



Approches analytiques pour l'évaluation de la biodisponibilité des métaux dans les milieux aquatiques

Rapport Technique

Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable
Direction de l'Eau
20, avenue de Ségur – 75302 PARIS 07 SP

Convention DE n° CV03000081 – Opération n° 2

Philippe MONBET – Marina COQUERY

Unité « Chimie Analytique et Environnementale »

Direction des Risques Chroniques

19 DECEMBRE 2003

Approches analytiques pour l'évaluation de la biodisponibilité des métaux dans les milieux aquatiques

Rapport Technique

Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable
Direction de l'Eau
20, avenue de Ségur – 75302 PARIS 07 SP

Convention DE n° CV03000081 – Opération n° 2

19 DECEMBRE 2003

PERSONNES AYANT PARTICIPE A L'ETUDE
JP BLANQUET - L. MEUNIER - A. MORIN

Ce document comporte 87 pages (hors couverture)

	Rédaction	Vérification	Approbation
NOM	P. MONBET	M. COQUERY	A. MORIN
Qualité	Ingénieur à l'Unité Chimie Analytique et Environnementale	Ingénieur à l'Unité Chimie Analytique et Environnementale	Responsable de l'Unité Chimie Analytique et Environnementale
Visa			

TABLE DES MATIERES

RESUME	6
INTRODUCTION	7
PARTIE I - REVUE DES TECHNIQUES ANALYTIQUES DE SPECIATION.....	8
I. 1 CARACTERISTIQUES ET PROPRIETES DES METAUX : EXEMPLE DU CUIVRE	9
I. 1.1 Propriétés et utilisations	9
I. 1.2 Origine, distribution et devenir dans l'environnement aquatique.....	10
I. 1.3 Paramètres influant sur la mobilité des métaux dans l'eau	11
I. 1.4 Niveaux de concentrations dans l'environnement aquatique.....	12
I. 1.5 Effets toxiques sur les organismes vivants	12
I. 2 METAL TOTAL, DISSOUS ET PARTICULAIRE : DEFINITIONS ET METHODES DE PRELEVEMENT	13
I. 2.1 Définitions.....	13
I. 2.1 Les techniques d'échantillonnage de la matière en suspension (MES).....	14
I. 2.2 Les techniques de séparation de l'eau interstitielle du sédiment	15
I. 2.2.1 Méthodes in situ	16
I. 2.2.2 Méthodes indirectes (Ex-situ).....	18
I. 3 TECHNIQUE DE SPECIATION DES METAUX DANS LA PHASE DISSOUE.....	19
I. 3.1 Approche électrochimique.....	20
I. 3.1.1 Les méthodes potentiométriques	20
I. 3.1.2 Les méthodes voltamétriques	21
I. 3.2 Approche non électrochimique pour la spéciation des métaux.....	30
I. 3.2.1 Séparation / spéciation par taille.....	30
I. 3.2.2 Les résines échangeuses d'ions	32
I. 3.2.3 Les résines chélatantes.....	32
I. 3.2.4 Méthode de compétition de ligand.....	34
I. 3.2.5 Séparation via adsorbants hydrophobes (C18/XAD).....	35
I. 3.3 Les modèles de spéciation.....	35
I. 3.4 Les principaux schémas de spéciation	38
I. 3.4.1 Schéma de spéciation de Batley et Florence (1976).....	39
I. 3.4.2 Schéma de spéciation de Figura et McDuffie (1980).....	40
I. 3.4.3 Schéma de spéciation de Florence (1986).....	41
I. 3.5 DGT (Diffusive Gradients in Thin film) ; spéciation in situ.....	42
I. 3.5.1 Principe.....	42
I. 3.5.2 Descriptif des dispositifs	43
I. 3.5.3 Fraction chimique mesurée et exemples d'applications.....	44
I. 4 TECHNIQUE DE SPECIATION DES METAUX DANS LA PHASE PARTICULAIRE	45
I. 4.1 Introduction.....	45
I. 4.2 Mobilité des métaux dans la phase particulaire ; paramètres influant.....	45
I. 4.3 Les différents types d'agents extractants pour la phase particulaire	47
I. 4.3.1 Exemples de schéma d'extraction.....	48
I. 4.3.2 Méthode des AVS / SEM (sédiment uniquement).....	50

I. 5	SYNTHESE.....	52
I. 5.1	<i>Spéciation des métaux dans la phase dissoute</i>	52
I. 5.2	<i>Spéciation des métaux dans la phase particulaire</i>	54
I. 6	CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	55
PARTIE II - MESURES DE SPECIATION DANS LES EAUX DES MESOCOSMES DE L'INERIS.....		56
II. 1	CONTEXTE.....	57
II. 2	MATERIELS ET METHODES.....	57
II. 2.1	<i>Présentation des mésocosmes</i>	57
II. 2.2	<i>DGT – Diffusive Gradient in Thin Film</i>	57
II. 2.2.1	Protocole d'expérimentation dans les mésocosmes	58
II. 2.2.2	Protocole d'expérimentation DGT en laboratoire.....	59
II. 2.2.3	Méthodes de mesure pour la méthode DGT	60
II. 2.2.4	Calcul de la concentration en cuivre labile par DGT	61
II. 2.3	<i>ASV – Anodic Stripping Voltametry</i>	62
II. 2.3.1	Prélèvement.....	62
II. 2.3.2	Préparation des échantillons	63
II. 2.3.3	Equipement et mode opératoire.....	63
II. 2.4	<i>ISE – Ionic Specific Electrode</i>	64
II. 2.4.1	Prélèvement.....	64
II. 2.4.2	Préparation des échantillons	64
II. 2.4.3	Equipement et mode opératoire.....	64
II. 3	RESULTATS.....	65
II. 3.1	<i>DGT – Diffusive Gradient in Thin Film</i>	65
II. 3.1.1	Expérience en laboratoire n°1.....	65
II. 3.1.2	Expérience en laboratoire n°2.....	65
II. 3.1.3	Expérience en laboratoire N°3 et 4.....	66
II. 3.1.4	Expérimentation dans les mésocosmes.....	69
II. 3.2	<i>ASV – Anodic Stripping Voltametry</i>	72
II. 3.3	<i>ISE – Ionic Specific Electrode</i>	73
II. 4	SYNTHESE DES RESULTATS	74
II. 5	CONCLUSIONS	76
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....		77
ANNEXE.....		87

LISTES DES FIGURES

PARTIE I. REVUE DES TECHNIQUES ANALYTIQUES DE SPECIATION

Figure I. 1 : Schéma de spéciation du cuivre en milieu aquatique (modifié d'après Buffle, 1988).....	11
Figure I. 2 : Spectre des tailles de particules en milieu aquatique et concept des différentes fractions	13
Figure I. 3 : Représentation schématique d'un dialyseur type « peeper ».....	16
Figure I. 4 : Exemple de système de prélèvement d'eau interstitielle par aspiration in situ.....	17
Figure I. 5 : Tube à centrifuger filtrant.....	18
Figure I. 6 : Schéma d'une presse pour la récupération de l'eau interstitielle (Squeezer)	18
Figure I. 7 : Spectre des tailles de « particules » en milieu aquatique dissous et méthodes de séparation	30
Figure I. 8 : Schéma de spéciation des métaux trace de Batley et Florence (1976)	39
Figure I. 9 : Schéma de spéciation de Figura et McDuffie (1980)	40
Figure I. 10 : Schéma de spéciation de Florence (1986).....	41
Figure I. 11 : Représentation schématique de la concentration en ion métallique libre au contact d'un dispositif DGT dans une solution de concentration C_0	42
Figure I. 12 : Dispositif expérimental utilisé pour la technique DGT dans l'eau.....	43
Figure I. 13 : Dispositif expérimental utilisé pour la technique DGT dans le sédiment.....	43
Figure I. 14 : Séquence d'oxydation de la matière organique (d'après Stumm et Morgan 1981).....	46

PARTIE II. MESURES DE SPECIATION DANS LES EAUX DES MESOCOSMES DE L'INERIS

Figure II. 1 : Schéma d'expérimentation et photographies des DGT dans les mésocosmes.	58
Figure II. 2 : Cinétique de DGT en milieu : Eau Milli-Q + $[Cu^{2+}] \approx 20 \mu g L^{-1}$ + $[NaNO_3] = 0,01 M$ sans agitation et DGT « open gel » (0,8 mm)	66
Figure II. 3 : Cinétique de DGT en milieu : Eau Milli-Q + $[Me^{2+}] \approx 8-12 \mu g L^{-1}$ + $[NaNO_3] = 0,01 M$ sans agitation et DGT « restricted gel » (0,8 mm).....	67
Figure II. 4 : Variations des concentrations en cuivre labile déterminées par différent DGT dans les eaux des mésocosmes (DGT1/2: 0,8 mm / restricted gel; DGT3: 1,6 mm / restricted gel ; DGT4 : 0,8 mm / open gel)	71
Figure II. 5 : Variations des concentrations en cuivre libre en fonction de la concentration en cuivre total dissous.....	73
Figure II. 6 : (a) Concentration en cuivre libre estimée par ASV et ISE dans les différents canaux des mésocosmes, (b) concentration en cuivre total dissous déterminé parallèlement par absorption atomique	74
Figure II. 7 : Concentration en cuivre labile estimée par DGT et ASV dans les différents canaux des mésocosmes.....	75

LISTE DES TABLEAUX

PARTIE I. REVUE DES TECHNIQUES ANALYTIQUES DE SPECIATION

Tableau I. 1 : Principaux constituants du cuivre.....	9
Tableau I. 2 : Les différentes techniques pour l'aspiration in situ de l'eau interstitielle.....	17
Tableau I. 3 : Les différentes techniques pour l'aspiration in situ de l'eau interstitielle.....	19
Tableau I. 4 : Caractéristiques des méthodes électrochimiques à impulsion.....	23
Tableau I. 5 : Coefficient de diffusion pour différents ions métalliques (25°C, dilution infinie) et pour des ligands présents dans les eaux naturelles.....	27
Tableau I. 6 : Effets des principaux facteurs qui influencent le signal voltamétrique dans les échantillons naturels par rapport à un système réversible, labile et homogène ^a	29
Tableau I. 7 : Tailles de composés chimiques du cuivre (Florence, 1982 et 1986).....	31
Tableau I. 8 : Constantes de complexation du cuivre en solution avec des ligands organiques.....	37
Tableau I. 9 : Agents extractants et fractions correspondantes.....	47
Tableau I. 10 : Schéma d'extraction de Tessier et al. (1979).....	49
Tableau I. 11 : Schéma d'extraction du BCR.....	49

PARTIE II. MESURES DE SPECIATION DANS LES EAUX DES MESOCOSMES DE L'INERIS

Tableau II. 1 : Temps de déploiement (en s) des dispositifs DGT.....	59
Tableau II. 2 : Descriptions des expériences de DGT en laboratoire.....	60
Tableau II. 3 : Principales caractéristiques de la méthode ICP-MS.....	61
Tableau II. 4 : Principales caractéristiques des dispositifs DGT.....	62
Tableau II. 5 : Récapitulatif des prélèvements destinés à la mesure du cuivre par ASV.....	62
Tableau II. 6 : Récapitulatif des prélèvements destinés à la mesure du cuivre par ISE.....	64
Tableau II. 7 : Résultat du test de reproductibilité (Exp. n°1).....	65
Tableau II. 8 : Résultats des expériences en aquariums (Exp. n°2).....	65
Tableau II. 9 : Résultats de la première cinétique (Exp. n°3).....	66
Tableau II. 10 : Résultats de la seconde cinétique (Exp. n°4).....	67
Tableau II. 11 : Paramètre des régressions linéaires de l'accumulation des métaux dans les DGT.....	68
Tableau II. 12 : Résultats des expérimentations DGT dans les mésocosmes.....	69
Tableau II. 13 : Résultats des mesures réalisées par ASV dans les mésocosmes.....	72
Tableau II. 14 : Concentrations en cuivre libre obtenues par ISE*.....	73

RESUME

Bien que généralement présents à de faibles concentrations dans les écosystèmes aquatiques, les métaux ne sont pas biodégradables et engendrent des pollutions persistantes. Dans les eaux naturelles, ils peuvent (à différents états de valence) être présents tant dans la phase dissoute que particulaire. Ces différentes formes solubles et particulaires peuvent évoluer en fonction des conditions physico-chimiques du milieu. Elles conditionnent en grande partie la toxicité du métal vis à vis des organismes vivants. Seules certaines formes du métal (ions libres hydratés et formes inorganiques principalement) sont assimilables par les organismes. Ces formes sont alors considérées comme « biodisponibles ».

La première partie de ce rapport présente une revue des techniques analytiques permettant d'accéder à la mesure de la spéciation des métaux dans l'eau et le sédiment. Il existe un nombre important de techniques dédiées à l'étude de la spéciation des métaux aussi bien dans la phase dissoute que dans la phase particulaire. A l'exception des électrodes ioniques spécifiques qui mesurent exclusivement la concentration en ions libres, les méthodes de spéciation ne permettent pas de quantifier des formes chimiques métalliques précises. Les fractions de métal quantifiées comprennent toujours différentes formes chimiques regroupées sous une dénomination spécifique : labile, échangeable ou résiduelle par exemple. Les différentes formes chimiques présentes dans une fraction de même dénomination peuvent par ailleurs sensiblement varier selon la méthode utilisée. Il est donc très difficile de comparer des résultats de fractions dites similaires (par exemple labiles) mais déterminées par des méthodes différentes. Certaines méthodes, comme la récente technique du « Diffusive Gradient in Thin film – DGT », apparaissent plus attractives que d'autres en raison de leur efficacité ou de leur simplicité d'utilisation.

La deuxième partie du rapport est consacrée à l'application des mesures de spéciation dans le dispositif expérimental des mésocosmes de l'INERIS. L'estimation de la concentration en cuivre libre ou labile a été réalisée à l'aide de plusieurs techniques (ASV, ISE et DGT). Les matériels et méthodes, ainsi que les résultats obtenus sont présentés. Des expériences en laboratoire ont aussi été réalisées en particulier pour valider la technique DGT.

INTRODUCTION

Les éléments métalliques sont naturellement présents dans le milieu naturel. Cependant, ils ont tendance à contaminer progressivement l'environnement sous la pression des activités anthropiques (minières, industrielles et agricoles). L'érosion et le lessivage des sols ainsi que les rejets ponctuels et diffus affectent en particulier les milieux aquatiques. Bien que généralement présents à de faibles concentrations dans les écosystèmes aquatiques, les métaux ne sont pas biodégradables et engendrent des pollutions persistantes. Ils sont largement impliqués dans les cycles biogéochimiques sous différentes formes chimiques. Dans les eaux naturelles, ils peuvent (à différents états de valence) être présents tant dans la phase dissoute que particulaire. La phase soluble comprend des ions hydratés, des complexes inorganiques et organiques ainsi que des espèces associées à la phase colloïdale. Dans la phase particulaire, les métaux sont également présents sous diverses associations chimiques, depuis l'adsorption faible jusqu'à leur liaison au sein même de la matrice minérale. Ces différentes formes solubles et particulaires peuvent évoluer en fonction des conditions physico-chimiques du milieu (température, oxygène, pH, dureté, concentration en matière organique, etc.). Elles conditionnent en grande partie la toxicité du métal vis à vis des organismes vivants. Seules certaines formes du métal (ions libres hydratés et formes inorganiques principalement) sont assimilables par les organismes. Ces formes sont alors considérées comme « biodisponibles ». Certaines réactions chimiques (complexation, adsorption, précipitation) peuvent induire la modification de ces formes dites « biodisponibles ».

Le cuivre est un élément métallique essentiel pour les organismes vivants. Cependant au dessus d'une certaine concentration, il devient toxique (Zevenhuizen et al., 1979 ; Flemming et Trevors, 1989). Il est largement utilisé dans le secteur de l'industrie et de l'agriculture. Il représente donc, via ses rejets, une menace potentielle pour les milieux aquatiques. Afin de contribuer à l'évaluation du risque environnemental, l'importance des études portant sur la spéciation du cuivre (étude des différentes formes chimiques) ainsi que sur sa mobilité et son transfert dans les milieux aquatiques est aujourd'hui reconnue. Dans ce contexte, l'étape de détermination analytique permettant d'accéder (plus ou moins directement) à la spéciation du métal est prépondérante. Différentes méthodes d'analyse sont utilisées pour accéder à la spéciation des métaux et en particulier du cuivre.

Le présent rapport est divisé en deux grandes parties. La première partie est consacrée aux méthodes chimiques de spéciation des métaux. Cette partie comprend un rappel des connaissances sur les caractéristiques générales des métaux en prenant l'exemple du cuivre (origine, utilisation, toxicité, biodisponibilité et spéciation dans les milieux aquatiques). Le chapitre suivant est consacré à un bref rappel des principaux paramètres physico-chimiques pouvant induire une modification significative de la spéciation des métaux dans les eaux naturelles. Ensuite une revue des techniques analytiques permettant d'accéder à la mesure de la spéciation des métaux dans l'eau et le sédiment est présentée, suivie d'une synthèse, des conclusions et des perspectives. La deuxième partie du rapport est consacrée à l'application des mesures de spéciation dans le dispositif expérimental des mésocosmes de l'INERIS. Différentes méthodes de spéciation ont été testées. Les matériels et méthodes, ainsi que les résultats obtenus sont présentés.

Partie I - Revue des techniques analytiques de spéciation

I. 1 CARACTERISTIQUES ET PROPRIETES DES METAUX : EXEMPLE DU CUIVRE

I. 1.1 Propriétés et utilisations

Constituant naturel de l'écorce terrestre, le cuivre (Cu, CAS 7440-50-8), dont les principaux composés sont présentés dans le tableau I.1, a une masse atomique de 63,55 g. C'est un métal ductile et malléable, de couleur brun rougeâtre. Il appartient au groupe IB de la classification périodique. Il est généralement présent dans l'environnement au degré d'oxydation (+2) mais peut également exister au degré (0), c'est-à-dire à l'état métallique, ainsi qu'aux degrés (+1) et (+3). Le cuivre (II) se complexifie, grâce à l'oxygène, à des ligands inorganiques comme H_2O , OH^- , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} . Sa complexation avec les ligands organiques est facilitée grâce à la présence de groupes phénoliques ou carboxyliques.

Tableau I.1 : Principaux constituants du cuivre

Substance chimique		N° CAS	N° EINECS	Forme physique
CUIVRE ELEMENTAIRE	CUIVRE Cu	7440-50-8	231-159-6	solide
	ACETATE DE CUIVRE Cu (CH ₃ COO) ₂	142-71-2	205-553-3	solide cristallisé
COMPOSES DU CUIVRE	CHLORURE CUIVREUX CuCl	7758-89-6	231-842-9	solide cristallisé
	CHLORURE CUIVRIQUE CuCl ₂	7447-39-4	231-210-2	solide cristallisé
	HYDROXYDE DE CUIVRE Cu(OH) ₂	20427-59-2	243-815-9	gel ou solide cristallisé
	OXYDE CUIVREUX Cu ₂ O	1317-39-1	215-270-7	solide cristallisé ou poudre amorphe
	OXYDE CUIVRIQUE CuO	1317-38-0	215-269-1	poudre ou grains amorphes
	SULFATE DE CUIVRE CuSO ₄	7778-98-7	231-847-6	solide cristallisé ou poudre amorphe

A l'état naturel, le cuivre se présente à l'état pur et principalement dans des minerais de chalcopryrite (CuFeS₂), de chalcosine (Cu₂S) ainsi que sous forme de cuprite (Cu₂O). Après extraction, il est généralement purifié par raffinage électrolytique. La production annuelle mondiale de cuivre a atteint 13,4 MT en 2002.

De par ses propriétés (conductivité électrique et thermique, point de fusion élevé, résistance à la corrosion) le cuivre et ses alliages (e.g. bronze, laiton) sont largement utilisés dans l'industrie électrique.

Le cuivre est également utilisé :

- comme activateur pour la flottation des minerais sulfurés,
- comme mordant pour les colorants des tissus,
- dans la fabrication des colorants azoïques,
- dans le raffinage du pétrole,
- dans les réseaux de distribution de l'eau,
- en galvanoplastie.

Ce métal est aussi connu pour son effet sur les végétaux sous forme de sulfate de cuivre (CuSO_4) comme fongicide et algicide, sous forme de "bouillie bordelaise" contre le mildiou et sous forme de chaux contre le phylloxéra. Il est également présent dans environ 2000 produits phytosanitaires. Paradoxalement, ce métal est aussi utilisé en complément des engrais sous forme de $\text{CuSO}_4(5\text{H}_2\text{O})$ ou Cu_2O . Il sert également à la préparation d'additifs pour l'alimentation des bovins et porcins car il favorise la croissance. Il entre aussi dans la composition de substances permettant de lutter contre les maladies du bétail et de la volaille.

I. 1.2 Origine, distribution et devenir dans l'environnement aquatique

A travers les dépôts atmosphériques (secs ou humides), les applications en agriculture, les déchets solides ou encore les boues provenant des stations d'épuration, le cuivre arrive en majeure partie dans le sol. Dans ce compartiment, la plus grande partie du cuivre est fortement adsorbée et demeure dans les centimètres supérieurs du sol (Adriano, 1986). La nature du sol (pH, composition chimique et granulométrie) conditionne de façon importante son transfert vers le milieu aquatique. Le lessivage et l'érosion des sols, mais aussi les rejets ponctuels et diffus sont à l'origine de la présence du cuivre dans l'eau.

Les eaux naturelles représentent un milieu chimique complexe. Elles contiennent un mélange de cations (e.g. Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+), de ligands inorganiques (e.g. OH^- , Cl^- , HCO_3^{2-} , PO_4^{3-}) et de ligands organiques (e.g. urée, acides aminés, composés humiques et fulviques). Elles contiennent également des particules en suspension issues des sols et des sédiments ainsi que des particules d'origine biologique (phytoplancton). Ces particules sont caractérisées par des surfaces d'échange variables tant en nature qu'en intensité. Dans le milieu aquatique, le cuivre peut être présent sous différentes formes (Stumm et Morgan, 1996) :

- ions libres hydratés,
- complexé par des ligands inorganiques,
- complexé par des ligands organiques,
- adsorbé sur des colloïdes inorganiques et organiques,
- précipité,
- adsorbé sur des particules organiques en suspension,
- inclus dans la matrice de particules minérales.

Le comportement des différentes formes du cuivre va dépendre des conditions physico-chimiques observées dans le milieu. Les processus chimiques susceptibles de se produire avec le cuivre en milieu aqueux sont présentés sur la figure I. 1.

Le devenir de ce métal dans le milieu aquatique est régi par trois grands types de réactions chimiques : complexation, précipitation et adsorption/désorption.

Selon la forme chimique sous laquelle il se trouve, le cuivre peut être assimilé par les organismes vivants. Il peut alors en résulter un phénomène de bioaccumulation. La valeur du facteur de bioaccumulation varie beaucoup d'un organisme à l'autre.

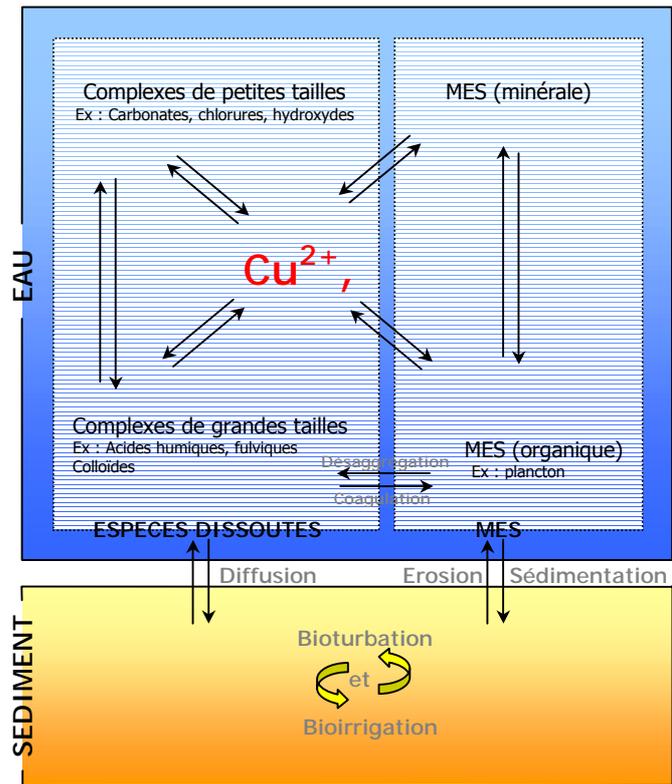


Figure I. 1 : Schéma de spéciation du cuivre en milieu aquatique (modifié d'après Buffle, 1988)

I. 1.3 Paramètres influant sur la mobilité des métaux dans l'eau

La mobilité des métaux se traduit généralement par le passage de la forme colloïdale et particulaire à la forme dissoute (ionique ou adsorbée) et inversement. Le pH, la salinité, la dureté et la teneur en carbone organique sont des paramètres physico-chimiques qui influencent ce type d'échanges dans l'eau (Förstner et Whitmann, 1979 ; Burgess et Scott, 1992).

Le pH dépend principalement de l'activité biologique et de la capacité tampon du système. Lors d'une diminution de pH dans l'eau, la concentration des métaux sous forme ionique augmente en raison de la compétition avec un nombre croissant d'ions hydrogène vis à vis des sites d'adsorption. La biodisponibilité des métaux augmente généralement dans le milieu lorsque le pH diminue.

L'augmentation de la salinité entraîne généralement la remobilisation des métaux associés aux particules en suspension et à la surface du sédiment en raison des phénomènes de compétition liés à la présence des ions magnésium et calcium (Förstner et Whitmann, 1979 ; Lau et Chu, 1999 ; Rasmussen et Andersen, 1999). Les métaux libérés (mobiles) vont alors généralement former des chloro-complexes. Dans la phase dissoute, cette réaction de complexation avec les ions chlorures aura tendance à diminuer la biodisponibilité du métal (Förstner et Whitmann, 1979 ; Ettajani, 1994).

La matière organique joue un rôle très important vis à vis de la mobilité et de la biodisponibilité des métaux. Les métaux ont une forte affinité pour la matière organique. La présence de cette dernière (dissoute ou particulaire), généralement exprimée en concentration de carbone organique (dissous ou

particulière), engendre des réactions de complexation. Les concentrations en métaux sous leurs formes les plus toxiques (cationiques ou inorganiques) diminuent entraînant ainsi une diminution de leur biodisponibilité.

I. 1.4 Niveaux de concentrations dans l'environnement aquatique

Dans les eaux continentales, les concentrations de cuivre dissous sont généralement comprises entre 0,2 et 30 $\mu\text{g L}^{-1}$. Les concentrations moyennes sont comprises entre 3 et 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Flemming et Trevors, 1989). La concentration moyenne mondiale dans les rivières a été estimée à 1,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Martin et Windom, 1990). Des concentrations nettement plus faibles et de l'ordre de 0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ en moyenne sont observées en milieu océanique (Chester, 1990 et références incluses). Dans les sédiments d'eau douce, les concentrations varient de 16 à 5000 mg kg^{-1} . Dans les sédiments marins, la teneur en cuivre varie de 2 à 740 mg kg^{-1} (Chester et Ashton, 1976).

I. 1.5 Effets toxiques sur les organismes vivants

Le cuivre présente, comme certains métaux (Fe, Al, Zn), la particularité d'être à la fois essentiel et toxique au-dessus d'une certaine concentration. Son caractère essentiel est lié à la participation de ce métal dans au moins 12 protéines importantes. Il joue en particulier un rôle important dans l'utilisation du fer pour la formation de l'hémoglobine. A titre d'exemple, la plupart des crustacés et des mollusques possèdent une protéine, l'hémocyanine, qui contient du cuivre et représente leur principal transporteur d'oxygène. Dans le cas des végétaux, le cuivre entre dans la composition de plusieurs enzymes qui interviennent dans le métabolisme des sucres, de l'azote et de la paroi cellulaire.

Les effets néfastes du cuivre sur les organismes vivants se traduisent généralement par des modifications des paramètres biochimiques et des fonctions physiologiques. Des effets toxiques peuvent être observés à partir de concentrations ne dépassant pas 1 à 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Flemming et Trevors, 1989). La concentration pour laquelle aucun effet n'est observé (PNEC – Predicted No Effect Concentration) a été récemment évaluée à 1,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ (GRNC, 2002). Les travaux réalisés sur le sujet montrent que dans les milieux aquatiques, le phytoplancton ainsi que les invertébrés et les végétaux peuvent faire preuve d'une certaine tolérance au cuivre. Il faut alors prendre en considération les importantes variations de sensibilités spécifiques à chaque espèce, sachant que la tolérance au cuivre reste principalement liée à sa biodisponibilité dans le milieu.

I. 2 METAL TOTAL, DISSOUS ET PARTICULAIRE : DEFINITIONS ET METHODES DE PRELEVEMENT

I. 1.1 Définitions

Dans les milieux aquatiques, les métaux peuvent être présents sous forme dissoute ou particulaire. La limite entre la phase dissoute et particulaire a été arbitrairement fixée à 0,45 µm. Lorsque la mesure d'un élément métallique est réalisée :

- sur un échantillon d'eau brut (sans filtration), le métal mesuré représente le « métal total » (métal particulaire + métal dissous),
- sur un échantillon d'eau filtré (0,45 µm), le métal mesuré représente le « métal dissous ».

La fraction « métal particulaire » est obtenue à partir de mesures du métal sur les particules isolées par filtration (0,45 µm) ou par centrifugation (cf. paragraphe ci dessous).

La frontière entre la phase dite « dissoute » et la phase « particulaire » est bien plus complexe que la limite arbitrairement fixée à 0,45 µm. La figure I. 2 présente un récapitulatif du concept dissous/particulaire ainsi que les tailles des différentes particules présentes dans le milieu aquatique.

La mesure du métal sous l'appellation « dissous » peut en particulier inclure une fraction particulaire de type colloïdale avec laquelle les métaux ont beaucoup d'affinité. Dans l'optique d'évaluer l'incidence des métaux dans le milieu aquatique, il est aujourd'hui reconnu que l'étude du métal total n'est pas recommandée.

Malheureusement, la surveillance des métaux dans le milieu aquatique est généralement réalisée sur des échantillons d'eau ou de sédiment bruts. Cela peut alors conduire à des résultats qui ne sont pas forcément en accord avec les attentes des réseaux de surveillance en terme d'évaluation des risques, sachant que :

- les métaux ont une forte affinité pour les particules et en particulier pour les particules fines,
- les métaux sont généralement biodisponibles dans la fraction dissoute et sous certaines formes chimiques seulement.

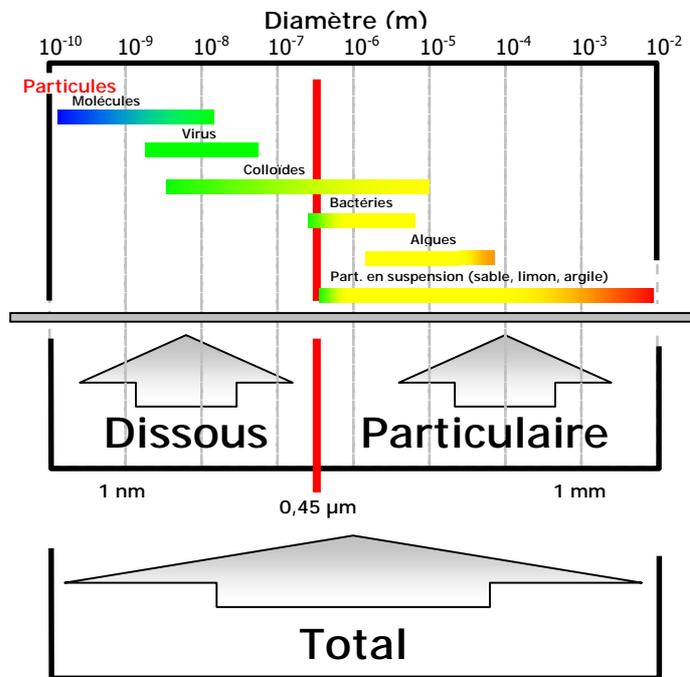


Figure I. 2 : Spectre des tailles de particules en milieu aquatique et concept des différentes fractions

Dans des échantillons bruts, la concentration en métal total peut ainsi être élevée alors que pour autant la quantité de métal biodisponible est faible. L'étude de la spéciation des métaux dans la phase dissoute apparaît plus adaptée dans le cadre d'une évaluation des risques pour l'environnement. Toutefois, la phase particulaire joue un rôle très important dans le cycle biogéochimique des métaux des systèmes aquatiques. En effet, à travers les matières en suspension et le sédiment, la phase particulaire est susceptible de transporter, de stocker voire recycler de façon significative les métaux. En fonction des conditions environnementales, les métaux peuvent être facilement transférés de la phase particulaire vers la phase dissoute. C'est pourquoi l'étude des métaux en phase particulaire est également utile et nécessaire.

Dans ce contexte, l'étape de séparation de la phase particulaire de la phase liquide est essentielle. Cette étape conditionne la qualité du processus analytique. Dans le cas des matières en suspension, la principale difficulté consiste à récupérer suffisamment de matière pour réaliser les protocoles de spéciation. Les principales méthodes utilisées sont la filtration et la centrifugation. Pour le sédiment il s'agit plutôt de ne pas perturber les équilibres chimiques établis entre les particules sédimentaires et l'eau interstitielle. Pour cela différentes méthodes existent à ce jour : les méthodes in situ (dialyseur, aspiration directe) et les méthodes indirectes (centrifugation, pressage). Dans les deux cas, une fois la phase particulaire isolée, les traitements chimiques destinés à l'étude de la spéciation des métaux sont les mêmes pour des particules provenant du sédiment ou préalablement en suspension dans la colonne d'eau. La détermination des différentes formes chimiques des métaux dans l'eau interstitielle peut être réalisée par les méthodes de spéciation décrites dans le chapitre I. 3.

I. 2.1 Les techniques d'échantillonnage de la matière en suspension (MES)

Les principales techniques d'échantillonnage des MES sont la filtration et la centrifugation. Parmi les techniques de filtration, différentes variantes existent. La procédure classique, communément nommée filtration 'in line', consiste à collecter et concentrer la matière en suspension sur un ou deux filtres pré-pesés de 0,45 µm. Ceci peut être réalisé :

- **sous vide.** Une dépression est créée sous le filtre au travers duquel l'eau est aspirée et ainsi séparée des MES. Ce type de filtration est à proscrire pour tout échantillonnage en vue de l'analyse de substances volatiles ou substances sensibles aux modifications des teneurs en gaz dans l'eau. Par ailleurs, la perméabilité du filtre diminue généralement au cours de la filtration car les pores sont progressivement colmatés par les MES retenues.
- **sous pression.** L'échantillon est poussé à travers le filtre par l'introduction d'un gaz. Cette méthode permet de réduire les échanges gazeux. La pression est en général générée par une pompe reliée au support de filtration ou par une seringue. Une diminution de la perméabilité du filtre est généralement observée.
- **par gravité.** L'échantillon traverse le filtre par gravité. L'opération peut s'avérer longue et en général la perméabilité diminue au cours du temps.

Deux filtres sont souvent utilisés simultanément : le filtre supérieur servant à collecter l'échantillon et le filtre inférieur servant de blanc analytique. Des filtres de type inorganique (polycarbonate, acétate de cellulose) sont généralement recommandés pour l'analyse des métaux traces. Cette procédure est délicate (problème de contamination) et relativement coûteuse tant sur le plan financier (coût des filtres), que sur le plan du temps (nettoyage du matériel de filtration et des filtres, tarage et mise en place des filtres, temps de filtration etc.). Elle n'est donc généralement utilisée que pour des études pour lesquelles le nombre d'échantillons est relativement limité, ou dans le cadre d'études spécifiques sur le comportement et le devenir des métaux en milieu aquatique.

La principale alternative à cette méthode d'échantillonnage est la centrifugation. Cette technique permet de collecter une quantité de matière suffisante (> 100 mg) pour la quantification des métaux à partir de très larges volumes d'eau (jusqu'à plusieurs centaines de litres). Outre la centrifugation classique, les différentes techniques de centrifugation les plus couramment utilisées sont :

- la centrifugation en continu (continuous-flow centrifugation),
- la centrifugation après sédimentation (settling / centrifugation).

Les travaux de Horowitz (1986) ont montré que l'échantillonnage de la matière en suspension destinée à l'analyse des métaux pouvait être réalisé à l'aide des techniques de centrifugation. Ces techniques fournissent des résultats similaires aux techniques de filtrations et l'auteur indique que, pour des programmes de large envergure, la technique de centrifugation offre une alternative plus avantageuse que la filtration.

A ce jour, le seul critère largement appliqué en ce qui concerne l'échantillonnage des MES est la séparation arbitraire entre le métal particulaire et le dissous (0,45 µm). Aucune méthode normalisée (ou protocole « standard ») n'est aujourd'hui rédigé concernant l'échantillonnage des matières en suspension pour l'analyse des métaux dans cette fraction.

I. 2.2 Les techniques de séparation de l'eau interstitielle du sédiment

Les principales techniques d'extraction de l'eau interstitielle à partir du sédiment sont :

- la dialyse,
- l'aspiration,
- la centrifugation,
- le pressage (squeezing).

Les techniques de dialyse et d'aspiration sont généralement utilisées in situ. Elles présentent l'avantage d'éviter les altérations de l'échantillon dues aux variations de température, de pression et de concentration en oxygène. Toutefois, elles ne récupèrent que des volumes limités en raison notamment du temps nécessaire pour l'équilibrage dans le cas des dialyseurs. La méthode par aspiration requiert également un temps important.

Les méthodes indirectes (centrifugation et pressage) nécessitent préalablement un prélèvement de sédiment. Elles ont un effet perturbateur plus important sur l'échantillon en particulier sur le plan de

l'oxydation des échantillons anoxiques, si les précautions adéquates ne sont pas prises (manipulation sous azote par exemple). Si ces précautions ne sont pas respectées, d'importantes modifications des formes chimiques sont susceptibles de se produire dans l'échantillon faussant ainsi largement l'interprétation des résultats.

I. 2.2.1 Méthodes in situ

I. 2.2.1.1 Dialyseur

Le principe des dialyseurs est basé sur la diffusion des espèces chimiques dissoutes à travers une membrane sélective qui sépare l'eau interstitielle de l'eau déionisée et désoxygénée contenue dans l'échantillonneur.

Il existe différents types de membranes (composition, nature), offrant ainsi une certaine sélectivité vis à vis des solutés. Le type de dialyseur le plus répandu est le type « peeper » (Hesslein, 1976). Il est constitué de chambres d'échantillonnage rectangulaires creusées dans un panneau de plastique. Les espèces dissoutes présentes dans l'eau diffusent à travers une membrane recouvrant entièrement ce panneau. La membrane est fixée à l'aide d'un autre panneau de dimension identique et percé d'orifices correspondant aux cavités d'échantillonnage (cf. figure I. 3).

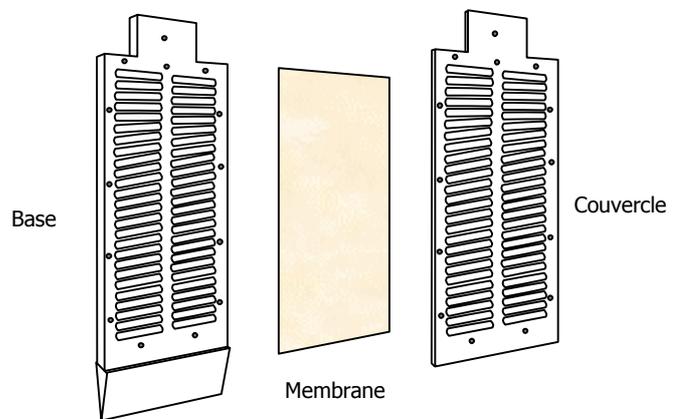


Figure I. 3 : Représentation schématique d'un dialyseur type « peeper »

Lors de la mise en place de ce type d'appareillage dans le sédiment, il est généralement conseillé de respecter les recommandations suivantes :

- Une désoxygénation préalable du dispositif à l'aide d'un gaz inerte est fortement conseillée ; le dispositif doit être ensuite protégé de l'air ambiant jusqu'à sa mise place dans le sédiment,
- Un temps d'équilibre important doit être respecté. Carignan (1984) conseille un temps de l'ordre de 15 à 20 jours,
- Après le prélèvement du dispositif de dialyse, le sous échantillonnage doit être réalisé rapidement pour éviter les changements de température et de concentration en oxygène,
- Une membrane en polysulfone est recommandée (Bufflap et Allen, 1995). Certains polymères sont en effet inappropriés en raison de la possibilité d'adsorption de composés non polaires. Les membranes en cellulose ne sont pas adéquates en raison d'une décomposition prématurée de la membrane conduisant à une sur- ou sous-estimation des concentrations dans l'eau interstitielle.

I. 2.2.1.2 Aspiration in situ

Cette technique consiste à aspirer directement l'eau interstitielle dans le sédiment à l'aide d'une pompe péristaltique ou de seringues. L'utilisation de filtres permet d'éliminer les particules du prélèvement. Le type d'échantillonneur varie selon la nature du filtre utilisé, l'emplacement du filtre sur le dispositif, le mécanisme de succion et si le dispositif prélève à une seule ou plusieurs profondeurs simultanément.

Un exemple de préleveur est présenté sur la figure I. 4.

Les différents types d'échantillonneurs sont présentés dans le tableau I. 2. Les méthodes d'aspiration récupèrent généralement des volumes d'eaux interstitielles plus faibles qu'avec les « peepers ».

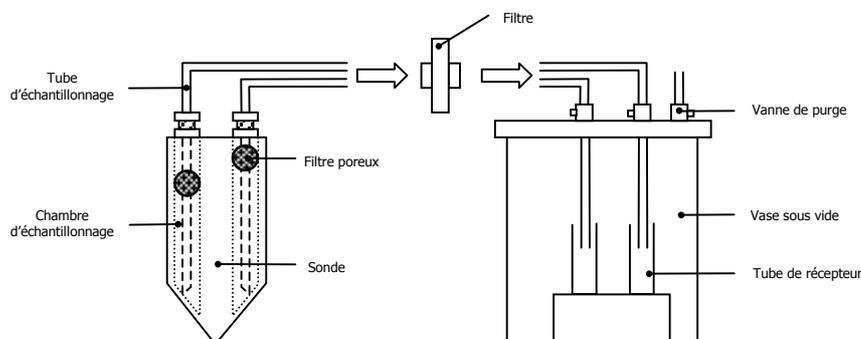


Figure I. 4 : Exemple de système de prélèvement d'eau interstitielle par aspiration in situ

Tableau I. 2 : Les différentes techniques pour l'aspiration in situ de l'eau interstitielle

Echantillonneur	Caractéristiques
A une seule profondeur	
Zimmerman et al. (1978)	Porte-filtre de céramique et pompe à vide
Goodman (1979)	Sonde de 3 mm de diamètre et filtre de 0,45 µm ; aspiration avec seringue
Howes et al. (1985)	Sonde de verre avec manchon en Téflon ; aspiration avec seringue
Rey et al. (1992)	Modifié de Zimmerman et al. (1978) ; porte-filtre en polyéthylène
A plusieurs profondeurs	
Sayles et al. (1973)	Tube d'acier inoxydable percé de 5 entrées munies de porte-filtres capillaires en Téflon ; aspiration de l'eau avec seringue
Montgomery et al. (1981)	Echantillonne 4 profondeurs simultanément dans quatres chambres indépendantes munies de porte-filtre en teflon ; aspiration par pompe (4 mL mn ⁻¹)
Brinkman et al. (1982)	Basé sur la technique de Goodman (1979) avec filtre de verre (ou papier)
Herkorn-Obst et al. (1982)	Tubes PVC munis de filtres insérés à 4 profondeurs dans un cylindre de laiton perforé ; aspiration par pompe péristaltique
Watson et Frickers (1990)	Echantillonnage à des profondeurs successives à l'aide de segments poreux reliés à des chambres sous vide
Buddensiek et al. (1990)	Possibilité d'échantillonnage répété à des profondeurs précises par pas de 1 cm
Hurthouse et al. (1993)	Similaire à Watson et Frickers (1990) mais avec des filtres disposés en spirales au travers d'un tube de polyéthylène ; aspiration par pompe manuelle
Bertolin et al. (1995)	Système en nylon équipé de plusieurs chambres (30 mL) avec des filtres de 0,45 µm ; aspiration par pompe manuelle

I. 2.2.2 Méthodes indirectes (Ex-situ)

Si les méthodes indirectes permettent généralement de récupérer un volume d'échantillon plus important que les méthodes in-situ, elles nécessitent d'extraire l'échantillon brut (eau interstitielle + sédiment) du milieu naturel. Une attention toute particulière doit alors être portée aux échantillons de sédiment anoxiques pour qu'ils ne soient pas en contact avec l'oxygène de l'air. La manipulation de ces échantillons doit être réalisée sous atmosphère inerte (boîtes à gants sous azote ou gaz rare par exemple). Les deux principales méthodes indirectes pour l'échantillonnage des eaux interstitielles sont la centrifugation et le pressage (squeezing).

I. 2.2.2.1 Centrifugation

Cette méthode consiste à centrifuger les échantillons de sédiments bruts (eau + particules) pour ensuite récupérer et filtrer le surnageant. Les principales recommandations émises par Mudroch et Azcue (1995) consistent à utiliser (pour les métaux) des tubes de centrifugation exclusivement en polycarbonate, Teflon® ou Corex®. La durée de centrifugation est généralement de l'ordre de 30 minutes, mais la vitesse et le temps nécessaires peuvent varier en fonction de la nature du sédiment.

La centrifugation doit être réalisée à la température in situ de l'échantillon afin d'éviter des artefacts liés aux variations de température. Une fois l'eau interstitielle séparée du sédiment, il est généralement conseillé de la filtrer pour l'étude des formes métalliques dissoutes. Afin d'éviter cette étape qui peut constituer une source de contamination supplémentaire, des tubes à centrifugation filtrants ont été développés (Saager et al., 1990 ; Fig. 5).

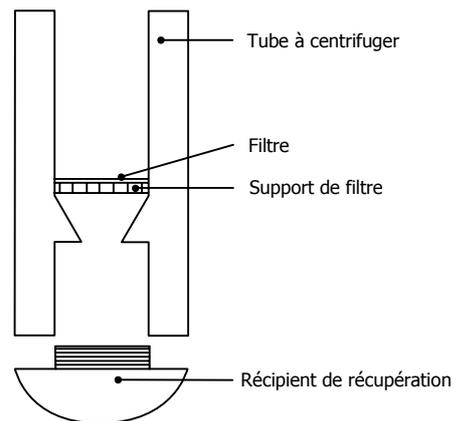


Figure I. 5 : Tube à centrifuger filtrant

I. 2.2.2.2 Pressage (Squeezing)

Cette méthode consiste à presser l'échantillon de sédiment à travers un (ou plusieurs) filtre(s) pour en extraire l'eau. La figure I. 6 présente un schéma type de presse (squeezer). Selon la technique utilisée le type de filtre peut varier (cf. figure I. 6).

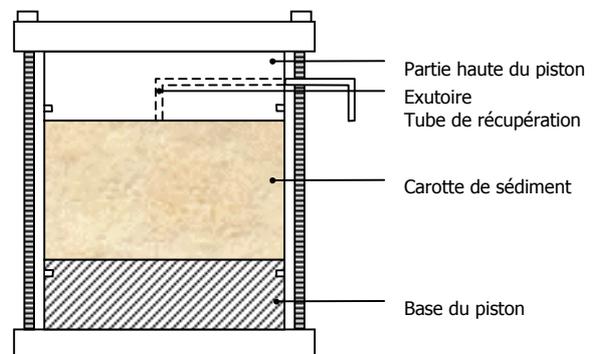


Figure I. 6 : Schéma d'une presse pour la récupération de l'eau interstitielle (Squeezer)

Tableau I. 3 : Les différentes techniques pour l'aspiration in situ de l'eau interstitielle

Méthode	Filtre	Caractéristiques
Presley et al. (1967)	Millipore 0,4 µm	Doublé en Téflon ; Pressage pneumatique (70 kg cm ⁻²)
Reeburgh (1967)	---	Pressage pneumatique sur diaphragme plastique
Kalil et Goldhaber (1973)	Papier filtre	Doublure plastique ; Pressage (3 tonnes) à température contrôlée
Sasseville et al. (1974)	Papier filtre + Millipore 0,45 µm	Tube PVC ; Pressage à l'aide d'un piston
Matisoff et al. (1980)	Millipore 0,22 µm	Nylon ; pressage pneumatique (3,4 atm) sur sur diaphragme plastique
Bender et al. (1987)	Polyester 10 µm	Pressage manuel à l'aide d'un piston (Lucite®)
De Lange (1992)	Acétate de Cellulose 0,2 µm	Pressage pneumatique sur diaphragme plastique (Derlin®)
Rosa et Davies (1993)	---	Dispositif à serres multiples ; pressage pneumatique
Petryk et Dustin (1993)	Papier filtre	Pressage pneumatique

Différents auteurs (Kriukov et Manheim, 1982 ; Bollinger et al., 1992 ; Schults, 1992) ont montré que cette technique pouvait entraîner une modification des équilibres chimiques dans l'échantillon due aux variations de pression, de température et de gradient chimique. Carr et Chapman (1995) ainsi que Carr (1998) ont montré que cette méthode n'a pas d'incidence directe sur la toxicité des échantillons. Il est malgré tout recommandé :

- d'effectuer les manipulations d'extraction à la température in situ de l'échantillon,
- d'appliquer des pressions modérées pour l'extraction de l'eau interstitielle par cette technique (Kriukov et Manheim, 1982).

I. 3 TECHNIQUES DE SPECIATION DES METAUX DANS LA PHASE DISSOUTE

L'évaluation de la biodisponibilité des métaux, et du cuivre en particulier, nécessite l'étude de sa spéciation. Ceci représente une étape critique et délicate en raison de la complexité chimique des milieux aquatiques et des faibles concentrations qui y sont généralement observées. La caractérisation des échantillons nécessite au préalable une séparation par tailles. En effet, les méthodes de spéciation utilisées pour un élément sous forme dissoute et particulaire sont différentes.

Dans le cas d'échantillons d'eau (préalablement filtrée à 0,45 µm), différentes méthodes sont mises en œuvre pour la spéciation des métaux dissous. On distingue principalement deux types d'approches : l'approche électrochimique et l'approche non électrochimique.

I. 1.1 Approche électrochimique

Les techniques électrochimiques sont des méthodes analytiques sensibles qui permettent de mesurer des concentrations de métaux comprises entre 10^{-8} et 10^{-11} M (soit entre 0,6 et 0,001 $\mu\text{g L}^{-1}$ pour le cuivre). Elles ne nécessitent généralement pas d'étape de préconcentration des échantillons. Ces méthodes sont donc largement utilisées dans le domaine de la spéciation et en particulier pour le cuivre. Parmi les techniques électrochimiques, on distingue principalement la potentiométrie et la voltamétrie.

I. 3.1.1 Les méthodes potentiométriques

Les méthodes potentiométriques utilisent un système à trois électrodes : en général une électrode de travail, une électrode de référence et une électrode auxiliaire. Au contact de la surface de l'électrode de travail, les solutés subissent des réactions d'oxydation (ou de réduction) produisant un courant. La composition de la solution est directement liée à la différence de potentiel (E) entre l'électrode de référence (qui reste constante durant les mesures) et l'électrode de travail dont le potentiel est gouverné par l'activité ionique des solutés à la surface de l'électrode. La relation entre E et l'activité des ions ($a_{M^{z+}}$) est donnée par l'équation (1) :

$$E = Q \pm S \ln a_{M^{z+}} \quad \text{Équation 1}$$

Q représente le potentiel normal (E^0) du couple redox. S représente le rapport $RT/(nF)$, où n , F , T et R se rapportent respectivement au nombre d'électrons mis en jeu dans la réaction, à la constante de Faraday, à la température absolue et à la constante des gaz parfaits. Cette équation est valable pour les électrodes métalliques et les électrodes à membranes ; les paramètres Q et S sont alors différents dans chacun des cas. Pour les électrodes métalliques, M^{z+} est impliqué dans des réactions d'oxydo-réduction à la surface de l'électrode ; pour les électrodes à membranes, M^{z+} n'est impliqué dans aucune réaction d'oxydo-réduction, mais interagit directement avec la membrane (perméable à l'ion désiré). Le paramètre S représente alors le rapport (RT/zF) où z est égal à la charge de l'ion. Q dépend de nombreux facteurs dont, entre autre, la matrice de l'échantillon. A force ionique constante, l'activité des espèces ioniques est directement proportionnelle à leur concentration. Ainsi, les changements de potentiel dans la cellule de mesure peuvent être interprétés directement en terme de concentrations, plutôt que d'activités.

I. 3.1.1.1 Electrode ionique spécifique (ISE)

La plupart des applications de potentiométrie pour la spéciation se limite à l'usage d'électrodes ioniques spécifiques (Ionic Specific Electrode – ISE). Ces dernières offrent une réponse directement liée à l'activité (ou à la concentration) des ions libres présents en solution. Cette réponse se traduit sous la forme d'un potentiel pCu ($-\log[Cu^{2+}]$) exprimé en mV. Elle est indépendante de la concentration totale du métal en solution. Ces électrodes représentent donc une solution attractive pour la spéciation de certaines espèces métalliques en milieu aqueux (Ag, Cu, Cd, Pb).

En outre, contrairement aux méthodes classiques, l'utilisation de la potentiométrie avec ce type d'électrodes permet de mesurer directement (in situ) la concentration en ions libres métalliques sans perturber sa spéciation.

Ces électrodes sont régulièrement utilisées dans le cadre d'études environnementales portant sur le cuivre (Soares and Vasconcelos, 1995 ; Eriksen et al., 2001 ; Lu et Allen, 2002). A titre d'exemple, les travaux d'Eriksen et al. (2001) ont montré, grâce à l'utilisation d'une électrode ionique spécifique, que la concentration de cuivre sous forme d'ions libres dans le port de Macquarie (Tasmanie) se limite à des niveaux qui ne devraient pas être toxiques pour la plupart des organismes. Les résultats montrent que dans les conditions environnementales observées, le cuivre est complexé par des ligands organiques (de type humiques) à plus de 99%.

Malheureusement différents problèmes affectent de façon significative la réponse de ces électrodes. Premièrement, la reproductibilité de la réponse est généralement perturbée dès lors que la concentration en cuivre total est inférieure à 10^{-6} mol L⁻¹ (60 µg L⁻¹), en raison de problèmes de contamination/adsorption et de solubilisation de la membrane de l'électrode (Mota et Correia dos Santos, 1995 ; Ziniro et al., 1998). Mais, en milieu tamponné, l'électrode permet de mesurer des concentrations en ions libres nettement plus faibles : de l'ordre de 10^{-11} mol L⁻¹ (6 10^{-4} µg L⁻¹) et de l'ordre de 10^{-15} mol L⁻¹ (6 10^{-8} µg L⁻¹). Deuxièmement, d'importants problèmes d'interférences liés à la présence d'autres ions (Cl⁻, Hg²⁺, Ag⁺, Fe³⁺) sont aussi généralement observés en raison du manque de sélectivité des électrodes (Roman et Rivera, 1992). Troisièmement, la corrosion de la surface de l'électrode liée entre autre à la présence d'oxygène dissous en solution peut affecter la mesure (Ziniro et al, 1998 ; Tani et al., 1999). Enfin, le conditionnement de l'électrode ainsi que son protocole d'utilisation (protection de la lumière, vitesse d'agitation) apparaissent également être un facteur pouvant faire varier la réponse de l'électrode de façon significative (Jasinski et al., 1974 ; DeMarco, 1994 et 1996).

I. 3.1.2 Les méthodes voltamétriques

Les méthodes voltamétriques comme la voltamétrie par redissolution anodique et cathodique (*Anodic Stripping Voltametry* – ASV et *Cathodic Stripping Voltametry* – CSV) sont largement utilisées dans les études de spéciation. En particulier, la voltamétrie différentielle à impulsion par redissolution anodique (DPASV - *Differential Pulse Anodic Stripping Voltametry*) constitue la méthode électrochimique de référence pour la spéciation des métaux en milieu aquatique.

Contrairement aux méthodes potentiométriques, les méthodes voltamétriques nécessitent le contrôle du courant (ou du potentiel) lors des réactions d'oxydo-réduction se produisant à la surface de l'électrode. La plupart des techniques voltamétriques sont caractérisées par la possibilité de faire varier de manière prédéfinie (en fonction du temps) le potentiel de l'électrode de travail.

Le signal mesuré ne dépend alors plus seulement de l'équilibre thermodynamique de la solution (comme en potentiométrie), mais de facteurs cinétiques comme :

- la vitesse de transport des solutés vers l'électrode de travail,
- le caractère labile des complexes en solution,
- la réversibilité des processus à la surface de l'électrode.

L'adsorption de certains composés dits « actifs » peut aussi avoir une influence sur le signal mesuré. Par conséquent un grand nombre d'informations, généralement complexes et difficiles à interpréter, peuvent être obtenues à partir de ces méthodes.

L'électrode de travail la plus communément utilisée, en particulier pour la spéciation, est la goutte de mercure. En particulier, l'électrode de mercure à goutte pendante (Hanging Mercury Drop Electrode – HMDE) présente l'avantage de générer une électrode parfaitement sphérique, facilement reproductible et dont le courant de diffusion (i_d) se traduit par l'équation 2 :

$$i_d = \left(\frac{1}{\sqrt{D\pi}} + \frac{1}{r} \right) nFADC \quad \text{Équation 2}$$

F, A, D et C représentent respectivement la constante de Faraday, la surface de l'électrode, le coefficient de diffusion et la concentration en métal. t et r représentent respectivement un temps et une distance liés à la diffusion. Le courant de diffusion est directement proportionnel à la concentration du soluté impliqué dans la réaction d'oxydo-réduction. Les méthodes voltamétriques utilisant la HMDE sont aussi désignées par l'appellation polarographie.

L'électrode de mercure est également utilisée sous forme de film (Thin Mercury Film Electrode – TMFE) déposé à la surface d'une électrode solide (platine, graphite, carbone vitreux). Ces électrodes obtenues par dépôt électrolytique sont également largement utilisées pour la spéciation en raison de faibles limites de détection. Elles possèdent un meilleur rapport surface/volume que les gouttes de mercure.

Les principaux processus chimiques impliqués au niveau de l'électrode de travail sont :

- la diffusion du métal (M) et du métal complexé (ML) vers l'électrode,
- la dissociation de ML dans la couche de diffusion
- le transfert des électrons de M et ML à l'interface électrode/solution.

I. 3.1.2.1 Méthodes à impulsion et redissolution

En polarographie classique, la limite de détection est généralement de l'ordre de 10^{-6} mol L⁻¹ ($\approx 60 \mu\text{g L}^{-1}$ pour le cuivre). Elle n'est donc pas vraiment adaptée pour l'étude de la spéciation dans les eaux naturelles. La modulation du potentiel en fonction du temps a permis de développer des méthodes voltamétriques plus sensibles. Le tableau I.4 rassemble les principales caractéristiques des méthodes à impulsions les plus communes.

Tableau I. 4 : Caractéristiques des méthodes électrochimiques à impulsion

Dénomination	Potentiel $E=f(\text{temps})$	Courant $i=f(\text{potentiel } E)$
NP Normal Pulse		
DP Differential Pulse		
SW Square Wave		

τ fréquence d'impulsion ; t_p temps d'impulsion ; $E_{1/2}$ potentiel de demi-vague ; i_d courant de diffusion ; E_p potentiel de pic ; i_p courant de pic
 ● mesure de courant

Grâce à des limites de détections de l'ordre de 10^{-8} mol L⁻¹ ($\approx 0,6 \mu\text{g L}^{-1}$ pour le cuivre), les méthodes impulsionnelles permettent de mesurer les concentrations d'éléments traces dans les estuaires et/ou dans des eaux polluées. Cependant dans le cas des eaux naturelles non polluées, une étape de préconcentration est généralement nécessaire pour la mesure de la plupart des éléments métalliques. Cette étape de préconcentration consiste à réaliser une préélectrolyse, sous agitation, de la solution au cours d'un temps t défini afin de déposer, en quantité suffisante, les cations métalliques à la surface de l'électrode. A titre d'exemple, pour la mesure d'un métal (Me^{n+}) sur une électrode de mercure, l'étape de préconcentration se traduit par la réaction suivante :



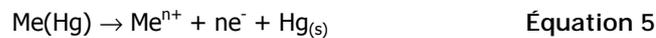
L'électrolyse est fortement conditionnée par sa durée et le potentiel auquel elle se déroule. Pour un potentiel donné, le temps d'électrolyse peut varier. Il peut être modifié selon la concentration et la nature du métal à analyser. En régime de diffusion convection en accord avec la loi de Fick, il intervient dans l'expression ci-dessous :

$$\Gamma_{\text{Me}(\text{Au})} \approx \frac{[\text{Me}^{n+}] \times t_d \times D_{\text{Me}^{n+}} \times A}{\delta_e} \quad \text{Équation 4}$$

Où $\Gamma_{\text{M}(\text{Au})}$, $D_{\text{M}^{n+}}$, $[\text{Me}^{n+}]$ représentent respectivement la quantité de métal déposée sur l'électrode, le coefficient de diffusion de l'ion métallique, la concentration en ion métallique dans l'échantillon.

t_d , δ_e et A représentent respectivement le temps d'électrolyse, l'épaisseur de la couche de diffusion durant la préélectrolyse et la surface de l'électrode. Pour une électrode donnée, les seuls paramètres sous contrôle expérimental sont t_d et δ_e . Il s'avère que la quantité de métal déposée à la surface de l'électrode est directement proportionnelle au temps de préélectrolyse et inversement proportionnelle à l'épaisseur de la couche de diffusion. Cette dernière diminue lorsque la vitesse de rotation de l'électrode augmente et inversement.

L'étape de préconcentration est ensuite suivie d'une étape de redissolution qui consiste à réoxyder les métaux réduits à la surface de l'électrode :



Cette redissolution peut s'effectuer à l'aide de différentes techniques : DPASV (Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry), SWASV (Square Wave Anodic Stripping Voltametry) et CCSA (Constant Current Stripping Analysis). Dans le cas de la DPASV et de la SWASV, la réoxydation est effectuée par un balayage de potentiel. Pour la CCSA c'est l'application d'un courant constant de faible intensité qui génère la réoxydation des métaux.

A titre d'exemple pour cette dernière technique, la variation de potentiel de l'électrode de travail est enregistrée comme une fonction du temps durant la redissolution.

L'expression d'un signal peut se traduire par l'équation suivante (Hua et al., 1987) :

$$t_s = \sqrt{\frac{w_e}{w_s}} \times \frac{[Me^{n+}] \times t_d \times A \times K}{i} \quad \text{Équation 6}$$

Où $[Me^{n+}]$, t_s , K et i représentent respectivement la concentration en ion métallique dans l'échantillon, le temps de redissolution, une constante faisant intervenir D_M^{n+} et δ_e , le courant. w_s , t_d , w_e et A représentent respectivement la vitesse de rotation de l'électrode durant la redissolution, le temps d'électrolyse, la vitesse de rotation de l'électrode durant l'électrolyse et la surface de l'électrode.

L'utilisation de ces techniques pour l'analyse des traces s'est largement développée compte tenu de leur sensibilité et de leur capacité pour le dosage simultané de plusieurs éléments (Cu, Pb, Cd et Zn en général). La limite de détection de la DPASV est de l'ordre de 10^{-10} mol L⁻¹ (0,006 µg L⁻¹ pour le cuivre) avec des électrodes TMFE. Une limite de détection similaire peut également être atteinte avec la SWASV. Mais en SWASV, les analyses peuvent être réalisées en présence de dioxygène sans que le signal de mesure ne soit perturbé.

1. 3.1.2.2 Spéciation

a. Concept de labilité

Un complexe de type ML (M le métal et L le ligand) est dit labile si d'une part l'équilibre thermodynamique de la dissociation de ML est préservé quelque soit sa distance de l'électrode, et d'autre part si M est déposé à la surface de l'électrode. Si le complexe ne se dissocie pas lors de la mesure (système inerte), l'intensité du signal est alors directement liée à la concentration en métal sous forme ionique en solution. Les métaux qui présentent un comportement intermédiaire entre labile et inerte sont alors considérés comme quasi-labile.

Cependant il faut souligner que le degré de labilité d'un complexe ne dépend pas seulement de sa cinétique de dissociation, mais aussi du temps de mesure t_m de la technique utilisée ; une valeur élevée de t_m favorise une plus grande labilité. Des informations sur le degré de labilité du complexe étudié peuvent être obtenues à partir du comportement du signal voltamétrique. Une réduction de la concentration en ion métallique est observée lors d'ajouts de différents ligands. Dans le cas de la formation de complexes labiles, le potentiel de pic est généralement déplacé vers des valeurs plus négatives si la concentration en ligand augmente ; le pic de courant diminue si $D_{ML} < D_M$ et devient constant lorsque $[ML] = [M]$. Pour des complexes inertes, le pic de potentiel reste constant et est caractérisé par un courant proportionnel à $D_M^{1/2} [M]$. Pour les complexes inertes ou quasi-labiles électroactifs, un second pic apparaît caractérisé par un potentiel E_m^{ML} . Ce potentiel est directement associé à la réduction du complexe qui se déroule à la surface de l'électrode. En outre, une interprétation correcte du degré de labilité à partir des valeurs de pic de potentiel est plus difficile en ASV que lors de la détermination directe par polarographie.

En effet en ASV, les pics de potentiels sont liés à la fois à la formation des complexes durant la phase de redissolution, mais aussi à la dissociation des complexes lors de l'étape de dépôt.

b. Théorie

La différence (ΔE) entre le potentiel caractéristique du métal en l'absence de ligand et en présence de ligands peut se traduire par les équations 7 (équation de DeFord-Hume) et 8 :

$$\Delta E = E_m^M - E_m^{M+L} = \frac{RT}{nF} \ln \left(\frac{D}{D_M} \right)^s + \frac{RT}{nF} \ln \alpha \quad \text{Équation 7}$$

$$\frac{i_m^{M+L}}{i_m^M} = \left(\frac{D}{D_M} \right)^s \quad \text{Équation 8}$$

Dans ces équations, D représente le coefficient de diffusion moyen des espèces labiles et avec :

$$D = \frac{D_M}{\alpha} + D_{ML} \left(1 - \frac{1}{\alpha} \right) \quad \text{Équation 9}$$

et

$$\alpha = \frac{C_M}{[M]} \quad \text{Équation 10}$$

ΔE représente le déplacement de potentiel causé par la présence d'un ligand. L'équation 7 n'est valide que si le ligand est présent en excès, c'est à dire $[L]^0$ (concentration de L à l'interface solution/électrode) est égale à $[L]$ (concentration de L dans la solution). L'exposant s représente un facteur de diffusion linéaire. Généralement considéré égal à 1/2, il peut toutefois varier entre 2/3 et 1/2 selon les techniques utilisées.

Dans les eaux naturelles, ΔE résulte souvent de la présence de ligands organiques et inorganiques. Dans ce cas $\alpha (=C_M/[M])$, où M' représente la concentration totale en espèces inorganiques du métal (M) peut être déterminé à partir de ΔE si les ligands inorganiques sont en excès par rapport à C_M . Ceci est habituellement le cas dans le milieu naturel. Les coefficients de diffusion des complexes inorganiques dans les eaux naturelles sont généralement considérés comme égaux à celui de l'ion métallique libre.

Dans le cas où $D_{ML}=D_M$, la détermination de la spéciation des complexes labiles n'est seulement possible qu'à partir d'un changement de la valeur du potentiel (Equation 7, $D=D_M$) car i_m est le même en présence et en l'absence de ligand.

Dans le cas où $D_{ML} < D_M$, la spéciation peut être estimée :

- soit à partir du changement de potentiel (équation 7, $(D/D_M)^s$ est alors remplacé par sa valeur expérimentale i_m^{M+L} / i_m^M (équation 8)),
- soit à partir des valeurs de courants (équations 8 et 9, à condition que D_M et D_{ML} soient connus)

Les valeurs de D_M se trouvent dans la littérature (Van Leeuwen et références incluse, 1987). D_{ML} peut être déterminé soit par une méthode qui mesure indépendamment le coefficient de diffusion du ligand L, soit en utilisant des techniques voltamétriques. En effet, les mesures de courant permettent non seulement la détermination de la spéciation, mais aussi la détermination de D_{ML} si le ratio C_L/C_M est judicieusement choisi. Pour des mesures de spéciation, aucune des concentrations de M ou de ML ne doivent être négligeables. Alors que pour obtenir D_{ML} , les conditions $D_{ML}[ML] \gg D_M[M]$ doivent être appliquées. Dans ce cas :

$$\frac{i_m^{M+L}}{i_m^M} = \left(\frac{D_{ML}}{D_M} \right)^s \quad \text{Équation 11}$$

Le tableau I.5 présente quelques valeurs des coefficients de diffusion pour quelques ions métalliques et ligands organiques présents dans les eaux naturelles. Pour les petits ligands organiques, comme les acides aminés ou certains peptides, ainsi que pour les ligands inorganiques de type chlorure ou carbonate, $(D/D_M)^s$ est proche de 1.

Tableau I. 5 : Coefficient de diffusion pour différents ions métalliques (25°C, dilution infinie) et pour des ligands présents dans les eaux naturelles

Espèces	Coefficient de Diffusion D ($10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$)
Cu ²⁺	7,3
Cd ²⁺	7,1
Zn ²⁺	7,1
Acides fulviques	0,6-3
Acides humiques	0,1-2,0
Polysaccharides	0,1-0,7

Sources : Broudeau et al., 1997 ; Mota et Correia Dos Santos et références incluses 1995

Il faut aussi souligner que la spéciation des complexes labiles déterminée à partir des mesures de courant ne peut être obtenue que si $D_{ML} > D_M$ et que si D_{ML} est connu. La spéciation déterminée à partir des valeurs de potentiel ne nécessite pas la connaissance de D_{ML} , si $(D/D_M)^s$ dans l'équation 7 est remplacé par i_m^{M+L}/i_m^M

c. Conditions restrictives

Outre la labilité et la réversibilité des complexes étudiés en spéciation, certaines conditions restrictives existent lorsque les équations 7 et 8 sont utilisées :

- Si D_{ML} est similaire à D_M , la détermination de α doit être réalisée seulement à partir des mesures du changement de potentiel. Si $D_{ML} < D_M$ et que la différence $\Delta E - (RT/nF)\ln(D/D_M)^5$ est de l'ordre de l'erreur expérimentale (≤ 5 mV), la spéciation sera mieux évaluée à partir des mesures de courant.
- D , qui est déterminé expérimentalement à partir des valeurs de courant (équation 8), doit être constant dans la couche de diffusion de façon à être représentatif de la solution. Il faut donc un excès de ligands en solution ($[L] \approx C_L$). Cependant, afin de déterminer α à partir de l'équation 9, l'excès ne doit pas être trop important sinon la détermination de la concentration en ion libre sera entachée d'une erreur élevée.
- Lorsque les ligands ne sont pas en excès, l'augmentation en ligands libres vers la surface de l'électrode, en raison de la réduction du métal (ou la diminution lors de l'oxydation du métal), conduit à une augmentation (ou une diminution) de la valeur ΔE . Ce phénomène rend l'interprétation du signal difficile.
- La condition $[H^+]^0 \approx [H^+]$ doit être respectée. En effet, lors de l'étape de réduction (ou d'oxydation) à la surface de l'électrode, la concentration en ligand $[L]^0$ augmente (ou diminue). Il peut alors y avoir une consommation (ou une redistribution) de protons entraînant des modifications des équilibres de complexation au niveau de l'électrode.
- Lorsque la solution est caractérisée par une faible force ionique, cette dernière doit être $> 100C_M$ pour limiter les effets de courant de migration. En outre, hormis avec l'utilisation de microélectrodes, la force ionique doit être $> 10^{-2}$ mol L⁻¹ afin d'éviter les problèmes de déformation du signal lié à la polarisation ohmique.
- L'adsorption de la matière organique sur le mercure peut influencer le signal.
- Dans le cas où l'échantillon n'aurait pas été filtré, l'hétérogénéité d'un échantillon naturel peut avoir une influence sur le signal en raison de la présence de certains ligands caractérisés par des propriétés spécifiques (groupes fonctionnels, propriété électrique).

Les effets des principaux facteurs qui influencent le signal voltamétrique dans les échantillons naturels par rapport à un système réversible, labile et homogène sont résumés dans le tableau I.6.

Tableau I. 6 : Effets des principaux facteurs qui influencent le signal voltamétrique dans les échantillons naturels par rapport à un système réversible, labile et homogène ^a

(d'après Mota et Correia Dos Santos et références incluses 1995)

Méthodes	Facteurs	i_m/i_m^H	$E_m-E_m^H$	Largeur de pic	
NPP/DPP	Irréversibilité	<1 in DPP ; constant en NPP	< 0	Augmente	
	Non labile	<1	Peut varier	Constant	
	Adsorption de ligand organique	>1 (inductive adsorption)	<0		Peut varier
		<1 liée à une forte à la surface de l'électrode			Peut varier
	Hétérogénéité des sites de complexation	< 1 (DPP)	< 0	Augmente	
ASV	Irréversibilité de la phase de redissolution	< 1	> 0	Augmente	
	Non labile				
	Dissociation lente	< 1	≤ 0	Constant	
	Formation lente	≤ 1	> 0	Constant	
	Hétérogénéité des sites de complexation	< 1	Dépend de C_L/C_M^0 lors de la redissolution	Augmente	

^a système caractérisé par i_m^H et E_m^H avec H =Homogène. Les complexes et ligands étant considérées comme non électroactifs

d. Adsorption des composés organiques sur les électrodes de mercure

Il est aujourd'hui reconnu que la matière organique (MO) présente une forte affinité pour les électrodes de mercure. L'adsorption de ce type de composés influence le signal en voltamétrie. Ce phénomène pose donc un problème dans des échantillons d'eau provenant de lacs, de rivières ou d'estuaires qui sont souvent caractérisés par des teneurs en MO élevées (jusqu'à 50 mg L⁻¹ dans certains milieux). Le problème est moins important dès lors qu'il s'agit d'échantillons d'eau de mer où les concentrations en MO sont nettement plus faibles (0,1<[MO]<3 mg L⁻¹).

Deux paramètres doivent être pris en compte lorsqu'il s'agit de mieux comprendre et interpréter le processus d'adsorption de la MO : la cinétique d'adsorption et l'équilibre thermodynamique entre le composé adsorbé et l'électrode de travail (généralement du mercure). Les études sur le sujet ont montré qu'en l'absence de réaction redox, les composés organiques, et en particulier les composés humiques, sont fortement adsorbés lorsque le potentiel est proche de 0 V (vs électrode au calomel). L'adsorption est plus faible lorsque le potentiel est inférieur à -1,0 V (vs électrode au calomel). Par ailleurs pour les molécules organiques de taille importante ainsi que lorsque la concentration en MO est faible, le temps d'équilibre de la réaction d'adsorption est généralement inférieur au temps nécessaire à l'analyse. Dans ce cas, les phénomènes d'adsorption sont négligeables.

Cependant le pH, la force ionique ou encore la composition en ions majeurs de la solution sont des facteurs à prendre en compte car ils peuvent influencer les phénomènes d'adsorption de la MO.

Lorsque les composés organiques sont non électro actifs, leur adsorption à la surface de l'électrode peut influencer :

- la réversibilité des réactions redox ; les composés adsorbés constituent une sorte de barrière qui bloque totalement ou partiellement la surface de l'électrode. Ceci a alors pour conséquence de modifier les cinétiques des réactions redox,
- le flux et le transport des espèces métalliques à l'interface électrode / solution, en raison d'éventuelles interactions électrostatiques si le composé organique est chargé,
- La concentration du métal à l'électrode, si la molécule organique adsorbée est un agent complexant. Dans ce cas le signal voltamétrique augmente.

I. 3.2 Approche non électrochimique pour la spéciation des métaux

Dans le cadre de cette approche, les méthodes utilisées sont généralement celles classiquement employées pour la mesure du métal total (eg. Adsorption atomique - AAS, torche à plasma - ICP). Cependant, elles sont précédées d'une étape de séparation et/ou de préconcentration de certaines formes chimiques spécifiques. Cette étape est généralement réalisée à l'aide de méthodes dites séparatives. Ces dernières mettent en œuvre des techniques permettant de définir des fractions de métal selon leurs propriétés physico-chimiques.

I. 3.2.1 Séparation / spéciation par taille

Même dans la phase dissoute, dont la limite a été fixée arbitrairement à 0,45 µm, il existe des particules (colloïdes principalement). Une séparation physique peut être réalisée par différentes techniques : ultrafiltration, dialyse, centrifugation ou encore filtration sur membrane ou gel. La figure I.7 présente un récapitulatif des tailles des particules et molécules présentes dans la phase dissoute des eaux naturelles ainsi que des principales techniques utilisées pour les isoler.

La figure I.7 montre que la taille des « particules » en milieu dissous (colloïdes, virus et molécules) couvre une large gamme de valeurs présentes en milieu aquatique naturel. Un exemple des tailles de composés du cuivre est donné dans le tableau I.7.

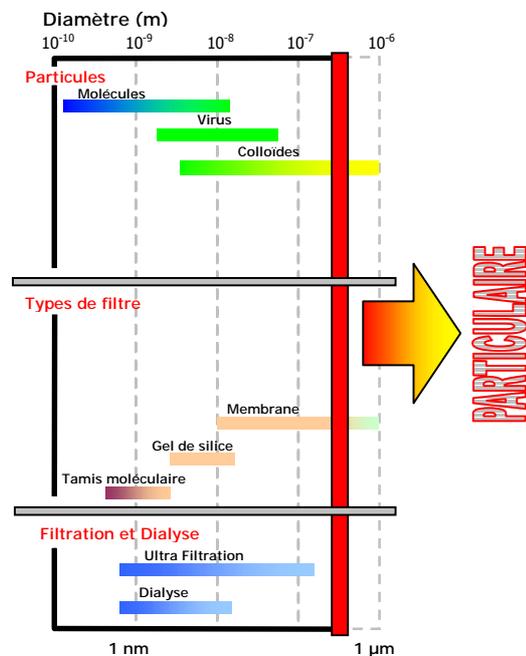


Figure I. 7 : Spectre des tailles de « particules » en milieu aquatique dissous et méthodes de séparation (modifié d'après Stumm et Morgan, 1996)

Tableau I. 7 : Tailles de composés chimiques du cuivre (Florence, 1982 et 1986)

Composé	Formule	Diamètre (nm)
Ion libre hydraté	$\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$	1
Complexe inorganique	$\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_4\text{Cl}_2$	1
Complexe organique	Cu-fulvate	2-5
Colloïde inorganique	$\text{Cu}^{2+}\text{-Fe}_2\text{O}_3$	10-500
Colloïde organique	$\text{Cu}^{2+}\text{-acide humique}$	10-500

La séparation des petites « particules » ($< 0,45 \mu\text{m}$) nécessite l'utilisation de techniques spécifiques comme l'ultrafiltration ou la dialyse. Ces dernières sont de plus en plus utilisées dans les études de spéciation (Morrison et Florence, 1988 ; Lores et Pennock, 1998 ; Eyrolle et Benaim, 1999 ; Gundersen et Steinnes, 2003). Elles permettent notamment d'isoler les particules de haut poids moléculaire et les formes colloïdales des métaux.

I. 3.2.1.1 L'ultracentrifugation

L'ultracentrifugation est basée sur un procédé de séparation physique. En augmentant la force de gravité, cette technique permet d'isoler les particules colloïdales. La séparation des particules est basée sur la différence de leur coefficient de sédimentation K_s (diamètre \times densité). Les petites particules denses sont alors facilement séparées des plus grosses moins denses. Pour des particules de taille ou de densité différentes caractérisées par un même K_s , la géométrie des particules, la charge des particules ou encore la viscosité de l'eau sont des facteurs qui peuvent faciliter ou réduire la séparation des particules. Pour des particules caractérisées par des K_s très différents, l'étape d'ultracentrifugation conduit souvent à un phénomène d'agglomération de ces particules. Malgré cela, cette technique généralement utilisée en continu (continuous flow system) permet d'isoler la fraction colloïdale (Delguedre et al., 1990)

I. 3.2.1.2 L'ultrafiltration

L'ultrafiltration est aussi basée sur un procédé de séparation physique. La migration des particules d'un côté à l'autre de la membrane est obtenue par une différence de pression. Cette technique permet d'isoler des molécules de haut poids moléculaire compris entre 210 et 300000 Da ($1 \text{ Da} = 1,66 \cdot 10^{-24} \text{g}$). Par ailleurs, la filtration dépend aussi de la géométrie de la molécule. Cette technique est généralement de type tangentielle, c'est à dire que le fluide circule parallèlement à la membrane, contrairement à la filtration classique qui est dite frontale. La filtration tangentielle permet de limiter l'accumulation de dépôts qui obstruent la surface de filtration. Toutefois les pertes par adsorption peuvent représenter un problème lors de l'utilisation de cette technique (Buffle et al., 1992).

I. 3.2.1.3 La dialyse

La dialyse est une technique basée sur le principe de la diffusion des espèces chimiques à travers une membrane poreuse entre deux solutions (généralement un échantillon et un milieu récepteur connu). La séparation est à la fois liée à la taille des pores de la membrane ainsi qu'aux différents temps de réponse des composés. Selon la taille des pores des membranes, il est possible d'isoler des colloïdes et des molécules de poids moléculaires spécifiques. A titre d'exemple, les membranes à base de cellulose sont caractérisées par des pores compris entre 1 et 5 nm. Cela permet de séparer des particules de poids moléculaires compris entre 1000 et 50000 Da. Cette technique est de plus en plus utilisée in situ. Les temps d'expérimentation peuvent dépasser plusieurs heures et même atteindre plusieurs jours (Truitt et Weber, 1981). De ce fait, il est parfois difficile et délicat d'interpréter les résultats des concentrations obtenues et en particulier si les conditions environnementales changent rapidement au cours du temps.

La perméabilité des membranes a fait l'objet d'un grand nombre de travaux (Apte et al., 1988 et références incluses). Les résultats montrent que les membranes sont perméables aux ions libres hydratés ainsi qu'aux complexes inorganiques simples (complexes carbonatés par exemple). La majorité de complexes organiques semble ne pas être « dialysable ». En outre, les membranes de dialyse sont caractérisées par une légère charge électrique négative. Cette charge retarde la diffusion des anions et favorise celle des cations.

I. 3.2.2 Les résines échangeuses d'ions

L'échange d'ions est une technique qui consiste à remplacer, dans une solution, des ions indésirables ou valorisables par d'autres en quantité équivalente. L'échangeur d'ions est généralement une résine synthétique (copolymères de styrène et divinylbenzène ou acryliques) portant des fonctions acides ou basiques. On distingue les échangeurs de cations et les échangeurs d'anions. Les échangeurs cationiques fortement acides (billes de polystyrène à groupements fonctionnels sulfoniques) sont utilisés pour fixer des cations (de type Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+}). Les résines sont généralement régénérables ; dans le cas des résines cationiques, elles sont régénérées par une solution d'acide fort (acide chlorhydrique ou sulfurique) qui libère les cations fixés et les remplace par des ions H^+ .

Ce type de résine n'est cependant pas beaucoup utilisé pour les études de spéciation (Apte et Batley, 1995). La séparation basée uniquement sur la charge ionique ne suffit pas à mettre en évidence des relations de disponibilité vis à vis des organismes. En outre dans les eaux naturelles, la présence de fortes concentrations en ions majeurs (Ca^{2+} , Mg^{2+}) engendre d'importants phénomènes de compétition.

I. 3.2.3 Les résines chélatantes

Les résines chélatantes (ou complexantes) sont composées de polymères contenant des groupes fonctionnels à fort pouvoir complexant. Ces derniers peuvent se lier fortement avec les métaux,

mimant ainsi l'action des ligands présents dans le milieu naturel. Les ions métalliques libres, mais aussi les complexes métalliques capables de se dissocier lors du contact avec la résine sont complexés sur la résine. Ces résines sont utilisées depuis longtemps dans les études de spéciation des métaux (Riley et Taylor, 1968 ; Florence et Batley, 1975 ; Florence et Batley, 1977) et en particulier, la résine à base de polymère de styrène divinyle-benzène incorporant des groupes fonctionnels chélatants de type imminodiacétate. Cette résine est mieux connue sous le nom commercial « Chelex-100[®] ». Les groupes fonctionnels imminodiacétate forment (via les atomes d'oxygènes et d'azotes) des liaisons de coordination avec les métaux. En outre, ils présentent très peu d'affinité pour les métaux alcalins comme le sodium (Na) et le potassium (K). Initialement utilisée pour préconcentrer les métaux dans les eaux marines (Riley and Taylor (1968), la résine Chelex 100[®] présente aussi la particularité d'isoler la fraction labile des métaux en solution (Florence et Batley 1975 ; Batley et Florence, 1976 ; Florence et Batley, 1977).

Les résines chélatantes sont utilisées en batch ou en colonne. Le batch est le mode d'utilisation le plus simple. La résine est dispersée dans l'échantillon et les composés métalliques sont absorbés jusqu'à l'obtention d'un équilibre. Ce dernier dépend de la concentration en métal de l'échantillon et de la quantité de résine ajoutée. La résine est ensuite séparée de la solution par filtration pour être régénérée (et recyclée). Toutefois, l'utilisation sous forme de colonne nécessite moins de manipulation. L'échantillon percole à travers cette colonne et un équilibre de concentration s'établit, allant des concentrations les plus élevées au début de la colonne vers les plus faibles à la fin. Il faut rappeler qu'il est impératif de contrôler le pH de la colonne avant de faire percoler l'échantillon. En effet, la complexation du métal est fortement dépendante du pH. Si le pH dans la colonne est en dessous de 3, la plupart des ions métalliques ne seront pas retenus. Un tampon (acétate d'ammonium, pH=5,4) est généralement utilisé afin de conditionner la colonne. Cette dernière peut également être prééquilibrée avec une solution de composition en ions majeurs similaire à celle de l'échantillon. Si cette étape n'est pas réalisée, lors du passage sur la colonne, des modifications d'équilibre avec ions majeurs dans l'échantillon peuvent se produire et affecter la spéciation du métal. L'utilisation de ce mode de séparation fournit un moyen simple et efficace pour la mesure de la fraction labile du cuivre (et des autres métaux) dans les échantillons d'eaux naturelles. Toutefois, la relation entre de telles mesures et la réponse biologique n'est pas toujours directe. Il faut rappeler que les résines complexantes ont généralement une affinité supérieure vis à vis des métaux à celle des ligands naturels (e.g. présents à la surface des membranes biologiques). Les résines ont aussi des capacités de fixation parfois plus élevées. A titre d'exemple, les travaux de Florence et al. (1983) n'ont montré aucune corrélation claire entre les mesures obtenues via séparation sur Chelex-100 et la croissance de diatomées marines. En outre, Florence (1982) suggère que la séparation sur Chelex-100 ne simule pas correctement l'interaction entre le métal et les membranes biologiques. Dans le cas du cuivre, la fraction labile serait surestimée (Apte et Batley, 1995 ; Gilbin, 2001).

D'autres types de résines existent et peuvent être utilisés pour la spéciation du cuivre. La complexation via les groupes fonctionnels thiols représente une alternative intéressante. Des colonnes

à base de thioglycolate ont déjà été utilisées par Florence (1982). La séparation peut aussi être réalisée sur des colonnes de type 8-hydroxyquinoline et bis (dithiocarbamate) de N-propylethylènediamine. Dans l'optique d'obtenir une séparation directement liée à la réponse biologique, la résine doit être caractérisée par des constantes de stabilité proches de celles observées à la surface des cellules. Florence et Stauber (1986) ont montré que la constante conditionnelle de stabilité (Log K) pour le cuivre et l'algue marine (*N. closterium*) était de 9,1. La résine ALSA composée d'acide sulfonique et d'hydroxyde d'aluminium fixe les métaux. En outre, elle est caractérisée par une constante de complexation avec le cuivre comprise entre 9,9 et 11,1 (pour l'eau de mer et l'eau douce respectivement). La fraction labile déterminée via l'utilisation de cette colonne en présence de différentes matières complexantes naturelles (acides humiques, fulviques et tanniques) est bien corrélée avec les mesures de toxicité (Zhang et Florence, 1987). Une comparaison de différentes résines, dont la Chelex-100 et l'ALSA a été réalisée par Rijstenbil et Poorvliet (1992). Les meilleures corrélations entre la détermination de la fraction labile et l'accumulation de cuivre dans les cellules sont obtenues avec la résine ALSA.

I. 3.2.4 Méthode de compétition de ligand

Le principe de ce type de méthode consiste à ajouter une petite quantité de ligand à l'échantillon afin qu'il se complexe avec une forme du métal en solution. Le complexe est ensuite isolé en fonction de ses propriétés physico-chimiques. Il faut donc choisir un ligand qui ne complexe qu'une forme du métal en solution. Par ailleurs, le complexe formé doit pouvoir être facilement séparé de l'échantillon.

I. 3.2.4.1 Dioxide de manganèse

La méthode de compétition de ligand avec le dioxyde de manganèse ($M_n O_2$) a été développée par Van Den Berg et Kramer (1979) pour la spéciation du cuivre dans les eaux douces. Elle a ensuite été adaptée pour le milieu marin (Van Den Berg, 1982). L'ajout de dioxyde de manganèse provoque l'adsorption du cuivre libre présent en solution. Le temps d'équilibre pour cette réaction est compris entre 1 et 15 heures selon les concentrations mises en jeu. La quantité de métal adsorbé à l'équilibre correspond à la différence entre le cuivre total et le cuivre dissous :

$$Cu_{\text{adsorbé}} = Cu_{\text{total}} - Cu_{\text{dissous}} \quad \text{Équation 12}$$

La quantité de métal adsorbé peut être reliée à la concentration en ion libre à partir de l'isotherme d'adsorption de Langmuir :

$$\Gamma_{\text{ads}} = \frac{\Gamma_{\text{max}} [Cu^{2+}]}{(1/b + [Cu^{2+}])} \quad \text{Équation 13}$$

Γ_{ads} est le rapport de la concentration en cuivre adsorbé et la concentration en MnO_2 . b et Γ_{max} sont les constantes de Langmuir obtenues à partir d'une calibration préalable d'une solution de spéciation connue. La plus faible concentration en métal libre mesurable doit rester assez élevée. En effet, cette méthode doit être capable de mesurer la différence entre les concentrations en métal initiale et finale. Cette technique est également sujette à d'importants problèmes d'interférences liés à l'adsorption d'autres espèces que l'ion libre.

I. 3.2.5 Séparation via adsorbants hydrophobes (C18/XAD)

Ce type de séparation est basé sur le caractère hydrophobe des complexes organiques. Sur certains types de support comme les résines XAD-2[®] ou SEP-PAK C18[®], les complexes métalliques organiques sont retenus et ainsi séparés de la phase dissoute. L'utilisation de résine SEP-PAK C18[®] a été pour la première fois développée par Mills et Quinn (1981) pour la détermination et la caractérisation des complexes organiques. Compte tenu des avantages de cette technique (simplicité, reproductibilité et absence de contamination), elle est couramment utilisée (Mackey, 1985 ; Sunda et Hanson, 1987, Mills et al., 1989 ; Elbaz-Poulichet et al., 1994 ; El Sayed et Aminot, 2000). Cependant, il faut souligner que les travaux de Donat et al. (1986) ont montré que ce type de colonne ne retient seulement qu'une fraction du cuivre complexé avec la matière organique et qu'une partie des complexes organiques n'est donc pas prise en compte.

I. 3.3 Les modèles de spéciation

Les modèles mathématiques peuvent être utilisés pour calculer la concentration des différentes formes d'un élément en solution. Si le milieu étudié est considéré à l'équilibre, la concentration de chaque espèce peut être calculée à partir de constantes thermodynamiques. Cette approche nécessite la connaissance de la concentration totale de l'élément étudié ainsi que celle des principaux éléments pouvant réagir avec lui. Il faut également connaître la valeur des constantes thermodynamiques des réactions se produisant entre les différentes espèces présentes en solution. La résolution simultanée du grand nombre d'équations mathématiques mises en jeu est réalisée par des logiciels développés spécialement à cet effet. MINEQL+, MINTEQA2, HYDRA/MEDUSA, WHAM, PHREEQC font partis de ceux les plus utilisés pour la spéciation en phase dissoute (Prévoist, 2003). Ces logiciels peuvent réaliser les calculs à différentes températures et pressions, prendre en compte un nombre important de variable et inclure des réactions de précipitation et d'adsorption.

Le principal obstacle à l'utilisation des modèles dans les études de spéciation est lié à la connaissance des données thermodynamiques d'équilibre. Les constantes d'équilibres disponibles dans la littérature et utilisées par les modèles n'ont généralement pas été déterminées dans les mêmes conditions que celles du milieu à étudier. Des corrections liées à la température, à la pression ou simplement à la force ionique doivent alors être appliquées. En outre, ces corrections sont très souvent empiriques ou semi-empiriques. Les constantes d'équilibre de toutes les réactions chimiques entrant en jeu dans l'échantillon devraient aussi être connues. En particulier dans des échantillons aussi complexes que des eaux naturelles, les phénomènes de complexation jouent un rôle très important pour la spéciation des métaux. A ce jour, d'importantes disparités existent au niveau des constantes de complexation avec les ligands organiques naturels. Le tableau I. 8 récapitule certaines données thermodynamiques de la littérature pour la complexation du cuivre avec les ligands organiques.

Tableau I. 8 : Constantes de complexation du cuivre en solution avec des ligands organiques

Lieu	Constante - Log(K)			Source
	Ligand fort	Ligand moyen	Ligand faible	
Mer d'Iroise			8,9-9,7	Mantoura et al. (1978)
Mer Adriatique			8,8	Plavsic et al. (1982)
Océan Atlantique			9,9	Van den Berg (1982)
Pacifique (NO)	13,8	11,8		Hirose et al. (1982)
Golfe du Mexique (NE)		> 12	9,8	Sunda et Ferguson (1983)
Mer de Sargasse			8,8	Waite et Moral (1983)
Océan Atlantique (S)		12,2	10,2	Van den Berg (1984)
Mer du Nord			8,9-9,1	Kramer et Duinker (1984)
Océan Atlantique (N)			9,1-9,5	Kramer (1986)
Océan Atlantique (N)		9,8-12	7,4-9,4	Buckley et Van den Berg (1986)
Baie de Byscayne		12	10,4	Mofett et Zika (1987)
Baie de Naragansett		12,2-12,4	10,1-10,2	Sunda et Hanson (1987)
Côte du Pérou		12,3	9,2	Sunda et Hanson (1987)
Bassin de Christiansen		11,7	9,1	Hering et al. (1987)
Montauk Point		11,7	9,1	Hering et al. (1987)
Mer de Sargasse			9,8	Hanson et al. (1988)
Océan pacifique (N)	12,4-13,6		9,6-10,4	Coale et Bruland (1988 et 1990)
Mer de Sargasse (SW)	13,2		9,7	Mofett et al. (1990)
Estuaire du Severn		11,4-12,8		Apte (1990)
Plymouth Channel	13,1-15,1	11,2		Van den Berg et al.(1990)
Pl. cont Caroline du Nord	13,2		10,0	Sunda et Huntsman (1991)
Océan Indien		12,6		Donat et Van den Berg (1992)
Mer du Nord	15,6	12,4		Donat et Van den Berg (1992)
Mer de Sargasse	14,0		9,8	Donat et Bruland (1992)
Mer de Sargasse	13,6-15,9	12,4	10,5-10,7	Van den Berg et Donat (1992)
Mer du Nord	14,2-15,6	12,0-12,2		Van den Berg et Donat (1992)
Océan Pacifique	13,3->15	12,2-12,7	10,2-10,8	Miller et Bruland (1994)
Mer méditerranée	13,0-14,8			Lucia et al. (1994)
Océan Atlantique (NE)	12,2-13,1			Lucia et al. (1994)
Océan Atlantique (NE)	12,0-13,0			Achterberg et Van den Berg (1994)
Rivière de Suwannee			4,94-5,51	Lin et al. (1994)
Baie de San Fransisco	>13,5		9,0-9,6	Donat et al. (1994)
Estuaire d'Oosterschelde et de Westerschelde		8,1-10,4		Gerringa et al. (1995)
Océan Pacifique (N)		9,4-9,1	7,5-7,2	Midorikawa et Tanoue (1996)
Océan Pacifique (E)		11,6	8,6	Midorikawa et Tanoue (1996)
Estuaire de Firth Clyde	12,9-15,1	13,1-13,7	8,5-13,2	8.6-9.3 Muller (1998)
Rivière de Suwannee	7,3-8,9	5,8-6,8	3,9-5,0	Brown et al. (1999)
Eau de pluie (Norwich)	11,2-13,2			Spokes et al. (1996)
Ports de Cap Cod	14,3	10,8-11,7		Croot et al. (1999)
Laboratoire	12,3-14,2	10,1-11,2		Voelker et Kogut (2001)
Baie de Narragansett		7,9-9,2	7,5-7,7	Wells et al. (1998)
Mer Noire	13,1-13,9	9,4-11,2		Muller et al. (2001)
Laboratoire			6,0-7,2	Nierop et al. (2002)
Rivière de Suwannee	9,5-13,2	7,5-9,1	6,6-9,4	Lu et Allen (2002)
Fjord de Gullmar	12,9-14,8	10,5-12,15		Croot (2003)

Dans le tableau I.8, les données ont principalement été obtenues à partir de courbes de titration du cuivre et par modélisation (Ruzic, 1982). Les importantes différences entre les constantes sont principalement liées à la nature même de la matière organique présente dans les échantillons, mais aussi aux différentes caractéristiques physico-chimiques des sites.

A ce jour, différentes bases de données (ainsi que différentes mises à jour pour une même base) regroupant les constantes thermodynamiques sont disponibles (Smith et Martell, 2003). De ce fait, l'utilisation des modèles de spéciation peut conduire, pour un même type de simulation, à des résultats sensiblement différents. Une attention particulière doit donc être portée à cet aspect lors de l'utilisation des logiciels de spéciation. Ces derniers offrent d'ailleurs généralement la possibilité de modifier manuellement la valeur des constantes des réactions mises en jeu. Pour la complexation avec les ligands inorganiques, la base de données NIST semble être la plus utilisée (Smith et Martell, 2003).

I. 3.4 Les principaux schémas de spéciation

Les différentes approches citées précédemment peuvent être combinées et associées à différentes procédures (irradiation UV, ultrafiltration, résines, etc.) pour optimiser les informations sur la spéciation. Différentes fractions caractérisant les formes du métal sont ainsi définies de façon « opérationnelle ». L'objectif majeur de ces schémas est d'isoler et de quantifier, via la combinaison de méthodes analytiques, différentes fractions de métal qui seraient liées à des processus chimiques spécifiques. En fonction des méthodes employées, il est ensuite possible de caractériser plus ou moins précisément les fractions obtenues.

Les différents schémas existants varient considérablement tant dans leur complexité que dans leur signification au niveau des fractions définies. Dans ce chapitre, trois schémas de spéciation sont présentés (§ I. 3.4.1, I. 3.4.2, I. 3.4.3). Ils ont été choisis car ils sont régulièrement utilisés et largement cités dans la littérature. Cependant, il existe de nombreux autres schémas. A titre d'exemple, le schéma de Hart et Davies (1977 et 1981) permet de définir des fractions filtrables, dialysables et échangeables (sur Chelex-100[®]). Laxen et Harrison (1981) proposent un schéma combinant une séparation de taille par ultrafiltration et une mesure par ASV avec ou sans irradiation UV et traitement en batch de Chelex 100[®]. Le schéma développé par Hasle et Abdullah (1981) est composé d'une étape d'ultrafiltration et d'une série de mesures à différents pH. Finalement, la combinaison de différentes résines est aussi proposée par Sugimura et al. (1978).

I. 3.4.1 Schéma de spéciation de Batley et Florence (1976)

Cette approche combine des mesures par ASV, un passage de l'échantillon sur une colonne de Chelex 100® et de l'irradiation UV (cf. figure I. 8).

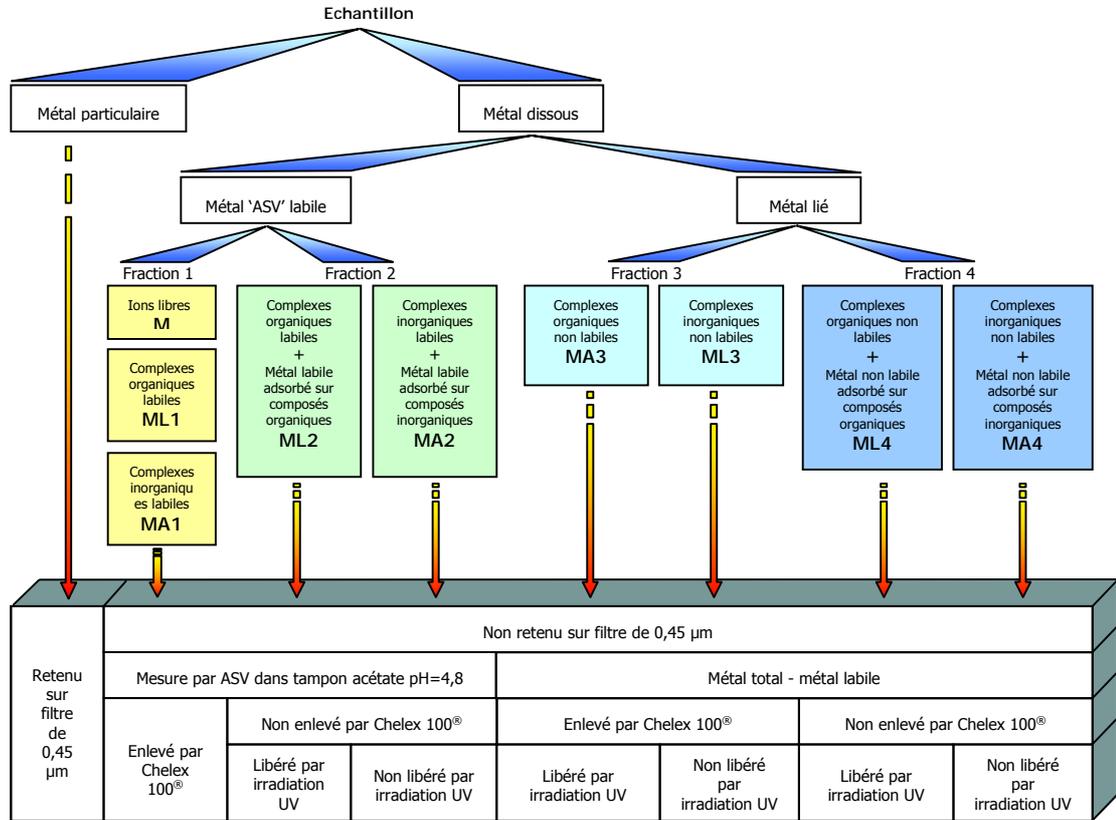


Figure I. 8 : Schéma de spéciation des métaux traces de Batley et Florence (1976)

Ce schéma de spéciation permet de distinguer et de quantifier jusqu'à 9 fractions différentes réparties en trois groupes :

- **M+ML1+MA1** - Dans les eaux douces et marines, ces fractions sont essentiellement composées d'ions libres et de complexes inorganiques simples (chlorures, sulfates, carbonates et hydroxydes). Des complexes avec des acides aminés peuvent aussi être présents dans ces fractions,
- **MA2, MA4, ML2 et ML4** – Ces fractions représentent essentiellement d'une part le métal adsorbé (voire inclus) sur les particules colloïdales organiques et inorganiques et, d'autre part, le métal fortement complexé avec des ligands organiques (acides humiques et fulviques),
- **MA3 et ML3** – Ces fractions représentent du métal dissocié des colloïdes et retenu par la résine. Elles peuvent aussi comprendre des complexes d'acides humiques et fulviques partiellement dissociés au contact de la Chelex 100.

Dans ce schéma, le premier, ainsi que le troisième groupe dans une moindre mesure, représentent une part du métal dissous potentiellement biodisponible, puisque les complexes isolés peuvent facilement se dissocier. La fraction du métal isolée dans le deuxième groupe n'est vraisemblablement pas biodisponible car fortement adsorbée sur les particules colloïdales ou complexée par des ligands organiques.

I. 3.4.2 Schéma de spéciation de Figura et McDuffie (1980)

Ce schéma combine des mesures par ASV et l'utilisation de Chelex 100® en batch et en colonne (cf. figure I. 9).

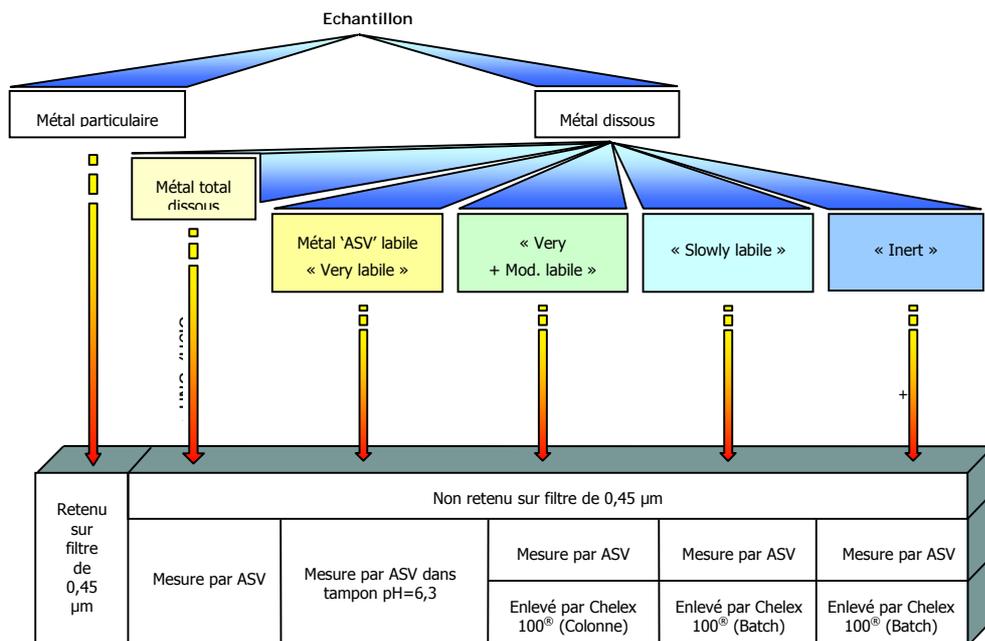


Figure I. 9 : Schéma de spéciation de Figura et McDuffie (1980)

Ce schéma permet de mesurer 4 fractions : « very labile », « moderately labile », « slowly labile » et « inert ».

- **Very labile** – Cette fraction correspond à ce qui est mesuré directement par ASV dans l'échantillon.
- **Moderately Labile** – L'échantillon est en contact avec une colonne de Chelex 100 durant quelques secondes. Deux fractions sont récupérées : « moderately labile » et « very labile ». La différence entre la fraction retenue et la fraction « very labile » est définie comme « moderately labile ».
- **Slowly labile** – Cette fraction correspond au métal retenu par la résine à partir de l'effluent précédent. Le temps de contact est de plusieurs heures (72 h) sous agitation.
- **Inert** – Cette fraction correspond au métal issu du traitement de l'effluent précédent par une solution d'acides concentrés (HNO₃, HClO₄ 70%).

Ce schéma de spéciation est basé sur le comportement des différentes formes de métal et interprétable en terme de biodisponibilité. Parmi les quatre fractions isolées, les trois premières apparaissent potentiellement biodisponibles puisque ces fractions sont composées d'ions libres ou de complexes pouvant se dissocier plus ou moins facilement. La fraction « very labile » représentant la fraction la plus biodisponible. La dernière fraction (Inert) représente la part de métal qui ne peut être assimilée par un organisme vivant.

I. 3.4.3 Schéma de spéciation de Florence (1986)

La fraction liposoluble est considérée comme très toxique (Ahsanullah et Florence, 1984). Florence (1986) propose un schéma de spéciation permettant d'isoler cette fraction de métal (cf. figure I. 10).

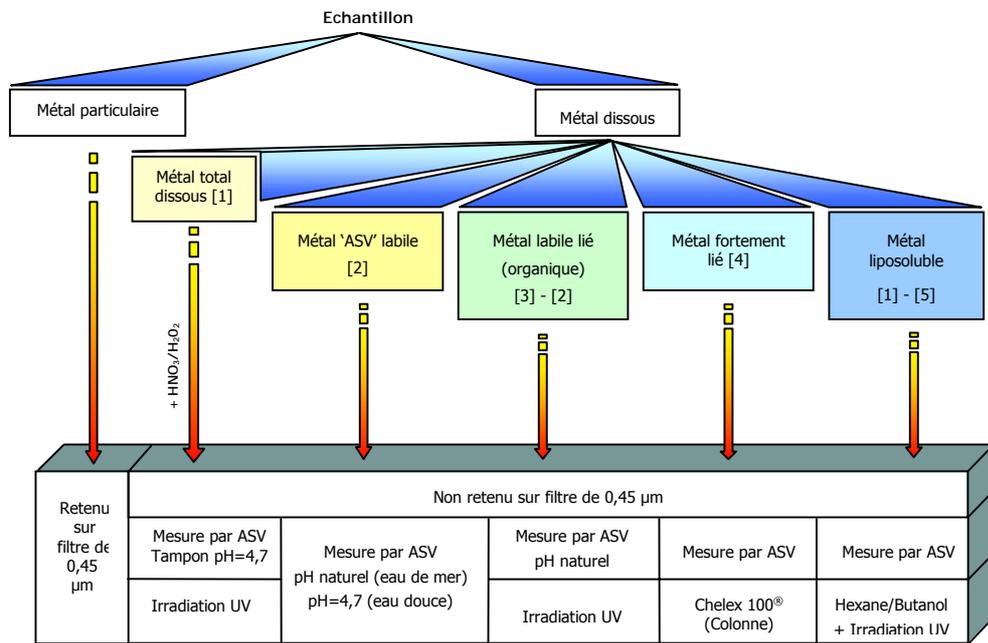


Figure I. 10 : Schéma de spéciation de Florence (1986)

Ce schéma permet de mesurer 4 fractions de métal : « ASV labile », « labile lié », « fortement lié » et « liposoluble ».

- **ASV labile** – Cette fraction correspond à ce qui est mesuré directement par ASV au pH naturel de l'échantillon.
- **Labile lié** – cette fraction est obtenue après une irradiation UV au pH naturel de l'échantillon, suivi d'une mesure par ASV. Soustrait à la fraction « ASV labile », cela représente la fraction du métal labile liée aux composés organiques.
- **Fortement lié** – L'échantillon est passé sur une colonne de Chelex 100®. L'effluent est analysé par ASV pour donner la fraction de métal fortement lié.
- **Liposoluble** – Cette étape correspond à l'extraction du métal liposoluble de l'échantillon par un mélange de solvant organique (Hexane : Butanol). La différence entre le métal total et la mesure par ASV de l'échantillon traité correspond à la fraction liposoluble.

Dans ce schéma de spéciation basé sur le comportement des différentes formes de métal, les fractions « ASV labile » et « liposoluble » sont considérées facilement biodisponibles. Les fractions de métal « labile lié » et « fortement lié » sont nettement moins biodisponibles.

I. 3.5 DGT (Diffusive Gradients in Thin film) ; spéciation in situ

I. 3.5.1 Principe

La technique du gradient diffusif sur film fin (« Diffusive Gradients in Thin film » - DGT) a été récemment développée (Zhang et Davison, 1995). Cette technique est utilisée pour la mesure in situ des espèces métalliques labiles dans les eaux naturelles.

La technique est basée sur la première loi de Fick. Une couche de résine chélatante (Chelex-100®) d'épaisseur Δr est séparée de l'échantillon par une couche de gel perméable d'épaisseur Δg (cf. figure I. 11) et de taille de pores définie. Les ions métalliques sont accumulés et concentrés sur la résine. Cette accumulation se produit de façon linéaire et quantitative au cours du temps.

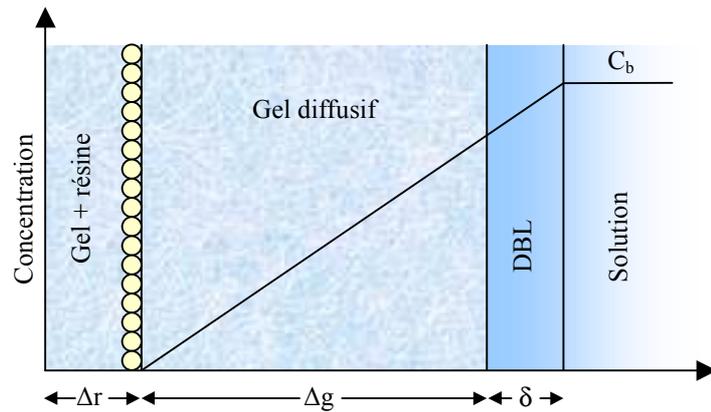


Figure I. 11 : Représentation schématique de la concentration en ion métallique libre au contact d'un dispositif DGT dans une solution de concentration C_b
(DBL représente la couche de diffusion limite)

Entre la couche de gel diffusif et la solution, il existe une région dans la solution, appelée couche limite de diffusion (DBL, Diffusive Boundary Layer) d'épaisseur δ , où le transport des ions est uniquement lié à la diffusion moléculaire. Si δ est négligeable (généralement en milieu naturel) comparé à Δg , le flux d'ions métalliques qui traversent par diffusion la couche de gel vers la résine est traduit par :

$$F = \frac{D(C_b - C')}{\Delta g} \quad \text{Équation 14}$$

Dans l'équation 14, D représente le coefficient de diffusion dans le gel, C_b la concentration en ion métallique libre en solution et C' la concentration en ion métallique libre dans la couche de gel+résine. Si les ions métalliques libres se complexent rapidement et fortement avec la résine, C' est nulle (à condition toutefois que la résine ne soit pas saturée). Dans ce cas l'équation 14 peut être simplifiée :

$$F = \frac{DC_b}{\Delta g} \quad \text{Équation 15}$$

Le flux F peut aussi être déterminé directement à partir de la mesure de la masse de métal (M) accumulé sur la résine, sur une surface (A) pour un temps (t), soit :

$$F = \frac{M}{DtA} \quad \text{Équation 16}$$

En combinant et arrangeant les équations 15 et 16, on obtient :

$$C_b = \frac{M\Delta g}{DtA} \quad \text{Équation 17}$$

Dans l'équation 17, tous les paramètres sont connus à l'exception de la masse M qui peut être obtenue à partir de la concentration en métal dans l'éluat dans du gel contenant la résine.

$$M = \frac{C_e (V_g + V_e)}{f_e} \quad \text{Équation 18}$$

Dans cette équation, C_e , f_e , V_g et V_e représentent respectivement la concentration en métal dans l'éluant, le facteur d'éluion, le volume du gel et le volume d'éluion.

I. 3.5.2 Descriptif des dispositifs

Dans la colonne d'eau, la technique consiste à déployer dans le milieu à étudier un dispositif (cf. figure I. 12) en téflon ($\varnothing=2.5$ cm) constitué de deux parties : un piston et un couvercle muni d'une ouverture ($\varnothing=2$ cm).

Sur la partie supérieure du piston sont successivement placées une couche de gel imprégné de résine chélatante, une couche de gel « diffusif » et une membrane.

Des dispositifs existent également pour l'étude de la spéciation des métaux dans le compartiment sédimentaire. Le principe de la méthode est identique à la méthode DGT de la colonne d'eau, et seul le dispositif change. La figure I. 13 présente un schéma du type de dispositifs utilisés dans le sédiment.

Lorsque le dispositif est inséré dans le sédiment, il accumule grâce à la résine chélatante (Chelex 100®) les métaux dissous en fonction du temps et de façon contrôlée (diffusion à travers un gel de taille de pore définie).

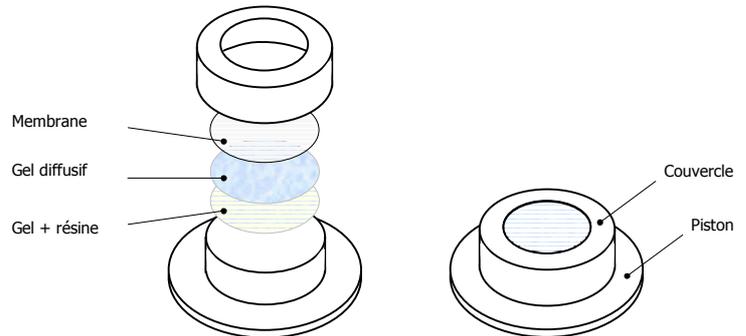


Figure I. 12 : Dispositif expérimental utilisé pour la technique DGT dans l'eau

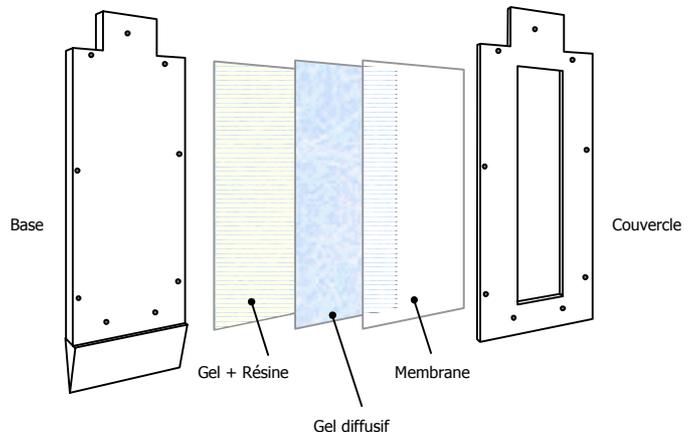


Figure I. 13 : Dispositif expérimental utilisé pour la technique DGT dans le sédiment (24 x 4 x 0,5 cm)

La méthode permet de mesurer les métaux à l'interface entre le dispositif et le sédiment. Pour un temps de déploiement défini, la concentration à l'interface dispositif/sédiment peut alors être reliée à la concentration effective de métal labile C_e (Zhang et al., 2001). C_e représente la concentration en métal provenant de la diffusion dans l'eau interstitielle et de la désorption des particules sédimentaires.

I. 3.5.3 Fraction chimique mesurée et exemples d'applications

La technique DGT permet de concentrer l'ensemble des cations métalliques présents en solution. Différents gels diffusifs peuvent être utilisés. Selon la taille de pores, le gel permet (ou ne permet pas) à certaines espèces chimiques de migrer vers la résine. Le gel le plus communément utilisé (agarose + acrylamide hydraté) laisse migrer (diffuser) librement les ions libres métalliques ainsi que les complexes inorganiques et les complexes organiques de petites tailles, excluant ainsi les particules et les colloïdes. Toutefois pour que les complexes métalliques soit mesurés, ils doivent se dissocier au cours du transport à travers la couche diffusive. Ce temps de dissociation est relativement court et de l'ordre de quelques minutes. Seuls les complexes capables de se dissocier rapidement sont alors retenus par la résine et donc mesurés. Par conséquent, la DGT permet la mesure des espèces métalliques dissoutes labiles dont la taille moléculaire est inférieure à celle des pores du gel diffusif.

Denney et al. (1999) ont utilisé cette technique dans plusieurs rivières australiennes. Les résultats montrent que la proportion de cuivre labile est différente d'un système à l'autre. Pour les rivières Ring et Stitt, la fraction de cuivre labile représente la totalité du cuivre dissous. Pour les rivières Savage et Que, la fraction de cuivre labile est de 30 et 50 % respectivement. Plus récemment, Reza Sangi et al. (2002) ont utilisé cette technique pour évaluer la biodisponibilité du cuivre et d'autres métaux dans un ruisseau soumis à une pression anthropique urbaine. Dans le cas du cuivre, la fraction labile a été évaluée à seulement 5 % en raison de sa forte complexation avec la matière organique. En outre, la fraction en cuivre labile la plus faible a été observée au cours d'un bloom algal, suggérant que des ligands organiques sont produits par les algues. Dans le cadre de travaux de surveillance d'écosystèmes côtiers (Webb and Keough, 2002), la technique DGT a pu mettre en évidence des concentrations en cuivre labile élevées ($> 2 \mu\text{g L}^{-1}$) dans les baies de Port Phillip et de Westernport (Australie). Ces concentrations dépassent les seuils autorisés par les normes de qualité australiennes pour l'eau. Enfin, la méthode DGT a également été testée dans le cadre de cette étude afin d'évaluer la fraction de cuivre biodisponible dans l'eau dans les mésocosmes (canaux expérimentaux simulant un écosystème aquatique d'eau douce) de l'INERIS (cf. partie II.)

I. 4 TECHNIQUE DE SPECIATION DES METAUX DANS LA PHASE PARTICULAIRE

I. 4.1 Introduction

L'évaluation de la biodisponibilité des métaux dans la phase particulaire (sédiment ou matières en suspension) est directement liée à la capacité des particules à libérer les métaux vers la phase dissoute. La mobilité du métal dépend principalement du type de liaison avec le sédiment ou les MES (Tack et Verloo, 1995 et références incluses). Afin d'évaluer cette mobilité, différents extractants peuvent être utilisés selon deux types d'approches : l'extraction séquentielle et l'extraction simple. L'extraction séquentielle consiste à utiliser un seul et même échantillon traité consécutivement par différents extractants. Mis à part des problèmes conceptuels liés à ce type d'extraction (non sélectivité des extractants, redistribution des éléments entre les phases durant l'extraction), la manipulation et la préparation des échantillons présentent certaines difficultés pratiques qui peuvent affecter le résultat de l'extraction. L'extraction simple consiste à fractionner l'échantillon et à traiter séparément chaque fraction par les extractants. Le principal avantage réside dans le fait qu'il n'y a aucun risque de perte d'échantillon relative à la consécutive des autres étapes d'extraction. En outre, les résultats peuvent être obtenus plus rapidement car les extractions peuvent être réalisées simultanément. Toutefois pour réaliser ce type d'extractions, une quantité d'échantillon plus importante est nécessaire et les erreurs liées à l'hétérogénéité de l'échantillon ne peuvent être négligées.

Depuis deux décennies, les méthodes d'extractions simple et séquentielle ont été largement utilisées. Tack et Verloo (1999) ont récemment montré que les extractions simple ou séquentielle donnent des résultats similaires. Seul le manque d'uniformité dans les schémas d'extractions ne permet ni de comparer les résultats obtenus à travers les différentes études, ni de valider les procédures puisque la signification analytique est directement liée au schéma utilisé.

I. 4.2 Mobilité des métaux dans la phase particulaire ; paramètres influant

La mobilité des métaux dans la phase particulaire se traduit par le passage de la forme dissoute aux formes colloïdale et particulaire, et inversement. La salinité, le pH, la dureté ou encore la teneur en matière organique sont des paramètres physico-chimiques qui influencent ce type d'échange. L'influence de la salinité, du pH, de la matière organique et de la dureté a déjà été discutée dans le paragraphe (I. 1.3). Dans le sédiment, d'autres paramètres sont également importants comme en particulier le potentiel redox. Certaines réactions peuvent induire des variations importantes de ce paramètre. La dégradation de la matière organique entraîne notamment la consommation des oxydants présents dans le milieu.

La figure I. 14 présente un schéma récapitulatif des réactions chimiques mises en jeu :

Les réactions mises en jeu dans le processus de dégradation de la MO sont souvent associées au potentiel d'oxydo-réduction (ou potentiel redox, E_h en mV). Ce paramètre mesure l'aptitude à l'oxydation (ou à la réduction). Il permet de déterminer les possibilités de dissolution ou de précipitation de divers composés présents dans le sédiment. Les conditions redox ont une influence significative sur la solubilité de certains métaux comme le fer ou le manganèse. D'autres métaux, qui ne sont normalement pas affectés par les variations de E_h , voient alors leur mobilité indirectement influencée par la présence de ligands complexants comme les oxydes de fer ou de manganèse ou encore par la présence de sulfures.

Ainsi, en conditions réductrices, l'excès de sulfures limite la mobilité des métaux et ils coprécipitent avec le fer pour donner des sulfures de fer (FeS et FeS_2). Lorsque les conditions deviennent oxydantes, les sulfures sont oxydés et les métaux relargués sous forme dissoute. Lors de l'oxydation du fer réduit, les métaux peuvent à nouveau coprécipiter avec les oxydes de fer ou de manganèse.

Certaines réactions consécutives à la dégradation de la MO engendrent aussi des variations de pH. La dénitrification par exemple est associée à une diminution du pH. Ce phénomène peut alors contribuer à la dissolution des carbonates générant ainsi la libération des métaux complexés avec ce ligand. Dans les sédiments anoxiques, la réduction des sulfates (SO_4^{2-}) en sulfures (S^{2-}) entraîne quant à elle une augmentation du pH.

La réactivité des particules est également un paramètre important influant sur la mobilité des métaux. Elle est liée à la capacité d'échange cationique (CEC) et à la surface spécifique des particules ($m^2 g^{-1}$). La CEC est fonction de l'importance et de la répartition des charges sur la structure des particules. Elle est aussi fonction des cations adsorbés (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , etc.).

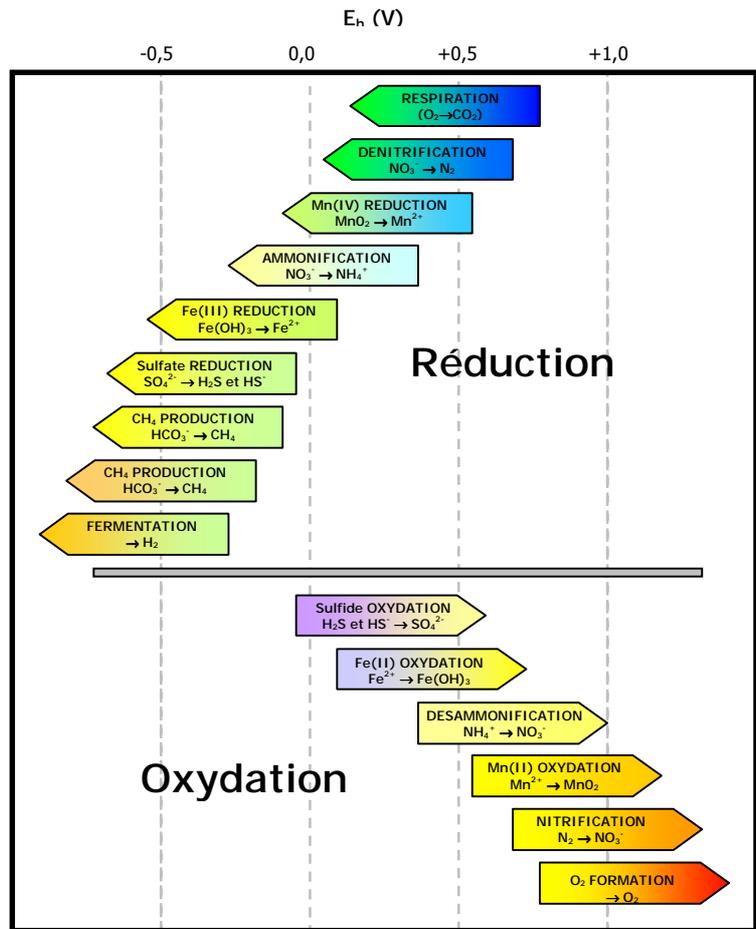


Figure I. 14 : Séquence d'oxydation de la matière organique (d'après Stumm et Morgan 1981)

I. 4.3 Les différents types d'agents extractants pour la phase particulaire

Dans la littérature, un grand nombre d'agents extractants pour l'évaluation des différentes associations métal / solide ont été proposés. Selon le type d'extractant, la fraction soluble obtenue peut alors être définie comme :

- soluble dans l'eau,
- facilement échangeable,
- liée aux carbonates ou acido-soluble,
- facilement réductible,
- liée à la matière organique ou oxydable,
- liée aux sulfures,
- résiduelle.

Les agents extractants les plus fréquemment utilisés sont répertoriés dans le tableau I. 9. Ce tableau associe les différentes solutions extractantes et les fractions opérationnelles correspondantes.

Tableau I. 9 : Agents extractants et fractions correspondantes

Fraction	Agent extractant
Soluble dans l'eau	H2O
Echangeable	0,01-0,1 M CaCl ₂ 1 M CH ₃ COONH ₄ (pH 7) 0,1 M NH ₄ NO ₃ 0,1 M Ca(NO ₃) ₂ 0,1 M NaNO ₃ 0,3 M AlCl ₃ 0,1 M BaCl ₂ 1 M MgCl ₂ 1 M Mg(NO ₃) ₂ (pH 7)
Liée aux carbonates Acido soluble	0,43 M CH ₃ COOH 0,11 M CH ₃ COOH 0,1-1 M HCl 1 M CH ₃ COONa (pH 5, CH ₃ COOH)
Sensible aux phénomènes de complexation	0,01-0,05 M EDTA 0,005 M DTPA CH ₃ COONH ₄ -CH ₃ COOH / EDTA
Facilement ou modérément réductible	0,1-0,5 M NH ₂ OH-HCl (pH 1,5, HNO ₃) (NH ₄) ₂ C ₂ O ₄ H ₂ C ₂ O ₄
Liée à la matière organique et aux sulfures	8,8 M H ₂ O ₂ + 1 M CH ₃ COONH ₄ (pH2, HNO ₃) 0,7 M NaClO (pH 9,5) K ₄ P ₂ O ₇ ou Na ₄ P ₂ O ₇
Résiduelle	HF-HCl après calcination à 550°C

Source : Sahuquillo et al. (2003) et références incluses

I. 4.3.1 Exemples de schéma d'extraction

Différents schémas d'extraction ont été développés (Tessier et al., 1979 ; Salomons et Förstner, 1980 ; Thomson et al., 1980 ; Meguellati et al., 1983 ; Kersten et Förstner., 1987 ; Quevauviller et al., 1993). Dans ces schémas, la fraction dite « échangeable » est considérée comme la fraction la plus biodisponible (Langston et al., 1999). A l'inverse, la fraction dite « résiduelle » représente la fraction la moins biodisponible. Cette fraction comprend la part de métal incorporée à la matrice minérale. Cette dernière n'étant pas d'origine anthropique.

Dans ce paragraphe notre attention se portera plus particulièrement sur deux schémas en raison de leur fréquence d'utilisation : le schéma de Tessier et al. (1979) et le schéma du BCR (Community Bureau of Reference devenu Standards, Measurements and Testing Programme).

I. 4.3.1.1 Schéma d'extraction de Tessier et al. (1979)

Tessier et al. (1979) ont développé un schéma d'extraction séquentielle encore largement utilisé aujourd'hui (Tack et Verloo, 1999 ; Gümgüm et Öztürk, 2001). Ce schéma permet de distinguer différentes fractions dont :

- la fraction **échangeable** : cette fraction correspond aux éléments métalliques adsorbés sur les particules sédimentaires. Des changements dans la composition ionique des eaux naturelles peuvent conduire facilement à des réactions de sorption/désorption des métaux sur les particules,
- La fraction **acido-soluble** : cette fraction représente la quantité de métal dont la stabilité des liaisons peut être affectée par des changements de pH. Dans le sédiment c'est principalement la fraction de métal liée aux carbonates,
- La fraction **réductible** : cette fraction est principalement constituée d'oxydes de fer et de manganèse. Dans des conditions réductrices, ces oxydes sont dissous et libèrent les métaux qui leurs sont associés,
- La fraction **oxydable** : les métaux peuvent être liés à la matière organique vivante, détritique ou enrobant les particules minérales. La dégradation de cette matière organique oxydable peut aboutir à une libération des métaux dans la phase soluble,
- La fraction **résiduelle** ; cette fraction contient les métaux inclus dans la structure cristalline des minéraux constitutifs du sédiment. Dans des conditions naturelles, ces métaux ne peuvent pas être libérés dans la phase dissoute.

Le schéma complet d'extraction pour 1 gramme de sédiment est présenté dans le tableau I. 10.

Tableau I. 10 : Schéma d'extraction de Tessier et al. (1979)

Fraction	Condition d'extraction
Echangeable	MgCl ₂ 1M 8mL (pH 7) 1h à 20°C + agitation continue
Acido-soluble	CH ₃ COONa 1M + CH ₃ COOH (0,6 M) 8 mL (pH 5) 5h à 20°C + agitation continue
Réductible	NH ₂ OH, HCl (0,04 M) 20mL dans CH ₃ COOH 25% (v/v) 6h à 98°C + agitation ponctuelle
Oxydable	HNO ₃ 0,02 M 3 mL+ H ₂ O ₂ 30 % 2mL (pH 2,HNO ₃) 2h à 85°C + agitation ponctuelle H ₂ O ₂ 30 % 3mL (pH 2, HNO ₃) 3h à 85°C + agitation ponctuelle NH ₄ COOH 3,2 M 5 mL dans HNO ₃ 20% (v/v)+ 7mL H ₂ O 0,5 h à 20°C
Résiduelle	Attaque HF-HCl après calcination à 550°C

I. 4.3.1.2 Schéma d'extraction du BCR

Ce schéma d'extraction a été développé par le BCR (Ure et al., 1993). Il a pour objectif d'uniformiser les procédures d'extraction et ainsi de faciliter la comparaison des données sur le plan européen. Il est composé de trois étapes définissant les fractions suivantes : (1) la fraction « échangeable » soluble dans l'eau et en milieu acide, (2) la fraction « réductible » (métaux généralement liés aux oxydes de fer et de manganèse) et (3) la fraction « oxydable » (métaux liés à la matière organique et aux sulfures).

Le schéma complet d'extraction pour 1 gramme de sédiment est présenté dans le tableau I. 11 ci dessous :

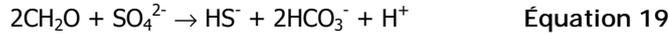
Tableau I. 11 : Schéma d'extraction du BCR

Fraction	Condition d'extraction
Echangeable, soluble dans l'eau et en milieu acide	CH ₃ COOH 0,11 M 40 mL 16 h à 20°C + agitation continue
Réductible	NH ₂ OH, HCl (0,1 M) 40 mL 16 h à 20°C + agitation continue
Oxydable	H ₂ O ₂ 8,8 M 10 mL (pH 2, HNO ₃) 85°C jusqu'à évaporation H ₂ O ₂ 8,8 M 10 mL (pH 2, HNO ₃) 85°C jusqu'à quasi évaporation NH ₄ COOH 1,0 M 50 mL (pH 2, CH ₃ COOH) 16 h à 20°C + agitation continue

Si la concentration en métal total a également été déterminée, il est possible d'évaluer la fraction « résiduelle » en métal. Cette dernière représente la différence entre la concentration en métal total et les concentrations des fractions définies dans le schéma d'extraction.

I. 4.3.2 Méthode des AVS / SEM (sédiment uniquement)

L'AVS (Acid Volatile Sulfide) est défini comme un paramètre représentant la concentration des différentes formes chimiques à base de soufre (S^{2-} , FeS, $FeHS^+$, Fe_3S_4 , MeS, etc.) dans les sédiments. Cette fraction, principalement générée par la réduction des sulfates en milieu anoxique (équation 19), joue un rôle important dans la distribution des métaux dans le sédiment.



Les sulfures présents dans l'eau interstitielle peuvent précipiter avec les ions Fe^{2+} (équation 20) redistribués vers l'eau interstitielle suite à la réduction des oxydes de fer.



Les métaux divalents tels que le Cd, Cu, Cr, Pb, Ni ou Zn sont caractérisés par des produits de solubilité avec les sulfures plus faibles que celui du Fe. Dans un milieu riche en sulfures, ils forment des précipités stables et se substituent aux ions Fe^{2+} dans les précipités (FeS) déjà existants. La formation de sulfures métalliques dans les sédiments anoxiques est traduite par l'équation 21 (Di Toro et al., 1990) :



où Me^{2+} représente les espèces métalliques divalentes. Les métaux se retrouvent alors liés au sédiment et retirés de l'eau interstitielle. Les travaux de Di Toro et al. (1992) ont montré que dans la plupart des sédiments anoxiques, les AVS jouent un rôle majeur au niveau de la biodisponibilité des métaux. Ce processus engendre ainsi une diminution de la toxicité du sédiment.

La fraction d'AVS est définie (de façon opérationnelle) comme la quantité de sulfures capable de se volatiliser au cours d'une extraction à froid par une solution d'acide chlorhydrique (1N) (Morse et al., 1987 ; van Griethuysen et al., 2002 et références incluses). Les métaux divalents extraits simultanément au cours de cette étape d'extraction sont désignés sous l'appellation SEM (Simultaneously Extracted Metal). Le rapport entre ΣSEM (représentant la somme des différents métaux extraits) et AVS donne une indication sur la potentielle toxicité du sédiment (Di Toro et al., 1990). Lorsque le rapport $\Sigma SEM/AVS$ est inférieur à 1, les métaux sont potentiellement tous associés aux sulfures dans la phase particulaire et aucune toxicité n'est généralement observée dans ces sédiments (Ankley et al., 1991 ; Ankley et al., 1996). La différence entre SEM et AVS est aussi parfois utilisée (Grabowski et al., 2001). Elle permet, en raison de la stochiométrie de la réaction (1:1 pour les métaux divalents), d'évaluer la capacité de piégeage encore disponible (valeur négative) ou l'importance de dépassement de la capacité de piégeage (valeur positive). Cela permet dans ce dernier cas d'envisager l'importance liée à la présence d'autres ligands sur la distribution des métaux (Hansen et al., 1996).

Pour des sédiments oxygènes, cette méthode (AVS/SEM) ne devrait pas être utilisée puisqu'en principe, il n'y a pas ou très peu d'AVS dans ces conditions. L'hypothèse selon laquelle les AVS piègent les SEM n'a donc pas lieu d'être émise. Malgré tout, si la méthode est utilisée, le rapport SEM/AVS sera vraisemblablement très largement supérieur à 1 (AVS proche de 0). La méthode devrait alors toujours conduire à une évaluation positive de la toxicité des sédiments. La distribution des métaux étant alors contrôlée par d'autres propriétés du sédiment, il est possible que ce ne soit pas toujours le cas en fonction, en particulier, des ligands présents dans le milieu. A titre d'exemple, les métaux peuvent copécipiter avec les oxydes de fer en milieu oxygène. Ils ne seront donc pas biodisponibles.

Par ailleurs, si le rapport $\Sigma\text{SEM}/\text{AVS}$ apparaît très approprié pour prévoir la non toxicité du sédiment, les travaux de Di Toro et al. (2000) montrent que dans certains cas, il peut aussi s'avérer que le rapport $\Sigma\text{SEM}/\text{AVS}$ soit dans l'incapacité de prévoir correctement la toxicité du sédiment. Ceci est en partie lié à la teneur en matière organique qui joue aussi un rôle important dans le partage des métaux entre la phase dissoute et particulaire. La différence ($\Sigma\text{SEM}-\text{AVS}$) peut alors être normalisée à l'aide de la fraction en carbone organique (f_{OC}). L'incertitude liée à la prédiction sur la toxicité est alors largement réduite.

Finalement, il est également important de souligner qu'une reoxydation d'un sédiment anoxique peut conduire à la réaction suivante :



Des processus de bioturbation ou de remise en suspension peuvent conduire à une oxydation locale du sédiment, engendrer la libération de métal sous forme ionique et donc augmenter localement la biodisponibilité des métaux.

I. 5 Synthèse

L'évaluation du risque associé à la présence des métaux dans les milieux aquatiques est directement liée à la biodisponibilité de ces éléments vis à vis des organismes vivants. La détermination de la biodisponibilité nécessite la connaissance des différentes formes chimiques (spéciation) sous lesquelles les métaux se trouvent dans le milieu. La phase analytique de séparation et de détermination des différentes formes chimiques des métaux représente une étape essentielle dans le processus d'évaluation du risque. A ce jour, différentes techniques analytiques existent pour déterminer la spéciation des métaux dans les milieux aquatiques aussi bien dans la phase dissoute que particulaire.

I. 5.1 Spéciation des métaux dans la phase dissoute

Dans la phase dissoute (échantillon d'eau filtré à 0,45 µm), les techniques électrochimiques sont largement utilisées. Parmi les méthodes potentiométriques, l'utilisation des électrodes ioniques spécifiques (ISE - Ionic specific Electrode) représente sans doute l'une des méthodes électrochimiques les plus attractives. Bien que ce type d'électrodes n'existe que pour quelques métaux (cuivre, cadmium, argent, fer par exemple), ces méthodes permettent de mesurer spécifiquement les ions libres en solution. Malheureusement, la mise en œuvre de ces électrodes, ainsi que leurs calibrations sont délicates, contraignantes et discutables à des niveaux de concentrations en métaux présents dans les milieux naturels (Limite Détection (LD) en ion libre $\approx 10^{-11}$ à 10^{-15} M sous certaines conditions expérimentales).

Les techniques voltamétriques, et en particulier les méthodes à impulsion et redissolution, semblent s'imposer comme les méthodes de référence pour la spéciation en électrochimie. Ces techniques utilisent en général une électrode de mercure sous forme de goutte ou sous forme de film déposé sur une électrode tournante en platine, en graphite ou en carbone vitreux. Ces méthodes présentent l'avantage d'être très sensibles (LD $\approx 10^{-11}$ M). Combinées avec une étape de préconcentration, des concentrations plus faibles peuvent être mesurées. Les espèces mesurées sont les ions métalliques libres en solution, ainsi que tous les complexes métalliques capables de se dissocier à la surface de l'électrode lors de la mesure. Ces complexes métalliques sont dits « labiles ». Les espèces chimiques considérées comme labiles sont le plus souvent les complexes liés aux groupements carbonates et hydroxydes ainsi que certains complexes organiques de petite taille. Il est donc très difficile de déterminer exactement quelles sont les formes chimiques mesurées par les méthodes voltamétriques. Toutefois, il est généralement admis que la concentration en métal labile est très proche de la concentration en métal biodisponible. En effet, un complexe labile capable de se dissocier à la surface de l'électrode serait aussi capable de se dissocier à la surface des cellules des organismes vivants, permettant ainsi l'assimilation de l'ion libre. Finalement, il faut aussi souligner que la présence de matière organique en solution affecte généralement de façon significative les mesures des méthodes voltamétriques (déformation et déplacement des signaux de mesures).

D'autres approches non électrochimiques peuvent également être envisagées pour l'étude de la spéciation des métaux dans la phase dissoute. Il existe différentes méthodes dont, certaines comme la compétition de ligands, sont très peu utilisées en raison de leur complexité d'utilisation. Une séparation physique basée sur la taille des particules (présentes dans la phase dissoute) peut aussi être réalisée grâce à des techniques d'ultrafiltration, de centrifugation ou de dialyse. Toutefois, ces méthodes viennent souvent en complément d'autres techniques et ceci plus dans l'optique d'affiner les résultats que de réellement déterminer des fractions biodisponibles.

La principale alternative aux méthodes électrochimiques est l'utilisation de résines. Il existe différents types de résines : échangeuses d'ions, hydrophobes et chélatantes. Les résines échangeuses d'ions (de type cationique) permettent de fixer les cations métalliques. Les ions sont ensuite libérés par une solution éluante fortement acide. Malheureusement, dans les eaux naturelles, la présence de larges quantités d'autres cations (Ca^{2+} par exemple) engendre d'importants phénomènes de compétition. Cette séparation basée uniquement sur la charge ionique manque de sélectivité et ne permet pas de mettre en évidence des relations avec la toxicité vis à vis des organismes vivants.

Les résines hydrophobes permettent d'isoler la fraction métallique liée à la matière organique. Cette dernière est retenue sur la colonne à la différence de la fraction inorganique. Ces résines ne sont pas souvent utilisées car elles ne donnent pas une estimation directe de la fraction biodisponible.

Finalement ce sont les résines chélatantes qui sont les plus utilisées car elles permettent d'isoler la fraction labile des métaux grâce à des groupements fonctionnels à fort pouvoir complexant. Les résines greffées de groupements complexants de type imminodiacétate (Chelex 100®) forment des liaisons de coordination avec les métaux et présentent très peu d'affinité pour les métaux alcalins (Na^+ , K^+). Utilisées en batch ou en colonne, ces résines permettent de concentrer la fraction de métal labile, présent dans la phase dissoute, sur la résine. La fraction de métal complexé est ensuite récupérée à l'aide d'un éluant acide. Toutefois, comme les autres méthodes, les résines chélatantes de type imminodiacétate souffrent de quelques défauts. Leur capacité complexante serait sensiblement supérieure à celle présente dans le milieu naturel. Les résultats mettant en relation la fraction de métal labile obtenue par cette méthode et les effets de toxicité sur les organismes vivants ne sont pas toujours en accord. Dans ce contexte, d'autres groupements fonctionnels complexants à base de thiols sont également utilisés. Le pouvoir de séparation de ces résines (ALSA® par exemple) semble générer des fractions mieux corrélées à la réponse biologique liée à la présence de métaux en milieu aqueux.

Certains modèles mathématiques constituent également un autre mode de détermination de la spéciation des métaux en phase dissoute. Ils permettent de calculer (à l'état d'équilibre le plus souvent) les concentrations des différentes formes d'un élément métallique en solution à partir de sa concentration totale et des principaux paramètres physico-chimiques de l'échantillon. Parmi les logiciels de spéciation les plus connus, on retrouve MINEQL+, MINTEQA2, HYDRA/MEDUSA ou encore WHAM.

Dans les eaux naturelles, les phénomènes de complexation jouent un rôle très important vis à vis de la répartition des différentes formes des métaux. Cette répartition est calculée à partir de constantes thermodynamiques. La principale difficulté associée à l'utilisation de ces modèles réside alors dans la connaissance de ces constantes thermodynamiques. Ces dernières sont très difficiles à déterminer et en particulier pour les ligands organiques présents dans les milieux aquatiques.

Des schémas de spéciation (Batley et Florence, 1978 ; Figura et McDuffie, 1980 ; Florence, 1986) ont été développés en combinant les différentes approches citées précédemment. Bien qu'ils ne permettent toujours pas de déterminer la concentration de formes chimiques métalliques précises, ces schémas définissent des fractions « opérationnelles » caractéristiques : ASV labile, labile lié (organique ou inorganique), fortement lié ou encore liposoluble. La détermination de ces fractions doit permettre de mieux évaluer la biodisponibilité des métaux. Dans cette optique, une nouvelle technique a aussi été développée : la méthode du « Diffusive Gradient in Thin film » appelée couramment DGT. Cette dernière associe la technique de filtration sur gel afin d'opérer une séparation par taille et la technique de complexation sur résine chélatante qui permet de déterminer la fraction labile des métaux en solution. Outre ce caractère innovant, les mesures sont réalisées in situ, présentant ainsi un avantage, par rapport aux autres techniques de spéciation, sur le plan du conditionnement et d'une éventuelle contamination. Par ailleurs, différents gels diffusifs peuvent être utilisés permettant d'affiner le critère de séparation des complexes migrant vers la résine. L'utilisation de cette méthode est de plus en plus courante en raison de son efficacité et de sa simplicité d'utilisation. Elle permet de fournir une estimation du métal biodisponible, tout en intégrant les variations de concentration en métaux au cours de son temps d'exposition. La technique a également été adaptée à l'étude de la spéciation de métaux dans les eaux interstitielles du compartiment sédimentaire.

1. 5.2 Spéciation des métaux dans la phase particulaire

La phase particulaire est capable de transporter, stocker et recycler les métaux à travers les matières en suspension (MES) et le sédiment. Bien que les métaux particuliers soient difficilement assimilables (excepté par ingestion), les particules peuvent libérer (désorption ou dissolution) les métaux dans la colonne d'eau, à l'interface eau-sédiment ou dans l'eau interstitielle. Les MES sont généralement échantillonnées à l'aide de techniques de filtration ou de centrifugation. Les particules sédimentaires et l'eau interstitielle sont généralement séparées par aspiration, centrifugation ou pressage (squeezing).

La biodisponibilité éventuelle des métaux dans la phase particulaire est directement liée à la mobilité des métaux et donc aux types de liaison existant entre les métaux et les particules. Il s'agit alors, à travers des extractions simples ou séquentielles, d'évaluer la capacité des particules à pouvoir libérer les métaux en solution. Différents extractants peuvent être utilisés et, selon leur action, la fraction extraite peut être définie comme : soluble dans l'eau, échangeable, liée aux carbonates, réductible, liée à la matière organique, liée aux sulfures et résiduelle. Les fractions de métal les plus biodisponibles sont celles solubles dans l'eau et échangeables. A l'inverse la fraction métallique

résiduelle n'est généralement pas biodisponible. Les autres fractions ne sont pas directement biodisponibles, mais peuvent toutefois le devenir en fonction des conditions observées dans le milieu (variation du pH ou de la concentration en oxygène par exemple). A ce jour, plusieurs schémas d'extraction existent, mais le schéma de référence reste celui développé par Tessier et al. (1979). Pour pallier le manque d'uniformité des schémas qui ne permettent ni de comparer les résultats entre eux ni de valider les protocoles, un nouveau schéma d'extraction a été récemment développé à l'initiative de la Communauté européenne via le BCR (Community Bureau of Reference). Ce schéma est très similaire à celui de Tessier et al. (1979). Par ailleurs, l'approche AVS / SEM qui consiste à extraire les composés à base de sulfures et les métaux associés dans les sédiments anoxiques est de plus en plus utilisée pour l'évaluation de la non toxicité des sédiments.

I. 6 Conclusions et perspectives

Il existe un nombre important de techniques dédiées à l'étude de la spéciation des métaux aussi bien dans la phase dissoute que dans la phase particulaire. Certaines méthodes, comme la récente technique du « Diffusive Gradient in Thin film – DGT », apparaissent plus attractives que d'autres en raison de leur efficacité ou de leur simplicité d'utilisation.

Il est aujourd'hui reconnu que la forme de métal la plus toxique et directement biodisponible pour les organismes vivants est l'ion libre (Me^{n+}). D'autres formes chimiques métalliques peuvent aussi être biodisponibles : les complexes méthylés, les complexes métal-hydroxyde, les complexes métal-carbonate ainsi que certains complexes organiques. A l'exception des électrodes ioniques spécifiques qui mesurent exclusivement la concentration en ions libres, les méthodes de spéciation ne permettent pas de quantifier des formes chimiques métalliques précises. Les fractions de métal quantifiées comprennent toujours différentes formes chimiques regroupées sous une dénomination spécifique : labile, échangeable ou résiduelle par exemple. Les différentes formes chimiques présentes dans une fraction de même dénomination peuvent par ailleurs sensiblement varier selon la méthode utilisée. Il est donc très difficile de comparer des résultats de fractions dites similaires (par exemple labiles) mais déterminées par des méthodes différentes. Dans la phase dissoute en particulier, aucune étude approfondie n'a jusqu'à présent été réalisée afin de comparer les différentes méthodes de spéciation existantes en relation avec la toxicité des métaux sur les organismes vivants. La complexité biogéochimique des milieux aquatiques rend cette tâche délicate. En particulier, une connaissance accrue en ce qui concerne la nature de la matière organique apparaît nécessaire (cf. Legoff et Bonnomet, 2003). Finalement, la définition d'un protocole unique, comme cela a été réalisé dans le sédiment par le BCR, devrait être entreprise dans la phase dissoute. Cela contribuerait d'une part, à uniformiser les différents protocoles existants et, d'autre part, à faciliter l'interprétation des résultats. Par ailleurs, cela permettrait également, au niveau de la surveillance des métaux dans les milieux aquatiques, de définir de nouvelles stratégies plus adaptées que celles généralement mises en place dans le cadre des programmes de surveillance (quantification du métal total dans les sédiments et eaux brutes).

Partie II - Mesures de spéciation dans les eaux des mésocosmes de l'INERIS

II. 1 Contexte

Dans l'optique d'améliorer l'évaluation des risques liés à la présence de cuivre dans les écosystèmes aquatiques, l'INERIS a développé dans le cadre de son programme de recherches du Budget Civil de Recherche et de Développement (BCRD), une expérimentation de contamination en continu de mésocosmes (Morin et Thybaud, 2003).

Ce rapport présente les résultats des mesures de spéciation du cuivre réalisées au cours de cette expérimentation. Des mesures par différentes techniques ont été réalisées (DGT et électrochimie). Des tests en laboratoire réalisés avec la méthode DGT sont également présentés. Les objectifs principaux étaient de :

- tester la méthode DGT (cinétique, reproductibilité, comparaison de différents type de gel),
- comparer les mesures DGT avec d'autres méthodes permettant une estimation du cuivre labile ou libre (ASV, ISE).

Le deuxième chapitre de la partie II de ce rapport est consacré aux matériels et méthodes utilisés pour les différentes mesures. Ensuite les résultats sont présentés dans le chapitre 3. Une synthèse ainsi que les conclusions sont respectivement présentées dans les quatrième et dernier chapitres de cette partie.

II. 2 Matériels et méthodes

II. 2.1 Présentation des mésocosmes

Les mésocosmes sont constitués de 12 canaux rectilignes de 20 mètres de longueur et de 1 m de largeur. Chaque canal est composé de deux zones de même longueur mais dont la profondeur varie (30 cm en amont et 70 cm en aval). L'eau alimentant les canaux provient du réseau de distribution d'eau potable. Le débit d'alimentation des canaux est de $0,8 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$. Ce débit assure une vitesse de courant de $0,08$ et $0,04 \text{ cm s}^{-1}$ en amont et aval respectivement (Morin et Thybaud, 2003).

La contamination en cuivre est réalisée à l'aide de sulfate de cuivre (CuSO_4) et de manière continue. Douze canaux sont utilisés par groupe de trois réplicats caractérisés par des concentrations en cuivre de 0 , 5 , 25 et $75 \mu\text{g L}^{-1}$.

II. 2.2 DGT – Diffusive Gradient in Thin Film

Le principe théorique de fonctionnement de la méthode DGT ainsi que le descriptif des dispositifs sont présentés dans la partie I. (§ I. 3.5). Les dispositifs ont été achetés à DGT Research Ltd (Skelmorlie, Quernmore, Lancaster, Royaume Uni) et conservés jusqu'au déploiement selon les recommandations émises par le fabricant.

II. 2.2.1 Protocole d'expérimentation dans les mésocosmes

Les dispositifs DGT ont été déployés le 16 septembre 2003 dans 4 canaux représentatifs des différents degrés de contamination : 0, 5, 25 et 75 µg L⁻¹ (cf. fig II. 1). Trois types de DGT ont été utilisés afin de tester leur sélectivité.

Le premier type (DGT1/2) est constitué d'un gel diffusif d'épaisseur de 0,8 mm avec une taille de pores réduite (restricted gel – diffusion des complexes inorganiques labiles uniquement). Le second type de DGT (DGT3) est constitué d'un gel diffusif d'épaisseur de 1,6 mm avec une taille de pores réduite (restricted gel). Enfin, le dernier type de DGT (DGT4) est constitué d'un gel diffusif d'épaisseur de 0,8 mm avec une taille de pores plus importante (open gel – permet la diffusion des complexes inorganiques et organiques de petites tailles).

Dans chaque canal, quatre DGT (deux DGT1/2, un DGT3 et un DGT4) ont été déployés à 20 cm de profondeur et à différentes positions entre l'amont et l'aval (5, 10, 15 et 19 m) perpendiculairement à la longueur du canal. Les temps de déploiement ont varié approximativement de 1 jour à 10 jours en fonction des concentrations des canaux : plus la concentration en cuivre dans le canal était élevée, plus le temps de déploiement des DGT dans le canal était court. Dans le canal non contaminé et celui contaminé à hauteur de 5 µg Cu L⁻¹, un DGT (1/2) ainsi que les DGT (3) et (4) ont été déployés pendant 6 jours. Le second DGT (1/2) a été mis en place pendant 10 jours. Dans le canal contaminé à 25 µg Cu L⁻¹, un DGT (1/2) ainsi que les DGT (3) et (4) ont été déployés pendant 2 jours. Le second DGT (1/2) a été mis en place pendant 6 jours. Enfin, dans le canal contaminé à 75 µg Cu L⁻¹, un DGT (1/2) ainsi que les DGT (3) et (4) ont été déployés pendant 1 jour. Le second DGT (1/2) a été mis en place pendant 2 jours.

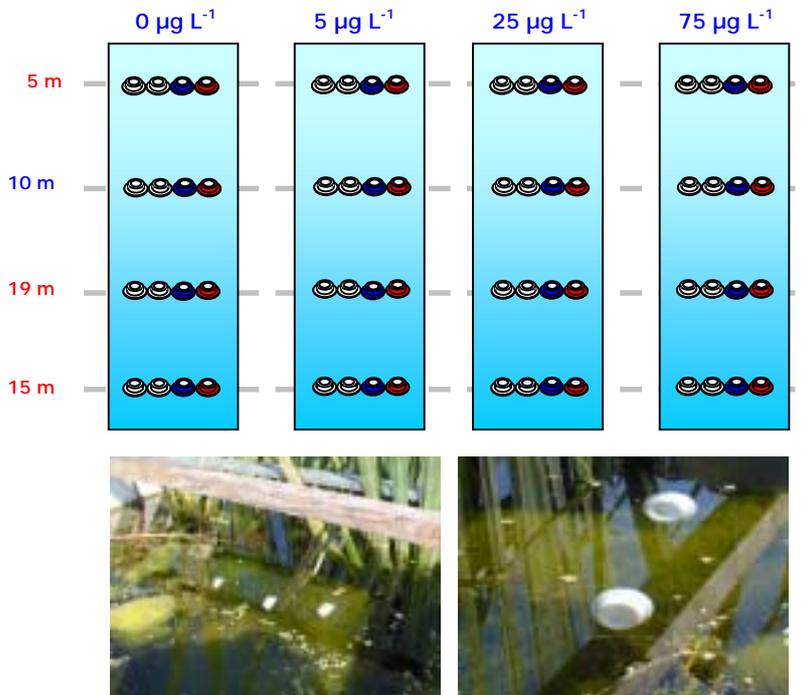


Figure II. 1 : Schéma d'expérimentation et photographies des DGT dans les mésocosmes.
 (DGT1/2 0,8 mm / restricted gel; DGT3 1,6 mm / restricted gel; DGT4 0,8 mm / open gel)

Le tableau II. 1 résume les temps précis de déploiement des dispositifs.

Tableau II. 1 : Temps de déploiement (en s) des dispositifs DGT

	CANAL 4 (0 µg L ⁻¹)				CANAL 3 (5 µg L ⁻¹)			
	<i>DGT1/2</i>	<i>DGT1/2</i>	<i>DGT3</i>	<i>DGT4</i>	<i>DGT1/2</i>	<i>DGT1/2</i>	<i>DGT3</i>	<i>DGT4</i>
5 m	518460	852840	529380	526500	507660	852780	518700	516120
10 m	518700	852960	529380	526680	508020	852900	518700	516240
15 m	518520	852720	529500	526800	507600	852780	518760	516360
19 m	518760	852840	529560	526320	507840	852900	518760	515940
	CANAL 5 (25 µg L ⁻¹)				CANAL 2 (75 µg L ⁻¹)			
5 m	172260	517980	182940	180900	84360	172320	95040	93540
10 m	172320	518040	183120	181080	84432	172440	95040	93600
15 m	172320	517980	183060	181200	84780	172380	95160	93780
19 m	172500	518100	183060	181380	85020	172440	95400	94140

Après leur extraction du milieu, les dispositifs sont rincés abondamment à l'eau Milli-Q et immédiatement placés dans des sacs plastique propres de type zip lock®. Les DGT sont ensuite rapidement amenés au laboratoire où le couvercle de chaque dispositif est soigneusement retiré. La membrane, le gel diffusif et le gel contenant la résine sont alors séparés à l'aide de pinces en plastique. Le gel contenant la résine chélatante est placé dans un vial en polyéthylène de 5 mL contenant 1 mL d'une solution à 1 M d'acide nitrique (Merck Suprapur®). L'échantillon ainsi obtenu repose à température ambiante au moins une nuit pour permettre l'extraction du cuivre avant analyse.

Par ailleurs, un prélèvement d'eau destinée à la mesure du cuivre total dissous est réalisé lors de la mise en place et du retrait de chaque dispositif DGT : (20 cm en dessous de la surface à 5, 10, 15 et 19 m de chacun des quatre canaux dans des tubes de 50 ml en polypropylène Sarstedt). Ces échantillons d'eau sont filtrés et acidifiés à pH 2 (HNO₃, Merck Suprapur®) et analysés par absorption atomique (cf. § I. 2.2.3).

II. 2.2.2 Protocole d'expérimentation DGT en laboratoire

Les expérimentations en laboratoire avaient pour but de s'assurer de la validité de la méthode DGT. Des tests de reproductibilité et des cinétiques ont été réalisés avec différents métaux dans différentes conditions (agitation, concentration en matière organique). Le tableau II. 2 résume les principales caractéristiques de ces expériences.

Tableau II. 2 : Description des expériences de DGT en laboratoire

Expériences en laboratoire	Principaux objectifs	Conditions opératoires
N°1 - Reproductibilité	Evaluer la reproductibilité de la méthode ; Contrôler la quantité de métal accumulée	Durée d'exp. : 4h Milieu : Eau Milli-Q ; 0,01 M NaNO ₃ sans agitation [Métal] : Cu = 9 µg L ⁻¹ Nbre de DGT : 3 Type de DGT : Open Gel 0,8 mm
N°2 – Expérience en aquarium	Evaluer l'influence de la matière organique sur la complexation du cuivre ; Incidence sur la réponse des DGT	Durée d'exp. : 24h et 48h Milieu : Eau du mésocosme ; 6 aquariums ; [DOC] ≈ 1, 3 et 6 mg L ⁻¹ ; avec ou sans poisson (Epinoche) et sans agitation [Métal] : Cu = 50 µg L ⁻¹ Nbre de DGT : 12 (2 par aquarium) Type de DGT : Open Gel 0,8 mm
N°3 – Cinétique 1	Valider la linéarité de l'accumulation en métal ; vérifier la stabilité de la réponse dans le temps	Durée d'exp. : 4h Milieu : Eau Milli-Q ; 0,01 M NaNO ₃ [Métal] : Cu ≈ 20 µg L ⁻¹ Nbre de DGT : 5 Type de DGT : Open Gel 0,8 mm
N°4 – Cinétique 2	Valider la linéarité de l'accumulation en métal ; vérifier la stabilité de la réponse dans le temps	Durée d'exp. : 216 h (9 jours) Milieu : Eau Milli-Q ; 0,01 M NaNO ₃ avec agitation [Métal] : Cd = 8 µg L ⁻¹ , Cu = 11 µg L ⁻¹ , Ni = 8,5 µg L ⁻¹ , Pb = 8,0 µg L ⁻¹ , Zn = 12,0 µg L ⁻¹ , Nbre de DGT : 10 Type de DGT : Restricted Gel 0,8 mm

II. 2.2.3 Méthodes de mesure pour la méthode DGT

Les analyses de cuivre ont été réalisées par absorption atomique, sauf pour la cinétique 2 où les analyses ont été réalisées par ICP-MS. En spectrométrie d'absorption atomique, l'appareil utilisé (SpectrAA 220 Zeeman – Varian) permet l'atomisation électrothermique (four) de l'échantillon et la correction de ligne de base (effet Zeeman). La limite de détection déterminée sur les blancs d'étalonnage est de 0,26 µg L⁻¹ (3σ). L'incertitude analytique a été calculée à différents niveaux de concentration à partir de répliqués de solutions étalons. Elle est estimée à 10, 4 et 1 % à des niveaux de concentrations de 10, 20 et 70 µg L⁻¹ respectivement. La mesure de matériel certifié (NIST 1640, eau naturelle de rivière) atteste de la qualité des analyses (concentration mesurée 86,9 ± 0,9 µg L⁻¹ – concentration certifiée 85,2 ± 1,2 µg L⁻¹).

En ICP-MS, l'appareil de mesure est de type ELAN 6100DRC avec chambre cyclonique et nébuliseur Meinhart. Les limites de détection et de quantification déterminées sur les blancs d'étalonnage ainsi que les résultats obtenus à partir des échantillons certifiés sont présentés dans le tableau II. 3.

Tableau II. 3 : Principales caractéristiques de la méthode ICP-MS

Caractéristiques de la méthode ICP-MS	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
Limite de détection en $\mu\text{g L}^{-1}$ (LD, 3σ , n=5)	0,07	0,13	0,2	0,4	0,2
Limite de quantification en $\mu\text{g L}^{-1}$ (LQ, 10σ , n=5)	0,1	0,4	0,3	0,4	0,3
% de recouvrement sur SRM1640 (NIST, eau naturelle de rivière)	100	93	92	91	112
% de recouvrement sur SLRS4 (NRCC, eau de rivière)	nd	93	99	nd	95
<hr/>					
Niveau de concentration ($\mu\text{g L}^{-1}$)	2,5	5	7,5	10	25
Incertitudes (%)	3	6	6	6	2

nd : non déterminé

II. 2.2.4 Calcul de la concentration en cuivre labile par DGT

Il s'agit dans un premier temps de déterminer la masse de cuivre (M) accumulée dans le dispositif DGT (voir aussi § I. 3.5). Cette masse peut être obtenue d'après l'équation suivante :

$$M = \frac{C_e (V_{\text{HNO}_3} + V_{\text{gel}})}{f_e} \quad \text{Équation 23}$$

C_e représente la concentration en cuivre dans la solution éluante (1M HNO_3) du gel contenant la résine, V_{HNO_3} le volume d'éluant, V_{gel} le volume du gel contenant la résine et enfin f_e le facteur d'éluion. V_{gel} et f_e sont respectivement égaux à 0,16 mL (pour un gel d'épaisseur 0,8 mm) et 0,8.

La concentration en métal (C_{DGT}) mesurée par le dispositif DGT se traduit par l'équation :

$$C_{\text{DGT}} = \frac{M\Delta g}{DtA} \quad \text{Équation 24}$$

Δg correspond à la somme des épaisseurs du gel diffusif (0,8 ou 1,6 mm) et de la membrane (0,13 mm), D et t représentent le coefficient de diffusion du métal dans le gel (cf. annexe 1) et le temps de déploiement du DGT. Enfin, A correspond à la surface d'exposition (3,14 cm^2). A noter que pour l'utilisation de gel diffusif à taille réduite des pores, les coefficients de diffusion doivent être corrigés d'un facteur égal à 0,7. L'ensemble de ces paramètres est résumé dans le tableau II. 4.

Tableau II. 4 : Principales caractéristiques des dispositifs DGT

	Caractéristiques des dispositifs DGT
Epaisseur du gel diffusif (mm)	0,8 ou 1,6
Volume du gel contenant la résine (mL)	0,16
Epaisseur de la membrane (mm)	0,13
Δg (mm)	Gel diffusif + membrane
Surface d'exposition (cm ²)	3,14
Temps de déploiement (t)	A définir
Coefficient de diffusion D (cm ² s ⁻¹)	Cf. annexe 1
Facteur de correction pour « restricted gel »	0,7 (à appliquer sur D)

II. 2.3 ASV – Anodic Stripping Voltametry

II. 2.3.1 Prélèvement

Les échantillons d'eau ont été prélevés le 9 septembre 2003 en duplicats à 20 cm en dessous de la surface dans 4 canaux à différentes positions entre l'amont et l'aval (cf. tableau II. 5). Les prélèvements ont été effectués dans des flacons Nalgène® de 250 mL en polyéthylène.

Tableau II. 5 : Récapitulatif des prélèvements d'eau destinés à la mesure du cuivre par ASV

Désignation Echantillons	Canal	Gradient (m)	Cu total ($\mu\text{g L}^{-1}$) nominal
ASV 2-5	2	5	75
ASV 2-10		10	
ASV 2-15		15	
ASV 2-19		19	
ASV 4-5	4	5	0
ASV 4-10		10	
ASV 4-15		15	
ASV 4-19		19	
ASV 7-5	7	5	5
ASV 7-10		10	
ASV 7-15		15	
ASV 7-19		19	
ASV 9-5	9	5	25
ASV 9-10		10	
ASV 9-15		15	
ASV 9-19		19	

II. 2.3.2 Préparation des échantillons

Immédiatement après leur prélèvement, les échantillons d'eau ont été placés dans une glacière et acheminés vers le WRc au Royaume Uni. Dès le lendemain, ils ont été filtrés et tamponnés à une valeur de pH ne différant pas de plus de 0,2 unité de leur valeur naturelle. Cette précaution est nécessaire afin que, lors de la désoxygénation des échantillons par bullage d'azote, la perte de dioxyde de carbone n'entraîne pas une variation de pH. Pour un échantillon de pH compris entre 7,7 et 8,2 (notre cas), une solution tampon à 1M d'EPPS (N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-3-propane sulphonic acid – tampon biologique caractérisé par une capacité de complexation minimale, pKa 8,00) est préparé dans une solution d'hydroxyde d'ammonium (0,5 M) tel qu'une addition de 150 μ l tamponne 15 mL d'échantillon à $7,8 \pm 0,2$. La solution d'étalon standard (0,5 mg L⁻¹) de travail a été préparée à partir d'une solution mère commerciale (Merck Spectrosol). Cette solution est caractérisée par un pH compris entre 2,5 et 3.

II. 2.3.3 Equipement et mode opératoire

Toutes les mesures ont été réalisées sur électrode de mercure à goutte tombante (hanging mercury drop electrode) à l'aide d'une unité Metrohm 757 computrace équipée d'un dosimètre Metrohm automatisé pour l'addition standard. L'électrode de référence est Ag/AgCl saturée en KCl.

Un volume de 15 mL est prélevé dans l'échantillon filtré puis placé dans la cellule polarographique en Téflon®. 150 μ L de tampon sont alors ajoutés et l'échantillon est désoxygéné à l'azote pendant 5 minutes. Les additions standard de cuivre varient de 5 à 10 μ g L⁻¹ et peuvent se poursuivre jusqu'à 80 μ g L⁻¹ jusqu'à l'obtention d'une courbe de titration. Après chaque addition, un temps d'équilibrage de la solution de 3 minutes est respecté avant que le cycle de mesures ne soit répété. Les blancs sont en moyenne égaux à 0,1 μ g L⁻¹.

La capacité de complexation est obtenue par extrapolation de la partie linéaire de la courbe de titration sur l'axe des abscisses (x). La constante de stabilité des ligands est obtenue à partir des caractéristiques de performance de la méthode (sensibilité nA/M) et de la limite de détection (pic minimum détecté nA, cf. § I. 3.2.1) par modélisation (Apte et al. 1988 et Dixon et al. 1999).

II. 2.4 ISE – Ionic Specific Electrode

II. 2.4.1 Prélèvement

Les échantillons ont été prélevés le 5 Août 2003 à 20 cm en dessous de la surface dans les 12 canaux à deux positions entre l’amont et l’aval (cf. tableau II. 6). Les prélèvements ont été effectués dans des flacons en polyéthylène de 250mL.

Tableau II. 6 : Récapitulatif des prélèvements d’eau destinés à la mesure du cuivre par ISE

Désignation	Canal	Gradient (m)	Cu total nominal ($\mu\text{g L}^{-1}$)
ISE 1-5	1	5	25
ISE 1-13		13	
ISE 2-5	2	5	75
ISE 2-13		13	
ISE 3-5	3	5	5
ISE 3-13		13	
ISE 4-5	4	5	0
ISE 4-13		13	
ISE 5-5	5	5	25
ISE 5-13		13	
ISE 6-5	6	5	75
ISE 6-13		13	
ISE 7-5	7	5	5
ISE 7-13		13	
ISE 8-5	8	5	0
ISE 8-13		13	
ISE 9-5	9	5	25
ISE 9-13		13	
ISE 10-5	10	5	75
ISE 10-13		13	
ISE 11-5	11	5	5
ISE 11-13		13	
ISE 12-5	12	5	0
ISE 12-13		13	

II. 2.4.2 Préparation des échantillons

Après le prélèvement, les échantillons ont été amenés au laboratoire, où ils n’ont subi aucun traitement particulier. Seuls le pH et la température ont été mesurés avant l’analyse par ISE.

II. 2.4.3 Equipement et mode opératoire

Une électrode ionique spécifique de cuivre 94-29 (Orion®) a été utilisée pour réaliser les mesures. L’électrode a été préalablement polie et nettoyée conformément aux recommandations émises par le constructeur avant les mesures. Ces dernières ont été réalisées sous une hotte équipée d’un néon afin d’éviter des problèmes d’interférences liés aux variations d’intensité lumineuse. La calibration de l’électrode a été réalisée à l’aide de trois solutions de CuCl_2 en milieu acide (HNO_3) à des concentrations de 10^{-3} , 10^{-4} et 10^{-5} M en cuivre ($635\text{-}63540 \mu\text{g L}^{-1}$). Les mesures ont été réalisées sous agitation.

II. 3 Résultats

II. 3.1 DGT – Diffusive Gradient in Thin Film

II. 3.1.1 Expérience en laboratoire n°1

Les résultats des essais préliminaires de reproductibilité sont présentés dans le tableau II. 7 ci-dessous.

Tableau II. 7 : Résultat du test de reproductibilité (Exp. n°1)

Expérience N°1 - Reproductibilité	Essai 1	Essai 2	Essai 3
Masse de métal accumulé (µg)	0,022	0,021	0,019
Concentration en métal estimée par la DGT	7,4	6,9	6,1
Concentration en métal total en solution	9,1	8,8	8,9
% de métal labile en solution	82	79	69

Les résultats montrent que l'écart sur l'estimation en cuivre libre en solution à partir des différents dispositifs DGT n'excède pas 13 %. L'absence d'agitation durant l'expérience est vraisemblablement un facteur contribuant à affecter la reproductibilité.

II. 3.1.2 Expérience en laboratoire n°2

Les différents résultats de DGT relatifs aux expérimentations en aquarium sont présentés dans le tableau II. 8.

Tableau II. 8 : Résultats des expériences en aquariums (Exp. n°2)

Expérience N°2 - Aquarium	Aqua A	Aqua B	Aqua C	Aqua D	Aqua E	Aqua F
Masse de métal accumulé sur DGT pdt 24h (µg)	0,07	0,05	0,05	0,15	0,24	---
Masse de métal accumulé sur DGT pdt 48h (µg)	0,11	0,07	0,07	0,33	0,48	---
Conc. estimée par la DGT 24h (µg L ⁻¹)*	4,3-4,6	3,3-3,5	3,0-3,2	9,3-9,8	14,3-15,2	< 0,5
Conc. estimée par la DGT 48h (µg L ⁻¹)*	3,1-3,7	1,8-2,1	1,9-2,3	8,7-10,5	13,0-15,6	< 0,5
Conc. en métal total en solution – 0h (µg L ⁻¹)	51,2	55,9	52,8	54,8	46,5	< 0,5
Conc. en métal total en solution – 24h (µg L ⁻¹)	51,2	53,4	52,9	54,9	43,8	< 0,5
Conc. en métal total en solution – 48h (µg L ⁻¹)	52,3	54,9	53,2	54,2	43,1	< 0,5
Conc. en DOC (mg L ⁻¹)	3,3	6,0	6,5	6,0	1,5	1,3
% de métal labile en solution (DGT 1)*	8,5-9,0	6,2-6,5	5,7-6,0	16,9-17,9	32,7-34,7	---
% de métal labile en solution (DGT 2)*	5,9-7,0	3,2-3,9	3,6-4,3	16,1-19,3	30,2-36,2	---
Présence de poisson			Oui (10)		Oui (10)	

* Une plage de résultats est proposée compte tenu des larges variations en températures observées au cours de l'expérience

Les concentrations en cuivre labile (C_{DGT}) sont comprises entre 1,8 et 15,2 µg L⁻¹. Les estimations de cuivre labile réalisées à 24 heures et 48 heures sont très similaires. A l'exception de l'aquarium F (témoin), tous les aquariums ont été dopés à environ 50 µg L⁻¹ de cuivre total dissous par ajout de sulfate de cuivre. Les aquariums A, B et C sont caractérisés par des concentrations en cuivre labile

relativement similaires : 3,9, 2,7 et 2,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivement. Les aquariums D et E présentent des concentrations en cuivre labile (9,6 et 15,4 $\mu\text{g L}^{-1}$) presque 3 et 5 fois supérieures à celles des aquariums A, B et C. Les résultats montrent que la fraction de cuivre labile est la plus importante dans l'aquarium caractérisée par la teneur en matière organique (MO) la plus faible. Inversement, les fractions de cuivre labiles les plus faibles sont observées dans les aquariums aux teneurs en MO les plus élevées, bien qu'il soit difficile d'établir une corrélation linéaire entre la teneur en MO et la concentration labile en solution. Ce résultat s'explique par le fait, qu'en raison de sa forte affinité pour la MO (Gerringa et al., 1998), une partie du cuivre se complexe à cette dernière et ne diffuse alors plus à travers le DGT. Par ailleurs, la présence de poissons dans les aquariums ne semble pas avoir généré d'incidence sur les mesures par la technique DGT.

II. 3.1.3 Expérience en laboratoire N°3 et 4

Les résultats des cinétiques sont présentés dans les tableaux II. 9 et II. 10.

Tableau II. 9 : Résultats de la première cinétique (Exp. n°3)

Expérience N°3 – Cinétique 1	T ₀ +0h	T ₀ +2,1h	T ₀ +24h	T ₀ +51h	T ₀ +144h
Masse de métal accumulé (μg)	---	0,02	0,21	0,46	1,39
Conc. estimée en métal par la DGT ($\mu\text{g L}^{-1}$)	---	10,1	12,0	12,3	13,9
Conc. en métal total en solution ($\mu\text{g L}^{-1}$)	18,7	18,9	18,5	19,3	19,1
% de métal labile en solution	---	53,5	64,7	63,7	72,5

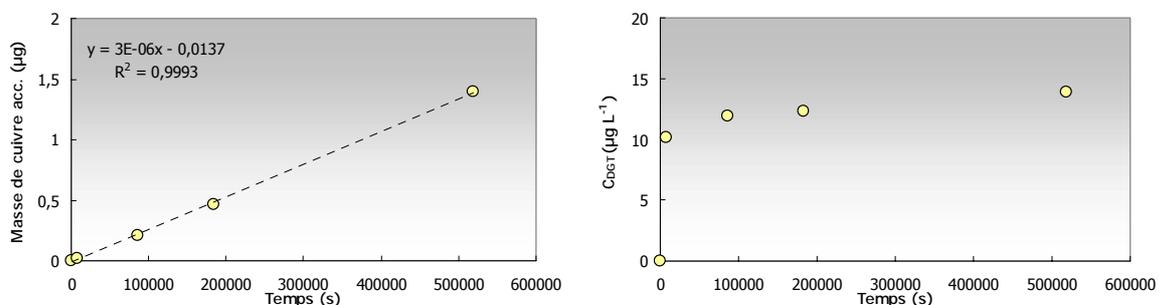


Figure II. 2 : Cinétique de DGT en milieu : Eau Milli-Q + $[\text{Cu}^{2+}] \approx 20 \mu\text{g L}^{-1}$ + $[\text{NaNO}_3] = 0,01 \text{ M}$ sans agitation et DGT « open gel » (0,8 mm)

La figure II. 2 montre d'une part, que l'accumulation du métal dans les DGT est parfaitement linéaire. En outre, en terme de concentrations dans les DGT, ces dernières augmentent rapidement au cours des deux premières heures. Ensuite la concentration reste relativement stable. La fraction de métal labile semble alors ne pas dépasser 65 à 75 % du métal total dissous. Il est important de noter que dans de telles conditions opératoires (Eau Milli-Q + $[\text{Cu}^{2+}] \approx 20 \mu\text{g L}^{-1}$ + $[\text{NaNO}_3] = 0,01 \text{ M}$), la fraction de métal labile devrait théoriquement être proche de 100 % du métal total dissous.

Compte tenu des résultats obtenus au cours de l'expérience précédente, une cinétique plus complète a été réalisée afin de valider et de confirmer les résultats préliminaires sur le cuivre. Il s'agissait aussi d'étudier le comportement d'autres métaux (Cd, Ni, Pb et Zn). Le tableau II. 10 et la figure II. 3 présentent les principaux résultats de cette cinétique.

Tableau II. 10 : Résultats de la seconde cinétique (Exp. n°4)

Expérience N°3 - Cinétique	T ₀ +0h	T ₀ +1h	T ₀ +2h	T ₀ +3h	T ₀ +4h	T ₀ +6h	T ₀ +24h	T ₀ +48h	T ₀ +72h	T ₀ +144h	T ₀ +216h
Cd accumulé (µg)	nd	0,001	0,005	0,010	0,008	0,017	0,086	0,169	0,259	0,558	0,826
[Cd] _{DGT} (µg L ⁻¹)	nd	1,4	5,1	7,0	4,2	6,4	7,9	7,8	8,0	8,5	8,5
Conc. en solut. (µg L ⁻¹)	7,8	nd	nd	nd	7,9	nd	7,8	8,0	8,0	8,1	8,2
% de métal labile	nd	18	64	88	53	80	98	100	100	101	106
Cu accumulé (µg)	nd	0,003	0,006	0,010	0,017	0,023	0,088	0,183	0,262	0,533	0,807
[Cu] _{DGT} (µg L ⁻¹)	nd	5,3	6,4	6,8	8,8	8,1	7,7	8,2	7,9	8,0	8,1
Conc. en solut. (µg L ⁻¹)	10,9	nd	nd	nd	10,9	nd	10,7	11,1	11,0	11,1	11,0
% de métal labile	nd	49	58	62	80	74	71	75	72	73	74
Ni accumulé (µg)	nd	0,244	0,009	0,012	0,030	0,028	0,085	0,177	0,252	0,526	0,780
[Ni] _{DGT} (µg L ⁻¹)	nd	543,6	10,7	9,4	17,2	11,0	8,3	8,6	8,2	8,5	8,4
Conc. en solut. (µg L ⁻¹)	8,4	nd	nd	nd	8,5	nd	8,3	8,6	8,5	8,5	8,4
% de métal labile	nd	6428	126	111	203	131	98	102	97	100	100
Pb accumulé (µg)	nd	0,004	0,09	0,015	0,024	0,033	0,122	0,253	0,365	0,749	1,113
[Pb] _{DGT} (µg L ⁻¹)	nd	6,7	7,4	8,3	9,8	9,3	8,6	8,8	8,5	8,7	8,6
Conc. en solut. (µg L ⁻¹)	8,0	nd	nd	nd	8,0	nd	7,7	8,0	7,9	8,1	8,0
% de métal labile	nd	84	93	104	124	117	107	111	107	109	109
Zn accumulé (µg)	nd	0,079	0,034	0,043	0,064	0,097	0,195	0,338	0,384	0,800	1,138
[Zn] _{DGT} (µg L ⁻¹)	nd	167,9	38,3	31,3	34,3	36,0	18,1	15,6	11,8	12,2	11,7
Conc. en solut. (µg L ⁻¹)	13,1	nd	nd	nd	10,9	nd	11,3	13,9	12,4	11,5	10,7
% de métal labile	nd	1402	320	262	287	300	151	130	99	102	98

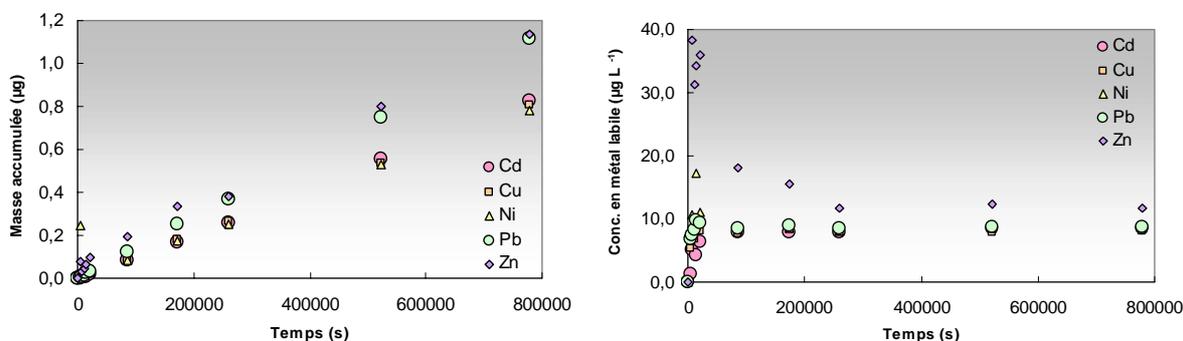


Figure II. 3 : Cinétique de DGT en milieu : Eau Milli-Q + [Me²⁺] ≈ 8-12 µg L⁻¹ + [NaNO₃] = 0,01 M sans agitation et DGT « restricted gel » (0,8 mm)

Pour l'ensemble des métaux, l'accumulation dans les DGT est généralement linéaire en fonction du temps (cf. tableau II. 11). A noter que le dispositif DGT (T₀+1h) semble avoir été sujet à un problème de contamination par le Ni. Ce point n'a pas été pris en compte dans la régression linéaire du Ni.

Tableau II. 11 : Paramètres des régressions linéaires de l'accumulation des métaux dans les DGT

Métaux	Pente	Ordonnée à l'origine	Coefficient de corrélation (r ²)	n	P
Cu	1,0 10 ⁻⁶	-0,0011	0,9998	11	< 0,001
Cd	1,1 10 ⁻⁶	-0,0060	0,9995	11	< 0,001
Ni	1,0 10 ⁻⁶	0,0024	0,9995	10	< 0,001
Pb	1,4 10 ⁻⁶	0,0001	0,9999	11	< 0,001
Zn	1,4 10 ⁻⁶	0,0464	0,9938	11	< 0,001

La figure II. 3 montre également que les variations des concentrations en zinc labile en fonction du temps sont très différentes de celles observées pour les autres métaux (Cu, Cd, Ni et Pb). La concentration en zinc labile diminue rapidement au cours des 4 premières heures pour se stabiliser au cours du reste de l'expérience. Compte tenu du fait que l'accumulation en zinc dans le DGT apparaît linéaire au cours du temps, seul un problème (probablement de contamination) survenu au cours de la phase de mesure pourrait expliquer ces variations en zinc labile.

II. 3.1.4 Expérimentation dans les mésocosmes

Le tableau II.12 présente les principaux résultats des expérimentations DGT dans les mésocosmes de l'INERIS.

Tableau II. 12 : Résultats des expérimentations DGT dans les mésocosmes

	CANAL 4 0 µg L ⁻¹ - DGT (n°)				CANAL 3 5 µg L ⁻¹ - DGT (n°)				CANAL 5 25 µg L ⁻¹ - DGT (n°)				CANAL 2 75 µg L ⁻¹ - DGT (n°)				
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	
Gradient 5m	Masse (µg)	0,0077	0,0096	0,0092	0,0043	0,0747	0,0991	0,0757	0,0370	0,1278	0,6138	0,2796	0,0656	0,2334	0,6624	0,4203	0,1003
	C _{DGT} (µg L ⁻¹)	0,1	0,1	0,3	0,04	1,1	0,9	2,1	0,4	5,8	9,3	22,2	2,0	21,6	30,0	64,2	5,9
	C _{EAU} * (µg L ⁻¹)	0.7				9.7				31.0				65.2			
		0.9	0.9	0.9		6.8	2.6	6.8		20.9	23.2	20.9		26.2	69.3	26.2	
% Cu labile	15	11	32	6	14	15	26	5	22	34	86	8	47	45	141	13	
Gradient 10m	Masse (µg)	0,0044	0,0066	0,0077	0,0057	0,0208	0,0366	0,0336	0,0114	0,0949	0,2753	0,1668	0,0599	0,0794	0,2318	0,2432	0,0971
	C _{DGT} (µg L ⁻¹)	0,1	0,1	0,2	0,1	0,3	0,3	0,9	0,1	4,3	4,1	13,2	1,8	7,3	10,5	37,2	5,7
	C _{EAU} * (µg L ⁻¹)	0.4				3.1				23.8				67.7			
		0.4	0.3	0.4		3.0	3.5	3.0		22.2	30.2	22.2		67.8	45.2	67.8	
% Cu labile	17	17	53	15	10	10	31	4	19	15	58	8	11	19	55	8	
Gradient 15m	Masse (µg)	0,0044	0,0038	0,0096	0,0038	0,0102	0,0199	0,0283	0,0067	0,1784	0,2415	0,1323	0,0359	0,0959	0,3294	0,2912	0,1161
	C _{DGT} (µg L ⁻¹)	0,1	0,04	0,3	0,04	0,2	0,2	0,8	0,1	8,1	3,6	10,5	1,1	8,8	14,9	44,4	6,8
	C _{EAU} * (µg L ⁻¹)	0.5				3.1				51.0				59.3			
		0.5	0.7	0.5		2.8	0.7	2.8		22.0	22.3	22.0		53.3	63.4	53.3	
% Cu labile	13	6	53	8	5	10	27	2	22	10	29	3	12	19	59	9	
Gradient 19m	Masse (µg)	0,0030	0,0047	0,0070	0,0024	0,0090	0,0179	0,0288	0,0046	0,0220	0,1567	0,0757	0,0289	0,0971	0,2061	0,0939	0,0147
	C _{DGT} (µg L ⁻¹)	0,04	0,04	0,2	0,02	0,1	0,2	0,8	0,05	1,0	2,4	6,0	0,9	8,9	9,3	14,3	0,9
	C _{EAU} * (µg L ⁻¹)	0.6				1.8				10.9				40.8			
		0.3	0.7	0.3		2.0	1.0	2.0		9.5	12.7	9.5		22.4	41.1	22.4	
% Cu labile	10	7	43	5	7	12	42	3	10	20	59	9	28	23	45	3	
% Moyen de Cu labile	14	10	45	9	9	12	32	4	18	20	58	7	25	27	53	8	
Ecart-type	3	4	9	4	3	2	6	1	5	9	20	2	15	11	6	4	
Intervalle de Confiance (95%)	3	4	9	4	3	2	6	1	5	9	20	2	14	11	7	4	

* en haut concentration en cuivre dans l'eau lors du déploiement des DGT, en bas concentration en cuivre dans l'eau lors du retrait des DGT

Dans le canal non contaminé (Canal 4), les concentrations en cuivre dissous sont comprises entre 0,3 et 0,9 µg L⁻¹. Dans les canaux contaminés, les concentrations en cuivre dissous ont varié de 1,0 à 6,8 µg L⁻¹ pour le canal 3, de 9,5 à 30,2 µg L⁻¹ pour le canal 5 et de 22,4 à 69,3 µg L⁻¹ pour le canal 2. Les canaux sont généralement caractérisés par des concentrations en cuivre dissous plus fortes en amont qu'en aval, mettant ainsi en évidence le caractère hétérogène de la contamination dans les canaux. Les résultats mettent aussi en évidence un dysfonctionnement au niveau de la contamination des canaux.

Les différents types de DGT donnent des résultats et une estimation de concentrations en métal labile assez différente. Les concentrations en métal labile estimées à partir des DGT (DGT1/2 - 0,8 mm et restricted gel) ont été comprises entre 0,04 et 0,1 µg L⁻¹ dans le canal 4, entre 0,1 et 1,1 µg L⁻¹ dans le canal 3, entre 1,0 et 9,3 µg L⁻¹ dans le canal 5 et enfin entre 7,3 et 30,0 µg L⁻¹ dans le canal 2.

Les estimations réalisées à chaque gradient par les deux dispositifs sont en général similaires, bien que les dispositifs n'ont pas été déployés pour la même durée (DGT2 déployés environ deux fois plus longtemps que DGT1). Comme ils intègrent les variations de concentration dans le temps et que la contamination ne semble pas avoir toujours été constante, cela peut sans doute en partie expliquer les faibles différences observées.

Les concentrations en cuivre labile obtenues à partir des DGT3 (1,6 mm et restricted gel) ont varié de 0,2 à 0,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ dans le canal 4, de 0,8 à 2,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ dans le canal 3, de 6,0 et 22,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ dans le canal 5 et enfin de 14,3 et 64,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ dans le canal 2. Elles sont systématiquement plus élevées qu'avec les autres dispositifs (DGT 1/2). Des résultats similaires ont déjà été mis en évidence par Webb et Keough (2002) sans qu'aucune explication n'ait pu être avancée. Des expérimentations supplémentaires sont nécessaires pour tenter d'expliquer ces résultats.

Les concentrations obtenues avec les DGT4 (0,8 mm et open gel) ont été comprises entre 0,02 et 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ dans le canal 4, entre 0,05 et 0,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ dans le canal 3, entre 0,9 et 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ dans le canal 5 et enfin entre 0,9 et 6,8 $\mu\text{g L}^{-1}$ dans le canal 2. Les concentrations en cuivre labile estimées par ce type de DGT sont toujours plus faibles qu'avec les autres dispositifs. La différence est en moyenne de l'ordre de 56 %. Ces observations vont à l'encontre des résultats attendus. Le gel diffusif des DGT4 (open gel) est caractérisé par une taille de pores plus élevée que celle du gel équipant les DGT1/2 et DGT3. De ce fait, un plus grand nombre de complexes (donc une masse plus importante) devrait théoriquement traverser le gel et s'accumuler sur la résine.

Malgré tout, les résultats obtenus à partir des différents types de DGT indiquent que les concentrations en cuivre labile sont toujours plus élevées en amont des canaux. Ces concentrations diminuent généralement vers l'aval ou restent relativement constantes.

La figure II. 4 présente l'évolution du pourcentage en cuivre labile par rapport au cuivre total dissous en fonction du gradient amont-aval.

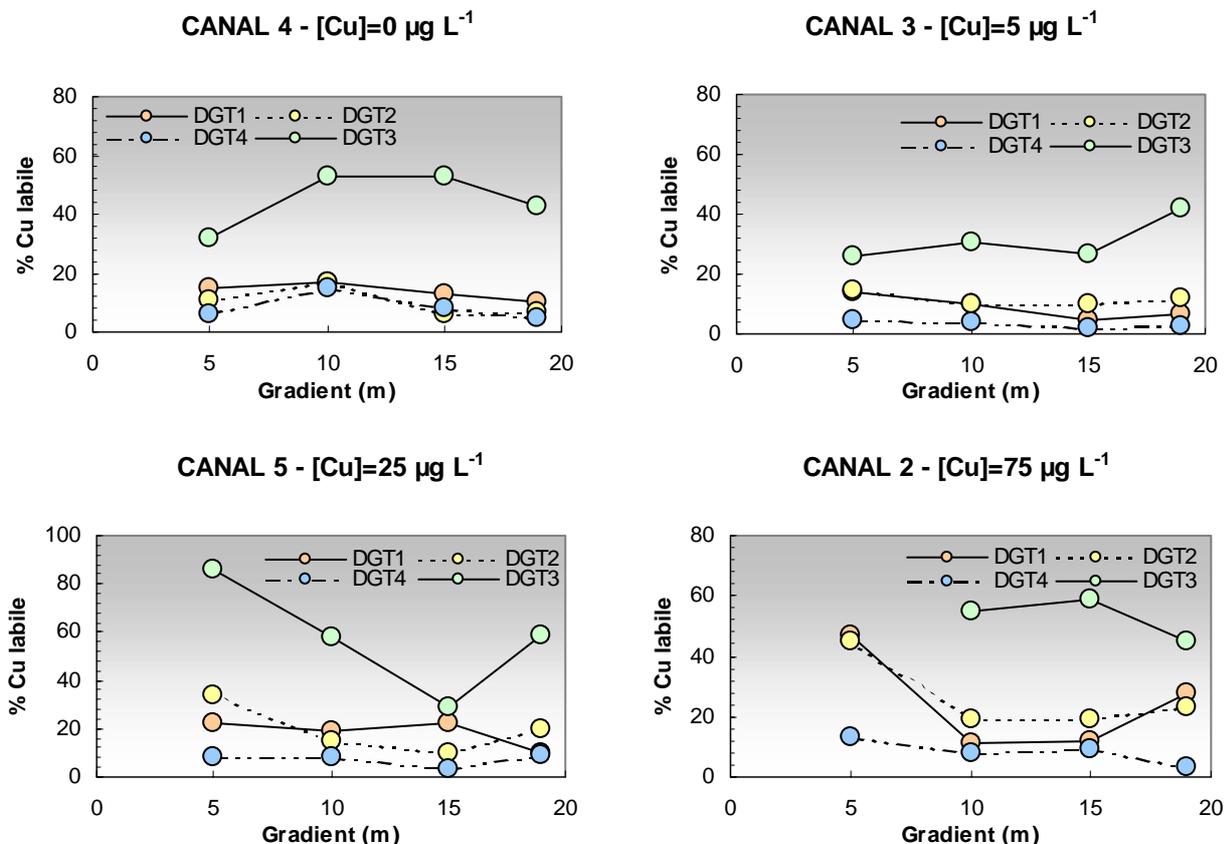


Figure II. 4 : Variations des concentrations en cuivre labile déterminées par différents types de DGT dans les eaux des mésocosmes (DGT1/2: 0,8 mm / restricted gel; DGT3: 1,6 mm / restricted gel; DGT4: 0,8 mm / open gel)

La figure II. 4 montre que l'estimation de la fraction labile par les DGT de type 1/2 et 4 est généralement inférieure à 20 % du métal total dissous. La fraction labile obtenue à partir du DGT de type 3 est bien supérieure (47 % en moyenne) et atteint même 86% du métal total dissous en amont du canal 5.

Il est important de souligner que le calcul du pourcentage de la fraction de métal labile est entaché d'une incertitude beaucoup plus importante que celui de la concentration en métal labile. Cette incertitude est liée au mode de calcul qui se base sur le rapport entre la concentration en métal labile (C_{DGT}) et la moyenne de la concentration en métal total en solution mesurée au début et à la fin du déploiement du dispositif expérimental. Si C_{DGT} intègre d'éventuelles variations de la concentration en métal au cours du temps, ce n'est pas le cas des prélèvements ponctuels (1 en début et 1 en fin d'expérience) destinés à la détermination de la concentration moyenne en cuivre total dissous en solution.

Dans le cas où les variations de concentrations en métal dissous sont faibles, comme par exemple dans le canal 4, l'incidence sur la détermination du pourcentage de cuivre labile est faible.

Mais pour le canal 2, où la contamination (idéalement de 75 µg L⁻¹ en Cu) a accidentellement chuté à 26,2 µg L⁻¹, deux mesures de cuivre dissous en début et en fin d'expérience ne suffisent pas à déterminer avec précision la concentration moyenne en métal dissous au cours de l'expérience.

II. 3.2 ASV – Anodic Stripping Voltametry

Les mesures et les estimations réalisées par ASV dans les eaux des mésocosmes sont présentées dans le tableau II. 13.

Tableau II. 13 : Résultats des mesures réalisées par ASV dans les mésocosmes

	CANAL 4 Gradient (m)				CANAL 7 Gradient (m)				CANAL 9 Gradient (m)				CANAL 2 Gradient (m)			
	5	10	15	19	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Cuivre dissous (µg L ⁻¹)	1,4	1,1	0,9	2,9	4,6	1,4	1,5	1,1	21,8	16,6	11,4	7,4	62,3	58,7	62,1	44,2
Cu inorganique (µg L ⁻¹)*	1,9	1,8	2,1	2,1	1,8	1,9	0,5	2,1	2,7	2,6	2,5	2,2	3,8	3,8	3,8	3,5
[Cu ²⁺] estimée (µg L ⁻¹)*	0,026	0,024	0,027	0,025	0,026	0,007	0,029	0,036	0,035	0,033	0,029	0,051	0,051	0,051	0,051	0,046
% de Cu libre	1,8	2,2	3,0	0,8	0,6	0,5	1,9	3,3	0,1	0,2	0,2	0,7	<0,1	<0,1	<0,1	0,1
% moyen de Cu labile	9,3				14,4				7,6				5,1			
<i>Ecart-type</i>	0,5				8,7				0,5				0,2			
<i>Intervalle de Confiance (95%)</i>	0,4				8,5				0,2				0,2			

* Estimations obtenues par modélisation selon Apte et al. (1988) et Dixon et al. (1999)

Les prélèvements dans les différents canaux des mésocosmes ont montré que les concentrations en cuivre total dissous étaient comprises entre 1,1 et 0,9 µg L⁻¹ pour le canal 4, entre 1,1 et 4,6 µg L⁻¹ pour le canal 7, entre 7,4 et 21,8 µg L⁻¹ pour le canal 9 et entre 44,2 et 62,3 µg L⁻¹ pour le canal 2. Les concentrations les plus élevées sont toujours mesurées en amont des canaux.

L'estimation de la concentration en métal libre (Cu²⁺) obtenue par modélisation à partir de la capacité de complexation indique que la fraction de métal sous forme ionique libre est très faible. Cette fraction est en moyenne de 1% et ne dépasse pas 3,3 % du métal total. La fraction de cuivre complexé avec les ligands inorganiques estimée est plus importante ; dans les canaux non ou faiblement contaminés, le cuivre est entièrement sous forme inorganique. Dans les autres canaux, la fraction de cuivre inorganique est respectivement de 20 et 7 % en moyenne (canaux 9 et 2).

La fraction labile est comprise en moyenne entre 5,1 et 14,4 % du métal total dissous (cf. tableau II. 13). Les canaux les moins contaminés en métal total dissous (canaux 4 et 2) sont caractérisés par des fractions en cuivre labile plus élevées que les autres canaux (canaux 9 et 2).

II. 3.3 ISE – Ionic Specific Electrode

Les résultats des mesures réalisées par ISE sont présentés dans le tableau II. 14.

Tableau II. 14 : Concentrations en cuivre libre obtenues par ISE*

Gradient (m)	CANAL																	
	1		2		3		5		6		7		9		10		11	
	5	13	5	13	5	13	5	13	5	13	5	13	5	13	5	13	5	13
Cu dissous ($\mu\text{g L}^{-1}$)	17,9	17,9	61,4	42,7	2,2	2,2	15,2	15,2	41,3	41,3	1,7	1,5	20,8	16,1	38,6	38,6	3,8	3,8
Potentiel (mV)	16	-18,9	37,9	26,8	-18,4	-22,2	-31,7	-20,7	27	28,3	-25,8	-24,5	-13,9	-17,2	28,8	5,1	-31,5	-15,3
[Cu ²⁺] ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,17	0,01	0,92	0,39	0,01	0,01	0,004	0,01	0,39	0,44	0,01	0,01	0,02	0,01	0,45	0,07	0,004	0,2
% de Cu ²⁺	0,9	0,1	1,5	0,9	0,5	0,4	0	0,1	1,0	1,1	0,4	0,4	0,1	0,1	1,2	0,2	0,1	0,4

* pas de mesure dans les canaux non contaminés (4, 8 et 12)

Lors des mesures par ISE, les concentrations en cuivre total dissous étaient comprises entre 1,5 et 3,8 $\mu\text{g L}^{-1}$ pour les canaux 3/7/11, entre 15,2 et 20,8 $\mu\text{g L}^{-1}$ pour les canaux 1/5/9 et entre 38,6 et 61,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ pour les canaux 2/6/10. Les concentrations mesurées à 5 et 13 mètres sont généralement similaires, excepté dans les canaux 2, 7 et 9 où la concentration en cuivre est légèrement supérieure en amont du canal.

Les mesures par ISE indiquent que les concentrations en cuivre libre (Cu²⁺) étaient comprises entre 0,004 et 0,92 $\mu\text{g L}^{-1}$. La figure II. 5 montre que la concentration en ions libres a tendance à augmenter lorsque la concentration en cuivre total dissous augmente. Cependant, cette relation n'est pas linéaire : jusqu'à 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cuivre dissous, la concentration en Cu²⁺ varie peu. Ensuite jusqu'à 60 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cuivre dissous, la concentration en Cu²⁺ augmente rapidement pour atteindre presque 1 $\mu\text{g L}^{-1}$. La fraction de métal sous forme libre ne représente que de 0,1 à 1,5 % du cuivre total dissous.

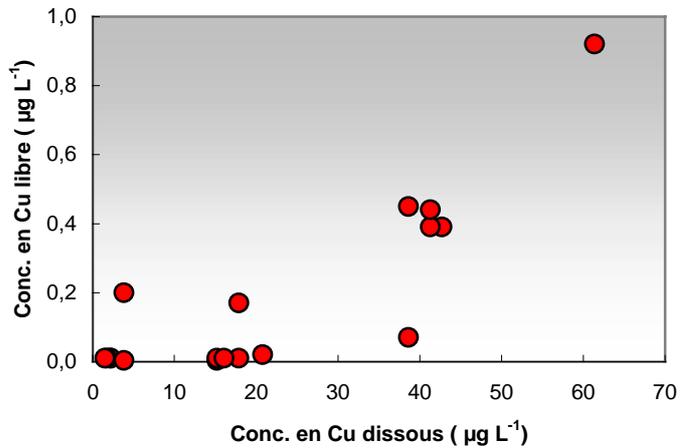


Figure II. 5: Variations des concentrations en cuivre libre (ISE) en fonction de la concentration en cuivre total dissous (AAS)

II. 4 Synthèse des résultats

Lorsque les méthodes analytiques utilisées déterminent une fraction de métal équivalente (forme chimique spécifique ou plusieurs formes chimiques caractérisées par des propriétés physico-chimiques similaires), une comparaison des différentes mesures a été réalisée. Il faut noter que les mesures n'ont pas toujours été réalisées sur les mêmes échantillons (canaux et dates différents).

Les figures II.6 et II.7 présentent respectivement les résultats des mesures réalisées par ASV (estimation du cuivre libre) et ISE d'une part et par DGT et ASV (estimation de la fraction labile) d'autre part. Sur ces figures sont présentées les plages de variation des concentrations en cuivre (libre ou labile) en fonction du degré de contamination des canaux. Les concentrations en cuivre libre estimées par ASV sont généralement similaires aux concentrations les plus faibles mesurées par ISE. Mais les mesures de cuivre libre par ISE présentent des plages de variations nettement plus élevées que pour l'ASV (Fig. II. 6a). Pour autant, les plages de variations en cuivre total dissous correspondantes sont plutôt plus importantes dans le cadre des mesures ASV (Fig. II. 6b). Cette variation importante sur la détermination de la concentration en métal libre doit donc sans doute être liée au manque de précision de la méthode ISE et en particulier à ces niveaux de concentration relativement faibles.

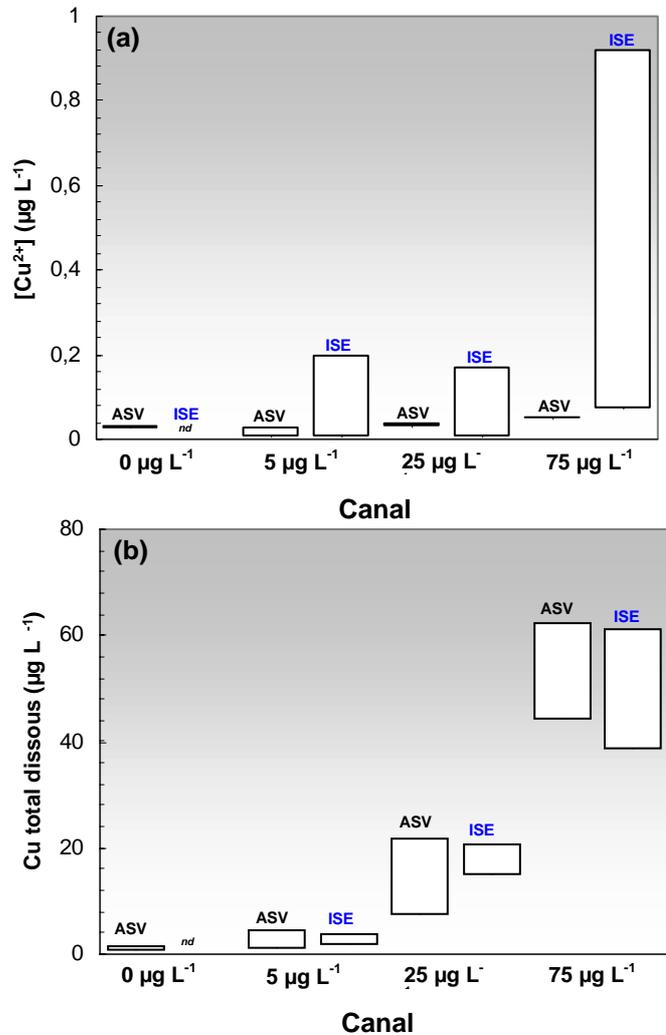


Figure II. 6: (a) Concentration en cuivre libre estimée par ASV et ISE dans les différents canaux des mésocosmes (b) concentration en cuivre total dissous déterminé parallèlement par absorption atomique

A ce titre, il est important de rappeler que les concentrations de cuivre libre obtenues par ISE (0,004-0,44 µg L⁻¹) sortent largement du domaine pour lequel les expérimentateurs ont calibré l'électrode (635-635 10² µg L⁻¹).

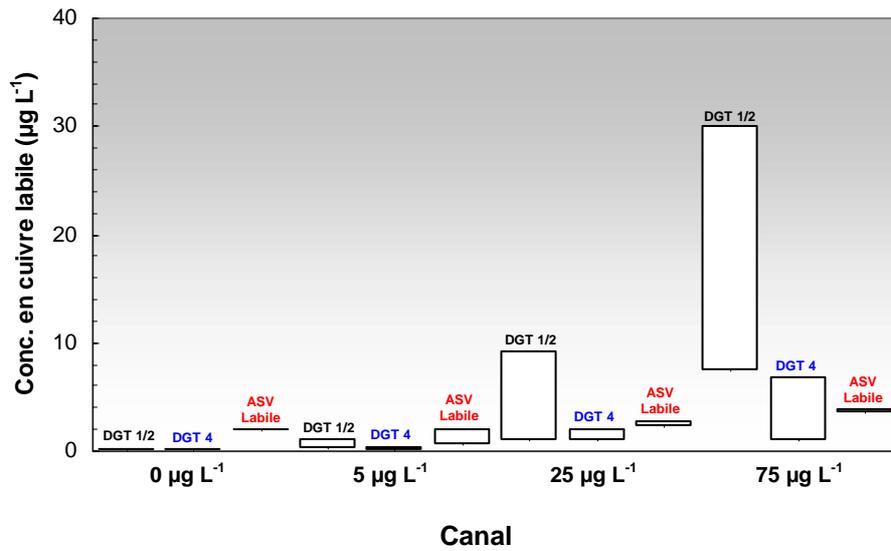


Figure II. 7: Concentrations en cuivre labile estimées par DGT et ASV dans les différents canaux des mésocosmes

La figure II. 7 montre que pour les canaux faiblement contaminés (0 et $5 \mu\text{g L}^{-1}$), la technique DGT utilisée avec restricted gel (DGT 1/2) et open gel (DGT4) donne une estimation en cuivre labile relativement similaire. Dans ces canaux, cette estimation est en générale légèrement inférieure à celle obtenue par ASV.

Pour les canaux plus contaminés (25 et $75 \mu\text{g L}^{-1}$), l'estimation de la concentration en métal labile par DGT 1/2 est très variable. Les concentrations en métal labile mesurées par DGT4 et ASV sont sensiblement inférieures à celles mesurées par DGT 1/2 et en particulier dans le canal contaminé à $75 \mu\text{g L}^{-1}$.

Il apparaît finalement que les estimations réalisées par DGT4 et ASV sont relativement proches. Pourtant, sur un plan purement théorique, ce sont les estimations par DGT1/2 et ASV qui auraient du être les plus proches, car c'est la fraction inorganique labile du métal qui est en principe mesurée par ces deux méthodes.

II. 5 Conclusions

L'estimation de la concentration en cuivre libre ou labile a été réalisée à l'aide de plusieurs techniques (ASV, ISE et DGT) dans les eaux des mésocosmes de l'INERIS. Des expériences en laboratoire ont aussi été réalisées en particulier pour valider la technique DGT.

Les résultats obtenus dans les mésocosmes sont assez différents selon la technique de mesure utilisée. Pour la concentration en cuivre libre, les mesures réalisées par ISE sont caractérisées par une variabilité assez importante. Elles sont du même ordre de grandeur mais systématiquement plus élevées que celles estimées par ASV.

Pour la concentration en cuivre labile, les mesures réalisées par DGT (DGT4 - Open Gel) sont généralement similaires aux estimations par ASV, mais inférieures à la fraction labile estimée par DGT1/2 (restricted gel et 0,8 mm) pour des concentrations en cuivre total dissous dépassant $25 \mu\text{g L}^{-1}$. L'estimation de la fraction labile obtenue à partir de DGT3 (restricted gel et 1,6 mm) est toujours plus importante qu'avec les autres types de DGT.

Il faut toutefois rappeler que les différences observées entre les techniques peuvent aussi en partie être liée au fait que les différentes mesures n'ont pas pu être réalisées simultanément. Des variations des concentrations en cuivre ont alors pu se produire. Les expériences dans les mésocosmes menées pour les mesures DGT ont en particulier mis en évidence l'irrégularité de la contamination dans certains canaux.

Dans le cadre de l'utilisation de la technique DGT, il est important, lorsque l'objectif est de déterminer la part de métal labile par rapport au métal dissous, de bien prendre en compte les variations de concentrations en métal dissous dans le milieu. Ceci est particulièrement vrai dans les systèmes aquatiques naturels où la concentration en métal total est susceptible de varier de façon importante. Différents points expérimentaux restent à préciser sur cette technique. Il serait important en particulier d'expliquer et de mieux comprendre les différences observées entre les différents types de dispositifs. Pour ce faire, de nouveaux tests sont nécessaires. Enfin, des nouvelles expérimentations apparaissent également nécessaires pour comparer de façon approfondie et systématique les techniques de mesures pour la spéciation du cuivre dans l'optique de définir une méthode de référence.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Achterberg E.P. et van Den Berg C.M.G. (1994). Automated voltammetric system for shipboard determination of metal speciation in sea water. *Analytica Chimica Acta* 284 3 463-471
- Adriano, D.C. (1986). Trace Elements in the Terrestrial Environment. Springer-Verlag New York Inc. pp 390-420.
- Ahsanullah M. et Florence T.M. (1984). Toxicity of copper to the marine amphipod *Allorchestes compressa* in the presence of water lipid-soluble ligands. *Marine Biology* 84 41
- Ankley G.T., Di Toro D.M., Hansen D.J. et Berry W.J.(1996). Technical basis and proposal for deriving sediment quality criteria for metals. *Environmental Toxicology and Chemistry* 15 2056-2066
- Ankley G.T., Phipps G.L., Leonard E.N., Benoit D.A., Mattson V.R., Kosian P.A., Cotter A.M., Dierkes J.R., Hansen D.J. et Mahony J.D. (1991). Acid volatile sulfide as a factor mediating cadmium and nickel bioavailability in contaminated sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry* 10 1299-1307
- Apte S.C. et Batley G.E. (1995). Trace metal speciation of labile chemical species in natural waters and sediments: Non electrochemical approaches. In Metal speciation and bioavailability in aquatic systems. Tessier A. et Turner D.R. eds. p. 259-306
- Apte S.C., Gardner M.J., Hunt D.T.E. (1988). An evaluation of dialysis as a sized based separation method for the study of trace metal speciation in natural waters. *Environmental Technology Letter* 10 201-212
- Apte S.C., Gardner M.J. et Ravenscroft J.E.(1990). An investigation of copper complexation in the severn estuary using differential pulse cathodic stripping voltammetry. *Marine Chemistry* 29 63-75
- Apte S.C., Gardner M. J. and Ravenscroft J.E. (1988) An Evaluation of Voltammetric Titration Procedures for the Determination of Trace Metal Complexation in Natural Waters by use of Computer Simulation. *Analytica Chimica Acta*, 212, 1-21.
- Barnes R.O. (1973). An in situ interstitial water sampler for use in unconsolidated sediments. *Deep Sea Research* 20 12 1125-1126
- Batley G.E. et Florence T.M. (1976). Determination of the chemical forms of dissolved cadmium, lead and copper in seawater. *Marine chemistry* 4 347-363
- Batley G.E. et Florence T.M. (1976). Determination of the chemical forms of dissolved cadmium, lead and copper in seawater. *Marine Chemistry* 4 4 347-363
- Bender M., Martin W., Hess J., Sayles F., Ball L. et Lambert C. (1987). A whole core squeezer for interfacial pore water sampling. *Limnology and Oceanography* 32 6 1214-1225.
- Bertolin A., Rudello D. et Ugo P. (1995). A new device for in-situ pore-water sampling. *Marine Chemistry* 49 2-3 233-239.
- Bollinger R., Brandl H., Hohener P., Hanselmann K.W. et Bachofen R. (1992). Squeeze-water analysis for the determination of microbial metabolites in lakes sediments-comparison of methods. *Limnology and Oceanography* 37 448-455.
- Boudreau B.P. (1997). Diagenetic Models and Their Implementation - Modelling transport and Reactions in Aquatic Sediments. Heidelberg, Springer-Verlag, 414 p.

- Brinkman A.G., van Raaphorst W. et Lijklema L. (1982). In situ sampling of interstitial water from lake sediments. *Hydrobiologia* 92 659-663.
- Brown G.K., Cabaniss S.E., MacCarthy P. et Leenheer J.A. (1999). Cu(II) binding by a pH-fractionated fulvic acid. *Analytica Chimica Acta* 402 1-2 183-193.
- Buckley P.J.M. et van Den Berg C.M.G. (1986). Copper complexation profiles in the Atlantic Ocean : A comparative study using electrochemical and ion exchange techniques. *Marine Chemistry* 19 3 281-296
- Buddensiek V., Engel H., Fleischauer-Rössing S., Olbrich S., Wächtler K. (1990). Studies on the chemistry of interstitial water taken from defined horizons in the fine sediments of bivalve habitats in several northern German lowland waters. I.: Sampling techniques. *Archive of Hydrobiology* 119 55-64
- Bufflap W.E. et Allen H.E. (1995). Sediment pore water collection methods: A review. *Water Research* 29 165-177
- Buffle J., Perret D. et Newman M.E. (1992). The use of filtration and ultrafiltration for size fractionation of aquatic particles, colloids, and macromolecules. In *Environmental Particles, Vol. 1*; Buffle J., van Leeuwen H.P., Eds.; Lewis Publishers: Boca Raton, pp 171-230.
- Buffle J. (1988). *Complexation reactions in aquatic systems : An analytical approach*. New York, Ellis Horwood, John Wiley and Sons, 692 pp.
- Burgess RM et Scott K.J. (1992). The Significance of In-Place Contaminated Marine Sediments on the Water Column : Processes and Effects. In: *Sediment Toxicity Assessment*, Burton G.A.J. Eds. Lewis, Chelsea, MI, USA. pp. 129-165
- Carignan R. (1984). Interstitial waters sampling by dialysis : Methodological notes. *Limnology and Oceanography* 29 3 667-670
- Carr R. (1998). Marine and estuarine porewater toxicity testing. In: *Microscale testing in aquatic toxicology: advances, techniques and practice*. Wells P.G., Lee K. et Blaise C. eds., CRC Press, Boca Raton Florida, p. 523-538
- Carr R. et Chapman D.C. (1998). Comparison of methods for conducting marine and estuarine sediment porewater toxicity tests – Extraction, storage and handling techniques. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 28 69-70
- Chester. R.(1990). *Marine geochemistry*, London. Unwin Hyman, 698 p.
- Chester R. et Aston S. R. (1976). The geochemistry of deep-sea sediments. In: *Chemical oceanography, Vol. 6* (ed. J. P. Riley and R. Chester), Academic Press, pp. 281-390
- Coale K.H. et Bruland K.W. (1988). Copper complexation in the Northeast Pacific. *Limnology and Oceanography* 33 1084-1101
- Coale K.H. et Bruland K.W. (1990). Spatial and temporal variability in copper complexation in the North Pacific. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers* 37 2 317-336
- Croot P.L. (2003). Seasonal cycle of copper speciation in Gullmar Fjord, Sweden. *Limnology and Oceanography*. 48 2 764–776
- Croot P.L., Moffett J.W. et Luther III G.W. (1999). Polarographic determination of half-wave potentials for copper-organic complexes in seawater. *Marine Chemistry* 67 3-4 219-232
- de Lange G.J. (1992). Shipboard routine and pressure-filtration system for pore-water extraction from suboxic sediments. *Marine Geology* 109 1-2 77-81

Delguedre C., Longworth G, Moulin V. et Vilks P. (1990). Grimsel colloid exercise : an international intercomparison exercise on the sampling and characterization of groundwater colloids, Technical Report, 90-01, Nagra Baden

De Marco R. (1994). Response of Copper(II) Ion-Selective Electrodes in Seawater. *Analytical Chemistry* 66 19 3202-3207

De Marco R. (1996). Surface studies of the jalpaite-based copper(II) ion-selective electrode membrane in seawater. *Marine Chemistry* 55 3-4 389-398

Denney S., Sherwood J. et Leyden J. (1999). In situ measurements of labile Cu, Cd and Mn in river waters using DGT. *The Science of the Total Environment* 239 1/3 71-80

Di Toro D.M., Mahony J.D., Hansen D.J., Scott K.J., Hicks M.B., Mayr S.M. et Redmond M.S. (1990). Toxicity of cadmium in sediments : the role of acide volatile sulfide. *Environmental Toxicology and Chemistry* 9 1487-1502

Di Toro D.M., Mahony J.D., Hansen D.J., Scott K.J., Carlson A.R. et Ankley G.T. (1992). Acid volalite sulfide predicts the acute toxicity of cadmium and nickel in sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry* 26 96-101

Di Toro D.M., Hansen D.J., McGrath J.M. et Berry W.J. (2000). Predicting the toxicity of metals in sediments using SEM and AVS. Draft in preparation

Dixon E.M., Gardner M.J. and Parry S.J. (1999) Optimised Design for Complexation Capacity Titrations. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 11(2), 51-56.

Donat J.R. et Bruland K.W. (1992) Organic copper complexation in Sargasso Sea surface waters : comparison to the North Pacific. *Eos* 72 44

Donat J.R. et van Den Berg C.M.G. (1992). A new cathodic stripping voltammetric method for determining organic copper complexation in seawater. *Marine Chemistry* 38 1-2 69-90

Donat J.R., Lao K.A. et Bruland K.W. (1994). Speciation of dissolved copper and nickel in South San Francisco Bay: a multi-method approach. *Analytica Chimica Acta* 284 3 547-571

Donat J.R., Statham P.J. et Bruland, K.W. (1986). An evaluation technique for isolating metal-organic complexes from Central North Pacific Ocean Waters. *Marine Chemistry* 18 85-89.

El Sayed M.A. and Aminot A. (2000). C₁₈ Sep-Pak Extractable Dissolved Organic Copper Related to Hydrochemistry in the North-west Mediterranean. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 50 6 835-842

Eriksen R.S., Mackey D.J., van Dam R. et Nowak B. (2001). Copper speciation and toxicity in Macquarie Harbour, Tasmania: an investigation using a copper ion selective electrode, *Marine Chemistry*, 74 (2-3) 99-113

Ettajani H. (1994). Transfert des éléments traces essentiels ou toxiques dans la chaîne trophique marine à mollusque. Thèse, Université de Tours, France, pp 199.

F. Eyrolle et Benaim J. (1999) Metal available sites on colloidal organic compounds in surface waters (BRAZIL). *Water Research* 33 4 995-1004

Figura P. et McDuffie B. (1980). Determination of labilities of soluble trace metal species in aqueous environmental samples by anodic stripping voltammetry and Chelex column and batch methods. *Analytical Chemistry* 52 9 1433-1439

- Flemming C.A. et Trevors J.T. (1989). Copper toxicity and chemistry in the environment : a review. *Water, air and soil Pollution* 44 143-158
- Florence T.M. (1982). The speciation of trace elements in waters. *Talanta* 29 345-364
- Florence T.M. (1986). Electrochemical approaches to trace element speciation in waters : a review. *Analyst* 111 489-505
- Florence T.M. et Batley G.E. (1975). Removal of trace metals from seawater by a chelating resin. *Talanta* 22 201
- Florence T.M. et Batley G.E. (1975). Trace metal species in seawater : I. removal of trace metals in seawater by a chelating resin. *Talanta* 23 179
- Florence T.M. et Stauber J.L. (1986). Toxicity of copper complexes to the marine diatom *Nitzschia closterium*. *Aquatic Toxicology* 8 11
- Florence T.M., Lumsden B. G. and Fardy J. J. (1983). Evaluation of some physico-chemical techniques for the determination of the fraction of dissolved copper toxic to the marine diatom *nitzschia closterium*, *Analytica Chimica Acta* 151 281-295
- Florence, T.M. (1986). Electrochemical approaches to trace element speciation in waters : a review. *Analyst* 111 489-505
- Forstner U. and Wittmann G.T.W. (1979). *Metal Pollution in the Aquatic Environment*. Springer-Verlag, New York, 289 pp.
- Gerringa L.J.A., Herman P.M.J. et Poortvliet T.C.W. (1995). Comparison of the linear Van den Berg/Ruzic transformation and a non-linear fit of the Langmuir isotherm applied to Cu speciation data in the estuarine environment. *Marine Chemistry* 48 2 131-142
- Gerringa L.J.A., Hummel H. and Moerdijk-Poortvliet T.C.W. (1998) Relations between free copper and salinity, dissolved and particulate organic carbon in the Oosterschelde and Westerschelde, Netherlands. *Netherlands Journal of Sea Research* 40, 193-203.
- Gilbin R. (2001). Caractérisation de l'exposition des écosystèmes aquatiques à des produits phytosanitaires : spéciation, biodisponibilité et toxicité. Thèse. Université de Genève et université de Montpellier I. 192 pp.
- Goodman K.S. (1979). An apparatus for sampling interstitial water throughout the tidal cycles. *Hydrobiological Bulletin* 13 30 225-232
- Gümgüm B. et Öztürk G. (2001). Chemical speciation of heavy metals in the Tigris River sediment. *Chemical Speciation and Bioavailability* 13 1 25-29
- Gundersen P. et Steinnes E. (2003) Influence of pH and TOC concentration on Cu, Zn, Cd, and Al speciation in rivers. *Water Research* 37 2 307-318
- Grabowski L.A., Houppis J.L.J., Woods W.I. et Johnson K.A. (2001). Seasonal bioavailability of sediment-associated heavy metals along the Mississippi river floodplain. *Chemosphere* 45 643-651
- GRNC - Groupe Radioécologie Nord Cotentin (2002). Risque pour l'environnement: Evaluation des risques associés aux rejets chimiques des installations nucléaires du Nord-Cotentin. Volume 3, 210 p.
- Hansen D.J., Berry W.J., mahony J.D., Boothman W.S., Di Toro D.M., Robson D.L., Ankley G.T., Ma D., Yan Q. et Pesch C.E. (1996). Predicting the toxicity of metal-contaminated field sediments using interstitial concentration of metals and acid volatile sulfide normalizations. *Environmental Toxicological Chemistry* 15 2080-2094

- Hanson Jr. A.K., Sakamoto-Arnold C.M., Huizenga D.L. et Kester D.R. (1988). Copper complexation in sargasso sea and gulf stream warm-core ring waters. *Marine Chemistry* 23 1-2 181-203
- Hart B.T. et Davies S.H.R. (1977) A new dialysis/ion exchange technique for determining the forms of trace metals in water. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 28 105
- Hart B.T. et Davies S.H.R. (1981) Trace metal speciation in three Victorian lakes *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 32 175
- Hasle J.R. et Abdullah M.I. (1981). Analytical fractionation of dissolved copper, lead and cadmium in coastal seawater. *Marine Chemistry* 10 487-503.
- Hering J.G., Sunda W.G., Ferguson R.L. et Morel F.M.M. (1987). A field comparison of two methods for the determination of copper complexation: Bacterial bioassay and fixed-potential amperometry. *Marine Chemistry* 20 4 299-312
- Hertkorn-Obst U., Wendeler H., Feuerstein T. et Schmitz W. (1982). A Device for Sampling Interstitial Water out of River and Lake Beds. *Environmental Technology* 3 263 267
- Hesslein R.H. (1976). An in situ sampler for close interval pore water studies. *Limnology and Oceanography* 21 912-924
- Hirose K., Dokiya Y. et Sugimura Y. (1982). Determination of conditional stability constants of organic copper and zinc complexes dissolved in seawater using ligand exchange method with EDTA. *Marine Chemistry* 11 4 1982 343-354
- Horowitz A. (1986). Comparison of methods for the concentration of suspended sediment in river water for subsequent chemical analysis. *Environmental Science and Technology* 20 155-160
- Howes B.L., Dacey J.W.H. et Wakeham S.G. (1985). Effects of sampling technique on measurements of porewater constituents in salt marsh sediments. *Limnology and Oceanography* 30 221-227
- Hua C., Jagner D. et Renman L. (1987). Determination of selenium by means of computerized flow constant-current stripping at carbon fibre electrodes. *Analytica Chimica Acta* 197 257-264.
- Hursthouse A.S., Iqbal P. et Denman R. (1993). Sampling interstitial waters from intertidal sediments: an inexpensive device to overcome an expensive problem? *The Analyst* 118 1461-1462
- Jasinski R., Trachtenberg I., Andrychuk D. (1974). Potentiometric measurement of copper in sea water with ion selective electrodes. *Analytical Chemistry* 46 364-369
- Kalil E. et Goldhaber M. (1973). A sediment squeezer for removal of pore waters without air contact. *Journal of Sedimentology and Petrology* 43 553-557
- Kersten M. et Förstner U. (1987). Effect of sample pre-treatment on the reliability of solid speciation data of heavy metals - implications for the study of early diagenetic processes. *Marine Chemistry* 22 299-312
- Kramer C.J.M. (1986). Apparent copper complexation capacity and conditional stability constants in north atlantic waters. *Marine Chemistry* 18 2-4 335-349
- Kramer C.J.M. et Duinker J.C. (1984). Complexation capacity and conditionnal stability constants for copper of sea and estuarine waters. In : *Complexation of trace metals in natural waters*, Kramer C.M.J. et Duinker J.C., Nijhoff-Junk, The Hague, pp. 217-228
- Kriukov P.A. et Manheim F.T. (1982). Extractions and investigative techniques for study of interstitial waters of unconsolidated sediments : a review. In : *The dynamic environment of the ocean floor*, Fanning K.A. et Manheim F.T., Lexington Books, Washington D.C., pp. 3-26

- Langston W.J., Burt G.R. et Pope N.D. (1999). Bioavailability of metals in sediments of the Dogger Bank (central North Sea): a mesocosm study. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 48 5 519-540
- Lau S.S.S. et Chu L.M. (1999). Contamination release from sediment in a coastal wetland. *Water Research* 33 (4) 909-918
- Laxen D.P.H. et Harrison R.M. (1981). A scheme for the physico-chemical speciation of trace metals in freshwater samples. *The Science of The Total Environment* 19 1 59-82
- Le Goff F. et Bonnomet V., (2003). Devenir et comportement des métaux dans l'eau : biodisponibilité et modèles BLM. Rapport INERIS DRC-03-46822-FLg/JL/03.0693, 80p.
- Lin C.F., Lee D.Y., Chen W.T. et Lo K.S. (1995) Fractionation of fulvic acids : characteristics and complexation with copper. *Environmental Pollution* 87 2 181-187
- Lores E. M. et Pennock J. R. (1998). The Effect of Salinity on the binding of Cd, Cr, Cu and Zn to dissolved organic matter. *Chemosphere* 37 5 861-874.
- Lu Y. et Allen H.E. (2002) Characterization of copper complexation with natural dissolved organic matter (DOM)—link to acidic moieties of DOM and competition by Ca and Mg, *Water Research* 36 (20) 5083-5101
- Lu Y. et Allen H.E. (2002). Characterization of copper complexation with natural dissolved organic matter (DOM)—link to acidic moieties of DOM and competition by Ca and Mg. *Water Research* 36 20 5083-5101
- Lucia M., Campos A.M. et van Den Berg C.M.G. (1994). Determination of copper complexation in sea water by cathodic stripping voltammetry and ligand competition with salicylaldehyde. *Analytica Chimica Acta* 284 3 481-496
- Mantoura R.F.C., Dickson A. et Riley J.P. (1978). The complexation of metals with humic materials in natural waters. *Estuarine Coastal and Marine Science* 6 387-408.
- Martin J.-M. et Windom H. L. (1990). Present and future roles of ocean margins in regulating marine biogeochemical cycles of trace elements. In : Dahlem Conference Marginal Seas processes in Global Changes, Mantoura R.F.C., Martin J.-M and Wollast R., eds., John Wiley and Sons, pp 45-67.
- Matisoff G., Lindsay A.H., Matis S. et Soster F.M. (1980). Trace metal mineral equilibria in Lake Erie sediments. *Journal of Great Lakes Research* 6 353-366
- Meguelliati M., Robbe D., Marchandise P. and Astruc M. (1983). In : Proc. Int. Conf. Heavy Metals in the Environment, G. Müller ed., CEP Consultants, Heidelberg, 2 1090.
- Midorikawa T. et Tanoue E. (1996). Effects of Ligand Speciation on Determinations of the Complexing Abilities of Strong Ligands in Natural Waters. *Journal of Oceanography* 52 4 421-439
- Miller L.A. et Bruland K.W. (1994) Determination of copper speciation in marine waters by competitive ligand equilibration/liquid - liquid extraction: An evaluation of the technique. *Analytica Chimica Acta* 284 3 573-586
- Moffett J.W. et Zika R.G. (1987). Solvent extraction of copper acetylacetonate in studies of copper(II) speciation in seawater. *Marine Chemistry* 21 4 301-313
- Moffett J.W., Zika R.G. et Brand L.E. (1990). Distribution and potential sources and sinks of copper chelators in the Sargasso Sea. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers* 37 1 27-36
- Montgomery J.R., Price M.T., Holt J. et Zimmermann C.F. (1981). A close interval sampler for collection of sediment pore water for nutrient analyses. *Estuaries* 4 75-82

- Morin A. et Thybaud E. (2003). La spéciation du cuivre et les effets sur l'écosystème aquatique d'eau douce : une étude en mésocosme. Rapport INERIS-DRC-CHEN-09-29902-AMo/JL-03.0536, 99 p
- Morrison G.M. et Florence T.M. (1988). Comparison of physicochemical speciation procedures with metal toxicity to *Chlorella pyrenoidosa*. *Analytica Chimica Acta* 209 15 97-109
- Morse J.W., Millero F.J., Cornwell J.C. et Rickard D. (1987). The chemistry of the hydrogen sulfide and iron sulfide systems in natural waters. *Earth Science Review* 24 1-42
- Mota A.M. et Correia Dos Santos M.M. (1995). Trace metal speciation of labile chemical species in natural waters : electrochemical methods. In : *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems*. Tessier A. et Turner D.R. eds. p. 205-257
- Muller F.L.L. (1998). Colloid/Solution Partitioning of Metal-Selective Organic Ligands, and its Relevance to Cu, Pb and Cd Cycling in the Firth of Clyde. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 46 3 419-437
- Muller F.L.L., Gulin S.B. et Kalvøy A. (2001). Chemical speciation of copper and zinc in surface waters of the western Black Sea. *Marine Chemistry* 76 4 233-251
- Murdock A. et Azcue J. (1995) *Manual of Aquatic Sediment Sampling*. Lewis, Boca Raton, 219 pp.
- Nierop K.G.J., Jansen B., Vrugt J.A. et Verstraten J.M. (2002). Copper complexation by dissolved organic matter and uncertainty assessment of their stability constants. *Chemosphere* 49 10 1191-1200
- Petryk G. et Dustin K. (1993). An improved sediment squeezer. Project Lab. Mc Gill University
- Plav M., Krznari D. et Branica M. (1982). Determination of the apparent copper complexing capacity of seawater by anodic stripping voltammetry. *Marine Chemistry* 11 1 17-31
- Presley B.J., Brooks R.R. et Kappel H.M. (1967). A simple squeezer for removal of interstitial water from ocean sediments. *Journal of Marine Research* 25 355-357
- Prévost, C. (2003). Spéciation du cuivre en eaux douces. Rapport INERIS, 75 p
- Quevauviller Ph., Rauret G. et Griepink B. (1993). Single and sequential extraction in sediments and soils. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry* 51 231-235
- Rasmussen A.D. et Andersen O. (1999). Cadmium transfer between water and sediments studied in laboratory experiments and with a computer model. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 63 720-727.
- Reeburgh W.S. (1967). An improved interstitial water sampler. *Limnology and Oceanography* 12 163-170
- Rey J.R., Shaffer J., Kain T. et Crossman R. (1992). Sulfide variation in the pore and surface waters of artificial salt marsh ditches and a natural tidal creek. *Estuaries* 15 257-269
- Reza Sangi M., Halstead M.J. et Hunter K.A.. (2002). Use of the diffusion gradient thin film method to measure trace metals in fresh waters at low ionic strength. *Analytica Chimica Acta* 456 241-251
- Rijstenbil J.W. et Poortvliet T.C.W. (1992). Copper and zinc in estuarine water : chemical speciation in relation to bioavailability to the marine planktonic diatom *ditylum brightwellii*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 11 1615-1625
- Riley, J. P. et Taylor D. (1968). Chelating resins for the concentration of trace elements from sea water and their analytical use in conjunction with atomic absorption spectrophotometry. *Analytica Chimica Acta* 40 479-485.

- Román D.A. et Rivera L. (1992) The behaviour of a Cu(II) ion selective electrode in seawater; copper consumption capacity and copper determinations. *Marine Chemistry* 38 3-4 165-184
- Rosa F. et Davies K. (1993). Design of the « quad clamp » apparatus for sediment squeezing. Centre canadien des eaux interieures, Burlington Ontario
- Ruzic I. (1982) Theoretical aspects of the direct titration of natural waters and its information yield for trace metal speciation. *Analytica Chimica Acta* 140 99-113
- Saager P.M., Sweerts J-P. et Ellermeijer H.J. (1990). A simple pore-water sampler for coarse, sandy sediments of low porosity. *Limnology and Oceanography* 35 3 747-751.
- Salomons W. et Forstner U. (1980). Trace metal analysis on polluted sediments. Part 2. Evaluation of environmental impact. *Environmental Technology Letter* 1 506-517.
- Sasseville T.R., Takacs A.P. et Norton S.A. (1974). A large volume interstitial water sediment squeezer for lake sediments. *Limnology and Oceanography* 19 1001-1004
- Sayles F.L., Wilson T.R.S., Hume D.N. et Mangelsdorf Jr P.C. (1973). In-situ sampler for marine sedimentary pore waters: evidence for potassium depletion and calcium enrichment. *Science* 181 154-156.
- Schults D.W., Ferraro S.P., Smith L.M., Roberts F.A. et Poindexter C.K. (1992). A comparison of methods for collecting interstitial water for trace organic compounds and metals analyses. *Water Research* 26 989-995.
- Smith R.W. et Martell A.E. (2003) Critical Stability Constants of Metal Complexes Database. NIST Standard Reference Database 46 (USA).
- Soares H.M.V.M. et Vasconcelos M.T.S.D. (1995). Potentiometric stripping analysis vs. differential pulse anodic stripping voltammetry for copper (II) analysis at relatively positive deposition potential. *Analytica Chimica Acta* 303 255-263.
- Spokes L.J., Lucia M., Campos A.M. et Jickells T.D. (1996) The role of organic matter in controlling copper speciation in precipitation. *Atmospheric Environment* 30 23 3959-3966
- Stumm W. et Morgan J.J. (1996). *Aquatic Chemistry*, 3rd ed., Wiley, New York, 1022 pp.
- Sugimura Y., Suzuki Y. et Miyake Y. (1978). Chemical forms of minor metallic elements in the ocean. *Journal of Oceanography Soc. Jpn.* 34 93
- Sunda W.G. et Ferguson R.L. (1983). Sensitivity of natural bacterial communities to additions of copper and to cupric ion activity. In : *Trace metals in seawater*. Wong C.S., Boyle E., Bruland K.W., Burton J.D. et Goldberg E.D. eds, Plenum press, New York, pp. 871-890
- Sunda W.G. et Hansen A.K. (1987). Measurement of free cupric ion concentration in seawater by a ligand competition technique involving copper sorption onto C₁₈ Sep pak cartridges. *Limnology and Oceanography* 32 537-551
- Sunda W.G. et Huntsman S.A. (1991). The use of chemiluminescence and ligand competition with EDTA to measure copper concentration and speciation in seawater. *Marine Chemistry* 36 137-163
- Tack F.M.G. et Verloo M.G. (1995). Chemical speciation and fractionation in soil and sediment heavy metal analysis : a review. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry* 59 225-238
- Tack F.M.G., Verloo M.G. (1999). Single extractions versus sequential extraction for the estimation of heavy metal fractions in reduced and oxidised dredged sediments. *Chemical Speciation and Bioavailability* 11 43-50

Tani Y., Soma M., Harsányi E.G. et Umezawa Y. (1999). Effect of dissolved oxygen on the response of Cu(II) ion-selective electrodes in metal buffer solutions. *Analytica Chimica Acta* 395 1-2 53-63

Tessier A., Campbell P.G.C. et Bisson M. (1979). Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry* 51 7 844-851

Thomson E.A., Luoma S.N., Cain D.J. et Johansson C. (1980) The effect of storage on the extraction of Cu, Zn, Fe, Mn et organic materials from oxidized sediments. *Water, Air and Soil Pollution* 14 215

Truitt R.E. et Weber J.H. (1981). Determination of Complexing Capacity of Fulvic Acid for Copper(II) and Cadmium(II) by Dialysis Titration. *Analytical Chemistry* 53 337-342.

Ure A.M., Quevauviller Ph., Munteau H. et Griepink B. (1993). Speciation of Heavy Metals in Soils and Sediments. An Account of the Improvement and Harmonization of Extraction Techniques Undertaken under the Auspices of the BCR of the Commission of the European Communities. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry* 51 135-151

van de Berg C.M.G., Buckley P.M. et Dharmvanij C. (1984). Determination of ligand concentrations and conditional stability constants in seawater. In : *Complexation of trace metals in natural waters*, Kramer C.M.J. et Duinker J.C. eds, Nijhoff-Junk, The Hague, pp 213-216

van Den Berg C.M.G. (1982). Determination of copper complexation with natural organic ligands in seawater by equilibration with MnO₂ I. Theory, *Marine Chemistry* 11 4 307-322

van Den Berg C.M.G. (1982). Determination of copper complexation with natural organic ligands in seawater by equilibration with MnO₂ II. Experimental procedures and application to surface seawater. *Marine Chemistry* 11 4 323-342

van Den Berg C.M.G. et Donat J.R. (1992) Determination and data evaluation of copper complexation by organic ligands in sea water using cathodic stripping voltammetry at varying detection windows, *Analytica Chimica Acta* 257 2 281-291

van den Berg C.M.G. et Kramer J.R. (1979) Determination of complexing capacities of ligands in natural waters and conditional stability constants of the copper complexes by means of manganese dioxide. *Analytica Chimica Acta* 106 1 113-120

van Den Berg C.M.G., Nimmo M., Daly P. et Turner D.R. (1990). Effects of the detection window on the determination of organic copper speciation in estuarine waters. *Analytica Chimica Acta* 232 149-159

van Griethuysen C., Gillissen F. et Koelmans A.A. (2002). Measuring acid volatile sulphide in floodplain lake sediments : effect of reaction time, sample size and aeration. *Chemosphere* 47 395-400

Van Leeuwen H.P. (1987) Voltammetric titrations involving metal complexes : effect of kinetics and diffusion coefficients. *The Science of the Total Environment*. 60 45-55

Voelker B.M. et Kogut M.B. (2001). Interpretation of metal speciation data in coastal waters: the effects of humic substances on copper binding as a test case. *Marine Chemistry* 74 4 303-318

Waite T.D. et Morel F.M.M. (1983) Characterization of complexing agents in natural waters by copper(II)/copper(I) amperometry. *Analytical Chemistry* 55 1268-1274

Watson P.G. et Frickers T.E. (1990). A multilevel, in situ pore water sampler for use in intertidal sediment and laboratory microcosms. *Limnology and Oceanography* 35 6 1381-1386

Webb J.A. et Keough M.J. (2002). Measurement of environmental trace metal levels transplanted mussels and diffusive gradients in thin films (DGT) :a comparison of techniques. *Marine Pollution Bulletin* 44 222-229

Wells M.L., Kozelka P.B. et Bruland K.W. (1998). The complexation of 'dissolved' Cu, Zn, Cd and Pb by soluble and colloidal organic matter in Narragansett Bay, RI. *Marine Chemistry* 62 3-4 203-217

Zevenhuizen L.P.T.M., Dolfing J., Eshuis E.J. et Scholten Koerselman, I.J. (1979). Inhibitory effects of copper on bacteria related to the free ion concentration. *Microbial ecology* 5 139

Zhang H. et Davison W. (1995). Performance Characteristics of Diffusion Gradients in Thin Films for the in Situ Measurement of Trace Metals in Aqueous Solution. *Analytical Chemistry* 67 (19) 3391-3400

Zhang M. et Florence T.M. (1987). A novel adsorbent for the determination of the toxic fraction of copper in natural waters. *Analytica Chimica Acta* 197 137-148

Zimmerman C.F., Price M.T. et Montgomery J.R. (1978). A comparison of ceramic and teflon in situ sampler for nutrient pore water determinations. *Estuarine Coastal and Marine Science* 7 93.

Ziniro A., Belli S.L. et van Der Weele D.A. (1998). Copper concentration and Cu(II) activity an San Diego Bay. *Electroanalysis* 10 (6) 423-427.

ANNEXE

Coefficients de diffusion des ions métalliques dans le gel diffusif (open gel)
à différentes températures

Temp. (°C)	D (10 ⁻⁶ cm ² s ⁻¹)				
	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
1	2,84	2,91	2,69	3,75	2,84
2	2,95	3,02	2,80	3,89	2,94
3	3,06	3,13	2,90	4,04	3,05
4	3,18	3,25	3,01	4,19	3,17
5	3,29	3,36	3,12	4,34	3,28
6	3,41	3,48	3,23	4,49	3,40
7	3,53	3,61	3,34	4,65	3,52
8	3,65	3,73	3,46	4,81	3,64
9	3,78	3,86	3,58	4,98	3,77
10	3,90	3,99	3,70	5,14	3,89
11	4,03	4,12	3,82	5,31	4,02
12	4,16	4,26	3,94	5,49	4,15
13	4,30	4,39	4,07	5,67	4,29
14	4,43	4,53	4,20	5,85	4,42
15	4,57	4,68	4,33	6,03	4,56
16	4,72	4,82	4,47	6,21	4,70
17	4,86	4,97	4,60	6,40	4,85
18	5,01	5,12	4,74	6,60	4,99
19	5,15	5,27	4,88	6,79	5,14
20	5,30	5,42	5,02	6,99	5,29
21	5,46	5,58	5,17	7,19	5,44
22	5,61	5,74	5,32	7,40	5,60
23	5,77	5,90	5,47	7,61	5,76
24	5,93	6,06	5,62	7,82	5,92
25	6,09	6,23	5,77	8,03	6,08
26	6,26	6,40	5,93	8,25	6,24
27	6,43	6,57	6,09	8,47	6,41
28	6,60	6,74	6,25	8,69	6,58
29	6,77	6,92	6,41	8,92	6,75
30	6,94	7,10	6,58	9,15	6,92
31	7,12	7,28	6,74	9,39	7,10
32	7,30	7,46	6,91	9,62	7,28
33	7,48	7,65	7,09	9,86	7,46
34	7,67	7,84	7,26	10,10	7,64
35	7,85	8,03	7,44	10,35	7,83

DGT Research Ltd, Skelmorlie, Quernmore, Lancaster LA2 0QJ, UK

tel: 44-1524-751451, fax: 01524 751826

e-mail: h.zhang@lancaster.ac.uk

LISTE DE DIFFUSION

Nom	Adresse/Service	Nb
	Dossier maître	1
V. BONNOMET		1
M. COQUERY	+ reserve	2
P. HUBERT		1
G. LABROYE		1
V. LAFLECHE		1
F. LEGOFF		1
H. MAGAUD		1
F. MARCEL		1
P. MONBET		1
A. MORIN		1
DOCT		1
P. BERTEAUD		1
G. GOLASZEWSKI		1
C. JOURDAN		1

TOTAL **16****PERSONNES AYANT PARTICIPE A L'ETUDE**

Travail	Nom	Qualité	Date	Visa
Rédacteur	P Monbet			
Responsable d'affaire	M Coquery			
Relecteur	V Bonnomet / F LeGoff			
Vérificateur	M Coquery			
Approbateur	A Morin			

 **Fin du Complément non destiné au client** 