on soil microbial community composition, function, and activity: A review. Crit. Rev. Environ. Sci. Technol. 1–23. https://doi.org/10.1080/10643389.2023.2190333

Baddi, G.A., Antizar-Ladislao, B., Alcuta, A., Mazeas, L., Li, T., Duquennoi, C., Redon, E., Bouchez, T., 2013. Municipal Solid Waste Stabilization Efficiency Using Fluorescence Excitation–Emission Spectroscopy. Environ. Eng. Sci. 30, 232–240. https://doi.org/10.1089/ees.2012.0041

Bai, L., Zhao, Z., Wang, Chunliu, Wang, Changhui, Liu, X., Jiang, H., 2017. Multi-spectroscopic investigation on the complexation of tetracycline with dissolved organic matter derived from algae and macrophyte. Chemosphere 187, 421–429. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.08.112

Baker, A., 2001. Fluorescence Excitation−Emission Matrix Characterization of Some Sewage-Impacted Rivers. Environ. Sci. Technol. 35, 948–953. https://doi.org/10.1021/es000177t

Bamminger, C., Marschner, B., Jüschke, E., 2014. An incubation study on the stability and biological effects of pyrogenic and hydrothermal biochar in two soils: Biological effects

of different biochars in two soils. Eur. J. Soil Sci. 65, 72–82. https://doi.org/10.1111/ejss.12074

Bao, H., Niggemann, J., Luo, L., Dittmar, T., Kao, S.-J., 2017. Aerosols as a source of dissolved black carbon to the ocean. Nat. Commun. 8, 510. https://doi.org/10.1038/s41467-017-00437-3

Bao, H., Qiao, J., Huang, D., Niggemann, J., Yi, Y., Zhao, W., Ni, S., Dittmar, T., Kao, S.-J., 2023. Molecular level characterization of the biolability of rainwater dissolved organic matter. Sci. Total Environ. 862, 160709. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160709

Barhoumi, B., Guigue, C., Touil, S., Johnson-Restrepo, B., Driss, M.R., Tedetti, M., 2023. Hydrocarbons in the atmospheric gas phase of a coastal city in Tunisia: Levels, gas–particle partitioning, and health risk assessment. Sci. Total Environ. 879, 162986. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162986

Barton, R., Winston, I., Wagner, S., 2024. The presence of free benzenepolycarboxylic acids (BPCAs) may result in the overestimation of dissolved black carbon in aqueous samples. Org. Geochem. 190, 104765. https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2024.104765

Bejarano, A.C., Chandler, G.T., Decho, A.W., 2005. Influence of natural dissolved organic matter (DOM) on acute and chronic toxicity of the pesticides chlorothalonil, chlorpyrifos and fipronil on the meiobenthic estuarine copepod Amphiascus tenuiremis. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 321, 43–57. https://doi.org/10.1016/j.jembe.2005.01.003

Benavides, M., Chu Van, T., Mari, X., 2019. Amino acids promote black carbon aggregation and microbial colonization in coastal waters off Vietnam. Sci. Total Environ. 685, 527–532. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.141

Berrojalbiz, N., Dachs, J., Del Vento, S., Ojeda, M.J., Valle, M.C., Castro-Jiménez, J., Mariani, G., Wollgast, J., Hanke, G., 2011. Persistent Organic Pollutants in Mediterranean Seawater and Processes Affecting Their Accumulation in Plankton. Environ. Sci. Technol. 45, 4315–4322. https://doi.org/10.1021/es103742w

Bianchi, C.N., Morri, C., 2000. RMESUaLTrSine Biodiversity of the Mediterranean Sea: Situation, Problems and Prospects for Future Research. Mar. Pollut. Bull. 40. https://doi.org/10.1016/S0025-326X(00)00027-8

Bice, K., Eil, A., Habib, B., Heijmans, P., Kopp, R., Nogues, J., Norcross, F., Maragaret, H.S., Whitworth, A., 2009. Black Carbon: A Review and Policy Recommendations. Princet. Univ.

Bird, M.I., Wynn, J.G., Saiz, G., Wurster, C.M., McBeath, A., 2015. The Pyrogenic Carbon Cycle. Annu. Rev. Earth Planet. Sci. 43, 273–298. https://doi.org/10.1146/annurev-earth-060614-105038

Bond, T., Bhardwaj, E., Dong, R., Jogani, R., Jung, S., Roden, C., Streets, D.G., Trautmann, N.M., 2007. Historical emissions of black and organic carbon aerosol from energy-

related combustion, 1850–2000. Glob. Biogeochem. Cycles 21, 1–16. https://doi.org/10.1029/2006GB002840

Bond, T.C., Doherty, S.J., Fahey, D.W., Forster, P.M., Berntsen, T., DeAngelo, B.J., Flanner, M.G., Ghan, S., Kärcher, B., Koch, D., Kinne, S., Kondo, Y., Quinn, P.K., Sarofim, M.C., Schultz, M.G., Schulz, M., Venkataraman, C., Zhang, H., Zhang, S., Bellouin, N., Guttikunda, S.K., Hopke, P.K., Jacobson, M.Z., Kaiser, J.W., Klimont, Z., Lohmann, U., Schwarz, J.P., Shindell, D., Storelvmo, T., Warren, S.G., Zender, C.S., 2013. Bounding the role of black carbon in the climate system: A scientific assessment: BLACK CARBON IN THE CLIMATE SYSTEM. J. Geophys. Res. Atmospheres 118, 5380–5552. https://doi.org/10.1002/jgrd.50171

Bond, T.C., Streets, D.G., Yarber, K.F., Nelson, S.M., Woo, J., Klimont, Z., 2004. A technology-based global inventory of black and organic carbon emissions from combustion. J. Geophys. Res. Atmospheres 109, 2003JD003697. https://doi.org/10.1029/2003JD003697

Bostick, K.W., Zimmerman, A.R., Goranov, A.I., Mitra, S., Hatcher, P.G., Wozniak, A.S., 2021. Biolability of Fresh and Photodegraded Pyrogenic Dissolved Organic Matter From Laboratory-Prepared Chars. J. Geophys. Res. Biogeosciences 126. https://doi.org/10.1029/2020JG005981

Brimblecombe, P., 1987. The big smoke : a history of air pollution in London since medieval times, London, New York, Methuen. 185.

Brook, R.D., Rajagopalan, S., Pope, C.A., Brook, J.R., Bhatnagar, A., Diez-Roux, A.V., Holguin, F., Hong, Y., Luepker, R.V., Mittleman, M.A., Peters, A., Siscovick, D., Smith, S.C., Whitsel, L., Kaufman, J.D., 2010. Particulate Matter Air Pollution and Cardiovascular Disease: An Update to the Scientific Statement From the American Heart Association. Circulation 121, 2331–2378. https://doi.org/10.1161/CIR.0b013e3181dbece1

Brünjes, J., Seidel, M., Dittmar, T., Niggemann, J., Schubotz, F., 2022. Natural Asphalt Seeps Are Potential Sources for Recalcitrant Oceanic Dissolved Organic Sulfur and Dissolved Black Carbon. Environ. Sci. Technol. 56, 9092–9102. https://doi.org/10.1021/acs.est.2c01123

Buffaloe, G.M., Lack, D.A., Williams, E.J., Coffman, D., Hayden, K.L., Lerner, B.M., Li, S.-M., Nuaaman, I., Massoli, P., Onasch, T.B., Quinn, P.K., Cappa, C.D., 2014. Black carbon emissions from in-use ships: a California regional assessment. Atmospheric Chem. Phys. 14, 1881–1896. https://doi.org/10.5194/acp-14-1881-2014

Capaldo, K., Corbett, J.J., Kasibhatla, P., Fischbeck, P., Pandis, S.N., 1999. Effects of ship emissions on sulphur cycling and radiative climate forcing over the ocean. Nature 400, 743–746. https://doi.org/10.1038/23438

Charron, A., Polo-Rehn, L., Besombes, J.-L., Golly, B., Buisson, C., Chanut, H., Marchand, N., Guillaud, G., Jaffrezo, J.-L., 2019. Identification and quantification of particulate tracers of exhaust and non-exhaust vehicle emissions. Atmospheric Chem. Phys. 19, 5187–5207. https://doi.org/10.5194/acp-19-5187-2019

Chen, H., Abdulla, H.A.N., Sanders, R.L., Myneni, S.C.B., Mopper, K., Hatcher, P.G., 2014. Production of Black Carbon-like and Aliphatic Molecules from Terrestrial Dissolved Organic Matter in the Presence of Sunlight and Iron. Environ. Sci. Technol. Lett. 1, 399–404. https://doi.org/10.1021/ez5002598

Chen, Q., Ikemori, F., Mochida, M., 2016. Light Absorption and Excitation–Emission Fluorescence of Urban Organic Aerosol Components and Their Relationship to Chemical Structure. Environ. Sci. Technol. 50, 10859–10868. https://doi.org/10.1021/acs.est.6b02541

Chen, Q., Li, J., Hua, X., Jiang, X., Mu, Z., Wang, M., Wang, J., Shan, M., Yang, X., Fan, X., Song, J., Wang, Y., Guan, D., Du, L., 2020. Identification of species and sources of atmospheric chromophores by fluorescence excitation-emission matrix with parallel factor analysis. Sci. Total Environ. 718, 137322. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137322

Chen, Q., Ma, Y., Dong, J., Kong, Y., Wu, M., 2022. The chemical structure characteristics of dissolved black carbon and their binding with phenanthrene. Chemosphere 291, 132747. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132747

Chen, S., Ke, R., Zha, J., Wang, Z., Khan, S.U., 2008. Influence of Humic Acid on Bioavailability and Toxicity of Benzo[k]fluoranthene to Japanese Medaka. Environ. Sci. Technol. 42, 9431–9436. https://doi.org/10.1021/es8014502

Chevet, E., Boiron, O., Anselmet, F., 2024. Modeling of air pollution due to marine traffic in Marseille. Atmos. Environ. 329, 120542. https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2024.120542

Chiou, C.T., Cheng, J., Hung, W.-N., Chen, B., Lin, T.-F., 2015. Resolution of Adsorption and Partition Components of Organic Compounds on Black Carbons. Environ. Sci. Technol. 49, 9116–9123. https://doi.org/10.1021/acs.est.5b01292

Chuang, C.-W., Huang, W.-S., Chen, H.-S., Hsu, L.-F., Liu, Y.-Y., Chen, T.-C., 2021. Sorption Constant of Bisphenol A and Octylphenol Onto Size-Fractioned Dissolved Organic Matter Using a Fluorescence Method. Int. J. Environ. Res. Public. Health 18, 1102. https://doi.org/10.3390/ijerph18031102

Clark, J.S., Patterson, W.A., 1997. Background and Local Charcoal in Sediments: Scales of Fire Evidence in the Paleorecord, in: Clark, James S., Cachier, H., Goldammer, J.G., Stocks, B. (Eds.), Sediment Records of Biomass Burning and Global Change. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 23–48. https://doi.org/10.1007/978-3-642-59171-6_3

Coble, P.G., 2007. Marine Optical Biogeochemistry: The Chemistry of Ocean Color. Chem. Rev. 402–418. https://doi.org/10.1021/cr050350+

Coble, P.G., 1996. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. Mar. Chem. 51, 325–346. https://doi.org/10.1016/0304-4203(95)00062-3

Coble, P.G., Spencer, R.G.M., Baker, A., Reynolds, D.M., 2014. Aquatic organic matter fluorescence. Cambridge University Press. ISBN 978-0-521-76461-2

Cofala, J., Amann, M., Klimont, Z., Kupiainen, K., Höglund-Isaksson, L., 2007. Scenarios of global anthropogenic emissions of air pollutants and methane until 2030. Atmos. Environ. 41, 8486–8499. https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2007.07.010

Cohen, D.D., Crawford, J., Stelcer, E., Bac, V.T., 2010. Characterisation and source apportionment of fine particulate sources at Hanoi from 2001 to 2008. Atmos. Environ. 44, 320–328. https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2009.10.037

Comer, B., Mao, N.O.X., Roy, B., Rutherford, D., 2015. Black carbon emissions and fuel use in global shipping, 2015. Int. Counc. Clean Transp. 103.

Coppola, A.I., 2018. Global-scale evidence for the refractory nature of riverine black carbon. Nat. Geosci. 6. https://doi.org/10.1038/s41561-018-0159-8

Coppola, A.I., Druffel, E.R.M., 2016. Cycling of black carbon in the ocean: Cycling of Black Carbon in the Ocean. Geophys. Res. Lett. 43, 4477–4482. https://doi.org/10.1002/2016GL068574

Coppola, A.I., Wagner, S., Lennartz, S.T., Seidel, M., Ward, N.D., Dittmar, T., Santín, C., Jones, M.W., 2022. The black carbon cycle and its role in the Earth system. Nat. Rev. Earth Environ. 3, 516–532. https://doi.org/10.1038/s43017-022-00316-6

Coppola, A.I., Walker, B.D., Druffel, E.R.M., 2015. Solid phase extraction method for the study of black carbon cycling in dissolved organic carbon using radiocarbon. Mar. Chem. 177, 697–705. https://doi.org/10.1016/j.marchem.2015.10.010

Coppola, A.I., Ziolkowski, L.A., Masiello, C.A., Druffel, E.R.M., 2014. Aged black carbon in marine sediments and sinking particles: COPPOLA ET. AL.; AGED BLACK CARBON IN MARINE SEDIMENTS. Geophys. Res. Lett. 41, 2427–2433. https://doi.org/10.1002/2013GL059068

Corbett, J.J., Winebrake, J.J., Green, E.H., Kasibhatla, P., Eyring, V., Lauer, A., 2007. Mortality from Ship Emissions: A Global Assessment. Environ. Sci. Technol. 41, 8512–8518. https://doi.org/10.1021/es071686z

Corbin, J.C., Mensah, A.A., Pieber, S.M., Orasche, J., Michalke, B., Zanatta, M., Czech, H., Massabò, D., Buatier de Mongeot, F., Mennucci, C., El Haddad, I., Kumar, N.K., Stengel, B., Huang, Y., Zimmermann, R., Prévôt, A.S.H., Gysel, M., 2018a. Trace Metals in Soot and PM $_{2.5}$ from Heavy-Fuel-Oil Combustion in a Marine Engine. Environ. Sci. Technol. 52, 6714–6722. https://doi.org/10.1021/acs.est.8b01764

Corbin, J.C., Pieber, S.M., Czech, H., Zanatta, M., Jakobi, G., Massabò, D., Orasche, J., El Haddad, I., Mensah, A.A., Stengel, B., Drinovec, L., Mocnik, G., Zimmermann, R., Prévôt, A.S.H., Gysel, M., 2018b. Brown and Black Carbon Emitted by a Marine Engine Operated on Heavy Fuel Oil and Distillate Fuels: Optical Properties, Size Distributions, and Emission Factors. J. Geophys. Res. Atmospheres 123, 6175–6195. https://doi.org/10.1029/2017JD027818

Cory, R.M., McKnight, D.M., 2005. Fluorescence Spectroscopy Reveals Ubiquitous Presence of Oxidized and Reduced Quinones in Dissolved Organic Matter. Environ. Sci. Technol. 39, 8142–8149. https://doi.org/10.1021/es0506962

Crapart, C., Andersen, T., Hessen, D.O., Valiente, N., Vogt, R.D., 2021. Factors Governing Biodegradability of Dissolved Natural Organic Matter in Lake Water. Water 13, 2210. https://doi.org/10.3390/w13162210

Cuss, C.W., Guéguen, C., 2013. Distinguishing dissolved organic matter at its origin: Size and optical properties of leaf-litter leachates. Chemosphere 92, 1483–1489. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.03.062

Cuss, C.W., Guéguen, C., 2012. Determination of relative molecular weights of fluorescent components in dissolved organic matter using asymmetrical flow field-flow fractionation and parallel factor analysis. Anal. Chim. Acta 733, 98–102. https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.05.003

Dai, M., Yin, Z., Meng, F., Liu, Q., Cai, W.-J., 2012. Spatial distribution of riverine DOC inputs to the ocean: an updated global synthesis. Curr. Opin. Environ. Sustain. 4, 170–178. https://doi.org/10.1016/j.cosust.2012.03.003

Dalmagro, H.J., Johnson, M.S., De Musis, C.R., Lathuillière, M.J., Graesser, J., Pinto-Júnior, O.B., Couto, E.G., 2017. Spatial patterns of DOC concentration and DOM optical properties in a Brazilian tropical river-wetland system. J. Geophys. Res. Biogeosciences 122, 1883–1902. https://doi.org/10.1002/2017JG003797

Dashti, N.G., Malakahmad, A., 2015. Approximation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) presence in Kinta River and its Tributaries. ISSN-1995-0756

de Perre, C., Ménach, K.L., Ibalot, F., Parlanti, E., Budzinski, H., 2014. Development of solid-phase microextraction to study dissolved organic matter—Polycyclic aromatic hydrocarbon interactions in aquatic environment. Anal. Chim. Acta 10.

Decesari, S., Facchini, M.C., Matta, E., Mircea, M., Fuzzi, S., Chughtai, A.R., Smith, D.M., 2002. Water soluble organic compounds formed by oxidation of soot. Atmos. Environ. 36, 1827–1832. https://doi.org/10.1016/S1352-2310(02)00141-3

Delfino, R.J., Staimer, N., Tjoa, T., Gillen, D.L., Polidori, A., Arhami, M., Kleinman, M.T., Vaziri, N.D., Longhurst, J., Sioutas, C., 2009. Air Pollution Exposures and Circulating Biomarkers of Effect in a Susceptible Population: Clues to Potential Causal Component mixtures and mechanisms. Environ. Health Perspect. 117, 1232–1238. https://doi.org/10.1289/ehp.0800194

Dittmar, T., 2008. The molecular level determination of black carbon in marine dissolved organic matter. Org. Geochem. 39, 396–407. https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2008.01.015

Dittmar, T., de Rezende, C.E., Manecki, M., Niggemann, J., Coelho Ovalle, A.R., Stubbins, A., Bernardes, M.C., 2012. Continuous flux of dissolved black carbon from a vanished tropical forest biome. Nat. Geosci. 5, 618–622. https://doi.org/10.1038/ngeo1541

Dittmar, T., Koch, B.P., 2006. Thermogenic organic matter dissolved in the abyssal ocean. Mar. Chem. 10. https:// 10.1016/j.marchem.2006.04.003

Dittmar, T., Paeng, J., 2009. A heat-induced molecular signature in marine dissolved organic matter. Nat. Geosci. 2, 175–179. https://doi.org/10.1038/ngeo440

Djaoudi, K., Van Wambeke, F., Barani, A., Bhairy, N., Chevaillier, S., Desboeufs, K., Nunige, S., Labiadh, M., Henry des Tureaux, T., Lefèvre, D., Nouara, A., Panagiotopoulos, C., Tedetti, M., Pulido-Villena, E., 2020. Potential bioavailability of organic matter from atmospheric particles to marine heterotrophic bacteria. Biogeosciences 17, 6271–6285. https://doi.org/10.5194/bg-17-6271-2020

Do, T.N., Burke, P.J., 2023. Phasing out coal power in a developing country context: Insights from Vietnam. Energy Policy 176, 113512. https://doi.org/10.1016/j.enpol.2023.113512

Doll, T.E., Frimmel, F.H., Kumke, M.U., Ohlenbusch, G., 1999. Interaction between natural organic matter (NOM) and polycyclic aromatic compounds (PAC) - comparison of fluorescence quenching and solid phase micro extraction (SPME). Fresenius J. Anal. Chem. 364, 313–319. https://doi.org/10.1007/s002160051342

Dominutti, P.A., Mari, X., Jaffrezo, J.-L., Dinh, V.T.N., Chifflet, S., Guigue, C., Guyomarc'h, L., Vu, C.T., Darfeuil, S., Ginot, P., Elazzouzi, R., Mhadhbi, T., Voiron, C., Martinot, P., Uzu, G., 2024. Disentangling fine particles (PM2.5) composition in Hanoi, Vietnam: Emission sources and oxidative potential. Sci. Total Environ. 923, 171466. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.171466

D'Ortenzio, F., Ribera d'Alcalà, M., 2009. On the trophic regimes of the Mediterranean Sea: a satellite analysis. https://doi.org/10.5194/bg-6-139-2009

Durjava, M.K., Ter Laak, T.L., Hermens, J.L.M., Struijs, J., 2007. Distribution of PAHs and PCBs to dissolved organic matter: High distribution coefficients with consequences for environmental fate modeling. Chemosphere 67, 990–997. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.10.059

Durrieu De Madron, X., Guieu, C., Sempéré, R., Conan, P., Cossa, D., D'Ortenzio, F., Estournel, C., Gazeau, F., Rabouille, C., Stemmann, L., Bonnet, S., Diaz, F., Koubbi, P., Radakovitch, O., Babin, M., Baklouti, M., Bancon-Montigny, C., Belviso, S., Bensoussan, N., Bonsang, B., Bouloubassi, I., Brunet, C., Cadiou, J.-F., Carlotti, F., Chami, M., Charmasson, S., Charrière, B., Dachs, J., Doxaran, D., Dutay, J.-C., Elbaz-Poulichet, F., Eléaume, M., Eyrolles, F., Fernandez, C., Fowler, S., Francour, P., Gaertner, J.C., Galzin, R., Gasparini, S., Ghiglione, J.-F., Gonzalez, J.-L., Goyet, C., Guidi, L., Guizien, K., Heimbürger, L.-E., Jacquet, S.H.M., Jeffrey, W.H., Joux, F., Le Hir, P., Leblanc, K., Lefèvre, D., Lejeusne, C., Lemé, R., Loÿe-Pilot, M.-D., Mallet, M., Méjanelle, L., Mélin, F., Mellon, C., Mérigot, B., Merle, P.-L., Migon, C., Miller, W.L., Mortier, L., Mostajir, B., Mousseau, L., Moutin, T., Para, J., Pérez, T., Petrenko, A., Poggiale, J.-C., Prieur, L., Pujo-Pay, M., Pulido-Villena, Raimbault, P., Rees, A.P., Ridame, C., Rontani, J.-F., Ruiz Pino, D., Sicre, M.A., Taillandier, V., Tamburini, C., Tanaka, T., Taupier-Letage, I., Tedetti, M., Testor, P., Thébault, H., Thouvenin, B., Touratier, F., Tronczynski, J., Ulses, C., Van Wambeke, F., Vantrepotte, V., Vaz, S., Verney, R., 2011. Marine ecosystems' responses to climatic and anthropogenic forcings

in the Mediterranean. Prog. Oceanogr. 91, 97–166. https://doi.org/10.1016/j.pocean.2011.02.003

Elmquist, M., Gustafsson, Ö., Andersson, P., 2004. Quantification of sedimentary black carbon using the chemothermal oxidation method: an evaluation of ex situ pretreatments and standard additions approaches. Limnol. Oceanogr. Methods 2, 417–427. https://doi.org/10.4319/lom.2004.2.417

Ertel, J.R., Hedges, J.I., Devol, A.H., Richey, J.E., Ribeiro, M. de N.G., 1986. Dissolved humic substances of the Amazon River system. Limnol. Oceanogr. 31, 739–754. https://doi.org/10.4319/lo.1986.31.4.0739

Fang, F., 1998. A spectro¯uorimetric study of the binding of carbofuran, carbaryl, and aldicarb with dissolved organic matter. Anal. Chim. Acta 13. https://doi.org/10.1016/S0003-2670(98)00392-4

Fang, Y., Chen, Y., Huang, G., Hu, L., Tian, C., Xie, J., Lin, J., Lin, T., 2021a. Particulate and Dissolved Black Carbon in Coastal China Seas: Spatiotemporal Variations, Dynamics, and Potential Implications. Environ. Sci. Technol. 55, 788–796. https://doi.org/10.1021/acs.est.0c06386

Fang, Y., Chen, Y., Tian, C., Wang, X., Lin, T., Hu, L., Li, J., Zhang, G., Luo, Y., 2018. Cycling and Budgets of Organic and Black Carbon in Coastal Bohai Sea, China: Impacts of Natural and Anthropogenic Perturbations. Glob. Biogeochem. Cycles 32, 971–986. https://doi.org/10.1029/2017GB005863

Fang, Y., Singh, B., Singh, B.P., Krull, E., 2014. Biochar carbon stability in four contrasting soils: Biochar carbon stability in soils. Eur. J. Soil Sci. 65, 60–71. https://doi.org/10.1111/ejss.12094

Fang, Z., Yang, W., Chen, M., Ma, H., 2017. Source and Fate of Dissolved Black Carbon in the Western South China Sea During the Southwest Monsoon Prevailing Season: DBC in the South China Sea. J. Geophys. Res. Biogeosciences 122, 2817–2830. https://doi.org/10.1002/2017JG004014

Fang, Z., Yang, W., Stubbins, A., Chen, M., Li, J., Jia, R., Li, Q., Zhu, J., Wang, B., 2021b. Spatial characteristics and removal of dissolved black carbon in the western Arctic Ocean and Bering Sea. Geochim. Cosmochim. Acta 304, 178–190. https://doi.org/10.1016/j.gca.2021.04.024

Farahani, V.J., Pirhadi, M., Sioutas, C., 2021. Are standardized diesel exhaust particles (DEP) representative of ambient particles in air pollution toxicological studies? Sci. Total Environ. 788, 147854. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147854

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

Ferretto, N., Tedetti, M., Guigue, C., Mounier, S., Raimbault, P., Goutx, M., 2017. Spatio-temporal variability of fluorescent dissolved organic matter in the Rhône River delta and the Fos-Marseille marine area (NW Mediterranean Sea, France). Environ. Sci. Pollut. Res. 24, 4973–4989. https://doi.org/10.1007/s11356-016-8255-z

Ferretto, N., Tedetti, M., Guigue, C., Mounier, S., Redon, R., Goutx, M., 2014. Identification and quantification of known polycyclic aromatic hydrocarbons and pesticides in complex mixtures using fluorescence excitation–emission matrices and parallel factor analysis. Chemosphere 107, 344–353. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.12.087

Field, M.P., Cullen, J.T., Sherrell, R.M., 1999. Direct determination of 10 trace metals in 50 mL samples of coastal seawater using desolvating micronebulization sector field ICP-MS 7.

Fischer, S.J., Fegel, T.S., Wilkerson, P.J., Rivera, L., Rhoades, C.C., Rosario-Ortiz, F.L., 2023. Fluorescence and Absorbance Indices for Dissolved Organic Matter from Wildfire Ash and Burned Watersheds. ACS EST Water 3, 2199–2209. https://doi.org/10.1021/acsestwater.3c00017

Fu, H., Liu, H., Mao, J., Chu, W., Li, Q., Alvarez, P.J.J., Qu, X., Zhu, D., 2016. Photochemistry of Dissolved Black Carbon Released from Biochar: Reactive Oxygen Species Generation and Phototransformation. Environ. Sci. Technol. 50, 1218–1226. https://doi.org/10.1021/acs.est.5b04314

Fu, H., Wei, C., Qu, X., Li, H., Zhu, D., 2018. Strong binding of apolar hydrophobic organic contaminants by dissolved black carbon released from biochar: A mechanism of pseudomicelle partition and environmental implications. Environ. Pollut. 232, 402–410. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.09.053

Fuglestvedt, J., Berntsen, T., Eyring, V., Isaksen, I., Lee, D.S., Sausen, R., 2009. Shipping Emissions: From Cooling to Warming of Climate—and Reducing Impacts on Health. Environ. Sci. Technol. 43, 9057–9062. https://doi.org/10.1021/es901944r

Gao, Y., Ge, Y., Ma, Y., Zhao, H., Xiao, G., Show, P.L., Chen, J., Guo, R., Liu, Y., 2023. Occurrence, Migration, and Transformation of Black Carbon in Environmental Matrix and Its Influence on the Environmental Fate of Coexisting Pollutants: A Review. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 261, 15. https://doi.org/10.1007/s44169-023-00033-1

Gauthier, T.D., Sham, E.C., 1986. Fluorescence Quenching Method for Determining Equilibrium Constants for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Binding to Dissolved Humic Materialst 5. https://doi.org/10.1021/es00153a012

Gélinas, Y., Prentice, K.M., Baldock, J.A., Hedges, J.I., 2001. An Improved Thermal Oxidation Method for the Quantification of Soot/Graphitic Black Carbon in Sediments and Soils. Environ. Sci. Technol. 35, 3519–3525. https://doi.org/10.1021/es010504c

Ghosh, P., Mukherji, S., 2021. Growth kinetics of Pseudomonas aeruginosa RS1 on fluorene and dibenzothiophene, concomitant degradation kinetics and uptake mechanism. 3 Biotech 11, 195. https://doi.org/10.1007/s13205-021-02742-7

Glaser, B., Haumaier, L., Guggenberger, G., Zech, W., 1998. Black carbon in soils: the use of benzenecarboxylic acids as specific markers. Org. Geochem. 29, 811–819. https://doi.org/10.1016/S0146-6380(98)00194-6

Goldberg, E.D., 1985. Black carbon in the environment: properties and distribution. John Wiley and Sons, New York, NY.

Goni, M.A., Cathey, M.W., Kim, Y.H., Voulgaris, G., 2005. Fluxes and sources of suspended organic matter in an estuarine turbidity maximum region during low discharge conditions. Estuar. Coast. Shelf Sci. 63, 683–700. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2005.01.012

Goranov, A.I., Schaller, M.F., Long, J.A.Jr., Podgorski, D.C., Wagner, S., 2021. Characterization of Asphaltenes and Petroleum Using Benzenepolycarboxylic Acids (BPCAs) and Compound-Specific Stable Carbon Isotopes. Energy Fuels 35, 18135–18145. https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.1c02374

Goranov, A.I., Wozniak, A.S., Bostick, K.W., Zimmerman, A.R., Mitra, S., Hatcher, P.G., 2022. Microbial labilization and diversification of pyrogenic dissolved organic matter. Biogeosciences 19, 1491–1514. https://doi.org/10.5194/bg-19-1491-2022

Green, N.W., McInnis, D., Hertkorn, N., Maurice, P.A., Perdue, E.M., 2015. Suwannee River Natural Organic Matter: Isolation of the 2R101N Reference Sample by Reverse Osmosis. Environ. Eng. Sci. 32, 38–44. https://doi.org/10.1089/ees.2014.0284

Grégori, G., Citterio, S., Ghiani, A., Labra, M., Sgorbati, S., Brown, S., Denis, M., 2001. Resolution of Viable and Membrane-Compromised Bacteria in Freshwater and Marine Waters Based on Analytical Flow Cytometry and Nucleic Acid Double Staining. Appl. Environ. Microbiol. 67, 4662–4670. https://doi.org/10.1128/AEM.67.10.4662-4670.2001

Guggenberger, G., Rodionov, A., Shibistova, O., Grabe, M., Kasansky, O.A., Fuchs, H., Mikheyeva, N., Zrazhevskaya, G., Flessa, H., 2008. Storage and mobility of black carbon in permafrost soils of the forest tundra ecotone in Northern Siberia. Glob. Change Biol. 14, 1367–1381. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01568.x

Guigue, C., Bigot, L., Turquet, J., Tedetti, M., Ferretto, N., Goutx, M., Cuet, P., 2015. Hydrocarbons in a coral reef ecosystem subjected to anthropogenic pressures (La Réunion Island, Indian Ocean). Environ. Chem. 12, 350. https://doi.org/10.1071/EN14194

Guigue, C., Tedetti, M., Ferretto, N., Garcia, N., Méjanelle, L., Goutx, M., 2014. Spatial and seasonal variabilities of dissolved hydrocarbons in surface waters from the Northwestern Mediterranean Sea: Results from one year intensive sampling. Sci. Total Environ. 466–467, 650–662. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.07.082

Guigue, C., Tedetti, M., Giorgi, S., Goutx, M., 2011. Occurrence and distribution of hydrocarbons in the surface microlayer and subsurface water from the urban coastal marine area off Marseilles, Northwestern Mediterranean Sea. Mar. Pollut. Bull. 62, 2741–2752. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.013

Guigue, C., et al. Methodology : derivatisation technique (methyl esterification reaction) of carboxylic acids in the presence of methanol and trimethylsilyl-diazomethane to produce BPCA methyl esters (Me-BPCAs) analysed by GC-MS. *In prep.*

Guo, W., Stedmon, C.A., Han, Y., Wu, F., Yu, X., Hu, M., 2007. The conservative and non-conservative behavior of chromophoric dissolved organic matter in Chinese estuarine waters. Mar. Chem. 107, 357–366. https://doi.org/10.1016/j.marchem.2007.03.006

Gustafsson, O.R., Gschwend, P.M., 1998. The flux of black carbon to surface sediments on the New England continental shelf. Geochim. Cosmochim. Acta 62, 465–472. https://doi.org/0016-7037/98

Hammes, K., Smernik, R.J., Skjemstad, J.O., Schmidt, M.W.I., 2008. Characterisation and evaluation of reference materials for black carbon analysis using elemental composition, colour, BET surface area and 13C NMR spectroscopy. Appl. Geochem. 23, 2113–2122. https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2008.04.023

Hansell, D., Carlson, C., Repeta, D., Schlitzer, R., 2009. Dissolved Organic Matter in the Ocean: A Controversy Stimulates New Insights. Oceanography 22, 202–211. https://doi.org/10.5670/oceanog.2009.109

Harsha, M.L., Redman, Z.C., Wesolowski, J., Podgorski, D.C., Tomco, P.L., 2023. Photochemical formation of water-soluble oxyPAHs, naphthenic acids, and other hydrocarbon oxidation products from Cook Inlet, Alaska crude oil and diesel in simulated seawater spills. Environ. Sci. Adv. 2, 447–461. https://doi.org/10.1039/D2VA00325B

Haumaier, L., Zech, W., 1995. Black carbon—possible source of highly aromatic components of soil humic acids. Org. Geochem. 23, 191–196. https://doi.org/10.1016/0146-6380(95)00003-W

Hedges, J.I., Eglinton, G., Hatcher, P.G., Kirchman, D.L., Arnosti, C., Derenne, S., Evershed, R.P., Kögel-Knabner, I., De Leeuw, J.W., Littke, R., Michaelis, W., Rullkötter, J., 2000. The molecularly-uncharacterized component of nonliving organic matter in natural environments. Org. Geochem. 31, 945–958. https://doi.org/10.1016/S0146-6380(00)00096-6

Hedges, J.I., Keil, R.G., Benner, R., 1997. What happens to terrestrial organic matter in the ocean ? Org. Geochem. 27, 195–212. https://doi.org/0146-6380/97

Heintzenberg, J., 1982. Size-segregated measurements of particulate elemental carbon and aerosol light absorption at remote arctic locations. Atmospheric Environ. 1967 16, 2461–2469. https://doi.org/10.1016/0004-6981(82)90136-6

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. Limnol. Oceanogr. 53, 955–969. https://doi.org/10.4319/lo.2008.53.3.0955

Herring, J.R., 1985. Charcoal Fluxes into Sediments of the North Pacific Ocean: The Cenozoic Record of Burning, in: Sundquist, E.T., Broecker, W.S. (Eds.), Geophysical Monograph Series. American Geophysical Union, Washington, D. C., pp. 419–442. https://doi.org/10.1029/GM032p0419

Hien, P.D., Bac, V.T., Thinh, N.T.H., Anh, H.L., Thang, D.D., Nghia, N.T., 2021. A Comparison Study of Chemical Compositions and Sources of PM1.0 and PM2.5 in Hanoi. Aerosol Air Qual. Res. 21, 210056. https://doi.org/10.4209/aaqr.210056

Hien, P.D., Men, N.T., Tan, P.M., Hangartner, M., 2020. Impact of urban expansion on the air pollution landscape: A case study of Hanoi, Vietnam. Sci. Total Environ. 702, 134635. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134635

Hoang, H.T.T., Duong, T.T., Nguyen, K.T., Le, Q.T.P., Luu, M.T.N., Trinh, D.A., Le, A.H., Ho, C.T., Dang, K.D., Némery, J., Orange, D., Klein, J., 2018. Impact of anthropogenic activities on water quality and plankton communities in the Day River (Red River Delta, Vietnam). Environ. Monit. Assess. 190, 67. https://doi.org/10.1007/s10661-017-6435-z

Hockaday, W.C., Grannas, A.M., Kim, S., Hatcher, P.G., 2006. Direct molecular evidence for the degradation and mobility of black carbon in soils from ultrahigh-resolution mass spectral analysis of dissolved organic matter from a fire-impacted forest soil. Org. Geochem. 37, 501–510. https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2005.11.003

Holmes, R.M., Aminot, A., Kérouel, R., Hooker, B.A., Peterson, B.J., 1999. A simple and precise method for measuring ammonium in marine and freshwater ecosystems. Can. J. Fish. Aquat. Sci.

Huang, S., Wang, Yan-xin, Ma, T., Tong, L., Wang, Yan-yan, Liu, C., Zhao, L., 2015. Linking groundwater dissolved organic matter to sedimentary organic matter from a fluvio-lacustrine aquifer at Jianghan Plain, China by EEM-PARAFAC and hydrochemical analyses. Sci. Total Environ. 529, 131–139. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.05.051

Huguet, A., Vacher, L., Relexans, S., Saubusse, S., Froidefond, J.M., Parlanti, E., 2009. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. Org. Geochem. 40, 706–719. https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2009.03.002

Hulskotte, J.H.J., Roskam, G.D., Denier van der Gon, H.A.C., 2014. Elemental composition of current automotive braking materials and derived air emission factors. Atmos. Environ. 99, 436–445. https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2014.10.007

Hung Vu, V., Merkel, B.J., 2019. Estimating groundwater recharge for Hanoi, Vietnam. Sci. Total Environ. 651, 1047–1057. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.225

Hur, J., Kim, G., 2009. Comparison of the heterogeneity within bulk sediment humic substances from a stream and reservoir via selected operational descriptors. Chemosphere 75, 483–490. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.12.056

Hur, J., Lee, B.-M., Shin, K.-H., 2014. Spectroscopic characterization of dissolved organic matter isolates from sediments and the association with phenanthrene binding affinity. Chemosphere 111, 450–457. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.04.018

Hur, J., Park, M.-H., Schlautman, M.A., 2009. Microbial Transformation of Dissolved Leaf Litter Organic Matter and Its Effects on Selected Organic Matter Operational Descriptors. Environ. Sci. Technol. 43, 2315–2321. https://doi.org/10.1021/es802773b

Huyen, T.T., Oanh, N.T.K., Huy, L.N., Winijkul, E., Chi, N.N.H., 2022. Impact of lowering fuel sulfur content on atmospheric emissions from shipping activities in a World Heritage Bay in Vietnam. Environ. Technol. Innov. 27, 102507. https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102507

IEA, 2023. Greenhouse Gas Emissions From Energy Data Explorer. In IEA.

Ishii, S.K.L., Boyer, T.H., 2012. Behavior of Reoccurring PARAFAC Components in Fluorescent Dissolved Organic Matter in Natural and Engineered Systems: A Critical Review. Environ. Sci. Technol. 46, 2006–2017. https://doi.org/10.1021/es2043504

Jaffe, R., Ding, Y., Niggemann, J., Vahatalo, A.V., Stubbins, A., Spencer, R.G.M., Campbell, J., Dittmar, T., 2013. Global Charcoal Mobilization from Soils via Dissolution and Riverine Transport to the Oceans. Science 340, 345–347. https://doi.org/10.1126/science.1231476

Jambeck, J.R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T.R., Perryman, M., Andrady, A., Narayan, R., Law, K.L., 2015. Plastic waste inputs from land into the ocean. Science 347, 768–771. https://doi.org/10.1126/science.1260352

Jamieson, T., Sager, E., Guéguen, C., 2014. Characterization of biochar-derived dissolved organic matter using UV–visible absorption and excitation–emission fluorescence spectroscopies. Chemosphere 103, 197–204. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.11.066

Ji, C., El-Halwagi, M.M., 2020. A data-driven study of IMO compliant fuel emissions with consideration of black carbon aerosols. Ocean Eng. 218, 108241. https://doi.org/10.1016/j.oceaneng.2020.108241

Johansson, L., Jalkanen, J.-P., Kukkonen, J., 2017. Global assessment of shipping emissions in 2015 on a high spatial and temporal resolution. Atmos. Environ. 167, 403–415. https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2017.08.042

Johnson, C.A., Thornton, I., 1987. Hydrological and chemical factors controlling the concentrations of Fe, Cu, Zn and As in a river system contaminated by acid mine drainage. Water Res. 21, 359–365. https://doi.org/10.1016/0043-1354(87)90216-8

Johnson, K., Miller, W., Durbin, T., Jiang, J., Yang, J., Karavalakis, G., Cocker, D., 2016. Black Carbon Measurement Methods and Emission Factors from Ships (International Council on Clean Transportation). Report prepared for: International Council on Clean Transportation, Report.

Jones, M.W., Coppola, A.I., Santín, C., Dittmar, T., Jaffé, R., Doerr, S.H., Quine, T.A., 2020. Fires prime terrestrial organic carbon for riverine export to the global oceans. Nat. Commun. 11, 2791. https://doi.org/10.1038/s41467-020-16576-z

Jurado, E., Dachs, J., Duarte, C.M., Simó, R., 2008. Atmospheric deposition of organic and black carbon to the global oceans. Atmos. Environ. 42, 7931–7939. https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2008.07.029

Kaal, J., Schneider, M.P.W., Schmidt, M.W.I., 2012. Rapid molecular screening of black carbon (biochar) thermosequences obtained from chestnut wood and rice straw: A pyrolysis-GC/MS study. Biomass Bioenergy 45, 115–129. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.05.021

Kappenberg, A., Bläsing, M., Lehndorff, E., Amelung, W., 2016. Black carbon assessment using benzene polycarboxylic acids: Limitations for organic-rich matrices. Org. Geochem. 94, 47–51. https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2016.01.009

Khan, J.A., He, X., Shah, N.S., Sayed, M., Khan, H.M., Dionysiou, D.D., 2017. Degradation kinetics and mechanism of desethyl-atrazine and desisopropyl-atrazine in water with OH and SO4− based-AOPs. Chem. Eng. J. 325, 485–494. https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.05.011

Khodadad, C.L.M., Zimmerman, A.R., Green, S.J., Uthandi, S., Foster, J.S., 2011. Taxa-specific changes in soil microbial community composition induced by pyrogenic carbon amendments. Soil Biol. Biochem. 43, 385–392. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.11.005

Kida, M., Watanabe, I., Kinjo, K., Kondo, M., Yoshitake, S., Tomotsune, M., Iimura, Y., Umnouysin, S., Suchewaboripont, V., Poungparn, S., Ohtsuka, T., Fujitake, N., 2021. Organic carbon stock and composition in 3.5-m core mangrove soils (Trat, Thailand). Sci. Total Environ. 801, 149682. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149682

Kim, D., Young, T.M., Anastasio, C., 2013. Phototransformation rate constants of PAHs associated with soot particles. Sci. Total Environ. 443, 896–903. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.11.055

Kim, S., Kaplan, L.A., Benner, R., Hatcher, P.G., 2004. Hydrogen-deficient molecules in natural riverine water samples—evidence for the existence of black carbon in DOM. Mar. Chem. 92, 225–234. https://doi.org/10.1016/j.marchem.2004.06.042

Klimont, Z., Kupiainen, K., Heyes, C., Purohit, P., Cofala, J., Rafaj, P., Borken-Kleefeld, J., Schöpp, W., 2017. Global anthropogenic emissions of particulate matter including black carbon. Atmospheric Chem. Phys. 17, 8681–8723. https://doi.org/10.5194/acp-17-8681-2017

Koelmans, A.A., Jonker, M.T.O., Cornelissen, G., Bucheli, T.D., Van Noort, P.C.M., Gustafsson, Ö., 2006. Black carbon: The reverse of its dark side. Chemosphere 63, 365–377. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.08.034

Kramer, R.W., Kujawinski, E.B., Hatcher, P.G., 2004. Identification of Black Carbon Derived Structures in a Volcanic Ash Soil Humic Acid by Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry. Environ. Sci. Technol. 38, 3387–3395. https://doi.org/10.1021/es030124m

Kuzyakov, Y., Bogomolova, I., Glaser, B., 2014. Biochar stability in soil: Decomposition during eight years and transformation as assessed by compound-specific 14C analysis. Soil Biol. Biochem. 70, 229–236. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.12.021

Laird, L.M., 1991. D. Hinrichsen 1990. Our common seas: coasts in crisis. Earthscan Publications Ltd London in Association with the United Nations Environmental Programme, Nairobi. J. Trop. Ecol. 7, 286–286. https://doi.org/10.1017/S0266467400005496

Lakowicz, J.R., 2006. Plasmonics in Biology and Plasmon-Controlled Fluorescence. Plasmonics 1, 5–33. https://doi.org/10.1007/s11468-005-9002-3

Le, T.P.Q., Dao, V.N., Rochelle-Newall, E., Garnier, J., Lu, X., Billen, G., Duong, T.T., Ho, C.T., Etcheber, H., Nguyen, T.M.H., Nguyen, T.B.N., Nguyen, B.T., Da Le, N., Pham, Q.L., 2017. Total organic carbon fluxes of the Red River system (Vietnam): TOC fluxes of the Red River. Earth Surf. Process. Landf. 42, 1329–1341. https://doi.org/10.1002/esp.4107

Lee, J., Cho, J., Kim, S.H., Kim, S.D., 2011. Influence of 17β-estradiol binding by dissolved organic matter isolated from wastewater effluent on estrogenic activity. Ecotoxicol. Environ. Saf. 74, 1280–1287. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.02.010

Lepage, H., Gruat, A., Thollet, F., Le Coz, J., Coquery, M., Masson, M., Dabrin, A., Radakovitch, O., Labille, J., Ambrosi, J.-P., Delanghe, D., Raimbault, P., 2022. Concentrations and fluxes of suspended particulate matter and associated contaminants in the Rhône River from Lake Geneva to the Mediterranean Sea. Earth Syst. Sci. Data 14, 2369–2384. https://doi.org/10.5194/essd-14-2369-2022

Levin, Z., Lindberg, J.D., 1979. Size distribution, chemical composition, and optical properties of urban and desert aerosols in Israel. J. Geophys. Res. Oceans 84, 6941–6950. https://doi.org/10.1029/JC084iC11p06941

Li, L., Li, J., Zhu, C., Yu, S., 2020. Study of the binding regularity and corresponding mechanism of drinking water odorous compound 2-MIB with coexisting dissolved organic matter. Chem. Eng. J. 395, 125015. https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.125015

Li, L., Shen, X., Zhao, C., Liu, Q., Liu, X., Wu, Y., 2019. Biodegradation of dibenzothiophene by efficient Pseudomonas sp. LKY-5 with the production of a biosurfactant. Ecotoxicol. Environ. Saf. 176, 50–57. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.03.070

Li, R., Li, J., Cui, L., Wu, Y., Fu, H., Chen, J., Chen, M., 2017. Atmospheric emissions of Cu and Zn from coal combustion in China: Spatio-temporal distribution, human health effects, and short-term prediction. Environ. Pollut. 229, 724–734. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.05.068

Lian, F., Xing, B., 2017. Black carbon (biochar) in water/soil environments: molecular structure, sorption, stability, and potential risk. Environ. Sci. 65. https://doi.org/10.1021/acs.est.7b02528

Lipiatou, E., Saliot, A., 1991. Hydrocarbon contamination of the Rhone delta and western Mediterranean. Mar. Pollut. Bull. 22, 297–304. https://doi.org/10.1016/0025-326X(91)90808-6

Liu, Y., Yang, C., Cheng, P., He, X., Zhu, Y., Zhang, Y., 2016. Influences of humic acid on the bioavailability of phenanthrene and alkyl phenanthrenes to early life stages of marine medaka ( Oryzias melastigma ). Environ. Pollut. 210, 211–216. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.12.011

Liu, Y., Lu, J., Chen, Y., Liu, Yue, Ye, Z., Ge, X., 2020. Aqueous-Phase Production of Secondary Organic Aerosols from Oxidation of Dibenzothiophene (DBT). Atmosphere 11, 151. https://doi.org/10.3390/atmos11020151

Lønborg, C., Álvarez-Salgado, X.A., 2012. Recycling versus export of bioavailable dissolved organic matter in the coastal ocean and efficiency of the continental shelf pump. Glob. Biogeochem. Cycles 26, 2012GB004353. https://doi.org/10.1029/2012GB004353

Ly, B.-T., Matsumi, Y., Nakayama, T., Sakamoto, Y., Kajii, Y., Nghiem, T.-D., 2018. Characterizing PM2.5 in Hanoi with New High Temporal Resolution Sensor. Aerosol Air Qual. Res. 18, 2487–2497. https://doi.org/10.4209/aaqr.2017.10.0435

Mannino, A., Harvey, H.H., 2004. Black carbon in estuarine and coastal ocean dissolved organic matter. Limnol. Oceanogr. 49, 735–740. https://doi.org/10.4319/lo.2004.49.3.0735

Marañón, E., Van Wambeke, F., Uitz, J., Boss, E.S., Dimier, C., Dinasquet, J., Engel, A., Haëntjens, N., Pérez-Lorenzo, M., Taillandier, V., Zäncker, B., 2021. Deep maxima of phytoplankton biomass, primary production and bacterial production in the Mediterranean Sea. Biogeosciences 18, 1749–1767. https://doi.org/10.5194/bg-18-1749-2021

Mari, X., Chu Van, T., Guinot, B., Brune, J., Lefebvre, J.-P., Niggemann, J., 2017. Seasonal dynamics of atmospheric and river inputs of black carbon, and impacts on biogeochemical cycles in Halong Bay, Vietnam. Elem. Sci. Anth. 5, 75. https://doi.org/10.1525/elementa.255

Mari, X., Guinot, B., Thuoc, C.V., Brune, J., Lefebvre, J.-P., Angia Sriram, P.R., Raimbault, P., Dittmar, T., Niggemann, J., 2019. Biogeochemical Impacts of a Black Carbon Wet Deposition Event in Halong Bay, Vietnam. Front. Mar. Sci. 6, 185. https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00185

Mari, X., Lefèvre, J., Torréton, J.-P., Bettarel, Y., Pringault, O., Rochelle-Newall, E., Marchesiello, P., Menkes, C., Rodier, M., Migon, C., Motegi, C., Weinbauer, M.G., Legendre, L., 2014. Effects of soot deposition on particle dynamics and microbial processes in marine surface waters. Glob. Biogeochem. Cycles 28, 662–678. https://doi.org/10.1002/2014GB004878

Marques, J.S.J., Dittmar, T., Niggemann, J., Almeida, M.G., Gomez-Saez, G.V., Rezende, C.E., 2017. Dissolved Black Carbon in the Headwaters-to-Ocean Continuum of Paraíba Do Sul River, Brazil. Front. Earth Sci. 5. https://doi.org/10.3389/feart.2017.00011

Martínez–Pérez, A.M., 2019. Dissolved organic matter (DOM) in the open Mediterranean Sea. II_ Basin–wide distribution and drivers of fluorescent DOM. Prog. Oceanogr. 14. https://doi.org/10.1016/j.pocean.2018.05.002

Martinot, P.L., Guigue, C., Chifflet, S., Cuny, P., Barani, A., Didry, M., Dignan, C., Guyomarc'h, L., Pradel, N., Pringault, O., Van Wambeke, F., Vu, C.T., Mari, X., Tedetti, M., 2023. Assessing the bioavailability of black carbon-derived dissolved organic matter for marine heterotrophic prokaryotes. Sci. Total Environ. 901, 165802. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165802

Martinot, P.L., Guigue, C., Guyomarc'h, L., Mari, X., Chu, N.H.A., Vu, C.T., Boettcher, L., Dang, T.H.N., Niggemann, J., Dittmar, T., Tedetti, M., 2024. Optical characterization of black carbon-derived DOM: Implication for the fluorescence detection of fuel combustion products in marine waters. Mar. Chem. 265–266, 104432. https://doi.org/10.1016/j.marchem.2024.104432

Masiello, C.A., 2004. New directions in black carbon organic geochemistry. Mar. Chem. 13. https://doi.org/10.1016/j.marchem.2004.06.043

Masiello, C.A., Druffel, E.R.M., 2001. Carbon isotope geochemistry of the Santa Clara River. Glob. Biogeochem. Cycles 15, 407–416. https://doi.org/10.1029/2000GB001290

Masiello, C.A., Druffel, E.R.M., 1998. Black Carbon in Deep-Sea Sediments. Science 280, 1911–1913. https://doi.org/10.1126/science.280.5371.1911

Masiello, C.A., Louchouarn, P., 2013. Fire in the Ocean. Science 340, 287–288. https://doi.org/10.1126/science.1237688

Maurischat, P., Lehnert, L., Zerres, V.H.D., Tran, T.V., Kalbitz, K., Rinnan, Å., Li, X.G., Dorji, T., Guggenberger, G., 2022. The glacial–terrestrial–fluvial pathway: A multiparametrical analysis of spatiotemporal dissolved organic matter variation in three catchments of Lake Nam Co, Tibetan Plateau. Sci. Total Environ. 838, 156542. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156542

McDonough, L.K., Andersen, M.S., Behnke, M.I., Rutlidge, H., Oudone, P., Meredith, K., O'Carroll, D.M., Santos, I.R., Marjo, C.E., Spencer, R.G.M., McKenna, A.M., Baker, A., 2022. A new conceptual framework for the transformation of groundwater dissolved organic matter. Nat. Commun. 13, 2153. https://doi.org/10.1038/s41467-022-29711-9

McKay, G., Hohner, A.K., Rosario-Ortiz, F.L., 2020. Use of optical properties for evaluating the presence of pyrogenic organic matter in thermally altered soil leachates. Environ. Sci. Process. Impacts 22, 981–992. https://doi.org/10.1039/C9EM00413K

Middelburg, J.J., Nieuwenhuize, J., van Breugel, P., 1999. Black carbon in marine sediments. https://doi.org/10.1016/S0304-4203(99)00005-5

Miller, M.P., Simone, B.E., McKnight, D.M., Cory, R.M., Williams, M.W., Boyer, E.W., 2010. New light on a dark subject: comment. Aquat. Sci. 72, 269–275. https://doi.org/10.1007/s00027-010-0130-2

Mori, Y., Nishioka, J., Fujio, S., Yamashita, Y., 2021. Transport of dissolved black carbon from marginal sea sediments to the western North Pacific. Prog. Oceanogr. 193, 102552. https://doi.org/10.1016/j.pocean.2021.102552

Moutin, T., Raimbault, P., Golterman, H.L., Coste, B., 1998. The input of nutrients by the Rhoˆne river into the Mediterranean Sea: recent observations and comparison with earlier data. Hydrobiologia. https://doi.org/10.1007/978-94-011-5266-2_19

Mueller, K.K., Fortin, C., Campbell, P.G.C., 2012. Spatial Variation in the Optical Properties of Dissolved Organic Matter (DOM) in Lakes on the Canadian Precambrian Shield and Links to Watershed Characteristics. Aquat. Geochem. 18, 21–44. https://doi.org/10.1007/s10498-011-9147-y

Murphy, K.R., Ruiz, G.M., Dunsmuir, W.T.M., Waite, T.D., 2006. Optimized parameters for fluorescence-based verification of ballast water exchange by ships. Environ. Sci. Technol. 40(7), 2357-2362. https://doi.org/10.1021/es0519381

Murphy, K.R., Stedmon, C.A., Graeber, D., Bro, R., 2013. Fluorescence spectroscopy and multi-way techniques. PARAFAC. Anal. Methods 5, 6557. https://doi.org/10.1039/c3ay41160e

Murphy, K.R., Stedmon, C.A., Waite, T.D., Ruiz, G.M., 2008. Distinguishing between terrestrial and autochthonous organic matter sources in marine environments using fluorescence spectroscopy. Mar. Chem. 108, 40–58. https://doi.org/10.1016/j.marchem.2007.10.003

Nakane, M., Ajioka, T., Yamashita, Y., 2017. Distribution and Sources of Dissolved Black Carbon in Surface Waters of the Chukchi Sea, Bering Sea, and the North Pacific Ocean. Front. Earth Sci. 5, 12. https://doi.org/10.3389/feart.2017.00034

Neff, J.M., 2002. Bioaccumulation in Marine Organisms: Effect of Contaminants from Oil Well Produced Water. Elsevier. ISBN 978-0-08-052784-0

Nelson, N.B., Siegel, D.A., 2012. The Global Distribution and Dynamics of Chromophoric Dissolved Organic Matter. Annu. Rev. Mar. Sci. 32. https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120710-100751

Nguyen, H.T.M., Billen, G., Garnier, J., Le, T.P.Q., Pham, Q.L., Huon, S., Rochelle-Newall, E., 2018. Organic carbon transfers in the subtropical Red River system (Viet Nam): insights on CO2 sources and sinks. Biogeochemistry 138, 277–295. https://doi.org/10.1007/s10533-018-0446-x

Nguyen, T.T., Kawamura, A., Tong, T.N., Amaguchi, H., Nakagawa, N., Gilbuena, R., Bui, D.D., 2015. Identification of spatio-seasonal hydrogeochemical characteristics of the unconfined groundwater in the Red River Delta, Vietnam. Appl. Geochem. 63, 10–21. https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2015.07.009

Nguyen-Duy, T., Ayoub, N.K., Marsaleix, P., Toublanc, F., De Mey-Frémaux, P., Piton, V., Herrmann, M., Duhaut, T., Tran, M.C., Ngo-Duc, T., 2021. Variability of the Red River Plume in the Gulf of Tonkin as Revealed by Numerical Modeling and Clustering Analysis. Front. Mar. Sci. 8, 772139. https://doi.org/10.3389/fmars.2021.772139

Ni, M., Huang, J., Lu, S., Li, X., Yan, J., Cen, K., 2014. A review on black carbon emissions, worldwide and in China. Chemosphere 107, 83–93. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.02.052

Nyholm, N., Kristensen, P., 1992. Screening methods for assessment of biodegradability of chemicals in seawater—Results from a ring test. Ecotoxicol. Environ. Saf. 23, 161–172. https://doi.org/10.1016/0147-6513(92)90056-9

Oeder, S., Kanashova, T., Sippula, O., Sapcariu, S.C., Streibel, T., Arteaga-Salas, J.M., Passig, J., Dilger, M., Paur, H.-R., Schlager, C., Mülhopt, S., Diabaté, S., Weiss, C., Stengel, B., Rabe, R., Harndorf, H., Torvela, T., Jokiniemi, J.K., Hirvonen, M.-R., Schmidt-Weber, C., Traidl-Hoffmann, C., BéruBé, K.A., Wlodarczyk, A.J., Prytherch, Z., Michalke, B., Krebs, T., Prévôt, A.S.H., Kelbg, M., Tiggesbäumker, J., Karg, E., Jakobi, G., Scholtes, S., Schnelle-Kreis, J., Lintelmann, J., Matuschek, G., Sklorz, M., Klingbeil, S., Orasche, J., Richthammer, P., Müller, L., Elsasser, M., Reda, A., Gröger, T., Weggler, B., Schwemer, T., Czech, H., Rüger, C.P., Abbaszade, G., Radischat, C., Hiller, K., Buters, J.T.M., Dittmar, G., Zimmermann, R., 2015. Particulate Matter from Both Heavy Fuel Oil and Diesel Fuel Shipping Emissions Show Strong Biological Effects on Human Lung Cells at Realistic and Comparable In Vitro Exposure Conditions. PloS one 10, e0126536. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126536

Ogren, J.A., Charlson, R.J., Groblicki, P.J., 1983. Determination of elemental carbon in rainwater. Anal. Chem. 55, 1569–1572. https://doi.org/10.1021/ac00260a027

Ohno, T., 2002. Fluorescence Inner-Filtering Correction for Determining the Humification Index of Dissolved Organic Matter. Environ. Sci. Technol. 36, 742–746. https://doi.org/10.1021/es0155276

Olmer, N., Comer, B., Roy, B., Mao, X., Rutherford, D., 2017. Greenhouse gas emissions from global shipping, 2013–2015: Detailed methodology. Int. Counc. Clean Transp.

Pan, B., Ghosh, S., Xing, B., 2007. Nonideal Binding between Dissolved Humic Acids and Polyaromatic Hydrocarbons. Environ. Sci. Technol. 41, 6472–6478. https://doi.org/10.1021/es070790d

Para, J., Coble, P.G., Charrière, B., Tedetti, M., Fontana, C., Sempéré, R., 2010. Fluorescence and absorption properties of chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in coastal surface waters of the northwestern Mediterranean Sea, influence of the Rhône River. Biogeosciences 7, 4083–4103. https://doi.org/10.5194/bg-7-4083-2010

Perez, T., Longet, D., Schembri, T., Rebouillon, P., Vacelet, J., 2005. Effects of 12 years' operation of a sewage treatment plant on trace metal occurrence within a Mediterranean commercial sponge (Spongia officinalis, Demospongiae). Mar. Pollut. Bull. 50, 301–309. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.11.001

Perminova, I.V., Grechishcheva, N.Yu., Petrosyan, V.S., 1999. Relationships between Structure and Binding Affinity of Humic Substances for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Relevance of Molecular Descriptors. Environ. Sci. Technol. 33, 3781–3787. https://doi.org/10.1021/es990056x

Peuravuori, J., Koivikko, R., Pihlaja, K., 2002. Characterization, differentiation and classification of aquatic humic matter separated with different sorbents: synchronous scanning fluorescence spectroscopy. Water Res. 36, 4552–4562. https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00172-0

Pinardi, N., Masetti, E., 2000. Variability of the large scale general circulation of the Mediterranean Sea from observations and modelling: a review. Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol. 158, 153–173. https://doi.org/10.1016/S0031-0182(00)00048-1

Piton, V., Ouillon, S., Vinh, V.D., Many, G., Herrmann, M., Marsaleix, P., 2020. Seasonal and tidal variability of the hydrology and suspended particulate matter in the Van Uc estuary, Red River, Vietnam. J. Mar. Syst. 211, 103403. https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2020.103403

Podgorski, D.C., Zito, P., Kellerman, A.M., Bekins, B.A., Cozzarelli, I.M., Smith, D.F., Cao, X., Schmidt-Rohr, K., Wagner, S., Stubbins, A., Spencer, R.G.M., 2021. Hydrocarbons to carboxyl-rich alicyclic molecules: A continuum model to describe biodegradation of petroleum-derived dissolved organic matter in contaminated groundwater plumes. J. Hazard. Mater. 402, 123998. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123998

Poerschmann, J., Górecki, T., Kopinke, F.-D., 2000. Sorption of Very Hydrophobic Organic Compounds onto Poly(dimethylsiloxane) and Dissolved Humic Organic Matter. 1. Adsorption or Partitioning of VHOC on PDMS-Coated Solid-Phase Microextraction FibersA Never-Ending Story? Environ. Sci. Technol. 34, 3824–3830. https://doi.org/10.1021/es000038b

Popovicheva, O., Kireeva, E., Shonija, N., Zubareva, N., Persiantseva, N., Tishkova, V., Demirdjian, B., Moldanová, J., Mogilnikov, V., 2009. Ship particulate pollutants: Characterization in terms of environmental implication. J. Environ. Monit. 11, 2077. https://doi.org/10.1039/b908180a

Preston, C.M., Schmidt, M.W.I., 2006. Black (pyrogenic) carbon: a synthesis of current knowledge and uncertainties with special consideration of boreal regions. Biogeosciences 3, 397–420. https://doi.org/10.5194/bg-3-397-2006

Qi, Y., Fu, W., Tian, J., Luo, C., Shan, S., Sun, S., Ren, P., Zhang, H., Liu, J., Zhang, X., Wang, X., 2020. Dissolved black carbon is not likely a significant refractory organic carbon pool in rivers and oceans. Nat. Commun. 11, 5051. https://doi.org/10.1038/s41467-020-18808-8

Qu, X., Fu, H., Mao, J., Ran, Y., Zhang, D., Zhu, D., 2016. Chemical and structural properties of dissolved black carbon released from biochars. Carbon 96, 759–767. https://doi.org/10.1016/j.carbon.2015.09.106

Quach, X., 2011. Assessing and optimizing the operation of the HoaBinh reservoir in Vietnam by multi-objective optimal control techniques. Ph. D. thesis, Politecnico di Milano.

Quéméneur, M., Chifflet, S., Akrout, F., Bellaaj-Zouari, A., Belhassen, M., 2020. Impact of cigarette butts on microbial diversity and dissolved trace metals in coastal marine sediment. Estuar. Coast. Shelf Sci. 240, 106785. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2020.106785

Raimbault, P., Pouvesle, W., Diaz, F., Garcia, N., Sempéré, R., 1999. Wet-oxidation and automated colorimetry for simultaneous determination of organic carbon, nitrogen and phosphorus dissolved in seawater. Mar. Chem. 66, 161–169. https://doi.org/10.1016/S0304-4203(99)00038-9

Raymond, P.A., Spencer, R.G.M., 2015. Riverine DOM, in: Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter. Elsevier, pp. 509–533. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405940-5.00011-X

Retelletti Brogi, S., Balestra, C., Casotti, R., Cossarini, G., Galletti, Y., Gonnelli, M., Vestri, S., Santinelli, C., 2020. Time resolved data unveils the complex DOM dynamics in a Mediterranean river. Sci. Total Environ. 733, 139212. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139212

Rochelle-Newall, E.J., Fisher, T.R., 2002. Chromophoric dissolved organic matter and dissolved organic carbon in Chesapeake Bay. Mar. Chem. 77, 23–41. https://doi.org/10.1016/S0304-4203(01)00073-1

Romero, C.M., Engel, R.E., D'Andrilli, J., Miller, P.R., Wallander, R., 2019. Compositional tracking of dissolved organic matter in semiarid wheat-based cropping systems using fluorescence EEMs-PARAFAC and absorbance spectroscopy. J. Arid Environ. 167, 34–42. https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2019.04.013

Ruiz, S.H., Wickramasekara, S., Abrell, L., Gao, X., Chefetz, B., Chorover, J., 2013. Complexation of trace organic contaminants with fractionated dissolved organic matter: Implications for mass spectrometric quantification. Chemosphere 91, 344–350. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.11.059

Ruppel, M.M., Eckhardt, S., Pesonen, A., Mizohata, K., Oinonen, M.J., Stohl, A., Andersson, A., Jones, V., Manninen, S., Gustafsson, Ö., 2021. Observed and Modeled Black Carbon Deposition and Sources in the Western Russian Arctic 1800–2014. Environ. Sci. Technol. 55, 4368–4377. https://doi.org/10.1021/acs.est.0c07656

Santín, C., Doerr, S.H., Kane, E.S., Masiello, C.A., Ohlson, M., de la Rosa, J.M., Preston, C.M., Dittmar, T., 2016. Towards a global assessment of pyrogenic carbon from vegetation fires. Glob. Change Biol. 22, 76–91. https://doi.org/10.1111/gcb.12985

Schimmelpfennig, S., Glaser, B., 2012. One Step Forward toward Characterization: Some Important Material Properties to Distinguish Biochars. J. Environ. Qual. 41, 1001–1013. https://doi.org/10.2134/jeq2011.0146

Schmidt, M.W.I., Noack, A.G., 2000. Black carbon in soils and sediments: Analysis, distribution, implications, and current challenges. Glob. Biogeochem. Cycles 14, 777–793. https://doi.org/10.1029/1999GB001208

Schmidt, M.W.I., Skjemstad, J.O., Czimczik, C.I., Glaser, B., Prentice, K.M., Gelinas, Y., Kuhlbusch, T.A.J., 2001. Comparative analysis of black carbon in soils. Glob. Biogeochem. Cycles 15, 163–167. https://doi.org/10.1029/2000GB001284

Seidel, M., Beck, M., Riedel, T., Waska, H., Suryaputra, I.G.N.A., Schnetger, B., Niggemann, J., Simon, M., Dittmar, T., 2014. Biogeochemistry of dissolved organic matter in an anoxic intertidal creek bank. Geochim. Cosmochim. Acta 140, 418–434. https://doi.org/10.1016/j.gca.2014.05.038

Sempéré, R., Charrière, B., Van Wambeke, F., Cauwet, G., 2000. Carbon inputs of the Rhône River to the Mediterranean Sea: Biogeochemical implications. Glob. Biogeochem. Cycles 14, 669–681. https://doi.org/10.1029/1999GB900069

Shen, Y., Fichot, C.G., Benner, R., 2012. Floodplain influence on dissolved organic matter composition and export from the Mississippi—Atchafalaya River system to the Gulf of Mexico. Limnol. Oceanogr. 57, 1149–1160. https://doi.org/10.4319/lo.2012.57.4.1149

Singh, S., D'Sa, E.J., Swenson, E.M., 2010. Chromophoric dissolved organic matter (CDOM) variability in Barataria Basin using excitation–emission matrix (EEM) fluorescence and parallel factor analysis (PARAFAC). Sci. Total Environ. 408, 3211–3222. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.03.044

Skjemstad, J.O., Clarke, P., Taylor, J.A., Oades, J.M., McClure, S.G., 1996. The chemistry and nature of protected carbon in soil. Aust. J. Soil Res. 34, 251–271. https://doi.org/10.1071/SR9960251

Slowik, J.G., Cross, E.S., Han, J.-H., Davidovits, P., Onasch, T.B., Jayne, J.T., Williams, L.R., Canagaratna, M.R., Worsnop, D.R., Chakrabarty, R.K., Moosmüller, H., Arnott, W.P., Schwarz, J.P., Gao, R.-S., Fahey, D.W., Kok, G.L., Petzold, A., 2007. An Inter-Comparison of Instruments Measuring Black Carbon Content of Soot Particles. Aerosol Sci. Technol. 41, 295–314. https://doi.org/10.1080/02786820701197078

Spencer, R.G.M., Stubbins, A., Hernes, P.J., Baker, A., Mopper, K., Aufdenkampe, A.K., Dyda, R.Y., Mwamba, V.L., Mangangu, A.M., Wabakanghanzi, J.N., Six, J., 2009. Photochemical degradation of dissolved organic matter and dissolved lignin phenols from the Congo River. J. Geophys. Res. 114. https://doi.org/10.1029/2009JG000968

Stedmon, C.A., Bro, R., 2008. Characterizing dissolved organic matter fluorescence with parallel factor analysis: a tutorial: Fluorescence-PARAFAC analysis of DOM. Limnol. Oceanogr. Methods 6, 572–579. https://doi.org/10.4319/lom.2008.6.572

Stedmon, C.A., Markager, S., 2005. Resolving the variability in dissolved organic matter fluorescence in a temperate estuary and its catchment using PARAFAC analysis. Limnol. Oceanogr. 50, 686–697. https://doi.org/10.4319/lo.2005.50.2.0686

Stedmon, C.A., Markager, S., Bro, R., 2003. Tracing dissolved organic matter in aquatic environments using a new approach to fluorescence spectroscopy. Mar. Chem. 82, 239–254. https://doi.org/10.1016/S0304-4203(03)00072-0

Stubbins, A., Hubbard, V., Uher, G., Law, C.S., Upstill-Goddard, R.C., Aiken, G.R., Mopper, K., 2008. Relating Carbon Monoxide Photoproduction to Dissolved Organic Matter Functionality. Environ. Sci. Technol. 42, 3271–3276. https://doi.org/10.1021/es703014q

Stubbins, A., Niggemann, J., Dittmar, T., 2012. Photo-lability of deep ocean dissolved black carbon. Biogeosciences 9, 1661–1670. https://doi.org/10.5194/bg-9-1661-2012

Stubbins, A., Spencer, R.G.M., Mann, P.J., Holmes, R.M., McClelland, J.W., Niggemann, J., Dittmar, T., 2015. Utilizing colored dissolved organic matter to derive dissolved black carbon export by arctic rivers. Front. Earth Sci. 3. https://doi.org/10.3389/feart.2015.00063

Suaria, G., Avio, C.G., Mineo, A., Lattin, G.L., Magaldi, M.G., Belmonte, G., Moore, C.J., Regoli, F., Aliani, S., 2016. The Mediterranean Plastic Soup: synthetic polymers in Mediterranean surface waters. Sci. Rep. 6, 37551. https://doi.org/10.1038/srep37551

Suman, D.O., Kuhlbusch, T.A.J., Lim, B., 1997. Marine Sediments: A Reservoir for Black Carbon and their Use as Spatial and Temporal Records of Combustion, in: Clark, J.S., Cachier, H., Goldammer, J.G., Stocks, B. (Eds.), Sediment Records of Biomass Burning and Global Change. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 271–293. https://doi.org/10.1007/978-3-642-59171-6_12

Taylor, B.W., Keep, C.F., Hall, R.O., Koch, B.J., Tronstad, L.M., Flecker, A.S., Ulseth, A.J., 2007. Improving the fluorometric ammonium method: matrix effects, background fluorescence, and standard additions. J. North Am. Benthol. Soc. 26, 167–177. https://doi.org/10.1899/0887-3593(2007)26[167:ITFAMM]2.0.CO;2

Tedetti, M., Longhitano, R., Garcia, N., Guigue, C., Ferretto, N., Goutx, M., 2012. Fluorescence properties of dissolved organic matter in coastal Mediterranean waters influenced by a municipal sewage effluent (Bay of Marseilles, France). Environ. Chem. 9, 438. https://doi.org/10.1071/EN12081

Tedetti, M., Marie, L., Röttgers, R., Rodier, M., Van Wambeke, F., Helias, S., Caffin, M., Cornet-Barthaux, V., Dupouy, C., 2016. Evolution of dissolved and particulate chromophoric materials during the VAHINE mesocosm experiment in the New Caledonian coral lagoon (south-west Pacific). Biogeosciences 13, 3283–3303. https://doi.org/10.5194/bg-13-3283-2016

Tedetti, M., Tronczynski, J., Carlotti, F., Pagano, M., Ismail, S.B., Sammari, C., Hassen, M.B., Desboeufs, K., Poindron, C., Chifflet, S., Zouari, A.B., Abdennadher, M., Amri, S., Bănaru, D., Abdallah, L.B., Bhairy, N., Boudriga, I., Bourin, A., Brach-Papa, C., Briant, N., Cabrol, L., Chevalier, C., Chouba, L., Coudray, S., Yahia, M.N.D., De Garidel-Thoron, T., Dufour, A., Dutay, J.-C., Espinasse, B., Fierro-González, P., Fornier, M., Garcia, N., Giner, F., Guigue, C., Guilloux, L., Hamza, A., Heimbürger-Boavida, L.-E., Jacquet, S., Knoery, J., Lajnef, R., Belkahia, N.M., Malengros, D., Martinot, P.L., Bosse,

A., Mazur, J.-C., Meddeb, M., Misson, B., Pringault, O., Quéméneur, M., Radakovitch, O., Raimbault, P., Ravel, C., Rossi, V., Rwawi, C., Hlaili, A.S., Tesán-Onrubia, J.A., Thomas, B., Thyssen, M., Zaaboub, N., Garnier, C., 2023. Contamination of planktonic food webs in the Mediterranean Sea: Setting the frame for the MERITE-HIPPOCAMPE oceanographic cruise (spring 2019). Mar. Pollut. Bull. 189, 114765. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.114765

Uchimiya, M., Ohno, T., He, Z., 2013. Pyrolysis temperature-dependent release of dissolved organic carbon from plant, manure, and biorefinery wastes. J. Anal. Appl. Pyrolysis 104, 84–94. https://doi.org/10.1016/j.jaap.2013.09.003

Uncles, R.J., Bale, A.J., Stephens, J.A., Frickers, P.E., Harris, C., 2010. Observations of Floc Sizes in a Muddy Estuary. Estuar. Coast. Shelf Sci. 87, 186–196. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2009.12.018

UNEP/MAP, 2012. State of the Mediterranean marine and coastal environment. U. N. Environ. Program. Action Plan UNEPMAP — Barc. Conv. Athens P 96 96.

UNEP/MAP-RAC-SPA, 2008. Impact of climate change on biodiversity in the Mediterranean Sea. Plan MA, Tunis 1–61.

Van Afferden, M., Schacht, S., Klein, J., Trüper, H.G., 1990. Degradation of dibenzothiophene by Brevibacterium sp.DO. Arch. Microbiol. 153, 324–328. https://doi.org/10.1007/BF00249000

Van Maren, D.S., Hoekstra, P., 2004. Seasonal variation of hydrodynamics and sediment dynamics in a shallow subtropical estuary: the Ba Lat River, Vietnam. Estuar. Coast. Shelf Sci. 60, 529–540. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2004.02.011

Van Wambeke, F., Pulido, E., Dinasquet, J., Djaoudi, K., Engel, A., Garel, M., Guasco, S., Nunige, S., Taillandier, V., Zäncker, B., Tamburini, C., 2020. Spatial patterns of biphasic ectoenzymatic kinetics related to biogeochemical properties in the Mediterranean Sea. Biogeosciences Discuss. 1–38. https://doi.org/10.5194/bg-2020-253

Vinh, V.D., Ouillon, S., 2021. The double structure of the Estuarine Turbidity Maximum in the Cam-Nam Trieu mesotidal tropical estuary, Vietnam. Mar. Geol. 442, 106670. https://doi.org/10.1016/j.margeo.2021.106670

Vinh, V.D., Ouillon, S., Thanh, T.D., Chu, L.V., 2014. Impact of the Hoa Binh dam (Vietnam) on water and sediment budgets in the Red River basin and delta. Hydrol. Earth Syst. Sci. 18, 3987–4005. https://doi.org/10.5194/hess-18-3987-2014

Wagner, S., Brandes, Spencer, R.G.M., Ma, K., Rosengard, S.Z., Moura, J.M.S., Stubbins, A., 2019. Isotopic composition of oceanic dissolved black carbon reveals non-riverine source carbon reveals non-riverine source. Nat. Commun. 10, 50–64 https://doi.org/10.1038/s41467-019-13111-7

Wagner, S., Coppola, A.I., Stubbins, A., Dittmar, T., Niggemann, J., Drake, T.W., Seidel, M., Spencer, R.G.M., Bao, H., 2021. Questions remain about the biolability of dissolved

black carbon along the combustion continuum. Nat. Commun. 12, 4281. https://doi.org/10.1038/s41467-021-24477-y

Wagner, S., Ding, Y., Jaffé, R., 2017. A New Perspective on the Apparent Solubility of Dissolved Black Carbon. Front. Earth Sci. 5, 75. https://doi.org/10.3389/feart.2017.00075

Wagner, S., Jaffé, R., 2015. Effect of photodegradation on molecular size distribution and quality of dissolved black carbon. Org. Geochem. 86, 1–4. https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2015.05.005

Wagner, S., Jaffé, R., Stubbins, A., 2018. Dissolved black carbon in aquatic ecosystems: Dissolved black carbon review. Limnol. Oceanogr. Lett. 3, 168–185. https://doi.org/10.1002/lol2.10076

Wang, C., Hu, X., Liu, Y., Jin, G., 2022. Sources, spectral characteristics, and fluxes of dissolved organic matter in coastal groundwater and river water in western Guangdong, China. Front. Environ. Sci. 10, 995190. https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.995190

Wang, L., Liang, N., Li, H., Yang, Y., Zhang, D., Liao, S., Pan, B., 2015. Quantifying the dynamic fluorescence quenching of phenanthrene and ofloxacin by dissolved humic acids. Environ. Pollut. 196, 379–385. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.10.029

Wang, Y., Hu, Y., Yang, C., Wang, Q., Jiang, D., 2019. Variations of DOM quantity and compositions along WWTPs-river-lake continuum: Implications for watershed environmental management. Chemosphere 218, 468–476. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.11.037

Wennberg, A.C., Meland, S., Grung, M., Lillicrap, A., 2022. Unravelling reasons for variability in the OECD 306 marine biodegradation test. Chemosphere 300, 134476. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134476

Wolbach, W.S., Anders, E., 1989. Elemental carbon in sediments: Determination and isotopic analysis in the presence of kerogen. Geochim. Cosmochim. Acta 53, 1637–1647. https://doi.org/10.1016/0016-7037(89)90245-7

Wolf, M.J., Emerson, J.W., Esty, D.C., de Sherbinin, A., Wendling, Z.A., 2022. Environmental Performance Index 2022. Ranking Country Performance on Sustainability Issues.

Wu, H., Qi, Y., Dong, L., Zhao, X., Liu, H., 2019. Revealing the impact of pyrolysis temperature on dissolved organic matter released from the biochar prepared from Typha orientalis. Chemosphere 228, 264–270. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.143

Wünsch, U.J., Murphy, K.R., Stedmon, C.A., 2017. The One-Sample PARAFAC Approach Reveals Molecular Size Distributions of Fluorescent Components in Dissolved Organic Matter. Environ. Sci. Technol. 51, 11900–11908. https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03260

Yamashita, Y., Kojima, D., Yoshida, N., Shibata, H., 2021. Relationships between dissolved black carbon and dissolved organic matter in streams. Chemosphere 271, 129824. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129824

Yamashita, Y., Nakane, M., Mori, Y., Nishioka, J., Ogawa, H., 2022. Fate of dissolved black carbon in the deep Pacific Ocean. Nat. Commun. 13, 307. https://doi.org/10.1038/s41467-022-27954-0

Yang, C., Liu, Y., Zhu, Y., Zhang, Y., 2016. Insights into the binding interactions of autochthonous dissolved organic matter released from Microcystis aeruginosa with pyrene using spectroscopy. Mar. Pollut. Bull. 104, 113–120. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.01.053

Zaghden, H., Barhoumi, B., Jlaiel, L., Guigue, C., Chouba, L., Touil, S., Sayadi, S., Tedetti, M., 2022. Occurrence, origin and potential ecological risk of dissolved polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorines in surface waters of the Gulf of Gabès (Tunisia, Southern Mediterranean Sea). Mar. Pollut. Bull. 180, 113737. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113737

Zepp, R.G., Sheldon, W.M., Moran, M.A., 2004. Dissolved organic fluorophores in southeastern US coastal waters: correction method for eliminating Rayleigh and Raman scattering peaks in excitation–emission matrices. Mar. Chem. 89, 15–36. https://doi.org/10.1016/j.marchem.2004.02.006

Zhang, R., Qiao, J., Huang, D., Lin, X., Tian, L., Wang, B., Bao, H., Kao, S., 2023. Seasonal Variations in the Sources and Influential Factors of Aerosol Dissolved Black Carbon at a Southeast Coastal Site in China. J. Geophys. Res. Atmospheres 128, e2023JD038515. https://doi.org/10.1029/2023JD038515

Zhao, B., Liang, X., Wang, K., Li, T., Lv, X., Zhang, S., 2022. Impact of sulfur functional groups on physicochemical properties and oxidation reactivity of diesel soot particles. Fuel 327, 125041. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.125041

Zhao, W., Bao, H., Huang, D., Niggemann, J., Dittmar, T., Kao, S.-J., 2023. Evidence from molecular marker and FT-ICR-MS analyses for the source and transport of dissolved black carbon under variable water discharge of a subtropical Estuary. Biogeochemistry 162, 43–55. https://doi.org/10.1007/s10533-022-00987-9

Zhao, Y., Song, K., Lv, L., Wen, Z., Du, J., Shang, Y., 2018. Relationship changes between CDOM and DOC in the Songhua River affected by highly polluted tributary, Northeast China. Environ. Sci. Pollut. Res. 25, 25371–25382. https://doi.org/10.1007/s11356-018-2604-z

Zhong, G., Sun, Y., Geng, X., Yi, X., Zhang, G., 2019. Benzene polycarboxylic acid characterisation of polyaromatics in ambient aerosol: Method development. Atmos. Environ. 211, 55–62. https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2019.04.057

Zimmermann, M., Bird, M.I., Wurster, C., Saiz, G., Goodrick, I., Barta, J., Capek, P., Santruckova, H., Smernik, R., 2012. Rapid degradation of pyrogenic carbon. Glob. Change Biol. 18, 3306–3316. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2012.02796.x

Ziolkowski, L.A., Chamberlin, A. r., Greaves, J., Druffel, E. r. m., 2011. Quantification of black carbon in marine systems using the benzene polycarboxylic acid method: a mechanistic and yield study. Limnol. Oceanogr. Methods 9, 140–140. https://doi.org/10.4319/lom.2011.9.140

Ziolkowski, L.A., Druffel, E.R.M., 2010. Aged black carbon identified in marine dissolved organic carbon. Geophys. Res. Lett. 37, L16601. https://doi.org/10.1029/2010GL043963

Zito, P., Bekins, B.A., Martinović-Weigelt, D., Harsha, M.L., Humpal, K.E., Trost, J., Cozzarelli, I., Mazzoleni, L.R., Schum, S.K., Podgorski, D.C., 2023. Photochemical mobilization of dissolved hydrocarbon oxidation products from petroleum contaminated soil into a shallow aquifer activate human nuclear receptors. J. Hazard. Mater. 459, 132312. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132312

Zito, P., Podgorski, D.C., Johnson, J., Chen, H., Rodgers, R.P., Guillemette, F., Kellerman, A.M., Spencer, R.G.M., Tarr, M.A., 2019. Molecular-Level Composition and Acute Toxicity of Photosolubilized Petrogenic Carbon. Environ. Sci. Technol. 53, 8235–8243. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b01894

# Liste des figures

**Figure 1**. Exemple d'images au microscope électronique à balayage (MEB) d'agrégats fractals de sphérules de BC (Slowik et al., 2007).

**Figure 2.** Schéma général du cycle du Black Carbon dissous (DBC) et particulaire (BC) des eaux continentales à l'océan ouvert (flux en rouge et vert, stocks en bleu, processus de transformation en orange), en intégrant les estimations récentes des flux et stocks de Coppola et al. (2018), Fang et al. (2021a), Jones et al. (2020), Wagner et al. (2018), Yamashita et al. (2022).

**Figure 3.** Modèle du BC comme continuum de particules de combustion proposé par Masiello (2004) (a) puis redéfinit par Wagner et al. (2018) (b).

**Figure 4.** Cartes de distribution mondial du Black Carbon (BC) dans l'atmosphère en 1990 (A), 2010 (B), 2020 (C) et 2040 (D) réalisées à partir des données de Klimont et al. (2017). Le jeu de données d'émission développé a été utilisé dans des simulations de modèles de transport atmosphérique et climatique régionaux et mondiaux pour l'année 2020 (C) et 2040 (D). Les cartes ont été produites à partir des jeux de données en accès libres sur http://www.iiasa.ac.at/web/home/research/researchPrograms/air/Global_emissions.html.

**Figure 5.** Répartition mondiale des émissions de Black Carbon par région, reproduit d'après Klimont et al. (2017).

**Figure 6.** Continuum de combustion, modifié par Tedetti (2023) à partir de Wagner et al. (2018), qui intègre 1) la composition du Black Carbon particulaire (BC) (slighty charred biomass, charcoal, soot) en fonction de la température de carbonisation de la matière organique, 2) la composition et la réactivité de la matière organique dissoute dérivée de ce Black Carbon (DOM_BC) (non-aromatic sugar-like jusqu'au polycondesned aromatic) en fonction de la solubilité du Black Carbon, et 3) les méthodes analytiques liées au dosage de cette DOM_BC. Au sein de cette dernière, le Black Carbon dissous (DBC) correspond uniquement à la fraction aromatique polycondensée déterminée par les méthodes BPCAs et CTO Wagner et al. (2021).

**Figure 7.** Exemple de molécules de DBC au sein de la DOM_BC.

**Figure 8.** Synthèse des différentes questions actuelles sur la distribution et la réactivité du DBC et de la DOM_BC.

**Figure 9.** Carte des stations échantillonnées lors des campagnes réalisées en avril et mai 2022 dans la zone Rhône-Fos-Marseille (Méditerranée Nord Occidentale, Sud de la France). Les points noirs correspondent aux stations échantillonnées et les lignes rouges pointillées représentent les principaux chenaux de navigation. Zones portuaires : PB = Port de Bouc; SA = Saumaty; MF = Marseille-Fos; VP = Vieux Port; PR = Pointe Rouge. Carte réalisée à l'aide de Matlab (R2023b).

**Figure 10.** Présentation des différents outils de prélèvements et de mesures utilisées lors des campagnes réalisées en France (a, c) et au Vietnam (b, d).

**Figure 11.** Image satellite (a) et dessin schématique du delta du fleuve Rouge (b), incluant les zones échantillonnées dans le cadre de cette thèse, *i.e.*, bras principal du fleuve Rouge (« Hanoï-Ba Lat ») et rivière/estuaire Van Uc (en rouge).

**Figure 12.** Diagramme résumant la préparation des différentes solutions utilisées pour mener l'expérience de biodégradation de 90 jours de la matière organique dissoute (DOM) dérivée du Black Carbon (BC) par des procaryotes hétérotrophes marins, c'est-à-dire la DOM naturelle, les solutions mères de DOM_BC et enfin les solutions d'incubation pour les cinq traitements en triplicata (ce qui donne 15 bouteilles d'incubation) : C (contrôle), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (diesel oxydé), $D_{SHIP}$ (suie de bateau collectée dans le port de Haiphong, Vietnam) et $D_{SHIP\text{-}Ab}$ (condition « abiotique « avec suie de bateau) (Martinot et al., 2023).

**Figure 13.** Schéma conceptuel du phénomène de quenching (extinction) de fluorescence lors de la formation d'un complexe DOM-PAH à l'état fondamental (non-fluorescent).

**Figure 14.** Schéma résumant la préparation des différentes séries d'échantillon réalisées pour chaque expérience de quenching.

**Figure 15.** Principe de l'oxydation des molécules de black carbon dissous (DBC) en acides benzene-polycarboxyliques (BPCAs). Le DBC constitue une partie de la matière organique dissoute (DOM). Les deux exemples de structures moléculaires possibles de DBC présentées (a, b) ont été proposés par Dittmar et Koch (2006). Lorsque les molécules de DBC sont oxydées à l'acide nitrique ($HNO_3$) à température élevée, elles produisent des BPCAs.

**Figure 16.** Représentation schématique de la procédure SPE utilisées sur les échantillons d'eau filtrée sur GF/F pour les analyses de DBC : passage des échantillons (filtrés et acidifiés) sur cartouche PPL (a) et élution des cartouches au méthanol (b).

**Figure 17.** Schéma réalisé par Tedetti (2023) de la technique de dérivatisation (réaction de méthyl estérification) des acides carboxyliques en présence de méthanol et de triméthylsilyl-diazométhane [$(CH_3)_3SiCHN_2$] pour produire les méthyl-esters de BPCAs (Me-BPCAs) qui sont analysés en GC-MS (Guigue et al.).

**Figure 18.** Photos des différents appareils utilisés en France et au Vietnam pour les analyses de DBC, DOC et propriétés optiques de la DOM.

**Figure 19**. Plot des MEEFs correspondant aux solutions de DOM préparée à partir d'eau de mer filtrée sur 0.2 µm et de particules de BC (DOM_BC) issues de suie de navire [SS-6 (a) et SS-10 (b)], de particules de diesel [DPM-1 (c)], de poussière urbaine [UD-2 (d)], de charbon de bois et d'herbe [CH-1 (e) et CH-2 (f)], ainsi que d'une solution de DOM marine (DOM_MAR) provenant d'une culture de phytoplancton [Phyto (g)] et d'une solution de DOM terrestre (DOM_TER) [HS-2 (h)] provenant de la solubilisation d'un standard de substances humiques. Les intensités de fluorescence sont données en QSU et ont été normalisées aux concentrations appropriées de DOC ajouté.

**Figure 20.** Biplot de l'analyse en composantes principales (PCA) standardisée sur les échantillons filtrés sur 0.2 µm de DOM_BC, DOM_TER et DOM_MAR, ainsi que sur l'eau de

mer filtrée sur 0.2 µm. Le cercle de corrélation des variables est en rouge, et les échantillons sont regroupés par couleur selon la classification hiérarchique ascendante (HAC) : en jaune et orange pour la suie de navire (SS) et les particules de diesel (DPM), en bleu pour la poussière urbaine (UD), le char de bois et d'herbe (CH), la DOM_MAR (Phyto) et l'eau de mer, et en vert pour la DOM_TER (HS).

**Figure 21.** Plots et caractéristiques spectrales des trois composants (C1-C3) validés par le modèle PARAFAC pour 118 MEEFs des solutions de DOM_BC, Phe, SS + Phe et DPM + Phe filtrées sur GF/F et 0.2 µm. Les graphiques sur la colonne de droite montrent les spectres de fluorescence d'excitation (à gauche) et d'émission (à droite). Les lignes pointillées correspondent aux résultats de validation des *split half analyses*. Les maxima d'excitation et d'émission ($\lambda_{Ex}$ et $\lambda_{Em}$) de chaque composant sont indiqués.

**Figure 22.** Contribution relative des composants C1, C2 et C3 identifiés par PARAFAC à la fluorescence totale mesurée dans les solutions de SS, DPM, Phe et DPM + Phe.

**Figure 23.** Relation entre l'intensité de fluorescence du composant C2 (en QSU) et la concentration de phénanthrène dissous (Phe) (en µg $L^{-1}$) ajoutée dans les solutions de SS et DPM. La ligne rouge en pointillés correspond à une régression linéaire pondérée.

**Figure 24.** Relations linéaires entre les intensités de fluorescence du composant C1 (a, c, d) ou du composant C3 (b, d, f) (en QSU) et la concentration en black carbone dissous (DBC) (en µM) dans les solutions SS et DPM combinées (a, b), les solutions de DPM (c, d), et les solutions de SS (e, f).

**Figure 25.** COmbustion indeX (COX en QSU L mg $C^{-1}$) déterminé et concentration de DOC (mg C $L^{-1}$) mesurée pour la DOM_BC, *i.e.*, DPM et SS (en orange), UD et CH (en vert), et la DOM_TER (HS) (en jaune). Les couleurs claires et foncées correspondent respectivement aux filtrats de 0.7 et de 0.2 µm.

**Figure 26.** Localisation des stations de Port-de-Bouc (PB, en orange), Couronne (CO, en vert) et SOLEMIO (SO, en bleu) dans la baie de Marseille en mer Méditerranée Nord-Occidentale, échantillonnées par Ferretto et al. (2017) entre janvier 2011 et janvier 2012.

**Figure 27.** HIX et BIX déterminés pour 55 MEEFs d'échantillons collectés aux sites Port-de-Bouc (PB), Couronne (CO) et SOLEMIO (SO) entre le golfe de Fos-sur-mer et la baie de Marseille, fournis par Ferretto et al. (2017).

**Figure 28.** COmbustion indeX (COX en QSU L mg $C^{-1}$) et concentration en DOC (mg C $L^{-1}$) mesurés pour 55 échantillons aux sites Port-de-Bouc (PB), Couronne (CO) et SOLEMIO (SO) entre le golfe de Fos-sur-mer et la baie de Marseille, fournis par Ferretto et al. (2017).

**Figure 29.** Distribution spatiale de (a) la concentration de DBC (µg C $L^{-1}$), (b) le ratio B6CA/B5CA, (c) la concentration de DOC (µM) et (d) l'indice de fluorescence COX (QSU L mg $C^{-1}$) déterminés dans la zone côtière Rhône-Fos-Marseille, en mer Méditerranée Nord-Occidentale en avril-mai 2022. Les points noirs, blancs et bleus correspondent respectivement aux stations échantillonnées, aux principaux ports et à l'embouchure du Rhône, et les lignes blanches pointillées représentent les principales voies de navigation. Figure créée à l'aide du logiciel Ocean Data View (version 5.7.0, interpolation par moyenne pondérée) (Martinot et al., 2024, soumis).

**Figure 30.** Boxplots des concentrations en DBC (µg C $L^{-1}$) déterminées dans la rivière et l'estuaire Van Uc (delta du fleuve Rouge, golfe du Tonkin, Nord Vietnam) en mars et novembre 2023 pour toutes les stations visitées (a) et pour les stations dont les salinités étaient comprises entre 23 et 32 (b).

**Figure 31.** Distribution spatiale de la concentration en DBC (µg C $L^{-1}$) déterminée en mars (a) et en novembre 2023 (b) dans la rivière et l'estuaire Van Uc (delta du fleuve Rouge, golfe du Tonkin, Nord Vietnam). Figure créée à l'aide du logiciel Ocean Data View (version 5.7.0, interpolation par moyenne pondérée).

**Figure 32.** Distribution spatiale des ratios B6CA/B5CA (a, b) et des rations B6CA+B5CA/all (c, d) determinés en mars et novembre 2023 dans la rivière et l'estuaire Van Uc (delta du fleuve Rouge, golfe du Tonkin, Nord Vietnam). Figure créée à l'aide du logiciel Ocean Data View (version 5.7.0, interpolation par moyenne pondérée).

**Figure 33.** Boxplots des concentrations en DOC (µM) déterminées dans la rivière et l'estuaire Van Uc (delta du fleuve Rouge, golfe du Tonkin, Nord Vietnam) en mars et novembre 2023 pour toutes les stations visitées (a) et pour les stations dont les salinités étaient comprises entre 23 et 32 (b).

**Figure 34.** Distribution spatiale de la concentration de DOC (µM) déterminée en mars (a) et en novembre 2023 (b) dans la rivière et l'estuaire Van Uc (delta du fleuve Rouge, golfe du Tonkin, Nord Vietnam). Figure créée à l'aide du logiciel Ocean Data View (version 5.7.0, interpolation par moyenne pondérée).

**Figure 35.** Relations linéaires négatives entre la salinité et la concentration en DBC (a, b) (en µg C $L^{-1}$), en DOC (c, d) (en µM) et le ratio DBC/DOC (e, f) (en %) mesurés en mars et novembre 2023 dans la rivière et l'estuaire Van Uc.

**Figure 36.** Boxplots des concentrations en DBC (µg C $L^{-1}$) mesurées à différentes salinités au mois de mars et novembre 2023.

**Figure 37.** Relations linéaires entre la salinité et les ratios B6CA+B5CA/all (a, b) et B6CA/B5CA déterminés en mars et novembre 2023 dans la rivière et l'estuaire Van Uc.

**Figure 38.** Boxplots des ratios de B6CA+B5CA/All (a, b) et B6CA/B5CA (c, d) déterminés pour différents groupes de salinité au mois de mars et novembre 2023.

**Figure 39.** Profil de température (°C) et de salinité mesurés aux stations échantillonnées à marée montante pour les salinités comprises entre 5 et 15. Les moyennes des concentrations en DBC (µg C $L^{-1}$) mesurées en duplicat à chaque station sont rappelées à droite.

**Figure 40.** Relations linéaires entre la salinité et l'indice humique (HIX) (a), l'indice biologique (BIX) (b), l'absorbance spécifique aux UV à 254 nm ($SUVA_{254}$, en L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$) (c) et l'indice de combustion (COX, en QSU mg $C^{-1}$ $m^{-1}$) (d) déterminés en mars et novembre 2023 dans la rivière et l'estuaire Van Uc.

**Figure 41.** Relation linéaire entre l'indice de combustion (COX, en QSU mg $C^{-1}$ $m^{-1}$) et la concentration en DBC (en µg C $L^{-1}$) déterminés en mars et novembre 2023 dans la rivière et l'estuaire Van Uc. Les points de données sont colorés en fonction de la salinité. La ligne rouge

pleine représente la courbe de régression linéaire ajustée (Fit) avec les bandes de confiance à 95% indiquées en pointillés.

**Figure 42.** Relations linéaire entre la concentration en DBC (en µg C $L^{-1}$) et les indices optiques COX (a, c) (en QSU mg $C^{-1}$ $m^{-1}$) et HIX (b, d) mesurés en mars et novembre 2023 dans la rivière Van Uc et son estuaire.

**Figure 43.** Évolution spatiale de la température (°C) (a), de la salinité (b), de la concentration en des particules en suspension (SPM en mg $L^{-1}$) (c) et du pH (d) déterminés sur les échantillons collectés dans le long du bras principal du fleuve Rouge en mars (bleu), juin (jaune) et septembre (vert) 2023. Les lignes en pointillées représentent les paramètres déterminés à 5 m de profondeur et les lignes pleines à 1 m de profondeur.

**Figure 44.** Boxplots des variations saisonnières des concentrations en DBC (en µg C $L^{-1}$) (a) et en DOC (en µM) (b), des rapports DBC/DOC (%) (c), du taux de recouvrement de DOC par l'extraction SPE (%) (d), ainsi que des ratios B6CA/B5CA (e) et B6CA+B5CA/all (f) déterminés en mars (bleu), juin (jaune), et septembre (vert) dans le bras principal du fleuve Rouge.

**Figure 45.** Concentrations en $PM_{2.5}$ (en µg $m^{-3}$) mesurées dans l'air à Hanoï en 2019 et 2020 (axe de gauche) et concentrations en DBC (en µg C $L^{-1}$) mesurées dans le bras principal du fleuve Rouge au cours des campagnes des 20-21 mars, 13-14 juin et 26-17 septembre 2023 (axe de droite). Figure modifiée à partie de Dominutti et al. (2024).

**Figure 46.** Graphiques montrant l'évolution des concentrations en DOC (en µM) et en DBC (en µg C $L^{-1}$) en fonction de la distance à l'estuaire (a, b, respectivement) et de la salinité (c, d, respectivement), déterminées en mars, juin et septembre 2023 dans le bras principal du fleuve Rouge.

**Figure 47.** Boxplot des variations spatiales et saisonnières des concentrations en DBC (en µg C $L^{-1}$) (a) et en DOC (en µM) (b), ainsi que des ratios B6CA/B5CA (c) et B6CA+B5CA/all (d) déterminés en mars (bleu), juin (jaune), et septembre (vert) dans le bras principal du fleuve Rouge.

**Figure 48.** Boxplots des variations saisonnières de l'absorbance spécifique aux UV à 254 nm ($SUVA_{254}$, en L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$) (a), du coefficient d'absorption à 350 nm ($a_{CDOM}$ (350), en $m^{-1}$) (b), de l'indice humique (HIX) (c), de l'indice biologique (BIX) (d) et de de l'indice de combustion (COX, en QSU mg $C^{-1}$ $L^{-1}$) (e) déterminés en mars (bleu), juin (jaune), et septembre (vert) 2023 dans le bras principal du fleuve Rouge.

**Figure 49.** Biplot de l'analyse en composantes principales (ACP) représentant le cercle de corrélation des variables (indices, DOC et DBC en rouge) et la distribution des échantillons récoltés mars (en bleu), juin (en Jaune) et septembre 2023 (en vert) dans le bras principal du fleuve Rouge sur les axes F1 et F2.

**Figure 50.** Boxplot des variations spatiales et saisonnières de l'absorbance spécifique aux UV à 254 nm ($SUVA_{254}$, en L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$) (a), du coefficient d'absorption à 350 nm ($a_{CDOM}$ (350), en $m^{-1}$) (b), de l'indice humique (HIX) (c), de l'indice biologique (BIX) (d) et de de l'indice de

combustion (COX, en QSU mg $C^{-1}$ $L^{-1}$) (e) déterminés en mars (bleu), juin (jaune), et septembre (vert) 2023 dans le bras principal du fleuve Rouge.

**Figure 51.** Graphique représentant l'évolution de l'indice de combustion (COX, en QSU mg $C^{-1}$ $m^{-1}$) en fonction de la concentration en DBC (en µg C $L^{-1}$) déterminés en mars, juin et septembre 2023 dans le bras principal du fleuve Rouge. Les points de données sont colorés en fonction de la distance à l'estuaire (km).

**Figure 52.** Abondances relatives (en %) des acides benzenpolycarboxyliques (BPCA, en µg C $L^{-1}$) au (a) début (T0) et (b) à la fin (T6 : 90 jours) de l'expérience de biodégradation de la DOM dérivée du BC pour les quatre traitements biotiques : C (contrôle), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF-OX}$ (diesel oxydé), $D_{SHIP}$ (suie de bateau), et $D_{SHIP-Ab}$ (suie de bateau « abiotique «). Le gradient de couleur vert représente les molécules ayant un faible nombre de groupes carboxyles (B3CA, B4CA) et le gradient de couleur orange représente les molécules ayant un nombre élevé de groupes carboxyles (B5CA, B6CA).

**Figure 53.** Abondances relatives (en %) des hydrocarbures aromatiques polycycliques dissous (d-PAHs, en ng $L^{-1}$) au (a) début (T0) et (b) à la fin (T6 : 90 jours) de l'expérience de biodégradation de la DOM dérivée du BC pour les quatre traitements biotiques : C (contrôle), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF-OX}$ (diesel oxydé), $D_{SHIP}$ (suie de bateau), et $D_{SHIP-Ab}$ (suie de bateau « abiotique «). Le gradient de couleur vert représente les PAHs de faible poids moléculaire (LMW) et le gradient de couleur orange représente les PAHs de poids moléculaire élevé (HMW).

**Figure 54.** Concentrations de (a) black carbon dissous (DBC, en µg C $L^{-1}$) et (b) PAHs dissous (d-PAHs, en ng $L^{-1}$) au début (T0) et à la fin (T6 : 90 jours) de l'expérience de biodégradation de la DOM dérivée du BC pour les quatre traitements biotiques : C (contrôle), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF-OX}$ (diesel oxydé), $D_{SHIP}$ (suie de bateau) et $D_{SHIP-Ab}$ (suie de bateau « abiotique «). Le pourcentage de diminution entre T0 et T6 est indiqué. Lorsqu'elle est associée à un *, la figure reflète une diminution significative entre T0 et T6 (t-test, $p < 0.05$ pour * et $p < 0,1$ pour **). Deuxième échelle verticale : (a) en bleu pour le traitement C, (b) en vert pour le traitement $D_{SHIP}$. Les barres d'erreur correspondent à la déviation standard des triplicatas.

**Figure 55.** Évolution temporelle des intensités de fluorescence de la composante C2 du FDOM (λEx/λEm : 305/432 nm) normalisée par rapport au DOC (en QSU $\mu M^{-1}$) tout au long de l'expérience de biodégradation de la DOM dérivée du BC (jusqu'à T6 : 90 jours), en se concentrant sur les 3 premiers jours (jusqu'à T3 : 3 jours), pour les quatre traitements biotiques : C (contrôle), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF-OX}$ (diesel oxydé) et $D_{SHIP}$ (suie de bateau). Les barres d'erreur correspondent à l'écart-type des triplicatas.

**Figure 56.** Évolution temporelle de (a) l'abondance bactérienne (cellules $mL^{-1}$) et (b) de l'abondance bactérienne normalisée par rapport au DOC (cellules ng $C^{-1}$) tout au long de l'expérience de biodégradation de la DOM dérivée de la CB (jusqu'à T6 : 90 jours), avec un accent sur les 3 premiers jours (jusqu'à T3 : 3 jours), pour les quatre traitements biotiques : C (contrôle), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF-OX}$ (diesel oxydé) et $D_{SHIP}$ (suie de bateau). Les barres d'erreur correspondent à l'écart-type des triplicatas.

**Figure 57.** Évolution temporelle de (a) la production bactérienne (ng C $L^{-1}$ $h^{-1}$) et (b) de la production bactérienne normalisée par rapport au DOC ($h^{-1}$) (b) tout au long de l'expérience de biodégradation de la DOM dérivée de la C.-B. (jusqu'à T6 : 90 jours), avec un accent sur les 3

premiers jours (jusqu'à T3 : 3 jours), pour les quatre traitements biotiques : C (contrôle), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (diesel oxydé) et $D_{SHIP}$ (suie de bateau). Les barres d'erreur correspondent à l'écart-type des triplicatas.

**Figure 58.** Relation (fonction de puissance) entre la respiration bactérienne (ng $C^{-1}$ $L^{-1}$ $h^{-1}$) et la production bactérienne (ng $C^{-1}$ $L^{-1}$ $h^{-1}$) pour les traitements $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ et $D_{SHIP}$ de T0 à T3 de l'expérience de biodégradation de la DOM dérivée du BC (n = 36).

**Figure 59.** Concentrations de black carbon dissous (DBC, en µg C $L^{-1}$) au début (T0) et à la fin (T6 : 90 jours) de l'expérience de biodégradation de la DOM dérivée du BC pour les quatre traitements biotiques : C (contrôle), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (diesel oxydé), $D_{SHIP}$ (suie de bateau) et $D_{SHIP\text{-}Ab}$ (suie de bateau « abiotique «). Le pourcentage de diminution entre T0 et T6 est indiqué. Lorsqu'elle est associée à un *, la figure reflète une diminution significative entre T0 et T6 (t-test, $p < 0.05$). La deuxième échelle verticale en bleu correspond au traitement C. Les barres d'erreur correspondent à la déviation standard des triplicatas.

**Figure 60.** Fluorophores identifiés et validés par modélisation PARAFAC à partir des MEEFs issues de l'expérience de quenching de fluorescence de la solution de DOM_BC DPM avec le phénanthrène et benzo(a)pyrène.

**Figure 61.** Relation entre le $SUVA_{254}$ (L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$) et le $K_{DOC}$ (x $10^3$ L kg $C^{-1}$) calculés pour le phénanthrène avec la méthode de Stern-Volmer.

**Figure 62.** Schéma générale de conclusions et perspectives du travail de thèse au regard des objectifs initiaux fixés en Chapitre 1 (Fig. 8)

# Liste des tableaux

**Tableau 1.** Protocole pour la préparation des solutions de DOM dérivée des particules de BC (DOM_BC), DOM d'origine terrestre (DOM_TER), DOM d'origine marine (DOM_MAR), et du standard de phénanthrène (Phe) (Martinot et al., 2024).

**Tableau 2.** Volumes (en mL) des différentes solutions ajoutées (DOM naturel, solutions mères de DOM dérivé de BC, inoculum bactérien, solutions mères de NO3- et PO43-) pour la préparation des solutions d'incubation utilisées pour réaliser l'expérience de 90 jours sur la biodégradation de DOM dérivé de BC par des procaryotes hétérotrophes marins sous cinq traitements en triplicata (trois bouteilles) : C (contrôle), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (diesel oxydé), $D_{SHIP}$ (suie de bateau) et $D_{SHIP\text{-}Ab}$ (suie de bateau « abiotique «) (Martinot et al., 2023).

**Tableau 3.** Paramètres chromatographiques utilisés pour la mesure par HPLC-DAD des BPCAs réalisées à l'USTH dans les échantillons d'eau collectés au Vietnam.

**Tableau 4.** Gradients de mélange de la phase mobile appliqués pour la mesure par HPLC-DAD des BPCAs réalisées à l'USTH dans les échantillons d'eau collectés au Vietnam.

**Tableau 5.** Synthèse des sites et appareils d'analyses chromatographiques et optiques.

**Tableau 6.** Indices et rapports d'absorbance et de fluorescence déterminés pour les échantillons filtrés sur 0.2 µm de DOM_BC (SS, DPM, UD, CH), DOM_TER (HS) et DOM_MAR (Phyto), ainsi que pour l'eau de mer filtrée sur 0.2 µm.

**Tableau 7.** Température, salinité, concentration en Black Carbon dissous (DBC), ratio d'acides benzène polycarboxyliques B6CA/B5CA, concentration en carbone organique dissous (DOC), ratio DBC/DOC (%) et indices optiques de la matière organique dissoute ($SUVA_{254}$, BIX, HIX, COX) déterminés sur les échantillons d'eau de mer collectés à 1 m de profondeur à chaque station visitée dans la zone côtière Rhône-Fos-Marseille en avril-mai 2022.

**Tableau 8.** Comparaison des concentrations de DBC déterminées dans la zone côtière Rhône-Fos-Marseille, en mer Méditerranée Nord-Occidentale (la présente étude), l'estuaire de la rivière Van Uc, dans le delta du fleuve Rouge, au Nord Vietnam (voir section 4.1) et le bras principal du fleuve Rouge (voir section 5.1) avec celles rapportées dans la littérature pour l'océan ouvert, d'autres environnements côtiers et d'autres systèmes fluviaux. Tableau traduit et modifié à partir de Martinot et al. 2024 (soumis).

**Tableau 9.** Corrélations de Pearson entre les concentrations de DBC et divers indices optiques de la DOM (COX, HIX, BIX, $SUVA_{254}$) déterminés aux stations sélectionnées. Les valeurs de p significatives sont indiquées en gras.

**Tableau 10.** Estimation des flux annuels de DBC (Gg C $an^{-1}$) de la rivière Van Uc au golfe du Tonkin, et contribution annuelle aux apports totaux de DBC au milieu marin par les fleuves (%) estimés par Jones et al. (2020) (a, 18 Tg $an^{-1}$) et par Y. Fang et al. (2021a) (b, 66 Tg $an^{-1}$).

**Tableau 12.** Estimation des flux annuels de DBC (Gg C $an^{-1}$) du fleuve Rouge (Z1 et Z3) au Golfe du Tonkin et contribution annuelle aux apports totaux de DBC au milieu marin par les fleuves (%) estimés par Jones et al. (2020) (a, 18 Tg $an^{-1}$) et par Y. Fang et al. (2021a) (b, 66 Tg $an^{-1}$).

**Tableau 13.** Contenu et caractéristiques CDOM/FDOM des solutions DOM dérivées du BC au début (T0) de l'expérience de biodégradation pour les cinq traitements : C (contrôle), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (diesel oxydé), $D_{SHIP}$ (suie de bateau) et $D_{SHIP\text{-}Ab}$ (suie de bateau « abiotique «). Les valeurs correspondent à la moyenne et à l'écart-type des triplicatas (trois bouteilles) pour chaque traitement. Pour chaque paramètre, les valeurs avec des lettres en exposant différentes (a, b, c ou d) sont significativement différentes (t-test, $p < 0.05$).

**Tableau 14.** Concentrations de BPCA (µg C $L^{-1}$) mesurées dans les solutions DOM dérivées de BC au début (T0) et à la fin (T6) de l'expérience de biodégradation pour les quatre traitements BC : $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (diesel oxydé), $D_{SHIP}$ (suie de bateau) et $D_{SHIP\text{-}Ab}$ (suie de bateau « abiotique «). Les valeurs et les pourcentages de dégradation correspondent à la moyenne et à l'écart-type des triplicatas (trois bouteilles) pour chaque traitement. Les valeurs en gras indiquent une diminution statistiquement significative (t-test, exposant a pour $p \leq 0.05$ et exposant b pour $p \leq 0.07$).

**Tableau 15.** Concentrations de PAHs (hydrocarbures aromatiques polycycliques) de faible poids moléculaire (LMW) et de haut poids moléculaire (HMW) (µg $L^{-1}$) mesurées dans les solutions de DOM dérivées de BC au début (T0) et à la fin (T6) de l'expérience de biodégradation pour les quatre traitements de BC : $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (diesel oxydé), $D_{SHIP}$ (suie de navire), et $D_{SHIP\text{-}Ab}$ (suie de navire «abiotique»). Les valeurs et les pourcentages de dégradation correspondent à la moyenne et à l'écart type des triplicatas (trois bouteilles) pour chaque traitement. Les valeurs en gras indiquent une diminution statistiquement significative (t-test, $p \leq 0,1$).

**Tableau 16.** Valeurs de $K_{DOC}$ ($\times 10^3$ L kg $C^{-1}$) calculées pour chacune des solutions de DOM et contaminants étudiés selon la méthode Stern-Volmer et la méthode Hur-Schlautmann (Phe = phénanthrène, BaP = benzo(a)pyrène).

**Tableau 17.** Valeurs de KDOC reportées dans la littérature pour différents types de DOM et de PAHs (phénanthrène, pyrène, benzo(a)pyrène). Les deux méthodes les plus utilisées pour l'étude des propriétés de complexation de la DOM sont représentées : QF (Quenching de fluorescence) et SPME (Solid Phase Micro-Extraction).

# Annexes

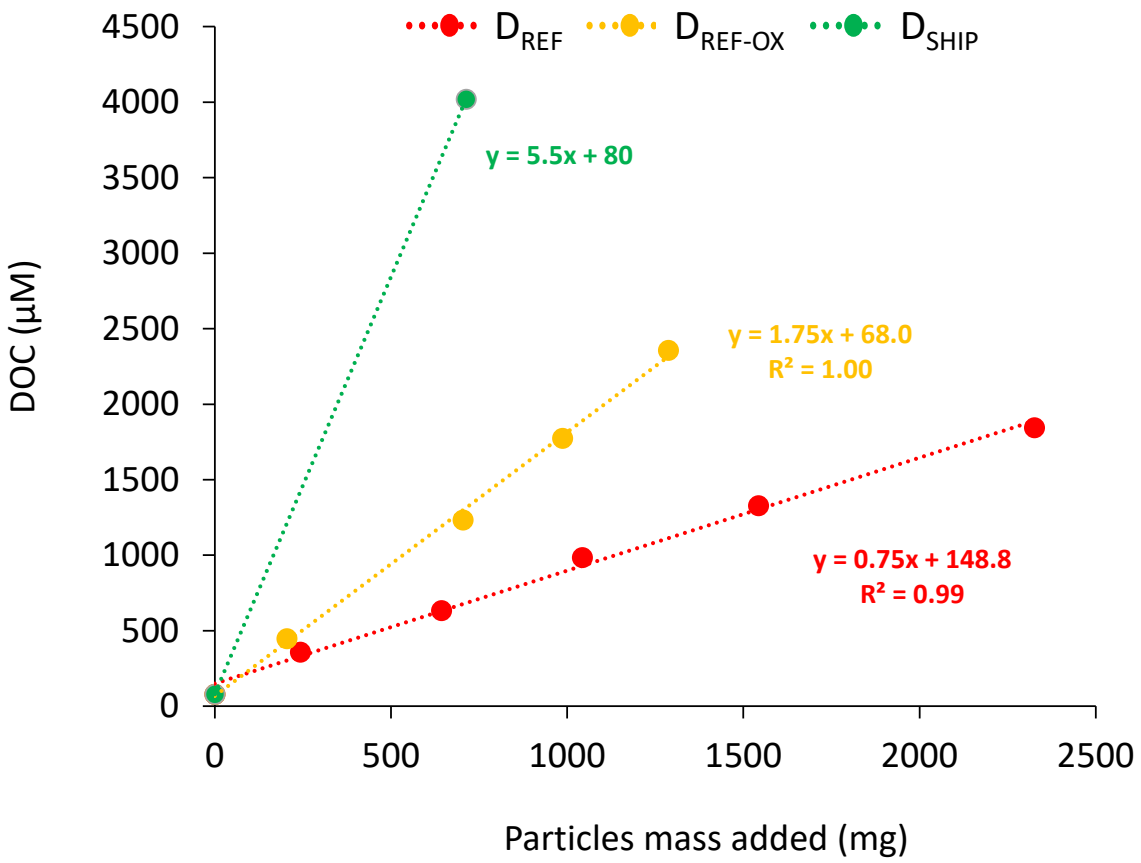
**Annexe 1.** Concentrations en carbone organique dessous (DOC), silicates [$Si(OH)_4$], nitrates ($NO_3^-$), nitrites ($NO_2^-$), ammonium ($NH_4^+$) and phosphates ($PO_4^{3-}$) déterminées dans les différentes solutions d'eau de mer utilisées pour la préparation des solutions d'incubation.

| Type of solution | Date of preparation (in 2021) | Volume (L) | DOC (µM) | $Si(OH)_4$ (µM) | $NO_3^-$ (µM) | $NO_2^-$ (µM) | $NH_4^+$ (µM) | $PO_4^{3-}$ (µM) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Seawater collected and filtered in-line onto GF/F (~ 0.7 µm) on board the R/V *Antédon 2* | May 5 | 60 | 80 | *nd* | *nd* | *nd* | *nd* | *nd* |
| Seawater (filtrate GF/F) filtered onto 0.2 µm in the lab for the preparation of the BC-derived DOM stock solutions | May 5 | 6 | 82 | *nd* | *nd* | *nd* | *nd* | *nd* |
| Seawater (filtrate GF/F) filtered onto 0.2 µm in the lab and used as natural marine DOM for the four biotic treatments | May 21 | 40 | 70-75 | 5.2-6.8 | 0.002-0.020 | 0.001-0.003 | 0.000-0.017 | 0.025-0.034 |
| BC-derived DOM stock solution from Diesel Particulate Matter particles ("$D_{REF}$") | May 18 | 1 | 1763* | 15.1 | 1.93 | 1.58 | 0.35 | 1.30 |
| BC-derived DOM stock solution from Diesel particles oxidized ("$D_{REF-OX}$") | May 18 | 1 | 2276* | 11.1 | 1.36 | 0.85 | 0.52 | 0.78 |
| BC-derived DOM stock solution from ship soot collected in Haiphong harbor, Vietnam ("$D_{SHIP}$") | May 18 | 1 | 3938* | 9.9 | 1.03 | 0.49 | 0.54 | 0.40 |
| 0.8-µm filtered seawater enriched with four 0.2-µm filters, over which were passed 10 L of seawater previously filtered onto 0.8 µm, and used as the natural prokaryotic assemblage solution (concentrated bacterial inoculum; $4.5.10^6$ cell $mL^{-1}$) | May 31 | 0.780 | 88 | *nd* | *nd* | *nd* | *nd* | *nd* |

*nd*: non détérminées.

* Concentrations de DOC liées à l'ajout de Black Carbon (DOC-BC), c'est-à-dire sans prendre en compte les 82 µM de DOC de la DOM naturelle utilisée pour préparer la solution stock de DOM_BC.

**Annexe 2.** Relation entre la masse de particules de suie ajoutées à une solution d'eau de mer de 1 L (en mg) et la concentration de carbone organique dissous (DOC en µM) dans cette solution après solubilisation des particules par bain à ultrasons et filtration sur filtre en fibre de verre (GF/F) pour les trois types de matériaux de Black Carbon (BC) : matière particulaire de référence Diesel ($D_{REF}$), particules D ayant été oxydées avant utilisation ($D_{REF-OX}$) et suie collectée en février 2021 dans l'entonnoir d'un navire amarré dans le port de Haiphong au Vietnam ($D_{SHIP}$). Ces relations illustrent le fait que les particules $D_{SHIP}$ étaient beaucoup plus solubles dans l'eau que les particules $D_{REF}$ et $D_{REF-OX}$, bien que les particules $D_{REF-OX}$, en raison de leur oxydation, étaient significativement plus solubles dans l'eau que les particules $D_{REF}$.



**Annexe 3.** Concentrations théoriques finales en carbone organique dissous (DOC), silicates [$Si(OH)_4$], nitrates ($NO_3^-$), nitrites ($NO_2^-$), ammonium ($NH_4^+$) et phosphates ($PO_4^{3-}$) dans les solutions d'incubation utilisées pour l'expérience de biodégradation de 90 jours. Ces concentrations ont été calculées à partir des concentrations rapportées dans l'Annexe 1 et des volumes indiqués dans le Tableau 4. C : traitement témoin (sans DO_BC) ; $D_{REF}$ : matière particulaire de référence Diesel ; $D_{REF-OX}$ : particules de Diesel oxydées avant utilisation ; $D_{SHIP}$ : suie collectée en février 2021 dans la cheminée d'un navire amarré dans le port de Haiphong au Vietnam. $D_{SHIP-Ab}$ : condition "abiotique" avec suie de navire.

| Concentrations finales en µM | C | $D_{REF}$ | $D_{REF-OX}$ | $D_{SHIP}$ | $D_{SHIP-Ab}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| Total DOC | 73 | 270 | 272 | 275 | 270 |
| DOC dérivé du BC | 0 | 196 | 198 | 201 | 197 |
| Natural DOM-derived DOC | 72 | 73 | 72 | 72 | 73 |
| DOC dérivé de l'inoculum bactérien | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 |
| Total $Si(OH)_4$ | 5.97 | 6.98 | 6.41 | 6.17 | 6.17 |
| Total $NO_3^-$ | 11.71 | 6.49 | 7.42 | 9.20 | 9.28 |
| Total $NO_2^-$ | 0.002 | 0.178 | 0.075 | 0.027 | 0.026 |
| Total $NH_4^+$ | 0.007 | 0.045 | 0.052 | 0.034 | 0.034 |
| Total $PO_4^{3-}$ | 1.741 | 0.171 | 0.966 | 1.519 | 1.533 |

**Annexe 4.** Résumé des paramètres chimiques et biologiques mesurées sur les échantillons prélevés dans les solutions d'incubation à chaque temps de prélèvements (T0-T6) et pour chaque traitement: C = 1, $D_{REF}$ = 2, $D_{REF\text{-}OX}$ = 3, $D_{SHIP}$ = 4, and $D_{SHIP\text{-}Ab}$ = 5.

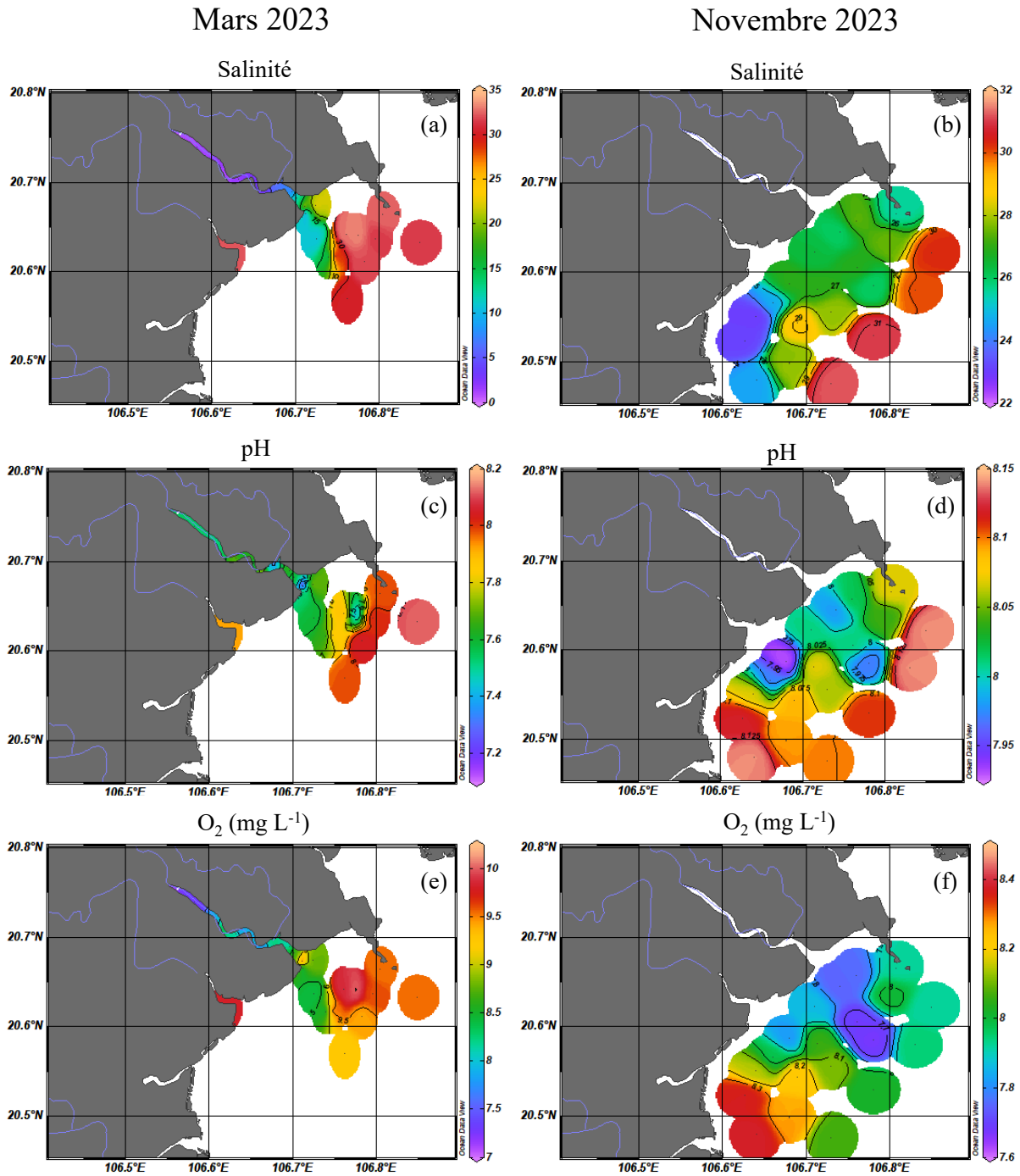
| Point | T0 | | | | | T1 | | | | | T2 | | | | | T3 | | | | | T4 | | | | | T5 | | | | | T6 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Days | 0 | | | | | 1 | | | | | 2 | | | | | 3 | | | | | 7 | | | | | 30 | | | | | 90 | | | | |
| Date | June 1, 2021 | | | | | June 2, 2021 | | | | | June 3, 2021 | | | | | June 4, 2021 | | | | | June 8, 2021 | | | | | June 29, 2021 | | | | | August 31, 2021 | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| DOC | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| DON | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| DOP | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| CDOM | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| FDOM | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| DBC | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| d-PAHs | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| NUT | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | | | | | | | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | | | | | | | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| d-MTEs | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | | | | | | | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | | | | | | | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| BA | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| BP | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| BR | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | |
| BD | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | | | | | | | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | | | | | | | | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| Nano | | | | | | | | | | | | | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | |

DOC : carbone organique dissous ; DON : azote organique dissous ; DOP : phosphore organique dissous ; CDOM : matière organique dissoute chromophorique ; FDOM : matière organique dissoute fluorescente ; DBC : Black Carbon dissous ; d-PAH : hydrocarbures aromatiques polycycliques dissous ; NUT : nutriments inorganiques dissous [silicates [$Si(OH)_4$], nitrates ($NO_3^-$), nitrites ($NO_2^-$), ammonium ($NH_4^+$) et phosphates ($PO_4^{3-}$)]; d-TM : éléments traces métalliques dissous ; BA : abondance bactérienne ; BP : production bactérienne ; BR : respiration bactérienne ; BD : diversité bactérienne ; Nano : abondance des nanoflagellés hétérotrophes.

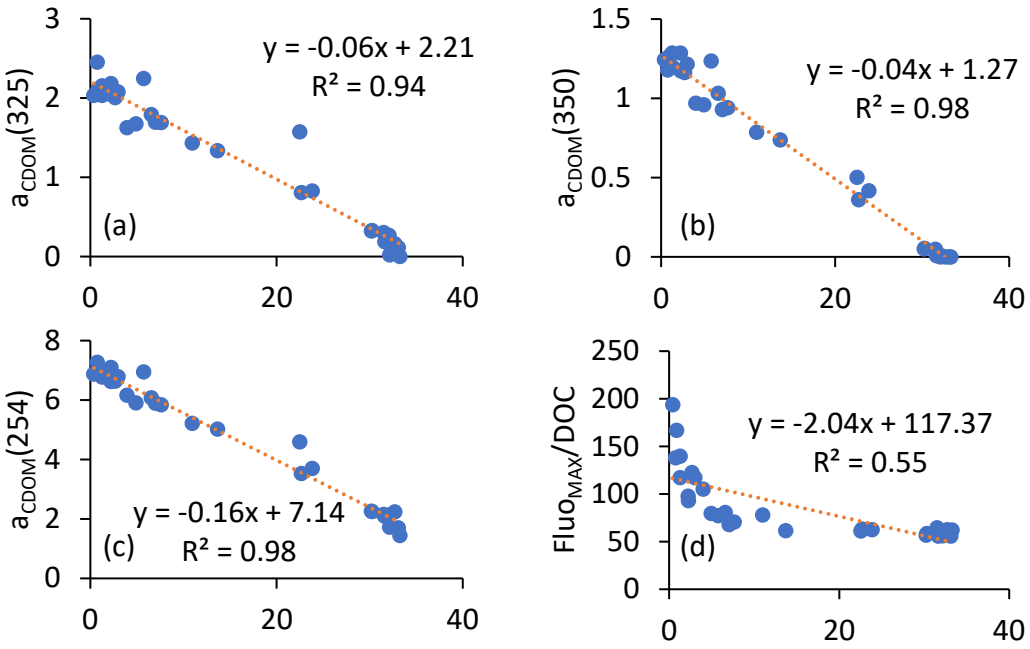
**Annexe 5.** Volume et type de filtration utilisés pour les paramètres chimiques et microbiologiques mesurés sur l'eau échantillonnée dans les solutions d'incubation à chaque temps et pour chaque traitement. Voir la définition des abréviations dans l'Annexe 4.

| | Volume (mL) | Filtration |
|---|---|---|
| DOC | 20 | Filtres GF/F (~ 0.7 µm), diamètre 47 mm |
| DON + DOP | 70 | |
| CDOM + FDOM | 25 | |
| DBC + d-PAHs | 450 | |
| NUT | 60 | |
| d-TM | 30 | Filtres PES (0.2 µm), diamètre 25 mm |
| BA | ~ 2 | No filtration |
| BP | 10 | |
| BR | 7 | |
| BD | 400 | |
| Nano | ~ 2 | |

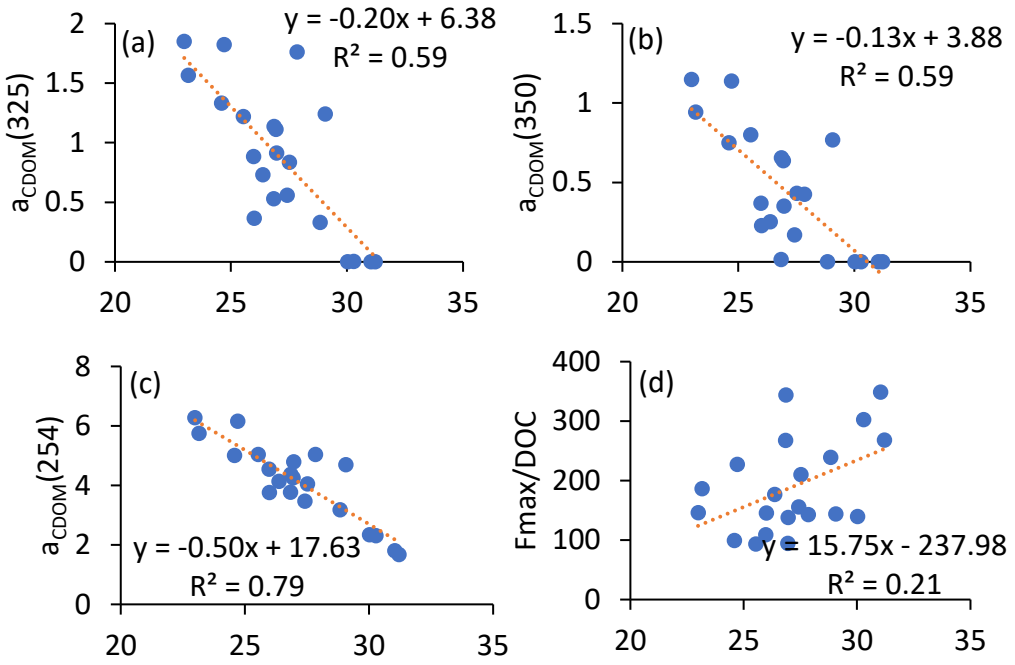
**Annexe 6.** Distribution spatiale de la salinité (a, b), du pH (c, d) et de la concentration en oxygène dissout (e, f) ($O_2$ en mg $L^{-1}$) mesurés par la sonde mulitparametrique AQUALABO et le CTD Casteway en Mars et en Novembre 2023 dans la région rivière Van Uc et estuaire, Golfe du Tonkin. Figure créée à l'aide du logiciel Ocean Data View (version 5.7.0, interpolation par moyenne pondérée).



**Annexe 7.** Relations linéaires entre la salinité et le coefficient d'absorption à 325, 350 et 254nm (en $m^{-1}$, a, b, c, respectivement) et le ratio de fluorescence maximale de l'échantillon sur le DOC (en QSU $\mu M^{-1}$, d) déterminés en mars 2023 dans la rivière Van Uc et son estuaire.




**Annexe 8.** Relations linéaires entre la salinité et le coefficient d'absorption à 325, 350 et 254nm (en $m^{-1}$, a, b, c, respectivement) et le ratio de fluorescence maximale de l'échantillon sur le DOC (en QSU $\mu M^{-1}$, d) déterminés en novembre 2023 dans la rivière Van Uc et son estuaire.



**Annexe 9.** Tableau récapitulatif des états de marées au moment des prélèvements réalisés dans la rivière Van Uc en mars et novembre 2023.

| Marrée à Haïphong (https://mareespeche.com/vn/haiphong/hai-phong) | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 20/03/2023 | 21/03/2023 | 13/06/2023 | 14/06/2023 | 26/09/2023 | 27/09/2023 |
| **Marrée basse** | 04h02 | 4h57 | 10h02 | 6h43 | 1h37 | 2h51 |
| **Maréee haute** | 16h52 | 18h30 | 21h27 | 16h42 | 14h26 | 15h29 |
| **Coefficient** | 103 | 109 | 66 | 70 | 81 | 97 |

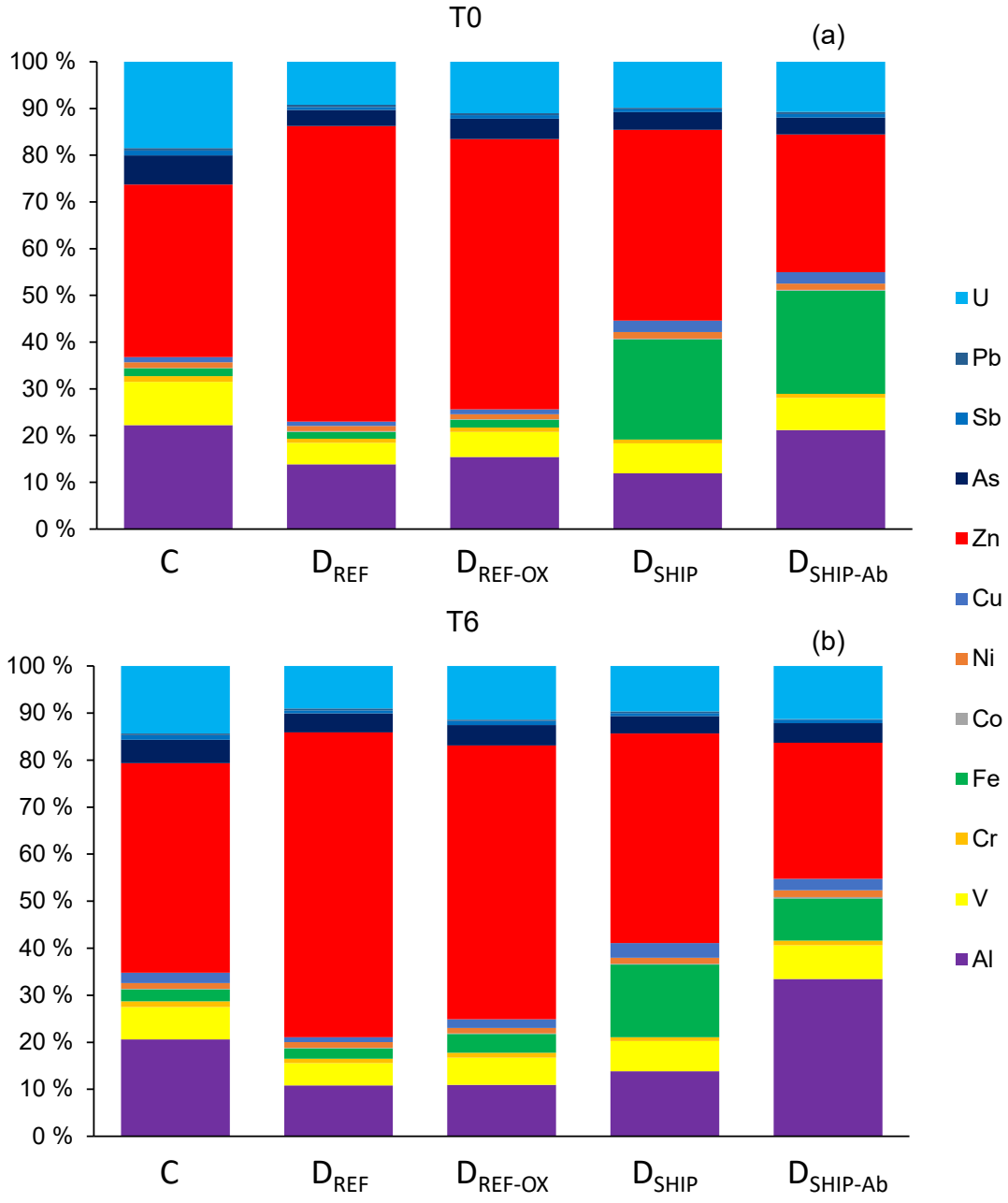
**Annexe 10.** Tableau de calcul du courant de surface dans le bras principal du fleuve Rouge.

| | **Profondeur (m)** *Moyenne CTD* | **Largeur du fleuve (m)** *Approximation* | **Section ($m^2$)** | **Débit à Hanoï** | **Vitesse (km $h^{-1}$)** | **Temps de trajet Hanoï - Embouchure (j)** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Mars | 5 | 1000 | 5000 | 385 | 0.2772 | 2.31 |
| Juin | 10 | 1000 | 10000 | 9500 | 3.42 | 28.5 |
| Septembre | 15 | 1000 | 15000 | 14800 | 3.552 | 29.6 |

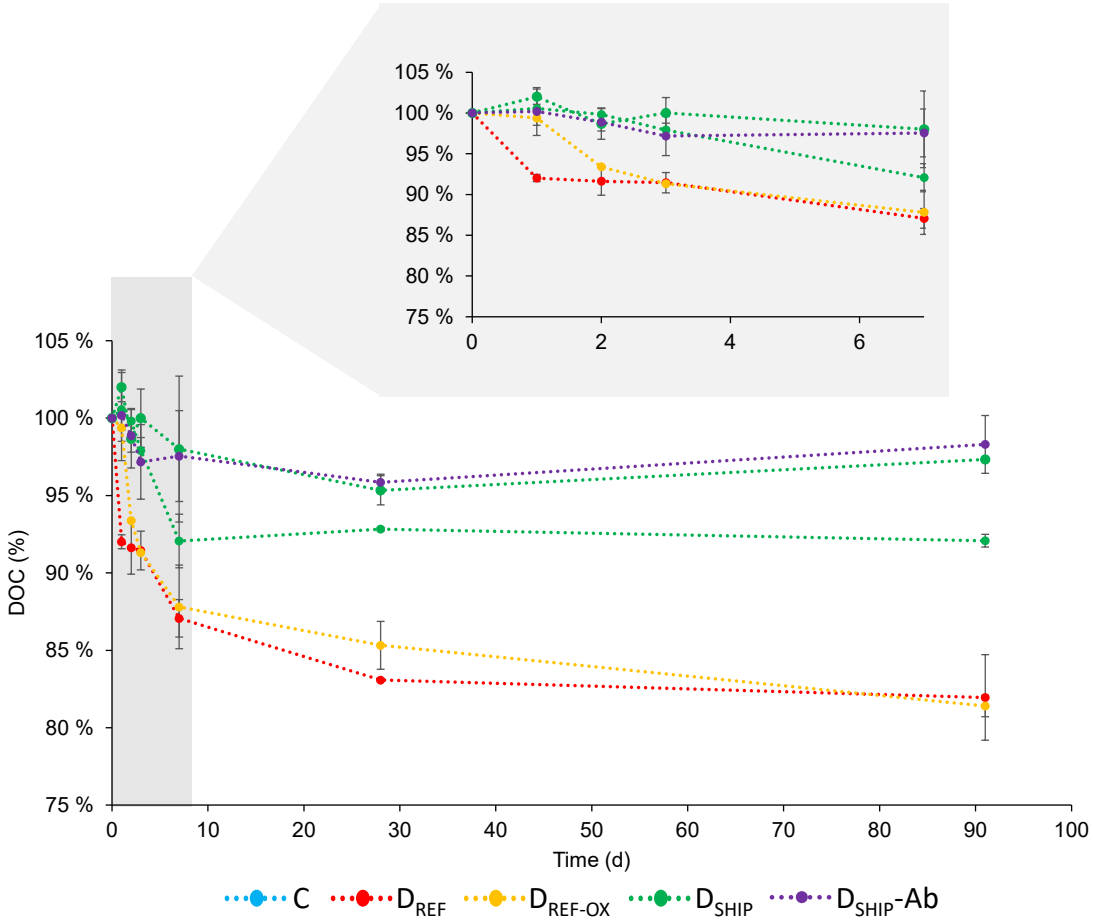
**Annexe 11.** Estimation des flux de DBC apportés à l'océan (en Gg $an^{-1}$) par le delta du fleuve Rouge à partir des mesures réalisées dans l'estuaire principale de Ba Lat (22.5% du débit), dans l'estuaire de Van Uc (14.5% du débit total) et comparaison aux estimations mondiales.

| | | | | Contribution à l'apport mondiale de DBC à l'océan par les fleuves (%) | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | DBC (Gg $an^{-1}$) | Estimation basse[a] | Estimation haute[b] |
| Delta du fleuve Rouge | Calculés à Z1 | Mars | 0.81 ± *0.35* | 0.00 | 0.00 |
| | | Juin | 10.62 ± *2.99* | 0.06 | 0.02 |
| | | Septembre | 20.68 ± *1.79* | 0.11 | 0.03 |
| | Estimés par Z3 | Mars | 1.64 ± *0.13* | 0.01 | 0.00 |
| | | Juin | 4.40 ± *0.58* | 0.02 | 0.01 |
| | | Septembre | 25.82 ± *0.53* | 0.14 | 0.04 |
| | Estimés par Van Uc | Mars | 24.14 ± *2.07* | 0.13 | 0.04 |
| | | Novembre | 22.76 ± *0.69* | 0.13 | 0.03 |
| Fang et al (2021) | Coastal China | Aout 2013 | 16.3 | 0.09 | 0.02 |
| | | Aout 2014 | 6.4 | 0.04 | 0.01 |

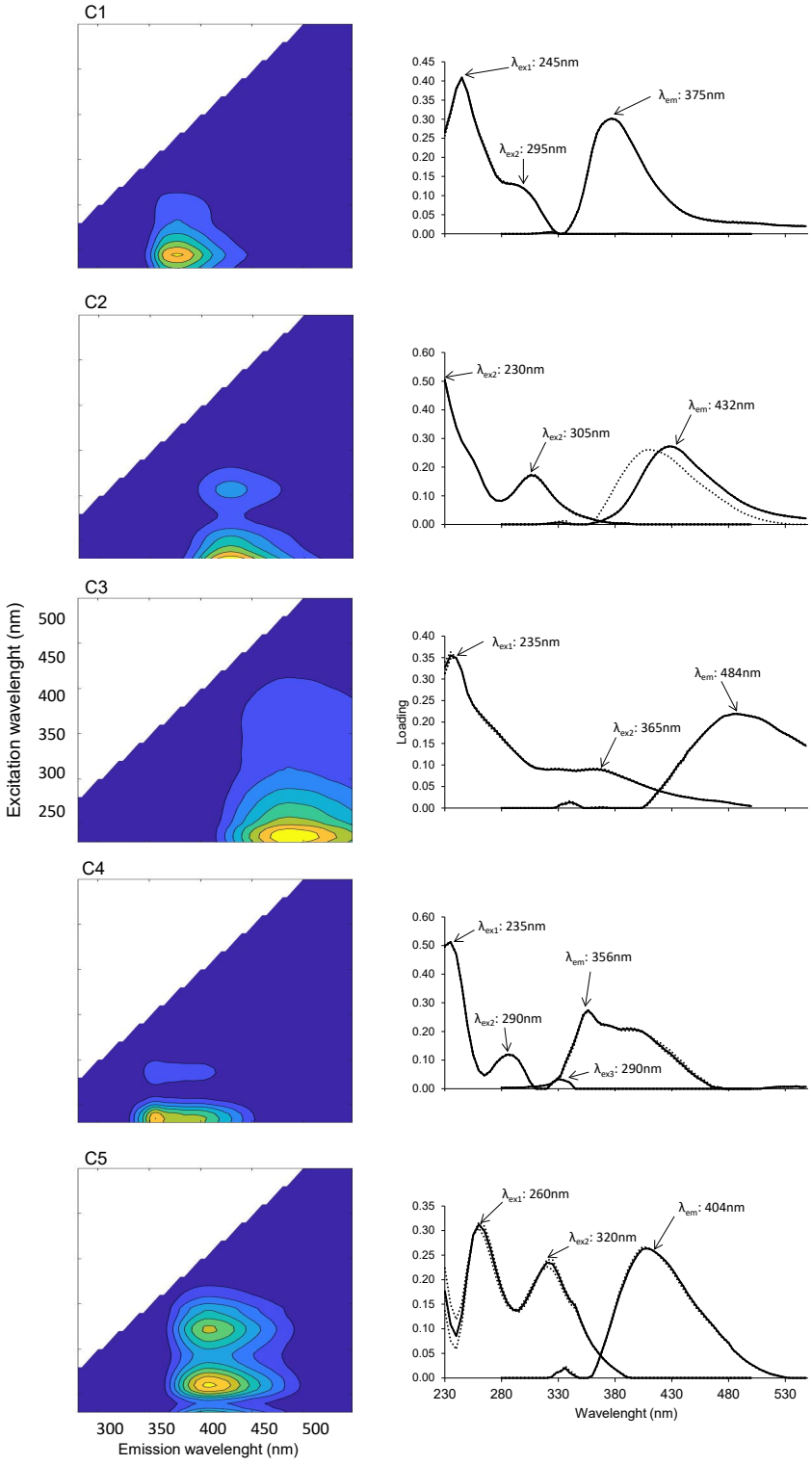
**Annexe 12.** Abondances relatives (en %) des éléments traces métalliques dissous (d-TM) au début (T0) (a) et à la fin (T6 : 90 jours) (b) de l'expérience de biodégradation pour les quatre traitements biotiques : C (contrôle), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (diesel oxydé), $D_{SHIP}$ (suie de navire), et $D_{SHIP\text{-}Ab}$ (suie de navire « abiotique »).



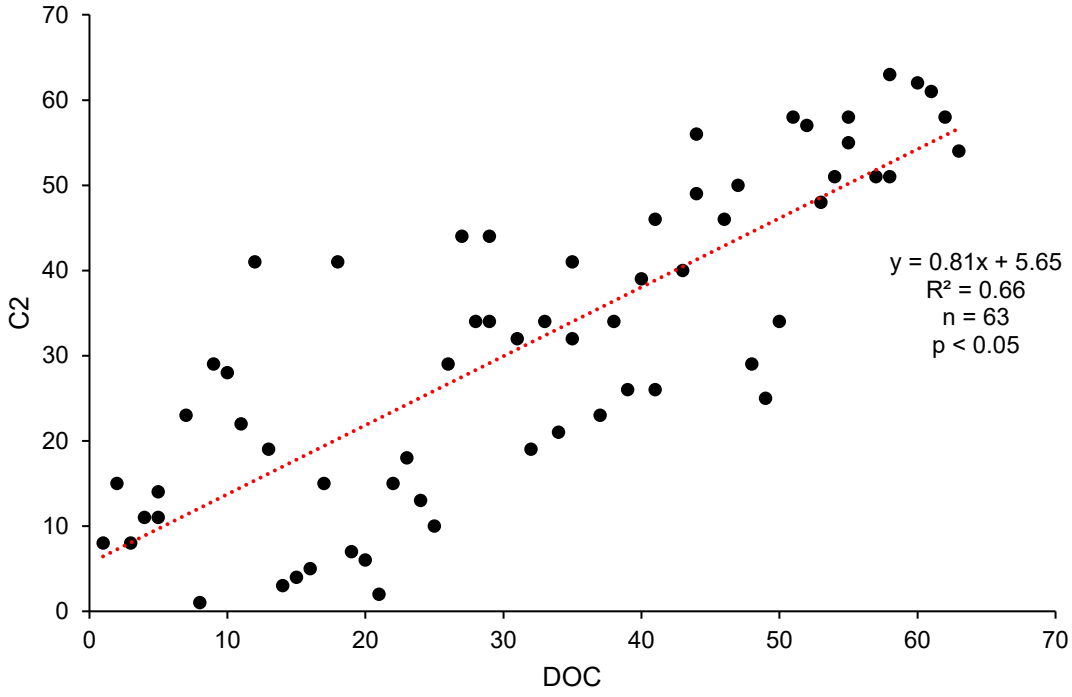
**Annexe 13.** Évolution du carbone organique dissous (DOC) en % par rapport à la concentration initiale à T0 (100%) (c, d), tout au long de l'expérience de biodégradation de la DOM dérivée de BC (jusqu'à T6 : 90 jours) (a, c) ou durant les 7 premiers jours (jusqu'à T4 : 7 jours) (b, d) pour les quatre traitements biotiques : C (contrôle), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (diesel oxydé), $D_{SHIP}$ (suie de navire), et $D_{SHIP\text{-}Ab}$ (suie de navire « abiotique »). Les barres d'erreur correspondent à l'écart-type des triplicats.



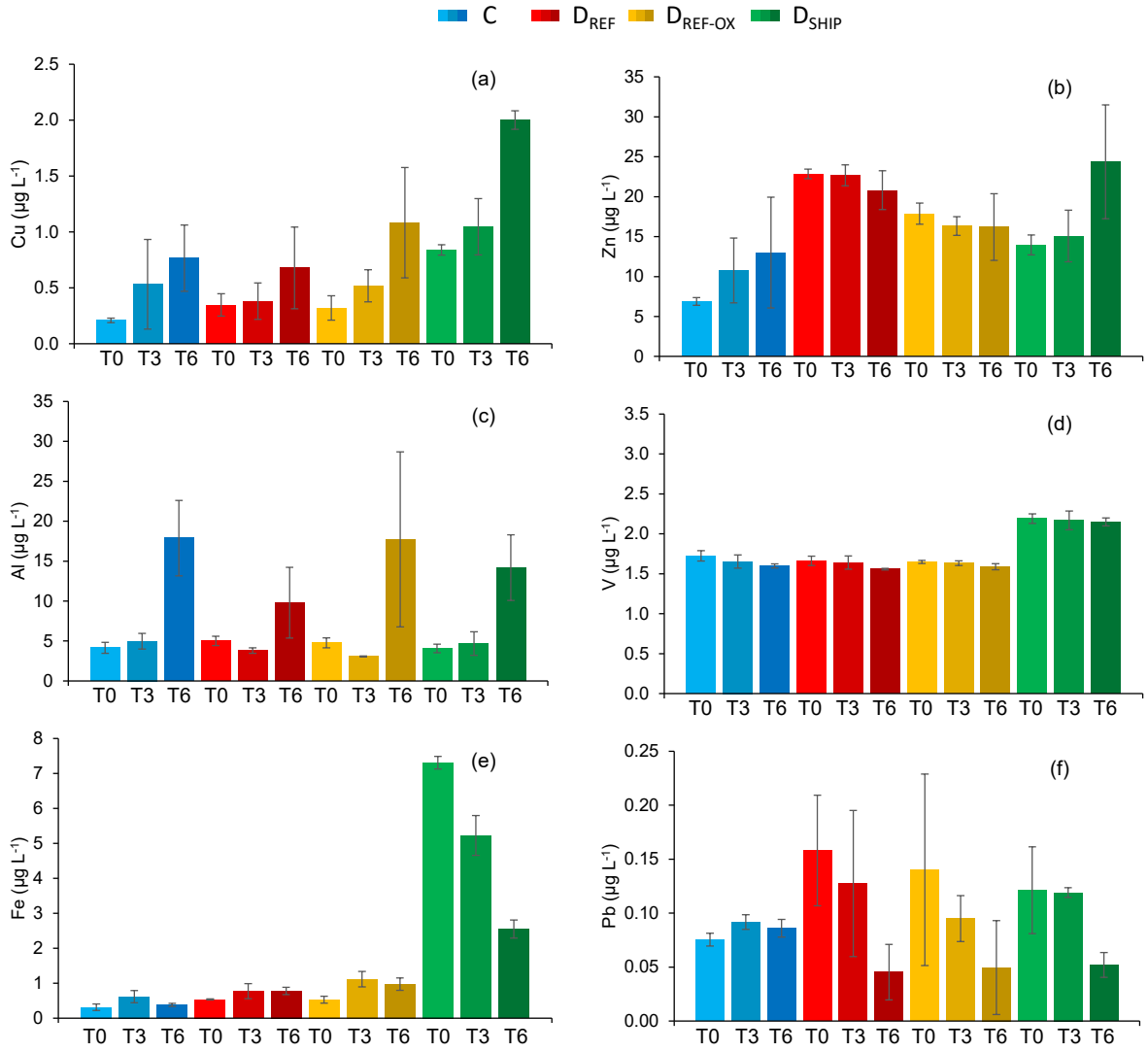
**Annexe 14.** Caractéristiques spectrales des cinq composants FDOM (C1-C5) validés par le modèle PARAFAC pour 105 MEEFs d'échantillons prélevés tout au long de l'expérience de biodégradation (de T0 à T6) pour les différents traitements de BC ($D_{REF}$, $D_{REF-OX}$ et $D_{SHIP}$). Les graphiques en ligne montrent les spectres de fluorescence d'excitation (à gauche) et d'émission (à droite). Les lignes pointillées correspondent aux résultats de validation par fractionnement en deux moitiés. Les maxima d'excitation et d'émission (λEx et λEm) de chaque composant sont donnés.



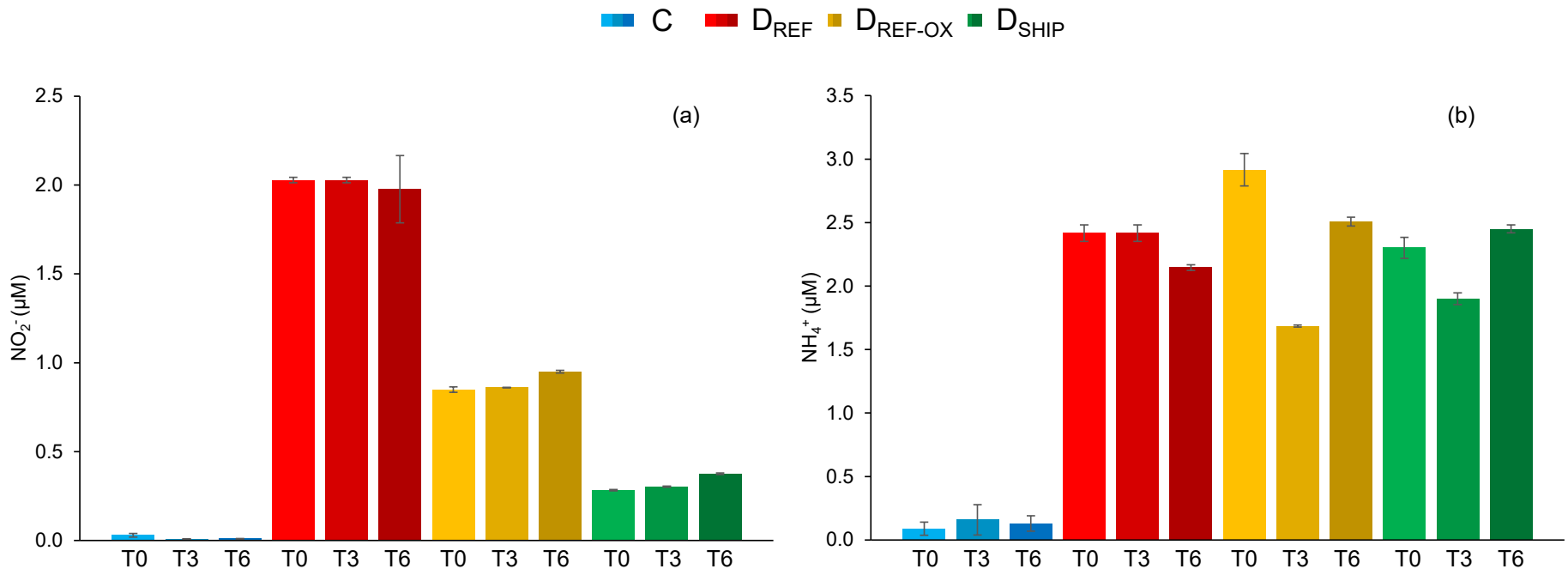
**Annexe 15.** Corrélation de Spearman entre la concentration de carbone organique dissous (DOC, en µM) et l'intensité de fluorescence du composant FDOM C2 (en QSU, $\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ : 305/432 nm), au cours de l'expérience de biodégradation, tous les temps (de T0 à T6) et traitements de BC ($D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ et $D_{SHIP}$) combinés (n = 63).



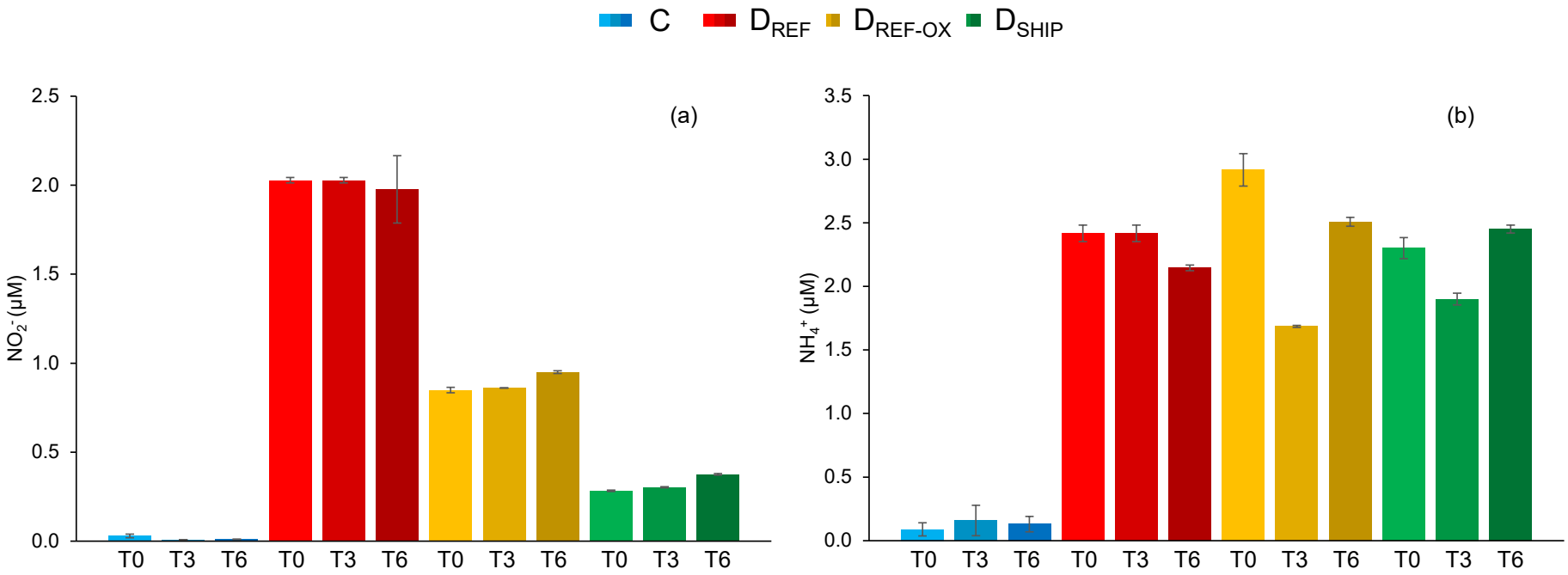
**Annexe 16.** Concentrations de plusieurs éléments traces métalliques dissous individuels (d-TM, en µg $L^{-1}$) au début (T0), après 3 jours (T3) et à la fin (T6 : 90 jours) de l'expérience de biodégradation : cuivre (Cu) (a), zinc (Zn) (b), aluminium (Al) (c), vanadium (V) (d), fer (Fe) (e) et plomb (Pb) (f), pour les quatre traitements biotiques : C (contrôle), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF-OX}$ (diesel oxydé) et $D_{SHIP}$ (suie de navire). Les barres d'erreur correspondent à l'écart-type des triplicatas.



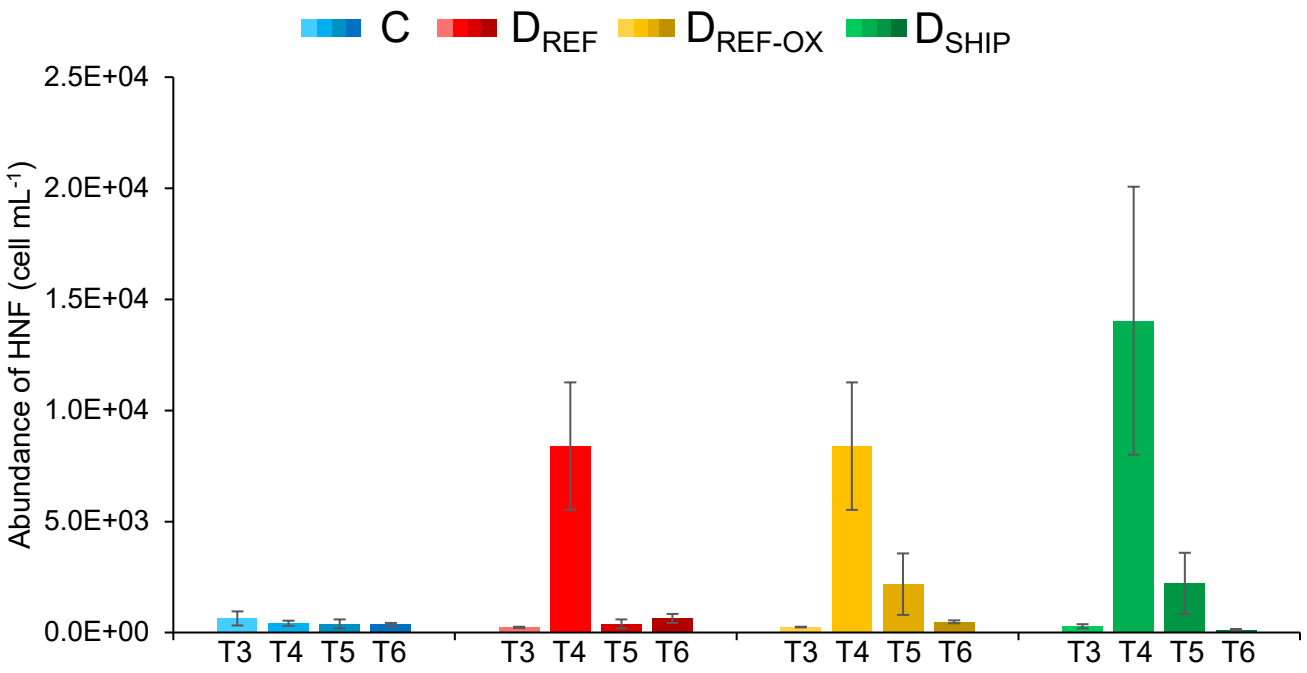
**Annexe 17.** Concentrations d'azote organique dissous (DON, en µM) (a) et de phosphore organique dissous (DOP, en µM) (b) au début (T0) et à la fin (T6 : 90 jours) de l'expérience de biodégradation pour les quatre traitements biotiques : C (contrôle), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF-OX}$ (diesel oxydé) et $D_{SHIP}$ (suie de navire). Les barres d'erreur correspondent à l'écart-type des triplicatas.



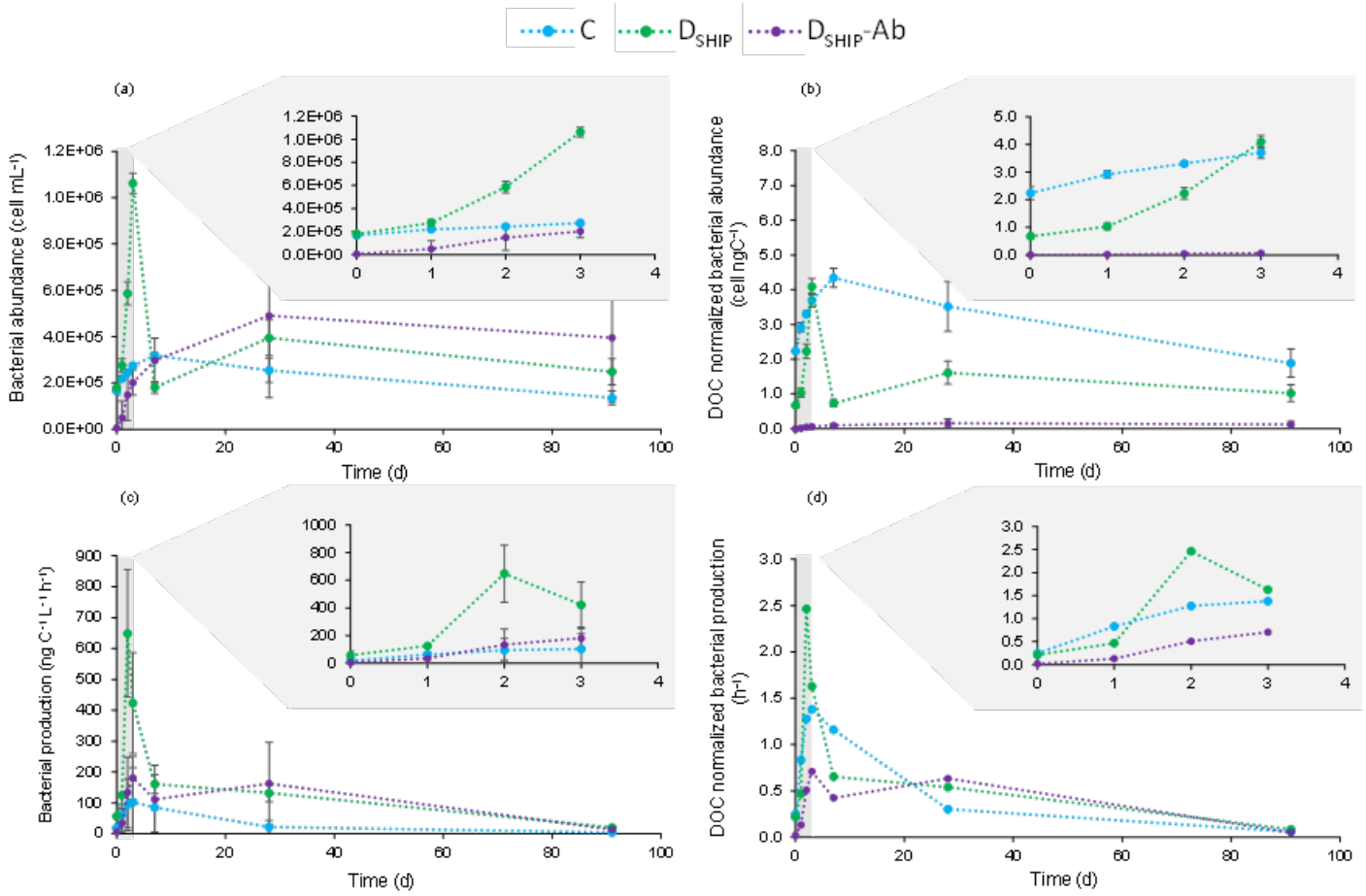
**Annexe 18.** Concentrations de nitrites dissous ($NO_2^-$, en µM) (a) et d'ammonium dissous ($NH_4^+$, en µM) (b) au début (T0), après 3 jours (T3) et à la fin (T6 : 90 jours) de l'expérience de biodégradation pour les quatre traitements biotiques : C (contrôle), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF-OX}$ (diesel oxydé) et $D_{SHIP}$ (suie de navire).



**Annexe 19.** Concentrations de nanoflagellés hétérotrophes (HNF, en cellules $mL^{-1}$) après 3 jours (T3), 7 jours (T4), 28 jours (T5) et à la fin (T6 : 90 jours) de l'expérience de biodégradation pour les quatre traitements biotiques : C (contrôle), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF-OX}$ (diesel oxydé) et $D_{SHIP}$ (suie de navire). Les barres d'erreur correspondent à l'écart-type des triplicatas.



**Annexe 20.** Évolution temporelle de (a) l'abondance bactérienne (cellules $mL^{-1}$), (b) l'abondance bactérienne normalisée par rapport au DOC (cellules ng $C^{-1}$), la production bactérienne (ng C $L^{-1}$ $h^{-1}$) et (c) la production bactérienne normalisée par rapport au DOC ($h^{-1}$) (d) tout au long de l'expérience de biodégradation de DOM dérivé de BC (jusqu'à T6 : 90 jours), avec un focus sur les 3 premiers jours (jusqu'à T3 : 3 jours), pour C (contrôle), DSHIP (suie de navire) et DSHIP-Ab (condition abiotique avec suie de navire). Les barres d'erreur correspondent à l'écart-type des triplicatas.



# Articles scientifiques

Science of the Total Environment 901 (2023) 165802

Contents lists available at ScienceDirect

Science of the Total Environment

journal homepage: www.elsevier.com/locate/scitotenv

# Assessing the bioavailability of black carbon-derived dissolved organic matter for marine heterotrophic prokaryotes

Pauline L. Martinot [a,c,*], Catherine Guigue [a,c], Sandrine Chifflet [a], Philippe Cuny [a], Aude Barani [a], Morgane Didry [a], Clara Dignan [b], Léa Guyomarc'h [a], Nathalie Pradel [a], Olivier Pringault [a], France Van Wambeke [a], Cam Tu Vu [c], Xavier Mari [a,c], Marc Tedetti [a,c]

[a] Aix Marseille Université, Université de Toulon, CNRS, IRD, MIO, Marseille, France
[b] Université de Toulon, Aix Marseille Université, CNRS, IRD, MIO, Toulon, France
[c] Water - Environment - Oceanography (WEO) Department, University of Science and Technology of Hanoi (USTH), Vietnam Academy of Science and Technology (VAST), Hanoi, Viet Nam

ARTICLE INFO

Editor: Jose Julio Ortega-Calvo

*Keywords:*
Black carbon
Soot
Dissolved organic matter
Marine prokaryotes
Bioavailability
Bacterial degradation

ABSTRACT

Here we investigated the bioavailability of black carbon (BC)-derived dissolved organic matter (DOM) for a natural mixed community of marine heterotrophic prokaryotes. We ran an in vitro biodegradation experiment that took place over 3 months and exposed a community of organisms collected in the northwestern Mediterranean Sea (Bay of Marseille, France) to three different soluble fractions of BC prepared in the laboratory from various fossil fuel combustion particulates: standard diesel ($D_{REF}$), oxidized diesel ($D_{REF\text{-}OX}$), and natural samples of ship soot ($D_{SHIP}$). Over the course of the three months, we observed significant decreases in the concentrations of dissolved organic carbon (DOC; from 9 to 21 %), dissolved BC (DBC; from 22 to 38 %) and dissolved polycyclic aromatic hydrocarbons (d-PAH; from 24 to 64 %) along with variability in the growth dynamics and activity of the heterotrophic prokaryotic community. The heterotrophic prokaryotic community exposed to $D_{REF\text{-}OX}$ treatment showed the highest values of respiration and production and the highest cell abundance, associated with the highest decrease in DOC (21 %) and d-PAH (64 %) concentrations. In the $D_{REF}$ and $D_{SHIP}$ treatments, prokaryotic activity was oriented towards anabolism. $D_{REF}$ treatment led to the highest decrease in DBC concentration (38 %). $D_{SHIP}$ treatment, which presented a substantially different d-PAH and dissolved metals content to the other two treatments, showed the lowest decreases in DOC, DBC and d-PAH concentrations, as well as the lowest prokaryotic activity and biomasses. Our results indicate that BC-derived DOM, including the most condensed fraction of this material, is partly bioavailable and therefore likely to be assimilated by marine prokaryotes. The origin of BC/soot deposited at the ocean surface turns out to be a key parameter that dictates the efficiency of biodegradation of its dissolved fraction by heterotrophic prokaryotes.

## 1. Introduction

Black carbon (BC), also known as soot carbon, is composed of light-absorbing carbonaceous aerosol particles formed during the incomplete combustion of fossil fuels, biofuels, biomass and waste (Masiello, 2004; Velis and Cook, 2021). BC has recently received growing attention due to its impacts on climate and human health (Coppola et al., 2022). Part of the BC produced is emitted to the atmosphere while another fraction remains on the sites of combustion, but both fractions ultimately make their way into aquatic environments through atmospheric deposition and/or river inputs (Bond et al., 2013; Coppola et al., 2018). In aquatic environments, BC is partitioned between particulate and dissolved phases according to its solubility and hydrophobicity (Wagner et al., 2017). Dissolved organic matter (DOM) derived from BC particles, which corresponds to the BC material passing through a filter of pore size between 0.2 and 0.7 μm, encompasses a heterogeneous set of pyrogenic organic molecules issued from the combustion continuum, ranging from non-aromatic, sugar-like compounds to polycondensed aromatic compounds (Wagner et al., 2018). Within this pool of pyrogenic compounds, dissolved BC (DBC) is assumed to be "only" composed of polycondensed aromatic molecules, as assessed by benzenepolycarboxylic acid (BPCA) or chemothermal oxidation (CTO) methods

* Corresponding author at: Aix Marseille Université, Université de Toulon, CNRS, IRD, MIO, Marseille, France.
*E-mail address:* pauline.martinot@mio.osupytheas.fr (P.L. Martinot).

https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165802
Received 27 April 2023; Received in revised form 1 July 2023; Accepted 24 July 2023
Available online 29 July 2023
0048-9697/© 2023 Elsevier B.V. All rights reserved.

(Wagner et al., 2021).

DBC is now recognized as a major (slow-cycling) component of the global carbon budget (Mannino and Harvey, 2004; Dittmar and Paeng, 2009; Jaffé et al., 2013; Bao et al., 2017). DBC is ubiquitous in natural waters and has been reported from inland to oceanic waters, including rivers (Stubbins et al., 2015; Wagner et al., 2019; Jones et al., 2020), streams (Yamashita et al., 2021), submarine groundwater (Seidel et al., 2014), estuaries (Mannino and Harvey, 2004), coastal waters (Coppola et al., 2015; Fang et al., 2017, 2021), the sea surface microlayer (Mari et al., 2014, 2017), open ocean (Ziolkowski and Druffel, 2010; Nakane et al., 2017; Mori et al., 2021) and deep ocean (Dittmar and Koch, 2006; Stubbins et al., 2012; Coppola and Druffel, 2016). The amount of DBC held in the ocean is estimated at ~12–14 Pg C (Dittmar and Paeng, 2009; Coppola and Druffel, 2016; Wagner et al., 2018; Coppola et al., 2022), which represents ~2 % of the total pool of oceanic DOM (~650 Pg C; Moran et al., 2016). However, although DBC is an essential component of the carbon cycle, little is known about its transformation processes and fate in marine waters (Wagner et al., 2018; Qi et al., 2020; Coppola et al., 2022).

DBC has a chemical structure based on polycondensed aromatics compounds that makes it highly photoreactive (Stubbins et al., 2012, 2015), and it is also thought to be considered biorefractory for heterotrophic prokaryotes. However, the actual bioavailability and impact of DBC or BC-derived DOM for/on marine prokaryotes remains to be described. Recent research has reported that BC-derived DOM obtained from leachate experiments on wood charcoal, charred oak and biochar was bioavailable for soil and river microbial consortia (Qi et al., 2020; Bostick et al., 2021; Wagner et al., 2021; Goranov et al., 2022). This biodegradation was attributed to the low-molecular-weight (LMW) organic constituents (biomolecules) of the BC-derived DOM, whereas the true DBC, i.e. its polycondensed aromatic fraction determined by the BPCA method, appeared to be more resistant to microbial degradation (Bostick et al., 2021; Wagner et al., 2021; Yamashita et al., 2022). However, Qi et al. (2020) and Goranov et al. (2022) asserted the aromatic fraction of the BC-derived DOM could be bioavailable and thus get assimilated and integrated into the biomass of the microbial community. They went on to stress that the origin of the pyrogenic material from which the DOM is derived plays an important role in its molecular composition and thus its potential uptake and biodegradation by heterotrophic prokaryotes. Within the spectrum of molecules produced during combustion processes, high-molecular-weight (HMW)/pyrogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are likely to be part of the DBC pool (Wagner et al., 2018; Fang et al., 2021), which makes them a relevant parameter for investigating the microbial assimilation of the aromatic fraction of DOM derived from BC (Liu et al. 2016; Djaoudi et al., 2020). These observations highlight the need for further investigation into the biological reactivity for marine prokaryotes of BC-derived DOM and DBC from BC material of various origins, from biomasses to fossil fuels.

In this context, this study aims to investigate the composition, potential bioavailability and impact of BC-derived DOM for marine heterotrophic prokaryotes. We conducted an in vitro biodegradation experiment during 90 days on a prokaryotic assemblage collected in coastal Mediterranean waters exposed to DOM derived from various BC soot originating from fossil fuels. During this 90-day biodegradation experiment, subsamples were taken for the determination of various chemical parameters, including dissolved organic carbon (DOC), DBC (based on the BPCA method), PAHs, chromophoric dissolved organic matter (CDOM) and fluorescent dissolved organic matter (FDOM), and various key microbiological parameters, i.e. abundance, production, and respiration of marine heterotrophic prokaryotes.

## 2. Material and methods

### 2.1. Seawater sampling and filtration

To carry out the BC-derived DOM biodegradation experiment, seawater was collected and filtered to prepare 1) natural DOM solutions (0.2-μm-filtered seawater), 2) BC-derived DOM stock solutions (made from mixing various BC materials with 0.2-μm-filtered seawater), and 3) the natural prokaryotic assemblage, i.e. concentrated bacterial inoculum (made from 0.8-μm-filtered seawater). Seawater was sampled at 5-m depth at the *Site d'Observation Littoral pour l'Environnement du MIO* (SOLEMIO) station (43.24°N, 5.29°E) located in the bay of Marseille (south of France) in the northwestern Mediterranean Sea (Fig. S1).

For the natural DOM solutions and BC-derived DOM stock solutions, 60 L of seawater was collected on board the R/V *Antédon 2* on May 5, 2021 (Fig. S2) using a pneumatically-operated Teflon ASTI pump. The seawater was pumped on board in Teflon tubing and then filtered in-line onto a pre-combusted 142-mm glass fiber filter (GF/F, Whatman®). The GF/F-filtered seawater was stored in three pre-cleaned 20-L polycarbonate (Nalgene®) bottles that were rinsed three times with seawater before filling. Back in the laboratory, this pumped and filtered seawater was transferred into 12 pre-combusted 5-L glass (Schott®) bottles (Fig. S2). DOC concentration of the GF/F-filtered seawater was 80 μM (Table S1).

Around 7 L of the GF/F-filtered seawater was used to prepare the BC-derived DOM stock solutions by immediately filtering at 0.2 μm through a Polycap TF PTFE capsule filter (0.2 μm, 1000 $cm^2$, Whatman®) assembled on a peristaltic pump line with silicon tubing for water circulation (Fig. S2). The filtration assembly was extensively rinsed with 20 L of ultrapure water (Milli-Q water, final resistivity: 18.2 MΩ cm), then rinsed with 1 L of GF/F-filtered seawater before collecting 6 L of 0.2-μm-filtered seawater into pre-combusted glass bottles. This 0.2-μm-filtered seawater, which had a DOC concentration of 82 μM (Table S1), was used to prepare BC-derived DOM stock solutions (Fig. S2) and was stored at 4 °C in the dark before use (see Section 2.2).

Around 53 L of the GF/F-filtered seawater was used to study natural DOM. This filtered seawater was kept in the laboratory in the 5-L glass bottles for around two weeks at 20 °C in the dark to be slightly 'aged' to reduce the background levels of organic carbon in water (Nyholm and Kristensen, 1991; Wennberg et al., 2022). The bottles were opened and stirred at regular intervals. On 21 May 2021, ~40 L of this GF/F-filtered seawater was filtered at 0.2 μm through the Polycap TF PTFE capsule filter as described above, and the 0.2-μm-filtered seawater thus recovered was stored in pre-combusted 5-L glass bottles (Fig. S2). Subsampling was conducted for determinations of DOC and inorganic nutrient

concentrations. DOC concentration ranged from 70 to 75 μM. Silicate [$Si(OH)_4$] concentration ranged from 5.2 to 6.8 μM. Nitrate ($NO_3^-$), nitrite ($NO_2^-$), ammonium ($NH_4^+$) and phosphate ($PO_4^{3-}$) concentrations were very low (<0.04 μM) (Table S1).

The remaining slightly aged GF/F filtered seawater (~13 L) was also filtered onto 0.2 μm (on May 25, 2021), but in sterile conditions under a low vacuum (<50 mmHg) with a 0.2-μm polycarbonate filter (47-mm diameter, Nuclepore), extensively rinsed with 10 % hydrochloric acid (HCl), ultrapure water and seawater before use, mounted on a 47-mm polysulfone filtration system allowing the collection of the filtrate directly into a glass bottle. Sterile conditions were followed by autoclaving all the equipment (filtration system, glass bottles…) and working as much as possible under a laminar flow hood. The 0.2-μm filtered seawater retrieved was stored in three pre-combusted 2-L glass bottles (filled to 1.90 L) and used as natural DOM for the treatment without addition of the bacterial inoculum (Fig. S2). All bottles were stored at 20 °C in the dark a few hours before being used to prepare the incubation solutions and the subsequent biodegradation experiment (see Section 2.3).

For preparation of the concentrated bacterial inoculum, 12 L of

seawater was collected on 31 May 2021 (Figs. S1, S2) with a GO-FLO bottle and stored in a pre-cleaned 20-L polycarbonate bottle. Back in the laboratory, 10 L of this seawater was filtered under low vacuum via a 47-mm glass filtration unit onto 0.8-μm and then 0.2-μm polycarbonate filters (Nuclepore) that had been extensively rinsed before use. The 0.2-μm filters containing the natural prokaryote assemblage were resuspended into 780 mL of 0.8-μm-filtered seawater stored in a pre-combusted 1-L glass bottle (Fig. S2). Cytometry measurements served to ensure a sufficient concentration of marine prokaryotes in the solution ($4.55.10^6$ cell $mL^{-1}$) to conduct the biodegradation experiment. DOC concentration in this solution was 88 μM (Table S1). The concentrated bacterial inoculum was stored for a few hours at 20 °C in the dark before being used to prepare the incubation solutions and for the subsequent biodegradation experiment (see Section 2.3).

### 2.2. Preparation of the BC-derived DOM stock solutions

Three different BC-type materials were used for this biodegradation experiment. **1)** A Diesel Particulate Matter (DPM) standard reference material (NIST® SRM® 2975) purchased from Sigma-Aldrich, which is a standard reference for diesel exhaust particles (DEP) generated by diesel-powered industrial forklift and collected by a particular filtering system (Wright et al., 1991; Singh et al., 2004; Farahani et al., 2021), hereafter referred to as "$D_{REF}$". **2)** A DPM that had been oxidized before use, hereafter referred to as "$D_{REF\text{-}OX}$". For $D_{REF\text{-}OX}$, oxidation was performed by exposing DPM to an ultraviolet C (UVC) lamp (Pen-Ray® mercury discharge lamp; 185 nm, 1.38 W) (Saiz-Lopez et al., 2004; Bale et al., 2008) derived from a SOG-1 ozone generator (UVPA97, Analytik Jena). DPM (from 204 to 500 mg) was placed in the bottom of a 250-mL glass bottle, with the UVC lamp housed in its quartz tube placed above. The DPM was exposed to UVC for ~8 h. **3)** Soot collected in February 2021 in the chimney of a merchant ship (length: 140 m, width: 25 m, load capacity: 22,000 tons) running on heavy fuel oil (HFO) that was moored in Haiphong harbor, the leading seaport of northern Vietnam. This soot is hereafter referred to as "$D_{SHIP}$" (Fig. S2).

To obtain the desired DOC concentrations in the BC-derived DOM stock solutions, fairly large quantities of $D_{REF}$ and $D_{REF\text{-}OX}$ particles (which are strongly hydrophobic materials) were gradually added into the previously-prepared 0.2-μm-filtered seawater. Between 243 and 783 mg of $D_{REF}$ particles and between 204 et 500 mg of $D_{REF\text{-}OX}$ particles were then introduced into their respective 2-L glass bottles, and the solutions were placed in an ultrasonic bath for ~3 h to solubilize the particles. The solubilized solutions were then filtered onto a pre-combusted 47-mm GF/F filter. DOC concentration was measured on the GF/F filtered solutions. The procedure (addition of particles, ultrasonic bath, filtration, DOC measurement) was repeated four times for $D_{REF}$ particles and three times for $D_{REF\text{-}OX}$ particles to reach the targeted DOC concentrations (see below). Overall, 2326 mg of $D_{REF}$ particles and 1287 mg of $D_{REF\text{-}OX}$ particles were introduced into 1 L of 0.2-μm-filtered seawater (Fig. S3). $D_{SHIP}$ particles, which were much more water-soluble than $D_{REF}$ and $D_{REF\text{-}OX}$ particles, were introduced at once (713 mg) (Fig. S3). The three GF/F-filtered solutions were finally filtered at 0.2 μm to provide the 1-L BC-derived DOM stock solutions of the three materials ($D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$, $D_{SHIP}$). These stock solutions were prepared on 18 May 2021 (Fig. S2).

In these BC-derived DOM stock solutions, the DOC concentrations related to addition of BC were 1763, 2276 and 3938 μM for the $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ and $D_{SHIP}$ materials, respectively. The concentrations of inorganic nutrients in these three solutions are reported in Table S1. The solutions were stored for a few hours at 20 °C in the dark before being used to prepare the incubation solutions and for the subsequent biodegradation experiment (see Section 2.3).

### 2.3. Preparation of the incubation solutions and biodegradation experiment

Five treatments were prepared and incubated for 90 days in triplicate (giving 15 incubation bottles): four biotic conditions (with presence of the bacterial inoculum) and one "abiotic" condition (without the bacterial inoculum). The four biotic conditions were $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ and $D_{SHIP}$ treatments (= natural DOM solution + BC-derived DOM stock solution from $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ or $D_{SHIP}$ + bacterial inoculum), and a control treatment ("C") without added BC-derived DOM (= natural DOM solution + bacterial inoculum) (Fig. S2). The abiotic condition was $D_{SHIP\text{-}Ab}$: $D_{SHIP}$ treatment without the bacterial inoculum (= natural DOM solution + BC-derived DOM stock solution from $D_{SHIP}$).

The incubation solutions were prepared on 1 June 2021 in the pre-combusted 5-L glass bottles (for C, $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ and $D_{SHIP}$ treatments) or 2-L glass bottles (for $D_{SHIP\text{-}Ab}$ treatment) containing the natural marine DOM at volumes of 2900–3270 mL (for C, $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$, $D_{SHIP}$) or 1900 mL (for $D_{SHIP\text{-}Ab}$) (Table 1). The BC-derived DOM stock solutions were added at volumes of 100–370 mL. Then, 60 mL of the concentrated bacterial inoculum solution was added to each incubation bottle for C, $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ and $D_{SHIP}$ treatments, and stock solutions of $NO_3^-$ and $PO_4^{3-}$ were added at volumes of 0–1 mL. The final overall volumes of incubation solution were ~ 3330 mL for C, $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ and $D_{SHIP}$ treatments, and 2000 mL for $D_{SHIP\text{-}Ab}$ (Fig. S2; Table 1). The incubation bottles were shaken gently for a few minutes to thoroughly mix the solutions.

We thus obtained final concentrations of ~200 μM BC-derived DOC and ~270 μM total DOC (i.e. BC-derived DOC + natural DOM-derived DOC + bacterial inoculum-derived DOC) for the $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ and $D_{SHIP}$ treatments and 73 μM DOC for the C treatment. These final concentrations of 200 μM BC-derived DOC in the incubation solutions were in line with DOC concentrations measured in coastal marine waters strongly impacted by atmospheric and riverine inputs of BC, i.e. up to 133 μM DOC in surface water and up to 279 μM DOC in the surface microlayer of Halong Bay, Vietnam (Mari et al., 2017). $NO_3^-$ and $PO_4^{3-}$ were added in the incubation solutions to avoid inorganic nutrient limitation during the 90-day biodegradation experiment. The theoretical final concentrations of DOC and dissolved inorganic nutrients in the incubation solutions are reported in Table S2.

Once the incubation solutions were well-mixed, the first sampling point was performed (T0; on 1 June 2021), after which the C, $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ and $D_{SHIP}$ solutions (in 5-L bottles) were transferred into 2.5-L pre-combusted amber glass bottles. Incubation was carried out for 90 days in the dark in a thermostatic room at 20 °C, with the 15 bottles opened and shaken at regular intervals. Sampling points were performed on the 1st (T1), 2nd (T2), 3rd (T3), 7th (T4), 30th (T5) and 90th day (T6; on 31 August 2021) to determine the key chemical and microbiological parameters (Tables S3, S4). One part of this sampled water was

**Table 1**
Volumes (in mL) of the different solutions added (natural DOM, BC-derived DOM stock solutions, bacterial inoculum, $NO_3^-$ and $PO_4^{3-}$ stock solutions) for preparation of the incubation solutions used to carry out the 90-day experiment on biodegradation of BC-derived DOM by marine heterotrophic prokaryotes under five treatments in triplicate (three bottles): C (control), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (oxidized diesel), $D_{SHIP}$ (ship soot), and $D_{SHIP\text{-}Ab}$ ("abiotic" ship soot).

| | C | $D_{REF}$ | $D_{REF\text{-}OX}$ | $D_{SHIP}$ | $D_{SHIP\text{-}Ab}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| Natural DOM | 3270 | 2900 | 2980 | 3100 | 1900 |
| BC-derived DOM stock solutions | 0 | 370 | 290 | 170 | 100 |
| Bacterial inoculum | 60 | 60 | 60 | 60 | 0 |
| $NO_3^-$ stock solution (39 mM) | 1 | 0.5 | 0.6 | 0.8 | 0.5 |
| $PO_4^{3-}$ stock solution (5.7 mM) | 1 | 0 | 0.5 | 0.9 | 0.5 |
| Total vol. of incubation solutions | 3332 | 3331 | 3331 | 3332 | 2000 |

immediately filtered under a low vacuum onto GF/F filters for subsequent analyses of DOC, dissolved organic nitrogen (DON), dissolved organic phosphorous (DOP), CDOM and FDOM, DBC, dissolved PAHs (d-PAHs), and dissolved inorganic nutrients (NUT), or onto pre-cleaned 0.2-μm polyesthersulfone syringe filters (SUPOR Acrodisc) in an ISO-5-class cleanroom for subsequent analyses of dissolved trace elements (d-TM). Aliquots were also sampled without filtration for subsequent analyses/measurements of bacterial abundance (BA), production (BP), respiration (BR) and abundance of heterotrophic nanoflagellates (Tables S3, S4).

### 2.4. Analyses

#### 2.4.1. Dissolved organic carbon (DOC)

GF/F-filtered samples were transferred into 20-mL pre-combusted glass vials with clean Teflon-lined caps and acidified with 20 μL of sulfuric acid ($H_2SO_4$; 95 %, Sigma Aldrich). The vials were stored a few days at 4 °C in the dark before analysis. DOC concentrations were determined by high-temperature platinum (Pt)-catalyzed oxidation coupled to non-dispersive infrared gas detection of carbon dioxide ($CO_2$) using a Shimadzu TOC-V carbon analyzer as per Sohrin and Sempéré (2005) and Fourrier et al. (2022). Before injection, the samples were bubbled for 2 min with $CO_2$-free air to purge inorganic carbon. The accuracy of the instrument and the system blank were determined by analysis of certified water references (batch 10–19, Hansell Laboratory). The nominal precision of the analysis procedure was within 2 %.

#### 2.4.2. Chromophoric dissolved organic matter (CDOM)

GF/F-filtered samples were transferred into 20-mL pre-combusted glass vials with clean Teflon-lined caps and stored at 4 °C until analysis. For the analyses, the samples were brought to room temperature (20 °C) in the dark and then transferred into a 1-cm Suprasil quartz cuvette for absorbance measurements on a Shimadzu UV–Visible 2450 spectrophotometer (Ferretto et al., 2017; Tedetti et al., 2020). Absorbance spectra were generated in single beam mode at between 200 and 800 nm with a wavelength interval of 1 nm, a slit width of 1 nm, and a scan speed of 230 nm $min^{-1}$. Between each analysis, the cuvette was successively rinsed with ultrapure water, methanol, ultrapure water, and finally the sample. The precision of the absorbance measurements was >97 % over the range 220–700 nm.

The absorbance values were corrected for blank and baseline drift, and then converted into CDOM absorption coefficients [$a_{CDOM}(\lambda)$ in $m^{-1}$] (Ferretto et al., 2017). The spectral slope coefficients between 275 and 295 nm ($S_{275–295}$ in $nm^{-1}$) and between 350 and 400 nm ($S_{350–400}$ in $nm^{-1}$) and the slope ratio (Sr: $S_{275–295}/S_{350–400}$) were determined as per Helms et al. (2008). The specific UV absorbance at 254 nm ($SUVA_{254}$, in L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$) was calculated as $a_{CDOM}(254)$ divided by DOC concentration (in mg C $L^{-1}$), as per Weishaar et al. (2003).

#### 2.4.3. Fluorescent dissolved organic matter (FDOM)

Sample storage conditions were the same as for CDOM measurements. For the analyses, the samples were brought to 20 °C in the dark and then transferred into a 1-cm Suprasil quartz cuvette for fluorescence measurements using a Hitachi F-7000 spectrofluorometer. Excitation-emission matrices (EEMs) were generated over an excitation wavelength ($\lambda_{Ex}$) range of 200–500 nm at 5-nm intervals and an emission wavelength ($\lambda_{Em}$) range of 280–550 nm at 2-nm intervals, a scan speed of 1200 nm $min^{-1}$, slit widths of 5 nm, and a PMT voltage of 700 V (Tedetti et al., 2012, 2016; Martias et al., 2018). The cuvette was rinsed between each sample as for CDOM.

The EEMs were normalized to the water Raman scatter peak, corrected for inner filtering effects using absorption measurements and Ohno (2002)'s formula, blank-corrected by subtracting the ultrapure water EEMs, and converted into quinine sulfate units (QSU) (Coble, 1996; Murphy et al., 2008). EEMs were then processed using parallel factor analysis (PARAFAC) in DOMFluor toolbox v1.6. running under MATLAB 9.11 (R2021b) as per Stedmon and Bro (2008). We also determined two fluorescence indices: humic index (HIX) (Zsolnay et al., 1999; Ohno, 2002), and biological index (BIX) (Huguet et al., 2009).

#### 2.4.4. Dissolved black carbon (DBC)

DBC was analyzed as benzenepolycarboxylic acids (BPCAs) after nitric acid oxidation following the method of Dittmar (2008). GF/F-filtered samples were transferred into 500-mL pre-combusted glass (Schott®) bottles with clean Teflon-lined caps and stored at −20 °C until analysis. After defrosting at room temperature, the samples were acidified to pH 2 with HCl, and then passed through a Bond-Elut PPL type cartridge (1 g, 6 mL, Agilent Technologies) at a flow rate of 3 mL $min^{-1}$ for solid-phase extraction (SPE) of DOM (Dittmar et al., 2008). The cartridge was then rinsed with 10 mL of acidified ultrapure water, dried under nitrogen stream, and finally eluted with 10 mL of methanol. The extracts were reduced in volume then introduced into 5-mL glass ampoules and evaporated to dryness. A volume of 0.5 mL of nitric acid ($HNO_3$; 70 %, redistilled, Sigma) was added to the ampoules that were then sealed and placed in a DAB-3-250-mL stainless steel digestion reactor equipped with a 250-mL PTFE insert. Five mL of water were added to the insert so that the ampoules did not explode during the nitric-oxidation of the DOM. The reactor was then placed in an oven at 170 °C for 6 h. The reactor was then left to cool back down to room temperature, then opened under an extractor hood. The ampoules were cooled for a few minutes at −18 °C, then opened.

The oxidized extracts were taken up in a few hundred mL of methanol. An internal quantification standard, biphenyl-2,2′-dicarboxylic acid (BCA, Sigma), was then added (100 μL of a 10 μg $mL^{-1}$ solution in methanol) with the derivatization reagent, trimethylsilyl-diazomethane in hexane [$(CH_3)_3SiCHN_2$, Sigma], to produce methyl esters of BPCAs (Me-BPCAs) through a methyl esterification reaction (Ziolkowski et al., 2011; Zhong et al., 2019). Once the derivatization was complete, the samples were evaporated to dryness, taken up in 1 mL of dichloromethane ($CH_2Cl_2$), and injected into a Trace-ISQ GC ultra GC–MS system (ThermoElectron) equipped with a DB-5MS Ultra Inert column (Zhong et al., 2019).

The identification of Me-BPCAs was confirmed by the retention time and measurement of the compounds in selected ion monitoring (SIM) mode. The quantification was based on the response of the Me-BPCAs in relation to the response and amount of BCA internal standard introduced. Once the individual BPCA concentrations were determined, the DBC concentrations in the samples were estimated using the following formula (Dittmar, 2008; Stubbins et al., 2015; Yamashita et al., 2022):

$$[DBC] = 33.4 \times ([B6CA] + [B5CA] + 0.5\,[B4CA] + 0.5\,[B3CA])$$

where [B3CA], [B4CA], [B5CA] and [B6CA] are the concentrations (in μM) of tricarboxylic, tetracarboxylic, pentacarboxylic and hexacarboxylic benzene acids, respectively, 33.4 is the average number of C atoms contained in a typical 7-ring DBC molecule, and [DBC] is the concentration of DBC in μM C. Here the DBC concentrations are reported in μg C $L^{-1}$.

For quality control and validation of the method, blanks were run, and during each digestion series, one ampoule out of the seven was used for the analysis of a reference organic matter (NOM 2R101N IHSS; Suwannee River Humic Acid Standard III 3S101H IHSS; Urban Dust 1649b) in order to check that the protocol was running correctly and to intercalibrate our results with previous studies (Dittmar, 2008; Ziolkowski et al., 2011; Nakane et al., 2017; Zhong et al., 2019).

#### 2.4.5. Dissolved polycyclic aromatic hydrocarbons (d-PAHs)

We determined 19 parent PAHs and 15 groups of alkylated PAHs. The parent PAHs were: naphthalene (Nap), acenaphthylene (Acy), acenaphthene (Ace), fluorene (Fl), dibenzothiophene (DBT), phenanthrene (Phe), anthracene (Ant), fluoranthene (Flu), pyrene (Pyr), benz [a] anthracene (BaA), chrysene (Chr), benzo [b] fluoranthene (BbF), benzo

[k] fluoranthene (BkF), benzo [e] pyrene (BeP), benzo [a] pyrene (BaP), perylene (Per), dibenz [a,h] anthracene (DahA), benzo [g,h,i] perylene (BghiP), and indeno [1,2,3-cd] pyrene (IcdP). The alkylated PAHs were the methyl-, dimethyl-, and trimethyl- homologs of Nap, Fl, Phe, Ant, Flt, Pyr, BaA and Chr. Naphthalenes, fluorenes, dibenzothiophenes, and phenanthrenes/anthracenes correspond to the sum of parent and their alkylated derivatives. Samples were spiked with a mixture of deuterated standards (surrogates), i.e. Nap-$d_8$, Fl-$d_{10}$, Phe-$d_{10}$, Flu-$d_{10}$ and BaP-$d_{12}$, then extracted using liquid-liquid extraction with $CH_2Cl_2$ (2 × 60 mL per liter) as per the method developed by Guigue et al., 2015. These extracts were then concentrated using a rotary evaporator before changing the solvent to *n*-hexane. Hexane extracts were then purified to separate the hydrocarbon fraction from more polar compounds. Extracts were fractionated within a 500-mg silica column that had previously been activated at 500 °C for 4 h then partially deactivated with ultrapure water (2 % w/w). PAHs were eluted using 3 mL of *n*-hexane/$CH_2Cl_2$ (3:1 v/v). This was followed before analysis by a solvent reduction and the addition of a mixture of deuterated standards: Ace-$d_{10}$, Ant-$d_{10}$, Pyr-$d_{10}$, Chr-$d_{12}$ and Per-$d_{12}$.

PAHs were analyzed by GC–MS (Trace-ISQ GC ultra, Thermo-Electron) operating at an ionization energy of 70 eV, with hydrogen (1.2 mL $min^{-1}$) as carrier gas. The capillary column (DB-5MS Ultra Inert, Agilent Technologies) was 30 m in length with an internal diameter of 0.25 mm and a film thickness of 0.25 μm. Injector (used in splitless mode) and detector temperatures were 250 and 320 °C, respectively. PAHs were identified and quantified in full-scan and SIM mode simultaneously (Barhoumi et al., 2023).

The quality control procedures were strictly followed throughout the whole sampling and laboratory treatment process. They included control/validation of GC–MS calibration and tuning, blanks, limits of detection/quantification of the method (LODs/LOQs), and surrogate recoveries. Reference solutions for calibration (non-deuterated external standards), i.e. a mixture of 16 parent PAHs (04071, Fluka, 47543-U, Supelco, others from Sigma), were used to identify and quantify the compounds. LOQs ranged from 100 to 300 pg $L^{-1}$. Blank values were below LODs or LOQs. Surrogate recoveries were >70 %. Therefore, all the data reported here were neither blank-corrected nor recovery-corrected. The solvents (Rathburn Chemicals Ltd., Scotland) were HPLC-grade. Standards and clean-up powder (Merck, Sigma Aldrich, France) were of ≥98 % purity and high-purity grade, respectively.

#### 2.4.6. Other analyses

A description of the analytical methods for dissolved inorganic nutrient, DON, DOP and dissolved metal trace elements is provided in the supplementary material (Text S1, S2, S3).

#### 2.4.7. Abundances of heterotrophic prokaryotes

To measure the abundances of heterotrophic prokaryotes (hereafter abbreviated 'BA' for bacterial abundances), samples (1.8 mL) were fixed with 18 μL of a preservative solution (glutaraldehyde, 0.25 % final–pluronic acid, 0.01 % final), kept for 15 min at room temperature in the dark, and then stored at −80 °C until to enumeration of heterotrophic prokaryotes (HP) by flow cytometry. After thawing, samples were stained with SYBR Green (1X final concentration) for 15 min in the dark, and the HP were counted with an Accuri C6 flow cytometer (BD Biosciences). Fifty μL of sample were run at a flow rate of 35 μL $min^{-1}$. Non-fluorescent polystyrene microspheres (Flow Cytometry Size Calibration Kit, Thermo Fisher Scientific) were used as a size standard. Particles considered as HP were smaller than 2.0 μm, exhibited low complexity (low side scattering), emitted green fluorescence and no red fluorescence (Grégori et al., 2001). Data was acquired using BD Accuri CFlow Plus software. BA was expressed as cells per milliliter (cell $mL^{-1}$).

#### 2.4.8. Abundance of heterotrophic nanoflagellates

At collection, 1980 μL of sample was fixed with 20 μL glutaraldehyde containing pluronic acid, and frozen at −80 °C prior to analysis. At analysis, 25 μL of Trucount™ counting beads (BDBiosciences - batch of 49,050 beads/tubes in 0.5 mL of sheathing fluid/pluronic acid) and 15 μL of 2-μm-diameter Fluoresbrite™ reference beads (Polysciences) were added to 1200 μL of thawed sample. Analyses were performed on a CytoFlex flow cytometer (Beckman Coulter) of the PRECYM flow cytometry platform (https://precym.mio.osupytheas.fr/) (acquisition volume: 1000 μL, acquisition speed: 120 μL $min^{-1}$) using green fluorescence (collected using a 530/30BP filter) to discriminate heterotrophic cells and eliminate non-heterotrophic cells. Data were acquired and analyzed using Beckman Coulter CytExpert 2.3 software.

#### 2.4.9. Heterotrophic prokaryotic production

Heterotrophic prokaryotic production (hereafter abbreviated 'BP' for bacterial production) was estimated from rates of protein synthesis with $^3$H-leucine incorporation using the microcentrifugation technique (Smith and Azam, 1992) as detailed in Van Wambeke et al. (2020). Briefly, subsamples of 1.5 mL were incubated in the dark at 20 °C for between 0.3 and 2 h according to expected activities. Leucine was added at 20 nM (final concentration, using a mix of cold and radioactive leucine (specific activity: 100 Ci $mole^{-1}$). Linearity of leucine incorporation with time and isotopic dilution were checked periodically using time-series and concentration kinetics. The leucine-to-carbon conversion factor used was 1.5 kg C $mol^{-1}$.

#### 2.4.10. Bacterial respiration (BR)

Samples were transferred into 1-mL volume Winkler vials in which dissolved oxygen ($O_2$) concentration was measured continuously by oxygen microprobes. The microprobes (Unisense, Denmark) are designed with an external guard cathode (Revsbech, 1989) resulting in extremely low $O_2$ consumption by the electrodes themselves (4.7 to 47 × $10^{-7}$ mmol $O_2$ $h^{-1}$). The probes have a response time of <1 s and an accuracy of 0.1 μM. $O_2$ concentration was measured at regular time-intervals over a period of 24 h. Each measurement point corresponds to the continuous computer-recorded acquisition by the probes at 1 Hz for 60 s. BR was then determined from the slope of $O_2$ vs. time measured for a period of 3 to 5 h, which we assumed to be short enough to minimize changes in BA or BP in the Winkler vials. The starting point for slope calculation was defined based on the observed significant decrease in $O_2$ (0.5 μM) over incubation time. $O_2$ consumption was converted into BR (in μg C $L^{-1}$ $h^{-1}$) assuming a respiratory quotient of 1.

## 3. Results

### 3.1. Content of BC-derived DOM solutions at T0

Differences emerged between controls and the 4 BC treatments ($D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$, $D_{SHIP}$, $D_{SHIP\text{-}Ab}$), highlighting the impact of the soot addition and soot type on the composition of BC-derived DOM solutions. At T0, the DOC concentrations, which were proportional to the soot amount introduced in seawater (Fig. S3), were significantly higher in BC treatments (mean: 244–266 μM) than in C (mean: 74 μM) (*t*-test, $p < 0.05$), albeit slightly lower in $D_{REF\text{-}OX}$ (mean: 244 μM) than in $D_{REF}$ and $D_{SHIP}$/$D_{SHIP\text{-}Ab}$ (mean: 265 μM) (*t*-test, $p < 0.05$) (Table 2). DON concentrations were higher in the 4 BC treatments (mean: 8–12 μM) than in C (mean 3 μM) (*t*-test, $p < 0.05$), with the highest values in $D_{SHIP}$/$D_{SHIP\text{-}Ab}$ (mean: 12 μM) (*t*-test, $p < 0.05$). Conversely, DOP concentrations did not show any enrichment in the BC treatments relative to C (mean: <0.2 μM) (Table 2).

DBC concentrations were significantly higher in the 4 BC treatments (mean: 869–974 μg C $L^{-1}$) than in C (mean: 12 μg C $L^{-1}$) (Table 2) (*t*-test, $p < 0.05$), and DBC/DOC ratios were also higher in the 4 BC treatments (mean: 30–31 %) than in C (mean: 1 %) (*t*-test, $p < 0.05$). In the five treatments, >60 % of the measured BPCAs corresponded to BPCAs with 3 and 4 carboxyl groups (B3CA, B4CA), whereas BPCAs with 5 and 6 carboxyl groups (B5CA, B6CA) only accounted for 28 % of the total DBC concentration in $D_{REF}$ and $D_{REF\text{-}OX}$ and 18 % in $D_{SHIP}$ and $D_{SHIP\text{-}Ab}$

**Table 2**
Content and CDOM/FDOM characteristics of BC-derived DOM solutions at the start (T0) of the biodegradation experiment for the five treatments: C (control), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (oxidized diesel), $D_{SHIP}$ (ship soot), and $D_{SHIP\text{-}Ab}$ ("abiotic" ship soot). Values are the average and standard deviation of the triplicates (three bottles) for each treatment. For each parameter, values with different superscript letters (a, b, c or d) are significantly different (*t*-test, $p < 0.05$).

| Final concentrations | C | $D_{REF}$ | $D_{REF\text{-}OX}$ | $D_{SHIP}$ | $D_{SHIP\text{-}Ab}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| DOC (μM) | 74 ± 1[a] | 264 ± 3[b] | 244 ± 4[c] | 265 ± 3[b] | 266 ± 1[b] |
| DON (μM) | 2.9 ± 1.7[a] | 9.1 ± 0.2[b] | 8.4 ± 0.8[b] | 11.8 ± 0.2[c] | 11.7 ± 0.2[c] |
| DOP (μM) | 0.1 ± 0.1[a] | 0.2 ± 0.0[a] | 0.2 ± 0.0[a] | 0.1 ± 0.0[a] | 0.1 ± 0.0[a] |
| DBC (μg C $L^{-1}$) | 12 ± 2[a] | 939 ± 82[b] | 869 ± 121[b] | 974 ± 70[b] | 940 ± 172[b] |
| DBC/DOC (%) | 1.3 | 29.6 | 29.6 | 31.0 | 29.5 |
| d-PAHs (ng $L^{-1}$) | 13.7 ± 2.3[a] | 26.9 ± 9.5[b] | 23.1 ± 1.6[b] | 309 ± 92[c] | 258 ± 69[c] |
| d-TM (μg $L^{-1}$) | 29.7 ± 18.5[a] | 36.2 ± 1.0[a] | 31.6 ± 2.3[a] | 34.0 ± 2.0[a] | 30.6 ± 1.8[a] |
| $Si(OH)_4$ (μM) | 9.5 ± 0.5[a] | 15.2 ± 1.1[b] | 10.7 ± 1.6[a] | 9 ± 0.4[a] | 5.5 ± 0.2[c] |
| $NO_3^-$ (μM) | 12.6 ± 0.1[a] | 7.4 ± 0.0[b] | 8.5 ± 0.2[c] | 10 ± 0.1[d] | 10 ± 0.0[d] |
| $NO_2^-$ (μM) | 0.0 ± 0.0[a] | 2.0 ± 0.0[b] | 0.8 ± 0.0[c] | 0.3 ± 0.0[d] | 0.3 ± 0.0[d] |
| $NH_4^+$ (μM) | 0.1 ± 0.1[a] | 2.4 ± 0.1[b] | 2.9 ± 0.1[c] | 2.3 ± 0.1[b] | 2.3 ± 0.1[b] |
| $PO_4^{3-}$ (μM) | 1.8 ± 0.0[a] | 1.6 ± 0.0[b] | 1.6 ± 0.0[c] | 1.7 ± 0.0[d] | 1.8 ± 0.0[d] |

| CDOM/FDOM indices | C | $D_{REF}$ | $D_{REF\text{-}OX}$ | $D_{SHIP}$ | $D_{SHIP\text{-}Ab}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| HIX | 2.0 ± 0.0[a] | 37.3 ± 8.6[b] | 34.5 ± 2.0[b] | 49.4 ± 1.9[c] | 49.8 ± 1.4[c] |
| BIX | 1.0 ± 0.1[a] | 0.9 ± 0.0 [b] | 0.8 ± 0.0[c] | 0.5 ± 0.0[d] | 0.5 ± 0.0[d] |
| $SUVA_{254}$ (L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$) | 1.7 ± 0.1[a] | 13.9 ± 0.4[b] | 11.5 ± 0.2[c] | 18.8 ± 0.1[d] | 18.7 ± 0.3[d] |
| $a_{CDOM}(254)$ ($m^{-1}$) | 1.6 ± 0.1[a] | 43.2 ± 0.5[b] | 33.7 ± 0.1[c] | 60.0 ± 0.3[d] | 59.7 ± 1.0[d] |

DOC: dissolved organic carbon; DON: dissolved organic nitrogen; DOP: dissolved organic phosphorus; DBC: dissolved black carbon; d-PAHs: dissolved polycyclic aromatic hydrocarbons; d-TM: dissolved metallic trace elements; $Si(OH)_4$: silicates; $NO_3^-$: nitrates; $NO_2^-$: nitrites; $NH_4^+$: ammonium; $PO_4^{3-}$: phosphates; HIX: humic index; BIX: biological index; $SUVA_{254}$: specific UV absorbance at 254 nm; $a_{CDOM}(254)$: CDOM absorption coefficient at 254 nm.

(Fig. 1). d-PAH concentrations were a little higher in $D_{REF\text{-}OX}$ (mean: 23–27 ng $L^{-1}$) than in C (mean: 14 ng $L^{-1}$) (*t*-test, $p < 0.05$) but were a whole order of magnitude higher in $D_{SHIP}$ and $D_{SHIP\text{-}Ab}$ (mean: 258–309 ng $L^{-1}$) (Table 2). In addition, the molecular composition of d-PAHs in $D_{SHIP}$ and $D_{SHIP\text{-}Ab}$, which showed a dominance of dibenzothiophenes (representing 80 % of total d-PAHs), was markedly different from that of $D_{REF}$ and $D_{REF\text{-}OX}$ (Fig. 2). Naphthalenes and dibenzothiophenes appeared to be the major compounds in $D_{REF}$ (31 and 36 % of total d-PAHs, respectively), whereas $D_{REF\text{-}OX}$ was characterized by a dominance of phenanthrenes (34 %), naphthalenes (21 %) and benzoanthracene + chrysene (16 %) and a very low dibenzothiophene content (~3 %) (Fig. 2).

Although d-TM concentrations were not significantly different in the 5 treatments (mean: 30–36 μg $L^{-1}$) (Table 2), the relative abundance of individual metallic compounds showed a clear effect of the added soot. The 4 BC treatments were enriched in Zn relative to C (particularly $D_{REF}$ and $D_{REF\text{-}OX}$ where Zn accounted for 65 % of total d-TM) and $D_{SHIP}$ and $D_{SHIP\text{-}Ab}$ were enriched in Fe (20 % of total d-TM) compared to the other treatments (Fig. S4a) (*t*-test, $p < 0.05$). Nutrient concentrations (after adding $NO_3^-$ and $PO_4^{3-}$ to prevent limitation; Table 1) did not differ between the 4 BC treatments (except for $Si(OH)_4$ and $NO_2^-$ which were higher in $D_{REF}$, and $Si(OH)_4$) which was lower in $D_{SHIP\text{-}Ab}$) and were grossly similar to C (except for $NO_2^-$ and $NH_4^+$ which were lower in C) (Table 2).

Finally, the CDOM/FDOM indices calculated at the beginning of the experiment showed that the 4 BC treatments were enriched in chromophoric and fluorescent materials showing a very high degree of humification (HIX > 30), a low biological index (BIX < 1), and a high degree of aromaticity ($SUVA_{254}$ > 10 L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$; $a_{CDOM}(254)$ > 30 $m^{-1}$) (Table 2). HIX (49), $SUVA_{254}$ (19 L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$) and $a_{CDOM}(254)$ (60 $m^{-1}$) were highest in $D_{SHIP}/D_{SHIP\text{-}ab}$ whereas HIX and $SUVA_{254}$ values were lower in $D_{REF\text{-}OX}$ (35 and 12 L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$, respectively) compared to $D_{REF}$ (41 and 14 L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$, respectively) (*t*-test, $p < 0.05$) (Table 2). These differences in content of the BC-derived DOM solutions in the 5 treatments at the start of the experiment influenced the biodegradation of the material by marine heterotrophic prokaryotes and the associated response of these organisms (see below).

### 3.2. Time-course of DOC, DBC and d-PAHs during biodegradation

Over the course of the experiment (from T0 to T6), DOC concentrations decreased significantly (t-test, $p < 0.05$) in $D_{REF}$ (by 20 %), $D_{REF\text{-}OX}$ (by 21 %), and $D_{SHIP}$ (by 9 %), but did not decrease significantly in C and $D_{SHIP\text{-}Ab}$ (Fig. S5). The strongest decreases were observed between T1 and T2 (between 1 and 2 days of incubation) (Fig. S5), which corresponded to bacterial exponential growth phase period (see Section 3.6).

From T0 to T6, DBC concentrations decreased significantly (*t*-test, $p < 0.05$) in $D_{REF}$ (by 38 %), $D_{REF\text{-}OX}$ (by 31 %) and $D_{SHIP}$ (by 22 %), but did not decrease significantly in $D_{SHIP\text{-}Ab}$ and remained stable in C (Fig. 3a). Data on the relative abundance of BPCAs showed that the proportion of B5CA + B6CA (relative to total BPCAs) increased significantly between the beginning (19 %) and end (26 %) of incubation in $D_{SHIP}$ (*t*-test, $p < 0.05$) while it remained stable in $D_{SHIP\text{-}Ab}$ (19 %) (Fig. 1) and remained unchanged in $D_{REF\text{-}OX}$. A different trend was observed in the $D_{REF}$, which exhibited a slightly lower proportion of B5CA + B6CA at the end of incubation (24 %) than at the beginning (27 %).

d-PAH concentrations decreased between T0 and T6 by 55–64 % in C, $D_{REF}$ and $D_{REF\text{-}OX}$ (*t*-test, p < 0.05 or 0.1). In $D_{SHIP}$, the decrease of 24 % was non-significant because of the differences in triplicates (*t*-test, $p = 0.2$), while the d-PAH concentrations remained stable in $D_{SHIP\text{-}Ab}$ (Fig. 3b). In the biotic treatments, the decreases concerned mainly LMW d-PAHs (phenanthrenes, naphthalenes), while the concentrations of HMW d-PAHs (fluoranthene, pyrene) remained more stable after 3 months of incubation (Fig. 2; Table 4).

### 3.3. Identification and time-course of FDOM fluorophores

The PARAFAC model identified 5 FDOM components (C1-C5) validated on 105 samples collected throughout the biodegradation experiment for the different BC treatments (Fig. S6). Two classes of fluorophores were distinguishable. First, C1 and C4, with maxima at $\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ of 245, 295/375 nm and 235, 290/356 nm, respectively, joining the class of protein-like fluorophores, with C4 associated with the T peaks and C1 close to peak N (Aiken, 2014; Coble et al., 2014). Second, C2, C3 and C5, which belonged to the humic-like fluorophore class, with C5 ($\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ of 260, 320/404 nm) related to peaks A + M, C2 ($\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ of 230, 305/432 nm) related to peaks A + M/C, and C3 ($\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ of 235, 365/484 nm) related to peaks A + C (Aiken, 2014; Coble et al., 2014) (Fig. S6).

The following text exclusively discusses the evolution of the C2 fluorophore, which was not detected in C. This particular fluorophore is widely regarded as the most representative one among the BC-derived DOM. At T0, the fluorescence intensities of C2 were maximal (6.5 QSU), minimal (1.4 QSU) and intermediate (2.6 QSU) in $D_{SHIP}$, $D_{REF\text{-}OX}$ and $D_{REF}$, respectively (Fig. 4; $D_{SHIP\text{-}Ab}$ not shown). The fluorescence intensity of C2 significantly decreased from T0 to T6 in all BC treatments

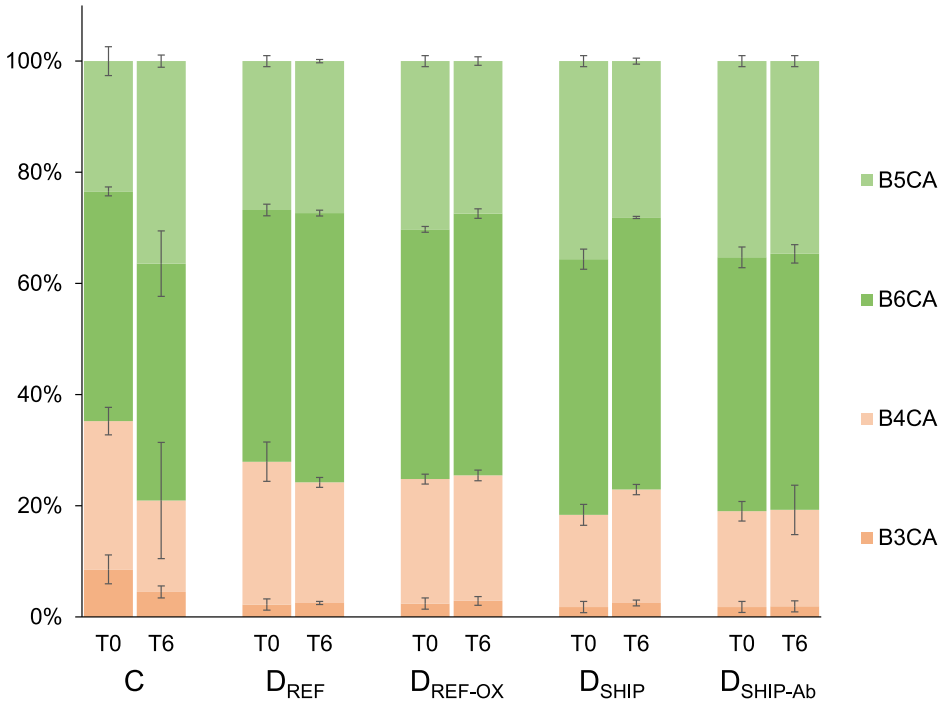



**Fig. 1.** Relative abundances (in %) of benzenepolycarboxylic acids (BPCAs, in μg C $L^{-1}$) at (a) the start (T0) and (b) the end (T6: 90 days) of the BC-derived DOM biodegradation experiment for the four biotic treatments: C (control), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (oxidized diesel), $D_{SHIP}$ (ship soot), and $D_{SHIP\text{-}Ab}$ ("abiotic" ship soot). The green color gradient charts molecules with a low number of carboxyl groups (B3CA, B4CA) and the orange color gradient charts molecules with a high number of carboxyl groups (B5CA, B6CA).

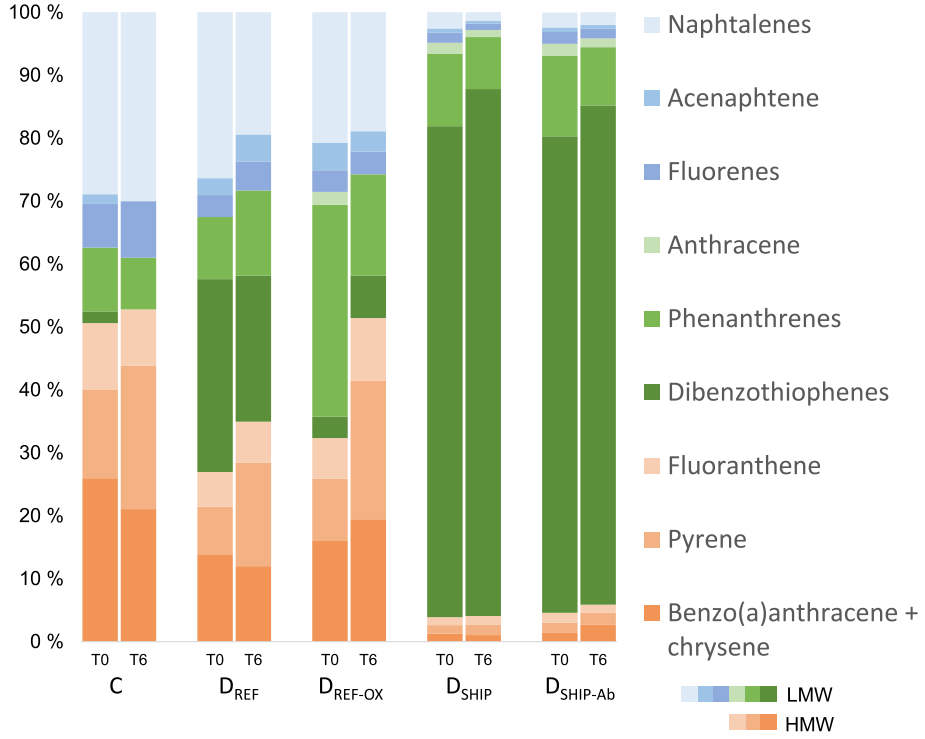
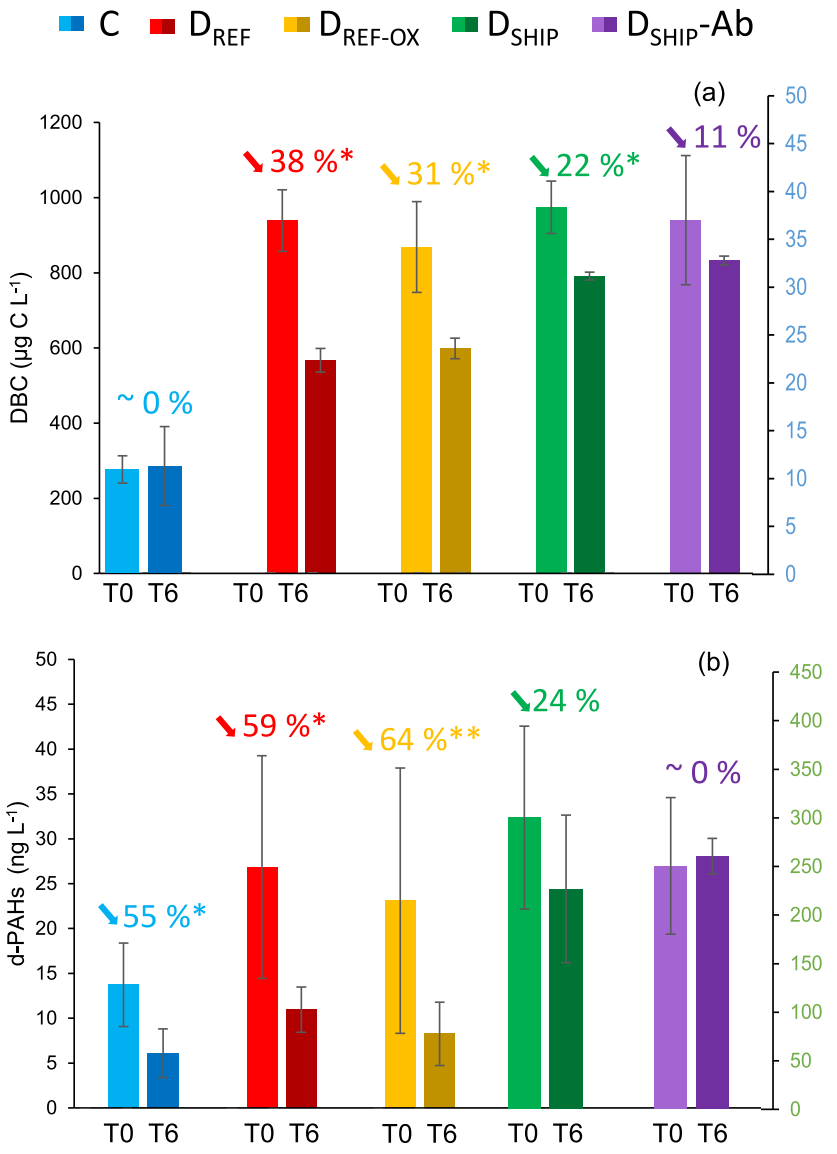



**Fig. 2.** Relative abundances (in %) of dissolved polycyclic aromatic hydrocarbons (d-PAHs, in ng $L^{-1}$) at (a) the start (T0) and (b) the end (T6: 90 days) of the BC-derived DOM biodegradation experiment for the four biotic treatments: C (control), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (oxidized diesel), $D_{SHIP}$ (ship soot), and $D_{SHIP\text{-}Ab}$ ("abiotic" ship soot). The green color gradient charts low-molecular-weight (LMW) PAHs, and the orange color gradient charts high-molecular-weight (HMW) PAHs.

(t-test, $p < 0.05$). In contrast, the fluorescence intensity in C remained consistently low throughout, without any significant changes. This decrease was most marked during the first 3 days of incubation (T3), after which C2 fluorescence intensity gradually decreased until stabilizing at the end of the experiment, resulting in an overall decrease from T0 to T6 of 83 % in $D_{REF}$, 76 % in $D_{SHIP}$, and 47 % in $D_{REF\text{-}OX}$ (Fig. 4). This decrease in C2 fluorescence intensity was correlated to the decrease in DOC concentration, as seen in the observed significant positive linear correlation between the two parameters all times over the course of the experiment (from T0 to T6) and the three BC treatments (D, $D_{REF\text{-}OX}$, $D_{SHIP}$) combined ($R^2 = 0.66$, $n = 63$, $p < 0.05$) (Fig. S7).




| | | C | $D_{REF}$ | $D_{REF\text{-}OX}$ | $D_{SHIP}$ | $D_{SHIP\text{-}Ab}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| DOC (µM) | Start | 75.0 ± 0 | 263.0 ± 2.8 | 242.0 ± 1.4 | 265.0 ± 4.2 | 265.5 ± 0.7 |
| | End | 73.0 ± 0 | 215.5 ± 4.9 | 197.0 ± 2.8 | 244.0 ± 2.8 | 261 ± 5.7 |

**Fig. 3.** Concentrations of (a) dissolved black carbon (DBC, in µg C $L^{-1}$) and (b) dissolved PAHs (d-PAHs, in ng $L^{-1}$) at the start (T0) and the end (T6: 90 days) of the BC-derived DOM biodegradation experiment for the four biotic treatments: C (control), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (oxidized diesel), $D_{SHIP}$ (ship soot), and $D_{SHIP\text{-}Ab}$ ("abiotic" ship soot). The percent decrease between T0 and T6 is shown. When associated with an *, the figure reflects a significant decrease between T0 and T6 (*t*-test, $p < 0.05$ for * and $p < 0.1$ for **). Second vertical scales: (a) in blue for the C treatment, (b) in green for the $D_{SHIP}$ treatment. Error bars correspond to the standard deviation of the triplicates.

### 3.4. Time-course of d-TM

Six trace metal elements measured at T0, T3 and T6 were selected to describe the dynamics of d-TM throughout the biodegradation process (Fig. S8; $D_{SHIP\text{-}Ab}$ not shown). Cu showed a significant and gradual increase over the course of the experiment. In the $D_{REF\text{-}OX}$ treatment, final Cu concentration was >3-fold higher than the initial concentration (0.32 µg $L^{-1}$ at T0 and 1.08 µg $L^{-1}$ at T6). Zn showed a non-significant decrease during biodegradation in $D_{REF}$ and $D_{REF\text{-}OX}$ but increased significantly in C and $D_{SHIP}$ (*t*-test, $p < 0.05$). Fe concentrations were relatively stable over time in C, $D_{REF}$ and $D_{REF\text{-}OX}$ but increased very strongly in $D_{SHIP}$ (~65 %). Pb concentrations remained relatively unchanged in C but decreased significantly in the three BC treatments (Fig. S8).

### 3.5. Time-course of nutrients, DON and DOP

DON and DOP concentrations remained stable over time (Fig. S9a, b; $D_{SHIP\text{-}Ab}$ not shown). $NO_2^-$ increased slightly between T3 and T6 in $D_{REF\text{-}OX}$ and $D_{SHIP}$ (11.8 and 32.6 %, respectively) but showed no significant variation over time in $D_{REF}$ (Fig. S10a; $D_{SHIP\text{-}Ab}$ not shown). $NH_4^+$ concentrations did not show any significant variation over time in C. $NH_4^+$

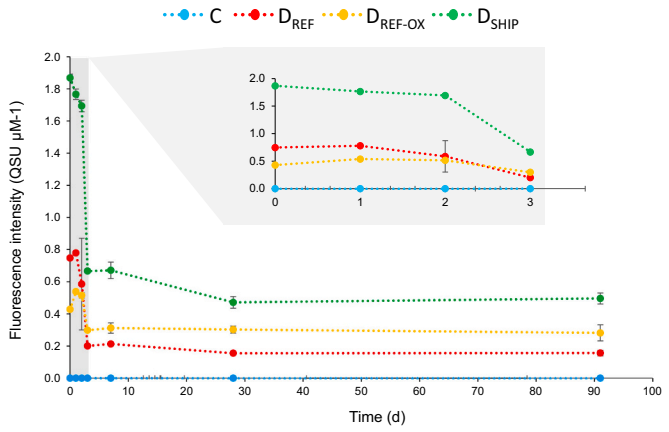



**Fig. 4.** Time-course of the fluorescence intensities of the C2 FDOM component ($\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$: 305/432 nm) normalized to DOC (in QSU $\mu M^{-1}$) throughout the BC-derived DOM biodegradation experiment (up to T6: 90 days), with a focus on the first 3 days (up to T3: 3 days), for the four biotic treatments: C (control), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (oxidized diesel), and $D_{SHIP}$ (ship soot). Error bars correspond to the standard deviation of the triplicates.

concentrations decreased by 11 % between T3 and T6 in $D_{REF}$. $NH_4^+$ concentrations decreased significantly between T0 and T3 in $D_{REF\text{-}OX}$ (by 43 %) and $D_{SHIP}$ (14 %) but then increased significantly between T3 and T6 (by 49 and 43 %, respectively) (*t*-test, $p < 0.05$) (Fig. S10b). $Si(OH)_4$ increased significantly over time in all treatments (*t*-test, $p < 0.05$), while $NO_3^-$ and $PO_4^{3-}$ remained stable (not shown in the figures).

### 3.6. Dynamics of heterotrophic prokaryotes and nanoflagellates

For the three BC treatments $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ and $D_{SHIP}$, bacterial abundance and production (BA and BP) presented a lag phase (BA) or a slight increase (BP) between T0 and T1 and a clearer increase between T1 and T2 (BP) or between T1 and T3 (BA), but then stabilized (Figs. 5a; 6a). BP decreased from T3 to the end of incubation (T6) whereas BA increased from T4 to T5 (Figs. 5a; 6a). This stabilization phase at T3 for BA and BP was also associated with a strong increase in the abundance of heterotrophic nanoflagellates, which then decreased gradually until the end of the incubation period (Fig. S11). C treatment showed a different pattern, with a less pronounced exponential phase reaching lower plateau values of BA and BP than in $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ and $D_{SHIP}$ before a much more gradual decrease in BA and BP from T3 to T6 (Figs. 5a; 6a). In this condition, the abundance of heterotrophic nanoflagellates, which was close to 0, showed no significant change over time (Fig. S11). Despite similar patterns in BA and BP between the 3 BC treatments, there were significant differences in the peak values of BA and BP and in the magnitude of BA and BP increase around T3. Regarding BA, $D_{REF}$ and $D_{SHIP}$ did not show any significant differences at T3, reaching 1.04 $10^6$ and 1.06 $10^6$ cell $mL^{-1}$, respectively, whereas $D_{REF\text{-}OX}$ showed a significantly higher BA of 1.64 $10^6$ cell $mL^{-1}$ at T3 (*t*-test, $p < 0.05$) (Fig. 5a). BP also showed significant differences between treatments and over time (*t*-test, $p < 0.05$). BP evolved in the same way in $D_{REF}$ and $D_{REF\text{-}OX}$ during the first day of the experiment but then it reached a peak of 1.4 $10^3$ ng C $L^{-1}$ $h^{-1}$ in $D_{REF\text{-}OX}$ at T3 compared to 6.49 $10^2$ and 8.99 $10^2$ ng C $L^{-1}$ $h^{-1}$ at T2 for $D_{SHIP}$ and $D_{REF}$, respectively (Fig. 6a). $D_{SHIP}$, again, afforded lower BP values than $D_{REF}$ and $D_{REF\text{-}OX}$ throughout the experiment.

Furthermore, during the growth-increase phase (~T1–T3), there was a negative power relationship between BP and bacterial respiration (BR) ($R^2 = 0.69$, $n = 36$, $p < 0.05$) (Fig. 7), which enabled us to define areas of dominant activity (BP vs. BR) for each treatment in the period between T0 and T3 corresponding to the exponential phase observed in all treatments. All the incubations presented two phases over time during the exponential phase: a first phase at T0–T1 characterized by a high BR

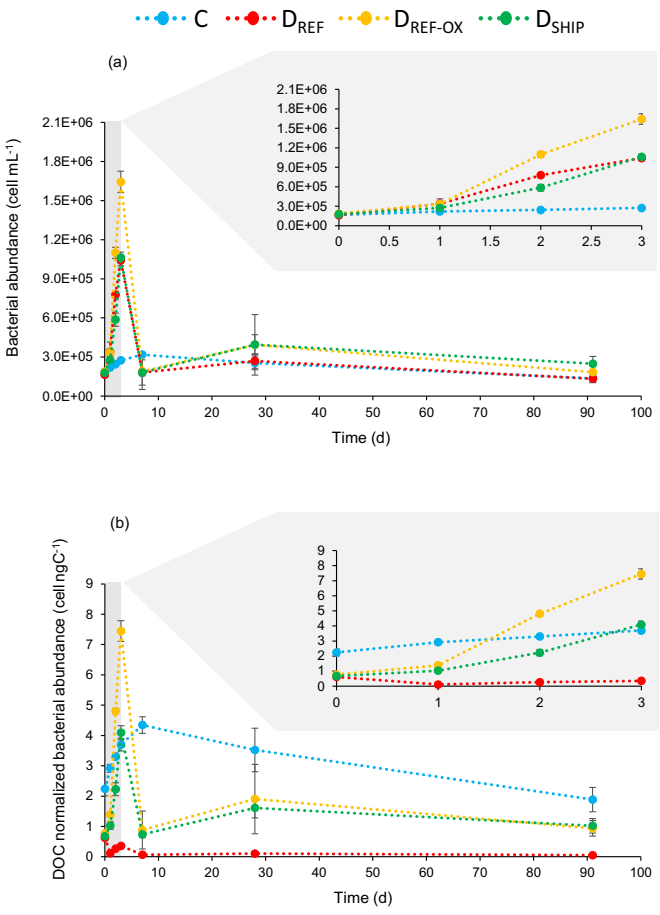



**Fig. 5.** Time-course of (a) bacterial abundance (cell $mL^{-1}$) and (b) bacterial abundance normalized to DOC (cell ng $C^{-1}$) throughout the BC-derived DOM biodegradation experiment (up to T6: 90 days), with a focus on the first 3 days (up to T3: 3 days), for the four biotic treatments: C (control), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (oxidized diesel), and $D_{SHIP}$ (ship soot). Error bars correspond to the standard deviation of the triplicates.

(low BGE) and a second phase at T2–T3 associated with high BP (high BGE). In addition, the highest values for BR (6.4 ng $C^{-1}$ $L^{-1}$ $h^{-1}$) and BP (1447.6 ng $C^{-1}$ $L^{-1}$ $h^{-1}$) were observed in $D_{REF\text{-}OX}$, where most of the points measured were positioned at the extremes of the correlation. $D_{REF\text{-}OX}$ also shows the highest and lowest BGEs in the exponential phase, highlighting the occurrence of both activities performed at a higher intensity compared to the other treatments (Table S5). On the other hand, in $D_{REF}$, most of the points fell within a dominant production activity, with measured respiration values not exceeding 4 $10^4$ ng $C^{-1}$ $L^{-1}$ $h^{-1}$. $D_{SHIP}$ showed a particularly low BP at the beginning of the exponential phase (reaching a minimum of 22.7 ng $C^{-1}$ $L^{-1}$ $h^{-1}$), and the BP values measured in this treatment were nearly always below 600 ng $C^{-1}$ $L^{-1}$ $h^{-1}$ (Fig. 7). When normalizing BA and BP to the DOC concentrations derived from the soot addition, fairly homogeneous BP values were obtained (Fig. 6b). However, the differences between DREF, DREF-OX, and DSHIP persisted for BA values (Fig. 5b).

The $D_{SHIP\text{-}Ab}$ treatment, which was intended to be abiotic, showed signs of biological activity, i.e. bacterial abundance and production, from T1 (1 day) (Fig. S12a, c), suggesting a contamination during the preparation of the incubation at T0. The dynamics of bacterial growth in $D_{SHIP\text{-}Ab}$ over time can be separated into two phases: a first phase (P1) from T0 to T3 (0 to 3 days) where bacterial abundance and production were significantly lower (*t*-test, $p < 0.05$) than in $D_{SHIP}$ treatment, and a second phase (P2) from T3 to T6 (3 days to 90 days) where $D_{SHIP\text{-}Ab}$ approaches $D_{SHIP}$ in terms of biological activity, without reaching such

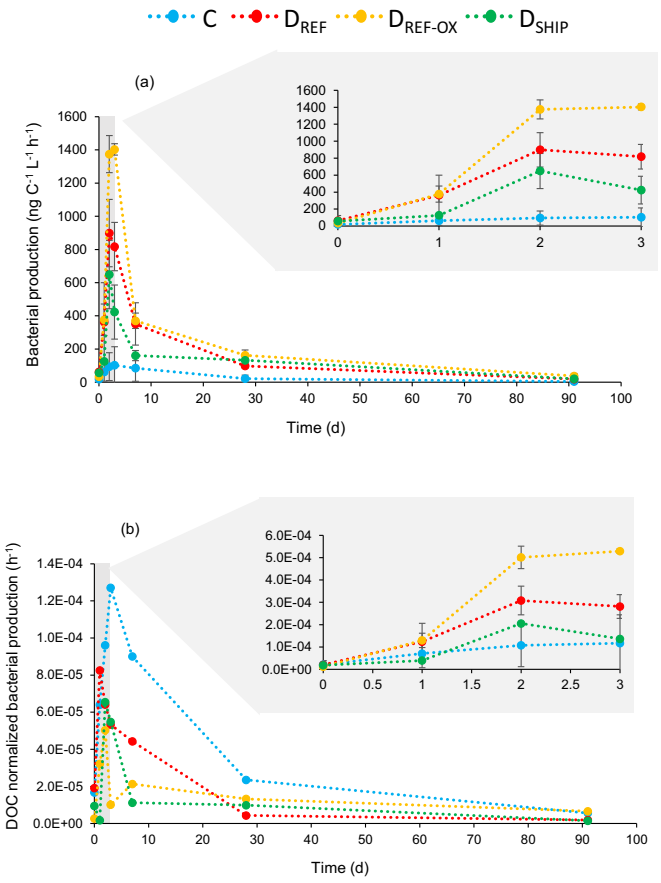



**Fig. 6.** Time-course of (a) bacterial production (ng C $L^{-1}$ $h^{-1}$) and (b) bacterial production normalized to DOC ($h^{-1}$) throughout the BC-derived DOM biodegradation experiment (up to T6: 90 days), with a focus on the first 3 days (up to T3: 3 days), for the four biotic treatments: C (control), $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (oxidized diesel), and $D_{SHIP}$ (ship soot). Error bars correspond to the standard deviation of the triplicates.

high values (Fig. S12a, c). In addition, the bacterial abundance and production normalized to DOC remained low in $D_{SHIP\text{-}Ab}$ compared to C and $D_{SHIP}$ (particularly for bacterial abundance) (Fig. S12b, d) (*t*-test, $p < 0.05$).

## 4. Discussion

### 4.1. Composition of BC-derived DOM in relation with the type of soot

Here we investigated the bioavailability of DOM derived from BC/soot of anthropogenic origin (combustion of fossil fuels), whereas most recent studies have focused more on the bioavailability of DOM derived from biomass-source BC (Qi et al., 2020; Bostick et al., 2021; Wagner et al., 2021; Goranov et al., 2022). The organic and inorganic content of BC-derived DOM solutions depends on the initial chemical composition of the soot particles that are added, but also on the solubility of these elements in seawater. The most hydrophobic fraction of the organic matter of the particles was most likely not transferred to the aqueous phase during this experiment. However, the objective here was to simulate an input of soot to the ocean surface rather than to extract all the organic matter from the soot.

DPM reference material ($D_{REF}$) has been used as standardized DEP sample in numerous studies addressing the effects of fine particle air pollution on health (Delfino et al., 2009; Brook et al., 2010; Apte et al., 2018; Farahani et al., 2021) but also as a BC reference material to analyze BC in sediments (Elmquist et al., 2004; Im et al., 2008), to determine adsorption and partition components of organic compounds on BC (Chiou et al., 2015), and to observe microbial colonization of BC particles in coastal seawater (Benavides et al., 2019). To our knowledge, this is the first time that this DPM has served to produce DOM for a biodegradation experiment involving marine heterotrophic prokaryotes.

Apart from oxidized $D_{REF}$ ($D_{REF\text{-}OX}$), the other substrate used to assess the bioavailability of BC-derived DOM was soot collected in the chimney of a merchant ship running on HFO and moored in Haiphong harbor, Vietnam ($D_{SHIP}$). It is now recognized that maritime transportation and shipping activities are significant sources of particulate matter, pollutants and BC (Buffaloe et al., 2014; Huyen et al., 2022; Zhao et al., 2022). Recent studies have investigated the chemical composition of particles derived from HFO combustion by ships and their potential effects on human health (Popovicheva et al., 2009; Oeder et al., 2015; Corbin

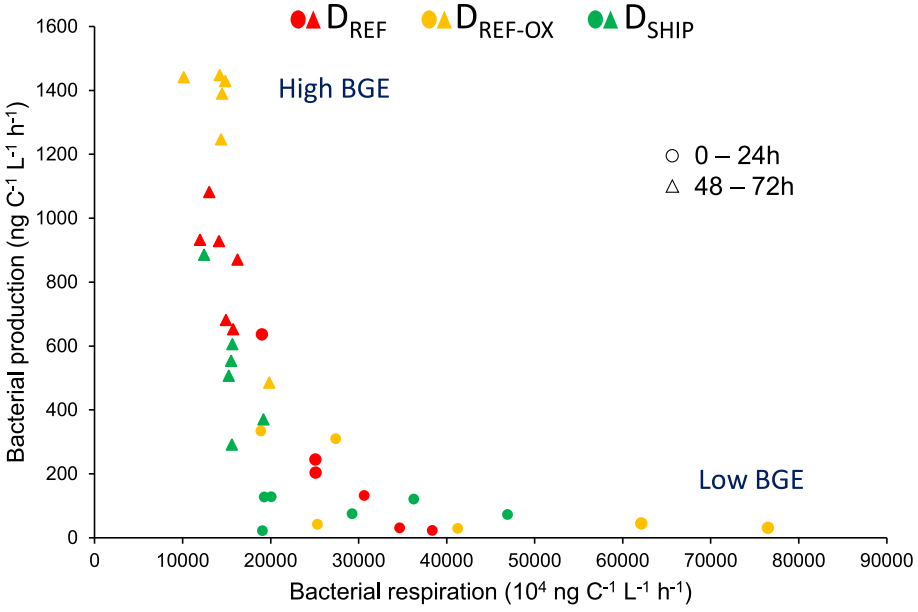



**Fig. 7.** Relationship (power function) between bacterial respiration (ng $C^{-1}$ $L^{-1}$ $h^{-1}$) and bacterial production (ng $C^{-1}$ $L^{-1}$ $h^{-1}$) for the $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ and $D_{SHIP}$ treatments from T0 to T3 of the BC-derived DOM biodegradation experiment ($n = 36$).

et al., 2018a, 2018b), but to our knowledge, no work has addressed the effect of a ship's soot and its derived soluble fraction on marine heterotrophic prokaryotes.

Additions of the soluble fraction of soot to natural seawater ($D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$, $D_{SHIP}$/$D_{SHIP\text{-}Ab}$) led to strong enrichments of DOM in DOC, DON, DBC, d-PAHs, as well as CDOM and FDOM, and large increase in DBC/DOC ratio compared to the C treatment (Table 2). This is further evidence that particles emitted during combustion of diesel/HFO have contents of organic carbon, PAHs and BC (Popovicheva et al., 2009; Buffaloe et al., 2014; Corbin et al., 2018b; Farahani et al., 2021). Despite the DBC/DOC ratio being relatively consistent among DREF, DREF-OX, and DSHIP (around 30 %), we observed significant differences in other parameters.

$D_{REF}$ and $D_{REF\text{-}OX}$ brought low quantities of d-PAHs, increasing by only a factor ~2 the C value. The much greater supply of d-PAHs with a dominance of dibenzothiophenes (organosulfur compounds) in $D_{SHIP}$/$D_{SHIP\text{-}Ab}$ compared to $D_{REF}$ and $D_{REF\text{-}OX}$ (Table 2; Fig. 2) is in accordance with the high levels of PAHs and sulfur compounds, including benzothiophenes, detected in soot derived from HFO (Popovicheva et al., 2009; Corbin et al., 2018b; Zhao et al., 2022). The fact that the d-PAH pools in the three BC-derived DOM were dominated by LMW compounds (Table 4) is in good agreement with the lower hydrophobicity of these latter (Farahani et al., 2021). However, the d-PAH concentrations were overall very low with regard to the high amount of the added particles confirming the high hydrophobicity of the most of particle-bound compounds. Furthermore, despite near-identical DOC concentrations, CDOM and FDOM contents and the degrees of DOM humification (HIX) and aromaticity ($SUVA_{254}$) were much higher in $D_{SHIP}$/$D_{SHIP\text{-}Ab}$ than in $D_{REF}$ and $D_{REF\text{-}OX}$ (Table 2; Fig. S5). This could be due to a higher content in PAHs and other aromatic compounds in HFO particles ($D_{SHIP}$) compared to particles originating from lighter diesel fuels ($D_{REF}$) (Corbin et al., 2018b). Concerning d-TM, the main differences were the higher proportion of Zn in $D_{REF}$ and $D_{REF\text{-}OX}$ compared to $D_{SHIP}$/$D_{SHIP\text{-}Ab}$, and the higher proportion of Fe in $D_{SHIP}$/$D_{SHIP\text{-}Ab}$ compared to $D_{REF}$ and $D_{REF\text{-}OX}$ (Fig. S4a). Zn is more often associated with industrial activity than transport emissions (Li et al., 2017), and has previously been identified as one of the most abundant d-TM in DPM reference material, although its concentration has been found to be lower than in ambient particulate matter (PM) samples (Farahani et al., 2021). Fe, a known vehicle emissions tracer (Hulskotte et al., 2014; Charron et al., 2019), has been already reported as one of the dominant d-TM in HFO fuel and PM samples (Corbin et al., 2018a), which again is in line with our results.

Photooxidation of DPM (i.e. differences between $D_{REF}$ and $D_{REF\text{-}OX}$) did not show any significant effect on the proportion of DBC within DOC, nor on the proportion of BPCAs within the DBC pool (Table 2; Fig. 1). Similarly, there was no photooxidation effect on the composition of d-TM (Fig. S4a). However, photooxidation led to a decrease in the proportion of dibenzothiophenes within the d-PAH pool (Fig. 2). Note that photodegradation of PAHs bound to diesel/soot particles has already been reported (Matuzawa et al., 2001; Kim et al., 2013), although particulate PAHs appear to be less sensitive to photooxidation than dissolved PAHs in aqueous solution (Neff, 2002), and dibenzothiophenes have been shown to undergo degradation during photooxidation experiments (Liu et al., 2020). Finally, the net decrease in $SUVA_{254}$ and $a_{CDOM}(254)$ values from $D_{REF}$ to $D_{REF\text{-}OX}$ (Table 2) reflected the loss of chromophoric, aromatic and HMW dissolved material, along with structural modifications in the DOM linked to the oxidation (Ferretto et al., 2017).

The addition of soot and the subsequent BC-derived DOM solutions therefore significantly modified the chemical environment to which heterotrophic prokaryotes are receptive/sensitive, by behaving 1) as a more or less labile source of new DOM, and 2) as a source of nutrients and metals that can potentially impact BP. The nutrient concentrations measured here suggest that prokaryotes were not growth-limited and that the d-TM were not associated with major differences in BP or BR (Figs. S8, S9, S10). We thus considered that DOC and DBC lability were the main limiting factors influencing BP, BR, and time-course of DOC and DBC.

### 4.2. Bioavailability of BC-derived DOM and the microbial responses

The presence of BC-derived DOM led to a stimulation of bacterial activities (relative to the control) in the three BC treatments $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ and $D_{SHIP}$. BA and BP increased significantly after a relatively short 24-h lag-phase. This stimulation, which corresponded to the exponential phase of heterotrophic prokaryotic growth, was followed by periods of stabilization (stationary phase) and decrease (Figs. 5, 6), as well as an increase in heterotrophic nanoflagellates predators at T3 which was particularly evidenced in the experiments (Fig. S11). The short (24 h) lag phase suggested a near-immediate bioavailability of the BC-derived DOM (Lønborg and Álvarez-Salgado, 2012; Djaoudi et al., 2020). Furthermore, in the 3 BC treatments, the increase in BP and BR were associated with a consumption of BC-derived DOM, which was observed through the significant decreases of DOC, DBC and d-PAH concentrations from T0 to T6. These decreases provide argue that the BC-derived DOM was bioavailable. Although stimulations of BP and BR and consumption of BC-derived DOM were recorded in all the $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ and $D_{SHIP}$ treatments, the between-treatment differences could be linked to the chemical substrates present in each BC-derived DOM solution and/or to the composition/structure of the marine microbial community associated with each of these solutions.

The $D_{SHIP\text{-}Ab}$ treatment could not be considered as truly abiotic due to the presence of an active bacterial community (Fig. S12). Nevertheless, this bacterial community, particularly during P1, was much less abundant and much less active than those in the BC biotic treatments, and did not induce any significant decrease in DOC, DBC and d-PAH concentrations over the course of the experiment (Fig. S5, Tables 3, 4). Hence, with the presence of a smaller bacterial community, the concentrations of DOC, DBC and d-PAHs remained quite stable from T0 to T6. Corollary, this showed that there was no significant effect of abiotic processes, such as sorption or flocculation, on DOC, DBC and d-PAH concentrations from T0 to T6. This thus tended to confirm our that the decrease in DOC, DBC and d-PAH concentrations recorded over time in $D_{REF}$, $D_{REF\text{-}OX}$ and $D_{SHIP}$ treatments was mainly due to marine prokaryotes and not to abiotic processes. This thus tended to confirm our that the decrease in DOC, DBC and d-PAH concentrations recorded over time in DREF, DREF-OX and DSHIP treatments was mainly due to marine prokaryotes with a minor effect of abiotic processes. (Bostick et al., 2021; Goranov et al., 2022).

$D_{REF\text{-}OX}$ showed by far the highest peaks reached for abundances (BA), and activities (BP and BR) over the course of the biodegradation experiment, with the highest slopes in the exponential phases for BA and BP and the highest peak of BR reached during the first 72 h. These higher activities, especially for BR, were very likely related to the photooxidation of diesel particles and the subsequent occurrence of dissolved oxidized organic substrates in the BC-derived DOM solution, as these oxidized substrates are more easily and preferentially metabolized by bacteria (Crapart et al., 2021). These results are in line with a large number of studies demonstrating that pyrogenic carbon could support microbial respiration in soils (Fang et al., 2014; Kuzyakov et al., 2014; Khodadad et al., 2011; Zimmermann et al., 2012; Bamminger et al., 2014). The stimulation of BR at the beginning of biodegradation through the presence of oxidized substrates probably partly explains the fact that the BP levels were highest after 72 h of incubation, resulting finally in the highest BGE during the exponential phase. $D_{REF\text{-}OX}$ also showed the highest decreases in DOC and d-PAH concentrations between T0 and T6 (21 and 64 %, respectively), which is consistent with the fact that it reached highest peaks of BP and BR, whereas it showed a slightly lower decrease in DBC concentration (31 %) than $D_{REF}$ (38 %). As mentioned previously, the photooxidation of the diesel material resulted in a significant reduction in the proportion of dibenzothiophenes, which are

**Table 3**
BPCAs concentrations (μg C $L^{-1}$) measured in BC-derived DOM solutions at the start (T0) and the end (T6) of the biodegradation experiment for the four BC treatments: $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (oxidized diesel), $D_{SHIP}$ (ship soot), and $D_{SHIP\text{-}Ab}$ ("abiotic" ship soot). The values and degradation percentages are the average and standard deviation of the triplicates (three bottles) for each treatment. Values in bold indicate a statistically significant decrease (*t*-test, superscript a for $p \leq 0.05$ and superscript b for $p \leq 0.07$).

| | Treatments | T0 | | | T6 | | | Degradation (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| B3CA | $D_{REF}$ | 1012 | ± | 86 | 623 | ± | 45 | **39.4**[a] | ± | 2.3 |
| | $D_{REF\text{-}OX}$ | 1048 | ± | 121 | 652 | ± | 17 | **37.2**[a] | ± | 7 |
| | $D_{SHIP}$ | 1457 | ± | 60 | 903 | ± | 20 | **38.0**[a] | ± | 2.4 |
| | $D_{SHIP\text{-}Ab}$ | 1374 | ± | 124 | 1212 | ± | 276 | 5 | ± | 8.4 |
| B4CA | $D_{REF}$ | 1704 | ± | 83 | 1105 | ± | 80 | **36.6**[a] | ± | 2 |
| | $D_{REF\text{-}OX}$ | 1742 | ± | 72 | 1120 | ± | 27 | **27.3**[b] | ± | 8.8 |
| | $D_{SHIP}$ | 1890 | ± | 181 | 1571 | ± | 12 | 16.4 | ± | 7.2 |
| | $D_{SHIP\text{-}Ab}$ | 1803 | ± | 370 | 1604 | ± | 17 | 8.4 | ± | 19.6 |
| B5CA | $D_{REF}$ | 900 | ± | 172 | 494 | ± | 11 | **49.6**[a] | ± | 7.1 |
| | $D_{REF\text{-}OX}$ | 780 | ± | 133 | 538 | ± | 41 | **30.2**[b] | ± | 7.1 |
| | $D_{SHIP}$ | 683 | ± | 110 | 655 | ± | 32 | 2.8 | ± | 11.6 |
| | $D_{SHIP\text{-}Ab}$ | 685 | ± | 175 | 602 | ± | 139 | 4.9 | ± | 44 |
| B6CA | $D_{REF}$ | 83 | ± | 5 | 57 | ± | 5 | **33**[a] | ± | 3.6 |
| | $D_{REF\text{-}OX}$ | 83 | ± | 2 | 69 | ± | 12 | 16.9 | ± | 14 |
| | $D_{SHIP}$ | 73 | ± | 12 | 80 | ± | 12 | 12.8 | ± | 29 |
| | $D_{SHIP\text{-}Ab}$ | 71 | ± | 15 | 66 | ± | 24 | −0.2 | ± | 49.9 |

**Table 4**
Concentrations of low-molecular-weight (LMW) and high-molecular-weight (HMW) PAHs (μg $L^{-1}$) measured in BC-derived DOM solutions at the start (T0) and the end (T6) of the biodegradation experiment for the four BC treatments: $D_{REF}$ (diesel), $D_{REF\text{-}OX}$ (oxidized diesel), and $D_{SHIP\text{-}Ab}$ ("abiotic" ship soot). The values and degradation percentages are the average and standard deviation of the triplicates (three bottles) for each treatment. Values in bold indicate a statistically significant decrease (t-test, $p \leq 0.1$).

| | Treatments | T0 | | | T6 | | | Degradation (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| LMW | $D_{REF}$ | 20 | ± | 8 | 7 | ± | 1 | **59.5** | ± | 14.5 |
| | $D_{REF\text{-}OX}$ | 16 | ± | 4 | 4 | ± | 2 | **72** | ± | 17 |
| | $D_{SHIP}$ | 297 | ± | 91 | 224 | ± | 55 | 23 | ± | 9.5 |
| | $D_{SHIP\text{-}Ab}$ | 246 | ± | 68 | 253 | ± | 11 | −9.5 | ± | 33.5 |
| HMW | $D_{REF}$ | 7 | ± | 2 | 4 | ± | 1 | **46** | ± | 10 |
| | $D_{REF\text{-}OX}$ | 7 | ± | 3 | 4 | ± | 1 | 41.5 | ± | 12 |
| | $D_{SHIP}$ | 12 | ± | 1 | 9 | ± | 1 | **20.5** | ± | 10 |
| | $D_{SHIP\text{-}Ab}$ | 12 | ± | 1 | 16 | ± | 2 | −34 | ± | 24 |

known to have toxic effects on bacteria (as discussed below).

The peak values of heterotrophic prokaryotic stocks (BA) and activities (BP and BR) were lower in the $D_{REF}$ treatment than in the $D_{REF\text{-}OX}$ treatment. Without the presence of photooxidized products, the metabolism of heterotrophic prokaryotes was shifted towards anabolism (BP), while the decreases in DOC and d-PAH concentrations between T0 and T6 in $D_{REF}$ (20 and 59 %, respectively) were not far from the decreases recorded in $D_{REF\text{-}OX}$. Interestingly, $D_{REF}$ showed the highest decrease in DBC concentration (38 %) and was the only treatment that presented a significant decrease in B5CA + B6CA concentrations in addition to B3CA + B4CA concentrations (Fig. 1; Table 3) as well as a significant decrease in HMW PAHs (Table 4). This point suggests that in the absence of bioavailable oxidized compounds, the heterotrophic prokaryotic community was able to utilize the more condensed fraction of the organic material in addition to lighter/more labile molecules for biomass production.

$D_{SHIP}$ showed the lowest peaks in BA, BP and BR, as well as the lowest decrease in DOC (9 %), DBC (22 %) and d-PAHs (24 %) throughout the experiment. This was probably related to the high abundance of dibenzothiophene (80 % of total d-PAHs) found in this treatment. The high toxicity of this hydrocarbon almost certainly had a strong impact on the prokaryotic community (van Afferden et al., 1990; Li et al., 2019; Ghosh and Mukherji, 2021), but it appears that even under such treatments, there was still a significant decrease of DOM-BC and DBC concentrations over time. The significant decrease in the fluorescence of the C2 fluorophore (Fig. 4), which strongly correlated with DOC concentration (Fig. S7) but not with DBC concentration, points to a bioavailability of DBC itself in addition to the bioavailability of other compounds present in the BC-derived DOM pool.

Both the bulk DOC pool and its DBC fraction underwent biodegradation. The consumption of DBC, which was observed in all incubations through the decrease in BPCA concentrations (Fig. 3a; Table 3), highlights the bioavailability of the most aromatic and condensed moieties within the whole continuum of molecules brought by the solubilization of BC. In addition, the changes in composition of the measured BPCAs points to a variability in the efficiency of DBC degradation depending on the type of activity measured. These observations join up with Qi et al. (2020) and Goranov et al. (2022), who found that the aromatic fraction of BC-derived DOM could be taken up and integrated into the biomass of heterotrophic prokaryotes.

## 5. Conclusion

This study, measuring significant decreases in DOC, PAH and DBC concentrations over time, reveals that bioavailability exists along the entire molecular continuum resulting from the solubilization of BC. The bioavailable fraction of DBC depends on two key factors: 1) the origin of the BC-soot material, which influences the composition, level of condensation, and oxidation of the matter released during its dissolution, and 2) the dynamics of the heterotrophic prokaryotic community in a controlled environment. Both factors contribute to a gradient of DBC bioavailability and also influence a shift in bacterial metabolism, favoring either anabolism or catabolism. Based on our findings, DBC recently introduced into marine waters from the deposition of fossil fuel combustion particles cannot be considered as belonging entirely to the refractory compartment of the DOM and thus associated with long-term oceanic storage. DBC should be also seen as a potentially more accessible material for marine prokaryotes, which could degrade it on a year-long

scale in the ocean. It is now essential to further investigate the bioavailability of DBC originating from other sources (other types of fossil fuel combustion particles or biomass combustion particles), focusing particularly on its molecular composition and level of oxidation using FT-ICR-MS analyses, but also on the different prokaryotic assemblages and their ability to adapt to the use of this organic material.

A companion paper dedicated to bacterial diversity data from this biodegradation experiment is currently being prepared and is set to address the impact of DBC type on the arrangement and diversity of the marine heterotrophic prokaryotic community.

## Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

## Data availability

Data will be made available on request.

## Acknowledgments

This work was conducted as part of 1) the BLACKMATTERS project (*Dissolved Black Carbon in marine waters: potential bioavailability for heterotrophic prokaryotes*) under the CONTAM (*CONTAMinants in marine ecosystems*) cross-disciplinary research area at the MIO laboratory, and funded by the IRD-Action Sud and MIO cross-disciplinary research programs, 2) the EU-MarTERA MATE project (*MAritime Traffic Emissions: A monitoring network*) funded by the Agence Nationale de la Recherche [French National Research Agency] (ANR-20-MART-0003), 3) the IRN SOOT-SEA (*International Research Network on the Impact of Black Carbon in South East Asia*), and 4) the LMI LOTUS (*International Joint Laboratory on the Land-Ocean-aTmosphere regional coUpled System*), both funded by the IRD. We thank the captains and crew of the R/V *Antédon 2* and *ASTROIDES*, as well as J.A. Tesán-Onrubia, L. Papillon, M. Lafont and D. Malengros for their excellent service at sea and invaluable assistance in collecting seawater samples. We also thank N. Garcia, P. Raimbault and the Plateforme Analytique de Chimie des Environnements Marins (PACEM platform) for their analyses of inorganic nutrients, DON and DOP, as well as R. Freydier, L. Causse and the AETE-ISO platform at the OSU-OREME/Université de Montpellier for the trace metal analyses. We thank M. Benavides and B. Mission (MIO) for their participation in thinking out and devising a scientific approach for this experiment and for their comments on the early version of the manuscript. P. Martinot holds a PhD scholarship provided by Aix-Marseille University on behalf of doctoral school 251 in environmental sciences (ED251, MENRT doctoral grant). Finally, we acknowledge two anonymous reviewers for their relevant comments and corrections.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165802.

## References

Afferden, M.Y., Schacht, S., Klein, J., Trüper, H.G., 1990. Degradation of dibenzothiophene by brevibacterium Sp.DO. Arch. Microbiol. 153 (4), 324–328. https://doi.org/10.1007/BF00249000.

Aiken, G.R., 2014. Fluorescence and dissolved organic matter: a chemist's perspective. Aquatic organic matter fluorescence. In: Coble, P.G., Lead, J., Baker, A., Reynolds, D. M., Spencer, R.G.M. (Eds.), Cambridge Environmental Chemistry Series. Cambridge University Press, New York, NY, USA, pp. 35–75. ISBN: 9780521764612.

Apte, J.S., Brauer, M., Cohen, A.J., Ezzati, M., Pope III, C.A., 2018. Ambient PM2.5 reduces global and regional life expectancy. Environ. Sci. Technol. Lett. 5 (9), 546–551. https://doi.org/10.1021/acs.estlett.8b00360.

Bale, C.S.E., Ingham, T., Commane, R., Heard, D.E., Bloss, W.J., 2008. Novel measurements of atmospheric iodine species by resonance fluorescence. J. Atmos. Chem. 60, 51–70. https://doi.org/10.1007/s10874-008-9108-z.

Bamminger, C., Marschner, B., Jüschke, E., 2014. An incubation study on the stability and biological effects of pyrogenic and hydrothermal biochar in two soils. Eur. J. Soil Sci. 65 (1), 72–82. https://doi.org/10.1111/ejss.12074.

Bao, H., Niggemann, J., Luo, L., Dittmar, T., Kao, S.-J., 2017. Aerosols as a source of dissolved black carbon to the ocean. Nat. Commun. 8 https://doi.org/10.1038/s41467-017-00437-3.

Barhoumi, B., Guigue, C., Touil, S., Johnson-Restrepo, B., Driss, M.R., Tedetti, M., 2023. Hydrocarbons in the atmospheric gas phase of a coastal city in Tunisia: levels, gas–particle partitioning, and health risk assessment. Sci. Total Environ. 879, 162986 https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162986.

Benavides, M., Chu Van, T., Mari, X., 2019. Amino acids promote black carbon aggregation and microbial colonization in coastal waters off Vietnam. Sci. Tot. Environ. 685, 527–532.

Bond, T.C., Doherty, S.J., Fahey, D.W., Forster, P.M., Berntsen, T., DeAngelo, B.J., Flanner, M.G., Ghan, S., Kärcher, B., Koch, D., Kinne, S., Kondo, Y., Quinn, P.K., Sarofim, M.C., Schultz, M.G., Schulz, M., Venkataraman, C., Zhang, H., Zhang, S., Bellouin, N., Guttikunda, S.K., Hopke, P.K., Jacobson, M.Z., Kaiser, J.W., Klimont, Z., Lohmann, U., Schwarz, J.P., Shindell, D., Storelvmo, T., Warren, S.G., Zender, C.S., 2013. Bounding the role of black carbon in the climate system: a scientific assessment. J. Geophys. Res. Atmos. 118, 5380–5552. https://doi.org/10.1002/jgrd.50171.

Bostick, K.W., Zimmerman, A.R., Goranov, A.I., Mitra, S., Hatcher, P.G., Wozniak, A.S., 2021. Biolability of fresh and photodegraded pyrogenic dissolved organic matter from laboratory-prepared chars. J. Geophys. 126, 1–17. https://doi.org/10.1029/2020JG005981.

Brook, R.D., Rajagopalan, S., Pope, C.A., Brook, J.R., Bhatnagar, A., Diez-Roux, A.V., Holguin, F., et al., 2010. Particulate matter air pollution and cardiovascular disease: an update to the scientific statement from the American Heart Association. Circ. J. 121 (21), 2331–2378. https://doi.org/10.1161/CIR.0b013e3181dbece1.

Buffaloe, G., Lack, D., Williams, E., Coffman, D., Hayden, K., Lerner, B.M., Li, S.-M., Nuaaman, I., Massoli, P., Onasch, T.B., Quinn, P.K., Cappa, C.D., 2014. Black carbon emissions from in-use ships: a California regional assessment. Atm. Chem. Phys. 14 (4), 1881–1896. https://doi.org/10.5194/acp-14-1881-2014.

Charron, A., Polo-Rehn, L., Besombes, J.-L., Golly, B., Buisson, C., Chanut, H., Marchand, N., Guillaud, G., Jaffrezo, J.-L., 2019. Identification and quantification of particulate tracers of exhaust and non-exhaust vehicle emissions. Atm. Chem. Phys. 19 (7), 5187–5207. https://doi.org/10.5194/acp-19-5187-2019.

Chiou, C.T., Cheng, J., Hung, W.-N., Chen, B., Lin, T.-F., 2015. Resolution of adsorption and partition components of organic compounds on black carbons. Environ. Sci. Technol. 49, 9116–9123. https://doi.org/10.1021/acs.est.5b01292.

Coble, P.G., 1996. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. Mar. Chem. 51, 325–346. https://doi.org/10.1016/0304-4203(95)00062-3.

Coble, P.G., Spencer, R.G.M., Baker, A., Reynolds, D.M., 2014. Aquatic organic matter fluorescence. In: Coble, P.G., Lead, J., Baker, A., Reynolds, D.M., Spencer, R.G.M. (Eds.), Aquatic Organic Matter Fluorescence. Cambridge Environmental Chemistry Series, Cambridge University Press, New York, NY, USA, pp. 75–122. ISBN: 9780521764612.

Coppola, A.I., Druffel, E.R.M., 2016. Cycling of black carbon in the ocean. Geophys. Res. Lett. 43, 4477–4482. https://doi.org/10.1002/2016GL068574.

Coppola, A.I., Walker, B.D., Druffel, E.R.M., 2015. Solid phase extraction method for the study of black carbon cycling in dissolved organic carbon using radiocarbon. Mar. Chem. 177, 697–705. https://doi.org/10.1016/j.marchem.2015.10.010.

Coppola, A.I., Wiedemeier, D.B., Galy, V., Haghipour, N., Hanke, U.M., Nascimento, G.S., Usman, M., Blattmann, T.M., Reisser, M., Freymond, C.V., Zhao, M., Voss, B., Wacker, L., Schefuß, E., Peucker-Ehrenbrink, B., Abiven, S., Schmidt, M.W.I., Eglinton, T.I., 2018. Global-scale evidence for the refractory nature of riverine black carbon. Nat. Geosci. 11, 584–588.

Coppola, A.I., Wagner, S., Lennartz, S.T., Seidel, M., Ward, N.D., Dittmar, T., Santín, C., Jones, M.W., 2022. The black carbon cycle and its role in the Earth system. Nat. Rev. Earth Environ. 3 (8), 516–532. https://doi.org/10.1038/s43017-022-00316-6.

Corbin, J.C., Mensah, A.A., Pieber, S.M., Orasche, J., Michalke, B., Zanatta, M., Czech, H., Massabò, D., Buatier de Mongeot, F., Mennucci, C., El Haddad, I., Kumar, N.K., Stengel, B., Huang, Y., Zimmermann, R., Prévôt, A.S.H., Gysel, M., 2018a. Trace metals in soot and PM2.5 from heavy-fuel-oil combustion in a marine engine. Environ. Sci. Technol. 52 (11), 6714–6722. https://doi.org/10.1021/acs.est.8b01764.

Corbin, J.C., Pieber, S.M., Czech, H., Zanatta, M., Jakobi, G., Massabò, D., Orasche, J., El Haddad, I., Mensah, A.A., Stengel, B., Drinovec, L., Mocnik, G., Zimmermann, R., Prévôt, A.S.H., Gysel, M., 2018b. Brown and black carbon emitted by a marine engine operated on heavy fuel oil and distillate fuels: optical properties, size distributions, and emission factors. J. Geophys. Atmos. 123, 6175–6195. https://doi.org/10.1029/2017JD027818.

Crapart, Camille, Andersen, Tom, Hessen, Dag Olav, Valiente, Nicolas, Vogt, Rolf David, 2021. Factors governing biodegradability of dissolved natural organic matter in lake water. Water 13 (16), 2210. https://doi.org/10.3390/w13162210.

Delfino, R.J., Staimer, N., Tjoa, T., Gillen, D.L., Polidori, A., Arhami, M., Kleinman, M.T., Vaziri, D., N.D., Longhurst, J., Sioutas, C., 2009. Air pollution exposures and circulating biomarkers of effect in a susceptible population: clues to potential causal component mixtures and mechanisms. Environ. Health Persp. 117 (8), 1232–1238. https://doi.org/10.1289/ehp.0800194.

Dittmar, T., 2008. The molecular level determination of black carbon in marine dissolved organic matter. Org. Geochem. 39, 396–407. https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2008.01.015.
Dittmar, T., Koch, B.P., 2006. Thermogenic organic matter dissolved in the abyssal ocean. Mar. Chem. 102, 208–217. https://doi.org/10.1016/j.marchem.2006.04.003.
Dittmar, T., Paeng, J., 2009. A heat-induced molecular signature in marine dissolved organic matter. Nat. Geosci. 2, 175–179. https://doi.org/10.1038/ngeo440.
Dittmar, T., Koch, B., Hertkorn, N., Kattner, G., 2008. A simple and efficient method for the solid-phase extraction of dissolved organic matter (SPE-DOM) from seawater. Limnol. Oceanogr. Methods 6, 230–235. https://doi.org/10.4319/lom.2008.6.230.
Djaoudi, K., Van Wambeke, F., Barani, A., Bhairy, N., Chevaillier, S., Desboeufs, K., Nunige, S., Labiadh, M., Henry des Tureaux, T., Lefèvre, D., Nouara, A., Panagiotopoulos, C., Tedetti, M., Pulido-Villena, E., 2020. Potential bioavailability of organic matter from atmospheric particles to marine heterotrophic bacteria. Biogeosciences 17 (24), 6271–6285. https://doi.org/10.5194/bg-17-6271-2020.
Elmquist, M., Gustafsson, O., Andersson, P., 2004. Quantification of sedimentary black carbon using the chemothermal oxidation method: an evaluation of ex situ pretreatments and standard additions approach. Limnol. Oceanogr. 2, 417–427. https://doi.org/10.4319/lom.2004.2.417.
Fang, Y., Singh, B., Singh, B.P., Krull, E., 2014. Biochar carbon stability in four contrasting soils. Eur. J. Soil Sci. 65 (1), 60–71. https://doi.org/10.1111/ejss.12094.
Fang, Z., Yang, W., Chen, M., Ma, H., 2017. Source and fate of dissolved black carbon in the western South China Sea during the southwest monsoon prevailing season. J. Geophys. Res. Biogeosci. 122 https://doi.org/10.1002/2017JG004014.
Fang, Y., Chen, Y., Huang, G., Hu, L., Tian, C., Xie, J., Lin, J., Lin, T., 2021. Particulate and dissolved black carbon in coastal China seas: spatiotemporal variations, dynamics, and potential implications. Environ. Sci. Technol. 55 (1), 788–796. https://doi.org/10.1021/acs.est.0c06386.
Farahani, V.J., Pirhadi, M., Sioutas, C., 2021. Are standardized diesel exhaust particles (DEP) representative of ambient particles in air pollution toxicological studies? Sci. Total Environ. 788, 147854 https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147854.
Ferretto, N., Tedetti, M., Guigue, C., Mounier, S., Raimbault, P., Goutx, M., 2017. Spatio-temporal variability of fluorescent dissolved organic matter in the Rhône River delta and the Fos-Marseille marine area (France, NW Mediterranean Sea). Environ. Sci. Pollut. Res. 24, 4973–4989. https://doi.org/10.1007/s11356-016-8255-z.
Fourrier, P., Dulaquais, G., Guigue, C., Giamarchi, P., Sarthou, G., Whitby, H., Riso, R., 2022. Characterization of the vertical size distribution, composition and chemical properties of dissolved organic matter in the (ultra)oligotrophic Pacific Ocean through a multi-detection approach. Mar. Chem. 240, 104068 https://doi.org/10.1016/j.marchem.2021.104068.
Ghosh, Prasenjit, Mukherji, Suparna, 2021. Growth kinetics of *Pseudomonas aeruginosa* RS1 on fluorene and dibenzothiophene, concomitant degradation kinetics and uptake mechanism 3. Biotech 11 (4), 195. https://doi.org/10.1007/s13205-021-02742-7.
Goranov, A.I., Wozniak, A.S., Bostick, K.W., Zimmerman, A.R., Mitra, S., Hatcher, P.G., 2022. Microbial labilization and diversification of pyrogenic dissolved organic matter. Biogeosciences 19, 1491–1514. https://doi.org/10.5194/bg-19-1491-2022.
Grégori, G., Citterio, S., Ghiani, A., Labra, M., Sgorbati, S., Brown, S., Denis, M., 2001. Resolution of viable and membrane-compromised bacteria in freshwater and marine waters based on analytical flow cytometry and nucleic acid double staining. Appl. Environ. Microbiol. 67 (10), 4662–4670. https://doi.org/10.1128/AEM.67.10.4662-4670.2001.
Guigue, C., Bigot, L., Turquet, J., Tedetti, M., Ferretto, N., Goutx, M., Cuet, P., 2015. Hydrocarbons in a coral reef ecosystem subjected to anthropogenic pressures (La Réunion Island, Indian Ocean). Environ. Chem. 12, 350–365. https://doi.org/10.1071/EN14194.
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. Limnol. Oceanogr. 53, 955–969. https://doi.org/10.4319/lo.2008.53.3.0955.
Huguet, A., Vacher, L., Relexans, S., Saubusse, S., Froidefond, J.M., Parlanti, E., 2009. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. Org. Geochem. 40, 706–719. https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2009.03.002.
Hulskotte, J.H.J., Roskam, G.D., Denier van der Gon, H.A.C., 2014. Elemental composition of current automotive braking materials and derived air emission factors. Atmos. Environ. 99, 436–445. https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2014.10.007.
Huyen, T.T., Oanh, N.T.K., Nguyen Huy, L., Winijkul, E., Ha Chi, N., 2022. Impact of lowering fuel sulfur content on atmospheric emissions from shipping activities in a World Heritage Bay in Vietnam. Environ. Technol. Innov. 27, 102507 https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102507.
Im, J., Lee, C.M., Coates, J.T., 2008. Comparison of two reference black carbons using a planar PCB as a model sorbate. Chemosphere. 71, 621–628. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.11.018.
Jaffé, R., Ding, Y., Niggemann, J., Vähätalo, A.V., Stubbins, A., Spencer, R.G.M., Campbell, J., Dittmar, T., 2013. Global charcoal mobilization from soils via dissolution and riverine transport to the oceans. Science 340, 345–347. https://doi.org/10.1126/science.1231476.
Jones, M.W., Coppola, A.I., Santín, C., Dittmar, T., Jaffé, R., Doerr, S.H., Quine, T.A., 2020. Fires prime terrestrial organic carbon for riverine export to the global oceans. Nat. Commun. 11, 2791. https://doi.org/10.1038/s41467-020-16576-z.
Khodadad, C.L.M., Zimmerman, A.R., Green, S.J., Uthandi, S., Foster, J.S., 2011. Taxa-specific changes in soil microbial community composition induced by pyrogenic carbon amendments. Soil Biol. Biochem. 43 (2), 385–392. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.11.005.
Kim, D., Young, T.M., Anastasio, C., 2013. Phototransformation rate constants of PAHs associated with soot particles. Sci. Tot. Environ. 443, 896–903. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.11.055.
Kuzyakov, Y., Bogomolova, I., Glaser, B., 2014. Biochar stability in soil: decomposition during eight years and transformation as assessed by compound-specific 14C analysis. Soil Biol. Biochem. 70, 229–236. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.12.021.
Li, Rui, Li, Junlin, Lulu Cui, Yu Wu, Hongbo, Fu, Chen, Jianmin, Chen, Mindong, 2017. Atmospheric emissions of Cu and Zn from coal combustion in China: spatio-temporal distribution, human health effects, and short-term prediction. Environ. Poll. 229, 724–734. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.05.068.
Li, L., Shen, X., Zhao, C., Liu, Q., Liu, X., Wu, Y., 2019. Biodegradation of dibenzothiophene by efficient *Pseudomonas* sp. LKY-5 with the production of a biosurfactant. Ecotox. Environ. Safety 176, 50–57. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.03.070.
Liu, Y., Yang, C., Cheng, P., He, X., Zhu, Y., Zhang, Y., 2016. Influences of humic acid on the bioavailability of phenanthrene and alkyl phenanthrenes to early life stages of marine medaka (*Oryzias melastigma*). Environ. Pollut. 210, 211–216. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.12.011.
Liu, Y., Lu, J., Chen, Y., Liu, Y., Ye, Z., Ge, X., 2020. Aqueous-phase production of secondary organic aerosols from oxidation of dibenzothiophene (DBT). Atmosphere 1, 151. https://doi.org/10.3390/atmos11020151.
Lønborg, C., Álvarez-Salgado, X.A., 2012. Recycling versus export of bioavailable dissolved organic matter in the coastal ocean and efficiency of the continental shelf pump. Glob. Biogeochem. Cycl. 26 (3) https://doi.org/10.1029/2012GB004353, 2012GB004353.
Mannino, A., Harvey, H.R., 2004. Black carbon in estuarine coastal ocean dissolved organic matter. Limnol. Oceanogr. 49, 735–740. https://doi.org/10.4319/lo.2004.49.3.0735.
Mari, X., Lefèvre, J., Torréton, J.P., Bettarel, Y., Pringault, O., Rochelle-Newall, E., Marchesiello, P., Menkes, C., Rodier, M., Migon, C., Motegi, C., Weinbauer, M.G., Legendre, L., 2014. Effects of soot deposition on particle dynamics and microbial processes in marine surface waters. Glob. Biogeochem. Cycles 28 (7), 662–678. https://doi.org/10.1002/2014GB004878.
Mari, X., Chu Van, T., Guinot, B., Brune, J., Lefebvre, J.-P., Raimbault, P., Dittmar, T., Niggemann, J., 2017. Seasonal dynamics of atmospheric and river inputs of black carbon, and impacts on biogeochemical cycles in Halong Bay, Vietnam. Elementa: Science of the Anthropocene 5, 75. https://doi.org/10.1525/elementa.255.
Martias, C., Tedetti, M., Lantoine, F., Jamet, L., Dupouy, C., 2018. Characterization and sources of colored dissolved organic matter in a coral reef ecosystem subject to ultramafic erosion pressure (New Caledonia, Southwest Pacific). Sci. Tot. Environ. 616-617, 438–452. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.261.
Masiello, C.A., 2004. New directions in black carbon organic geochemistry. Mar. Chem. 92, 201–213. https://doi.org/10.1016/j.marchem.2004.06.043.
Matuzawa, S., Nasser-Ali, L., Garrigues, P., 2001. Photolytic behavior of polycyclic aromatic hydrocarbons in diesel particulate matter deposited on the ground. Environ. Sci. Technol. 35, 3139–3143. https://doi.org/10.1021/es001606q.
Moran, M.A., Kujawinski, E.B., Stubbins, A., Fatland, R., Aluwihare, L.I., Buchan, A., Crump, B.C., Dorrestein, P.C., Dyhrman, S.T., Hess, N.J., Howe, B., Longnecker, K., Medeiros, P.M., Niggemann, J., Obernosterer, I., Repeta, D.J., Waldbauer, J.R., 2016. Deciphering ocean carbon in a changing world. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A 113, 3143–3151. https://doi.org/10.1073/pnas.1514645113.
Mori, Y., Nishioka, J., Fujio, S., Yamashita, Y., 2021. Transport of dissolved black carbon from marginal sea sediments to the western North Pacific. Progr. Oceanogr. 193, 102552 https://doi.org/10.1016/j.pocean.2021.102552.
Murphy, K.R., Stedmon, C.A., Waite, T.D., Ruiz, G.M., 2008. Distinguishing between terrestrial and autochthonous organic matter sources in marine environments using fluorescence spectroscopy. Mar. Chem. 108, 40–58. https://doi.org/10.1016/j.marchem.2007.10.003.
Nakane, M., Ajioka, T., Yamashita, Y., 2017. Distribution and sources of dissolved black carbon in surface waters of the Chukchi Sea, Bering Sea, and the North Pacific Ocean. Front. Earth Sci. 5, 34. https://doi.org/10.3389/feart.2017.00034.
Neff, J.M., 2002. Bioaccumulation in Marine Organisms: Effect of Contaminants from Oil Well Produced Water. Elsevier, pp. 241–318. ISBN: 0-08-043716-8.
Nyholm, N., Kristensen, P., 1991. Screening methods for assessment of biodegradability of chemicals in seawater–results from a ring test. Ecotoxicol. Environ. Saf. 23, 161–172.
Oeder, S., Kanashova, T., Sippula, O., Sapcariu, S.C., Streibel, T., Arteaga-Salas, J.M., et al., 2015. Particulate matter from both heavy fuel oil and diesel fuel shipping emissions show strong biological effects on human lung cells at realistic and comparable in vitro exposure conditions. PLoS One 10 (6), e0126536. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126536.
Ohno, T., 2002. Fluorescence inner-filtering correction for determining the humification index of dissolved organic matter. Environ. Sci. Technol. 36, 742–746. https://doi.org/10.1021/es0155276.
Popovicheva, O., Kireeva, E., Shonija, N., Zubareva, N., Persiantseva, N., Tishkova, V., et al., 2009. Ship particulate pollutants: characterization in terms of environmental implication. J. Environ. Monitor. 11 (11), 2077–2086. https://doi.org/10.1039/B908180A.
Qi, Y., Fu, W., Tian, J., Luo, C., Shan, S., Sun, S., Ren, P., Zhang, H., Liu, J., Zhang, X., Wang, X., 2020. Dissolved black carbon is not likely a significant refractory organic carbon pool in rivers and oceans. Nat. Commun. 11, 5051. https://doi.org/10.1038/s41467-020-18808-8.
Revsbech, N.P., 1989. An oxygen microsensor with a guard cathode. Limnol. Oceanogr. 34, 474–478.

Saiz-Lopez, A., Saunders, R.W., Joseph, D.M., Ashworth, S.H., Plane, J.M.C., 2004. Absolute absorption cross-section and photolysis rate of I2. Atmos. Chem. Phys. 4, 1443–1450. https://doi.org/10.1029/2003GL019215.

Seidel, M., Beck, M., Riedel, T., Waska, H., Suryaputra, I.G.N.A., Schnetger, B., Niggemann, J., Simon, M., 2014. Biogeochemistry of dissolved organic matter in an anoxic intertidal creek bank. Geochim. Cosmochim. Acta 140, 418–434. https://doi.org/10.1016/j.gca.2014.05.038.

Singh, P., DeMarini, D.M., Dick, C.A., Tabor, D.G., Ryan, J.V., Linak, W.P., Kobayashi, T., Gilmour, M.I., 2004. Sample characterization of automobile and forklift diesel exhaust particles and comparative pulmonary toxicity in mice. Environ. Health Persp. 112, 820–825. https://doi.org/10.1289/ehp.6579.

Smith, D.C., Azam, F., 1992. A simple, economical method for measuring bacterial protein synthesis rates in seawater using 3H-leucine. Mar. Microb. Food Webs 6 (2), 107–114.

Sohrin, R., Sempéré, R., 2005. Seasonal variation in total organic carbon in the Northeast Atlantic in 2000–2001. J. Geophys. Res. Oceans 110 (C10). https://doi.org/10.1029/2004JC002731.

Stedmon, C.A., Bro, R., 2008. Characterizing dissolved organic matter fluorescence with parallel factor analysis: a tutorial. Limnol. Oceanogr. Methods 6, 572–579. https://doi.org/10.4319/lom.2008.6.572.

Stubbins, A., Niggemann, J., Dittmar, T., 2012. Photolability of deep ocean dissolved black carbon. Biogeosciences 9, 1661–1670. https://doi.org/10.5194/bg-9-1661-2012.

Stubbins, A., Spencer, R.G.M., Mann, P.J., Holmes, R.M., McClelland, J.W., Niggemann, J., Dittmar, T., 2015. Utilizing colored dissolved organic matter to derive dissolved black carbon export by arctic rivers. Front. Earth Sci. 3, 63. https://doi.org/10.3389/feart.2015.00063.

Tedetti, M., Longhitano, R., Garcia, N., Guigue, C., Ferretto, N., Goutx, M., 2012. Fluorescence properties of dissolved organic matter in coastal Mediterranean waters influenced by a municipal sewage effluent (Bay of Marseilles, France). Environ. Chem. 9, 438–449. https://doi.org/10.1071/EN12081.

Tedetti, M., Marie, L., Röttgers, R., Rodier, M., Van Wambeke, F., Helias, S., Caffin, M., Cornet-Barthaux, V., Dupouy, C., 2016. Evolution of dissolved and particulate chromophoric materials during the VAHINE mesocosm experiment in the New Caledonian coral lagoon (south-west Pacific). Biogeosciences 13, 3283–3303. https://doi.org/10.5194/bg-13-3283-2016.

Tedetti, M., Bigot, L., Turquet, J., Guigue, C., Ferretto, N., Goutx, M., Cuet, P., 2020. Influence of freshwater discharges on biogeochemistry and benthic communities in a coral reef ecosystem (La Réunion Island, Indian Ocean). Front. Mar. Sci. 7, 596165 https://doi.org/10.3389/fmars.2020.596165.

Van Wambeke, F., Pulido, E., Dinasquet, J., Djaoudi, K., Engel, A., Garel, M., Guasco, S., Nunige, S., Taillandier, V., Zäncker, B., Tamburini, C., 2020. Spatial patterns of biphasic ectoenzymatic kinetics related to biogeochemical properties in the Mediterranean Sea. Biogeosciences. https://doi.org/10.5194/bg-2020-253.

Velis, C.A., Cook, E., 2021. Mismanagement of plastic waste through open burning with emphasis on the global south: a systematic review of risks to occupational and public health. Environ. Sci. Technol. 55, 7186–7207. https://doi.org/10.1021/acs.est.0c08536.

Wagner, S., Ding, Y., Jaffé, R., 2017. A new perspective on the apparent solubility of dissolved black carbon. Front. Earth Sci. 5, 75. https://doi.org/10.3389/feart.2017.00075.

Wagner, S., Jaffé, R., Stubbins, A., 2018. Dissolved black carbon in aquatic ecosystems. Limnol. Oceanogr. Letters 3, 168–185. https://doi.org/10.1002/lol2.10076.

Wagner, S., Brandes, J., Spencer, R.G.M., Ma, K., Rosengard, S.Z., Mauro, J., Moura, S., Stubbins, A., 2019. Isotopic composition of oceanic dissolved black carbon reveals non-riverine source. Nat. Commun. 10, 5064. https://doi.org/10.1038/s41467-019-13111-7.

Wagner, S., Coppola, A.I., Stubbins, A., Dittmar, T., Niggemann, J., Drake, T.W., Seidel, M., Spencer, R.G.M., Bao, H., 2021. Questions remain about the biolability of dissolved black carbon along the combustion continuum. Nat. Commun. 12, 4281. https://doi.org/10.1038/s41467-021-24477-y.

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. Environ. Sci. Technol. 37, 4702–4708. https://doi.org/10.1021/es030360x.

Wennberg, A.C., Meland, S., Grung, M., Lillicrap, A., 2022. Unravelling reasons for variability in the OECD 306 marine biodegradation test. Chemosphere 300, 134476. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134476.

Wright, M.E., Klein, A.D., Stesniak, E.J., 1991. A Diesel Exhaust Filter System for Industrial Diesel Forklifts, vol. No. 911852. SAE Technical Paper.

Yamashita, Y., Kojima, D., Yoshida, N., Shibata, H., 2021. Relationships between dissolved black carbon and dissolved organic matter in streams. Chemosphere 271, 129824. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129824.

Yamashita, Y., Nakane, M., Mori, Y., Nishioka, J., Ogawa, H., 2022. Fate of dissolved black carbon in the deep Pacific Ocean. Nat. Commun. 13, 307. https://doi.org/10.1038/s41467-022-27954-0.

Zhao, B., Liang, X., Wang, K., Li, T., $LD_{SHIP}$, X., Zhang, S., 2022. Impact of sulfur functional groups on physicochemical properties and oxidation reactivity of diesel soot particles. Fuel 327, 125041. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.125041.

Zhong, G., Sun, Y., Xiaofei, G., Yi, X., Zhang, G., 2019. Benzene polycarboxylic acid characterisation of polyaromatics in ambient aerosol: method development. Atmos. Environ. 211 https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2019.04.057.

Zimmermann, M., Bird, M.I., Wurster, C., Saiz, G., Goodrick, I., Barta, J., Capek, P., Santruckova, H., Smernik, R., 2012. Rapid degradation of pyrogenic carbon. Glob. Chang. Biol. 18 (11), 3306–3316. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2012.02796.x.

Ziolkowski, L.A., Druffel, E.R.M., 2010. Aged black carbon identified in marine dissolved organic carbon. Geophys. Res. Lett. 37, L16601 https://doi.org/10.1029/2010GL043963.

Ziolkowski, L., Chamberlin, A., Greaves, J., Druffel, E., 2011. Quantification of black carbon in marine systems using the benzene polycarboxylic acid method: a mechanistic and yield study. Limnol. Oceanogr. Methods 9, 140–149. https://doi.org/10.4319/lom.2011.9.140.

Zsolnay, A., Baigar, E., Jimenez, M., Steinweg, B., Saccomandi, F., 1999. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. Chemosphere 38, 45–50. https://doi.org/10.1016/S0045-6535(98)00166-0.

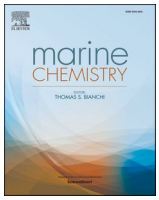
Marine Chemistry 265–266 (2024) 104432



Contents lists available at ScienceDirect

Marine Chemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/marchem





# Optical characterization of black carbon-derived DOM: Implication for the fluorescence detection of fuel combustion products in marine waters

Pauline L. Martinot [a,b,*], Catherine Guigue [a,b], Léa Guyomarc'h [a], Xavier Mari [a], Nguyen Hoang Anh Chu [b], Cam Tu Vu [b], Lea Boettcher [c], Thi Hong Nhung Dang [c], Jutta Niggemann [c], Thorsten Dittmar [c], Marc Tedetti [a,b]

[a] Aix Marseille Univ, Université de Toulon, CNRS, IRD, MIO UM 110, 13288 Marseille, France
[b] Water - Environment - Oceanography (WEO) Department, University of Science and Technology of Hanoi (USTH), Vietnam Academy of Science and Technology (VAST), Hanoi, Viet Nam
[c] Institute for Chemistry and Biology of the Marine Environment (ICBM), School of Mathematics and Science, Carl von Ossietzky Universität Oldenburg, Oldenburg, Germany

ARTICLE INFO

*Keywords:*
Black carbon
Ship soot
Dissolved organic matter
Fluorescence
Dissolved black carbon
Humic substances

ABSTRACT

Among pollutants released from shipping, black carbon (BC), also known as soot carbon, is of great interest due to its impacts on climate, air quality, human health and ecosystems. BC emitted from ships may enter marine waters and partially transfer to the seawater dissolved phase. In this study, we investigated the optical properties (absorbance and fluorescence) of dissolved organic matter (DOM) derived from BC particles ($DOM_{BC}$) emitted by ships, which were compared to those of $DOM_{BC}$ of other origins (diesel-powered industrial machine, biomass burning, urban dust), and to terrestrial and marine DOM ($DOM_{TER}$, $DOM_{MAR}$). Ship and diesel $DOM_{BC}$ displayed higher ratios of fluorescence maximum intensity to dissolved organic carbon concentration ($F_{max}$/DOC), higher specific UV absorbance at 254 nm ($SUVA_{254}$), and lower fluorescence emission wavelengths than the other tested materials. The parallel factor analysis (PARAFAC)-derived fluorophores of the ship and diesel $DOM_{BC}$ exhibited significant correlations with the concentration of dissolved black carbon (DBC), determined using the benzenepolycarboxylic acid (BPCA) method. Based on these results, we propose the Combustion indeX (COX), to help detecting and tracking ship/fuel combustion pollutions in marine waters.

## 1. Introduction

The global economy strongly relies on shipping, which allows the transportation of >90% of the world's goods (Ji and El-Halwagi, 2020). Consequently, the shipping sector is an important source of pollutants for air and water (Capaldo et al., 1999; Corbett et al., 2007; Fuglestvedt et al., 2009). Among pollutants released from shipping, black carbon (BC), also known as soot carbon, has recently received growing attention. Indeed, on a global scale, BC is produced as light-absorbing carbonaceous aerosol particles during the incomplete combustion of fossil fuels, biofuels, biomass and domestic wastes (Bond et al., 2013; Masiello, 2004; Velis and Cook, 2021), and is emitted into the atmosphere at a rate of ~6–24 Tg $yr^{-1}$ (Coppola et al., 2022). Due to its strong capacity of light absorption and its physico-chemical properties, BC contributes significantly to global warming, negatively impacts air quality and human health, influences the global carbon cycle, and has effects on terrestrial and aquatic ecosystems (Bond et al., 2013; Coppola et al., 2022; Gao et al., 2023).

BC emitted from ships through the combustion of marine fuel (0.05–0.08 Tg $yr^{-1}$) represents up to 1.6% of global BC emissions (Comer et al., 2015) and accounts for 7–21% of $CO_2$-equivalent emissions from ships (Olmer et al., 2017). However, these BC estimates are based on studies that have primarily considered ships with modern, well-maintained engines (Tier II, 2011–2015 and Tier III, 2016+) and not older engines that use heavy fuel oil (Tier 0, pre-2000 and Tier I, 2000–2010), while these latter constitute 84% of the world fleet

* Corresponding author at: Institut Méditérranéen d'Océanologie (MIO), 163 avenue de Luminy - Bât. OCEANOMED, 13288 Marseille cedex 09, France.
*E-mail addresses:* pauline.martinot@mio.osupytheas.fr (P.L. Martinot), catherine.guigue@mio.osupytheas.fr (C. Guigue), lea.guyomarch@mio.osupytheas.fr (L. Guyomarc'h), xavier.mari@mio.osupytheas.fr (X. Mari), vu-cam.tu@usth.edu.vn (C.T. Vu), lea.boettcher@uni-oldenburg.de (L. Boettcher), thi.hong.nhung.dang@uni-oldenburg.de (T.H.N. Dang), jutta.niggemann@uni-oldenburg.de (J. Niggemann), thorsten.dittmar@uni-oldenburg.de (T. Dittmar), marc.tedetti@mio.osupytheas.fr (M. Tedetti).

https://doi.org/10.1016/j.marchem.2024.104432
Received 12 March 2024; Received in revised form 26 June 2024; Accepted 10 July 2024
Available online 15 July 2024
0304-4203/© 2024 Elsevier B.V. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

(Johansson et al., 2017). Thus, it is very likely that BC emissions from maritime traffic and their contribution to global BC emissions are underestimated (Comer et al., 2015; Johnson et al., 2016).

BC emitted from ships, like other BC particles, have a relatively short life time in the atmosphere (Bond et al., 2013), and end up entering the ocean where a fraction may be transferred to the dissolved phase. In marine waters, the partitioning of BC between the particulate and dissolved phases depends on the solubility and hydrophobicity of the BC material. These are driven by its physical properties and chemical structure/composition, which are controlled by the nature of the original material subjected to combustion including fuel and biomass, the combustion temperature, and the aging/oxidation processes undergone by the BC particles once produced (Wagner et al., 2018).

Ultimately, dissolved organic matter (DOM) derived from BC particles, which corresponds to all the BC material passing through a filter of pore size between 0.2 and 0.7 μm, includes a large variety of pyrogenic organic molecules, ranging from low molecular weight (LMW) aromatic or non-aromatic compounds to high molecular weight (HMW) polycondensed aromatic moieties. Within this very complex and heterogeneous DOM, dissolved black carbon (DBC) is recognized to be composed of polycondensed aromatic molecules, characterized by Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry (FT-ICR/MS) and quantified by the benzenepolycarboxylic acids (BPCA) method (Dittmar, 2008; Wagner et al., 2021). In addition, it has been shown that the DOM derived from BC particles, including ship soot, may contain dissolved PAHs (d-PAHs), particularly LMW ones (2 to 3 aromatic rings) (Popovicheva et al., 2009; Farahani et al., 2021; Martinot et al., 2023). Although LMW PAHs are considered primarily as non-combustion (petrogenic) products and are emitted from maritime traffic mainly through oil releases, they can still be linked to combustion residues and be present in the DOM derived from BC particles due to their relatively low hydrophobicity.

Optical techniques, i.e., absorbance and fluorescence spectroscopy, along with multivariate analyses, such as parallel factor analysis (PARAFAC), have been employed for decades for the detection and characterization of natural and anthropogenic DOM in the aquatic environment (Coble, 2007; Nelson and Siegel, 2012; Tedetti et al., 2016; Martínez-Pérez, 2019). A recent study of the optical properties of DOM derived from biochar-like BC from inland biomasses has highlighted the variability of the molecular composition and the level of condensation of this material as a function of the origin and the combustion temperature, as well as the presence of a strong humic-like signature within their fluorescence matrices (Jamieson et al., 2014; Qu et al., 2016; Wu et al., 2019). However, little is known so far concerning the optical characterization of DOM derived from BC particles emitted by ships, even though the polycondensed aromatic structure of this material is thought to be highly photoreactive (Stubbins et al., 2012, 2015; Martinot et al., 2023). Yet, its optical characterization could be relevant to deepen knowledge on the composition of anthropogenic DOM in the marine environment, and to identify and monitor pollutions from ships/fuel combustion in marine waters, especially in harbor areas and major shipping routes (Johansson et al., 2017).

In this context, the objectives of this study were: 1) to characterize the optical properties (absorbance and fluorescence) of DOM derived from BC particles emitted by ships but also of DOM issued from BC particles of other origins (diesel-powered industrial machine, biomass burning, urban dust) in relation to terrestrial and marine DOM, to attempt highlighting the specific optical signature associated with ship soot. 2) To validate a PARAFAC model from the ship DOM dataset, and relate the PARAFAC-derived fluorophores to molecularly quantified BPCA-DBC. 3) In addition to the determination of existing DOM fluorescence and absorbance ratios and indices, to propose a new fluorescence index dedicated to the detection of ship/fuel combustion pollution in marine waters.

## 2. Material and methods

### 2.1. Preparation of the DOM solutions

For all the DOM solutions prepared for this study, several liters of seawater were collected in January and March 2021 on board the R/V *Antédon 2* at a depth of 10 m at the SOLEMIO observation station in the Marseille bay (South of France, northwestern Mediterranean Sea; 43°14.3′N, 5°17.3′E) using a Teflon ASTI pump (model PFD2) set up on board and connected to an immersed Teflon tubing. The seawater brought on board was then filtered in-line through a pre-combusted 142-mm glass fiber filter (GF/F, Whatman®; pore size: ~ 0.7 μm) using a Teflon filtration holder. Back in the laboratory, this water was immediately filtered under low vacuum with a glass filtration system through 0.2 μm Nuclepore polycarbonate (PC) filters of 47-mm diameter extensively rinsed with hydrochloric acid (HCl) and ultra-pure water (Milli-Q water from Millipore system, final resistivity of 18.2 MΩ cm) before use. The 0.2-μm filtered seawater was subsampled for optical measurements and dissolved organic carbon (DOC) analyses, and finally stored in the dark at 4 °C until use.

DOM derived from BC particles ($DOM_{BC}$) was prepared from the following materials (Table 1): **1)** The Certified Reference Material (CRM) "diesel particulate matter" (DPM; NIST 2975, Sigma-Aldrich), which is a reference standard for diesel exhaust particles generated by diesel-powered industrial forklift (Farahani et al., 2021; Singh et al., 2010), hereafter called DPM-1_3. DPM was used unaltered (DPM-1 and DPM-2) and after oxidation under ozone (DPM-3) using a SOG-1 generator (UVPA97, Analytik Jena) (Martinot et al., 2023). **2)** Two lignocellulosic char-BC materials, i.e., wood char-BC and grass char-BC, prepared from the combustion (450 °C, nitrogen atmosphere) of wood from chestnut trees (*Castanea sativa*) and rice straw (*Oryza sativa*), respectively, which were supplied by the Geography Dep. University of Zurich, Switzerland (Dr. M. Schmidt; https://www.geo.uzh.ch/en/units/2b/Services/BC-material/) (Hammes et al., 2006; Kaal et al., 2012). Wood char-BC (chestnut) and grass char-BC (rice) are hereafter referred to as CH-1 and CH-2. **3)** The CRM "urban dust" (UD, NIST 1649B, Sigma-Aldrich), hereafter called UD-1_2. **4)** Environmental samples collected in 2020 and 2021 in France (ship soot from Marseille harbor: SS-1), Germany (ship soot from Hamburg harbor: SS-2_8), and Vietnam with ship soot from Haiphong harbor (SS-9_10) and atmospheric particles ($PM_{2.5}$ and bulk) from Hanoi city (UD-3_5).

These BC particles (standards and natural samples) were introduced from 3.3 to 240 mg, depending on their hydrophobicity, into volumes of 0.2-μm filtered seawater of 150 to 1000 mL contained in glass bottles (Table 1). In addition to seawater, DPM and UD were also prepared in ultra-pure water (DPM-2 and UD-1, respectively), while oxidized DPM was prepared only in ultra-pure water (DPM-3). To reproduce BC dissolution conditions similar to those in the surface ocean, the solutions were placed on a shaking table (140 rpm; Table 1). Only the SS-1 sample, which was collected directly from inside the ship's chimney, required the use of an ultrasonic bath for the dissolution of particles. After 24 h of agitation, the BC solutions were filtered through pre-combusted, pre-weighed 47-mm GF/F filters and then on 0.2-μm PC filters, or directly through 0.2-μm PC filters (Table 1).

Due to the potential occurrence of d-PAHs in the $DOM_{BC}$, a PAH standard was prepared and included during the PARAFAC analyses to help identify the fluorophores present in these solutions. Phenanthrene (Phe) was selected since **1)** it has already been found in DPM and SS solutions (Martinot et al., 2023), **2)** it is one of the most abundant LMW d-PAHs found in coastal waters, maritime traffic-impacted waters and harbor waters (Guigue et al., 2011, 2014; Zaghden et al., 2022), and **3)** it displays a well-defined fluorescence signature and a strong fluorescence capacity (Ferretto et al., 2014). Phe solutions were prepared from a Phe standard purchased from Sigma-Aldrich (> 98%) (Table 1). A stock solution (50 mg $L^{-1}$) was prepared by dissolving the pure solid in methanol (Rathburn HPLC grade). From the Phe stock solution,

**Table 1**
Protocol for the preparation of dissolved organic matter (DOM) derived from black carbon (BC) particles ($DOM_{BC}$), DOM of terrestrial origin, issued from river water ($DOM_{TER}$), DOM of marine origin, produced from a phytoplankton culture ($DOM_{MAR}$), and dissolved polycyclic aromatic hydrocarbon (d-PAH) standard, i.e., phenanthrene (Phe).

| | Abbr. | Type of material | Type of solvent | Volume (mL) | Particles (mg) | Solubilization procedure | Filtration procedure |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $DOM_{BC}$ | DPM-1 | DPM (NIST2975, Sigma-Aldrich) | Seawater filtered on 0.2 µm | 1000 | 201.6 | Glass bottle, shaking table (140 rpm) for 24 h in the dark, room T° | GF/F filter (0.7 µm) then 0.2-µm filter |
| | DPM-2 | | Ultra-pure water | | 201.4 | | |
| | DPM-3 | Oxidized DPM (NIST2975, Sigma-Aldrich) | | 200 | 30 | | |
| | CH-1 | Wood char-BC (chestnut) | Seawater filtered on 0.2 µm | | 100 | | |
| | CH-2 | Grass char-BC (rice) | | | 100 | | |
| | UD-1 | Urban Dust (NIST 1649B, Sigma-Aldrich) | Ultra-pure water | 1000 | 104.3 | | |
| | UD-2 | | Seawater filtered on 0.2 µm | | 103.7 | | |
| | UD-3 | Hanoi Dust $PM_{2.5}$ 2020 | | | 135.1 | | |
| | UD-4 | Hanoi Dust Bulk 2020 | | | 240 | | |
| | UD-5 | Hanoi Dust $PM_{2.5}$ 2021 | | 150 | 30.7 | | 0.2-µm filter |
| | SS-1 | *Antedon* ship soot (France) | | 300 | Collected on GF/F filter | Ultrasonic bath (1 h) | |
| | SS-2 | *WSA* ship soot (Germany) | | 150 | 32.6 | Glass bottle, shaking table (140 rpm) for 24 h in the dark, room T° | GF/F filter (0.7 µm) then 0.2-µm filter |
| | SS-3 | | | | 26.5 | | |
| | SS-4 | | | | 42 | | |
| | SS-5 | | | | 35.3 | | |
| | SS-6 | | | | 33.6 | | |
| | SS-7 | *DG3* ship soot (Germany) | | | 32.8 | | |
| | SS-8 | *Meteor* ship soot (Germany) | | | 3.3 | | |
| | SS-9 | Cargo ship soot (Vietnam) | | | 30.9 | | 0.2-µm filter |
| | SS-10 | | | | 31.4 | | |
| $DOM_{TER}$ | HS-1 | Humic substances (SRNOM, #2R101N, IHSS) | Ultra-pure water | 500 | 50 | | |
| | HS-2 | | Seawater filtered on 0.2 µm | | 51.1 | | GF/F filter (0.7 µm) then 0.2-µm filter |
| $DOM_{MAR}$ | Phyto | Culture in vitro *Dunaliella Tertiolecta* | | NA | NA | NA | |
| d-PAH | Phe | Phenanthrene (Sigma-Aldrich) | | 130 | 50 | Stock solution in methanol, individual solutions in ultra-pure water | 0.2-µm filter |

NA: not applicable.

individual solutions with final concentrations between 1 and 50 µg $L^{-1}$ were prepared in ultra-pure water (Table 1). The methanol in these Phe solutions was always <0.1% of the total solution volume to avoid a cosolvent effect (Wang et al., 2015).

The terrestrial DOM ($DOM_{TER}$) solutions were prepared in ultra-pure water (HS-1) and 0.2-µm filtered seawater (HS-2) from ~50 mg of reference Suwannee River Natural Organic Matter (SRNOM, #2R101N; International Humic Substance Society-IHSS), following the same protocol as for the $DOM_{BC}$ solutions (Table 1). The SRNOM was obtained from 36,890 L of filtered river water, which was 40-fold concentrated in the field with reverse osmosis systems, desalted by cation exchange, freeze-dried, and homogenized. It contains a complex heterogeneous mixture of humic but also non-humic substances (Green et al., 2015).

The marine DOM ($DOM_{MAR}$) solutions were prepared from a phytoplankton culture of the unicellular halotolerant green alga *Dunaliella Tertiolecta* (Phyto) (Table 1). For the purpose of this study, a specific culture medium was developed using natural seawater and nutrient salts, without addition of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) nor vitamins, these latter being carbonaceous substrates that can provide DOC in high concentrations. The growth dynamics of the non-axenic strain of *D. tertiolecta* was monitored for 5 months by regular measurements of chlorophyll *a* (Chl*a*) and DOC concentrations. Once the DOC concentration reached the desired level (~ 280 µM), the culture was filtered through GF/F and then 0.2-µm PC, and considered as a $DOM_{MAR}$ solution containing organic compounds originating only from phytoplankton and bacterial activities (Table 1).

For all the DOM solutions ($DOM_{BC,}$ $DOM_{TER}$, $DOM_{MAR}$), the GF/F and 0.2-µm filtrates were sub-sampled for fluorescence, absorbance and DOC measurements, while for $DOM_{BC}$ only the 0.2-µm filtrates were used for BPCA-DBC analyses. All the solutions and filtrates were stored at 4 °C in the dark until analysis.

### 2.2. Optical and chemical analyses and data treatment

#### 2.2.1. Absorbance measurements

Absorbance measurements were performed in a 1-cm suprasil quartz cuvette (HELLMA), with a Shimadzu UV–Vis 2450 spectrophotometer, according to Ferretto et al. (2017) and Tedetti et al. (2020). The samples were brought to room temperature in the dark before each analysis and then transferred to the cuvette. Absorbance spectra were generated in single beam mode, between 200 and 800 nm with a step size of 1 nm, a slit width of 1 nm and a scan speed of 230 nm $min^{-1}$. Before each sample run, a new baseline was measured by the instrument, then two absorbance spectra were performed on ultra-pure water (blanks). Between each sample run, the cuvette was successively rinsed with ultra-pure water, methanol, ultra-pure water and finally with the sample. The precision of the absorbance measurements was >97% over the range 220–700 nm. All absorbance values [A(λ); unitless] were corrected for blanks and potential baseline drift, then converted into absorption coefficients [a(λ), in $m^{-1}$] (Martinot et al., 2023).

#### 2.2.2. Fluorescence measurements

Fluorescence analyses were conducted in a 1-cm suprasil quartz cuvette with a Hitachi F-7000 spectrofluorometer equipped with a 150 W xenon lamp (Tedetti et al., 2012; Martias et al., 2018). The samples were brought to room temperature in the dark before each analysis and then transferred to the cuvette. Excitation emission matrices (EEMs) were generated over an excitation wavelength ($\lambda_{Ex}$) range of 200–500 nm at 5-nm intervals and an emission wavelength ($\lambda_{Em}$) range of 280–550 nm at 2-nm intervals, a scan speed of 1200 nm $min^{-1}$, slit widths of 5 nm, and a PMT voltage of 700 V. Between each analysis, the cuvette was rinsed as for absorbance measurements. The EEMs were corrected for inner filtering effects using absorption measurements and Ohno (2002)'s formula, corrected with an ultrapure water blank or

seawater blank depending on the solvent used, and converted into quinine sulfate unit (QSU) (Coble, 1996; Murphy et al., 2008). Because the variability of the Raman scatter peak of ultra-pure water during the whole study period was very low, normalization of the fluorescence intensities was not applied. The correction proposed by Zepp et al. (2004) was applied to eliminate Rayleigh and Raman scattering peaks from the EEMs during post-processing and make the representation of the EEMs clearer and more comparable.

#### 2.2.3. Dissolved organic carbon (DOC)

Samples were acidified with 20 μL of $H_2SO_4$ (95%, Sigma-Aldrich). The vials were stored in the dark at 4 °C for a few days before analysis. The determination of DOC concentrations was carried out using a high temperature platinum- oxidation method coupled to non-dispersive infrared gas detection of carbon dioxide ($CO_2$) by a Shimadzu TOC-V carbon analyzer (Sohrin and Sempéré, 2005; Fourrier et al., 2022). Prior to injection, the samples were purged of inorganic carbon by bubbling for 2 min with $CO_2$-free air. The accuracy and system blank of the instrument were determined by analyzing certified water references (batch 10–19, Hansell Laboratory, Miami, Florida, USA). The analysis procedure was nominally precise within 2%. The DOC concentration of our samples was corrected from the DOC of the solvent used (seawater or ultra-pure water), and therefore represents the DOC added by the solubilization of the BC particles (i.e., DOC related to $DOM_{BC}$).

#### 2.2.4. Absorption and fluorescence indices and ratios

Indices and ratios were calculated from the processed absorbance and fluorescence data and DOC concentrations measured on 0.2-μm filtrates. The specific UV absorbance at 254 nm ($SUVA_{254}$, in L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$), which corresponds to the absorption coefficient at 254 nm [a (254), in $m^{-1}$] divided by the DOC concentration (in mg C $L^{-1}$), is considered as an indicator of the degree of aromaticity of the DOM (Weishaar et al., 2003; Hur et al., 2014). The humification index (HIX) (at $\lambda_{Ex}$ 254 nm, integral of fluorescence intensities between $\lambda_{Em}$ 435 and 480 nm divided by the integral of fluorescence intensities between $\lambda_{Em}$ 300 and 345 nm) is considered as an indicator of the degree of humification of the DOM (Ohno, 2002). The biological index (BIX) (at $\lambda_{Ex}$ 310 nm, fluorescence intensity at $\lambda_{Em}$ 380 nm divided by fluorescence intensity at $\lambda_{Em}$ 430 nm) is considered to relate to the level of freshness of the DOM (Huguet et al., 2009). Other indices and ratios were determined, such as the emission wavelength at which the maximum fluorescence intensity is recorded ($\lambda_{Em}$ in nm), the maximum fluorescence intensity at $\lambda_{Ex} = 255$ nm divided by the DOC concentration ($F_{max}$/DOC, in QSU μM $C^{-1}$), and the fluorescence quantum yield (FQY), i.e., the maximum fluorescence intensity (at $\lambda_{Ex} = 255$ nm) divided by the absorption coefficient at 255 nm (FQY, in QSU m) (Lakowicz, 2006; Valeur, 2002). Besides these well-known indices, a new fluorescence index is proposed in this work based on the results obtained (see § 3.4).

#### 2.2.5. Dissolved Black Carbon (DBC)

For quantification of DBC, 0.2-μm filtrates were acidified to pH 2 (HCl, analytical grade) and DOM was solid-phase extracted using prepacked cartridges with PPL adsorber (100 mg, Varian) following the method of Dittmar (2008). Aliquots of the methanol extracts were dried down, dissolved in 65% nitric acid (analytical grade) and heated at 170 °C for 10 h in pressure bombs. Nitric acid was then removed in a vacuum dryer (Speedvac, Christ), samples were dissolved in phosphate buffer solution, and analyzed on a Waters Acquity UPLC equipped with a Photodiode Array (PDA) eλ Detector using a modified method of Dittmar (2008) as outlined in Stubbins et al. (2015). DBC concentrations were calculated from the concentrations of benzenepenta- and benzenehexacarboxylic acid (B5CA and B6CA) (Barton et al., 2024).

#### 2.2.6. Statistical treatment

A first dataset was used comprising all the $DOM_{BC}$ solutions, as well as $DOM_{TER}$ and $DOM_{MAR}$ solutions (see Table 1) on which were performed a principal component analysis (PCA) and a hierarchical ranking analysis (HCA), based on a Pearson's correlation matrix. A second dataset was then exploited and processed with PARAFAC (see details § 2.2.7). It included only the $DOM_{BC}$ solutions prepared with the ship soot (SS) and diesel particulate matter (DPM), the Phe individual solutions (see Table 1), and SS and DPM solutions enriched with Phe. The Student's test (*t*-test) was applied to compare the means between two groups. The significance threshold was set at $p < 0.05$ for all analyses and tests performed. All statistical treatments were conducted using XLSTAT 2023.1.3.1407 software.

#### 2.2.7. Parallel factor analysis (PARAFAC)

PARAFAC was applied on the EEM dataset of SS, DPM and Phe samples (118 EEMs) filtered on 0.7 and 0.2 μm. The Phe samples included solutions from 1 to 50 μg $L^{-1}$ of Phe in triplicates obtained from the dilution of a Phe stock solution as described in Table 1. The EEM wavelength ranges used were 255–500 and 280–550 nm for Ex and Em. It was executed using the DOMFluor toolbox v1.6 (Stedmon and Bro, 2008) running under MATLAB® 9.13.0 (R2022b). The validation of the PARAFAC model and the determination of the correct number of components were achieved through the examination of residuals, the split half analysis and the random initialization. No outliers were present in the dataset. The fluorescence intensities of each PARAFAC component are given in QSU.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Optical properties of DOM solutions

The DOC concentration of the 0.2-μm filtered seawater used to prepare the DOM solutions was 65–72 μM. Regardless of this background DOC, the DOC concentrations due to the addition of BC particles were 152–245 μM (DPM-1_3), 139–161 μM (CH-1_2), 170–910 μM (UD-1_5) and 29–3030 μM (SS-1_10) in the $DOM_{BC}$ solutions, while the DOC concentrations due to the addition of SRNOM were 2997–8185 μM (HS-1_2) in the $DOM_{TER}$ solutions. The growth and activity of the phytoplankton culture released 280 μM of DOC (Phyto) in the $DOM_{MAR}$ solution. The pH of DOM solutions based on ultra-pure water and seawater was 5.00–6.63 and 7.26–8.20, respectively. The high concentrations of our samples may cause a deviation from linearity between the measured fluorescence intensity and the organic matter concentration (Miller et al., 2010). Although diluting these samples could have refined our measurements, it would also likely have impacted our solutions by adding DOM (with seawater) or changing the ionic strength (with ultrapure water). However, the corrected fluorescence measurements of these solutions will allow for an appreciation of the overall differences between the optical properties of our DOM solutions (Baddi et al., 2013; Baker, 2001; Murphy et al., 2013).

The most representative EEMs of $DOM_{BC}$, $DOM_{TER}$ and $DOM_{MAR}$ solutions are presented in Fig. 1. For better visualization and comparison of these EEMs with each other, their fluorescence intensities have been corrected from the seawater DOC background, and normalized to the appropriate concentrations of added-DOC. Regarding $DOM_{BC}$, SS-6, 10 and DPM-1 exhibited the highest fluorescence intensities, i.e., > 140 QSU for DPM-1 and up to >120 QSU for SS-6 and SS-10 at 50 μM BC-derived DOC, with the presence of a dominant fluorophore at $\lambda_{Ex1}$, $\lambda_{Ex2}/\lambda_{Em}$ of 225–240, 290–300/370–380 nm (mostly visible for DPM-1 at $\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ = 240/375 nm) and a dominant fluorophore at $\lambda_{Ex1}$, $\lambda_{Ex2}/\lambda_{Em}$ of 215–220, 300–320/400–420 nm (mostly visible on SS-6, 10) (Fig. 1a-c). Because of the high fluorescence intensities and spectral spreading of these signatures, it is possible that other underlying fluorophores were present in the samples, but difficult to identify using only the peak picking technique. By contrast, DOM derived from urban dust (UD-2) and char-BC (CH-2) displayed lower fluorescence intensities (~ 40 QSU at 50 and 100 μM BC-derived DOC, respectively) with the presence of fluorophores at slightly higher emission wavelengths ($\lambda_{Ex1}$, $\lambda_{Ex2}/\lambda_{Em}$ =

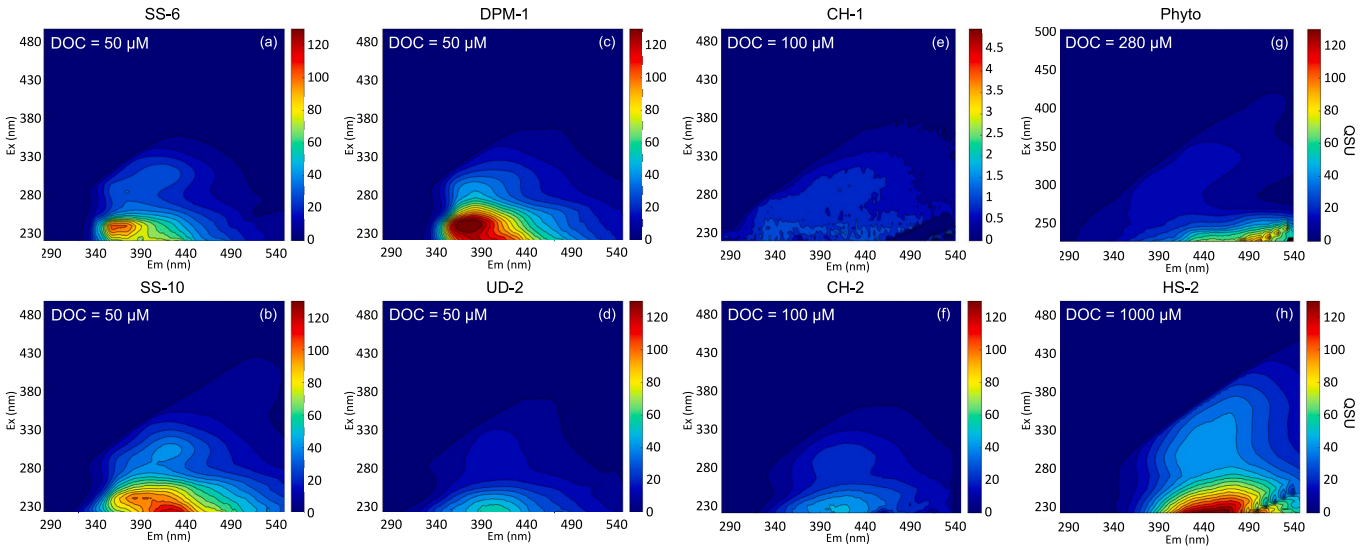



**Fig. 1.** EEM contours of dissolved organic matter (DOM) 0.2-µm filtered solution prepared from 0.2-µm filtered seawater and black carbon (BC) particles ($DOM_{BC}$) made from ship soot [SS-6 (a) and SS-10 (b)], diesel particulate matter [DPM-1 (c)], urban dust [UD-2 (d)], wood and grass char ([CH-1 (e) and CH-2 (f)], as well as a marine DOM ($DOM_{MAR}$) issued from phytoplankton culture [Phyto (g)] and a terrestrial DOM solution ($DOM_{TER}$) prepared from reference Suwannee River Natural Organic Matter [HS-2 (h)]. Fluorescence intensities are given in QSU and were normalized to the appropriate concentrations of added-DOC.

210–220, 300–320/410–425 nm) (Fig. 1d, f), while CH-1 was characterized by very low fluorescence intensities (Fig. 1e). The fluorophores observed in DPM-1, SS-6, 10, UD-2 and CH-2 samples have already been observed in a wide variety of natural urban aerosols collected in China, and attributed to the presence of compounds from combustion processes and industrial sources (Chen et al., 2020). On the other hand, the fluorophore at $\lambda_{Em}$ = 370–380 nm in DPM-1 and SS-6, 10 could reflect the presence of weakly oxygenated species associated with industrial and/or primary combustion sources (Chen et al., 2020), and the fluorophore at $\lambda_{Em}$ = 410–425 nm in UD-2, the contribution of highly oxygenated compounds generally associated with dust (Chen et al., 2016).

Phytoplankton DOM ($DOM_{MAR}$) showed low fluorescence intensities compared to $DOM_{BC}$ (~ 100 QSU at 280 µM DOC) and a 'spread' fluorescence over a wide spectral range (Fig. 1g), reflecting the complex dynamics of DOM production/degradation through phytoplankton-heterotrophic prokaryotes coupling. Indeed, the protein-like fluorophores detected at short wavelengths ($\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ = 275/310, 275/340 nm) likely correspond to labile substrates produced directly by phytoplankton, as shown in a large diversity of micro-phytoplankton groups (Retelletti Brogi et al., 2020). On the other side, humic-like fluorophores, strongly visible at higher wavelengths ($\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ = 350–400/450–500 nm), might originate from the remineralization activity of heterotrophic prokaryotes and the resulting refractory DOM production (Rochelle-Newall and Fisher, 2002). $DOM_{TER}$ (HS-2) presented high fluorescence intensities at $\lambda_{Em}$ between 400 and 500 nm for $\lambda_{Ex}$ of 220–250 nm (Fig. 1h). For higher $\lambda_{Ex}$, the fluorescence signature extended towards higher $\lambda_{Em}$ (up to 500 nm). These signatures are typical of those described for humic substances of terrestrial origin (Peuravuori et al., 2002; Hur et al., 2009).

Overall, the fluorophores of $DOM_{BC}$ solutions were located in a spectral domain between that of the protein-like fluorophores ($\lambda_{Ex}$ = 225–285 nm; $\lambda_{Em}$ = 310–350 nm) and that of the humic-like fluorophores ($\lambda_{Ex}$ = 250–350 nm; $\lambda_{Em}$ = 420–500 nm) of $DOM_{MAR}$ and $DOM_{TER}$ (Coble, 2007).

The different absorption and fluorescence indices and ratios of all solutions are presented in Table 2. In order to obtain an overview of the distribution of DOM samples according to these indices and ratios, a PCA and a HAC were performed for the variables $SUVA_{254}$, HIX, BIX, $\lambda_{Em}$ and $F_{max}$/DOC (Fig. 2).

The main axis F1, which explained 49% of the total variability within samples, was positively driven by the parameters $F_{max}$/DOC, $SUVA_{254}$, and negatively by $\lambda_{Em}$, and these three variables showing significant linear correlations with each other ($r^2$ = 0.60 to 0.80, $n$ = 24, $p < 0.05$). The second axis F2, which accounted for 38% of the total variability within samples, was positively associated with BIX and negatively with HIX, and also to a lesser extent with $\lambda_{Em}$ ($r^2$ = 0.71, $n$ = 24, $p < 0.05$ for HIX versus BIX) (Fig. 2).

Ship soot (SS) and DPM samples were characterized by the highest $F_{max}$/DOC and $SUVA_{254}$ values, the lowest $\lambda_{Em}$ values, and highly variable BIX and HIX values, compared to other samples (Table 2; Fig. 2). Furthermore, this group generally showed much higher values than those reported in the literature on thermally altered soils (Fischer et al.,

**Table 2**
Absorption and fluorescence indices and ratios determined for the $DOM_{BC}$ (SS, DPM, UD, CH), $DOM_{TER}$ (HS) and $DOM_{MAR}$ (Phyto) 0.2-µm filtered samples, as well as 0.2-µm filtered seawater.

| Samples | $SUVA_{254}$ (L mg $C^{-1}$ $m^{-1}$) | HIX | BIX | $\lambda_{Em}$ (nm) | $F_{max}$/DOC (QSU µM $C^{-1}$) | FQY (QSU m) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Seawater | 2.7 | 3.4 | 1.2 | 420 | 0.07 | 2.6 |
| SS-1 | 16.1 | 51.6 | 0.5 | 428 | 1.08 | 5.7 |
| SS-2 | 16.5 | 71.4 | 0.4 | 424 | 1.25 | 6.4 |
| SS-3 | 18.0 | 10.3 | 0.9 | 378 | 1.45 | 6.9 |
| SS-4 | 19.3 | 32.6 | 0.6 | 418 | 1.18 | 5.2 |
| SS-5 | 27.5 | 24.8 | 0.7 | 400 | 3.40 | 5.8 |
| SS-6 | 19.4 | 44.9 | 0.5 | 416 | 1.61 | 7.0 |
| SS-7 | 17.7 | 20.2 | 0.6 | 398 | 2.08 | 10.0 |
| SS-8 | 6.4 | 5.6 | 0.9 | 420 | 0.46 | 6.0 |
| SS-9 | 5.1 | 7.9 | 0.8 | 426 | 0.23 | 3.9 |
| SS-10 | 5.2 | 5.8 | 0.9 | 420 | 0.32 | 5.3 |
| DPM-1 | 18.9 | 34.8 | 0.8 | 401 | 2.37 | 10.4 |
| DPM-2 | 19.4 | 34.3 | 1.0 | 382 | 2. 76 | 11.5 |
| DPM-3 | 20.9 | 10.4 | 0.5 | 424 | 0.21 | 0.8 |
| UD-1 | 4.4 | 6.6 | 1.0 | 404 | 0.58 | 11.0 |
| UD-2 | 8.5 | 9.8 | 0.9 | 416 | 0.76 | 7.3 |
| UD-3 | 16.3 | 39.5 | 0.7 | 407 | 1.32 | 6.9 |
| UD-4 | 22.0 | 21.6 | 0.6 | 398 | 1.75 | 6.7 |
| UD-5 | 17.5 | 22.5 | 0.6 | 420 | 1.01 | 4.8 |
| CH-1 | 4.8 | 1.7 | 0.8 | 424 | 0.02 | 0.2 |
| CH-2 | 4.6 | 12.3 | 0.7 | 414 | 0.46 | 6.5 |
| Phyto | 2.0 | 9.9 | 1.1 | 444 | 0.28 | 0.9 |
| HS-1 | 2.8 | 44.1 | 0.4 | 460 | 0.30 | 9.2 |
| HS-2 | 4.3 | 59.5 | 0.5 | 474 | 0.11 | 1.4 |

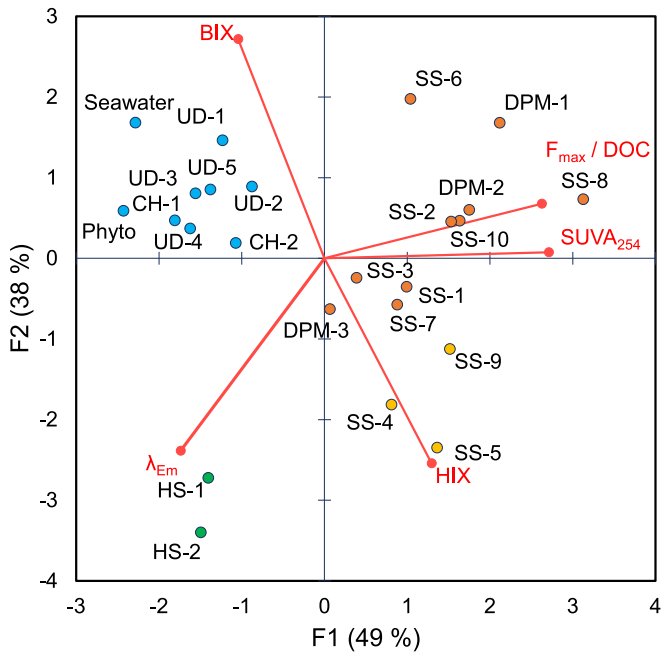



**Fig. 2.** Biplot of standardized Principal Component Analysis (PCA) on the $DOM_{BC}$, $DOM_{TER}$ and $DOM_{MAR}$ 0.2-µm filtered samples, as well as 0.2-µm filtered seawater. Correlation circle of variables is in red, and the samples are gathered by colour according to Hierarchical Ascending Classification (HAC): yellow and orange for ship soot (SS) and diesel particulate matter (DPM), blue for urban dust (UD), wood and grass char (CH), $DOM_{MAR}$ (Phyto) and seawater, and green for $DOM_{TER}$ (HS). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

2023; McKay et al., 2020). The high variability of the HIX and BIX values within the SS and DPM samples led to the occurrence of two groups within this dataset, visible in the PCA and confirmed by the HAC: one group comprising SS-4, 5, 9 (yellow points on Fig. 2), characterized by particularly high HIX values, and another group comprising SS-1_3, 6_8, 10 and DPM-1_2 (orange points on Fig. 2), typified by lower HIX and higher BIX values. Overall, the SS and DPM samples exhibited a much higher fluorescence and absorption capacity (normalized to DOC values) compared to DOM derived from urban dust (UD-2), char-BC (CH-2), $DOM_{TER}$ and $DOM_{MAR}$. Their very high $SUVA_{254}$ associated with the lowest $\lambda_{Em}$ suggested that SS and DPM samples were dominated by aromatic and intermediate molecular weight organic compounds. For example, PAHs with 4 or more rings, weakly soluble if not functionalized, are also suspected to contribute to this highly photoreactive aromatic material, in addition to LMW PAHs as discussed by Chen et al. (2014) and Chen et al. (2022).

The PCA also highlighted a group including UD-1_5 and CH-1_2 (Fig. 2), which showed lower $F_{max}$/DOC and $SUVA_{254}$ values, and higher $\lambda_{Em}$ values, as well as high BIX and low HIX values (Table 2). While these $SUVA_{254}$ values align more closely with the literature on thermally altered soils, the associated HIX values remain on average much higher than those recorded in previous studies (Fischer et al., 2023; McKay et al., 2020). DOM of this group was probably more weathered and photo-oxidized, which suggests the presence of more oxygenated compounds in these samples (Chen et al., 2020). According to PCA and HAC, seawater and Phyto samples were part of this UD and CH group. These marine DOM samples differed from the SS + DPM group but also from the UD + CH samples by having the lowest $F_{max}$/DOC, $SUVA_{254}$ and HIX values, as well as the highest BIX and $\lambda_{Em}$ values (Table 2; Fig. 2). This underlined the autochthonous, biological and less photoreactive character of $DOM_{MAR}$ relative to $DOM_{BC}$, with, at the same time, a contribution of higher molecular weight material reflecting the production of refractory DOM by heterotrophic prokaryotes (Rochelle-Newall and Fisher, 2002; Retelletti Brogi et al., 2020).

Finally, the $DOM_{TER}$ group (HS-1_2), with low $F_{max}$/DOC and $SUVA_{254}$ values, the highest $\lambda_{Em}$ values and HIX and the lowest BIX values (Table 2; Fig. 2), is rather representative of a humified/degraded high molecular weight material that has undergone physical, chemical and microbiological transformation processes from terrestrial soil and plant organic matter.

Within each group identified by PCA and HAC, no significant differences were observed between solutions prepared in seawater versus ultrapure water.

### 3.2. *PARAFAC components of ship and diesel $DOM_{BC}$, and comparison with molecular DBC*

While results presented above emphasized the optical features of DOM derived from BC particles emitted from ships (SS) and from diesel-powered industrial machine (DPM) relative to other $DOM_{BC}$ samples (UD, CH), the $DOM_{TER}$ and $DOM_{MAR}$ samples (HS, Phyto), a PARAFAC analysis was carried out specifically on SS and DPM samples, including 0.7- and 0.2-µm filtrates, with the addition of Phe and DPM + Phe samples. The aim was to extract and identify the most representative fluorophores present within the SS and DPM samples (difficult to identify from EEMs due to peak overlapping; Fig. 1a-c), and then to determine whether these PARAFAC-derived fluorophores may be molecularly associated with DBC. Phe was used as internal standard in the SS and DMP samples to help identify a Phe-like component in addition to fluorophores potentially linked to DBC.

Contour plots and spectral characteristics of the three components (C1-C3) identified and validated by the PARAFAC are presented in Fig. 3. For all of the components, multiple strong matches ($TCC_{ex\times em} > 0.95$) were observed (80, 5 and 21 matches for C1, C2 and C3, respectively) on OpenFluor database (https://openfluor.lablicate.com/). C2 had 33 matching components with $TCC_{ex\times em} > 0.9$. Typically, these correspondences in the OpenFluor database literature have associated the C1 component with a humic-like signature, linked to relatively aromatic compounds and high molecular weight (Kida et al., 2021; Wünsch et al., 2017; Zito et al., 2023, 2019), the C2 component with a PAH contaminant (Murphy et al., 2006) / petroleum-derived DOM (Brünjes et al., 2022; Harsha et al., 2023), and the C3 component with a terrestrial-derived humic-like DOM (Maurischat et al., 2022; Romero et al., 2019).

C1 has primary excitation maximum <255 nm and a secondary peak at 315 nm, with an emission maximum at 428 nm. It thus corresponded to peaks A + C in Coble's (1996) classification and to component 3 in the Ishii and Boyer's (2012) classification. C1 was present in SS, DPM, SS + Phe and DPM + Phe samples, but not in Phe samples (Fig. 4). This component, associated with humic-like material, has been found in various aquatic environments such as marine waters, estuaries, lakes and agricultural/forest streams, and is suspected to be issued from autochthonous biological activities and terrestrial or anthropogenic organic matter (Stedmon and Markager, 2005; Ishii and Boyer, 2012; Cuss and Guéguen, 2013). However, peaks similar to C1 have also been identified in biochar extracts and associated with pyrolysis products containing aromatic humic-like substances that have been observed to decompose at higher pyrolysis temperatures (Uchimiya et al., 2013; Jamieson et al., 2014).

C2 has a main excitation maximum <255 nm with a slight shoulder at 290 nm, and an emission maximum at 384 nm (Fig. 3). Its fluorescence spectral domain was very close to that of dissolved Phe in water (Cory and McKnight, 2005; Mueller et al., 2012; Ferretto et al., 2014). C2 was present in all samples: SS, DPM, Phe, SS + Phe and DPM + Phe. C1 and C2 together accounted for on average 76% of the total fluorescence of the samples. Logically, C1 and C2 corresponded to the dominant fluorophores reported by peak picking technique in the SS (mainly C1) and DPM (mainly C2) samples (Fig. 1a-c), and whose fluorescence maxima were used in the PCA (Fig. 2).

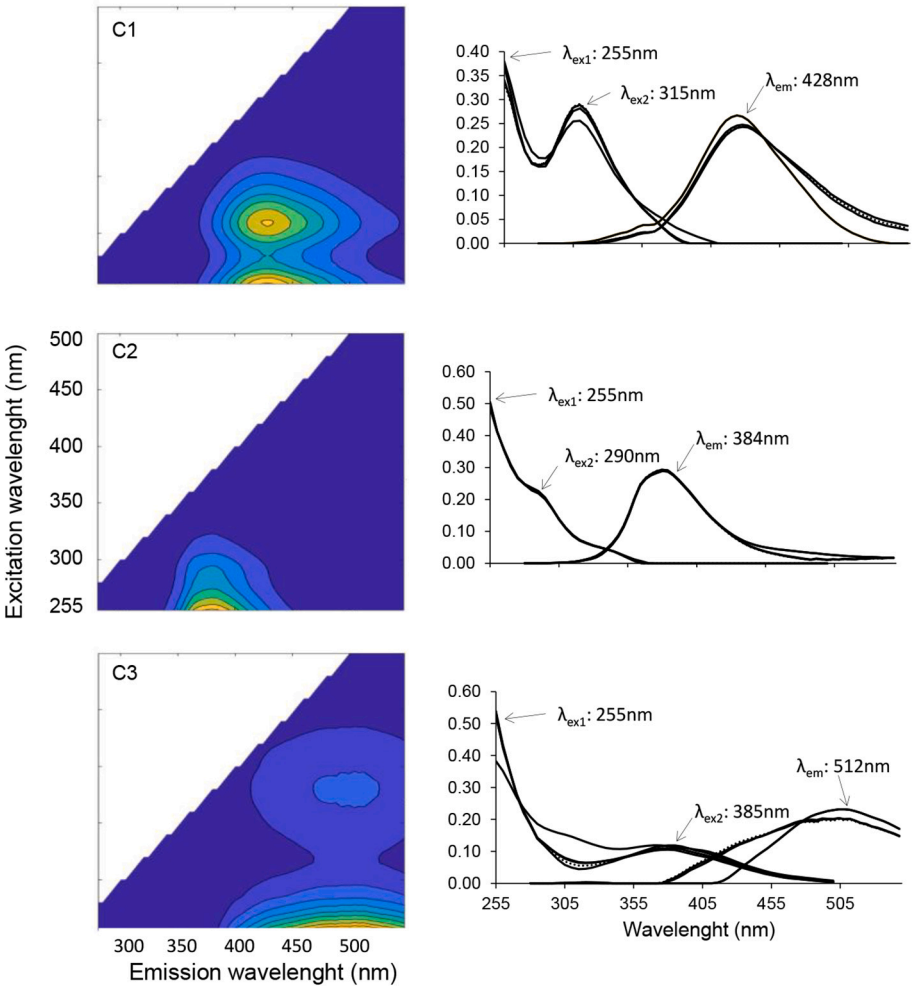



**Fig. 3.** Contour plots and spectral characteristics of the three components (C1-C3) validated by the PARAFAC model for 118 EEMs from 0.2-µm and GFF filtered DOM solutions derived from BC particles emitted from ships (SS) and from diesel-powered industrial machines (DPM), phenanthrene (Phe), SS + Phe and DPM + Phe solutions. The line plots show the excitation (left side) and emission (right side) fluorescence spectra. The dotted lines correspond to split half validation results. The excitation and emission maxima ($\lambda_{Ex}$ and $\lambda_{Em}$) of each component are given.

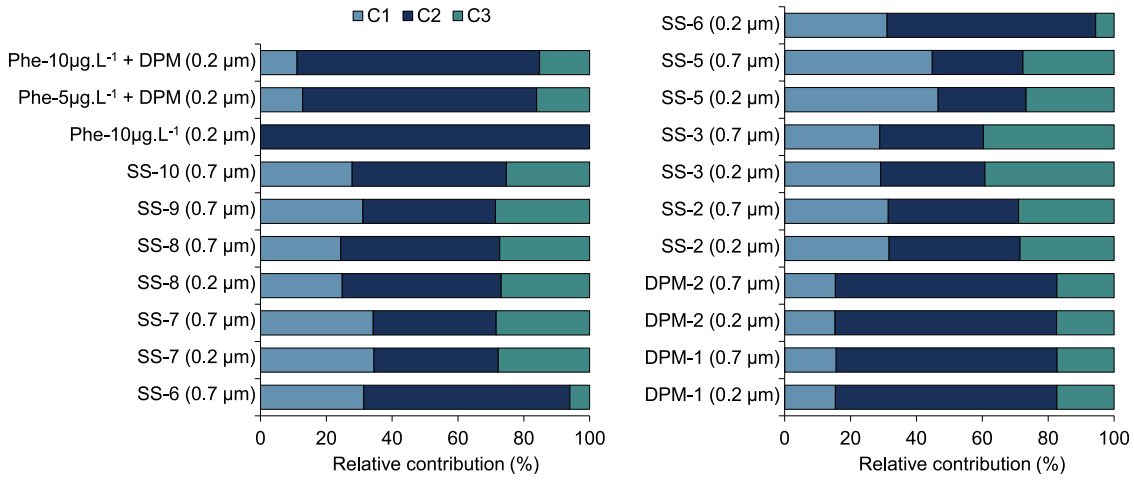



**Fig. 4.** Relative contribution of C1, C2 and C3 components identified by PARAFAC to the total fluorescence measured in SS, DPM, Phe and DPM + Phe solutions.

C3 had a primary excitation maximum <255 nm, a secondary excitation maximum at 385 nm, and an emission maximum at 512 nm (Fig. 3). It corresponded to peaks A + C in the Coble's (1996) classification and to component 2 in the Ishii and Boyer's (2012) classification. C3 was detected in SS, DPM, SS + Phe and DPM + Phe samples, but not in Phe samples (Fig. 4). This C3 component was similar to those representative of soil humic substances (Singh et al., 2010; Stedmon and Markager, 2005). It has been detected in numerous water bodies and

associated with terrestrial organic matter but also autochthonous aquatic activities (Fellman et al., 2008; Cuss and Guéguen, 2012). C3 was very likely of higher molecular weight, more hydrophobic, and more photodegradable compared to C1, as indicated by its longer $\lambda_{Ex}$ and $\lambda_{Em}$ (Fig. 3; Ferretto et al., 2017). C3 was a minority in the total fluorescence of the samples (on average 24%), and was therefore difficult to identify in the EEMs presented in Fig. 1.

The relationship between the fluorescence intensity of C2 component and dissolved Phe concentration for different Phe, SS + Phe and DPM + Phe samples ($r^2 = 0.92$, $n = 15$, $p < 0.05$) (Fig. 5) confirms the identification of C2 as Phe-like fluorophore in SS and DPM samples, and is consistent with recent observations of the presence of dissolved Phe (measured by GC–MS) in water-soluble fractions of ship soot and DPM (Martinot et al., 2023).

On the other hand, the fluorescence intensities of C1 and C3 presented significant positive linear relationships with the DBC concentrations measured in the SS and DPM solutions ($r^2 = 0.90–1.00$, $n = 18–39$, $p < 0.05$). The linear correlations were stronger with C3 than with C1, and when taking into account DPM samples compared to SS samples (Fig. 6a-f). This latter observation can be explained by the fact that DPM samples were issuing from a serial dilution of a DPM stock solution, whereas SS samples were independent from each other, coming from various origins.

Hence, the three PARAFAC components present in the SS and DPM solutions were molecularly associated with dissolved Phe (C2) (Fig. 5) and DBC (C1 and C3) (Fig. 6a-f). It should be noted that some of the relationships between the concentration of compounds and the fluorescence intensity of PARAFAC components are not fully linear (Fig. 5, Fig. 6 a, e). An inhibition of fluorescence occurred at high concentrations, although our fluorescence data were corrected for inner filtering effects using absorbance measurements. However, taking into account the fact that these regressions are not then used to determine the concentrations of the compounds, and to be able to compare these relationships with each other, we preferred to keep the linear model for all the solutions. These correlations are in agreement with the link between the fluorescence spectral domain and the molecular structure of the fluorescent compound (i.e., increase of the $\lambda_{Ex}$ and $\lambda_{Em}$ with the aromaticity degree/number of conjugated pi-electrons of the molecule; Ferretto et al., 2014). Indeed, while C2, which displayed the shortest $\lambda_{Ex}$ and $\lambda_{Em}$, was associated with Phe (3-ring aromatic molecule), C1 and C3, which showed longer $\lambda_{Ex}$ and $\lambda_{Em}$, were related to DBC (5-to-8-ring functionalized aromatic molecules).

The C1 and C3 fluorophores identified in our SS and DPM samples, which are linked to the DBC content, are, as mentioned above, also known to be present in a diversity of aquatic ecosystems and derived from autochthonous and allochthonous humic-like material. It should also be noted that there is a possibility of spectral overlap related to the extent of the spectral signature within the domain, particularly in the case of component C1. The solutions analyzed in this study correspond to the results of BC particle solubilization, which significantly altered the chemical composition of the medium by introducing DBC as well as d-PAHs that can be integrated into the overall fluorescence (Buffaloe et al., 2014; Farahani et al., 2021; Martinot et al., 2023; Popovicheva et al., 2009). Several studies have also highlighted the presence of humic-like fluorescence signatures in the biochar BC-derived DOM (Jamieson et al., 2014); with fulvic acid-like material being the main DOM component at low pyrolysis temperatures and humic acid-like material dominating at high temperatures (Qu et al., 2016; Wu et al., 2019). This is in line with our results, underscoring the close link between the fluorescence signatures of DOM derived from ship/fuel combustion materials and DOM derived from humic substances.

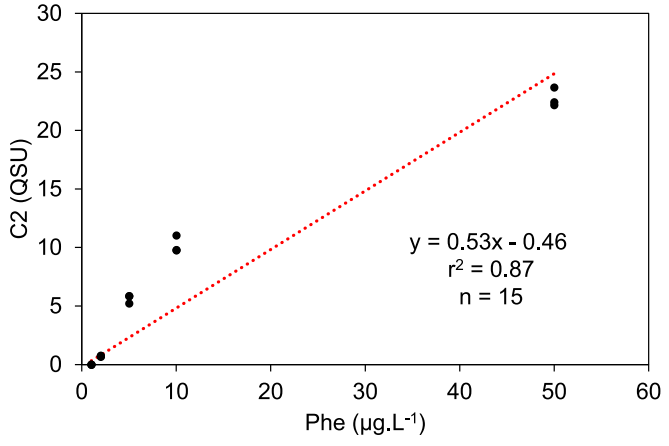



**Fig. 5.** Relationship between the fluorescence intensity of C2 component (in QSU) and dissolved phenanthrene (Phe) concentration (in µg $L^{-1}$) added in the SS and DPM solutions. The dotted red line corresponds to a weighted linear regression. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

### 3.3. The COX index for the detection of ship/fuel combustion pollutions in marine waters

In the previous sections, we have highlighted the specific fluorescence signatures of SS and DPM solutions relative to those of other $DOM_{BC}$, $DOM_{TER}$ and $DOM_{MAR}$, but without being able to finely discriminate/separate the fluorescence signatures between SS and DPM. We have therefore not highlighted a unique BC signature for ships, but rather a BC signature more broadly related to the combustion of fuels. Based on these results, we thus propose a new fluorescence index, referred to as COX (COmbustion indeX), for the detection in marine waters of DOM derived from BC particles/soot originating from the combustion of fuels.

For the COX determination, we propose to subtract the fluorescence intensity of the second peak of C3 component ($\lambda_{Ex}/\lambda_{Em} = 385/512$ nm), which can also be associated with terrestrial humic-like material in marine waters, from the fluorescence intensity of the first peak of C1 component ($\lambda_{Ex}/\lambda_{Em} = 255/428$ nm), which is strongly correlated with DBC concentration (Figs. 3, 6), after having corrected these fluorescence values from the internal filtering effect. It has been reported in previous studies that the DOM content released from combustion products was strongly correlated with the pyrolysis temperature, with higher temperatures leading to lower amounts of DOC (Wu et al., 2019). Because of this variability in DOC concentrations, the COX is normalized to DOC concentration (mg $C^{-1}$ $L^{-1}$) and is ultimately determined using the following formula:

$$COX = \frac{I_{(\lambda_{ex=255}/\lambda_{em=428})} - I_{(\lambda_{ex=385}/\lambda_{em=512})}}{DOC}$$

The COX formula, which is based on the fluorescence of C1 and C3 PARAFAC components, is therefore a refined version of the $F_{max}$/DOC index used in the PCA that was already very relevant to discriminate the ship and diesel samples from the other DOM solutions (Table 2; Fig. 2). From the COX calculation on our DOM solutions, we were able to discriminate **1)** $DOM_{TER}$ (COX: 5.2–5.6 QSU L mg $C^{-1}$), **2)** UD and CH-2 (COX: 14.7–41.3 QSU L mg $C^{-1}$), and **3)** SS and DPM (36.6–110.6 QSU L mg $C^{-1}$) (Fig. 7). COX more reliably depicted the differences between ship soot and urban dust compared to known fluorescence indices (Table 2), and normalization by DOC concentration allowed the fluorescence signature to be classified independently from the quantity of solubilized matter (Fig. 7). Also, filter pore size does not seem to have a significant impact on COX values, despite the high organic matter content of the samples. It is worth noting that the COX value of DPM-3, whose oxidation was intended to mimic/reproduce BC that had transited in the atmosphere, was almost 10 times lower than that of DPM-1_2 (Fig. 7). This index would therefore make it possible to disentangle humic-like organic matter (with lower COX values) from DOM derived

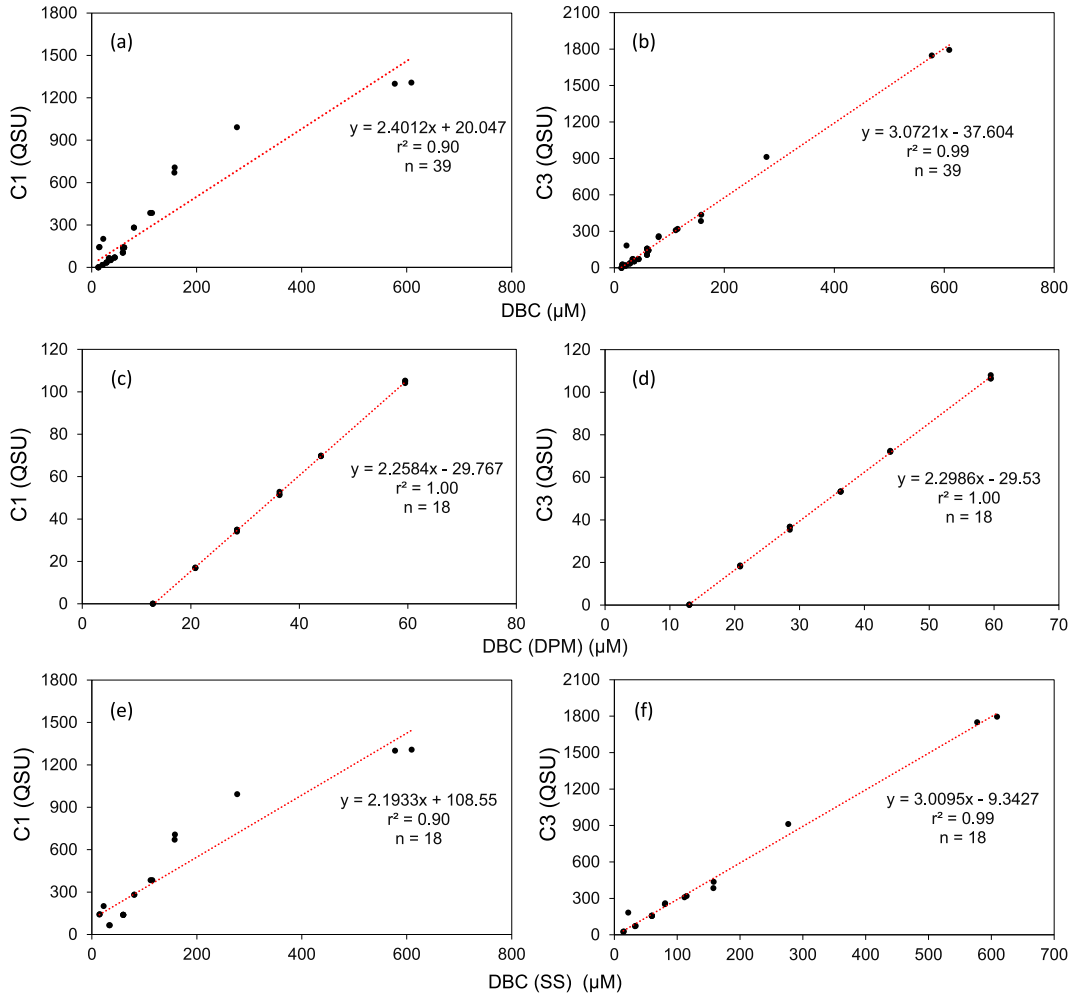



**Fig. 6.** Linear relationships between the fluorescence intensities of C1 (a, c, d) or C3 component (b, d, f) (in QSU) and dissolved black carbon (DBC) concentration (in µM) in together SS and DPM solutions (a, b), DPM solutions only (c, d), and SS solutions only (e, f).

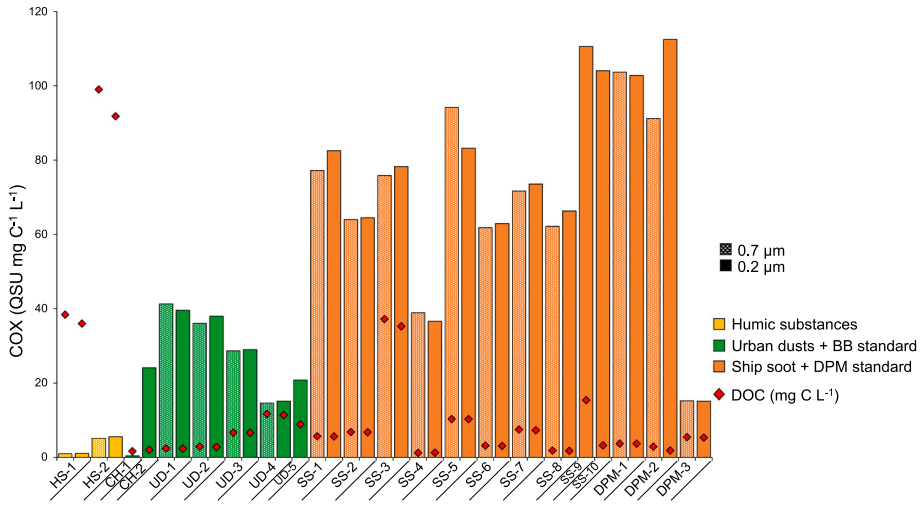



**Fig. 7.** COmbustion indeX (COX in QSU L mg $C^{-1}$) determined and DOC concentration (mg C $L^{-1}$) measured for $DOM_{BC}$, i.e., DPM and SS (in orange), UD and CH (in green), and $DOM_{TER}$ (HS) (in yellow). Light and dark colour corresponds to 0.7-µm and 0.2-µm filtrates, respectively. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

from ship soot/combustion of fuels (higher COX values). Urban dust, a heterogeneous compartment resulting from a mixture of combustion products and dust, as well as CH-2, are positioned around intermediate COX values (Fig. 7).

To test the reliability of the COX index for natural coastal marine samples, we used the annual monitoring dataset provided by Ferretto et al. (2017) and selected 55 Northwestern Mediterranean Sea samples corresponding to 3 different areas: **1)** Port-de-Bouc (PB, 12-m depth), a harbor located in the Gulf of Fos-sur-mer on the route of oil cargo ships entering the Gulf of Fos-sur-mer or going to the Berre Lagoon, which receives freshwaters from the Berre Lagoon through the Caronte channel and from the Rhône River leading to a mix of signatures from various origins: natural (terrestrial and biological) and anthropogenic (petrogenic and pyrogenic), **2)** Couronne (CO, 90-m depth), as a marine nearshore site located 6 km off of PB between the Rhône River mouth/Gulf of Fos-sur-mer and the Bay of Marseille, and **3)** SOLEMIO (SO, 60-m depth), as a nearshore observation station located in the Bay of Marseille (Fig. S1).

The use of the BIX and HIX indices on this dataset did not reveal any significant differences between the 3 sampling stations (mean BIX: PB = 1.01 ± 0.03; CO = 0.93 ± 0.17; SO = 0.98 ± 0.14, mean HIX: PB = 2.87 ± 0.65; CO = 2.30 ± 1.0; SO = 2.13 ± 0.40) (Fig. S2).

Similarly, the DOC concentrations provided information on the quantity of DOM, occasionally showed high values near the harbor (Fig. 8) but did not provide any evidence regarding the DOM quality. In contrast, when comparing the COX values between sites, PB samples showed significantly higher values compared to CO and SO ones (*t*-test, $p < 0.05$) (Fig. 8). Mean COX values of PB, CO and SO samples were 3.4 ± 1.6, 1.2 ± 0.2 and 1.5 ± 0.4 QSU L mg $C^{-1}$, respectively, underlining higher COX values in harbor/ship-impacted areas than in less-impacted coastal marine waters. Finally, the variability observed in COX values at the PB station was higher than observed for CO and SO during the sampling year. Considering COX as an indicator of combustion origin, this variability confirms that this station might be particularly subject to ship soot pollution or, more generally, pollution linked to fuel combustion products.

Therefore, based on the initial optical characterization work conducted in our study, we propose the COX index as a potentially relevant indicator for monitoring pollution linked to combustion-residues, including ship soot in marine waters. A broader application of this index in future studies, along with its correlation with measured DBC concentrations in natural environments, is necessary to validate and strengthen this proposition.

## 4. Conclusion

In this work, we show that ship and diesel $DOM_{BC}$ have distinct optical properties compared to other $DOM_{BC}$ (biomass burning, urban dust) and to $DOM_{TER}$ and $DOM_{MAR}$, with higher $F_{max}$/DOC and $SUVA_{254}$ values, and lower $\lambda_{Em}$ of maximum fluorescence intensity. Further molecular analyses of our $DOM_{BC}$, $DOM_{TER}$, and $DOM_{MAR}$ samples is necessary to confirm the compositional differences suggested by PCA and HCA clustering. The PARAFAC-derived fluorophore intensities of the ship and diesel $DOM_{BC}$ solutions showed significant correlations with DBC concentrations, highlighting the contribution of DBC to their fluorescence. We propose the COX index as a new fluorescence metric to detect and track the ship/fuel combustion pollution in marine waters. The COX index should be tested on additional fluorescence datasets with varying humic substance content and compared to molecular analyses of DBC to confirm its broad applicability in distinguishing humic-like terrestrial signatures from combustion-like DOM fingerprints.

The observed variability in optical properties and DBC concentrations within ship $DOM_{BC}$ suggest a link between their molecular and fluorophore composition and the type of fuel, engine, and combustion temperature of the ship. Future studies should address the impact of the fuel and engine types on the optical properties (including the COX index) and molecular content of ship $DOM_{BC}$.

## CRediT authorship contribution statement

**Pauline L. Martinot:** Writing – review & editing, Writing – original draft, Visualization, Methodology, Investigation, Formal analysis, Conceptualization. **Catherine Guigue:** Writing – review & editing, Methodology, Investigation, Formal analysis, Conceptualization. **Léa Guyomarc'h:** Writing – review & editing, Investigation, Formal analysis. **Xavier Mari:** Writing – review & editing, Supervision, Project administration, Methodology, Investigation, Funding acquisition, Formal analysis, Conceptualization. **Nguyen Hoang Anh Chu:** Writing

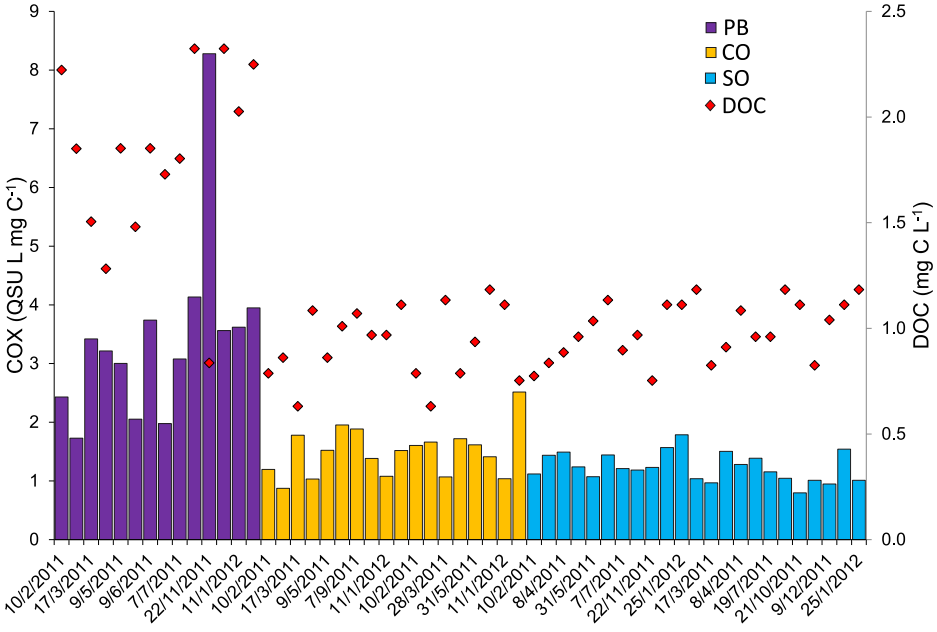



**Fig. 8.** COmbustion indeX (COX in QSU L mg $C^{-1}$) and DOC concentration (mg C $L^{-1}$) measured for 55 samples from the annual monitoring in Port-de-Bouc (PB), Couronne (CO) and SOLEMIO (SO) from Marseille Bay (France) provided by Ferretto et al. (2017).

– review & editing, Investigation, Formal analysis. **Cam Tu Vu:** Writing – review & editing, Methodology, Investigation, Formal analysis, Conceptualization. **Lea Boettcher:** Writing – review & editing, Methodology, Formal analysis, Conceptualization. **Thi Hong Nhung Dang:** Writing – review & editing, Investigation, Formal analysis. **Jutta Niggemann:** Writing – review & editing, Investigation, Formal analysis. **Thorsten Dittmar:** Writing – review & editing, Methodology, Formal analysis, Conceptualization. **Marc Tedetti:** Writing – review & editing, Writing – original draft, Supervision, Project administration, Methodology, Investigation, Funding acquisition, Formal analysis, Conceptualization.

## Declaration of competing interest

None.

## Data availability

Data will be made available on request.

## Acknowledgements

This work was conducted in the frame of **1)** the EU-MarTERA MATE project (*MAritime Traffic Emissions: A monitoring network*), funded by the Agence Nationale de la Recherche (ANR-20-MART-0003), **2)** the IRN SOOT-SEA (*International Research Network on the Impact of Black Carbon in South East Asia*) funded by IRD, and **3)** the COMATIC project funded by CNRS-INSU EC2CO program. We acknowledge the captains and crew of the R/V *Antédon 2* and *ASTROIDES*, as well as J.A. Tesán-Onrubia, L. Papillon, M. Lafont and D. Malengros for their excellent service at sea and their invaluable assistance in collecting seawater samples. We thank Ina Ulber and Heike Simon for excellent support with preparation and analyses of DBC samples. PhD scholarship to P.L. Martinot was provided by Aix-Marseille University on behalf of the doctoral school 251 of environmental sciences (ED251, MENRT doctoral grant). Finally, we acknowledge three anonymous reviewers and the associate editor as for their relevant comments and corrections.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at https://doi.org/10.1016/j.marchem.2024.104432.

## References

Baddi, G.A., Antizar-Ladislao, B., Alcuta, A., Mazeas, L., Li, T., Duquennoi, C., Redon, E., Bouchez, T., 2013. Municipal solid waste stabilization efficiency using fluorescence excitation–emission spectroscopy. Environ. Eng. Sci. 30, 232–240. https://doi.org/10.1089/ees.2012.0041.

Baker, A., 2001. Fluorescence excitation−emission matrix characterization of some sewage-impacted rivers. Environ. Sci. Technol. 35, 948–953. https://doi.org/10.1021/es000177t.

Barton, R., Winston, I., Wagner, S., 2024. The presence of free benzenepolycarboxylic acids (BPCAs) may result in the overestimation of dissolved black carbon in aqueous samples. Org. Geochem. 190, 104765 https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2024.104765.

Bond, T.C., Doherty, S.J., Fahey, D.W., Forster, P.M., Berntsen, T., DeAngelo, B.J., Flanner, M.G., Ghan, S., Kärcher, B., Koch, D., Kinne, S., Kondo, Y., Quinn, P.K., Sarofim, M.C., Schultz, M.G., Schulz, M., Venkataraman, C., Zhang, H., Zhang, S., Bellouin, N., Guttikunda, S.K., Hopke, P.K., Jacobson, M.Z., Kaiser, J.W., Klimont, Z., Lohmann, U., Schwarz, J.P., Shindell, D., Storelvmo, T., Warren, S.G., Zender, C.S., 2013. Bounding the role of black carbon in the climate system: a scientific assessment: Black Carbon In The Climate System. J. Geophys. Res. Atmos. 118, 5380–5552. https://doi.org/10.1002/jgrd.50171.

Brünjes, J., Seidel, M., Dittmar, T., Niggemann, J., Schubotz, F., 2022. Natural asphalt seeps are potential sources for recalcitrant oceanic dissolved organic sulfur and dissolved black carbon. Environ. Sci. Technol. 56, 9092–9102. https://doi.org/10.1021/acs.est.2c01123.

Buffaloe, G.M., Lack, D.A., Williams, E.J., Coffman, D., Hayden, K.L., Lerner, B.M., Li, S.-M., Nuaaman, I., Massoli, P., Onasch, T.B., Quinn, P.K., Cappa, C.D., 2014. Black carbon emissions from in-use ships: a California regional assessment. Atmos. Chem. Phys. 14, 1881–1896. https://doi.org/10.5194/acp-14-1881-2014.

Capaldo, K., Corbett, J.J., Kasibhatla, P., Fischbeck, P., Pandis, S.N., 1999. Effects of ship emissions on Sulphur cycling and radiative climate forcing over the ocean. Nature 400, 743–746. https://doi.org/10.1038/23438.

Chen, H., Abdulla, H.A.N., Sanders, R.L., Myneni, S.C.B., Mopper, K., Hatcher, P.G., 2014. Production of black carbon-like and aliphatic molecules from terrestrial dissolved organic matter in the presence of sunlight and Iron. Environ. Sci. Technol. Lett. 1, 399–404. https://doi.org/10.1021/ez5002598.

Chen, Q., Ikemori, F., Mochida, M., 2016. Light absorption and excitation–emission fluorescence of urban organic aerosol components and their relationship to chemical structure. Environ. Sci. Technol. 50, 10859–10868. https://doi.org/10.1021/acs.est.6b02541.

Chen, Q., Li, J., Hua, X., Jiang, X., Mu, Z., Wang, M., Wang, J., Shan, M., Yang, X., Fan, X., Song, J., Wang, Y., Guan, D., Du, L., 2020. Identification of species and sources of atmospheric chromophores by fluorescence excitation-emission matrix with parallel factor analysis. Sci. Total Environ. 718, 137322 https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137322.

Chen, Q., Ma, Y., Dong, J., Kong, Y., Wu, M., 2022. The chemical structure characteristics of dissolved black carbon and their binding with phenanthrene. Chemosphere 291, 132747. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132747.

Coble, P.G., 1996. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. Mar. Chem. 51, 325–346. https://doi.org/10.1016/0304-4203(95)00062-3.

Coble, P.G., 2007. Marine Optical Biogeochemistry: The Chemistry of Ocean Color 402–418. https://doi.org/10.1021/cr050350+.

Comer, B., Mao, N.O.X., Roy, B., Rutherford, D., 2015. Black carbon emissions and fuel use in global shipping, 2015. Int. Counc. Clean Transp. 103.

Coppola, A.I., Wagner, S., Lennartz, S.T., Seidel, M., Ward, N.D., Dittmar, T., Santín, C., Jones, M.W., 2022. The black carbon cycle and its role in the earth system. Nat. Rev. Earth Environ. 3, 516–532. https://doi.org/10.1038/s43017-022-00316-6.

Corbett, J.J., Winebrake, J.J., Green, E.H., Kasibhatla, P., Eyring, V., Lauer, A., 2007. Mortality from ship emissions: a global assessment. Environ. Sci. Technol. 41, 8512–8518. https://doi.org/10.1021/es071686z.

Cory, R.M., McKnight, D.M., 2005. Fluorescence spectroscopy reveals ubiquitous presence of oxidized and reduced Quinones in dissolved organic matter. Environ. Sci. Technol. 39, 8142–8149. https://doi.org/10.1021/es0506962.

Cuss, C.W., Guéguen, C., 2012. Determination of relative molecular weights of fluorescent components in dissolved organic matter using asymmetrical flow field-flow fractionation and parallel factor analysis. Anal. Chim. Acta 733, 98–102. https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.05.003.

Cuss, C.W., Guéguen, C., 2013. Distinguishing dissolved organic matter at its origin: size and optical properties of leaf-litter leachates. Chemosphere 92, 1483–1489. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.03.062.

Dittmar, T., 2008. The molecular level determination of black carbon in marine dissolved organic matter. Org. Geochem. 39, 396–407. https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2008.01.015.

Farahani, V.J., Pirhadi, M., Sioutas, C., 2021. Are standardized diesel exhaust particles (DEP) representative of ambient particles in air pollution toxicological studies? Sci. Total Environ. 788, 147854 https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147854.

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.

Ferretto, N., Tedetti, M., Guigue, C., Mounier, S., Redon, R., Goutx, M., 2014. Identification and quantification of known polycyclic aromatic hydrocarbons and pesticides in complex mixtures using fluorescence excitation–emission matrices and parallel factor analysis. Chemosphere 107, 344–353. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.12.087.

Ferretto, N., Tedetti, M., Guigue, C., Mounier, S., Raimbault, P., Goutx, M., 2017. Spatio-temporal variability of fluorescent dissolved organic matter in the Rhône River delta and the Fos-Marseille marine area (NW Mediterranean Sea, France). Environ. Sci. Pollut. Res. 24, 4973–4989. https://doi.org/10.1007/s11356-016-8255-z.

Fischer, S.J., Fegel, T.S., Wilkerson, P.J., Rivera, L., Rhoades, C.C., Rosario-Ortiz, F.L., 2023. Fluorescence and absorbance indices for dissolved organic matter from wildfire ash and burned watersheds. ACS EST Water 3, 2199–2209. https://doi.org/10.1021/acsestwater.3c00017.

Fourrier, P., Dulaquais, G., Guigue, C., Giamarchi, P., Sarthou, G., Whitby, H., Riso, R., 2022. Characterization of the vertical size distribution, composition and chemical properties of dissolved organic matter in the (ultra)oligotrophic Pacific Ocean through a multi-detection approach. Mar. Chem. 240, 104068 https://doi.org/10.1016/j.marchem.2021.104068.

Fuglestvedt, J., Berntsen, T., Eyring, V., Isaksen, I., Lee, D.S., Sausen, R., 2009. Shipping emissions: from cooling to warming of climate—and reducing impacts on health. Environ. Sci. Technol. 43, 9057–9062. https://doi.org/10.1021/es901944r.

Gao, Y., Ge, Y., Ma, Y., Zhao, H., Xiao, G., Show, P.L., Chen, J., Guo, R., Liu, Y., 2023. Occurrence, migration, and transformation of black carbon in environmental matrix and its influence on the environmental fate of coexisting pollutants: a review. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 261 (1), 15. https://doi.org/10.1007/s44169-023-00033-1.

Green, N.W., McInnis, D., Hertkorn, N., Maurice, P.A., Perdue, E.M., 2015. Suwannee River natural organic matter: isolation of the 2R101N reference sample by reverse osmosis. Environ. Eng. Sci. 32, 38–44. https://doi.org/10.1089/ees.2014.0284.

Guigue, C., Tedetti, M., Ferretto, N., Garcia, N., Méjanelle, L., Goutx, M., 2014. Spatial and seasonal variabilities of dissolved hydrocarbons in surface waters from the northwestern Mediterranean Sea: results from one year intensive sampling. Sci. Total Environ. 466–467, 650–662. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.07.082.

Guigue, C., Tedetti, M., Giorgi, S., Goutx, M., 2011. Occurrence and distribution of hydrocarbons in the surface microlayer and subsurface water from the urban coastal marine area off Marseilles, Northwestern Mediterranean Sea. Mar. Pollut. Bull. 62 (12), 2741–2752. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.013.

Hammes, K., Smernik, R.J., Skjemstad, J.O., Herzog, A., Vogt, U.F., Schmidt, M.W.I., 2006. Synthesis and characterisation of laboratory-charred grass straw (*Oryza sativa*) and chestnut wood (*Castanea sativa*) as reference materials for black carbon quantification. Org. Geochem. 37, 1629–1633. https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2006.07.003.

Harsha, M.L., Redman, Z.C., Wesolowski, J., Podgorski, D.C., Tomco, P.L., 2023. Photochemical formation of water-soluble oxyPAHs, naphthenic acids, and other hydrocarbon oxidation products from Cook Inlet, Alaska crude oil and diesel in simulated seawater spills. Environ. Sci. Adv. 2, 447–461. https://doi.org/10.1039/D2VA00325B.

Huguet, A., Vacher, L., Relexans, S., Saubusse, S., Froidefond, J.M., Parlanti, E., 2009. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. Org. Geochem. 40, 706–719. https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2009.03.002.

Hur, J., Park, M.-H., Schlautman, M.A., 2009. Microbial transformation of dissolved leaf litter organic matter and its effects on selected organic matter operational descriptors. Environ. Sci. Technol. 43, 2315–2321. https://doi.org/10.1021/es802773b.

Hur, J., Lee, B.-M., Shin, K.-H., 2014. Spectroscopic characterization of dissolved organic matter isolates from sediments and the association with phenanthrene binding affinity. Chemosphere 111, 450–457. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.04.018.

Ishii, S.K.L., Boyer, T.H., 2012. Behavior of reoccurring PARAFAC components in fluorescent dissolved organic matter in natural and engineered systems: a critical review. Environ. Sci. Technol. 46, 2006–2017. https://doi.org/10.1021/es2043504.

Jamieson, T., Sager, E., Guéguen, C., 2014. Characterization of biochar-derived dissolved organic matter using UV–visible absorption and excitation–emission fluorescence spectroscopies. Chemosphere 103, 197–204. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.11.066.

Ji, C., El-Halwagi, M.M., 2020. A data-driven study of IMO compliant fuel emissions with consideration of black carbon aerosols. Ocean Eng. 218, 108241 https://doi.org/10.1016/j.oceaneng.2020.108241.

Johansson, L., Jalkanen, J.-P., Kukkonen, J., 2017. Global assessment of shipping emissions in 2015 on a high spatial and temporal resolution. Atmos. Environ. 167, 403–415. https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2017.08.042.

Johnson, K., Miller, W., Durbin, T., Jiang, J., Yang, J., Karavalakis, G., Cocker, D., 2016. Black Carbon Measurement Methods and Emission Factors from Ships (International Council on Clean Transportation).

Kaal, J., Schneider, M.P.W., Schmidt, M.W.I., 2012. Rapid molecular screening of black carbon (biochar) thermosequences obtained from chestnut wood and rice straw: a pyrolysis-GC/MS study. Biomass Bioenergy 45, 115–129. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.05.021.

Kida, M., Watanabe, I., Kinjo, K., Kondo, M., Yoshitake, S., Tomotsune, M., Iimura, Y., Umnouysin, S., Suchewaboripont, V., Poungparn, S., Ohtsuka, T., Fujitake, N., 2021. Organic carbon stock and composition in 3.5-m core mangrove soils (Trat, Thailand). Sci. Total Environ. 801, 149682 https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149682.

Lakowicz, J.R., 2006. Plasmonics in biology and Plasmon-controlled fluorescence. Plasmonics 1, 5–33. https://doi.org/10.1007/s11468-005-9002-3.

Martias, C., Tedetti, M., Lantoine, F., Jamet, L., Dupouy, C., 2018. Characterization and sources of colored dissolved organic matter in a coral reef ecosystem subject to ultramafic erosion pressure (New Caledonia, Southwest Pacific). Sci. Total Environ. 616–617, 438–452. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.261.

Martínez-Pérez, A.M., 2019. Dissolved organic matter (DOM) in the open Mediterranean Sea. II_ basin–wide distribution and drivers of fluorescent DOM. Prog. Oceanogr. 14 https://doi.org/10.1016/j.pocean.2018.05.002.

Martinot, P.L., Guigue, C., Chifflet, S., Cuny, P., Barani, A., Didry, M., Dignan, C., Guyomarc'h, L., Pradel, N., Pringault, O., Van Wambeke, F., Vu, C.T., Mari, X., Tedetti, M., 2023. Assessing the bioavailability of black carbon-derived dissolved organic matter for marine heterotrophic prokaryotes. Sci. Total Environ. 901, 165802 https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165802.

Masiello, C.A., 2004. New directions in black carbon organic geochemistry. Mar. Chem. 13 https://doi.org/10.1016/j.marchem.2004.06.043.

Maurischat, P., Lehnert, L., Zerres, V.H.D., Tran, T.V., Kalbitz, K., Rinnan, Å., Li, X.G., Dorji, T., Guggenberger, G., 2022. The glacial–terrestrial–fluvial pathway: a multiparametrical analysis of spatiotemporal dissolved organic matter variation in three catchments of Lake Nam Co, Tibetan Plateau. Sci. Total Environ. 838, 156542 https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156542.

McKay, G., Hohner, A.K., Rosario-Ortiz, F.L., 2020. Use of optical properties for evaluating the presence of pyrogenic organic matter in thermally altered soil leachates. Environ Sci Process Impacts 22, 981–992. https://doi.org/10.1039/C9EM00413K.

Miller, M.P., Simone, B.E., McKnight, D.M., Cory, R.M., Williams, M.W., Boyer, E.W., 2010. New light on a dark subject: comment. Aquat. Sci. 72, 269–275. https://doi.org/10.1007/s00027-010-0130-2.

Mueller, K.K., Fortin, C., Campbell, P.G.C., 2012. Spatial variation in the optical properties of dissolved organic matter (DOM) in lakes on the Canadian Precambrian shield and links to watershed characteristics. Aquat. Geochem. 18, 21–44. https://doi.org/10.1007/s10498-011-9147-y.

Murphy, K.R., Ruiz, G.M., Dunsmuir, W.T.M., Waite, T.D., 2006. Optimized parameters for fluorescence-based verification of ballast water exchange by ships. Environ. Sci. Technol. 40, 2357–2362. https://doi.org/10.1021/es0519381.

Murphy, K.R., Stedmon, C.A., Waite, T.D., Ruiz, G.M., 2008. Distinguishing between terrestrial and autochthonous organic matter sources in marine environments using fluorescence spectroscopy. Mar. Chem. 108, 40–58. https://doi.org/10.1016/j.marchem.2007.10.003.

Murphy, K.R., Stedmon, C.A., Graeber, D., Bro, R., 2013. Fluorescence spectroscopy and multi-way techniques. PARAFAC. Anal. Methods 5, 6557. https://doi.org/10.1039/c3ay41160e.

Nelson, N.B., Siegel, D.A., 2012. The global distribution and dynamics of chromophoric dissolved organic matter. Annu. Rev. Mar. Sci. 32 https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120710-100751.

Ohno, T., 2002. Fluorescence inner-filtering correction for determining the humification index of dissolved organic matter. Environ. Sci. Technol. 36, 742–746. https://doi.org/10.1021/es0155276.

Olmer, N., Comer, B., Roy, B., Mao, X., Rutherford, D., 2017. Greenhouse Gas Emissions from Global Shipping, 2013–2015: Detailed Methodology.

Peuravuori, J., Koivikko, R., Pihlaja, K., 2002. Characterization, differentiation and classification of aquatic humic matter separated with different sorbents: synchronous scanning fluorescence spectroscopy. Water Res. 36, 4552–4562. https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00172-0.

Popovicheva, O., Kireeva, E., Shonija, N., Zubareva, N., Persiantseva, N., Tishkova, V., Demirdjian, B., Moldanová, J., Mogilnikov, V., 2009. Ship particulate pollutants: characterization in terms of environmental implication. J. Environ. Monit. 11, 2077. https://doi.org/10.1039/b908180a.

Qu, X., Fu, H., Mao, J., Ran, Y., Zhang, D., Zhu, D., 2016. Chemical and structural properties of dissolved black carbon released from biochars. Carbon 96, 759–767. https://doi.org/10.1016/j.carbon.2015.09.106.

Retelletti Brogi, S., Balestra, C., Casotti, R., Cossarini, G., Galletti, Y., Gonnelli, M., Vestri, S., Santinelli, C., 2020. Time resolved data unveils the complex DOM dynamics in a Mediterranean river. Sci. Total Environ. 733, 139212 https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139212.

Rochelle-Newall, E.J., Fisher, T.R., 2002. Chromophoric dissolved organic matter and dissolved organic carbon in Chesapeake Bay. Mar. Chem. 77, 23–41. https://doi.org/10.1016/S0304-4203(01)00073-1.

Romero, C.M., Engel, R.E., D'Andrilli, J., Miller, P.R., Wallander, R., 2019. Compositional tracking of dissolved organic matter in semiarid wheat-based cropping systems using fluorescence EEMs-PARAFAC and absorbance spectroscopy. J. Arid Environ. 167, 34–42. https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2019.04.013.

Singh, S., D'Sa, E.J., Swenson, E.M., 2010. Chromophoric dissolved organic matter (CDOM) variability in Barataria Basin using excitation–emission matrix (EEM) fluorescence and parallel factor analysis (PARAFAC). Sci. Total Environ. 408, 3211–3222. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.03.044.

Sohrin, R., Sempéré, R., 2005. Seasonal variation in total organic carbon in the Northeast Atlantic in 2000–2001. J. Geophys. Res. 110, C10S90. https://doi.org/10.1029/2004JC002731.

Stedmon, C.A., Bro, R., 2008. Characterizing dissolved organic matter fluorescence with parallel factor analysis: a tutorial: fluorescence-PARAFAC analysis of DOM. Limnol. Oceanogr. Methods 6, 572–579. https://doi.org/10.4319/lom.2008.6.572.

Stedmon, C.A., Markager, S., 2005. Resolving the variability in dissolved organic matter fluorescence in a temperate estuary and its catchment using PARAFAC analysis. Limnol. Oceanogr. 50, 686–697. https://doi.org/10.4319/lo.2005.50.2.0686.

Stubbins, A., Niggemann, J., Dittmar, T., 2012. Photo-lability of deep ocean dissolved black carbon. Biogeosciences 9, 1661–1670. https://doi.org/10.5194/bg-9-1661-2012.

Stubbins, A., Spencer, R.G.M., Mann, P.J., Holmes, R.M., McClelland, J.W., Niggemann, J., Dittmar, T., 2015. Utilizing colored dissolved organic matter to derive dissolved black carbon export by arctic rivers. Front. Earth Sci. 3 https://doi.org/10.3389/feart.2015.00063.

Tedetti, M., Longhitano, R., Garcia, N., Guigue, C., Ferretto, N., Goutx, M., 2012. Fluorescence properties of dissolved organic matter in coastal Mediterranean waters influenced by a municipal sewage effluent (Bay of Marseilles, France). Environ. Chem. 9, 438. https://doi.org/10.1071/EN12081.

Tedetti, M., Marie, L., Röttgers, R., Rodier, M., Van Wambeke, F., Helias, S., Caffin, M., Cornet-Barthaux, V., Dupouy, C., 2016. Evolution of dissolved and particulate chromophoric materials during the VAHINE mesocosm experiment in the New Caledonian coral lagoon (south-west Pacific). Biogeosciences 13, 3283–3303. https://doi.org/10.5194/bg-13-3283-2016.

Tedetti, M., Bigot, L., Turquet, J., Guigue, C., Ferretto, N., Goutx, M., Cuet, P., 2020. Influence of freshwater discharges on biogeochemistry and benthic communities of a coral reef ecosystem (La Réunion Island, Indian Ocean). Front. Mar. Sci. 7, 596165 https://doi.org/10.3389/fmars.2020.596165.

Uchimiya, M., Ohno, T., He, Z., 2013. Pyrolysis temperature-dependent release of dissolved organic carbon from plant, manure, and biorefinery wastes. J. Anal. Appl. Pyrolysis 104, 84–94. https://doi.org/10.1016/j.jaap.2013.09.003.

Valeur, B., 2002. Molecular Fluorescence. Principles and Applications. Wiley-VCH, Weinheim, p. 402.

Velis, C.A., Cook, E., 2021. Mismanagement of plastic waste through open burning with emphasis on the global south: a systematic review of risks to occupational and public health. Environ. Sci. Technol. 55, 7186–7207. https://doi.org/10.1021/acs.est.0c08536.

Wagner, S., Jaffé, R., Stubbins, A., 2018. Dissolved black carbon in aquatic ecosystems: dissolved black carbon review. Limnol. Oceanogr. 3, 168–185. https://doi.org/10.1002/lol2.10076.

Wagner, S., Coppola, A.I., Stubbins, A., Dittmar, T., Niggemann, J., Drake, T.W., Seidel, M., Spencer, R.G.M., Bao, H., 2021. Questions remain about the biolability of dissolved black carbon along the combustion continuum. Nat. Commun. 12, 4281. https://doi.org/10.1038/s41467-021-24477-y.

Wang, L., Liang, N., Li, H., Yang, Y., Zhang, D., Liao, S., Pan, B., 2015. Quantifying the dynamic fluorescence quenching of phenanthrene and ofloxacin by dissolved humic

acids. Environ. Pollut. 196, 379–385. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.10.029.

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. Environ. Sci. Technol. 37, 4702–4708. https://doi.org/10.1021/es030360x.

Wu, H., Qi, Y., Dong, L., Zhao, X., Liu, H., 2019. Revealing the impact of pyrolysis temperature on dissolved organic matter released from the biochar prepared from *Typha orientalis*. Chemosphere 228, 264–270. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.143.

Wünsch, U.J., Murphy, K.R., Stedmon, C.A., 2017. The one-sample PARAFAC approach reveals molecular size distributions of fluorescent components in dissolved organic matter. Environ. Sci. Technol. 51, 11900–11908. https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03260.

Zaghden, H., Barhoumi, B., Jlaiel, L., Guigue, C., Chouba, L., Touil, S., Sayadi, S., Tedetti, M., 2022. Occurrence, origin and potential ecological risk of dissolved polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorines in surface waters of the Gulf of Gabès (Tunisia, Southern Mediterranean Sea). Mar. Pollut. Bull. 180, 113737 https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113737.

Zepp, R.G., Sheldon, W.M., Moran, M.A., 2004. Dissolved organic fluorophores in southeastern US coastal waters: correction method for eliminating Rayleigh and Raman scattering peaks in excitation–emission matrices. Mar. Chem. 89, 15–36. https://doi.org/10.1016/j.marchem.2004.02.006.

Zito, P., Podgorski, D.C., Johnson, J., Chen, H., Rodgers, R.P., Guillemette, F., Kellerman, A.M., Spencer, R.G.M., Tarr, M.A., 2019. Molecular-level composition and acute toxicity of photosolubilized petrogenic carbon. Environ. Sci. Technol. 53, 8235–8243. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b01894.

Zito, P., Bekins, B.A., Martinović-Weigelt, D., Harsha, M.L., Humpal, K.E., Trost, J., Cozzarelli, I., Mazzoleni, L.R., Schum, S.K., Podgorski, D.C., 2023. Photochemical mobilization of dissolved hydrocarbon oxidation products from petroleum contaminated soil into a shallow aquifer activate human nuclear receptors. J. Hazard. Mater. 459, 132312 https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132312.