

## IMPORTANCE DE LA FRACTION COLLOÏDALE DE LA MATIÈRE ORGANIQUE DISSOUE POUR LE TRANSPORT DES MÉTAUX DANS LES EAUX DE SURFACE (AMAZONIE CENTRALE)

F. EYROLLE & J. Y. BENAÏM

### ABSTRACT:

Metals worn away from rocks by erosion are drained and evacuated from soils, trapped by organic matter. Large amounts of detritic organic carbon can be transported by leaching waters. Under humid equatorial climates this weathering process is accelerated. It is interesting to follow this phenomenon in such areas where the contribution of organic colloids seems to be important for metal mobility in the aquatic environment. Throughout its dimension, this high weight organic matter develops within fresh waters, large surface charges, generally negatives (at ordinary pH and ionic strength of natural water). The interaction forces involved are not only governed by the usual thermodynamical laws of solutions, but electrostatic forces (Coulomb, Van Der Waals) are implied. On a colloidal surface, they are to be taken into account. Ion-Selective Electrodes ( $H^+$  and  $Cu^{2+}$ ) (ISE) and Differential Pulse Anodic Stripping Voltametry (DPASV) associated with sequential tangential ultrafiltration have been used to study natural fresh waters from several sampling sites in the amazonian river basin. The ability of organic material to mobilize metals has been determined according to size which has been evaluated by Photon Correlation Spectroscopy (PCS). The CL/DOC ratio, defined as the quantity of available complexation sites, is the main parameter retained to compare the different samples. For all sampled areas, the sites density determined by DPASV is maximum in the range 20 000 D - 100 000 D. Complexation sites analyses by ISE show similar pK<sub>Cu</sub> and pK<sub>a</sub> distributions for all samples: pK<sub>Cu</sub> distributions are characterised by a major pic density for pK<sub>Cu</sub> = 3 - 4; pK<sub>a</sub> distributions show two major groups: one group is representative of carboxylic sites while the other one is representative of phenolic sites.

### INTRODUCTION

Bien que la matière organique (MO) soit un composant mineur des sédiments, des sols et des eaux naturelles, son influence est extrêmement importante sur les processus géochimiques. Un rôle particulièrement important est celui des interactions de la MO avec les métaux. Ces phénomènes influencent considérablement les processus de solubilisation, de précipitation, de mobilité et de migration, de recyclage et d'accumulation des métaux au sein des systèmes naturels. Au niveau des sols, de nombreuses propriétés physico-chimiques telles que la porosité, la perméabilité, la rétention d'eau sont modifiées par les composés organiques. Ces composés sont également engagés dans les processus d'altération des roches et de formation des sols. Les phénomènes chimiques faisant intervenir uniquement les composés inorganiques ne permettent pas de justifier les taux de métaux en solution, tels qu'ils sont observés dans de nombreux systèmes. JENNE 1976, mentionne que les métaux traces sont présents dans les eaux naturelles essentiellement sous forme de complexes organiques solubles; une plus faible proportion se trouve sous forme de complexes inorganiques. De nombreux auteurs ont pu souligner que les associations de cations métalliques avec des composés humiques entraînent une élévation de leur solubilité (ALEKSANDROVA 1967, MANSKAYA et al. 1968, BAKER 1973). De plus, les composés organiques apparaissent très actifs dans les phénomènes de dissolution d'un certain nombre de minéraux primaires et secondaires. Les travaux de BAKER 1973 montrent que les composés humiques ont un pouvoir de dissolution extrêmement efficace sur une trentaine de minéraux expérimentés tels que pyrite, hématite, calcite, fluorite ou malachite.

La matière organique semble jouer un rôle particulièrement important sur les processus d'altération des roches. En raison de la très forte affinité des métaux avec les composés organiques, augmentant leur solubilité et limitant leur précipitation, les temps de résidence des métaux dans la colonne d'eau sont influencés. La mobilité, la migration et le transport des métaux sont facilités. SWANSON et al. 1966, rapportent que certaines substances humiques d'origine aquatique peuvent fixer le cobalt, le cuivre, le fer, le zinc, le manganèse, le molybdène, le nickel et le vanadium jusqu'à 17 % de leur masse (masse sèche). De telles capacités de fixation sont à

l'origine des taux élevés de métaux que l'on rencontre dans les roches carbonatées et les dépôts sédimentaires par exemple. CHOPPIN 1988, précise qu'en raison des phénomènes de coagulation des substances humiques saturées en métaux, le facteur d'enrichissement géochimique peut atteindre  $10^4$  pour l'uranium dans les sédiments des eaux naturelles. Ces quelques exemples illustrent le rôle considérable des composés organiques vis-à-vis des processus d'altération, de transfert et de transport des métaux des eaux interstitielles des sols jusqu'aux océans via les cours d'eau.

De plus, un certain nombre d'auteurs a rapporté que parmi ces composés organiques, les macromolécules ou particules colloïdales ont une participation particulièrement importante. Au cours de ces dernières années, l'étude de la fraction colloïdale pour le transport des métaux a suscité beaucoup d'intérêt. Les teneurs en métaux dans les océans se trouvent être relativement faibles par rapport à ce qu'elles devraient être si l'on se réfère aux valeurs calculées à partir des bilans d'érosion à l'échelle du globe (MORAN et MOORE 1989). Certains auteurs préoccupés par de telles observations ont récemment orienté leurs recherches sur le rôle des matières colloïdales vis-à-vis de la rétention et de l'immobilisation des métaux en phase solide (SANTCHI et al. 1986, HONEYMAN et SANTSCHI 1988, NIVEN et MOORE 1988). Leurs travaux montrent que les colloïdes pourraient bien avoir une participation très importante pour l'élimination des métaux traces dans les océans, en affectant, par exemple, les cinétiques de mobilisation des métaux fixés sur ces particules submicrométriques, et en modifiant ainsi la répartition des métaux stables et radio-actifs entre la phase solide et la phase aqueuse. Il semble que la matière organique colloïdale puisse être particulièrement efficace pour le transfert puis le transport des métaux depuis les eaux interstitielles des sols jusqu'aux océans via les cours d'eau et les rivières. Les questions qui se posent alors à l'heure actuelle sont de connaître et de déterminer la nature de cette aptitude particulière tout en tentant de qualifier et de quantifier cette dernière.

La matière organique dissoute (MOD) est généralement définie comme étant la MO dont la taille est inférieure à  $0,45 \mu\text{m}$ . L'analyse des propriétés de la fraction colloïdale organique nécessite une étape préalable de séparation et d'isolement de cette fraction. Les matières colloïdales ont pu être essentiellement définies selon un critère de taille et cette propriété spécifique a été exploitée afin de séparer le matériel colloïdal ou plus exactement afin d'isoler différentes classes de taille de composés naturellement dissous dans les eaux. La technique d'ultrafiltration (UF), couramment employée dans l'étude des eaux naturelles (ALLEN 1976, BUFFLE et al 1978, FAURE 1975, GJESSING 1971, 1973, HOFFMAN et al 1981, STEINBERG 1977, STABEL 1977, WILANDER 1972), a été retenue pour nos travaux comme méthode de fractionnement de la matière organique dans les eaux naturelles afin d'isoler les fractions colloïdales. Seule la fraction inférieure à  $0,45 \mu\text{m}$  a été étudiée. Le fractionnement physique de la matière organique dissoute par UF en cascade permet d'obtenir des fractions définies par les seuils de coupure des membranes qui ont permis de les isoler. Le seuil de coupure des ultrafiltres est donné en unité de poids moléculaire (PM), et il est certain que cette grandeur ne fournit pas une représentation explicite de la dimension des matières colloïdales récoltées à l'issue de la filtration. Le problème posé est de connaître la dimension des composés isolés en unités métriques. Une partie des travaux présentés ici s'attachent à préciser et à souligner la taille des molécules isolées par ultrafiltration en cascade et la composition des fractions, tout d'abord à partir de la synthèse d'un certain nombre de résultats publiés dans la littérature, et ensuite au moyen de la spectroscopie de corrélation de photons (PCS).

L'autre partie souligne les caractéristiques de chaque fraction isolée vis-à-vis de la complexation des métaux; d'une part au moyen d'une analyse ampérométrique: la DPASV (Differential Pulse Anodic Stripping Voltametry), et d'autre part au moyen d'une analyse potentiométrique: les électrodes sélectives aux ions  $\text{Cu}^{2+}$  et les électrodes de pH. Des travaux précédents sur des eaux de divers bassins versants du Rio Pardo affluent du Rio Paranã (PARANA) à partir d'une étude au moyen de la DPASV ont permis de révéler une aptitude particulière des molécules organiques de PM variant de 20 000 Daltons (D) à 100 000 D; les molécules de PM inférieur ou supérieur à cette classe présentant d'une façon générale des densités de sites ( $\mu\text{mol}$  de Cu / g de COD) moindres (EYROLLE et al. 1993). Des travaux analogues, présentés ici, semblent confirmer les observations effectuées sur les eaux du Paranã. Les échantillons étudiés sont relativement riches en COD (plusieurs dizaines de mg/l dans certaines fractions) et des dosages potentiométriques (acido-basiques ou par addition d'ions  $\text{Cu}^{2+}$ ) ont pu

être réalisés sur les échantillons d'AMAZONIE et de l'AMAPA étudiés en DPASV offrant la possibilité d'apporter des informations complémentaires sur les propriétés de la MO vis-à-vis de la complexation des métaux. Le cuivre, formant des complexes stables avec la plupart des ligands organiques, est le plus souvent utilisé comme outil analytique pour évaluer la quantité de sites disponibles pour les métaux (KRAMER 1985, HERING et MOREL 1988). De plus les électrodes sélectives aux ions  $\text{Cu}^{2+}$  sont celles qui présentent, après l'électrode de pH, la limite de détection la plus basse ( $10^{-8}$  -  $10^{-9}$  M) et une bonne sélectivité. Enfin, les réactions secondaires, pouvant susciter des difficultés d'analyse ou d'interprétation telles que les phénomènes de coagulation et de floculation dans le cas de l'aluminium, ou bien encore des processus d'oxydo-réduction dans le cas du fer par exemple, sont limitées pour le cuivre.

Les courbes de titrages obtenues sont alors exploitées à l'aide d'un modèle basé sur un spectre discontinu des constantes d'interaction: la procédure LP (Linear Programming) développée par BRASSARD et al. 1990. Cette procédure a permis d'obtenir les distributions des  $\text{pK}_{\text{Cu}}$  et des  $\text{pK}_{\text{a}}$  sur diverses fractions isolées par UF en cascade pour plusieurs eaux douces naturelles.

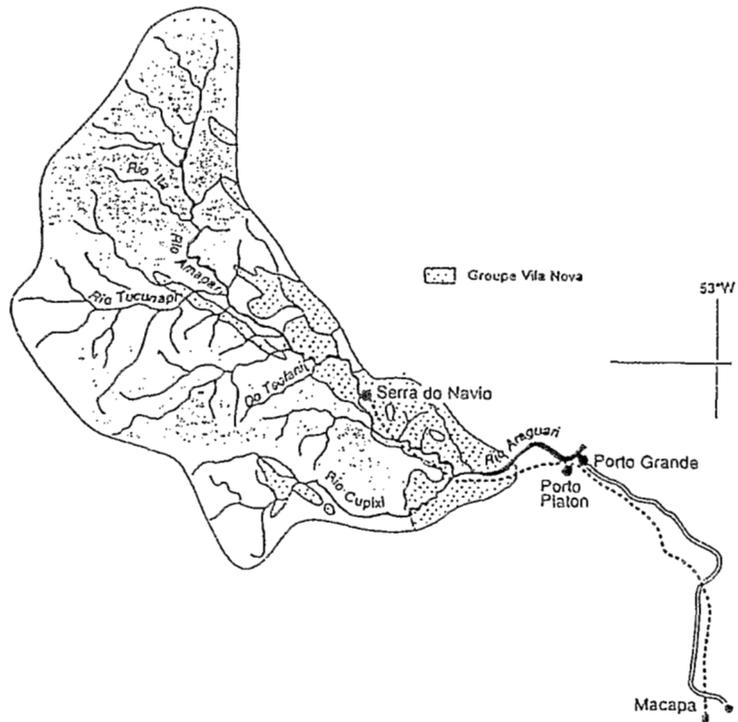
## METHODES ET ANALYSES

### Prélèvements et caractérisation des sites

Dans le cadre du programme PEGI (Programme d'Étude de la Géosphère Intertropicale) une campagne de prélèvements a été réalisée en Octobre 1992 dans la région de Serra Do Navio et près de Manaus.

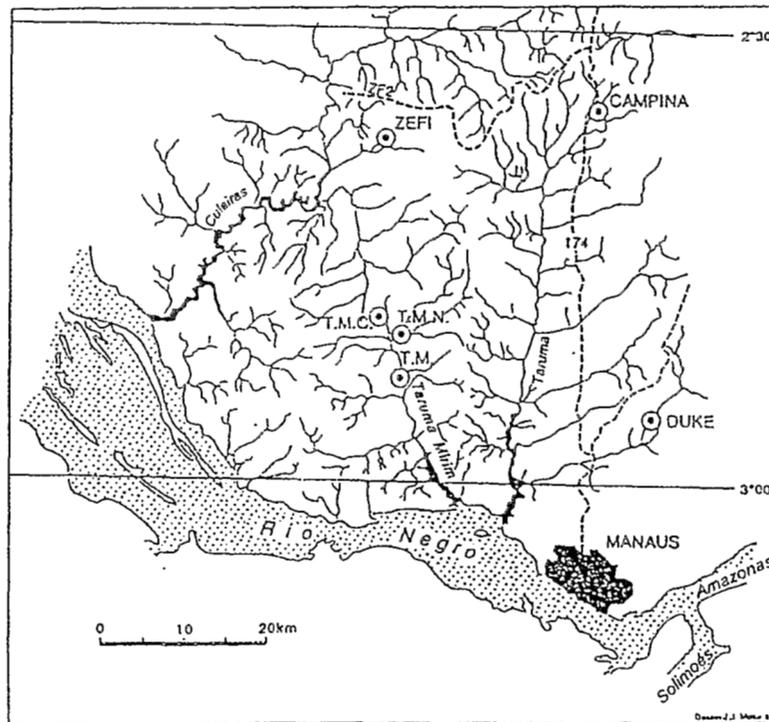
Serra Do Navio se situe dans l'AMAPA (150 km NW de Macapa) (figure 1). Deux cours d'eau ont été échantillonnés: Le premier (point SDN) est un ruisseau de faible débit qui draine une couverture d'altération développée sur des roches du Précambrien appartenant au groupe Vila Nova dans un site à minéralisations particulières: présence de minéraux carbonatés, de gisements de manganèse (exploitations). Le pH est relativement élevé en raison de la présence des minéraux carbonatés. Le cours d'eau de faible débit (7 l/s) charrie une eau claire au travers d'une forêt dense. Le second (point R. AMAP. Amont et R. AMAP. Aval) est le Rio Amapari. C'est une grande rivière et un affluent du Rio Araguari. Son bassin est développé sur des roches cristallophylliennes du massif des Guyanes et draine des sols ferrallitiques typiques. Deux points de prélèvement ont été retenus: l'un en amont de la zone d'exploitation, l'autre en aval afin d'observer une modification de la répartition de la taille des composés organiques dissous en raison des apports anthropiques. Les prélèvements ont été effectués en fin de saison sèche.

La région Nord-Manaus (figure 2) étudiée est située en Amazonie centrale, au sein d'une région aux sols très évolués, très pauvres en éléments nutritifs et peu adaptés à une utilisation agricole. Le site d'étude est caractérisé par la présence de deux grands types de sols: des sols ferrallitiques argileux, kaoliniques, et des podzols à sables quartzeux. Les sols ferrallitiques argileux occupent la partie haute des unités de relief (plateaux), et les podzols la partie basse des versants. Entre ces deux pôles, on trouve une transition progressive, formant toute une gamme de sols intermédiaires. Des études préalables (LUCAS et al. 1984, LUCAS 1989) ont montré que ces sols sont développés sur des sédiments quartzo-kaoliniques du groupe Alter-do-Chão. Ils sont organisés en systèmes à l'échelle des unités de relief. Au fur et à mesure de l'évolution du paysage et du recul des versants, les podzols gagnent progressivement latéralement aux dépens des sols ferrallitiques argileux. Sur les plateaux ferrallitiques, l'eau de percolation s'enrichit au sommet du profil en éléments minéraux (Si, Al, Fe), essentiellement en raison de l'activité microbiologique. Les éléments libérés sont susceptibles de migrer en profondeur, pour participer à des néoformations de minéraux argileux (gibbsite,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) ou silico-alumineux (kaolinite,  $\text{SiO}_2$   $\text{Al}_2\text{O}_3$ , 2  $\text{H}_2\text{O}$ ). Il convient de noter que ces transferts s'effectuent lentement, à travers des matériaux très argileux, présentant de très grandes surfaces d'échange, donc à priori peu susceptibles de laisser percoler des complexes organo-minéraux. Les podzols de bas de versants présentent un fonctionnement biogéochimique très différent. Les complexes organo-minéraux peuvent migrer à travers le matériau sableux, aux surfaces d'échange négligeables. Les éléments libérés par altération des minéraux sont ainsi susceptibles d'être exportés hors du système de sol avant d'être immobilisés par une réaction de précipitation de gibbsite ou de kaolinite. Ce processus permet donc l'extension progressive des sols sableux aux dépens des sols ferrallitiques.



**Figure n° 1**

Localisation du groupe Vila Nova, de la ville de Serra Do Navio ainsi que du Rio Amapari.  
 — : chemin de fer, - - : piste.



**Figure n°2**

Carte géographique de la zone d'échantillonnage et localisation des points de prélèvement; AA : Arquipélago das Anavilhanas (Réserve naturelle nationale), - - - : tracé des pistes 174, 010 et ZF2.

La nature des eaux qui drainent les bassins versants élémentaires de la zone étudiée traduit ces deux grands types de fonctionnement biogéochimique. Les eaux qui drainent des petits bassins versants uniquement constitués de sols ferrallitiques sont des eaux claires; les eaux qui drainent des petits bassins versants sur lesquels existent des podzols sont de couleur brun clair à brun foncé, elles sont appelées eaux noires.

La végétation présente une différenciation qui suit les variations de sol. Sur les sols ferrallitiques argileux de plateau, on observe une forêt dense, composée d'arbres de grande taille et de gros diamètre. La litière est peu épaisse, la minéralisation de la matière organique fraîche étant rapide (type mull). Sur les podzols, quelques espèces arborées éparses se développent: c'est le paysage de la Campina. la litière est épaisse (5-10 cm), constituée de matière organique mal décomposée de couleur noire. Sur les sols intermédiaires (latosol-podzols), la forêt est plus clairsemée que sur les plateaux, les espèces végétales sont différentes, les arbres sont de plus faibles dimensions. C'est le paysage de la Campinarana. Les sols intermédiaires présentent des litières également intermédiaires (BRAVARD 1988). L'échantillonnage des eaux de la région a été fait dans le but de caractériser ces différents milieux. On a donc prélevé d'une part un petit cours d'eau à eau claire, drainant un bassin versant uniquement ferrallitique (point ZEFI II), et d'autre part deux cours d'eau drainant des bassins versants à podzols (points CAMPINA et DUKE). Ces derniers sont des bassins mixtes, dans lesquels une petite partie de sols ferrallitiques demeure à l'amont des reliefs.

Le point d'échantillonnage **ZEFI II** indiqué approximativement sur la carte (figure 2) a été prélevé à proximité de la station de pompage de l'INPA (Intituo Nacional de Pescisas de Amazonas). C'est un point caractéristique des eaux claires des plateaux. Le point **CAMPINA** a été prélevé à l'aval d'une séquence mixte sols ferrallitiques - podzols, dans laquelle les podzols présentent une vaste extension (plus de 2 km d'extension en toposéquence). Le petit cours d'eau de très faible débit ( $< 5 \text{ l.s}^{-1}$ ) ruisselait sur une litière épaisse, accumulée sur un sable gris, et composée en surface de feuilles et de débris végétaux en cours d'humification. Le point **DUKE** a également été prélevé à l'aval d'une séquence mixte sols ferrallitiques - podzols dans laquelle les podzols ont une extension moindre et présentent des caractères hydromorphes marqués. Le point échantillonné se situe à proximité du Rio Branco dans la réserve nationale du **DUKE**, à la base d'une toposéquence suivie et étudiée par de nombreux chercheurs (FRANKEN et al. 1984, FORTI et MOREIRA-NORDEMANN 1990, BRIAND G. et al. 1994).

Ces prélèvements ont été complétés par des prélèvements effectués sur le bassin du Tarumã Mirim, affluent du Rio Negro. Le Tarumã Mirim est un Rio sinueux progressant au coeur d'une vaste vallée peu marquée, fortement inondée durant la majeure partie de l'année. Sur ces vastes superficies, la végétation est pratiquement inexistante et se limite à quelques espèces herbacées se développant sur un sol argileux blanc totalement infertile. Le Tarumã Mirim draine les eaux de la forêt dense de la *terra firme* vers le Rio Negro. Il réunit des affluents aux eaux claires et des affluents aux eaux noires, ces dernières témoignant de la présence de podzols en amont. Le point **TMN** ("Tarumã Mirim Noir") est caractéristique d'une eau très colorée, donc issue d'une zone à podzols abondants. Le point **TMC** ("Tarumã Mirim Clair") correspond à une eau claire prélevée au niveau d'une résurgence sous une strate de kaolinite découverte à quelques mètres de la rive droite du Tarumã Mirim. Cette eau correspond donc probablement à l'eau de nappe circulant latéralement en profondeur dans les sédiments sablo - argileux. Le point **TM** (Tarumã Mirim) se situe à quelques centaines de mètres des deux autres points plus en aval. Ce point caractérise donc l'ensemble du bassin versant: eaux des zones ferrallitiques, des zones podzoliques, et apport latéral des eaux de nappe profonde. Les prélèvements ont été effectués en fin de saison sèche.

### Traitement des échantillons

Les eaux sont tout d'abord filtrées sur des membranes en acétate de cellulose (cartouches filtrantes Microsart chez SARTORIUS) de porosité 1,2  $\mu\text{m}$  puis 0,45  $\mu\text{m}$ . On obtient environ 20 litres d'échantillon qui sont ultrafiltrés sur 0,2  $\mu\text{m}$  au plus tard 2 heures après le prélèvement. Un montage en série des deux cartouches de filtration et du support d'ultrafiltration permet de filtrer rapidement de grands volumes et d'éviter ainsi des évolutions chimiques et microbiologiques des échantillons au cours du traitement. La matière organique dissoute obtenue sous 0,2  $\mu\text{m}$  est ensuite fractionnée selon un critère de taille par ultrafiltration en cascade. L'évolution bactérienne est stoppée sur toutes les fractions par l'addition d'azoture de sodium ( $1 \text{ mg.l}^{-1}$ ). Afin de vérifier

les bilans matière et de s'assurer que des pertes ou contaminations n'interviennent pas au cours des étapes de filtration un échantillon filtré sous  $0,45 \mu\text{m}$  (acétate de cellulose) est conservé car il permet d'évaluer et de définir la totalité de la matière organique dissoute.

## Analyses

### Appareillages :

Le système d'ultrafiltration est composé d'un support ULTRASART (Sartorius) en acier inoxydable, d'une pompe à engrenages fort débit et haute pression et de membranes d'ultrafiltration de seuils de coupure à  $0,2 \mu\text{m}$ , 100 000D, 20 000D et 5 000D. Les membranes à  $0,2 \mu\text{m}$  et 100 000D sont en acétate de cellulose les autres sont en polysulfone. Elles développent une surface filtrante de  $1 \text{ m}^2$ . Les débits de filtration (ultrafiltrat) sont de 7 à  $10 \text{ l.h}^{-1}$  pour les membranes à  $0,2 \mu\text{m}$ , 100 000D et 20 000D, et de 1 à  $2 \text{ l.h}^{-1}$  pour les membranes dont le seuil de coupure est à 5 000D. Des débits importants de recyclage des fluides sont appliqués (de l'ordre de  $100 \text{ l.h}^{-1}$ ) afin de maintenir la circulation tangentielle et d'éviter les risques d'accumulation de matière sur les parois membranaires. La pression en amont des membranes est très légèrement supérieure à la pression atmosphérique pour les membranes à  $0,2 \mu\text{m}$ , 100 000D et 20 000D et varie de 2 à 3 atm pour la membrane à 5 000D. La pression en aval des membranes est la pression atmosphérique quel que soit le seuil de coupure.

Un analyseur **Dorhman DC 80** permet de déterminer les teneurs en carbone organique dissous (COD): après acidification et dégazage de l'échantillon afin d'éliminer le carbone inorganique dissous, le carbone organique est oxydé en milieu persulfate sous flux d'oxygène et irradiation UV. Le dioxyde de carbone formé est mesuré par un détecteur IRND.

Un spectroscope de corrélation de photons (PCS) système 4700 commercialisé par *Malvern Instruments* a été utilisé. Il comprend un spectromètre et un corrélateur digital connecté à un compatible IBM PC. Le spectromètre est composé d'un laser à argon de puissance moyenne (3W) SPECTRA-PHYSICS, et d'une platine goniométrique au centre de laquelle est positionnée la cellule contenant l'échantillon à analyser. Cette cellule est placée au centre d'une cuve remplie de liquide (eau distillée). Cette eau, filtrée en continu sur un filtre à  $0,45 \mu\text{m}$  de façon à avoir une eau exempte de grosses particules (poussières), circule en circuit fermé autour de la cellule grâce à une pompe péristaltique. Son rôle est de réduire la quantité de lumière diffusée aux interfaces entre les diverses parties de l'appareillage. La cuve est thermostatée à  $25^\circ\text{C}$  par un régulateur de température. L'ajout d'un bactéricide ( $\text{NaN}_3$ ) dans le circuit d'eau évite la présence et le développement de micro organismes. Le spectromètre comprend également un photomultiplicateur mobile autour d'un goniomètre. Il mesure le nombre de photons émis après passage du rayon laser à travers la cellule. Il est fixé à un bras mobile sur la platine goniométrique graduée de  $8^\circ$  à  $150^\circ$ . Les analyses ont été effectuées avec un angle de  $90^\circ$ . Le nombre de photons, c'est à dire le "count rate", est mesuré. Le signal analogique est converti en signal digital par un convertisseur analogique-numérique et il est traité par le corrélateur.

Le polarographe, employé pour cette étude, est un modèle **BAS 100** associé à une électrode HMDE PAR modèle 303. Le système a été utilisé en mode D.P.A.S.V. (Differential Pulse Anodic Stripping Voltametry) afin de suivre les concentrations de cuivre. Les méthodes de mesure de capacité complexante, d'ajouts dosés ainsi que les pseudopolarogrammes (lorsque l'on fait varier le potentiel de dépôt) sont automatisées et gérées par un micro ordinateur (BOUSSEMART et al. 1993). Des cellules d'analyse de 10 ml, en polyéthylène haute densité afin d'éviter les pertes de métal sur les parois des cellules en verre couramment employées sont utilisées. Une pompe péristaltique programmable *Gilson* permet de réaliser automatiquement les ajouts de métal.

Une électrode sélective aux ions  $\text{Cu}^{2+}$  modèle 94-29 commercialisée par *Orion* a été utilisée, pour l'obtention des courbes de titrage  $\log(\text{Cu})_{\text{libre}} = f(\log(\text{Cu})_{\text{ajouté}})$ , associée à une électrode de référence qui est une électrode double jonction modèle 90-02 (*Orion*). Le pH est mesuré et contrôlé en continu au moyen d'une électrode de ROSS. Ces trois électrodes sont positionnées de façon reproductible au centre d'une cellule électrochimique de verre d'une capacité de 100 ml commercialisée par *Metrohm*. La cellule est thermostatable et peut être fermée hermétiquement. Toutes les trois sont reliées à un potentiomètre (**Tanager auto titrator system**) à double canal, de forte impédance, automatisable, et mis au point par l'équipe du professeur KRAMER (TANAGER SCIENTIFIC SYSTEM INC. 1991). Le dispositif comporte deux micro

burettes alimentées en continu au moyen de deux réservoirs de titrant. Spécialement conçu pour ce type d'analyses, l'ensemble du système permet une meilleure acquisition des résultats expérimentaux que les appareils usuels.

## Méthodes

### Détermination de la taille des colloïdes par PCS:

Le principe de la mesure des tailles des particules submicrométriques par la PCS est basé sur l'analyse des fluctuations du signal lumineux transmis par une solution contenant des particules en suspension lorsque cette solution est traversée par un rayon issu d'un Laser. Les fluctuations du signal lumineux émis, dues au mouvement Brownien des particules, sont détectées par un système optique muni d'un photomultiplicateur très sensible. L'analyse des fluctuations de l'intensité du signal au cours du temps est effectuée par un corrélateur lequel génère une fonction de corrélation dépendante du (des) coefficient(s) de diffusion des particules (cas d'une solution monodisperse ou cas d'une solution polydisperse), donc dépendante du (des) diamètre(s) hydrodynamique(s) des particules par l'intermédiaire de la relation de Stokes-Einstein.

Lors des mesures en PCS, les parois intérieures et extérieures de la cuve d'analyse sont rincées plusieurs fois avec de l'eau distillée ultrafiltrée. Environ 3 ml d'échantillon sont introduits dans la cellule immédiatement après leur filtration sur des membranes à 0,8  $\mu\text{m}$ , 0,45  $\mu\text{m}$ , 0,2  $\mu\text{m}$  ou bien 0,1  $\mu\text{m}$ . Ces opérations sont effectuées en atmosphère dépoussiérée. La cellule est fermée puis positionnée dans la cuve de mesure. Une microfiltration de l'échantillon à analyser est indispensable afin d'éliminer les poussières malencontreusement introduites dans cet échantillon souvent au cours de manipulations antérieures. En effet, ces impuretés sont particulièrement gênantes car la spectroscopie de corrélation de photons détecte préférentiellement les plus grosses particules et sous estime les plus petites même si elles sont plus nombreuses (EVERETT 1989). Une puissance de 900 mW (maximum) est utilisée pour l'analyse des échantillons contenant les plus petits colloïdes ou les moins concentrés. Différents échantillons fractionnés par ultrafiltration ont été étudiés ainsi qu'une solution d'AF extraits de l'eau de la réserve du DUKE au niveau du point DUKE. Chaque échantillon est analysé 3 à 5 fois.

### Détermination de la densité de sites (CL/COD):

Pour les mesures de capacité complexante ( $C_C$ ) le pH est ajusté à 6,0 par addition de NaOH (0,1 N) ou HCl (0,1N) de pureté analytique, la force ionique est fixée à 0,0035 M (force ionique des eaux naturelles prélevées) par addition de  $\text{KNO}_3$  0,035 M, les échantillons sont dilués afin d'obtenir des concentrations en COD de l'ordre de 1 mg/l. Des ajouts successifs de  $7,87 \cdot 10^{-8}$  M de cuivre (correspondant à 5  $\mu\text{g.l}^{-1}$ ) à partir d'une solution de nitrate de cuivre à  $1,574 \cdot 10^{-5}$  M (10  $\text{mg.l}^{-1}$ ) sont effectués. Un temps de mise en équilibre de 15 mn, sous agitation et dégazage à l'azote est maintenu entre deux ajouts successifs. Le potentiel de dépôt (ou potentiel d'électrolyse) est de -1000 mV afin de limiter les phénomènes d'adsorption sur la goutte de mercure (PLAVSIC et al. 1982). Pour chaque concentration de métal dans l'échantillon (concentration de métal total sur l'axe des abscisses) on porte la concentration en métal mesurée (concentration en métal libre sur l'axe des ordonnées).

La courbe de capacité complexante d'allure hyperbolique (BENAÏM 1990) ainsi obtenue peut être exploitée soit par la méthode de Chau soit par celle de Ruzic (CHAU 1973, CHAU et al. 1974, RUZIC 1982). La première méthode permet une approche graphique: la capacité complexante est repérée par l'intersection de l'asymptote oblique à la courbe avec l'axe des abscisses; la seconde est une méthode de linéarisation utilisant une constante de stabilité conditionnelle 1:1 (un seul type de ligands possédant un site unique par rapport au métal).

Le cuivre initialement présent ( $\text{Cu}_i$ ) est déterminé par la méthode des ajouts dosés après acidification de l'échantillon à pH 2,5 par addition de  $\text{HNO}_3$  (0,5 M). La concentration en ligands ( $C_L$ ) est alors obtenue en sommant les valeurs de  $C_C$  et  $\text{Cu}_i$ ; cette concentration rapportée à une masse de carbone organique permet d'accéder à la grandeur qui nous intéresse: la densité de sites fonctionnels ou actifs vis-à-vis de la fixation du cuivre par unité de masse de carbone organique. Bien que cette mesure du  $\text{Cu}^{2+}$  libéré en milieu acide n'indique pas la totalité de la matière organique engagée, dans les échantillons étudiés les quantités d'autres métaux initialement présents, particulièrement Pb (formant des complexes inertes) sont généralement faibles et on peut admettre que la détermination des sites par addition de cuivre reste valable.

## Détermination de la distribution des $pK_{Cu}$ et des $pK_A$ :

### *Modélisation des équilibres métal-ligands : procédure LP*

Il est possible de déterminer mathématiquement plus de trois types de sites de complexation à partir de plusieurs dizaines de points expérimentaux définissant une courbe de titrage. Le problème a été résolu par BRASSARD et al 1990 lesquels développent un programme linéaire (*Linear Programming*) ou procédure LP qui permet d'obtenir la distribution des  $pK_A$  ou des  $pK_M$  caractérisant les équilibres organo-métalliques.

### *Courbes de titrage $\log Cu_{libre} = f(\log(Cu_{ajouté}))$*

Le titrage des fonctions complexantes au moyen de l'électrode sélective aux ions  $Cu^{2+}$  nécessite un étalonnage préalable de cette électrode. L'étalonnage est effectué de façon systématique avant et après chaque titrage d'un échantillon d'eau naturelle ou d'une solution contenant des ligands (AF remis en solution). Des ajouts à incréments de potentiel constants (3 mV) sont réalisés automatiquement par le titrateur. Après chaque ajout, le potentiel est enregistré dès que la variation de ce dernier au cours du temps devient inférieure ou égale à 0,1 mV/min. L'étalonnage est effectué en moyenne sur 4 unités de log de concentration. L'arrêt du titrage est programmé par l'atteinte d'un potentiel limite fixé. Des ajouts à partir d'une solution de nitrate de cuivre à 100 mg  $l^{-1}$  portée à pH = 5 par addition de NaOH (0,1M) ou HNO<sub>3</sub> (0,1M) sont effectués dans une solution (50 ml) d'eau distillée ultrafiltrée dont la force ionique est ajustée à 0,0035 M au moyen de KNO<sub>3</sub> (0,035M). Le pH est stabilisé à  $6,8 \pm 0,1$  par addition d'un tampon acétate (500  $\mu$ l de solution constituée de 32,68 g d'acétate de sodium anhydre et de 1,3 ml d'acide acétique glacial, qualité réactif). Il a été vérifié que la concentration de ce tampon n'apportait pas une teneur en ligands significative: la pente de la droite de réponse de l'électrode a toujours été proche de 30 mV/unité de Log et le coefficient de corrélation supérieur à 0,9990. Toutes les mesures sont effectuées sous flux permanent d'azote (00), sous agitation constante (barreau aimanté) et à 25° C (cellule thermostatée). Un programme intégré au système (KRAMER 1991) traite les points expérimentaux et calcule les paramètres caractéristiques de la droite d'étalonnage ainsi que le coefficient de corrélation après correction de dilution. Ces paramètres mémorisés permettront de convertir, à la suite du titrage des eaux naturelles dans les mêmes conditions, les valeurs du potentiel en valeurs de  $pCu_{libre}$ , pour chaque point expérimental.

Le dosage des échantillons d'eau naturelle ou des solutions concentrées en AF remis en solution (AF Suwannee river, AF extraits des eaux du DUKE) est effectué selon le même protocole opératoire que l'étalonnage de l'électrode. La durée de l'expérience est en moyenne de dix heures. Une cinquantaine de points expérimentaux est enregistrée pour chaque dosage. La concentration de cuivre initialement présente spécifiée dans le traitement des données est directement comptabilisée. Grâce à l'étalonnage préalable de l'électrode, les points expérimentaux: (volume de titrant ajouté; potentiel mesuré) sont convertis en points ( $\log(Cu)_{ajouté}$ ;  $\log(Cu)_{libre}$ ) soit ( $pCu_{ajouté}$ ;  $pCu_{libre}$ ). Les courbes de titrage sont exploitées par la procédure LP. Les  $pK_{Cu}$  sont recherchés sur toute l'échelle du titrage de 0,2 en 0,2 puis l'échelle est ajustée en fonction des  $pK_{Cu}$  révélés afin d'améliorer la précision (BRASSARD et al. 1990). La correction automatique de réponse non Nernstienne de l'électrode pour les fortes et faibles concentrations est appliquée dans la majeure partie des cas (KRAMER 1992). Les teneurs en COD ayant été mesurées, les densités de sites fonctionnels vis-à-vis du cuivre ( $\mu$ mol de Cu / mg COD) pour chaque  $pK_{Cu}$  sont obtenues.

### **Courbes acido-basiques**

L'étalonnage de l'électrode de pH est réalisé systématiquement avant chaque titrage au moyen de tampons 4.0, 7.0 et 10.0 portés à 25°C. Un échantillon de 50 ml dont la force ionique est ajustée à 0,0035M au moyen de KNO<sub>3</sub> (0,035M) est introduit dans la cellule électrochimique. La cellule est maintenue sous atmosphère d'azote. L'échantillon est thermostaté à 25°C et agité de façon reproductible et constante. Tous les dosages sont effectués en portant tout d'abord l'échantillon à pH 11 au moyen de NaOH (0,1N) puis après stabilisation du pH, l'échantillon est titré jusqu'à pH 3 par addition de HCl (0,1N) à incréments de pH constant. Cette procédure utilisée par BRASSARD et al. 1990 pour le titrage de solutions d'AF semble limiter les phénomènes d'irréversibilité constatés par exemple lors des dosages de solutions d'abord portées à

pH acide puis titrées par de la base. Après chaque addition d'acide, le pH est enregistré dès que la variation devient inférieure à 0,006 unités de  $\text{pH}\cdot\text{min}^{-1}$ . L'arrêt du dosage est programmé dès que le pH est inférieur ou égal à 3. Le carbone inorganique dissous est analysé dans chaque échantillon avant toute addition de titrant (base ou acide) ainsi que dans la solution de NaOH (0,1N) à l'aide de l'analyseur Dornhan DC 80. Ces déterminations permettent d'atteindre la teneur totale en CID en début de titrage dans l'échantillon porté à pH 11. La participation des carbonates à l'ANC (rappel:  $\text{ANC} = \text{Alc} + [\text{A}_i^-]$ ) est soustraite de façon systématique lors de l'analyse des fonctions acides par la procédure LP. Les  $\text{pK}_a$  sont recherchés sur toute l'échelle du titrage (3 à 11) de 0,2 en 0,2 puis l'échelle du modèle est progressivement réduite de façon à encadrer l'échelle de  $\text{pK}_a$  révélée (BRASSARD et al. 1990). La correction automatique de réponse non Nernstienne de l'électrode de pH pour les fortes et faibles valeurs de pH est appliquée dans la majeure partie des cas (KRAMER 1992). Les teneurs en COD ayant été mesurées, les densités de sites actifs ( $\text{meq} / \text{g COD}$ ) pour chaque  $\text{pK}_a$  sont obtenues.

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

### Dimension des colloïdes isolés par UF en cascade

Le fractionnement physique de la matière organique dissoute par UF en cascade permet d'obtenir des fractions définies par les seuils de coupure des membranes qui ont permis de les isoler. Le seuil de coupure des ultrafiltres est donné en unité de poids moléculaire et, il est certain que cette grandeur ne fournit pas une représentation explicite de la dimension des matières colloïdales récoltées à l'issue de la filtration. Le problème posé est de connaître la dimension des composés isolés en unités métriques. L'intérêt est d'être en mesure de se référer à un bon nombre de données fournies par la littérature. La taille des colloïdes minéraux par exemple est généralement connue en unités métriques (LAXEN et HARRISON 1981, DE MORA et HARRISON 1982). De plus, les membranes d'ultrafiltration sont étalonnées avec des substances organiques homogènes et pré calibrées (sucres, protéines, etc...), et il est difficile de concevoir leur sélectivité face à des composés colloïdaux hétérogènes et déformables présentant une grande complexité de structure et de composition. Enfin, il est important de connaître la stabilité dans le temps des échantillons isolés par ultrafiltration et de s'assurer que les dimensions des submicroparticules observées dans diverses fractions concentrées sont cohérentes avec les dimensions des seuils de coupure des membranes.

Les travaux qui suivent s'attachent à préciser et à souligner la taille des molécules isolées par ultrafiltration en cascade et la composition des fractions tout d'abord, à partir de la synthèse d'un certain nombre de résultats publiés dans la littérature, et ensuite au moyen de la spectroscopie de corrélation de photons (PCS).

### Corrélation entre le poids moléculaire des composés isolés par UF et leur taille exprimée en unités métriques (nm):

Un certain nombre d'auteurs, lors de leurs travaux de fractionnement des eaux naturelles par ultrafiltration, rapporte des correspondances entre le seuil de coupure des membranes exprimé en unité de poids moléculaire et la taille exprimée en unités métriques.

La synthèse de ces données issues de la littérature permet de construire le diagramme 3.

La figure 3 révèle une dispersion importante des points tout particulièrement dans la zone correspondant aux composés de poids moléculaire élevé ( $\text{PM} > 100\ 000 \text{ D}$ ). Cette dispersion est liée à l'hétérogénéité volontaire des données recueillies dans la littérature car la corrélation présentée permet de noter des correspondances entre le poids moléculaire et la taille en unités métriques relativement indépendantes du protocole d'ultrafiltration utilisé (mode de fractionnement, type et nature des membranes, appareillage). La dispersion accrue des points pour les plus fortes valeurs de PM révèle une variabilité importante des conformations et des structures des macromolécules organiques à caractère colloïdal et souligne la difficulté de définir la composition en taille d'une fraction d'ultrafiltration. Néanmoins, cette étude permet de noter que les molécules dont le poids moléculaire est 1 000 D, 5 000 D, 20 000 D et 100 000 D ont des tailles respectives inférieures à 2 nm, variant de 2 à 3 nm, de 2 à 10 nm et de 5 à 25 nm.

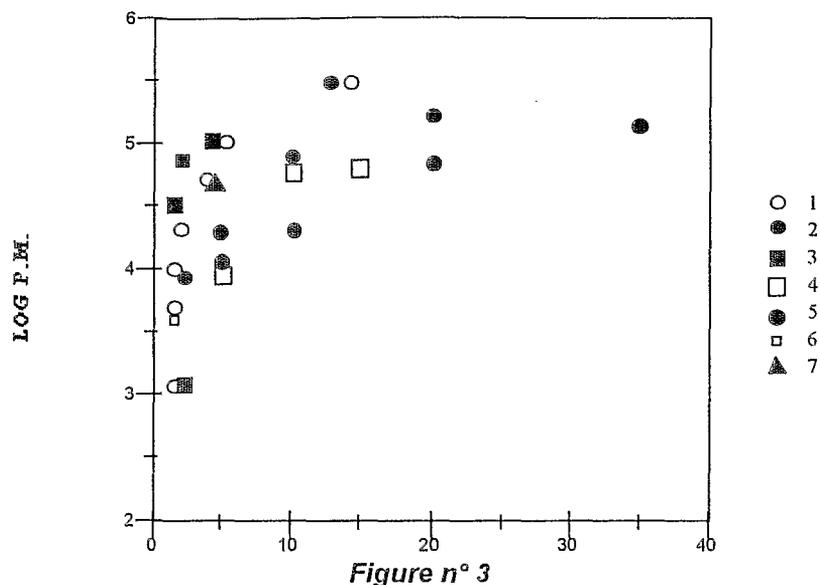


Figure n° 3

Regroupement des données issues de la littérature concernant la relation entre le seuil de coupure des membranes d'ultrafiltration exprimé en unité de poids moléculaire et la taille en nm des molécules organiques associée à ce seuil ; 1: Amicon publication n°547; 2: Leppard G. et al., 1986; 3: Lyutsarev S.V., 1984; 4: Sartorius 1992, Membranes en acétate de cellulose ou cellulose régénérée; 5: Sartorius 1992, Membranes en nitrocellulose; 6: Kramer J.M. et Duinker J.C., 1984; 7: Brown M., 1975; P.M. est le poids moléculaire exprimé en Dalton (g/mol).

Afin de vérifier la validité et la fiabilité de ces correspondances, la mesure de la taille des colloïdes isolés et concentrés par ultrafiltration en cascade a été effectuée sur divers échantillons et fractions directement in situ au moyen d'une technique de plus en plus souvent appliquée aux systèmes naturels: la spectroscopie de corrélation de photons.

Tailles données par la PCS :

#### Caractérisation d'une fraction isolée par ultrafiltration en cascade.

La préfiltration des échantillons immédiatement avant leur analyse en spectroscopie de corrélation de photons est indispensable et l'emploi de filtres de porosité variée (0,8  $\mu\text{m}$ , 0,45  $\mu\text{m}$ , 0,2  $\mu\text{m}$  et 0,1  $\mu\text{m}$ ) sur une fraction déjà calibrée par UF entre 0,2  $\mu\text{m}$  et 0,45  $\mu\text{m}$  par exemple fournit les résultats suivants:

- Des particules supérieures à 0,45  $\mu\text{m}$  sont présentes dans les fractions 0,2  $\mu\text{m} << 0,45 \mu\text{m}$  car une filtration sous 0,45  $\mu\text{m}$  au lieu de 0,8  $\mu\text{m}$  donne un signal de pic non seulement plus faible (perte de matière) mais également déplacé vers des tailles plus petites.
- La filtration sous 0,2  $\mu\text{m}$ , qui théoriquement élimine toutes les particules dont la taille est comprise entre 0,45  $\mu\text{m}$  et 0,2  $\mu\text{m}$  et qui ont été concentrées par UF, révèle la présence dans cette fraction d'ultrafiltration de petits colloïdes (69 nm).

Ces résultats montrent que les fractions obtenues par ultrafiltration en cascade comportent des molécules et des colloïdes dont la taille est plus élevée que la limite supérieure de la fraction considérée. Il serait intéressant de contrôler si ces "impuretés" sont présentes dès l'ultrafiltration de l'échantillon (ultrafiltrat), si elles apparaissent au cours de la concentration de cet ultrafiltrat sur une membrane de seuil de coupure plus faible (rétentat), ou bien si elles interviennent ultérieurement au cours du stockage des échantillons. Les résultats montrent également que les fractions d'ultrafiltration contiennent des colloïdes dont la taille est plus petite que la limite inférieure de la fraction considérée. En effet, lors de l'ultrafiltration en mode de concentration, les plus petites molécules (de dimension (PM) très inférieure au seuil de coupure d'une membrane d'ultrafiltration) se répartissent de façon identique de part et d'autre de la membrane.

### *Spécificité des fractions isolées par UF en cascade*

L'analyse au moyen de la spectroscopie de corrélation de photons de diverses fractions isolées par ultrafiltration en cascade donne les résultats suivants:

- Au sein d'un même échantillon (eau naturelle) la taille mesurée décroît lorsque la fraction analysée contient des colloïdes et molécules de dimension de plus en plus faible mais varie pour une même fraction d'un échantillon à l'autre: la fraction contenant des molécules entre 20 000D et 100 000D fait observer une taille de 69 nm pour l'eau du DUKE et une taille de 92,1 nm pour l'eau TMN.
- La fraction inférieure à 5 000D du TMN montre une taille relativement élevée (51,8 nm) si on se réfère à la corrélation explicitée ci-avant où l'on a noté qu'une membrane de seuil de coupure à 5 000D retient des colloïdes de dimension supérieure à 3 nm.

D'une façon générale, il semble que la taille des colloïdes analysée par spectroscopie de corrélation de photons, pour les fractions contenant les plus petits composés (<5 000 D, 5 000 D << 20 000 D, 20 000 D << 100 000 D) soit supérieure à celle à laquelle on s'attend à l'issue du fractionnement par ultrafiltration.

Pour les fractions contenant les plus gros colloïdes (100 000D << 0,2µm et 0,2µm << 0,45µm) les tailles déterminées par spectroscopie de corrélation de photons sont acceptables: 123 à 218 nm pour la fraction 0,2 µm << 0,45µm et 92,1 à 123 nm pour la fraction 100 000D << 0,2µm.

La spectroscopie de corrélation de photons appliquée à des échantillons isolés par UF en cascade permet de mettre en évidence l'efficacité du fractionnement physique (diminution de la taille mesurée lorsque la fraction contient des molécules de plus en plus petites) mais révèle la présence, dans les plus petites fractions, de molécules inopportunes car de taille relativement importante. Il est à noter que ce résultat a pu être en partie généré par la méthode d'analyse de taille des particules sélectionnée, d'une part car cette technique sous estime les plus petites molécules au profit des plus grosses, et d'autre part car le traitement mathématique du signal est basé sur un modèle sphérique des particules, et l'on ne connaît pas sa réponse face à des colloïdes naturels de forme variée (linéaire, en feuillet, etc...). Pourtant, il resterait à vérifier si de tels résultats sont observables sur les plus petites fractions fraîchement ultrafiltrées (fraction < 5 000 D) pour s'assurer que des macromolécules ne se soient pas combinées (coagulation, agrégation) à partir des plus petites à l'issue du fractionnement. Si de tels observations sont encore faites, il conviendrait d'utiliser une autre technique de mesure des tailles de particules et tout particulièrement la microscopie électronique à transmission (MET) (PERRET et al. 1994, NEWMAN et al. 1994).

### *Effet du pH et de la force ionique sur la taille des colloïdes organiques*

L'analyse de la fraction 5 000 D << 20 000 D du point DUKE a montré que la taille des composés s'accroît de 29 nm à 123 nm lorsque la force ionique augmente d'un facteur 100 et qu'elle s'accroît de 29 nm à 92 nm lorsque le pH varie de 5 à 7. La force ionique agit directement sur les phénomènes d'agrégation des colloïdes, et de nombreux auteurs rapportent l'influence de ce paramètre sur la taille des composés organiques naturels (CECCANTI 1989, GHOSH et SCHNITZER 1980). Quant au pH, les résultats ne sont pas en accord avec ceux généralement rapportés dans la littérature: En effet, lorsque le pH diminue il y a évolution des colloïdes à structure flexible linéaires vers des colloïdes à structure condensée sphériques (GHOSH et SCHNITZER 1980, DE SOUZA-SIERRA et DONNARD 1991), et généralement accroissement des processus de coagulation. Ces phénomènes entraînent une augmentation de la taille des colloïdes lorsque le pH diminue. Or, les résultats de spectroscopie de corrélation de photons montrent une diminution du diamètre moyen des colloïdes lorsque le pH devient plus faible. Ces observations soulignent les limites de la méthode de spectroscopie de corrélation de photons appliquée aux colloïdes naturellement présents dans les eaux. Il est important de souligner que la fonction d'autocorrélation appliquée à la suite de l'acquisition des données est basée sur un modèle sphérique des particules. Il apparaît difficile d'apprécier la signification de la taille détectée lors de l'analyse de colloïdes à structure linéaire non condensée. Il est probable que les discordances de résultats observées ici puissent être en partie justifiées par ces propos. D'une façon générale, ces résultats soulignent que les tailles mesurées par spectroscopie de corrélation de photons sont à gérer avec prudence, la conformation et la structure des colloïdes pouvant être des facteurs déterminants de la taille moyenne détectée.

**Taille des AF extraits de l'eau du DUKE**

Contrairement aux échantillons ultrafiltrés, les distributions des tailles des AF du DUKE filtrés sous 0,8  $\mu\text{m}$  et 0,2  $\mu\text{m}$  ont présenté des pics plus larges, témoignant d'une polydispersion peut être plus prononcée que celles des fractions calibrées par ultrafiltration. La filtration sous 0,1  $\mu\text{m}$  donne un pic de surface pratiquement identique aux deux autres et plus fin traduisant une perte faible de matière au cours des microfiltrations successives et l'obtention d'une classe relativement homogène de taille avoisinant 50 nm caractérisant les acides fulviques extraits. Il est probable que cette taille ne soit qu'une limite supérieure, la spectroscopie de corrélation de photons négligeant les plus petits colloïdes au profit des plus gros. En effet, la littérature rapporte, d'une façon générale pour les composés fulviques, des tailles considérablement plus faibles variant de 1,2 à 2,6 nm (VARNEY et al. 1982). Toutefois, ces dernières ont été déterminées en appliquant la loi de Stokes à partir d'une estimation des poids moléculaires et selon l'hypothèse de la sphéricité (ROBINSON et al. 1970), et il est par conséquent difficile d'apporter une comparaison. Il est à noter que la taille des composés fulviques isolés de l'eau du DUKE semblent avoir une taille de l'ordre de grandeur de celle mesurée pour la fraction d'ultrafiltration 5 000 D  $\ll$  20 000 D. Par conséquent, il apparaît que les composés fulviques de l'eau du DUKE soient concentrés dans les plus petites fractions (< 5 000 D et 5 000 D  $\ll$  20 000 D). Les colloïdes de PM supérieur à 20 000 D qui, à la suite du fractionnement par ultrafiltration, se sont avérés en concentration relativement importante (40%), ne semblent pas correspondre à des substances fulviques. Ces observations soulignent l'importance d'étudier la globalité de la matière organique d'une eau naturelle et non pas uniquement la fraction fulvique en particulier pour la caractérisation des plus gros colloïdes.

**Aptitude à la fixation des métaux**

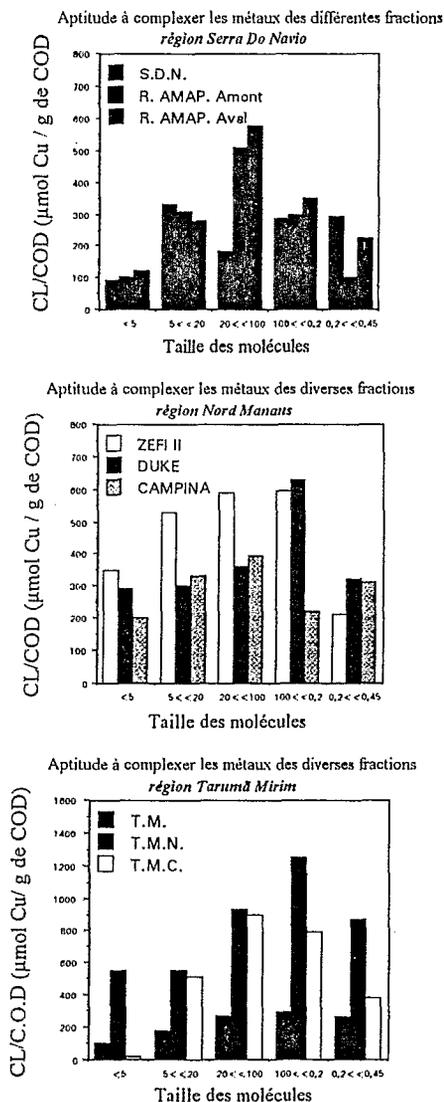
Les eaux naturelles étudiées ont présenté des concentrations en COD laissant envisager l'approche de plusieurs techniques analytiques: la première généralement appliquée aux eaux de mer faiblement chargées en MO (COD < 1 mg/l) est la DPASV, l'autre moins sensible que la précédente et ne pouvant s'appliquer qu'à des échantillons relativement riches en COD (COD > 10 mg/l) est l'électrode sélective aux ions  $\text{Cu}^{2+}$ . Il est à noter d'une part que le dosage des sites de complexation par DPASV nécessite dans bien des cas (eaux interstitielles et eaux douces de surface) une dilution des échantillons avant leur analyse, une trop forte concentration en COD étant souvent à l'origine de perturbations des mesures (phénomènes d'adsorption sur la goutte de mercure, coagulation et précipitation rapide). S'il est vrai qu'une dilution intensive (1/1000 dans le cas des eaux interstitielles) peut entraîner une modification importante des propriétés complexantes de la MO (modification des propriétés de surface par exemple), et générer alors des résultats non totalement représentatifs de l'eau initiale telle qu'elle est dans le milieu naturel, néanmoins dans le cas des eaux de surface que nous avons échantillonnées les perturbations liées aux dilutions des échantillons sont probablement modérées (< 1/10 dans la majeure partie des cas) et l'on peut penser que les caractéristiques de l'échantillon analysé sont relativement proches de celles de l'eau initiale. D'autre part, les eaux étudiées prélevées en région amazonienne sont dans la majeure partie des cas relativement chargées en MO et nous ont permis d'effectuer des dosages potentiométriques au moyen des électrodes sélectives, ces dernières peu sensibles ne pouvant être envisagées pour l'étude d'échantillons faiblement chargés tels que les eaux de mer ou de nombreuses eaux de surface non polluées des climats tempérés par exemple. Nos échantillons ainsi que les fractions concentrées par ultrafiltration en cascade nous ont offert la possibilité de travailler à partir de ces deux techniques analytiques. L'une et l'autre permettent une approche des équilibres de complexation compétitive et complémentaire :

- \* Approche compétitive car tout d'abord, il est à noter que de nombreux travaux ont été réalisés au moyen de la DPASV et cela en fait en quelque sorte la technique de référence encore à l'heure actuelle pour l'étude des équilibres de complexation des métaux avec les ligands organiques. Ensuite, il faut souligner que nous disposions au laboratoire d'un système potentiométrique particulièrement performant (stabilité, précision...), totalement automatisé et adapté à ce type d'étude.
- \* Approche complémentaire car les complexes mesurés par DPASV sont connus pour être les complexes les moins labiles (constante de dissociation faible) et les moins électrolabiles (constantes de dissociation faibles et coefficients de diffusion faibles), la totalité des

complexes quelqu'ils soient (labiles, électrolabiles) étant accessibles au moyen des électrodes sélectives. De plus la fenêtre analytique, c'est à dire l'échelle du dosage, est bien plus étendue dans le cas des dosages potentiométriques (4 à 5 unités de log) que dans le cas des titrages effectués par DPASV (< à 2 unités de log) et la première méthode permet une analyse plus vaste des constantes d'interaction.

**Étude par DPASV:**

Pour tous les points de prélèvement, chaque fraction contenant de la matière organique isolée selon le protocole de fractionnement précédemment explicité est étudiée quant à son aptitude à masquer le métal (mesure de la quantité de sites fonctionnels en  $\mu\text{mol de Cu.l}^{-1}$ ). Les densités de sites sont exprimées en  $\mu\text{mol Cu.g}^{-1}$  de COD. Dans le tableau 1 les valeurs du Cuivre initial, du COD et de  $C_L$  permettant de calculer la densité de sites sont données pour chaque point de prélèvement.



**Figure n°4**

Distributions des quantités de sites ( $C_L/COD$ ) en fonction de la taille des molécules pour chacun des points de prélèvement ; <5 correspond aux molécules de poids moléculaire inférieur à 5000 D; 0,2 < < 0,45 correspond aux molécules dont la taille est comprise entre 0,2  $\mu\text{m}$  et 0,45  $\mu\text{m}$ ; le potentiel de dépôt est: -1000 mV.

Tableau n° 1

Détermination des rapports CL / COD (en  $\mu\text{mol.g}^{-1}$ ) à partir de la mesure du Cuivre initial ( $\text{Cu}_i$  en  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ ), du COD (en  $\text{mg.l}^{-1}$ ), des capacités complexantes ( $\text{C}_C$  en  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ ) pour chaque point de prélèvement ( $\text{C}_L/\text{COD} = (\text{Cu}_i + \text{C}_C)/\text{COD}$ ). \* Lorsque nécessaire (fractions supérieures à 5000 D) des dilutions ont été effectuées afin d'obtenir des concentrations en COD voisines du  $\text{mg.l}^{-1}$ ; pour certains échantillons contaminés en cuivre au cours des étapes d'ultrafiltration (TMC notamment) une estimation des densités de sites sur chacune des fractions a pu être obtenue en déterminant la quantité de cuivre masquée à pH 6 par rapport à celle mesurée à pH 2.

## échantillon S.D.N.

échantillons	COD (*) en mg/l	$\text{Cu}_i$ en $\mu\text{g/l}$	$\text{C}_C$ en $\mu\text{g/l}$	$\text{C}_L$ en $\mu\text{g/l}$	$\text{C}_L/\text{COD}$ en $\mu\text{mol/g}$
< 5K	-	-	-	-	-
5K << 20K	0,935	1,2	20	21,2	330
20K << 100K	0,88	0,2	10	10,2	180
100K << 0,2 $\mu\text{m}$	0,77	0,3	14	14,3	285
0,2 $\mu\text{m}$ << 0,45 $\mu\text{m}$	0,94	0,1	17,5	17,6	292
0,45 $\mu\text{m}$	0,94	0,05	6,5	6,55	110

## échantillon Rio AMAPARI Amont

échantillons	COD (*) en mg/l	$\text{Cu}_i$ en $\mu\text{g/l}$	$\text{C}_C$ en $\mu\text{g/l}$	$\text{C}_L$ en $\mu\text{g/l}$	$\text{C}_L/\text{COD}$ en $\mu\text{mol/g}$
< 5K	0,9	0,2	5,5	5,7	100
5K << 20K	1,27	1,2	24	25,2	310
20K << 100K	1,24	2,3	38	40,3	510
100K << 0,2 $\mu\text{m}$	0,84	0,2	16	16,2	300
0,2 $\mu\text{m}$ << 0,45 $\mu\text{m}$	0,80	0,1	5	5,1	100
0,45 $\mu\text{m}$	1,0	0,3	8,5	8,8	138

## échantillon Rio AMAPARI Aval

échantillons	COD (*) en mg/l	$\text{Cu}_i$ en $\mu\text{g/l}$	$\text{C}_C$ en $\mu\text{g/l}$	$\text{C}_L$ en $\mu\text{g/l}$	$\text{C}_L/\text{COD}$ en $\mu\text{mol/g}$
< 5K	0,50	0,11	3,4	3,51	110
5K << 20K	1,133	0,167	20	20,167	280
20K << 100K	0,95	2,1	35	37,1	578
100K << 0,2 $\mu\text{m}$	0,90	1,1	20	21,1	350
0,2 $\mu\text{m}$ << 0,45 $\mu\text{m}$	1,22	2,3	15	17,3	225
0,45 $\mu\text{m}$	0,97	0,3	10	10,3	160

## échantillon ZEFI II

échantillons	COD (*) en mg/l	$\text{Cu}_i$ en $\mu\text{g/l}$	$\text{C}_C$ en $\mu\text{g/l}$	$\text{C}_L$ en $\mu\text{g/l}$	$\text{C}_L/\text{COD}$ en $\mu\text{mol/g}$
< 5K	0,36	6,1	2	8	349
5K << 20K	1,10	22,0	15	37	530
20K << 100K	1,11	3,6	37,5	41,5	590
100K << 0,2 $\mu\text{m}$	1,20	15,3	30	45,3	595
0,2 $\mu\text{m}$ << 0,45 $\mu\text{m}$	1,06	4,11	10	14,11	210
0,45 $\mu\text{m}$	1,2	0,2	38	38,2	500

## échantillon DUKE

échantillons	COD (*) en mg/l	$\text{Cu}_i$ en $\mu\text{g/l}$	$\text{C}_C$ en $\mu\text{g/l}$	$\text{C}_L$ en $\mu\text{g/l}$	$\text{C}_L/\text{COD}$ en $\mu\text{mol/g}$
< 5K	1,10	2,73	17,5	20,23	290
5K << 20K	0,8	0,32	15	15,32	300
20K << 100K	1,132	0,164	30	30,164	361
100K << 0,2 $\mu\text{m}$	1,255	0,127	50	50,127	630
0,2 $\mu\text{m}$ << 0,45 $\mu\text{m}$	1,24	0,438	25	25,438	322
0,45 $\mu\text{m}$	0,88	0,4	22,5	22,9	409

## échantillon CAMPINA

échantillons	COD (*) en mg/l	C <sub>ij</sub> en µg/l	C <sub>C</sub> en µg/l	C <sub>L</sub> en µg/l	C <sub>L</sub> /COD en µmol/g
< 5K	0,98	7,5	5	12,5	200
5K << 20K	0,952	10	10	20	330
20K << 100K	1,278	2,16	30	32,16	395
100K << 0,2 µm	0,902	2,66	10	12,66	220
0,2 µm << 0,45 µm	1,028	0,34	20	20,34	311
0,45 µm	1,1	0,1	21	21,1	300

## échantillon TM

échantillons	COD (*) en mg/l	C <sub>ij</sub> en µg/l	C <sub>C</sub> en µg/l	C <sub>L</sub> en µg/l	C <sub>L</sub> /COD en µmol/g
< 5K	0,33	2	1	3	143
5K << 20K	1,167	2,8	10	12,8	173
20K << 100K	1,027	2,7	15	17,7	271
100K << 0,2 µm	0,978	0,6	17,7	18,1	295
0,2 µm << 0,45 µm	1,225	0,3	20	20,3	260
0,45 µm	0,8	0,2	11,5	11,7	230

## échantillon TMN

échantillons	COD (*) en mg/l	C <sub>ij</sub> en µg/l	C <sub>C</sub> en µg/l	C <sub>L</sub> en µg/l	C <sub>L</sub> /COD en µmol/g
< 5K	1,28	31	14	45	552
5K << 20K	1,13	27,2	12,5	39,7	552
20K << 100K	0,953	27,5	29	56,5	931
100K << 0,2 µm	1,154	62	30	92	1252
0,2 µm << 0,45 µm	0,923	26	25	51	870
0,45 µm	-	-	-	-	-

## échantillon TMC

échantillons	COD (*) en mg/l	C <sub>ij</sub> (pH=2) en µg/l	C <sub>ij</sub> (pH=6) en µg/l	C <sub>L</sub> en µg/l	C <sub>L</sub> /COD en µmol/g
< 5K	0,26	222	221	1	50
5K << 20K	0,62	159	139	20	506
20K << 100K	0,68	156	117	39	900
100K << 0,2 µm	0,44	35	12,8	22,2	792
0,2 µm << 0,45 µm	0,31	19,8	12,5	7,5	380
0,45 µm	-	-	-	-	-

Tableau n° 1 bis

Concentrations en COD (< 0,45 µm) et en COP (> 0,45 µm) au sein des eaux naturelles échantillonnées et répartitions en % du COD dans les diverses fractions d'ultrafiltration.

points	COD (mg/l)	COP (mg/l)	< 5 K (%)	5K<<20 K (%)	20K<<100K (%)	100K<<0,2 (%)	0,2<<0,45 (%)
S.D.N.	0,94	< 0,1	74	24	3	0	0
R. AMAP. Am.	3,00	< 0,1	62	23	4	4	6
R. AMAP. Av.	2,90	< 0,1	63	27	2	5	3
ZEFI II	1,20	< 0,1	34	16	20	8	23
DUKE	7,95	0,6	35	14	29	12	10
CAMPINA	22,00	3,0	27	12	20	7	34
T.M.	4,00	0,3	9	14	10	41	26
T.M.N.	8,50	1,4	16	35	4	11	33
T.M.C.	0,45	< 0,1	78	15	5	1	0

Dans le tableau 1 bis sont notées les concentrations de COD et de COP dans chacune des eaux, ainsi que les répartitions du COD en fonction de la taille.

Dans la majeure partie des cas une augmentation du nombre de sites, pour une même quantité de COD est notable lorsque le poids moléculaire augmente de 5000 D à 100 000 D; puis, pour des molécules encore plus grosses, au delà de 100 000 D, le nombre de sites diminue alors (fig. 4). Ces observations sont en accord avec celles effectuées sur les eaux du PARANA (EYROLLE et al. 1993). Nous avons interprété ces résultats d'une part en considérant une

augmentation des quantités de complexes "électro-inactifs" avec l'accroissement de la taille des molécules, et d'autre part en prenant en considération un masquage d'une certaine proportion des sites fonctionnels au coeur des agrégats lorsque les molécules deviennent de plus en plus grandes. Il est intéressant de constater que ces résultats se confirment pour des eaux plus acides (pH=6) que celles préalablement étudiées (pH=7), et véhiculant une matière organique probablement très différente de celle des eaux du plateau du Paranã développé sur des basaltes et des produits d'altération du Basalte. Ces résultats sembleraient donc être peu dépendants de la qualité de la MO, c'est à dire de l'origine de la MO et des propriétés des composés organiques vis-à-vis de la complexation des métaux, et généralisables à toute fraction colloïdale organique.

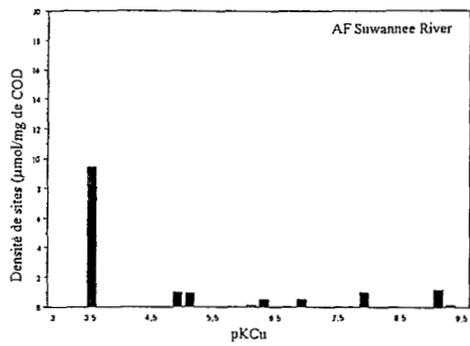
#### **Étude potentiométrique: Distribution des $pK_{Cu}$**

L'analyse des sites fonctionnels vis-à-vis du cuivre au moyen de l'électrode sélective aux ions  $Cu^{2+}$  a été effectuée sur des fractions concentrées par ultrafiltration, suffisamment riches en COD (> à 50 mg/l). Les spectres obtenus ont montré des particularités semble-t-il en fonction du type de fraction étudié (petites molécules ou colloïdes isolés par ultrafiltration). Il est important de mettre en évidence l'efficacité de la méthodologie pour différencier et pour caractériser les fractions colloïdales organiques quelque soit leur origine. Quelques exemples de distribution des constantes d'interactions sont présentés sur les figures 5 a à 5 n.

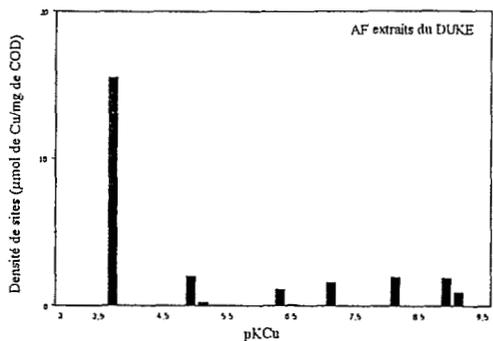
D'une façon générale, il apparaît que les spectres montrent un pic très majoritaire dans un domaine de  $pK_{Cu}$  de 3 à 4 puis une série de pics d'intensités plus faibles dans les domaines de  $pK_{Cu}$  plus élevés.

Ceci est constaté pour des échantillons d'acides fulviques extraits puis remis en solution, d'une part pour les AF Suwannee River (figure 5a), et d'autre part pour les AF extraits de l'eau du DUKE (figure 5b). Ces deux spectres présentent une grande similitude témoignant d'une qualité de composés relativement indépendante de l'origine et du lieu de prélèvement. Toutefois, les AF extraits des eaux de la réserve du DUKE semblent présenter une densité de sites sensiblement supérieure à celle des AF Suwannee River.

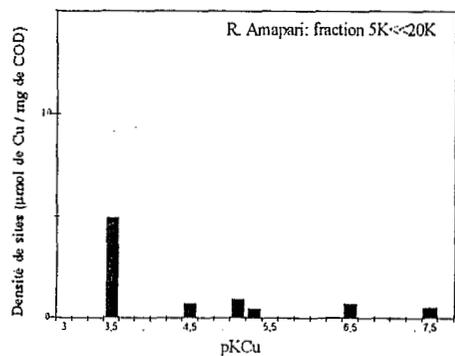
Ce type de spectre est également observé sur chacune des fractions du Rio Amapari mais, pour les eaux du DUKE et le point INDERP 1, il n'est constaté que sur les fractions contenant les plus gros colloïdes. Les fractions comprenant les molécules de poids moléculaire compris entre 5K et 20K ne font apparaître que deux pics: un pic très majoritaire au voisinage de  $pK$  3,5 et un pic de plus faible amplitude aux alentours de  $pK$  5. Cette dernière constatation a été notée pour la majeure partie des fractions  $5K \ll 20K$  étudiées à l'exception de l'eau du Rio Amapari et s'est avérée par conséquent statistiquement significative. Le pic majoritaire témoigne très certainement d'une constante intrinsèque, alors que le reste de la distribution peut être associé à des phénomènes d'interaction de type électrostatique (KRAMER 1993). Il semble par conséquent que l'absence de  $pK_{Cu}$  très élevés pour les fractions contenant les plus petites molécules ( $5K \ll 20K$ ) puisse souligner des interactions uniquement régies par les lois de la thermodynamique en solution. Les matières colloïdales faisant intervenir des interactions de type électrostatique par adsorption de surface. L'eau du Rio Amapari est une eau de grande rivière. Cette distinction peut justifier que l'allure du spectre de distribution des  $pK_{Cu}$  de la fraction  $5K \ll 20K$  ne suive pas celle des autres fractions  $5K \ll 20K$  issues de plus petits cours d'eau.



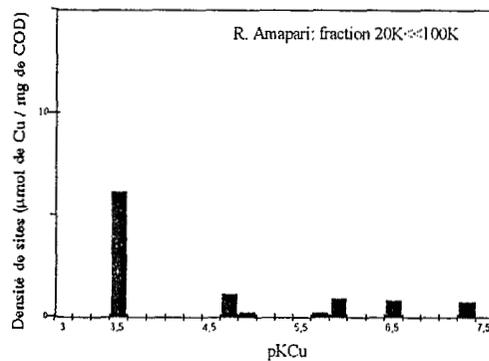
A



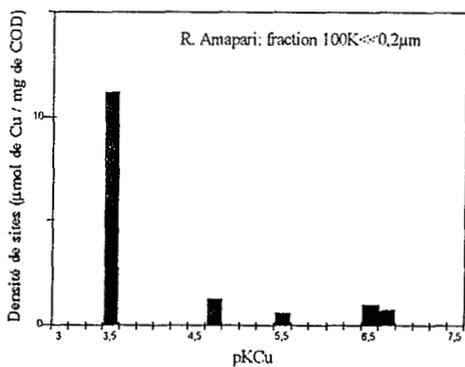
B



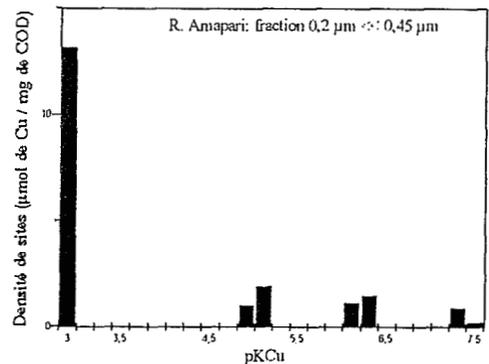
C



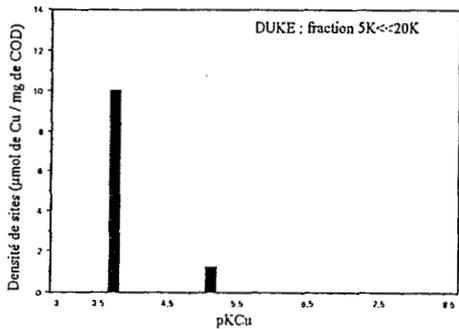
D



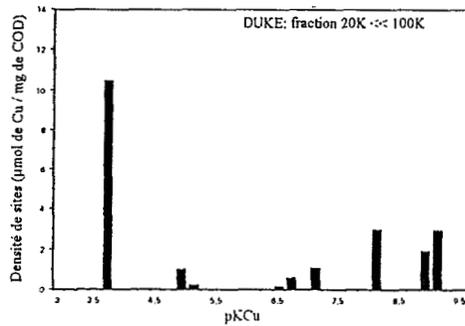
E



F



G



H

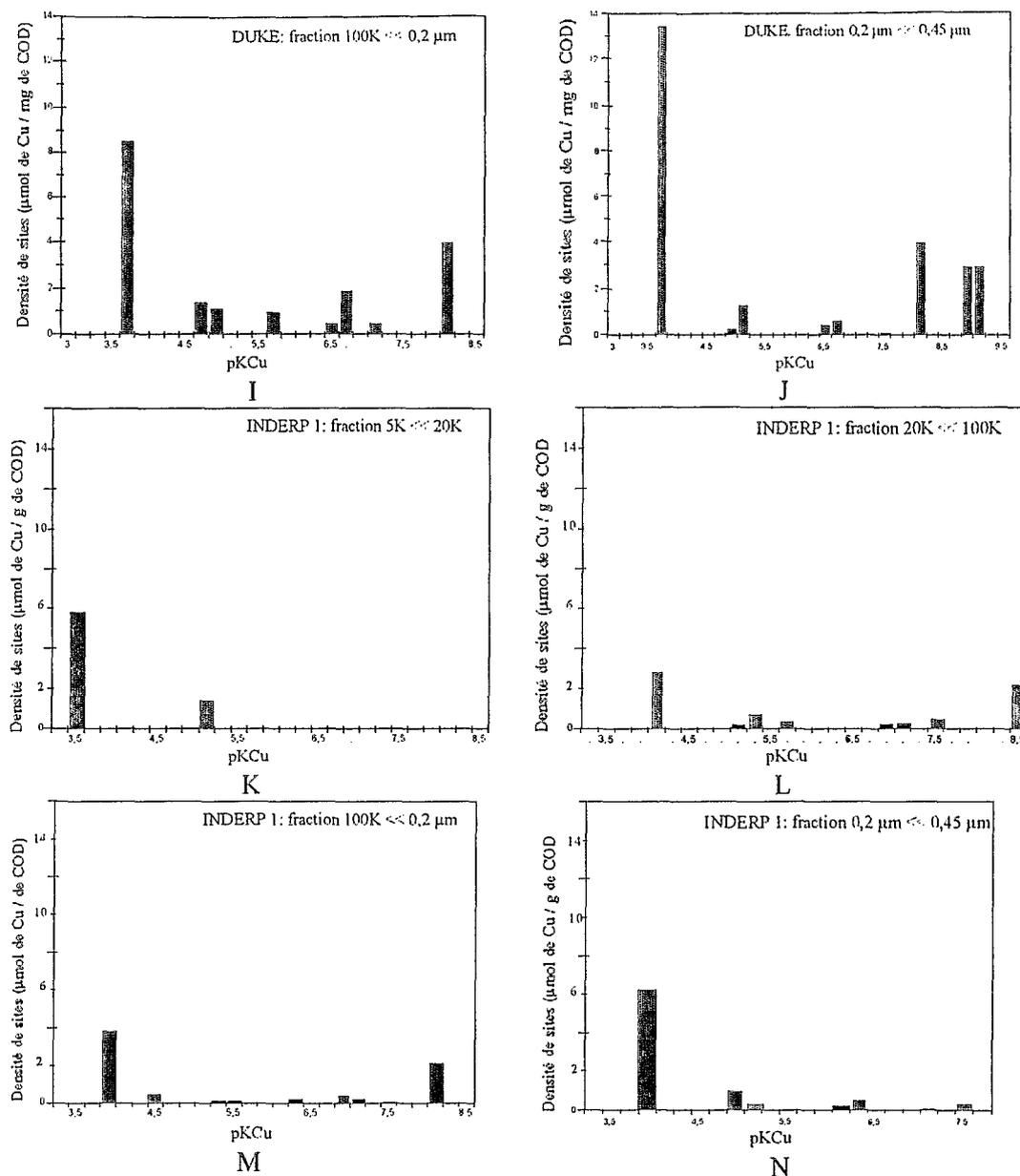


Figure n° 5

Distributions des  $pK_{Cu}$  obtenues après titrages potentiométriques (électrode sélective aux ions  $\text{Cu}^{2+}$ ) et traitement de courbe par la procédure LP pour divers échantillons: a et b: AF remis en solution respectivement Suwannee River et réserve du DUKE; c à f: fractions isolées par UF en cascade du Rio Amapari; g à j: fractions isolées par UF en cascade des eaux du point INDERP 1 (région Ribeirão Preto)(EYROLLE et al. 1993); k à n: fractions isolées par UF en cascade des eaux du point nommé DUKE (région Nord Manaus); conditions:  $\text{pH} = 6,0$ ,  $l = 0,0035 \text{ M}$  teneurs en COD comprises entre 15 et  $48 \text{ mg.l}^{-1}$ .

**Étude potentiométrique: Distribution des  $pK_a$  :**

**Solutions d'acides fulviques du DUKE**

Des premiers travaux ont été réalisés sur les composés fulviques extraits de l'eau du DUKE (figure 6). La distribution présente des  $pK_a$  majoritaires d'une part au voisinage de 3-4, et d'autre part aux alentours de 9-10. Des pics intermédiaires de plus faible importance que les

précédents sont également apparents. Ces observations sont en accord avec celles effectuées par BRASSARD et al. 1990 sur des substances humiques commercialisées par Aldrich.

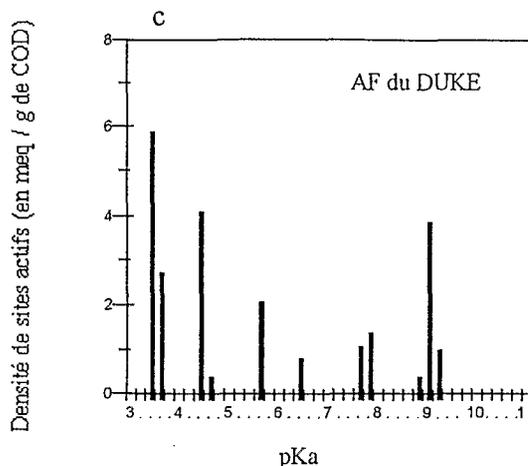


Figure n° 6

Distribution des  $pK_a$  pour les AF extraits des eaux de la réserve du DUKE.

Les  $pK_a$  de 3-4 sont caractéristiques des acides carboxyliques, et d'une façon générale des acides organiques de faible poids moléculaire tel que le souligne THURMAN 1985. Les groupements carboxyliques sont les fonctions les plus réactives des substances humiques et fulviques. Leur concentration dépend d'un certain nombre de paramètres tel que l'origine de la matière organique, son degré d'humification ou bien son poids moléculaire. La concentration de ces groupements fonctionnels augmente considérablement lorsque le poids moléculaire de la MO décroît, ou bien lorsque le degré d'humification diminue (RASHID et KING 1970, RASHID 1971). D'après les travaux de SCHNITZER 1978, les groupements carboxyliques, pour les substances fulviques, varient de 610 à 850 meq / 100 g de C dans les régions tropicales. Les groupements carboxyliques sont responsables de certaines propriétés physico-chimiques spécifiques des composés humiques. Leur présence augmente la solubilité des matières humiques et fulviques, et limite les phénomènes de coagulation en présence d'électrolytes par exemple. Ces groupements sont en fait responsables de l'augmentation des temps de résidence des composés fulviques et humiques dans les eaux (phase dissoute). La réactivité chimique des composés humiques dépend également de la concentration des groupements carboxyliques; en particulier ces groupements sont extrêmement importants dans les réactions d'échange d'ions qui nous préoccupent. Il a été montré que le masquage sélectif des groupements carboxyliques entraîne une diminution considérable de la capacité de rétention des métaux par les substances humiques (SCHNITZER et al. 1965).

Les acides fulviques extraits des eaux du DUKE présentent des concentrations en fonctions carboxyliques ( $pK_a < 4$ ) de 885 meq / 100 g de C. Ce résultat est en accord avec les valeurs annoncées dans la littérature et rapportées ci-avant. Toutefois, la comparaison de nos résultats avec ceux déjà publiés doit être effectuée avec prudence car les teneurs en divers groupements fonctionnels peuvent dépendre non seulement du mode d'extraction mais également du mode d'analyse de ces groupements (titrages).

Les acides fulviques étudiés présentent également de fortes densités de sites dont les  $pK_a$  varient de 9 à 10. Ces sites correspondent généralement aux fonctions phénoliques (BRASSARD et al. 1990, KRAMER 1990). Les groupements phénoliques font également partie des sites actifs des molécules humiques. Toutefois, ils sont probablement moins réactifs que les groupes carboxyliques. Pour les acides fulviques extraits des eaux naturelles, BUFFLE 1988 (section 6-1) rapporte des concentrations variant de 100 à 600 meq / 100g de C. La concentration des groupements phénoliques dans les eaux naturelles est étroitement liée à l'origine de la matière organique et au stade d'humification de cette dernière. En effet, par exemple, SAITO et al. 1980 observent des concentrations de phénols dans les substances humiques extraites d'eaux de mer considérablement plus faibles que celles constatées dans les AH issues des sols. Il note que la matière organique autochtone (algues), prépondérante dans les eaux de mers, est essentiellement

de nature aliphatique. Par conséquent les AH extraits des milieux marins comportent une plus faible proportion de composés phénoliques que ceux d'origine terrigène essentiellement issus de la dégradation des lignines. Les AF extraits de la réserve du DUKE présentent une teneur en groupements phénoliques ( $pK_a > 9$ ) 560 meq / 100g C. Cette teneur est plus faible que celle observée pour les groupements carboxyliques. L'acidité des substances fulviques étudiées semble être essentiellement liée aux fonctions carboxyliques (environ 45%) et aux fonctions phénoliques (28%).

D'autres groupements, dont les  $pK_a$  varient de 5 à 8 pouvant être des fonctions carboxyliques faibles ou bien phénoliques fortes, participent plus faiblement à l'acidité totale des composés fulviques (27%). Les composés fulviques représentent seulement 38% de la matière organique dissoute de l'eau du DUKE. Il est intéressant d'étudier la distribution des  $pK_a$  dans l'eau naturelle initiale ainsi que dans diverses fractions ultrafiltrées afin d'observer le comportement des matières colloïdales organiques.

#### *Eau naturelle du DUKE (<0,45 $\mu$ m) et fractions d'ultrafiltration*

L'eau naturelle prélevée dans la réserve du DUKE et filtrée sous 0,45  $\mu$ m fait observer un spectre relativement proche de celui obtenu pour les AF extraits (**figure 7 a**): deux groupes de sites majeurs dont les  $pK_a$  sont inférieurs à 4 et supérieurs à 9 ainsi que des groupes de  $pK_a$  intermédiaires sont mis en évidence. Toutefois les densités de sites dont les  $pK_a$  varient de 5 à 8 sont relativement plus élevées que celles observées pour les AF extraits, et plus particulièrement pour les valeurs de  $pK_a$  de 7-8. La densité de sites représentative des fonctions carboxyliques est considérablement plus faible dans l'eau naturelle filtrée, alors que celle représentative des fonctions phénoliques est inchangée.

Néanmoins, le domaine de  $pK_a$  que nous avons associé aux groupements phénoliques pour l'échantillon d'AF extraits est déplacé vers des valeurs plus élevées de  $pK_a$  sur le spectre caractéristique de l'eau naturelle filtrée (10,5 au lieu de 9,3).

D'une façon générale, la matière organique dissoute de l'eau naturelle du DUKE présente une diminution de la densité de sites actifs (acidité totale) de 20% par rapport aux composés fulviques extraits. Ces résultats montrent que l'acidité apportée par les composés organiques autres que de nature fulvique est liée aux sites fonctionnels de  $pK_a$  intermédiaires (5-8). Le déplacement des  $pK_a$  vers de fortes valeurs peut laisser supposer la présence, dans l'eau naturelle, de composés inorganiques (oxy - hydroxydes de fer) inexistant dans l'extrait d'acides fulviques, et d'autres composés organiques différents de ceux extraits dans l'échantillon d'AF du DUKE. Des modélisations (titrages de mélanges substances fulviques-composés minéraux) permettraient de préciser ces hypothèses. Toutefois, la participation de composés inorganiques à l'acidité totale de l'eau naturelle semble être relativement faible car l'augmentation de la densité de sites dans ces domaines de  $pK_a$  n'est pas significative. Enfin, il est à noter que les composés fulviques offrent une fonctionnalité importante par rapport aux autres composés organiques naturellement dissous dans l'eau du DUKE; ces derniers ne sauraient toutefois être négligés car leur présence modifie considérablement la distribution des  $pK_a$ .

L'étude des diverses fractions issues de l'eau du DUKE et isolées par ultrafiltration en cascade semble montrer un déplacement des densités de sites vers les plus fortes valeurs de  $pK_a$  lorsque la taille des composés augmente (**figure 7 b, c, d, e et f**). Les composés de haut poids moléculaire présentent en effet généralement une forte proportion de fonctions phénoliques comme nous l'avons mentionné ci-avant. De plus, il est intéressant de constater la présence de groupements fonctionnels de type phénolique dans la plus petite fraction isolée par ultrafiltration (<5 000 D). La participation des fonctions phénoliques à l'acidité totale est, au sein de cette fraction, de l'ordre de 18%; les sites carboxyliques sont majoritaires (57%). Les groupes de  $pK_a$  intermédiaires varient en position et en intensité d'une fraction à l'autre mais globalement leur participation à l'acidité totale demeure de l'ordre de 25% quelque soit la fraction isolée.

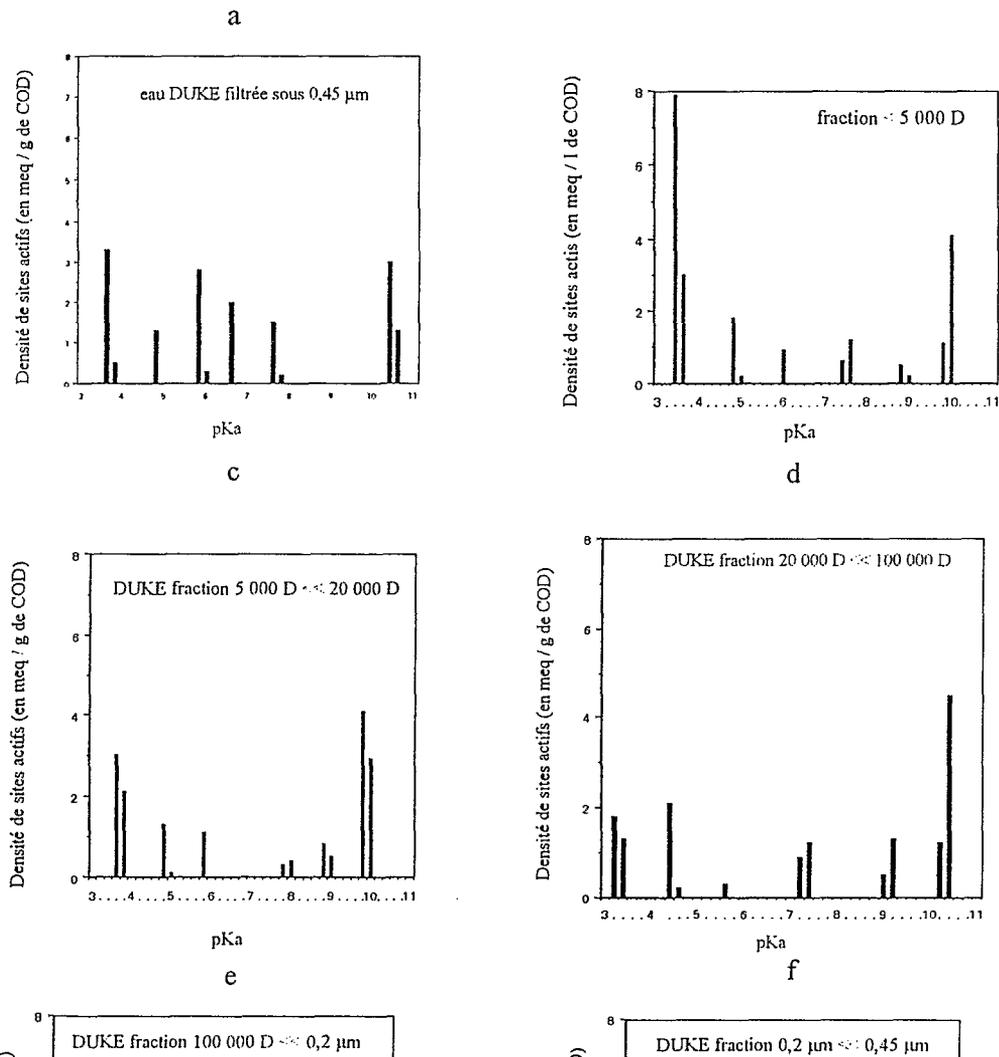
Enfin, il a été constaté sur l'eau du DUKE mais également sur la majeure partie des échantillons étudiés que la plus petite fraction isolée (< 5 000 D) présente une densité de sites considérablement plus forte que celle des autres fractions contenant des composés organiques de PM plus élevé (**figure 8**).

Pour une même unité de masse de carbone organique, les petites molécules (<5 000 D) participeraient de façon relativement importante à l'acidité totale des eaux naturelles étudiées. En

effet, lorsque le PM des composés organiques s'accroît, il se peut qu'une proportion non négligeable de sites échangeables soit masquée au coeur des agrégats .

**points caractéristiques :**

Les distributions de  $pK_a$  obtenues après dosages acido basiques des fractions  $0,2 \mu\text{m} \ll 0,45 \mu\text{m}$  pour les points **R. AMAP. Amont** et **R. AMAP. Aval** montrent que les fortes valeurs de  $pK_a$  (8-9) observées pour l'échantillon R AMAP amont sont déplacées vers des valeurs supérieures (10-11) pour le point R. AMAP aval (**figure 9**). Il est probable que des colloïdes minéraux introduits par le rejet des eaux d'exploitation soient à l'origine de ces observations. Les oxydes de manganèse sont connus pour développer une surface active importante (BILINSKI et al. 1973, BILINSKI et al. 1977, MORGAN et al. 1964). Du point de vue environnemental, il serait important de vérifier ces premiers résultats par d'autres séries de prélèvement en amont et en aval de la zone d'exploitation ou bien à l'exutoire du bassin de décantation. L'introduction massive de colloïdes inorganiques dans le Rio Amapari pourrait engendrer une redistribution considérable des métaux de la phase soluble vers la phase colloïdale.



**Figure n° 7**

Distribution des  $pK_a$  pour diverses fractions des eaux prélevées au point DUKE; a: eau filtrée  $0,45 \mu\text{m}$ , b: fraction  $< 5\,000 D$ , c: fraction  $5\,000 D \ll 20\,000 D$ , d: fraction  $20\,000 D \ll 100\,000 D$ , e: fraction  $100\,000 D \ll 0,2 \mu\text{m}$ , f: fraction  $0,2 \mu\text{m} \ll 0,45 \mu\text{m}$ .

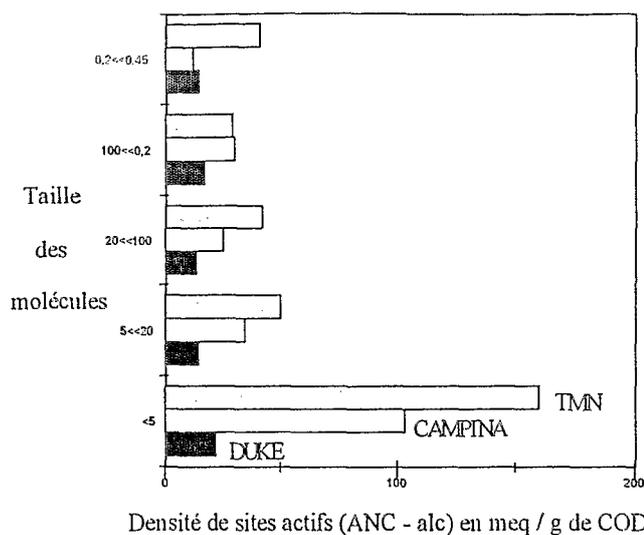


Figure n° 8

Densités de sites actifs totales développées par les fonctions organiques ((ANC - alc) / COD)) en fonction de la taille des composés exprimées en meq / g de COD.

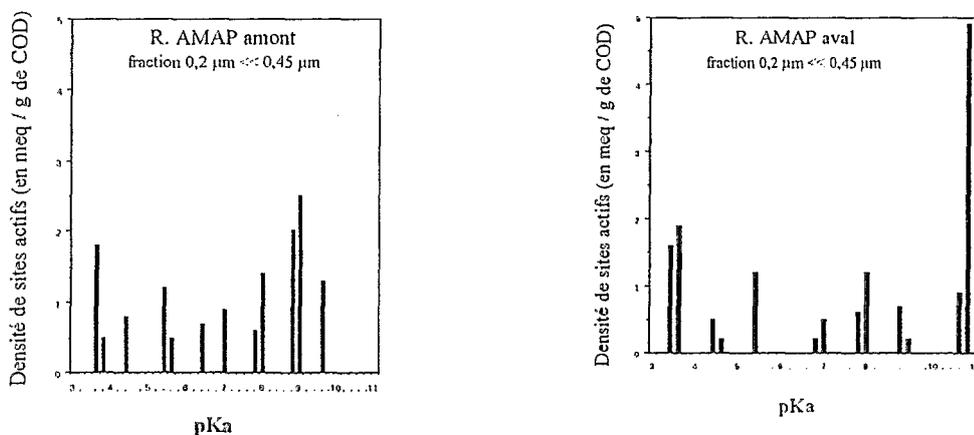
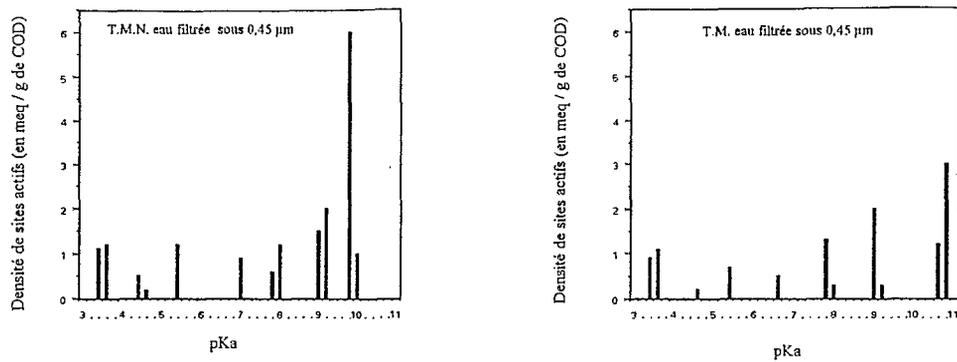


Figure n° 9

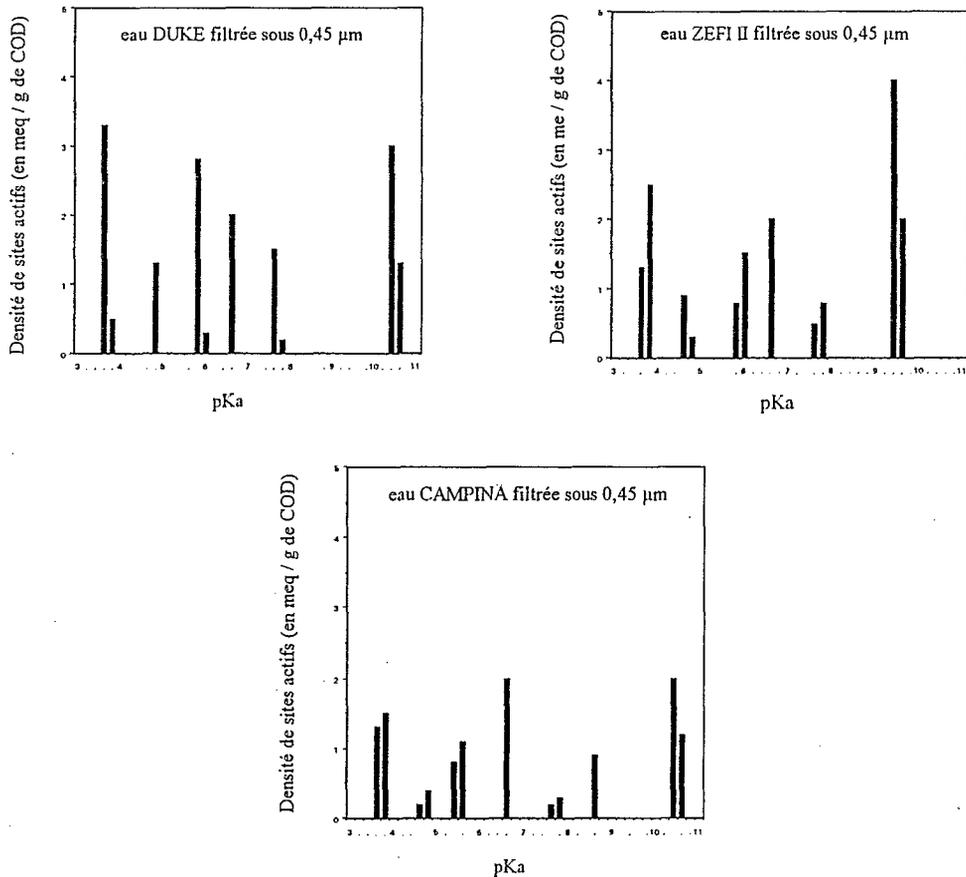
Distribution des  $pK_a$  pour les fractions  $0,2 \mu m \ll 0,45 \mu m$  du Rio Amapari obtenues en amont de la zone d'exploitation du manganèse et en aval de la zone (dosage de  $pH = 11$  à  $pH = 3$  à incréments constants de  $pH (0,1)$ , correction automatique de la réponse non Nernstienne de l'électrode et recherche des  $pK_a$  de 0,2 en 0,2 dans les deux cas.

L'eau TMN est une eau très colorée prélevée au coeur d'une vallée inondable à la saison des pluies au niveau d'un petit *igarapé*, et très probablement à une distance relativement éloignée de la source. Ce point est caractéristique des eaux colorées rencontrées fréquemment à l'amont des bassins versants alimentant le Rio Negro. La distribution des fonctions acides ( $pK_a$ ) au sein de l'eau filtrée sous  $0,45 \mu m$  montre que 15% de l'acidité provient des fonctions carboxyliques ( $pK_a$  3-4) et près de 65% est attribuable aux fonctions phénoliques (figure 10). Ces résultats indiquent la présence d'une matière organique d'origine terrigène considérablement dégradée. En effet, le fait d'observer des proportions de sites carboxyliques relativement faibles par rapport aux taux de groupements phénoliques indique généralement une MO de poids moléculaire élevé et considérablement humifiée (RASHID 1971, RASHID 1972). De plus, les composés phénoliques sont issus essentiellement de la dégradation des lignines et leur présence dans les eaux est souvent la signature d'une origine terrigène de la MO (SAITO et al. 1980).



**Figure n° 10**

Distribution des pKa pour les eaux naturelles filtrées sous 0,45 µm des points TMN et TM; dosage de pH = 11 à pH = 3 à incréments de pH constants (0,1), correction de la réponse non Nernstienne de l'électrode et recherche des pKa de 0,2 en 0,2 dans les deux cas sur toute l'échelle de titrage.



**Figure n° 11**

Distribution des pKa pour les eaux naturelles filtrées sous 0,45 µm des points DUKE, ZEFI II et CAMPINA; dosage de pH = 11 à pH = 3 à incréments de pH constants (0,1), correction de la réponse non Nernstienne de l'électrode et recherche des pKa de 0,2 en 0,2 dans les trois cas sur toute l'échelle de titrage; teneurs en COD des échantillons analysés respectivement: 7,95 mg/l, 22,0 mg/l et 1,2 mg/l

La distribution des  $pK_a$  pour l'eau TM filtrée sous  $0,45 \mu\text{m}$  indique une fonctionnalité plus faible que celle de l'eau TMN (11,2 meq/g de COD au lieu de 17,5 meq/g de COD) (figure 10). Il semble qu'il y ait une plus faible proportion de sites de  $pK_a$  élevés dans l'eau TM par rapport à l'eau TMN. Ces derniers  $pK_a$  sont de plus sensiblement déplacés vers les fortes valeurs de  $pK_a$ . Ces observations permettent de penser à la présence de composés organiques de nature différente, de PM relativement élevé, et très probablement d'origine plus récente. Il est probable que le carbone organique autochtone implanté dans ce *Rio* soit à mettre en relation avec une nette diminution de la fonctionnalité de la MO au niveau du Tarumã Mirim.

Les distributions des  $pK_a$  reportées en figure 11 pour les eaux du DUKE, ZEFI II et CAMPINA filtrées sous  $0,45 \mu\text{m}$  montrent des allures très similaires. Toutefois, le point CAMPINA montre non seulement de plus faibles proportions de  $pK_a$  élevés mais également un déplacement considérable de ces derniers, comparativement à ZEFI II, vers de très fortes valeurs ( $pK_a = 11$ ). Ces observations soulignent la présence, dans les eaux issues des podzols, de composés organiques de plus haut poids moléculaire mais aussi d'origine peut-être plus récente que ceux présents dans les eaux de drainage des latosols. Il est probable en effet, que l'entraînement rapide des composés organiques au sein des podzols limite l'humification. En raison de la variation toposéquentielle du type de forêt, la matière végétale apportée en sommet de sol est différente entre l'amont et l'aval de la séquence. Cette différence pourrait également être à l'origine de la variation constatée en ce qui concerne les densités de sites.

## CONCLUSION

A l'issue d'un fractionnement d'eaux naturelles par UF en cascade, la taille des composés isolés est généralement définie en unité de poids moléculaire. Les membranes d'ultrafiltration sont étalonnées avec des substances étalon purifiées et calibrées de PM connus. La littérature rapporte un certain nombre de correspondances entre le PM et la taille des composés isolés par UF exprimée en unité métrique. La synthèse de quelques données permet d'obtenir une corrélation relativement indépendante du mode de fractionnement (diafiltration ou ultrafiltration par concentration du rétentat, nature chimique des membranes et (ou) du soluté, pression, force ionique, pH, etc...). Cette approche indique qu'à l'aval des membranes d'UF à 5 000 D, 20 000 D et 100 000 D la majeure partie des composés a une taille inférieure à respectivement 3 nm, 10 nm et 25 nm. Afin de préjuger de la validité de ces correspondances, la dimension des colloïdes isolés et concentrés par UF en cascade a été mesurée par spectroscopie de corrélation de photons. La méthode a permis de vérifier l'efficacité du fractionnement physique des composés organiques par ultrafiltration en cascade: lorsque le seuil de coupure devient de plus en plus faible, il y a décroissance de la taille moyenne détectée. Elle a également permis de souligner la composition effective d'une fraction isolée par ce type de procédé: des petites molécules ont pu être mises en évidence dans les fractions  $0,2 \mu\text{m} \ll 0,45 \mu\text{m}$  isolées par ultrafiltration confirmant qu'au cours de l'ultrafiltration les petites molécules (anions, cations et molécules organiques) se répartissent certainement en concentration identique de chaque côté de la membrane d'UF (ultrafiltrat et rétentat). Chaque fraction semble contenir une certaine proportion de colloïdes "inopportuns" dont la taille est plus élevée que la limite supérieure "théorique" de la fraction tout particulièrement dans les plus petites fractions isolées ( $5K \ll 20K$ ,  $20K \ll 100K$  et  $< 5K$ ). Cette observation peut être liée à la méthode d'analyse de taille des particules utilisée. En effet, la spectroscopie de corrélation de photons tend à amplifier la présence des macromolécules, même si elles sont en minorité, au détriment des plus petites. La méthode semble être sensible, de plus, à la conformation et à la structure des colloïdes. Le modèle de sphéricité des particules sur lequel est basée la fonction d'autocorrélation n'est peut être pas entièrement adaptée à l'analyse des tailles de colloïdes à structure et géométrie complexes. Par conséquent, tout résultat de spectroscopie de corrélation de photons est à considérer avec précaution en particulier si des échantillons d'eaux naturelles sont étudiés.

L'analyse des densités de sites dans chaque fraction d'UF par DPASV a permis de montrer une aptitude relativement importante (maximale) pour les fractions contenant des molécules colloïdales dont le PM varie de 20 000 D à 100 000 D, les plus petites molécules et les macromolécules présentant des densités de sites moindres. Ces observations ont permis de soutenir les résultats obtenus sur les eaux de Ribéirão Preto (PARANA) et ont été interprétées

d'une part en considérant une augmentation des quantités de complexes "électro-inactifs" avec l'accroissement de la taille des molécules, et d'autre part en prenant en considération un masquage d'une certaine proportion des sites fonctionnels au coeur des agrégats lorsque les molécules deviennent de plus en plus grandes.

L'analyse des sites fonctionnels de la MOD concentrée dans chaque fraction d'UF, ainsi que des AF Suwannee River, Armadale et extraits des eaux du DUKE, à partir de titrages potentiométriques au moyen de la procédure LP a permis d'obtenir les distributions des pK<sub>cu</sub> et des pK<sub>a</sub>. Les distributions de pK<sub>cu</sub> obtenues ont permis de souligner un comportement analogue pour la majeure partie des échantillons étudiés à l'exception des fractions isolées comportant les petites molécules (5K << 20K). Le comportement se définit par la présence de sites de complexation très majoritaires dont la constante conditionnelle de stabilité est de l'ordre de  $5 \cdot 10^{-4}$  ainsi que par la présence de divers types de ligands à interaction plus fortes; ces derniers sont toutefois à des concentrations 100 à 1000 fois plus faibles et peuvent être associés en partie à des interactions de type électrostatique.

La détermination des sites échangeables à l'issue de titrages acido basiques au moyen d'une électrode de pH sur divers échantillons, nous a permis d'observer deux grands groupes de pK<sub>a</sub> majoritaires, d'une part pour des valeurs de 3-4 correspondant essentiellement aux fonctions carboxyliques, et d'autre part pour des valeurs de 9-10 pouvant être associées aux groupements phénoliques. Des pK<sub>a</sub> intermédiaires (5-8) sont également apparents en plus faibles concentrations.

Les acides fulviques extraits de l'eau du DUKE présentent des teneurs en sites carboxyliques et phénoliques respectivement de 885 meq / 100g et de 560 meq / 100g. Ces valeurs sont d'une façon générale en accord avec les données issues de la littérature. Ces composés participent de façon importante à l'acidité totale de l'eau naturelle du DUKE. En effet, l'analyse de l'eau naturelle dans sa globalité (<0,45 μm) montre une diminution de 20% de la densité de sites par rapport à celle déterminée pour les composés fulviques isolés. La distribution des pK<sub>a</sub> de l'échantillon d'eau naturelle filtrée sous 0,45 μm est relativement proche de celle observée pour les composés fulviques extraits. Toutefois, la densité de sites de pK<sub>a</sub> intermédiaires semble prendre de l'importance et les pK<sub>a</sub> associés aux fonctions phénoliques sont déplacés vers des valeurs plus élevées. La présence de composés organiques de nature autre que fulvique, ou de colloïdes minéraux peut justifier la modification de la distribution. Les composés de haut poids moléculaire présentent une plus forte proportion de sites de type phénolique que les composés de plus faible poids moléculaire. Ces résultats soulignent que les composés de haut poids moléculaire et colloïdes possèdent des groupements fonctionnels de plus faible acidité que ceux développés par les composés de faible poids moléculaire. Enfin, la densité de sites est la plus élevée pour les petites molécules (<5 000 D). Les molécules de poids moléculaire supérieur à 5 000 D présentent une densité de site moindre (1,5 à 5 fois plus faible), peut être en raison du masquage d'une partie des sites fonctionnels au coeur des agrégats.

## RÉFÉRENCES:

- ALEKSANDROVA L.N., 1967, Organomineral humic acid derivatives and methods of studying them, *Soviet Soil Science* 7, 903-913.
- ALLEN H.L., 1976, Dissolved organic matter in lakewater: characteristics of molecular weight size fractions and ecological implications, *Oikos*, 27, 64-70.
- AMICON Ltd., Catalog and Selection Guide, Publication No.547, 26p.
- BAKER W.E., 1973, The role of humic acids from Tasmanian podzolic soils in mineral degradation and metal mobilization, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 37, 269-281.
- BENAIM J.Y., EYROLLE F. et FEVRIER D., 1993, Metal transport by organic colloids from leaching waters in central Amazonia and in Amapa, in *Perspectives for Environmental Geochemistry in Tropical Countries*, Theme 5, Organic matter and its importance in Tropical geochemical cycles, International Symposium, Niteroi, Brazil.
- BENAIM J.Y., 1990, La matière organique dissoute et complexante dans les eaux de mer: méthodes, mesures, aspects ecotoxicologiques, *Océanis*, 16, Fasc. 4, 313-328.

- BILINSKI H. et STUMM W., 1973, species in natural water, Pb (II), EAWAG news.
- BILINSKI H., KOZAR S., KWOKAL Z. et BRANICA M., 1977, Model adsorption studies of Pb (II), Cu (II), Zn (II) and Cd (II) on MnO<sub>2</sub> added to adriatic sea water samples, *Thalassia Jugoslavica*, 13, 101-108.
- BOUSSEMART M., MENARGUE L., FEVRIER D. et BENAÏM J., 1993, L'électrochimie analytique automatisée: un outil moderne bien adapté à l'étude du milieu marin, 18, 80-87.
- BRASSARD P., KRAMER J. R. et COLLINS P. V., 1990, Binding site analysis using Linear Programming, *Environmental Science Technology*, 24, 195-201.
- BRAVARD S., 1988, Podzolisation en Amazonie Brésilienne. Etude d'une séquence sols ferrallitiques-podzols de la région du nord de Manaus. Thèse, n°187 (UnPub), Université de Poitiers, 198 p.
- BRIAND G., SCRIBE P., PEPE C., SALIOT A., MARIOTTI A. et BRUCHET A., 1994, Transfert de la matière organique des sols aux matières en suspension: caractérisation et évolution en fonction de la pédologie de petits bassins versants au Nord de Manaus, cet ouvrage.
- BROWN M., 1975, High molecular-weight material in Baltic Seawater, *Marine Chemistry*, 3, 253-258.
- BUFFLE J., 1988, in *Complexation reactions in aquatic systems. An analytical approach*. Ellis Horwood Series in Analytical Chemistry. R.A. Chalmers, J.N. Millers (eds), J. Willey and Sons, New York.
- BUFFLE J., DELADOEY P. et HAERDI W., 1978, The use of ultrafiltration for the separation and fractionation of organic ligands in fresh waters, *Analytica Chimica Acta*, 101, 339-357.
- CECCANTI B., CALCIANI M., BONMATI-PONT M., CIARDI C. et TARSITANO R., 1989, Molecular size distribution of soil humic substances with ionic strength, *The Science of the Total Environment*, 81/82, 471-479.
- CHAU Y.K., 1973, Complexing capacity of natural water- Its significance and measurement, *Journal of Chromatographic Science*, 11, 579.
- CHAU Y., GACHTER R. et LUM-SHUE-CHAN K., 1974, Determination of the apparent complexing capacity of lake waters, *Journal Fisch. Res. Board Can.*, 31, 1515-1519.
- CHOPPIN G.R., 1988, Humics and radionuclide migration, *Radiochimica Acta*, 44/45, 23-28.
- DE MORA S. J. et HARRISON R. M., 1982, The use of physical separation techniques in trace metal speciation studies, *Water Research*, 17, 7, 723-733.
- DE SOUZA-SIERRA M.M. et DONARD F.X., 1991, Simulation of fluorescence variability in estuaries, *Oceanologica Acta*, vol. sp. 11, 275-284.
- EVERETT D. H., 1989, Basic principles of colloids science, Burlington House, London, 243 p.
- EYROLLE F., FEVRIER D. et BENAÏM J.Y., 1993, Etude par DPASV de l'aptitude de la matière organique colloïdale à fixer et à transporter les métaux: exemples de bassins versants en zone tropicale, *Environmental Technology*, 14, 701-717.
- FAURE J., VIALLET P. et PICAT P., 1975, *CEBEDEAU*, 28, 439.
- FORTI M.C. et MOREIRA-NORDEMANN L.M., 1990, An ion budget for a "terra firme" rainforest in Central Amazonia, *International Seminar on Hydrology and Water Management of the Amazon Basin*, Manaus, Brazil, 05.09.1990, I.N.P.E., Sao José dos Campos.
- FRANKEN W. et LEOPOLDO P. R., 1984, Hydrology of catchment areas of Central-Amazonian forest streams, in: The Amazon. Limnology and Landscape ecology of a mighty tropical river and its basin, Sioli H. (eds), Netherlands.
- GHOSH K. et SCHNITZER M., 1980, Macromolecular structures of humic substances, *Soil Science*, 266-275.
- GJESSING E.T., 1971, Effect of pH on the filtration of aquatic humus using gels membranes, *Schweiz. Z. Hydrol.*, 33, 592-600.

- GJESSING E.T., 1973, Gel and ultramembrane filtration of aquatic humus: A comparison of the two methods, *Hydrologie*, 35, 2, 286-294.
- GRAN G., 1952, Determination of the equivalence point in potentiometric titrations, *Acta Chem. Scand.*, 4, 559.
- HERING J.G. et MOREL F.F.M., 1988, Humic acid complexation of calcium and copper, *Environmental Science & Technology*, 22, 1234-1237.
- HOFFMANN M. R., YOST E. C., EISENREICH S. J. et MAIER W. J., 1981, Characterisation of soluble and colloidal-phase metal complexes in river water by ultrafiltration. A mass- balance approach, *Env. Sci. Technol.*, 15, 6, 655-661.
- HONEYMAN B.D. et SANTSCHI P.H., 1988, A brownian-pumping model for oceanic trace metal scavenging: evidence from Th isotopes, *Journal of Marine Research*, 12, 101-112.
- JENNE E.A., 1976, Trace element sorption by sediments and soils- sites and processes, Symposium on Molybdenum, Chappell W., Petersen K. (eds), New York: Marcel Dekker, 2, 425-553.
- KRAMER C.J.M. et DUINKER J.C., 1984, in Complexation of trace metal in natural waters: Complexation capacity and conditional stability constants for copper of sea and estuarine waters, sediments extraits and colloids, 217-228, KRAMER, C.J.M. et DUINKER J.C. (eds), Lancaster, 448 p.
- KRAMER C., 1985, On the copper complexation capacity in the marine environment, Thesis Groningen University, The Netherlands.
- KRAMER J.R., BRASSARD P., COLLINS P., CLAIR T.A. et TAKATS P., 1990, Variability of organic acids in watersheds, in Organic acids in aquatic ecosystems, PERDUE E.M. and GJESSING E.T. (eds), John Wiley & Sons, Bernhard, Dahlem Konferenzen, 127-139.
- KRAMER J. R., COLLINS P.V. et BRASSARD P., 1991, Characterization of multiple functional groups on Kaolinite, *Marine Chemistry*, 36, 1-8.
- KRAMER J. R., BRASSARD P. et COLLINS P.V., 1992, Automatic electrode correction in binding site analysis, *Environmental Science & Technology*, 26, 9, 1844-1846.
- 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, 52-82
- LEPPARD G. G., BUFFLE J. et BAUDAT R.k, 1986, A description of the aggregation properties of aquatic padoganic fulvic acids, *Water Research*, 20, 2, 185-196.
- LUCAS Y., CHAUVEL A., BOULET R. et SCATOLINI G., 1984, Transição latossolos-podzóis sobre a formação Barreiras na região de Manaus, Amazônia, *Revista Brasileira de Cienca de Solo*, 8, 325-335.
- LUCAS Y., 1989, Systèmes pédologiques en Amazonie brésilienne. Equilibres, déséquilibres et transformations. Thesis n°211 (UnPub), 157 p.
- LUCAS Y., LUIZAO F.J., CHAUVEL A., ROUILLER J. et NAHON D., 1993, The relation between biological activity of the rainforest and mineral composition of the soils, *Science*, 260, 521-523.
- LYUTSAREV S. V., GORSHKOVA O. N. et CHUBAROV V. V., 1984, Study of dissolved colloidal organic mater in marine and interstitial water by laser fluorimetry, *Oceanology*, 24, 71-75.
- MANSKAYA S.M. et DROZDOVA T.V., 1968, Geochemistry of organic substances, *International series of monographs in earth science*, 28, 347 p.
- McQUAKER N. R. et SANDBERG D. K., 1988, Gran's titrations and ion balances: some analytical control limits for precipitation and surface waters, *Environmental Science Technolology*, 22, 590-592.
- MORAN S.B. et MOORE R.M., 1989, The distribution of colloidal aluminium and organic carbon in coastal and open ocean waters off Nova Scotia, *Geochimica and Cosmochimica Acta*, 53, 2519-2527.
- MORGAN J. J et STUMM W. , 1964, Colloid - chemical properties of managanese dioxide, *j. colloid sci.* , 19, 347-358.

- NEWMAN M. E., FILELLA M., CHEN Y., NEGRE J. C., PERRET D. et BUFFLE J., 1994, Submicron particles in the Rhine River- II. Comparison of field observations and model predictions, *Water Research*, 28, 1, 107-118.
- NIVEN S.E.H. et MOORE R.M., 1988, Effect of natural colloidal matter of the equilibrium adsorption of thorium and seawater, *Radionuclides: a Tool For Oceanography*, 111-120.
- PERRET D., NEWMAN M. E., NEGRE J. C., CHEN Y. et BUFFLE J., 1994, Submicron particles in the Rhine River- I. Physico-chemical characterisation, *Water Research*, 28, 1, 91-106.
- PLAVSIC M., KRZARNIC D. et BRANICA M., 1982, Determination of the apparent copper complexing capacity of sea water by anodic stripping voltametry, *Marine Chemistry*, 11, 17-33.
- RASHID M.A. et KING L.H., 1970, Major oxygen-containing functional groups present in humic and fulvic acid fractions isolated from contrasting marine environments, *Geochimica and Cosmochimica acta*, 34, 193-201.
- RASHID M.A. et KING L.H., 1971, Chemical characteristics of fractionated humic acids associated with marine sediments, *Chemical Geology*, 7, 37-43.
- ROBINSON R.A. et STOKES R.H., 1970, *Electrolyte solutions*, 2nd Edition, Butterworths, London, 357 p.
- RUZIC I., 1982, Theoretical aspects of the direct titration of natural waters and its information yield for trace metal speciation, *Analytical Chimica Acta*, 140, 99-113.
- SAITO Y. et HAYANO S., 1980, Distribution of oxygen-containing functional groups and elements in humic acids from marine sediments, *Journal of the Oceanographical Society of Japan*, 36, 59-67.
- SANTCHI P.H., NYFEELER U.P., LI Y.-H. et O'HARA P., 1986, Radionuclide cycling in natural waters: relevance of scavenging kinetics, *Sediments and water Interactions*, 183-191.
- SARTORIUS, 1992, Filtration au laboratoire, microbiologie électrophorèse, catalogue commercial, p.17.
- SCHNITZER M. et SKINNER S. I. M., 1965, Organo-metallic interactions in soils. 4. Carboxyl and hydroxyl groups in organic matter and metal retention, *Soil Science*, 99, 278-284.
- SCHNITZER M., 1978, Humic substances: chemistry and reactions, in: *Soil Organic Matter*, SCHNITZER M. and KHAN S.U. (eds), New York, Elsevier, 1-64.
- STABEL H.H., 1977, *Arch. Hydrobiol. Suppl.*, 53, 153.
- STEINBERG C., 1977, *Arch. Hydrobiol. Suppl.*, 53, 48.
- SWANSON V.E., FROST I.C. et RADER L.F., 1966, Metal sorption by northwest Florida humate, U.S. Geological survey professional paper 550-C, C174-C177.
- TANAGER SCIENTIFIC SYSTEMS INC., 1991, Instrumentation manual : Dual Titration System using the TANAGER 8901 System, 90 Central Drive, Ancaster, Ontario L9G 2A2 648-7500, 44 p.
- THURMAN E.M., 1985, *Organic geochemistry of natural waters*, Martinus Nijhoff/ Dr W. Junk Publishers, Dordrecht and Boston, 497 p.
- TOBBLER H.J., ENGEL G., 1983, *Schmiedeberg's Arch. Pharmacol*, 322, 183.
- VARNAY M.S., MATOURA R.F.C., WHITFIELD M., TURNER D.M. et RILEY J.P., 1982, Potentiometric and informational studies of the acid base properties of fulvic acid from natural waters, In *Trace metals in sea water*, Wong C.S., Boyle E., Bruland K.W., Burton J.D. et Goldberg E.D. (eds), Plenum Press, New York, 751-772.
- WILANDER A., 1972, A study on the fractionation of organic matter in natural water by ultrafiltration techniques, *Hydrologia*, 34, 2, 190-199.