

L'arsenic, polluant de l'environnement : origines, distribution, biotransformations

Nathalie Molénat* post-doctorant, **Michel Holeman*** professeur, **Raoul Pinel*^{et**}** professeur

Summary : *Arsenic as a pollutant of the environment : origins, repartition, biotransformations and ecotoxicity*

The arsenic speciation in the environment and the study of its biotransformations are actual research topics reported by numerous works. The aim of this present paper is to report a lot of recent selected research results concerning the arsenic compounds detected in the environment, their origins, their repartition in the different ecosystems and their biotransformations. Their ecotoxicity will be developed in another paper.

Mots clés : *Arsenic, environnement, écotoxicité, biotransformation, biométhylation.*

Key-words : *Arsenic, environment, biotransformation, biomethylation.*

Métalloïde du groupe 15 de la classification périodique, l'arsenic est un polluant d'origine naturelle ou anthropique, fréquemment rencontré dans l'environnement. Il est présent sous différentes formes chimiques (*tableau I*) dans les eaux, les sols et les organismes vivants où il subit des transformations d'origines chimiques et biologiques. Ces transformations, essentiellement des réactions d'oxydation, de réduction et d'alkylation, modifient la forme chimique de l'élément et, par conséquent, sa toxicité. En effet, d'une manière générale, pour les organismes vivants, l'arsenic trivalent est plus toxique que l'arsenic pentavalent et les formes inorganiques plus toxiques que les formes organiques. Les arsines inorganiques sont considérées comme les formes les plus toxiques alors que l'arsénobétaïne, l'arsénocholine et les sucres arséniés s'avèrent peu toxiques pour l'environnement et la santé humaine.

Enjeu de la spéciation

De par ses transformations, la toxicité de l'arsenic est modifiée, mais également les transferts de l'élément dans les différents compartiments de l'environnement et ainsi son cycle global. Aussi, la spéciation de l'arsenic a suscité un grand intérêt ces dernières années débouchant sur l'optimisation de nombreux couplages analytiques sensibles permettant la quantification de chacune des formes arséniées. Ces travaux permettent ainsi d'évaluer l'évolution des risques de pollution engendrés par l'arsenic pour les différents écosystèmes.

* Laboratoire de chimie analytique bio-inorganique et environnement, UMR 5034 du CNRS, Université de Pau et des Pays de l'Adour, département de Chimie, avenue de l'Université, 64000 Pau. Tél. : 05.59.92.31.78. Fax : 05.59.02.93.77.

** adresse pour correspondance : CURS, avenue de l'Université, 64000 Pau. E-mail : raoul.pinel@univ-pau.fr

Sources de l'arsenic dans l'environnement

L'arsenic se trouve dans l'environnement soit naturellement soit par introduction anthropique.

Sources naturelles

L'arsenic est classé 20^e pour son abondance dans la croûte terrestre avec une valeur estimée à 1,5 à 2 mg.kg⁻¹. Il est présent dans les roches ignées et sédimentaires. Il s'associe principalement aux minerais du soufre pour former l'arsénopyrite (FeAsS) ou au soufre magmatique donnant le réalgar (AsS, As₄S₄) et l'orpiment (As₂S₃). Il est également trouvé dans les sols, associé aux oxydes de fer, de manganèse et d'aluminium [1].

L'érosion des roches, le lessivage des sols, les réactions d'oxydo-réduction et les précipitations entraînent une redistribution de l'arsenic minéral vers les compartiments aquatiques et atmosphériques où il subira diverses autres transformations (adsorption, méthylation, réactions redox). L'activité volcanique, les feux de forêts et la volatilisation constituent également des sources naturelles d'émissions de l'arsenic dans l'atmosphère. Il sera ensuite redistribué sur la surface terrestre, par exemple, par l'intermédiaire des précipitations.

Sources anthropiques

La production d'arsenic (à 97 % sous forme d'As₂O₃), ainsi que ses utilisations industrielles et agricoles, sont responsables de son accumulation dans l'environnement (*tableau II*). Cependant, l'impact de l'activité humaine sur le cycle global de l'arsenic est difficile à définir. Pour l'atmosphère, des estimations proposent un rapport sources naturelles/sources humaines égal à 60/40 pour l'émission d'arsenic. La majeure partie provient des fumées émanant des industries de production d'As₂O₃ et de la combustion des

Tableau I - Principaux composés arséniés dans l'environnement.

Composés	Formules	DO	pKa
Acide arsénieux	$O = \overline{As} - OH$	+ III	9,29
Acide arsénique	$O = \begin{array}{c} OH \\ \\ As \\ \\ OH \end{array} - OH$	+V	2,24 6,96 11,5
Acide monométhylarsonique MMAA	$O = \begin{array}{c} CH_3 \\ \\ As \\ \\ OH \end{array} - OH$	+V	4,19 8,77
Acide diméthylarsinique DMAA	$O = \begin{array}{c} CH_3 \\ \\ As \\ \\ CH_3 \end{array} - OH$	+V	1,78 6,14
Arsénobétaïne AB	$CH_3 - \begin{array}{c} CH_3 \\ \\ As^+ \\ \\ CH_3 \end{array} - CH_2 - \begin{array}{c} C = O \\ \\ O^- \end{array}$	+V	4,7
Arsénocholone AC	$CH_3 - \begin{array}{c} CH_3 \\ \\ As^+ \\ \\ CH_3 \end{array} - CH_2 - CH_2 - OH$ X^-	+V	
Oxyde de triméthylarsine TMAO	$CH_3 - \begin{array}{c} CH_3 \\ \\ As = O \\ \\ CH_3 \end{array}$	+V	
Triméthylarsine TMA	$CH_3 - \begin{array}{c} CH_3 \\ \\ As \\ \\ CH_3 \end{array}$	- III	

Valeurs de pKa d'après Smith et Martell (1976-1982) [37], T= 25 °C, I = 0 mol.L⁻¹.

Tableau II - Principales utilisations de l'arsenic.

Domaine	Exemples d'utilisations	Produits arséniés
Agriculture	Pesticides, insecticides, fongicides Défoliants, dessiccants (coton) Préservation du bois	Arséniate de calcium et de plomb, MMAA, DMAA et leur sels de sodium, arsénite de sodium
Secteur animalier	Compléments alimentaires Utilisation vétérinaire (dysenterie)	Composés organoarséniés cycliques
Pharmaceutique	Médicaments antisyphilitiques Traitement paludisme, amibiase, maladie du sommeil	Anhydride arsénieux As ₂ O ₃ Cacodylate de sodium
Électronique	Semi-conducteurs (diode, capteur solaire, laser)	Arséniures de gallium et d'indium (extrême pureté)
Industries diverses	Verre (agent de raffinage) Catalyse, pyrotechnie, cosmétique	
Métallurgie	Alliages de cuivre et plomb (améliore résistance, corrosion)	Arsenic métallique

produits fossiles (charbons, pétroles, huiles) qui contiennent un pourcentage important d'arsenic.

L'utilisation massive des produits arséniés dans l'agriculture (pesticides, par exemple pour le traitement de la vigne, et contre les fourmis), l'irrigation, le dépôt des poussières résultantes des combustions des fossiles, la proximité d'activités minières ou de fonderies métallurgiques, la décharge de déchets industriels sont les causes principales d'un enrichissement du sol en arsenic.

Distribution de l'arsenic dans l'environnement

L'arsenic dans les eaux

Dans les eaux naturelles, la concentration en arsenic total dépend d'un certain nombre de facteurs physiques, chimiques et biologiques. La composition géologique du sol drainé par les eaux douces ou celle des sédiments conditionnent cette concentration. Les facteurs physico-chimiques (pH, E° , température, taux de phosphate, fer ou manganèse) affectent la capacité d'adsorption et ainsi le flux d'arsenic à l'interface sédiments-eau. De plus, l'activité micro-biologique est responsable de la dissolution de certains hydroxydes mobilisant l'arsenic dans les sédiments [2].

Les teneurs en arsenic des eaux douces varient considérablement suivant leur lieu de prélèvement et leur niveau de pollution. Par exemple, les eaux douces « non polluées » contiennent des concentrations d'arsenic généralement inférieures à $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ [3]. En comparaison, l'analyse de lacs canadiens recevant les effluents d'une ancienne mine d'or a révélé des concentrations supérieures à $5\,000 \mu\text{g.L}^{-1}$ [4]. Dans les océans, les concentrations d'arsenic rapportées sont homogènes et restent inférieures à $3 \mu\text{g.L}^{-1}$, avec une moyenne estimée à $1,7 \mu\text{g.L}^{-1}$ [5].

La teneur en arsenic dans les eaux à usage agricole ou domestique est contrôlée et les nouvelles directives européennes (nov. 1998) ont abaissé la concentration maximale admissible de l'arsenic de $50 \mu\text{g.L}^{-1}$ à $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour les eaux potables.

Concernant la spéciation de l'arsenic dans les eaux naturelles, l'arsenic inorganique est prédominant. Dans les eaux oxydantes ($0,2 < E^\circ < 0,5 \text{ V}$), l'arséniate est largement majoritaire ($\text{AsV}/\text{AsIII} = 10^{15}$ à 10^{26} , [6] et à pH 5-8, pH de la plupart des eaux de rivière, les formes H_2AsO_4^- et HAsO_4^{2-} sont co-existantes. En conditions réductrices ($0-0,1 \text{ V}$), H_3AsO_3 (AsIII) est en théorie la forme la plus stable à ce pH [7] et sa présence a été confirmée dans les eaux profondes [8]. Cependant, la présence d'arsénite et/ou d'arséniate ne semble pas uniquement dictée par les données thermodynamiques et les réactions d'oxydo-réduction chimiques perturbent la répartition de l'arsenic minéral [7]. L'activité microbologique (phytoplancton, bactéries, champignons) est également responsable de l'oxydation ou de la réduction de l'arsenic inorganique.

Les composés arséniés organiques, MMAA, DMAA et TMAO sont également présents dans les eaux naturelles, douces ou salines. Leur proportion est variable suivant le

lieu de prélèvement, le taux de phosphates ou de nutriments, la salinité, la température et l'activité biologique [3]. L'origine de ces formes organiques dans les eaux n'est pas évidente. Majoritaires dans les zones photiques, elles peuvent provenir de la méthylation de l'arsenic minéral par les algues [3] ou par la dégradation microbienne des composés organiques complexes (arsénobétaïne, sucres arséniés) excrétés par les organismes aquatiques après leur mort [9]. L'arsénobétaïne ou les sucres arséniés sont rarement détectés dans les eaux du fait de l'utilisation de techniques analytiques, type génération d'hydrures, inaptes à la détection de tels composés et de leur dégradation microbienne rapide en composés moins méthylés (MMAA, DMAA, TMAO). Cependant, récemment, une quantité de 20 à 50 % de ces « composés cachés » dans des eaux estuariennes a été rapportée [10]. Le développement de nouvelles techniques et l'abaissement des limites de détection rendra sûrement possible la quantification de ces espèces dans les eaux naturelles.

L'arsenic dans les sols et les sédiments

Dans les sols, la composition géologique ($0,1$ à $100 \text{ mg d'As.kg}^{-1}$) et l'impact des activités industrielles et agricoles conditionnent leur concentration en arsenic total. Par exemple, des sols prélevés à proximité d'un site industriel important (pesticides, acide sulfurique) dans le Massachusetts contiennent jusqu'à $31\,000 \text{ mg d'As.kg}^{-1}$ [11]. La quantité d'arsenic après ajout de pesticides peut se trouver dans une concentration de 290 à 625 mg.kg^{-1} de sol. Une limite de $20 \text{ mg d'As.kg}^{-1}$ de sols est recommandée pour une utilisation agricole [12].

Pour les sédiments marins, la gamme de concentration généralement observée est de 5 à $15 \mu\text{g d'As.g}^{-1}$ [5]. L'analyse de sédiments pollués industriellement dans le Massachusetts donne des concentrations variant entre 4 et $9\,800 \text{ mg.kg}^{-1}$ [11]. Ces concentrations sont étroitement liées à celles des eaux et à leur degré de pollution ainsi qu'aux facteurs physico-chimiques (pH, potentiel redox) et biologiques affectant la mobilisation de l'arsenic et son transfert à l'interface eau/sédiments [4].

Les formes minérales de l'arsenic forment des composés insolubles par interactions avec les composants du sol. De la stabilité de ces solides dépendra la concentration d'arsenic mobile relargué dans les eaux. Leur dissolution sera contrôlée principalement par le pH et les conditions oxydo-réductrices [13]. AsV, majoritaire dans les sols oxydants, est retenu par sorption ou précipitation avec les hydroxydes de fer, de manganèse et d'aluminium. Dans les zones réductrices, AsIII peut être précipité, par exemple, sous forme de As_2S_3 , en présence de sulfures, abondants dans les sédiments marins. AsIII est cependant reconnu comme plus mobile que AsV, ce qui augmente sa biodisponibilité et donc sa toxicité. La détection d'une forte concentration en As III dans des sols peut s'expliquer aussi par une pollution industrielle ou agricole.

A ces phénomènes physico-chimiques s'ajoutent les actions microbologiques [2]. Les micro-organismes présents dans les sols sont capables de réduire et d'oxyder

l'arsenic minéral. De plus, la réduction du fer ferrique en fer ferreux, dans les zones anoxiques (sédiments) par des bactéries spécifiques entraîne la dissolution des hydroxydes de fer et ainsi le relargage de l'arsenic V adsorbé. Celui-ci, démobilisé, subira alors diverses transformations suivant la composition chimique et l'activité microbienne du sol (oxydation, réduction, sorption).

Des composés méthylés (MMAA, DMAA, TMAO) sont présents dans les sols. Leur origine peut être soit une méthylation directe par les micro-organismes telluriques, soit un apport lié à l'activité humaine, principalement agricole (pesticides, fertilisants). Présents également dans les sédiments marins, estuariens et lacustres [4], ils résultent d'une méthylation microbienne ou d'une biodégradation de composés méthylés plus complexes.

Une perte d'arsenic des sols et des sédiments par volatilisation microbiologique est également possible sur des sols enrichis en arsenic [14], mais son occurrence dans l'environnement naturel ne semble pas confirmée.

L'arsenic dans les organismes aquatiques

Les animaux marins, poissons, mollusques ou crustacés accumulent de l'arsenic dans leurs tissus. L'arsénobétaïne est le composé majoritairement présent dans les organismes marins et forme jusqu'à 95 % de l'arsenic total accumulé dans les poissons, les crustacés et les mollusques [15-16].

L'arsénocholine, l'ion tétraméthylarsonium et le TMAO ont aussi été détectés dans les organismes aquatiques, poissons ou coquillages, mais leur quantification est rarement rapportée.

Les études concernant les organismes d'eaux douces sont plus rares et moins approfondies. Bien que Maeda et son équipe [17] affirment depuis longtemps l'existence de composés triméthylés dans les organismes d'eaux douces, l'identification d'arsénobétaïne dans des poissons n'a été que récemment rapportée [18]. Les algues contiennent majoritairement des sucres arséniés hydrosolubles diméthylés et triméthylés et des composés arséniés liposolubles. Ces composés n'ont pas tous été identifiés [19].

Les biotransformations de l'arsenic par des organismes aquatiques et terrestres

L'environnement aquatique

Afin de comprendre le cycle de l'arsenic dans l'environnement aquatique, il est indispensable de savoir quelles transformations subit l'arsenic pour former ces composés organiques présents dans les organismes aquatiques et quels sont les organismes impliqués. D'après la littérature [9, 15, 20], ce cycle aquatique pourrait se décomposer en 3 étapes schématisées sur la figure 1.

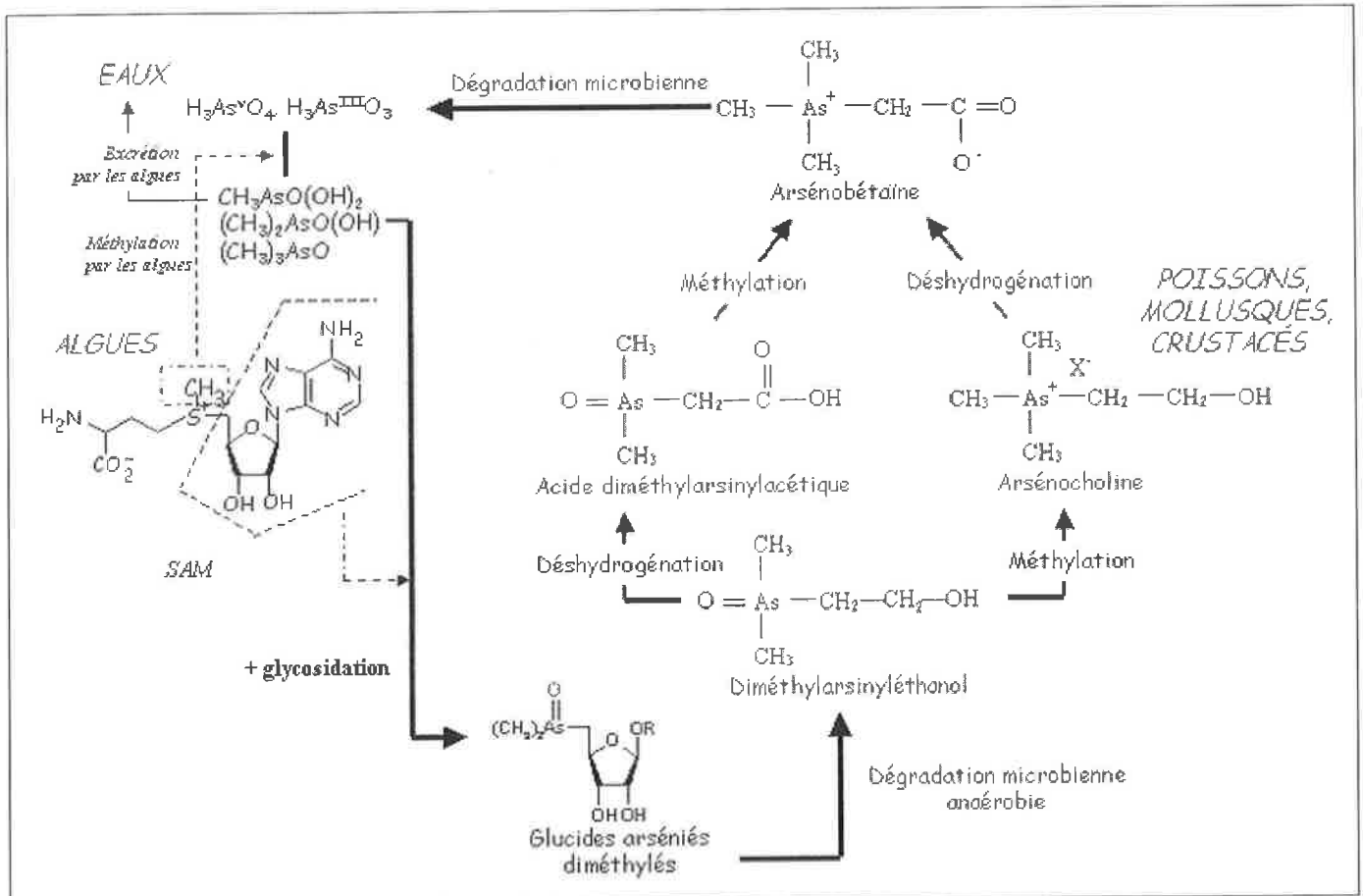


Figure 1 - Cycle aquatique de transformation de l'arséniate en arsénobétaïne par l'intermédiaire des sucres arséniés (d'après [15, 20]).

Accumulation et transformation de l'arsenic par les algues

Les micro-algues, premier élément de la chaîne trophique dans l'environnement aquatique sont reconnues pour leur aptitude à résister à l'arsenic, à l'accumuler et à le transformer en composés organiques complexes identifiés chez les algues marines, comme des sucres arséniés et des composés arséniés liposolubles [15]. Les composés organiques simples, MMAA et DMAA, sont également présents dans les algues et sont définis comme intermédiaires dans la synthèse des sucres arséniés, qui eux-mêmes servent de base dans la formation des arsénolipides. La S-adénosylméthionine (SAM) est proposée comme agent de méthylation [21].

Concernant les algues d'eaux douces, *Chlorella vulgaris*, résiste à plus de 10 000 $\mu\text{g d'AsV.g}^{-1}$ et accumule l'arsenic minéral *in vivo* jusqu'à 8 700 $\mu\text{g.g}^{-1}$ [17]. De plus, elle est capable de méthyler l'arsenic V et le MMAA en composés méthylés, identifiés à des sucres arséniés récemment [19].

L'excrétion de ces composés organiques de l'arsenic par les algues est une explication possible de leur présence dans les eaux naturelles.

Formation de l'arsénobétaine présente dans les poissons et les invertébrés marins

L'arsénobétaine est le composé majoritairement présent dans les poissons marins. Cependant, il n'est pas détecté dans les algues, premier maillon de la chaîne alimentaire et les organismes marins semblent incapables de synthétiser seul l'arsénobétaine à partir de l'arséniat d'origine marine [15]. Existerait-il, alors un lien entre les composés organiques présents dans les algues et l'arsénobétaine présent dans les organismes supérieurs ? La question reste posée.

Aucune transformation directe des sucres arséniés en arsénobétaine par les organismes marins n'a pu être mise en évidence. Une étape microbienne, qui transformerait les sucres arséniés en une forme accumulable par les organismes vivants est proposée. Les sucres arséniés diméthylés sont décomposés par des micro-organismes en conditions anaérobies pour former du diméthylarsinyléthanol. Une oxydation suivie d'une méthylation (ou inversement) conduirait à la formation d'arsénobétaine. L'arsénocholine constitue un intermédiaire [15]. Cette hypothèse requiert cependant davantage d'études pour être confirmée.

Dégradation microbienne de l'arsénobétaine dans l'environnement aquatique

Une question subsiste dans la compréhension du cycle aquatique de l'arsenic : que devient l'arsénobétaine après la mort des organismes marins ? Depuis la fin des années 80, l'équipe d'Hanaoka tente de répondre à cette question et propose de boucler le cycle de l'arsenic par la dégradation de l'arsénobétaine en TMAO, DMAA, MMAA et en arsenic inorganique. Cette dégradation est mise en évidence, en laboratoire, par utilisation de micro-organismes présents dans les sédiments, dans les particules en suspension, sur des macro-algues, ou dans l'intestin d'un mollusque et qui ont aussi été identifiés dans un requin, après sa mort [9, 20].

Le cycle de l'arsenic dans l'environnement aquatique commencerait par la transformation de l'arséniat en composés organiques simples et/ou complexes, via les organismes marins, et se terminerait par leur dégradation et leur retour à la forme inorganique de l'arsenic. Le développement récent des couplages analytiques appliqués aux échantillons biologiques permettra une meilleure compréhension de son cycle aquatique.

L'environnement terrestre

Plantes et végétaux

L'utilisation de l'arsenic en agriculture et la pollution des sols affectent la croissance des plantes et des végétaux. Cependant, certaines plantes sont capables de s'adapter et de survivre sur des sols pollués en arsenic à plus de 43 000 mg d'As.kg⁻¹ [6]. L'arsenic est accumulé dans les racines ou dans les feuilles, suivant un mécanisme de résistance mis en place par le végétal. Les facteurs physico-chimiques du sol jouent un rôle important car ils affectent la disponibilité de l'arsenic et ainsi sa pénétration dans la plante. La présence de phosphate, similaire chimiquement à l'arséniat, augmente la résistance de la plante à AsV en inhibant son absorption [1]. Lorsqu'elles sont dans un milieu déficient en phosphate et en présence d'arsenic V, les plantes (maïs, tomates, melons) sont capables de réduire AsV, et de le méthyler en MMAA (22 %) et DMAA (76 %) [22].

Certains champignons terrestres sont capables d'accumuler l'arsenic jusqu'à 2 000 mg.kg⁻¹ sous différentes formes, variables suivant le champignon étudié [23], l'arsénobétaine étant parfois le composé majoritaire. Des quantités, plus ou moins importantes d'arsénocholine, d'ion tétraméthylarsonium, de DMAA, de MMAA ou d'arsenic minéral sont également détectées. Ces produits résultent d'une méthylation directe par le champignon ou par des micro-organismes présents dans les sols ou les champignons.

Hommes et autres animaux

Exposés à l'arsenic, présent dans l'air, l'eau ou la nourriture sous différentes formes, les mammifères, y compris l'Homme, ont la possibilité de le méthyler et ainsi de le transformer en des formes moins toxiques. Ainsi, 2 à 4 jours après une ingestion d'AsIII, MMAA et DMAA sont détectés majoritairement dans les urines de différents mammifères. Le DMAA est considéré comme le produit final de méthylation chez les mammifères. Les rendements de ces métabolites et leur rapidité d'excrétion dépendent de la forme arséniée, de la dose ingérée, mais surtout des espèces considérées. Seul les hommes excrètent du MMAA en quantité non négligeable par rapport au DMAA et certaines espèces (souris, chiens) méthyler et excrètent 70 % de la forme ingérée sous forme de DMAA. Chez l'homme, l'arsénobétaine est excrétée à 70 % dans les 3 jours suivant l'ingestion et reste inchangée. L'arsénocholine est oxydée en arsénobétaine [24], mais par contre, le métabolisme des sucres arséniés n'est pas connu.

Les biotransformations de l'arsenic par les micro-organismes

Les principales transformations microbiennes observées sont des réactions d'oxydation, de réduction, de méthylation et de dégradation. Certains de ces processus biologiques sont définis comme des systèmes de résistance à l'arsenic [25-26]. Ils permettent ainsi aux micro-organismes de s'adapter à un environnement pollué en arsenic et de tolérer des concentrations importantes de toxique. Da Costa *et al.* [27] étudient la résistance de plusieurs souches de champignons connues pour leur action destructrice du bois. Ceux qui sont « résistants à l'arsenic » supportent des concentrations de 1 500 à 48 000 mg d'AsV.L⁻¹.

Parmi les processus mis en jeu par le micro-organisme pour résister à l'arsenic, la mise en place de « pompes membranaires » assure la réduction de la concentration intracellulaire de l'arsenic. L'oxydation de AsIII en AsV (forme moins toxique), observée chez certains micro-organismes, permettrait de détoxifier l'arsenic incorporé dans les cellules. Les processus de biométhylation entraînent également une diminution de la toxicité intracellulaire [25].

Mise en place de pompes membranaires

Un **premier système de résistance** à AsV résulte de la compétition arséniate/phosphate au niveau du transport cellulaire de ces deux éléments. En effet, l'arséniate (pKa 2,2 ; 7 ; 11,5) et le phosphate (pKa 2,1 ; 7 ; 12,7) se trouvent, à pH physiologique, sous des formes ionisées similaires : H₂AsO₄⁻, HAsO₄²⁻ pour l'arséniate et H₂PO₄⁻, HPO₄²⁻ pour le phosphate. Aussi, grâce à cette similitude chimique, l'arséniate pénètre dans la cellule par le même système que

les ions phosphates. Lorsque la concentration en phosphate est importante par rapport à la concentration en AsV, ce dernier pénètre faiblement dans les cellules.

Un autre système de résistance est impliqué dans la résistance à l'arsénite et à l'arséniate. Une pompe membranaire, celle-ci imperméable au phosphate, exporte rapidement AsV et AsIII dans le milieu extracellulaire. AsV est préalablement réduit dans la cellule par l'arséniate réductase, avant son exportation membranaire. Ce mécanisme de réduction enzymatique, proposé par Ji et Silver [26], est présenté par la *figure 2*.

Ces mécanismes de résistance sont déterminés génétiquement. Des analyses moléculaires de l'ADN plasmidique ont permis d'identifier, chez plusieurs bactéries, le gène responsable de la résistance à l'arsenic (*ars* opéron). Cependant, les séquences génétiques impliquées dans la résistance de l'arsenic diffèrent suivant les souches bactériennes étudiées.

Oxydation microbologique de l'arsenic trivalent (AsIII)

Cette réaction est souvent qualifiée de mécanisme de résistance puisqu'elle permet une détoxification de l'arsenic accumulé dans les cellules [25]. Un modèle biochimique d'oxydation a été proposé chez *Alcaligenes faecalis* : les électrons sont transportés de AsIII vers l'oxygène, accepteur final via une chaîne électronique complexe. Une enzyme membranaire, l'arsénite oxydase, a pu être purifiée et caractérisée [28].

Cette propriété oxydante est observée dans l'environnement [29]. Par exemple, des bactéries hétérotrophes sont responsables de l'oxydation de 78 à 96 % d'AsIII polluant des eaux de rejets miniers [30]. Bien entendu, cette oxydation bactérienne a des conséquences sur la mobilité et la toxicité de l'arsenic dans l'environnement.

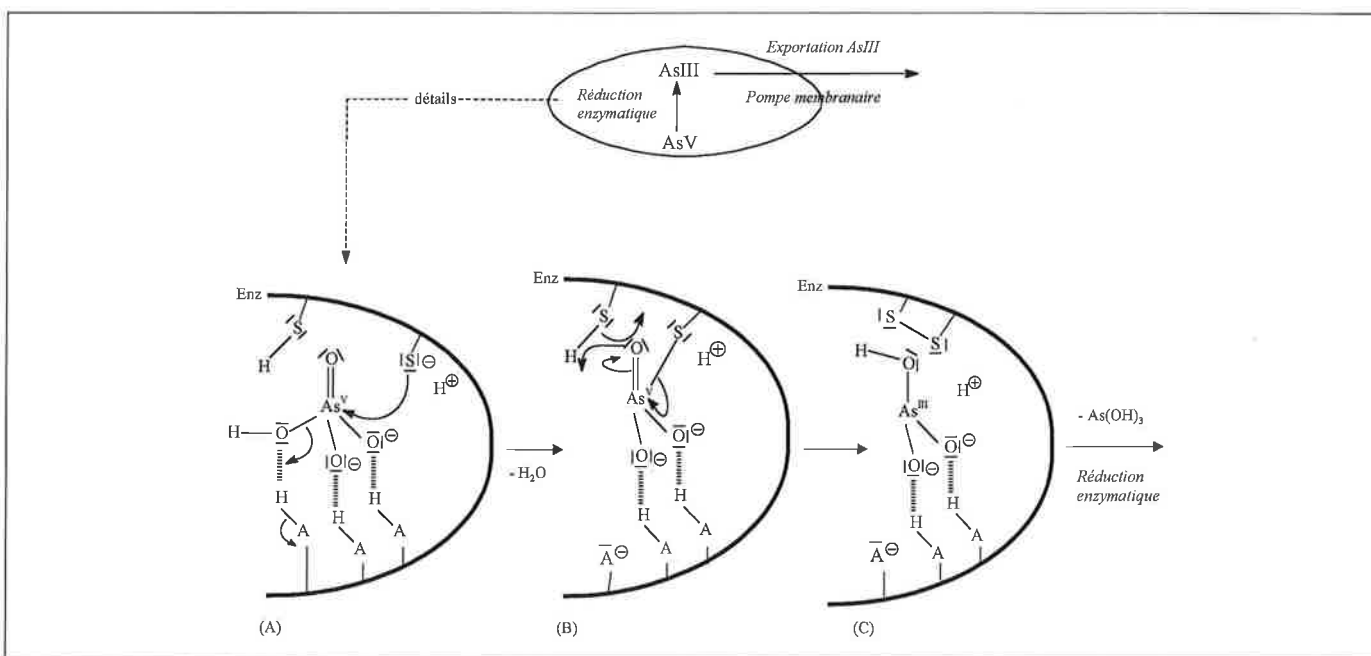


Figure 2 - Modèle simplifié proposé pour la réduction enzymatique de AsV [26].

(A) Enzyme avec 2 sites -SH actifs (cystéine), 3 liaisons hydrogène et HAsO₄²⁻ structure tétraédrique : formation de liaisons hydrogène entre le dianion HAsO₄²⁻ et les protons des groupements -AH, (B) Réduction de AsV en AsIII par transfert d'électrons de la fonction thiolate de la cystéine vers AsV formant (C) Arsénite (AsIII) forme trigonale et protéine à pont disulfure.

Réduction microbiologique de l'arsenic pentavalent (AsV)

En conditions aussi bien aérobies qu'anaérobies, les micro-organismes sont capables de réduire AsV en AsIII, qui est la forme plus toxique [6]. Par exemple, des champignons isolés de sédiments lacustres - *Candida* sp., *Rhodotorula* sp., *Trichoderma viride* - mis en culture dans un milieu dopé en arséniate, le réduisent en conditions aérobies après 60 h d'incubation [29].

Des études récentes montrent l'aptitude de certaines bactéries à respirer en conditions anoxiques par réduction de AsV en AsIII qui catalyserait la dissolution des arséniate de fer, libérant ainsi AsIII [2]. Ainsi, ces bactéries réductrices modifieraient la toxicité et la mobilité de l'arsenic dans l'environnement.

Biométhylations et volatilisations de l'arsenic

Les travaux de Gosio en 1912 d'abord, puis de Challenger en 1945 [31] ont identifié la triméthylarsine, gaz volatil et toxique produit par le champignon *Scopulariopsis brevicaulis* à partir d'arsenic utilisé dans des colorants de papiers peints. Depuis, différentes études ont mis en évidence d'autres souches de champignons, de levures ou de bactéries, capables de méthyler entraînant la volatilisation de cet élément (tableaux III et IV). La méthylation de l'arsenic a été également observée lors de l'incubation de sols, de sédiments et d'eaux pollués, enrichis en arsenic (tableau V). Sa volatilisation est décrite, par certains auteurs comme une cause importante de perte d'arsenic dans les sols [14]. Cependant, des doutes subsistent quant à l'impact de

Tableau III - Méthylation et volatilisation de l'arsenic par des souches pures de champignons.

Souches étudiées	Substrats arsénisés	produits obtenus	Conditions d'incubation	Réf.
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	AsIII, AsV, MMAA, DMAA	⇒ TMA	incubation sur miettes de pain stériles	Challenger 1945 [31]
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Saccharomyces carlsbergensis</i> <i>Saccharomyces monacensis</i>	AsIII	⇒ pas de TMA		
<i>Aspergillus versicolor</i> <i>Aspergillus glaucus</i>	AsIII ⇒ Trace TMA MMAA ⇒ TMA			
<i>Aspergillus niger</i> <i>Penicillium chrysogenum</i>	AsIII ⇒ pas de TMA MMAA ⇒ TMA DMAA ⇒ TMA		incubation sur miettes de pain stériles	Bird et al., 1948 (d'après [6])
<i>Aspergillus fisheri</i> <i>Penicillium notatum</i>	AsIII ⇒ pas de TMA MMAA ⇒ TMA			
<i>Penicillium</i> sp. <i>Gliocladium roseum</i>	AsIII, AsV ⇒ pas de TMA MMAA, DMAA ⇒ TMA			
<i>Candida humicola</i> (boues polluées)	AsIII, DMAA ⇒ TMA AsV ⇒ TMA MMAA ⇒ TMA		milieu nutritif tamponné + 100 < [As] < 2000 mg.L ⁻¹ , aérobie	Cox et Alexander, 1973 [32]
<i>Penicillium</i> sp. (eau évaporée d'un étang pollué avec 2,4 mg d'As.l ⁻¹)	AsIII, AsV ⇒ Pas de TMA MMAA, DMAA ⇒ TMA			
<i>Candida humicola</i> (ATCC 26699) <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> (dpt.Chimie, Col. Britannique)	AsV ⇒ AsIII, DMAA, TMAO AsIII ⇒ DMAA, TMAO MMAA ⇒ DMAA, TMAO DMAA ⇒ TMAO		Milieu sels minéraux- glucose, [As] = 1 mg.L ⁻¹ , aérobie	Cullen et al., 1994b [38]
<i>Candida humicola</i> (ATCC 26699)	TMAO ⇒ TMA PhMe ₂ AsO ⇒ PhMe ₂ As PhAs(OH) ₂ ⇒ PhMe ₂ As PhMeAsO(OH) ⇒ PhMe ₂ As Arsénobétaine ⇒ Pas de TMA			Cullen et al., 1983 (d'après [6])
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	AsV ⇒ AsIII, DMAA, TMAO AsIII ⇒ DMAA, TMAO MMAA ⇒ DMAA, TMAO DMAA ⇒ TMAO		Milieu nutritif (pH 5,5 [As] = 200 µg.L ⁻¹ , aérobies	Molénat, 1999 [39]
<i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus ochraceus</i>	AsV ⇒ AsIII DMAA, AsIII ⇒ Pas de méthylation MMAA ⇒ DMAA, TMAO			

¹ MMA: monométhylarsine, DMA: diméthylarsine, TMA: triméthylarsine, TMAO: oxyde de triméthylarsine.

Tableau IV - Méthylation et volatilisation de l'arsenic par des souches bactériennes.

Souches identifiées Provenance	Substrats arsénisés	produits obtenus	Conditions d'incubation	Réf.
<i>Methanobacterium</i> MOH	AsV, AsIII, MMAA, DMAA	⇒ DMA (diméthylarsine)	Anaérobie, [As] = 62 mg.L ⁻¹	Mc Bride et Wolfe., 1971 [40]
<i>Aeromonas</i> sp. (lac pollué en arsenic)	As V ⇒ As As III ⇒ As, DMAA MMAA ⇒ MMAA, DMAA DMAA ⇒ DMAA	Arsines détectées	Aérobie, milieu nutritif, [As] = 10 mg.L ⁻¹	Wong <i>et al.</i> , 1977 [41]
<i>Flavobacterium</i> sp. (lac pollué en arsenic)	As V ⇒ As, DMAA As III ⇒ As, DMAA MMAA ⇒ MMAA, DMAA DMAA ⇒ DMAA, TMAO	Arsines détectées		
<i>E. coli</i> (ATCC No 23724)	As V ⇒ As, MMAA, DMAA As III ⇒ As, MMAA, DMAA MMAA ⇒ MMAA, DMAA DMAA ⇒ DMAA	Arsines détectées		
<i>Pseudomonas</i> sp.	As V ⇒ As III, MMA, DMA, TMA MMAA ⇒ As V, MMA, DMA		Aérobie adaptées à 100 mg.L ⁻¹ d'AsV	Shariatpanahi 1982 [42]
<i>Flavobacterium</i> sp.	As V ⇒ As III, DMA MMAA ⇒ As V, MMA, DMA			
<i>Proteus</i> sp.	As V ⇒ As III, MMA, DMA			
<i>E. Coli</i> sp	As V ⇒ As III, MMA, DMA			
<i>Achromobacter</i> sp.	MMAA ⇒ As V, MMA, DMA			
<i>Aeromonas</i> sp.	MMAA ⇒ MMA, DMA, TMA			
<i>Enterobacter</i> sp.	MMAA ⇒ MMA, DMA			
<i>Norcardia</i>	MMAA ⇒ As, MMA, DMA, TMA			
<i>Veillonella alcalescens</i> <i>Streptococcus sanguis</i> <i>Fusobacterium nucleatum</i> (plaques dentaires)	TMAO ⇒ Triméthylarsine		Aérobies et anaérobies Suspension dans tampon phosphate + 1,4 mg. As L ⁻¹	Pickett <i>et al.</i> , 1988 (d'après [6])
<i>Pseudomonas putida</i> (algue polluée en arsenic) <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Xanthomonas</i> sp.	As V ⇒ As, MMAA, DMAA, TMAO		Aérobie milieu peptoné + 10 mg AsV.L ⁻¹ ,	Maeda, 1994 [17]
Bactéries réductrices du : Fer Sulfate Manganèse	AsV ⇒ Traces de composés méthylés AsV ⇒ MMAA, DMAA, TMAO, AsH ₃ , MMA, DMA, TMA, AsV ⇒ MMAA, TMAO MMAA, DMAA, TMAO, AsH ₃ ,		Anaérobie milieu nutritif + 1000 µg AsV.L ⁻¹	Bright <i>et al.</i> , 1994 [4]
<i>Flavobacterium cytophaga</i> (sol pollué)	AsIII, AsV ⇒ Triméthylarsine DMAA ⇒ Pas de méthylation		Aérobie, milieu nutritif + 50 à 200 mg. As L ⁻¹	Honshopp <i>et al.</i> , 1996 [43]

cette volatilisation biologique sur l'environnement et aucune étude ne rapporte la détection d'arsines méthylées dans l'environnement atmosphérique, lesquelles doivent par ailleurs être facilement oxydables.

Mécanismes de méthylation de l'arsenic et modèles proposés

L'essentiel des travaux de Challenger sur l'interaction *Scopulariopsis brevicaulis*-arsenic est rapporté dans la revue

Tableau V - Biométhylations et volatilisation de l'arsenic par des échantillons naturels, pollués ou enrichis en arsenic.

Milieus naturels étudiés	Produits obtenus	Conditions d'incubation	Réf.
Sédiments pollués (200-550 µg As.g ⁻¹) Lac ⇔ Rivière ⇔ Etang ⇔	As, MMAA, DMAA As, MMAA, DMAA As, MMAA, DMAA, TMAO Pas d'arsines volatiles détectées	aérobies et nutritives	Wong <i>et al.</i> , 1977 [41]
Sédiment lac dopé : 7,5 mg As.L ⁻¹ AsIII et AsV ⇔	MMAA, DMAA pas d'arsines, ni méthylarsines	anaérobies et nutritives	Baker <i>et al.</i> , 1983 [44]
Eaux de rivières, sédiments marins, sols, boues dopés: 750 mg As.L ⁻¹ TMAO ⇔	TMA		Pickett <i>et al.</i> , 1988 (D'après 6)
Sol dopés AsV (8,9 mg As.kg ⁻¹), DMAA (44,8 mg As.kg ⁻¹) ⇔	Arsines non identifiées	aérobies et nutritives	Sanford et Klein, 1988 [36]
Sols dopés: 100 mg As.kg ⁻¹ AsIII, AsV, MMAA, DMAA ⇔	Arsines non identifiées, Pas de méthylation	aérobies	Gao et Burau, 1997 [14]

de Cullen et Reimer [6]. De nombreux composés arsénisés utilisés comme substrat (arséniate, arsénite, composés mono- et diméthylés, butylés ou phénylés) peuvent être transformés par ce champignon en arsines correspondantes. Ces observations lui permettent de proposer un mécanisme de méthylation de l'arséniate en triméthylarsine, qui passe par une série d'étapes de réductions et de méthylations liées à des oxydations (figure 3). Ses travaux, cependant, ne permettent pas l'identification des composés intermédiaires de ce processus biochimique.

Les investigations de Cullen et son équipe, de 1979 à nos jours permettent une meilleure compréhension de la transformation de AsV en TMA : la méthylation biologique de l'arsenic serait réalisée en 2 étapes, une réduction suivie d'une méthylation. *Candida humicola*, champignon méthyliant découvert par Cox et Alexander en 1973 [32], et *Scopulariopsis brevicaulis* sont utilisés comme modèles dans la plupart de leurs travaux.

• Modélisation de la réduction

Une étape de réduction de AsV est observée avant la méthylation. Connaissant l'affinité de l'arsenic pour les

groupements -SH, les thiols présents dans les cellules (cystéine, acide lipoïque, glutathion) sont supposés être une source d'électrons potentielle dans l'étape de réduction du mécanisme de méthylation. Des essais *in vitro* réalisés par Cullen *et al.* en 1984 montrent effectivement la réduction chimique de l'arsenic V (minéral et organique, MMAA, DMAA) par ces thiols. Par exemple, pour le MMAA, la réaction est la suivante :



Équation 1 - Réduction de l'arsenic V par un groupement -SH (thiol) (Cullen *et al.*, 1984).

L'oxyde de triméthylarsine est également réduit en triméthylarsine suivant la réaction :



Équation 2 - Réduction de TMAO en TMA par un groupement -SH (thiol) (Cullen *et al.*, 1984).

Les sites de réduction peuvent être des groupements -SH de protéines membranaires ou libres.

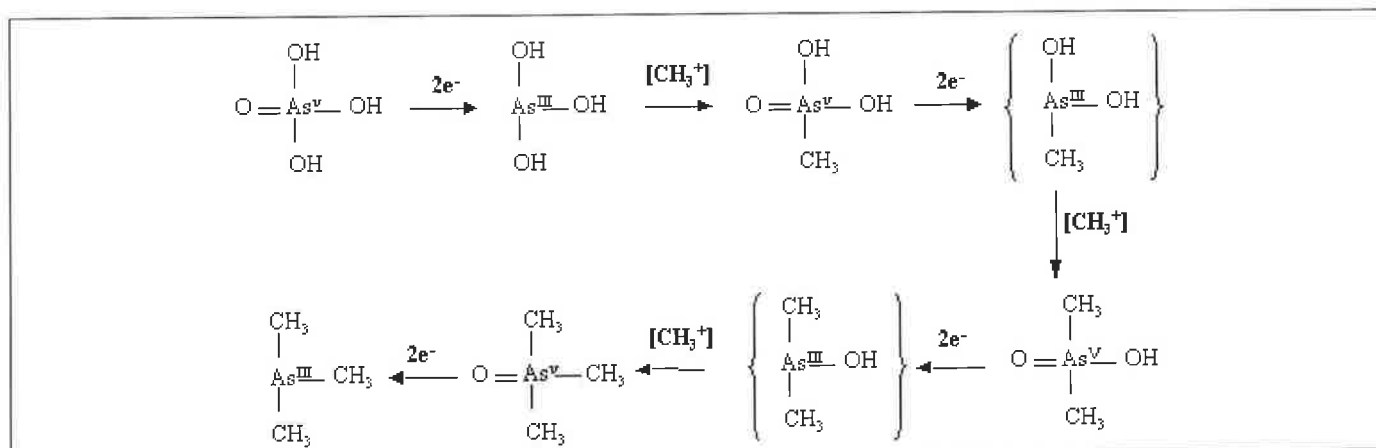


Figure 3 - Mécanisme de méthylation de l'arsenic par les champignons proposé par Challenger en 1945 [31].

• Modélisation de la méthylation

Par marquage au deutérium, Cullen [6, 33] a pu observer la méthylation de l'arsenic par des cellules vivantes. La S-adénosylméthionine (SAM) semble être le donneur potentiel de cation méthyle [CH_3^+] dans le processus de méthylation par les champignons tandis que la méthylcobalamine ou méthylvitamine B12 [$\text{CH}_3\text{CoB}_{12}$] serait la source du méthyle dans le mécanisme de méthylation par des bactéries méthanogènes [6].

Certains biochimistes [25-26] proposent, à partir des modèles *E. coli* et *S. aureus* un mécanisme pour la réduction d'AsV impliquant une chaîne de transport complexe d'électrons via des groupements -SH. Cette réduction est catalysée par l'arséniate réductase et a été présentée précédemment comme un système de résistance bactérienne (figure 2). A notre connaissance, aucune étude enzymologique de méthylation de l'arsenic chez les micro-organismes n'a été publiée dans la littérature. Cependant, le processus de méthylation a été particulièrement étudié chez les mammifères [24] chez lesquels des méthyltransférases ont pu être isolées [34].

Effet de différents paramètres physico-chimiques

Certains paramètres biologiques ou physico-chimiques affectent la méthylation et la volatilisation de l'arsenic. Les produits de méthylation formés dépendent notamment de la nature de la souche microbienne et des substrats arséniés à transformer. Le taux de méthylation est aussi variable suivant le pH et la température du milieu d'incubation, la concentration en phosphate et la concentration en arsenic [35]. L'humidité, la quantité de matière organique d'un sol et le taux de nutriments ajoutés (dextrose, sels minéraux) lors de l'incubation influent également sur le pourcentage de volatilisation microbienne [14].

Déméthylation et dégradation

La déméthylation microbienne est rapportée comme une cause importante de perte de composés organiques dans les sols aérés. Cette dégradation dépend des propriétés des sols. Gao et Burau [14] rapportent des taux de dégradation du MMAA et du DMAA compris entre 3 et 87 % après 70 jours d'incubation avec un sol dopé. Ces taux sont d'autant plus importants que la concentration du substrat et la température d'incubation sont élevées. Cinq espèces bactériennes isolées d'un sol - *Achromobacter* sp., *Flavobacterium* sp., *Nocardia*, *Pseudomonas* sp. et *Alcaligenes* sp. - sont capables de déméthyliser le MMAA (3 à 5 % par 48 h) en conditions aérobies pour former CO_2 et de l'arséniate [6]. Par contre, dans les mêmes conditions d'incubation - *Aeromonas* sp. et *Enterobacter* sp. - ne possèdent pas cette propriété révélant la spécificité des souches dans la transformation de l'arsenic.

D'après l'équipe de Hanaoka *et al.* [9, 20], l'arsénobétaïne est dégradée totalement en AsV, via les intermédiaires TMAO, DMAA, et MMAA par des micro-organismes présents dans des sédiments marins.

Conséquences des biotransformations par les micro-organismes et perspectives pour l'environnement

Ces biotransformations rapportées précédemment impliquent les micro-organismes dans la distribution, la mobilité et le cycle global de l'arsenic [2].

Leur action peut être :

- **directe** : oxydation et réduction de l'arsenic, méthylation, volatilisation, déméthylation ;
- **indirecte** par oxydation ou réduction d'un autre élément métallique, entraînant une modification de la spéciation de l'arsenic, par exemple lors de la dissolution bactérienne des hydroxydes de fer (tableau VI).

Tableau VI - Effet de l'activité microbiologique sur la mobilisation et la toxicité de l'arsenic.

Action microbienne directe sur l'arsenic	Conséquence environnementale
Méthylation ⇔	Détoxication ⇔ Augmentation de la mobilité de l'arsenic
Volatilisation ⇔	Emission d'arsenic dans l'atmosphère mais facilement oxydable
Déméthylation ⇔	Libération d'AsV et diminution de la mobilité par sa rapide adsorption sur les oxydes de fer et de manganèse
Réduction ⇔	Augmentation de la toxicité et de la mobilité. ⇔ Formation d' As_2S_3 en présence de sulfure et en conditions anoxiques. ⇔ Dissolution des oxydes de fer
Oxydation ⇔	Détoxication ⇔ Diminution de la mobilité par précipitation de AsV avec les oxydes de fer et de manganèse.
Action microbienne indirecte	
Réduction du fer par des bactéries spécifiques en conditions anoxiques ⇔	Dissolution des oxydes de fer et libération d'AsV libéré dans les eaux
Production de sulfures par des bactéries sulfato-réductrices ⇔	Mobilisation de l'arsenic par formation de As_2S_3

Les micro-organismes sont capables de s'adapter et de développer des mécanismes stratégiques pour assurer leur survie dans des environnements fortement pollués. L'utilisation de ces mécanismes naturels dans une perspective de décontamination de sols ou de milieux aquatiques est tout à fait envisageable et pourrait représenter une alternative économique intéressante. Ainsi, les souches isolées sont utilisables spécifiquement suivant leur potentiel et l'élément à décontaminer. La collaboration des biochimistes, microbiologistes, chimistes des secteurs publics et industriels est indispensable pour progresser dans ce domaine.

A notre connaissance, aucun procédé de remédiation microbiologique n'est actuellement rapporté. Des idées sont cependant proposées :

- piégeage sur charbon actif des arsines formées par action de champignons isolés et aptes à volatiliser l'arsenic [35] ;
- volatilisation de l'arsenic par le contrôle de certains paramètres physico-chimiques des sols (pH, température, nutriments) [36] ;
- accumulation de l'arsenic par des algues [17] ;
- oxydation de l'arsenic III par des micro-organismes isolés. AsV ainsi formé peut être immobilisé par précipitation (oxyde de fer et de manganèse) ;
- immobilisation de AsIII sous forme d'As₂S₃, en présence des bactéries sulfatoréductrices productrices de sulfure.

Dans l'environnement, « des stations d'épuration 100 % biologiques » peuvent être mises en place naturellement. Une oxydation bactérienne de 76 à 88 % de l'AsIII présent dans des eaux polluées permet leur détoxification naturelle [30]. Un autre exemple récent, est paru dans la revue *Le Point de juin 1998*. Une oxydation bactérienne de l'arsenic, suivie d'une précipitation sur les oxydes de fer, serait responsable de l'élimination de 95 % de l'arsenic soluble dans des eaux fortement polluées en cet élément ! Une reproduction de ces mécanismes naturels à l'échelle industrielle, de façon simple et économique, permettra l'application de la remédiation microbiologique de l'arsenic.

Références

- [1] Bhumbla D.K., Keefer R.F., Arsenic mobilization and bioavailability in soils, in *Arsenic in the Environment, Part I : Cycling and Characterisation*, Nriagu O.J. (Ed), Wiley, J. & Sons, Inc., New York, **1994**, p. 51-82.
- [2] Ahmann, D., Krumholz L.R., Hemond H.F., Lovley D.R., Morel F.M.M., Microbial Mobilisation of Arsenic from Sediments of the Aberjona Watershed, *Environ. Sci. Technol.*, **1997**, *31* (31), p. 2923-2930.
- [3] Anderson L.C.D., Bruland K.W., Biogeochemistry of Arsenic in Natural Waters : The Importance of Methylated Species, *Environ. Sci. Technol.*, **1991**, *25* (3), p. 420-427.
- [4] Bright D.A., Dodd M., Reimer K.J., Arsenic in subArctic lakes influenced by gold mine effluent : the occurrence of organoarsenicals and « hidden » arsenic, *Sci. Total. Environ.*, **1996**, *180*, p. 165-182.
- [5] Neff J.M., Ecotoxicology of arsenic in the marine environment, *Environmental Toxicology and Chemistry*, **1997**, *16* (5), p. 917-927.
- [6] Cullen W.R., Reimer K.J., Arsenic Speciation in the environment, *Chem. Rev.*, **1989**, *89*, p. 713-764.
- [7] Sadiq M., Zaidi T.H., Mian A.A., Environmental behavior of arsenic in soils : theoretical, *Water, Air and Soil Pollution*, **1983**, *20*, p. 369-377.
- [8] Korte N.E.M.S., Fernando Q.P.D., A Review of Arsenic (III) in Groundwater, *Critical reviews in Environment Control.*, **1991**, *21* (1), p. 1-39.
- [9] Hanaoka K., Tagawa S., Kaise T., The fate of organoarsenic compounds in marine ecosystems., *Appl. Organomet. Chem.*, **1992**, *6*, p. 139-146.
- [10] de Bettencourt A.M., Duarte M.F., Facchetti S., Florencio M.H., Gomes M.L., van't Klooster H.A., Montanarella L., Ritsema R., Vilas-Boas L.F., Evidence of the Presence of Dimethylated, Trimethylated and « Refractory » Arsenic Compounds in Estuarine Salt-marsh Halophytes., *Appl. Organomet. Chem.*, **1997**, *11*, p. 439-450.
- [11] Aurilio A.C., Durant J.L., Hemond H.F., Knox M.L., Sources and distribution of arsenic in the Aberjona watershed, Eastern Massachusetts, *Water, Air and Soil Pollution*, **1995**, *81*, p. 265-282.
- [12] Iffland R., Arsenic, in *Handbook on metals in clinical and analytical chemistry*, Seiler M., Hans G., Sigel A., and Sigel H., (Eds), Dekker M., Inc., New York, Basel, Hong Kong, **1994**, p. 237-253.
- [13] Pantsar-Kallio M., Manninen P.K.G., Speciation of mobile arsenic in soil samples as a function of pH., *Sci. Total Environ.*, **1997**, *204*, p. 193-200.
- [14] Gao S., Burau R.G., Environmental Factors Affecting rates of Arsenic Evolution from and Mineralization of Arsenicals in soil., *J. Environ. Qual.*, **1997**, *26*, p. 753-763.
- [15] Francesconi K.A., Edmonds J.S., Biotransformation of arsenic in the marine environment in *Arsenic in the Environment, Part I : Cycling and Characterisation*, Nriagu O.J., (Ed), Wiley, J., & Sons Inc., New York, **1994**, p. 221-262.
- [16] Larsen E.H., Quénel C.R., Munoz R., Fiala-Medioni A., Donard O.F.X., Arsenic speciation in shrimp and mussel from the Mid-Atlantic hydrothermal vents, *Marine Chemistry*, **1997**, *57*, p. 341-346.
- [17] Maeda S., Biotransformation of arsenic in the freshwater environment in *Arsenic in the Environment, Part I : Cycling and Characterisation*, Nriagu O.J., (Ed), Wiley, J. & Sons Inc., New York, **1994**, p. 155-188.
- [18] Shiomi K., Sugiyama Y., Shimakura K., Nagashima Y., Arsenobetaine as the Major Arsenic Compounds in the Muscle of Two Species of Freshwater Fish, *Appl. Organomet. Chem.*, **1995**, *9*, p. 105-109.
- [19] Lai V.W.M., Cullen W.R., Harrington C.F., Reimer K.J., The Characterization of Arsenosugars in Commercially Available Algal Products Including a *Nostoc* Species of Terrestrial Origin, *Appl. Organomet. Chem.*, **1997**, *11*, p. 797-803.
- [20] Hanaoka K., Dote Y., Yosida K., Kaise T., Kuroiwa T., Maeda S., Arsenic Compounds Accumulated in Sedimentary Microorganisms Cultivated in Media Containing Several Arsenicals, *Appl. Organomet. Chem.*, **1996**, *10*, p. 683-688.
- [21] Cullen W.R., Li H., Pergantis S.A., Eigendorf G.K., Harrison L.G., The methylation of arsenate by a marine alga *Polyphysa peniculus* in the presence of L-Methionine-methyl-D₃., *Chemosphere*, **1994**, *28* (5), p. 1009-1019.
- [22] Nissen P., Benson A.A., Arsenic metabolism in freshwater and terrestrial plants, *Physiol. plant.*, **1982**, *54*, p. 446-450.
- [23] Kuehnelt D., Goessler W., Irgolic K.J., Arsenic Compounds in Terrestrial Organisms I : *Collybia maculata*, *Collybia butyracea* and *Amanita muscaria* from Arsenic Smelter Sites in Austria., *Appl. Organomet. Chem.*, **1997**, *11*, p. 289-296 ; p. 459-470 ; p. 859-867.
- [24] Vahter M., Species Differences in the Metabolism of Arsenic Compounds, *Appl. Organomet. Chem.*, **1994**, *8*, p. 175-182.
- [25] Cervantes C., Ji G., Ramirez J.L., Silver S., Resistance to arsenic compounds in microorganisms, *FEMS Microbiology Reviews*, **1994**, *15*, p. 355-367.
- [26] Ji G., Silver S., Bacterial resistance mechanisms for heavy metals of environmental concern., *J. Ind. Microbiol.*, **1995**, *14*, p. 61-75.
- [27] Da Costa E.W.B., Variation in the Toxicity of Arsenic Compounds to Microorganisms and the Suppression of the Inhibitory Effects by Phosphate, *Appl. Microbiol.*, **1972**, *23* (1), p. 46-53.
- [28] Anderson G.L., Williams J., Hille R., The purification and characterisation of arsenite oxidase from *Alcaligenes faecalis*, a molybdenum-containing hydroxylase., *J. Biol. Chem.*, **1992**, *267*, p. 23674-23682.

- [29] Freeman M.C., Aggett J., O'Brien G., Microbial transformations of arsenic in lake Ohakuri, New Zealand., *Wat. Res.*, **1986**, *20* (5), p. 283-294.
- [30] Wakao N., Koyatsu H., Komai Y., Shimokawara H., Shakurai Y., Shiota H., Microbial Oxidation of Arsenite Oxidizing Bacteria in Acid Mine Water from a Sulfur-Pyrite Mine, *Geomicrobiology Journal*, **1988**, *6*, p. 11-24.
- [31] Challenger F., Biological methylation, *Chem. Rev.*, **1945**, *36*, p. 315-361.
- [32] Cox D.P., Alexander M., Production of Trimethylarsine Gas from Various Arsenic Compounds by Three Sewage Fungi, *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology*, **1973**, *9* (2), p. 84-88.
- [33] Cullen W.R., Li H., Pergantis S.A., Eigendorf G.K., Mosi A.A., Arsenic Biomethylation by the microorganism *Apiotrichum humicola* in the presence of L-Methionine-methyl-d₃, *Appl. Organomet. Chem.*, **1995**, *9*, p. 507-515.
- [34] Zakharyan R., Wildfang E., Aposhian H.V., Enzymatic Methylation of Arsenic Compounds, *Toxicology and Applied Pharmacology*, **1996**, *140*, p. 77-84.
- [35] Huysmans K., Frankenberger W.T., Evolution of trimethylarsine by a *Penicillium* sp. isolated from agricultural evaporation pond water, *Sci. Total Environ.*, **1991**, *105*, p. 13-28.
- [36] Sanford R.A., Klein D.A., Environmental bioremediation for organometallic compounds : microbial growth and arsenic volatilization from soil and retorted shale, *Appl. Organomet. Chem.*, **1988**, *2*, p. 159-169.
- [37] Smith R.M., Martell A.E., Critical stability constants. Vol. 3-5, Plenum Press, New York, **1976-1982**.
- [38] Cullen W.R., Li H., Hewitt G., Reimer K.J., Zalunardo N., Identification of Extracellular Arsenical Metabolites in the Growth Medium of the Microorganisms *Apiotrichum humicola* and *Scopulariopsis brevicaulis*, *Appl. Organomet. Chem.*, **1994**, *8*, p. 303-311.
- [39] Molénat N., Étude des biotransformations de différentes formes arséniques en traces et ultra-traces par certaines souches pures de micro-organismes, thèse de doctorat, Université de Pau et des Pays de l'Adour, **1999**.
- [40] McBride B.C., Wolfe R.S., Biosynthesis of Dimethylarsine by Methanobacterium, *Biochemistry*, **1971**, *10* (23), p. 4312-4317.
- [41] Wong P.T.S., Chau Y.K., Luxon L., Bengert G.A., Methylation of Arsenic in the Aquatic Environment., *Trace Subst. Environ. Health*, **1977**, *11*, p. 100-106.
- [42] Shariatpanahi M., Anderson A.C., Abdelghani A.A., Uptake and distribution of sodium arsenate by bacterial cells, *Trace Subst. Environ. Health.*, **1982**, *16*, p. 170-173.
- [43] Honschopp S., Brunken N., Nehr Korn A., Breuning H.J., Isolation and characterization of a new arsenic methylating bacterium from soil, *Microbiol. Res.*, **1996**, *151*, p. 37-41.
- [44] Baker M.D., Inniss W.E., Mayfield C.I., Wong P.T.S., Chau Y.K., Effect of pH on the methylation of mercury and arsenic by sediment microorganisms, *Environmental Technology Letters*, **1983**, *4*, p. 89-100.