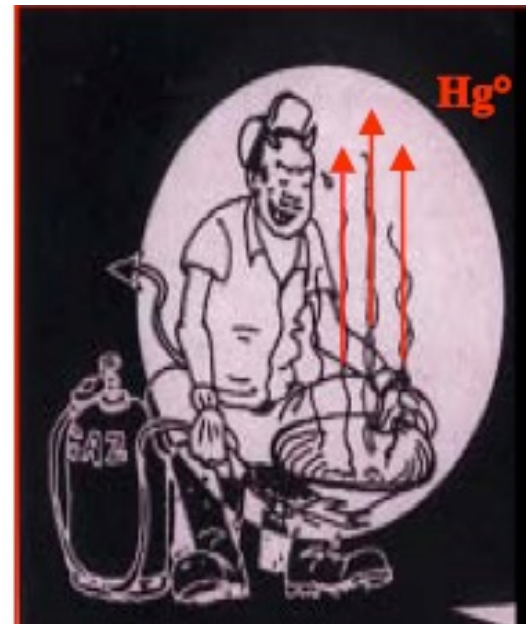
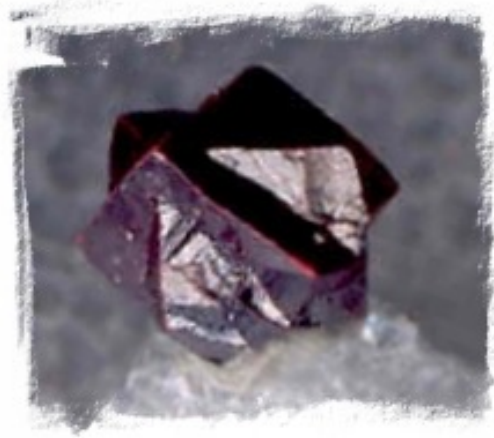


Transformations biotiques et abiotiques du mercure Hg

Frédéric JORAND frederic.jorand@univ-lorraine.fr



Introduction

Les éléments traces inorganiques dans l'environnement et leur réactivité

- Définition :
 - Le mercure fait partie des éléments traces inorganiques : éléments inorganiques de masse atomique élevée, présents dans l'environnement sous forme de traces et toxiques. Appelés aussi « métaux lourds », ($PM > Fe$) (mais certains ne sont ni lourds : Zn, Cr ni métallique : As).
- Origines : naturelle et anthropique
 - **naturelle** : sont naturellement présents dans le milieu, sous forme de minéraux à partir desquels ils sont mobilisés par différents mécanismes naturels (solubilisation, érosion,...).
 - **anthropique** : l'activité humaine conduit à la libération du contenu chimique de certains minéraux « stables » contenant des éléments toxiques, en déplaçant l'équilibre qui existait, l'homme a contribué à disperser les espèces toxiques de ces éléments et donc à en augmenter leur concentration dans l'environnement (exemples : Hg, Pb,...).

Réactivité des « métaux lourds »

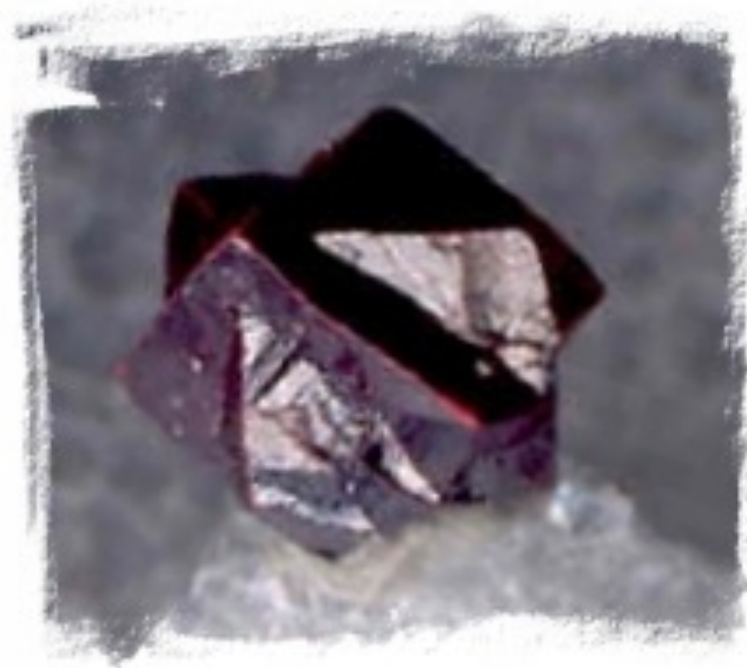
- Contrairement aux composés organiques, les polluants métalliques toxiques sont immuables, inaltérables. De par leur réactivité ils peuvent au mieux changer leur état de valence et passer sous une forme plus ou moins toxique, mais ils seront toujours présents.
- Réactivité :
 - abiotique : qui n'est pas sous le contrôle du vivant
 - biotique : directement contrôlée par le vivant

Réactivité biotique vs abiotique

- Réactivité abiotique : les réactions chimiques spontanées vont affecter la mobilité et/ou la toxicité des éléments
 - *e.g.* : par des réactions d'oxydo-réduction,
 - par les réducteurs : Fe^{II} , S^{2-} , ...
 - les oxydants : O_2 , NO_3^- , ...
 - sous l'effet de facteurs physiques et chimiques (pH, tp° , [sels]...) entraînant une solubilisation, minéralisation, ...
- Réactivité biotique : des réactions chimiques sont rendues possibles par l'action du vivant qui abaisse l'énergie d'activation :
 - ☞ affectant leur mobilité (bio-concentration, volatilisation, solubilisation) en changeant leur état et/ou leur valence.
 - ☞ et/ou affectant leur toxicité (qui est en général une conséquence).Principalement au travers de réactions microbiennes :
 - fortuiteou
 - induite (*détoxication* ou associée à une *production d'énergie*).

Le mercure Hg

- $PM = 200,6 \text{ g}$; $N = 80$
- Occurrences naturelles :
 - la + abondante = minerai de mercure (HgS), cinabre (rouge) et meta-cinabre (noir).
 - sols ($mg \text{ kg}^{-1}$):
 - zones non contaminées : 0,03- 1,5*
 - zones contaminées : 40 – 500*
 - roches : 0,01 à 20 $mg \text{ kg}^{-1}$
 - air : 1 à 4 $ng \text{ m}^{-3}$ (16 $ng \text{ m}^{-3}$ zones d'exploitation minière)*.
 - océan : 0,1 - 1,2 $\mu g \text{ L}^{-1}$
 - eaux de surface : 0,01 à 12 $ng \text{ L}^{-1}$ *



Cinabre (HgS , mine d'Ukraine)

 **HgS est « stable » !**

Occurrences anthropiques

- Formes anthropiques
 - composés organomercurels (pesticides, industrie papetière, industrie pharmaceutique, peintures,...)
 - activité d'orpaillage clandestine
 - Production et émissions
 - émissions globales : 4500 T / an (Mason et al., 1994).
 - émission par les continents : 1000 T / an
 - émissions par les océans : 600 T avant l'ère industrielle, actuellement jusqu'à 2000 T / an en raison de la réémission de dépôts de mercure liés aux activités humaines.
 - production industrielle mondiale : 3000 T / an (+ en + recyclé $\approx$ 80%)
 - quantité excédentaire de Hg émit par l'activité humaine = **2600 T / an.**
 - Sources d'émission liq. :
 - eaux usées (Hg^0 , HgII , MeHg , HgCl_2 , HgCl , diMeHg) : 0,5 - 105 $\mu\text{g L}^{-1}$.
- ☞ L'activité humaine peut contribuer à multiplier la concentration locale en Hg de plusieurs milliers.

Formes toxiques du mercure

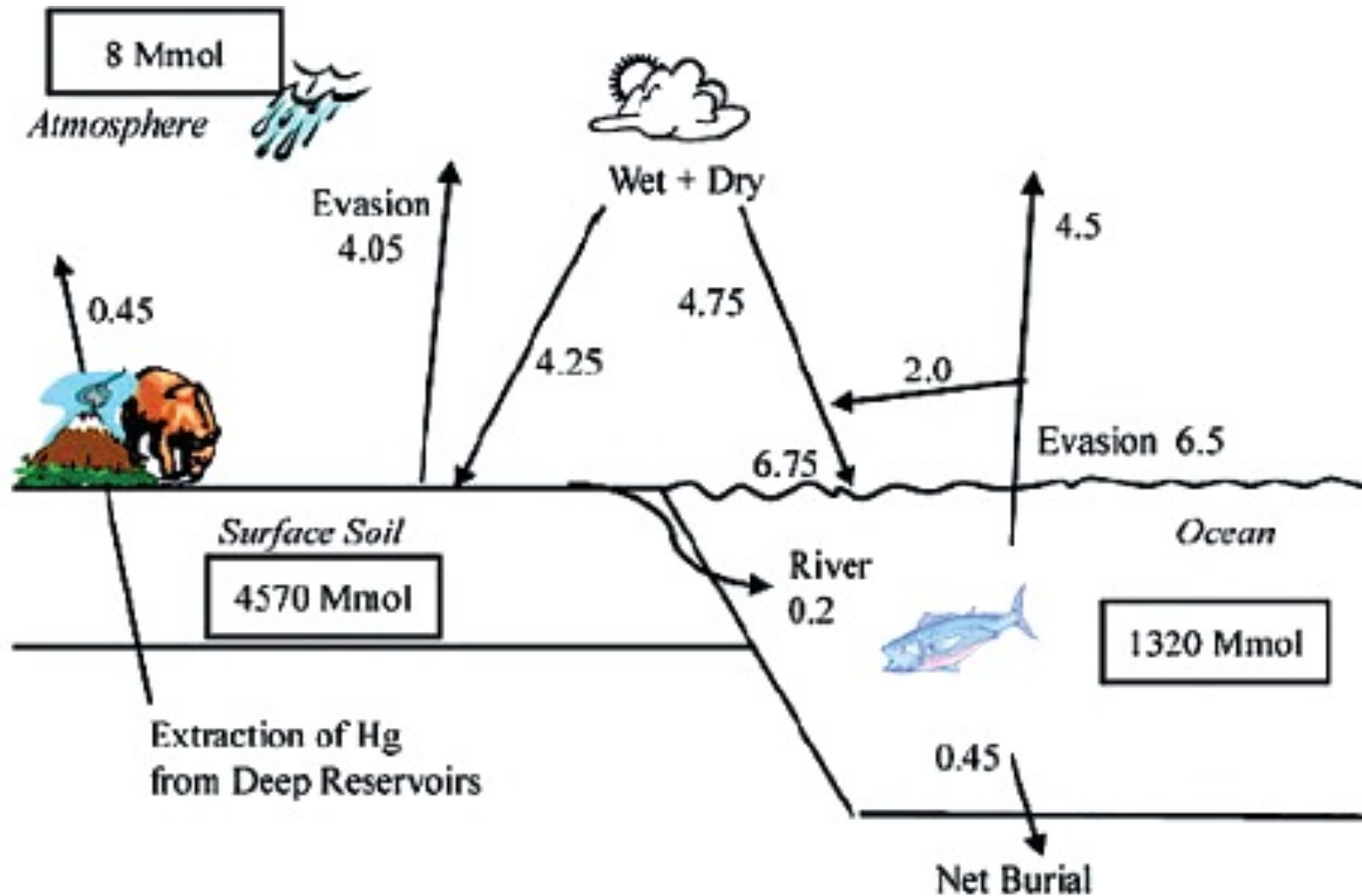
- 3 états de valence du Hg
 - Hg^0 (métallique), "peu" toxique (mais rendue toxique par l'activité des catalase et peroxydase !)
 - Hg(I) , Hg_2^{2+} (mercureux), Hg(II) , Hg^{2+} (mercurique) = les + toxiques.
- Forme la plus toxique = monométhylmercure (MMHg) CH_3Hg^+ .
 - présente une forte affinité pour le système nerveux,
 - forte liposolubilité,
 - taux élevé de passage au travers des membranes biologiques,
 - long temps de résidence dans les tissus (comparés aux formes inorganiques).
- L'extrême toxicité du mercure réside dans la capacité des composés organo-mercuriques et des formes inorganiques à traverser les membranes biologiques (par liposolubilité) et à se lier avec une haute affinité aux thiols et aux amines des enzymes essentiels, et par sa génotoxicité.
 - Mécanismes de toxicité : inactivation d'enzymes par alkylation,...
- **Bioamplification** (augmentation dans les organismes le long de la chaîne trophique) et **bioaccumulation** (augmentation dans un organisme au cours du temps). Souvent le facteur de concentration atteint 1 million au niveau des prédateurs de la chaîne trophique.

Spéciation, biodisponibilité et réactivité chimique

- Espèces volatiles: Hg° et $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$.
- Espèces chimiquement réactives: Hg^{2+} , HgX^+ , HgX_2 , HgX_3^- et HgX_3^- ($\text{X} = \text{OH}^-$, Cl^- ou Br^-), HgO .
- Espèces chimiquement peu-réactives: CH_3Hg^+ , CH_3HgCl , CH_3HgOH , et d'autres organomercurels et $\text{Hg}(\text{CN})_2$, HgS et Hg^{2+} lié au S de l'humus.

Le MMHg (mono méthyl mercure, CH_3Hg^+) est chimiquement peu réactif mais biodisponible (la majorité du MMHg du poisson est fixé par ingestion).

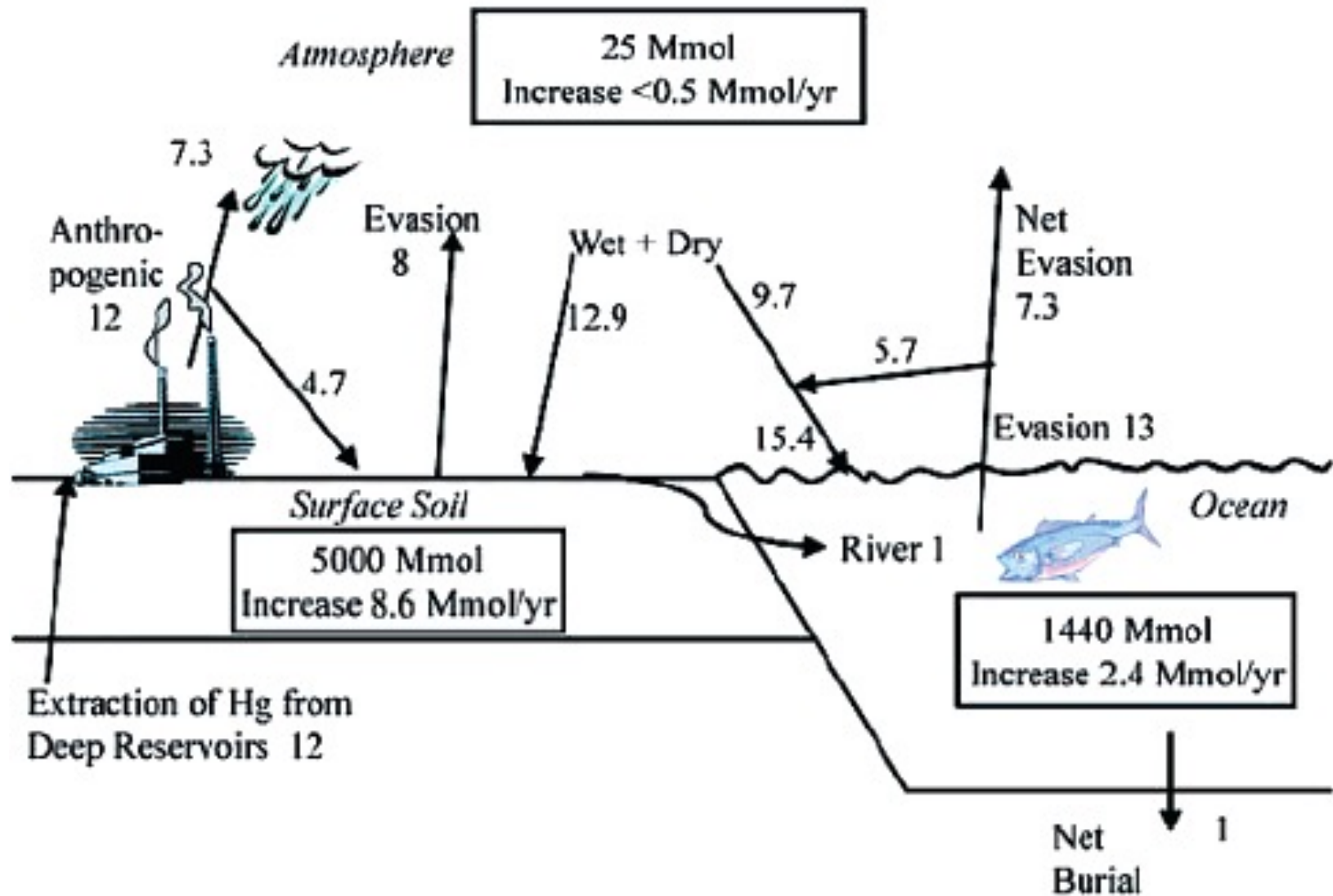
Cycle du mercure (ère pré-industrielle, - 200 ans)



Flux en 10^6 mol / an

Fitzgerald WF, Lambourg CH & Hammerschmidt CR (2007)
Marine biogeochemical cycling of mercury, *Chem. Rev.* **107**:641.

Cycle du mercure actuel (ère industrielle)



Flux en 10^6 mol / an

Fitzgerald WF, Lambourg CH & Hammerschmidt CR (2007)
Marine biogeochemical cycling of mercury, *Chem. Rev.* **107**:641.

Rôle des bactéries sur le cycle du mercure

Transformations microbiennes connues du mercure:

- Méthylation de Hg(II)
- Oxydation de Hg° en Hg(II)
- Réduction de Hg(II) en Hg°
- Coupure de la liaison C-Hg suivie de sa réduction en Hg°
- Synthèse de diméthyl-Hg - à partir de MMHg
- Déméthylation de MMHg
- Déméthylation oxydative de MMHg

Les microorganismes agissent donc à tous les niveaux du cycle, mais l'importance relative de ces réactions est encore mal connue.

Benoit JM, Gilmour CC, Heyes A, Mason RP and Miller CL (2003) Geochemical and biological controls over methylmercury production and degradation in aquatic ecosystems. In : *Biogeochemistry of environmentally important trace elements*, Y Cai and OC Braids (Eds), ACS Symposium series, Washington DC.

1. Réaction microbienne avec Hg

Accentuation de la toxicité, détoxification, Tolérance et résistance microbienne au mercure

- La capacité des microorganismes à se développer sous des niveaux élevés en mercure toxique résulte soit d'une résistance spécifique soit d'une tolérance au mercure.
 - Les opérons de résistance au mercure (comme pour l'arsenic, le cadmium, le cuivre) sont sensibles à un composé de régulation spécifique réagissant à la présence du métal toxique. —> synthèse de **protéines spécifiques** de la résistance au métal.
 - les mécanismes de tolérance peuvent aussi être **fortuits**, rattachés à des produits du métabolisme "normal" plutôt qu'à une réponse spécifique.

a) Méthylation & déméthylation du mercure

- **Méthylation biotique** (voie majeure) : les bactéries de divers habitats (sols, tractus digestif, eau,...) contribuent à la méthylation du mercure inorganique.
 - les "méthylateurs" majeurs sont anaérobies, les **bactéries sulfato-réductrices (SRB)**. Le groupement méthyl -CH₃ serait accidentellement transféré par voie enzymatique *via* la cobalamine (vitamine B12) et le méthyl tétrahydrofolate, et proviendrait de la sérine ou de la voie de l'acétyl-CoA.
 - de nombreux autres microorganismes, non SRB, sont également des méthylateurs de Hg (*e.g.* : *Archae* méthanogènes, bact. ferriréductrices,...).
 - il n'y a probablement pas de mécanisme « unique » de méthylation, les réactions impliquées restent complexes et très diverses.
- **Méthylation abiotique** (voie secondaire): le -CH₃ est apporté par la vitamine B12 (mais réaction 600 × moindre que la réaction enzymatique), l'iodure de méthyle, les substances humiques,
- **La méthylation nette** du Hg est la résultante de réactions qui entrent en compétition : méthylation & déméthylation et est fortement dépendante de la biodisponibilité du Hg.
- Hg^{II} entrerait dans la cellule par transport facilité (Hg²⁺) ou diffusion passive (HgS)



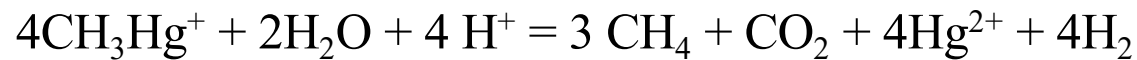
- Déméthylation :

- La part des mécanismes abiotiques (photochimiques ppt en milieu hydrique) et biotiques est quasi équivalente (Celo *et al.*, 2006, *Sci. Tot. Environ.*, 368:126).

- Mécanisme biotiques:

- 1) par l'action de l'opéron *mer* (clivage enzymatique de la liaison C-Hg), produits = CH₄ et Hg[°] (cf dias suivants)

- 2) par déméthylation oxydative, le méthyl serait (fortuitement) impliqué dans une voie énergétique utilisant des molécules à 1 C :



La voie 1 serait majeure en milieu fortement contaminée, et la seconde le serait plutôt en milieu peu contaminé.

b) H₂S et sulfure intracellulaire

- La production d'H₂S et d'HS⁻ intracellulaire peut apporter une résistance au mercure chez certaines bactéries. La réaction du sulfure d'hydrogène est notamment très efficace pour précipiter le MMHg en DMHg et HgS:
- ➡ Le DMHg est volatil mais instable dans l'atmosphère (clivage de la liaison C-Hg par les UV), HgS est stable et moins mobilisable au travers de la chaîne alimentaire comme agent toxique.
- Bactéries sulfatoréductrices : e.g. *Desulfovibrio* sp.

Détoxification fortuite du mercure

~~O₂ ou NO₃⁻~~

Donneur e⁻:

H₂, lactate,...

Accepteur d'électrons :

SO₄²⁻

SRB

2H⁺,
acétate

H₂S

CH₃Hg⁺

HgS

(CH₃)₂Hg[↑]

Desulfovibrio sp.

— = processus abiotique, détoxification du Hg est dans ce cas fortuit (pas de gène spécifique de la réduction du mercure). Se produit exclusivement en anaérobie.

c) Barrière de perméabilité et accumulation

- Modification de la perméabilité au Hg^{2+} par production de 2 protéines membranaires, chez *Enterobacter aerogenes*.
 - gènes portés par un plasmide
- Accumulation intracellulaire : chez des mycètes et des bactéries
 - le Hg est accumulé et immobilisé, le phénomène n'est pas associé à la volatilisation du mercure.
 - candidats intéressants pour la dépollution.
- Métallothionéine : séquestration (par chélation) des métaux lourds chez les organismes supérieurs par une petite protéine. Rare chez les procaryotes (exception : *Synechococcus* sp., protéine SmtA, mais expression sensible aux autres métaux (Zn, Cu, Cd, Co et Ni) et peu au Hg.

d) Résistance spécifique au mercure par réduction : déméthylation enzymatique et réduction des composés du mercure

- Résistance au mercure (*mer*): 2 groupes selon les composés mercuriques concernés :
 - à spectre large
 - à spectre étroit
- ☞ Résistance génétique : la résistance est induite et régulée par le mercure.
- Spectre étroit : les organismes résistants au mercure (Hg^r) confèrent une résistance étroite aux ions inorganiques par réduction en Hg^0 .
- Spectre large : Hg^r confère une résistance aussi bien aux composés organomercuriques qu'au mercure inorganique.

d) Résistance réductive au mercure

Enzymes

- Réductase mercurique : flavoprotéine, enzyme à FAD (coenzyme), présentant de fortes similitudes avec la glutathion-réductase des mammifères, catalyse la réduction intracellulaire de Hg^{2+} en Hg^0 .
- Lyase intracellulaire organomercurial + réductase mercurique pour la réduction des **organomercures**.
- La résistance réductive au mercure est induite par des concentrations sub-inhibitrices en Hg ou en organomercure.
- Réductase mercurique : très forte spécificité aux ions Hg^{2+} et Hg^+ .

d) Résistance réductive au mercure

Répartition chez les bactéries

Table 1 Mercury volatilizing bacteria

Bacterial species	Spectrum of resistance	Location
Gram-positive		
<i>Bacillus cereus</i> 5	Narrow	Not known
<i>Bacillus</i> sp. strain RC607	Broad	Chromosomal
<i>Bacillus</i> sp.	Narrow	Plasmid
<i>Clostridium perfringens</i>	Narrow	Chromosomal
<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	Narrow	Plasmid
<i>Staphylococcus aureus</i>	Broad	Plasmid and chromosomal
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Narrow	Chromosomal
<i>Streptomyces lividans</i>	Narrow	Chromosomal
<i>Streptomyces lividans</i>	Broad	Chromosomal
Gram-negative		
<i>Bacteriodes ruminicola</i>	Narrow	Chromosomal
Enterobacteria	Narrow and broad	Plasmid
Pseudomonads	Narrow and broad	Plasmid
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	Narrow	Chromosomal
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Narrow	Plasmid

d) Résistance réductive au mercure

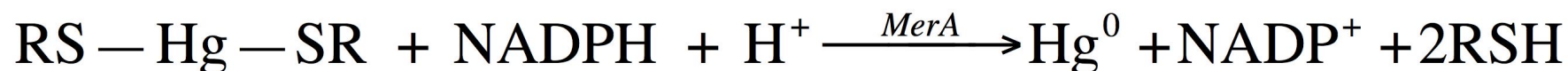
Localisation de l'information

- Forte similitude entre gènes *mer* gram + et gram - (mécanisme général équivalent et réductases similaires).
- Gènes de résistance portés par des plasmides ou par le grand chromosome.
 - souches environnementales : pas de relation avec les antibiotiques
 - souches cliniques : résistance au mercure souvent associée aux gènes de résistance aux antibiotiques, et sont plasmidiques (souches de *Staphylococci* *Hg* résistants sont en déclin depuis l'arrêt de l'utilisation des composés mercuriels comme désinfectants).
- De plus, les gènes sont localisés au niveau de transposons (éléments transposables, mobiles) : Tn501, Tn21 (82% d'homologie).

d) Résistance réductive au mercure

Mécanismes biochimiques

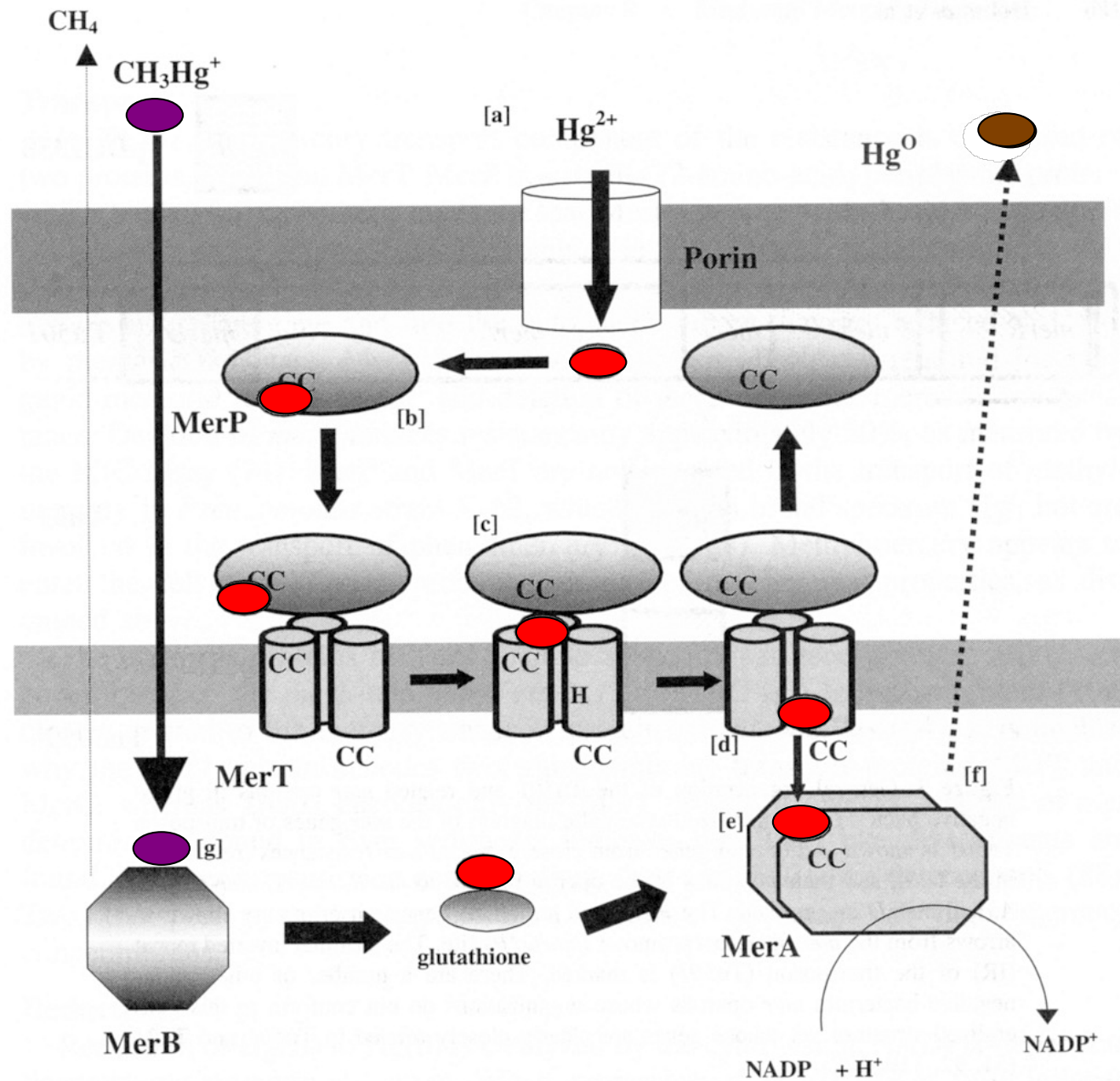
- Réductase mercurique : requiert NADPH comme donneur d'électrons et des thiols pour éviter la formation de complexe NADP-Hg²⁺ et assurer la formation de dimercaptide (les électrons du NADPH sont transférés via FAD pour réduire les cystines du site actif et "libérer" les 2 SH, le résidu Cys-140 de l'enzyme forme un complexe de transfert de charge avec le FAD et le site actif et réduit Hg²⁺ lié au carboxyl terminal des cystéines et forme Hg⁰) :



- Lyase organomercurique : catalyse l'hydrolyse des liaisons C—Hg. Des **thiols exogènes** sont requis (in vitro), L-Cys est le plus efficace.



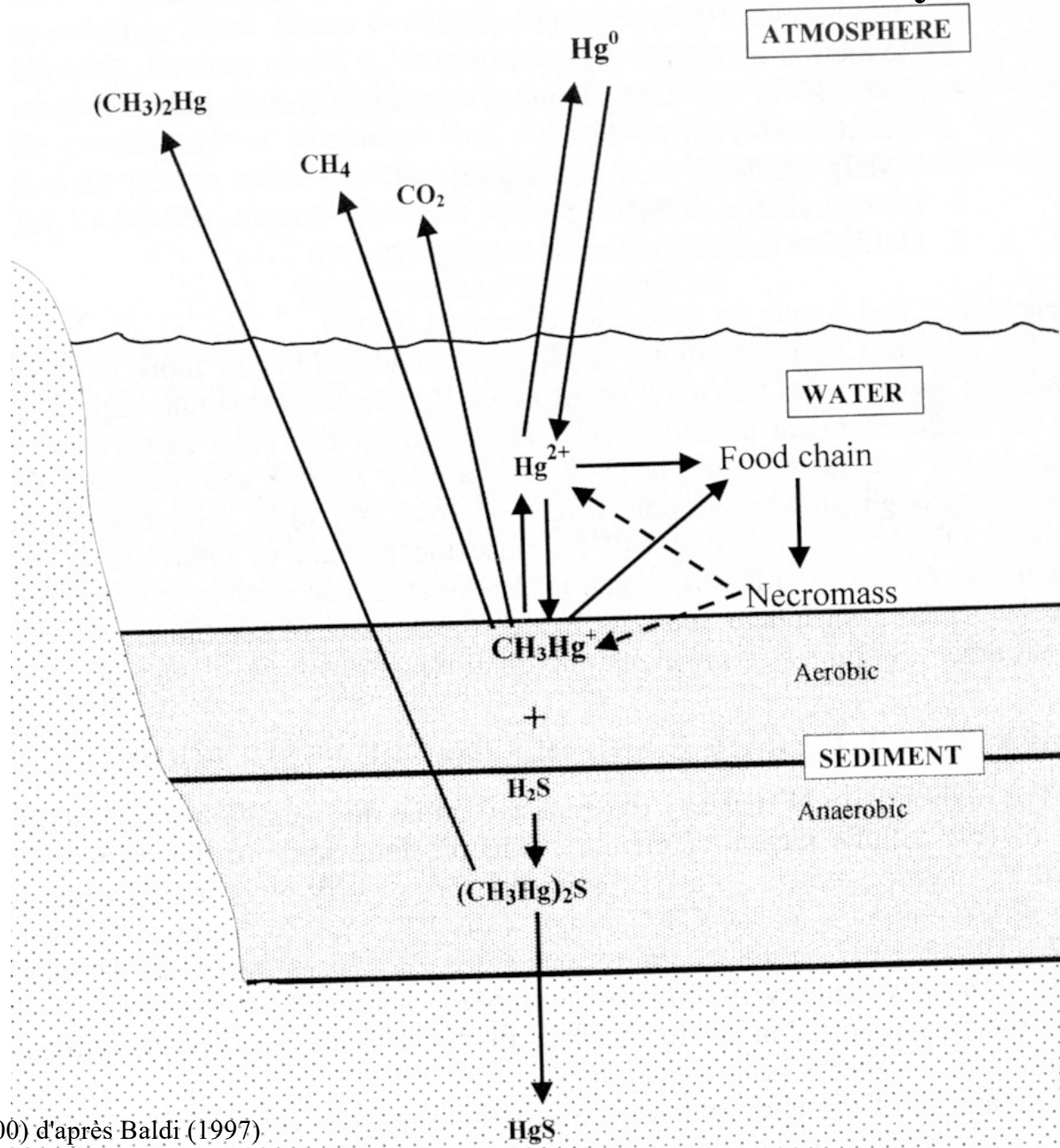
Modèle général de la résistance au mercure



e) Réduction non spécifique (?)

- Une réduction indépendante de l'opéron *mer* peut également avoir lieu. Cette réduction est prépondérante aux concentrations inférieures à celles induisant l'opéron *mer* ($\approx \text{nmole L}^{-1}$).
- e.g. :
 - chez *Acidithiobacillus feroxidans*, Fe^{2+} = réducteur, via cyt. c oxydase (Sugio et al., 2003).
 - chez *Shewanella putrefaciens* surtout sur Fe^{III} (Wiatrowsky et al., 2006, 40:6690).

Les transformations microbiennes dans le cycle du mercure



Conclusions activité microbienne / Hg

- Effet + : l'activité microbienne, aussi bien fortuite que induite, contribue à l'élimination du mercure (volatilisation) et à sa stabilité (HgS). Anaérobie et aérobie
- Effet - : Une partie de l'activité bactérienne est aussi responsable, indirectement, de l'augmentation de la toxicité du Hg (méthylation), en particulier en anaérobie (activité des bactéries sulfatoréductrices, *via* vit. B12).

2. Réduction abiotique du mercure

- Réduction abiotique : dans le milieu naturel, les espèces chimiques susceptibles de réagir avec les ions mercuriques:
 - H_2S (et tous les composés soufrés à base de thiols : cystéines,...)
 - Fe(II)
 - Ces réactions sont limitées aux zones anaérobies du milieu (sédiments, sols hydromorphes,...).
- ☞ *"concurrence" avec les SRB méthylant Hg^0 ?*
- ☞ *quelle est la réaction qui l'emporte ?*
- Photoréduction : déméthylation et réduction de HgII

5. Etude de cas : le barrage de Petit-Saut (Guyane française)

Un site contaminé par le mercure

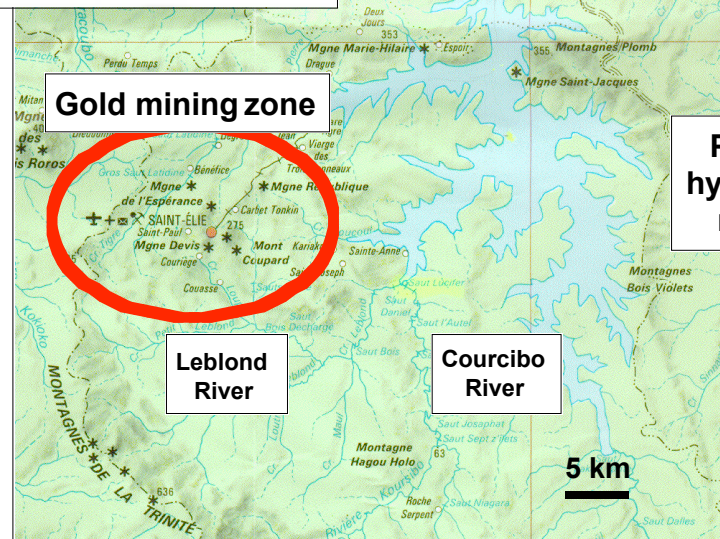


Sinnamary estuary



Sinnamary river

dam



Gold mining zone

Leblond River

Courcibo River

Petit-Saut hydroelectric reservoir

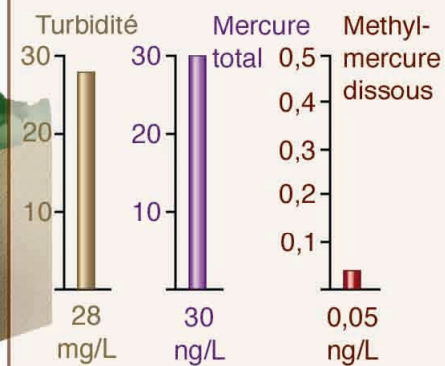
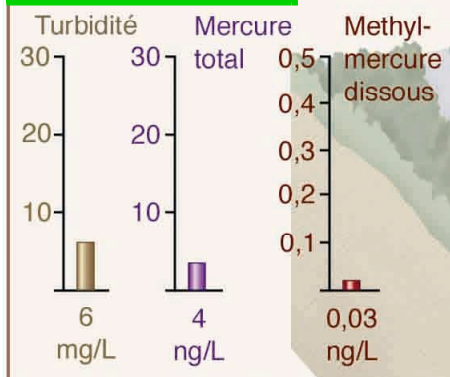




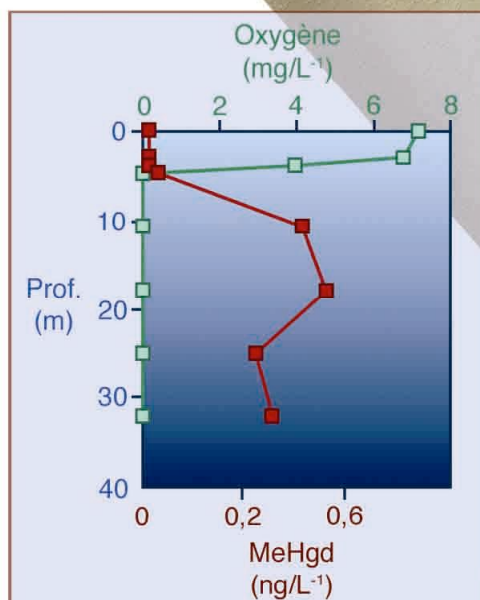




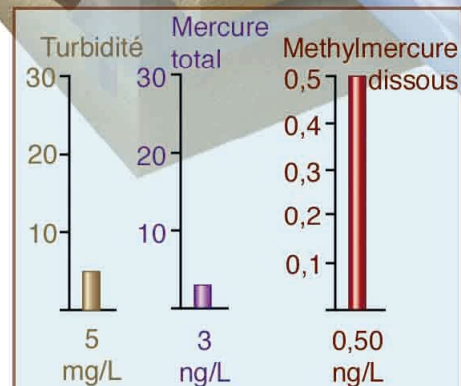
COURCIBO



LEBLOND

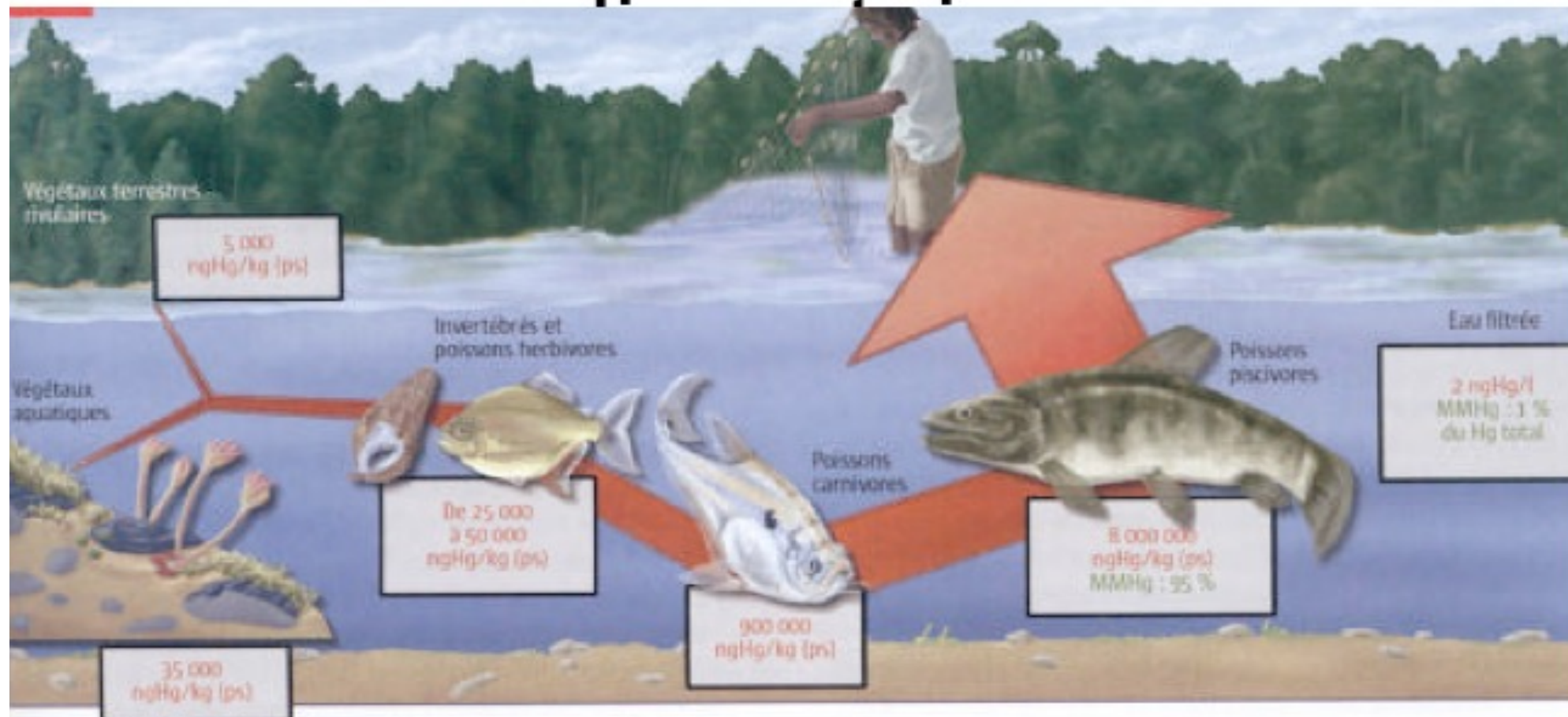


PETIT -SAUT réservoir



SINNAMARY zone aval

Atteinte de la chaîne



Consommation moyenne / jour poisson carnivore : 350 g / j et jusqu'à 600 g. Taux d'imprégnation cheveux $> 10 \mu\text{g/g}$ (OMS).

Mercure ingéré par semaine : 250 à 450 μg (OMS : 300 μg dont 200 μg MMHg/ **sem**, 60 kg pers., US EPA = 42 μg).

Bibliographie

Belliveau B.H. and J.T. Trevors (1989) Mercury resistance and detoxification in bacteria. *Appl. Organometal. Chem.*, **3**:283.

Hobman J.L., J.R. Wilson, and N. L. Brown (2000) Microbial mercury reduction, *In : Environmental Microbe-Metal Interactions*, Lovley D. (Ed.), ASM Press, Washington DC, pp. 177-197.

Oremland and Stolz (2000) Dissimilatory reduction of Se(VI) and As(V) in nature, *In : Environmental Microbe-Metal Interactions*, Lovley D. (Ed.), ASM Press, Washington DC, pp. 199-224.

Charlet L., D. Bosbach, T. Peretsyashko (2002) Natural attenuation of TCE, As, Hg linked to the heterogeneous oxidation of Fe(II): an AFM study. *Chem. Geol.*, **190**:303.

Pelmont J. (1993) Bactéries et environnement, Presses Universitaires de Grenoble.