



Spéciation colloïdale des éléments traces métalliques en milieu estuarien

Virginie Tanguy

► To cite this version:

Virginie Tanguy. Spéciation colloïdale des éléments traces métalliques en milieu estuarien. Chimie analytique. Université de Bretagne occidentale - Brest, 2011. Français. NNT: . tel-00708258

HAL Id: tel-00708258

<https://theses.hal.science/tel-00708258>

Submitted on 14 Jun 2012

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



université de bretagne
occidentale



THÈSE / UNIVERSITÉ DE BRETAGNE OCCIDENTALE

sous le sceau de l'Université européenne de Bretagne

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BRETAGNE OCCIDENTALE

Mention : Chimie Marine

École Doctorale des Sciences de la Mer

présentée par

Virginie TANGUY

Préparée à l'Institut Universitaire Européen de la Mer
Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin
(UMRCNRS-UBO-IRD 6539) et Laboratoire de
Chimie Marine (UMR CNRS-UPMC 7144)

Spéciation colloïdale des éléments traces métalliques en milieu estuarien

Soutenue le 18 mars 2011

devant le jury composé de :

Willy BAEYENS

Professeur, Université Libre de Bruxelles / *Rapporteur*

Gabriel BILLON

Professeur, Université de Lille / *Rapporteur*

Joël KNOERY

Chercheur (HDR), Ifremer, Nantes / *Examineur*

Matthieu WAELES

Maître de Conférences, Université de Bretagne Occidentale, Brest
Co-encadrant / Examineur

Ricardo RISO

Professeur, Université de Bretagne Occidentale, Brest
Directeur de thèse

Invité

Pierre LE CORRE

Professeur, Université de Bretagne Occidentale, Brest

Remerciements

Cette thèse a été réalisée au sein de l'équipe Chimie Marine. Initialement, cette équipe était rattachée au Laboratoire de Chimie Marine UMR CNRS-UPMC 7144 (Roscoff). Depuis 2009, elle a rejoint le Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin (LEMAR) UMR CNRS-UBO-IRD 6539 à l'Institut Universitaire Européen de la Mer.

Ce travail a été effectué sous la direction de Monsieur Ricardo Riso. Je le remercie de m'avoir permis de faire cette thèse. Sa grande disponibilité, son soutien et ses nombreux conseils lors des manipulations et de la rédaction du manuscrit m'ont permis de présenter aujourd'hui un travail accompli.

Je souhaite également remercier chaleureusement Matthieu Waeles, co-encadrant de ce travail. Je tiens à lui exprimer ma plus sincère reconnaissance pour son aide lors des campagnes de prélèvements et ses conseils pour la rédaction du manuscrit.

J'adresse mes plus vifs remerciements à Pierre Le Corre, ancien directeur du Laboratoire de Chimie Marine sans qui je ne serai pas là aujourd'hui.

Mes remerciements vont également à Willy Baeyens, Professeur à l'université Libre de Bruxelles, et Gabriel Billon, Professeur à l'université de Lille, qui m'ont fait l'honneur de bien vouloir juger ce mémoire.

Je remercie Joël Knoery, Chercheur à l'Ifremer, de bien avoir voulu être examinateur de ce travail.

Les campagnes à la mer ont constitué un rôle fondamental dans ce travail. Je tiens donc à remercier l'équipe des marins de la station biologique de Roscoff et plus particulièrement Mathieu Camusat, Yann Fontana et Thomas Wilfried pour leur efficacité lors des prélèvements dans l'estuaire de la Penzé.

Je remercie chaleureusement Annick Masson, technicienne de laboratoire pour son soutien et son aide précieuse lors des manipulations en laboratoire.

Je remercie également Jean-Pierre Oldra pour son aide vitale lors du polissage de nos électrodes.

Je remercie Cédric Garnier et Gaël Durrieu de l'équipe PROTEE de l'Université de Sud Toulon-Var pour l'analyse du carbone organique dissous, ainsi que Jean-Yves Cabon du Laboratoire de Chimie, Electrochimie Moléculaire et Chimie Analytique (UMR CNRS-UBO

6521) de l'Université de Bretagne Occidentale (Brest) pour l'analyse des métaux particuliers par spectroscopie d'absorption atomique. Je remercie Gaëtane Lespès, professeur à l'université de Pau et des Pays de l'Adour, Julien Gigault, doctorant à l'université de Pau et des Pays de l'Adour, pour leur aide et leur conseil pour ce travail. Je remercie également Jérôme Frayret, ingénieur de recherche à l'université de Pau et des Pays de l'Adour pour l'analyse des métaux colloïdaux par ICP - MS.

Je tiens également à remercier Elisabeth Bondu, Éric Cornil et Robert Marc pour leur soutien et leur sympathie tout au long de ces années passées à l'IUEM.

J'adresse mes remerciements aux membres du laboratoire et d'ailleurs pour leur aide et leur sympathie en particulier Pascal Morin, Stéphane L'Helguen, Jean-François Maguer, Christine Gager (pour son efficacité lors des commandes et son aide précieuse lors des préparatifs aux congrès)...

Je salue les nombreux stagiaires qui ont égayé et mis de la vie dans le laboratoire lors de leur passage : Julien Gigault, Mathilde Huon, Olivier Jegaden, Gabrielle Harlé, Guilhem Lataste, Damien Cabanes... ainsi que Cécile Klein, post-doc au laboratoire.

Je souhaite également avoir une pensée toute particulière à mes nombreuses rencontres qui sont devenues pour la plupart des amis : Jennifer Vandenhecke, Guillaume Péron, Elise Quentel, Vincent Brandon, Aurore Gorlas, Marion Cardinaud, Maria Ciabonu, Catherine Evrard, Amadou Tall, Anne-Cécile Blaizot, Claire Galland, Claire Sabourin, Éric Alfonsi,... et bien d'autres. Et sans oublier mes amis d'avant notamment Elisabeth Rivera, Virginie De Lagrandrie, Sopheak Net, Jeanne Zang...

Une attention toute particulière va à ma famille et surtout à mes parents qui m'ont toujours soutenue.

Pour conclure, je tiens à remercier toutes les personnes qui ont participé, d'une manière ou d'une autre, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Sommaire

Introduction générale.....	1
-----------------------------------	----------

Chapitre I : Les colloïdes et les éléments traces métalliques dans les eaux naturelles : état de l'art.....	7
--	----------

I. Les colloïdes	9
I.1. Définition.....	9
I.2. Caractéristiques	10
I.2.1. Concentration dans les eaux naturelles	10
I.2.2. Rapport surface/volume	11
I.2.3. Stabilité des colloïdes	11
I.3. Classification des colloïdes.....	14
I.4. Interactions avec les éléments traces métalliques	16
II. Séparation et caractérisation des colloïdes.....	19
II.1. Techniques de fractionnement des colloïdes	19
II.1.1. La dialyse.....	19
II.1.2. La centrifugation.....	19
II.1.3. Le fractionnement par couplage de force (FFF)	20
II.1.4. Les techniques chromatographiques	20
II.1.5. L'ultrafiltration	21
II.2. Techniques de caractérisation des colloïdes	21
III. Contribution des méthodes de séparation physiques et chimiques à l'étude des éléments métalliques en milieu estuarien	23
III.1. Le partage dissous - particulaire.....	24
III.1.1. Teneurs	24
III.1.2. Comportements des éléments métalliques en milieu estuarien	26
III.2. La spéciation chimique.....	29
III.3. Les méthodes électrochimiques.....	30
III.3.1. Spéciation redox : exemple de l'arsenic	31
III.3.2. Etude des complexes labiles : exemple du cadmium	32
III.3.3. Etudes des propriétés métal - ligands organiques	33
III.4. Spéciation colloïdale des éléments métalliques ; application en milieu estuarien.....	34
IV. Conclusion.....	37

Chapitre II : Matériel et méthodes.....39

I. Cadre de l'étude : l'estuaire de la Penzé	41
II. Prélèvements et techniques de mesure des différents paramètres physico-chimiques et biologiques. 42	
II.1. Paramètres hydrologiques	44
II.1.1. Salinité, température, pH	44
II.1.2. Matière en suspension.....	44
II.2. Éléments nutritifs	44
II.2.1. Nitrate	44
II.2.2. Phosphate.....	45
II.3. Paramètres biologiques	45
II.3.1. Chlorophylle <i>a</i> et phaeopigments	45
II.3.2. Matière organique (MO).....	45
II.3.2.1. Matière organique particulaire (MOP) : azote et carbone (NOP, COP).....	46
II.3.2.2. Matière organique dissoute (MOD)	46
II.3.2.2.1. Carbone organique dissous (COD)	46
II.3.2.2.2. Substances Humiques (SH).....	47
III. Détermination des teneurs en métaux	47
III.1. Précautions	47
III.2. Métaux dissous (Cu, Pb, Cd).....	48
III.2.1. Equipement	48
III.2.2. Préparation de l'électrode à film de mercure	49
III.2.3. Principe de la chronopotentiométrie par redissolution (SCP).....	49
III.2.4. Conditions d'analyse du Cu, Pb et Cd	51
III.2.5. Exemples de dosage du cuivre, du plomb et du cadmium	52
III.3. Analyse du fer dissous	53
III.4. Métaux particuliers (Cu, Pb, Cd, Fe).....	54
III.4.1. Protocole de minéralisation.....	54
III.4.2. Analyse par spectroscopie d'absorption atomique.....	55
III.4.3. Validation de la méthode	55
IV. Mise au point des techniques et des protocoles utilisés pour le fractionnement des colloïdes	57
IV.1. Pré-filtration.....	57
IV.2. Ultrafiltration	57
IV.2.1. Principe	57
IV.2.2. Protocole.....	58
IV.2.3. Traitement des membranes et de la cellule d'ultrafiltration.....	60
IV.3. Validation de la technique d'ultrafiltration	61
IV.3.1. Reproductibilité	61
IV.3.2. Recouvrement	63

Chapitre III : Variations saisonnières des caractéristiques physico-chimiques de l'estuaire de la Penzé.....65

I. Introduction	67
II. Pluviométrie et débit fluvial	68
III. Température de l'eau	69
IV. pH	70
V. Eléments nutritifs	71
V.1. Nitrate	72
V.2. Phosphate.....	73
V.3. Comparaison avec les teneurs d'autres études.....	74
VI. Chlorophylle <i>a</i> et phaeopigments.....	75
VII. Matière en suspension (MES).....	77
VIII.Matière organique	79
VIII.1. Matière organique particulaire (MOP).....	79
VIII.2. Matière organique dissoute (MOD)	82
VIII.2.1. Substances humiques (SH)	83
VIII.2.2. Carbone Organique Dissous (COD)	87
IX. Fer.....	88
X. Conclusion.....	92

Chapitre IV : The removal of colloidal Pb during estuarine mixing: seasonal variations and importance of iron oxides and humic substances.....93

Résumé.....	95
Abstract.....	96
I. Introduction	97
II. Material and methods	98
II.1. Study area	98
II.2. Sampling	99
II.3. Filtration	100
II.4. Ultrafiltration.....	100
II.4.1. Method principle.....	100
II.4.2. Sequential ultrafiltration processing	101
II.4.3. Reproducibility and recovery.....	102
II.5. Pb, Fe and HS analyses in the colloidal fractions	102
II.6. Analyses of PPb and PFe.....	103
II.7. S, T, SPM measurements.....	104
III. Results	104
IV. Discussion.....	107
IV.1. Colloidal distribution of Pb : comparison with literature data.....	107
IV.2. Seasonal variations of Pb concentrations and colloidal distribution.....	107
IV.3. Behaviour of Pb and of its various size fractions along the salinity gradient	109
V. Conclusion.....	113
VI. Etude complémentaire du plomb colloïdal.....	114
VI.1. Concentration et répartition du plomb dans les différentes fractions colloïdales	114
VI.2. Flux.....	117
VI.2.1. Calcul des flux pour les fractions dissoutes (<0,45 µm).....	117
VI.2.2. Calcul des flux pour la fraction particulaire (>0,45 µm)	118
VI.2.3. Flux bruts et flux nets du plomb dans l'estuaire de la Penzé.....	119

Chapitre V : Variations saisonnières et comportement du cadmium colloïdal121

I. Introduction	123
II. Variations saisonnières du cadmium particulaire et du cadmium total dissous.....	125
III. Concentrations et répartition du cadmium dans les différentes fractions colloïdales.....	128
III.1 Variations le long du gradient salé	128
III.2 Variations saisonnières	131
IV. Importance de la fraction colloïdale du cadmium : comparaison avec les données de la littérature	133
V. Comportement des différentes fractions de taille le long du gradient salé.....	136
V.1 Résultats	136
V.2 Discussion.....	138
V.2.1 Comparaison avec d'autres systèmes estuariens.....	138
V.2.2 Processus à l'origine de l'anomalie positive.....	138
V.2.3 Position du maximum	139
VI. Flux	141
VII. Conclusion.....	144

Chapitre VI : Variations saisonnières et comportement du cuivre colloïdal145

I. Introduction	147
II. Variations saisonnières du cuivre particulaire et du cuivre total dissous	149
II.1 Cuivre particulaire	149
II.2 Cuivre dissous	149
II.3 Variations du cuivre dissous dans les eaux fluviales	151
III. Concentrations et répartition du cuivre dans les différentes fractions colloïdales	152
III.1 Variations le long du gradient salé	154
III.2 Variations saisonnières	155
IV. Importance de la fraction colloïdale du cuivre : comparaison avec les données de la littérature	157
V. La complexation organique du cuivre comme facteur de contrôle de la répartition colloïdale du cuivre.....	160
V.1 Constantes de complexation des ligands organiques et distribution colloïdale	160
V.2 Hypothèses sur l'origine des ligands organiques du cuivre	162
V.3 Complexation organique du cuivre dans l'estuaire de la Penzé.....	163
VI. Comportement des différentes fractions de taille du cuivre le long du gradient salé.....	168
VI.1 Résultats	168
VI.2 Discussion.....	170
VII. Flux.....	172
VIII. Conclusion.....	175

Conclusion générale.....	177
---------------------------------	------------

Références bibliographiques.....	183
---	------------

Liste des figures et des tableaux.....	199
---	------------

Publications et communications.....	207
--	------------

Introduction générale

Introduction générale

Dans les écosystèmes marins, les éléments traces métalliques (métaux et métalloïdes) peuvent être classés en deux grandes catégories suivant leur effet sur le biotope. La première catégorie regroupe les éléments considérés comme des oligoéléments (Fe, Mn, Co, Cu, Zn...) qui sont essentiels au développement des organismes marins. La deuxième catégorie est quant à elle constituée des éléments métalliques toxiques (Hg, Pb, Cd...). Lorsqu'ils sont apportés en excès et concentrés le long de la chaîne alimentaire, ces éléments représentent une menace pour l'équilibre des écosystèmes. En réalité, beaucoup d'éléments métalliques présentent à la fois un caractère essentiel et toxique ; ces deux caractères étant fonction de leur concentration mais surtout de leur forme physico-chimique (spéciation).

Dans les eaux naturelles, différentes formes métalliques coexistent. Le métal dissous peut se présenter sous forme de cations libres hydratés, de complexes organiques ou de complexes inorganiques (Donat *et al.*, 1994; Muller, 1996; Kozelka et Bruland, 1998; Achterberg et Braungardt, 1999). Le métal particulaire peut être lié à des particules minérales (argiles, quartz, carbonates...), à des oxydes de fer et de manganèse ou à des particules organiques (Millward, 1995). La limite entre le métal dissous et le métal particulaire est définie arbitrairement par une filtration à 0,45 µm. Selon cette séparation, la fraction colloïdale, constituée de petites particules non sujettes aux forces gravitationnelles et dont au moins une des dimensions se situe entre 1 nm et 1 µm (Everett, 1988; Buffle et Van Leeuwen, 1992), fait partie intégrante de la fraction dissoute. Ainsi, l'information relative à ce type de particules, par ailleurs très réactif vis-à-vis des métaux, est généralement occultée.

Les colloïdes rencontrés dans les eaux naturelles ont des origines diverses. Ils peuvent être classés en deux principales catégories (Filella, 2007) : les colloïdes inorganiques qui sont composés d'argiles, d'oxydes métalliques, d'hydroxydes métalliques ou de carbonates métalliques et les colloïdes organiques qui sont constitués de matières détritiques (par exemple les acides humiques et fulviques) et d'organismes vivants (algues, bactéries, virus).

Différentes techniques peuvent être mises en œuvre pour la récupération et le fractionnement des colloïdes. Les plus utilisées sont : *la dialyse* (Truitt et Weber, 1981; Rainville et Weber, 1982), *la centrifugation* (Perret *et al.*, 1994; Lead *et al.*, 1997), *le fractionnement par couplage de force* (FFF) (Buffle et Leppard, 1995a,b; Parker, 1999), *la filtration chromatographique sur gel* (GFC) et *l'ultrafiltration* (UF). Parmi ces différentes

techniques, l'ultrafiltration (UF) présente de nombreux intérêts : il s'agit d'une technique non destructive, qui ne nécessite pas d'addition de réactifs, d'une mise en œuvre relativement simple et peu coûteuse (De Mora et Harrison, 1983; Singhal *et al.*, 2006; Waeles *et al.*, 2008). La séparation des différentes fractions colloïdales est effectuée par l'application d'un gradient de pression qui peut être conduit selon deux modes d'écoulement. Le mode tangentiel qui nécessite, le plus souvent, de grands volumes d'échantillon (10 à 10000 L) et le mode frontal, pouvant être appliqué à de plus faibles volumes (<1 L).

Lors de ce travail, l'UF frontale a été choisie. Les fractions colloïdales sont obtenues en passant l'échantillon (pré-filtré à 0,2 ou 0,45 μm) à travers différentes membranes dont la taille des pores varie entre 1 et 15 nm. Le passage de l'échantillon est assuré par un flux perpendiculaire à la membrane qui est obtenu par l'application d'une faible pression (<2 bar). L'inconvénient majeur de cette technique réside dans le possible encrassement des membranes par les colloïdes de grande taille. En effet, les colloïdes qui ont une taille trop importante par rapport à la membrane, peuvent s'accumuler par coagulation dans la couche de diffusion, à l'interface solution - membrane. Les éléments métalliques présents en solution sont alors susceptibles de s'adsorber sur les colloïdes coagulés. Il a été montré, cependant, que des conditions opératoires judicieusement choisies permettent de minimiser cet effet d'encrassement des membranes (Guéguen *et al.*, 2002). La procédure la plus simple consiste en particulier à réduire l'épaisseur de la couche de diffusion en appliquant une agitation douce juste au-dessus de la membrane (Buffle et Leppard, 1995b).

Les éléments traces métalliques sont véhiculés vers le milieu marin essentiellement par les fleuves. L'importance de l'apport métallique dépend non seulement des niveaux de concentration dans les fleuves mais, surtout, des transformations physico-chimiques se produisant dans la zone de mélange eau douce - eau de mer. De nombreuses études ont porté sur les éléments traces métalliques dans les systèmes estuariens. La plupart de celles-ci se sont intéressées au comportement du métal dissous (Apte *et al.*, 1990; Martin *et al.*, 1993; Balls *et al.*, 1994; Chiffoleau *et al.*, 1994; Zwolsman *et al.*, 1997; Sirinawin *et al.*, 1998; Martino *et al.*, 2002) et/ou à celui du métal particulaire (Baeyens *et al.*, 1997; Turner et Millward, 2000; Hatje *et al.*, 2001; Che *et al.*, 2003; Waeles *et al.*, 2007). Des études ont également été consacrées aux différentes espèces chimiques métalliques (Fischer *et al.*, 1984; Mills et Quinn, 1984; Van Den Berg *et al.*, 1990; Ouddane *et al.*, 1992; Donat *et al.*, 1994; Comber *et al.*, 1995; Gerringa *et al.*, 1996; Baeyens *et al.*, 1997; L'Herroux *et al.*, 1998;

Riedel et Sanders, 1998; Waeles *et al.*, 2005a,b). Elles ont mis en évidence en particulier le rôle important des complexes organiques dans la spéciation chimique de nombreux métaux.

Peu d'études ont été menées en milieu estuarien sur les interactions entre la phase colloïdale et les éléments métalliques (Martin *et al.*, 1995; Muller, 1996; Guieu *et al.*, 1998; Wen *et al.*, 1999). Ces études ont mis en évidence une répartition variée des éléments sur le spectre colloïdale. A titre d'exemple, le plomb, qui est un élément particulièrement réactif vis-à-vis des particules, est majoritairement associé à des colloïdes de haut poids moléculaire (Martin *et al.*, 1995; Wen *et al.*, 1999). En revanche, le cuivre présente une répartition différente selon la nature de l'estuaire considéré. Dans certains cas, il est préférentiellement trouvé dans la fraction réellement dissoute (Sañudo-Wilhelmy *et al.*, 1996). Dans d'autres cas, la fraction colloïdale peut être dominante (Muller, 1996). Il est à noter que ces études ont considéré un nombre très réduit de fractions colloïdales et ont été menées de façon ponctuelle. De plus, elles ne couvrent pas nécessairement l'ensemble du gradient salé.

L'objectif général de ce travail est d'étudier de façon approfondie la distribution colloïdale de certains éléments traces métalliques : cuivre, plomb et cadmium. Pour ce faire, la fraction réellement dissoute (<5 kDa) et six fractions colloïdales (5-10 kDa; 10-30 kDa; 30-50 kDa; 50-300 kDa; 300 kDa-0,22 μ m; 0,22-0,45 μ m) ont été considérées. Les travaux ont été menés dans un estuaire de type macrotidal : l'estuaire de la Penzé. Il s'agit en particulier :

- d'examiner les variations saisonnières des différentes fractions colloïdales sur l'ensemble du gradient salé,
- d'appréhender l'importance de la nature organique ou inorganique des colloïdes dans la spéciation des éléments métalliques,
- de mieux cerner les processus qui contrôlent le comportement et le devenir de ces éléments en milieu estuarien.

Le premier chapitre de ce travail consiste en une synthèse bibliographique de l'état des connaissances sur les colloïdes dans l'environnement. Dans ce chapitre, les principales méthodes de spéciation physico-chimique des éléments métalliques sont également exposées.

Dans une seconde partie, le cadre de l'étude, la stratégie de prélèvements ainsi que les méthodes analytiques utilisées sont présentés. Notamment, une description détaillée des conditions optimales d'utilisation de la méthode d'ultrafiltration est relatée.

Dans le troisième chapitre, les variations saisonnières des caractéristiques physiques, chimiques et biologiques de l'estuaire de la Penzé sont décrites. Cette description qui vise à dégager les caractéristiques principales de fonctionnement du système est un préambule indispensable à la compréhension des processus qui contrôlent la distribution et le comportement des métaux.

Les chapitres IV, V et VI sont consacrés à l'étude du plomb, du cadmium et du cuivre, respectivement. Les variations de la répartition colloïdale de chaque élément sont examinées le long du gradient salé. Les variations de cette répartition lors du cycle saisonnier sont également décrites et discutées. A la fin de chaque chapitre, un bilan annuel des flux de métal est présenté pour les différentes fractions de taille (particulaire, colloïdale et réellement dissoute).

Chapitre I
Les colloïdes et les éléments traces métalliques dans
les eaux naturelles : état de l'art

I. Les colloïdes

I.1. Définition

Le mot colloïde a été introduit par Graham (1861) et provient du grec $\kappa\omicron\lambda\lambda\alpha$ qui signifie « colle ». Les colloïdes sont des entités organiques ou inorganiques suffisamment grandes pour avoir une structure et des propriétés supramoléculaires. Cela se traduit par la possibilité de changements conformationnels pour les colloïdes organiques ou l'existence d'un champ électrique de surface pour les colloïdes inorganiques. Ce sont également des entités suffisamment petites pour ne pas sédimenter en absence d'agrégation pendant un laps de temps assez long (de quelques heures à quelques jours) (Buffle *et al.*, 1998; Citeau, 2004).

Selon l'IUPAC (1997), les colloïdes sont des molécules ou des particules polymoléculaires dispersées dans un milieu et ayant, au moins dans une direction, une dimension comprise entre 1 nm et 1 μm (Figure I-1). Si la limite inférieure est considérée sans ambiguïté autour de 1 nm (Everett, 1988; Lead *et al.*, 1997), la détermination de la limite supérieure semble plus complexe. Elle peut varier selon les auteurs de 0,2 à 0,5 μm (Gustafsson et Gschwend, 1997; Parker, 1999; Singhal *et al.*, 2006), et peut même atteindre 1 μm (Buffle et Leppard, 1995a; Lead *et al.*, 1997).

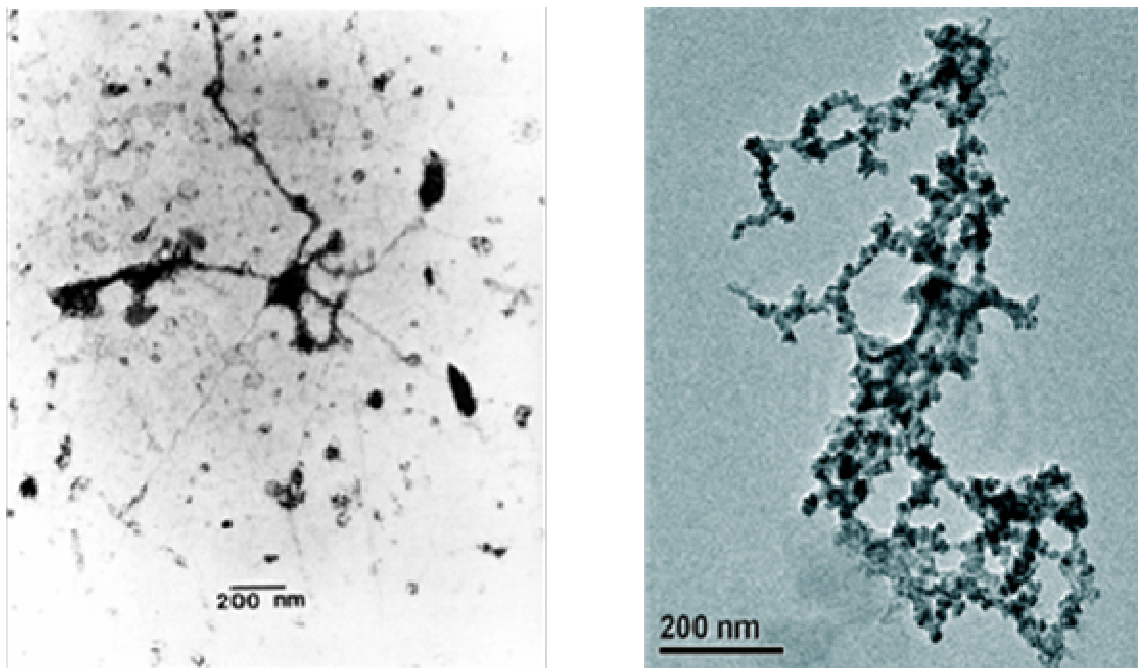


Figure I-1 : Exemples de colloïdes présents dans le milieu naturel. A gauche : matière organique (Buffle et Leppard, 1995a). A droite : oxydes de fer (Wigginton *et al.*, 2007).

Cette limite supérieure est définie à partir du moment où les forces gravitationnelles l'emportent sur les forces dues au mouvement brownien conduisant ainsi à la sédimentation (Wilkinson et Lead, 2007). De par leur petite taille, les particules colloïdales ne sont pas soumises à la gravité. Elles restent donc en suspension et peuvent être transportées sur de grandes distances.

Le critère de taille permet d'apporter une définition simple de la particule colloïdale. Cependant, il n'est pas totalement satisfaisant car les colloïdes et leurs agrégats ne sont pas forcément sphériques; ils peuvent, par exemple, être de forme fibrillaire. Néanmoins, certains auteurs ont relié le poids moléculaire exprimé en Daltons ($1 \text{ kDa} = 1000 \text{ g mol}^{-1}$) à la taille de colloïdes. Il existe une correspondance entre les deux types d'unité. A titre d'exemple, un poids moléculaire de 1 kDa correspond à une taille d'environ 1,3 nm et un poids moléculaire de 300 kDa correspond approximativement à 8,5 nm (Figure I-2). Cette correspondance est intéressante à utiliser surtout pour les colloïdes de taille inférieure à 1000 kDa.

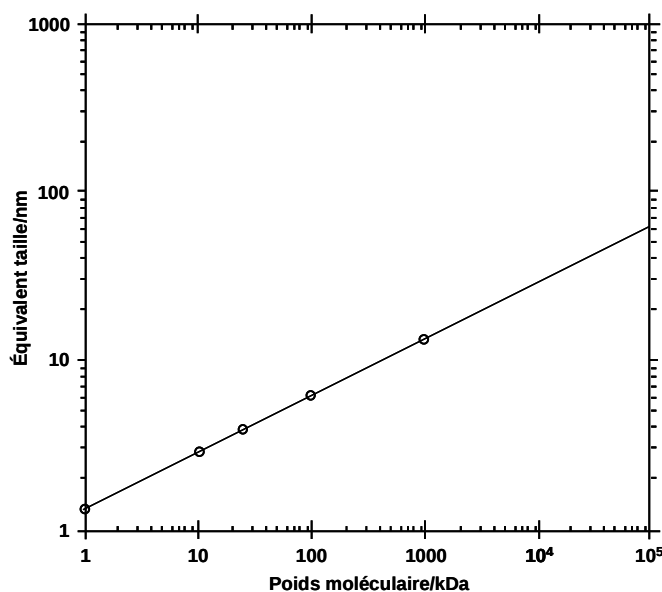


Figure I-2 : Relation entre le poids moléculaire (kDa) et la taille (nm) de colloïdes (Guo et Santschi, 2007).

I.2. Caractéristiques

I.2.1. Concentration dans les eaux naturelles

Les colloïdes sont présents dans les eaux naturelles (eaux douces, eaux souterraines, eaux marines et eaux interstitielles) à des concentrations supérieures à 10^6 particules par

millilitre (Stumm et Morgan, 1996). Buffle et Leppard (1995a) ont montré que les colloïdes de petite taille sont bien plus abondants que ceux de grande taille. Les auteurs ont indiqué notamment que la concentration des colloïdes d'une taille proche de 10 nm étaient 10^6 fois supérieure à celle des colloïdes proches de 1 μm . Doucet *et al.* (2004) ont montré également que, dans les eaux du lac de Vale (Birmingham, UK), les colloïdes de taille inférieure à 50 nm représentaient l'essentiel de la fraction colloïdale. Koike *et al.* (1990) ont mis en évidence que, dans les eaux de la couche euphotique du Pacifique Nord, les particules de taille inférieure à 1 μm étaient particulièrement abondantes (10^6 - 10^7 particules par millilitre). Les auteurs ont indiqué également qu'il s'agissait de particules non vivantes et très riches en matière organique. Ces résultats ont permis de montrer que la fraction colloïdale constitue une part importante de la matière organique dissoute en milieu océanique. Wells et Goldberg (1991, 1992, 1994) ont constaté que les particules colloïdales de taille comprise entre 5 et 120 nm dans les eaux marines du bassin de Santa Monica (Californie, USA) sont de loin les plus abondantes, avec une concentration maximale de 10^9 particules par millilitre. En effet, leur concentration est au moins 1000 fois plus importante que celle des colloïdes de taille supérieure.

I.2.2. Rapport surface/volume

Une particularité propre aux colloïdes est le rapport surface/volume. Wells et Goldberg (1992) ont estimé que les colloïdes de taille inférieure à 120 nm ont une surface d'au moins 8 m^2 par m^3 (géométrie sphérique supposée). Wells et Goldberg (1994) ont montré que les colloïdes compris entre 5 et 200 nm possédaient une surface totale supérieure à 18 m^2 par m^3 d'eau de mer. Du fait de leur petite taille, les particules colloïdales ont des surfaces spécifiques (rapport surface / masse) importantes ($>10 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) et peuvent donc représenter des phases adsorbantes ou absorbantes pour les éléments chimiques en général et pour les éléments métalliques en particulier (Citeau, 2004).

I.2.3. Stabilité des colloïdes

Deux mécanismes majeurs interviennent dans la stabilisation des colloïdes : la stabilisation de charges et la stabilisation stérique.

La plupart des colloïdes sont chargés négativement. En vertu du principe d'électroneutralité, à proximité d'une charge négative se place une charge positive et inversement. Ce phénomène s'appelle la double couche électrique.

La stabilité des colloïdes peut être expliquée par les interactions électrostatiques. Selon la théorie DLVO (Derjaguin, Landau, Verwey et Overbeek), la stabilité des colloïdes est donnée par la résultante de l'énergie potentielle totale (V_T) d'opposition de deux forces :

- la force attractive de Van der Waals (V_A) qui induit l'instabilité et par conséquent l'agrégation des colloïdes,
- la force de répulsion électrostatique (V_R) des particules chargées agissant pour maintenir la stabilité et donc conduisant à la dispersion des particules.

Lorsque les forces de répulsion électrostatique l'emportent, la résultante V_T augmente et, par conséquent, le système colloïdal est stable. A l'inverse, quand les forces attractives prédominent, la résultante V_T diminue et la suspension colloïdale devient instable engendrant l'agrégation (coagulation, floculation). La figure I-3 présente la variation de l'énergie potentielle en fonction de la distance entre deux particules (r). La théorie DLVO représente donc les changements d'énergie quand deux particules s'approchent.

La force attractive augmente rapidement avec la diminution de la distance inter-particules tandis que la force de répulsion augmente plus lentement. Quand la distance inter-particules est très faible, les forces de Van Der Waals prédominent. Ceci conduit à une attraction entre les particules, c'est le premier minimum qui correspond à la coagulation (interactions fortes - agrégation irréversible).

La floculation correspond au second minimum où les forces attractives sont plus faibles (agrégation réversible). Ces deux phénomènes facilitent l'élimination des colloïdes par sédimentation (Parker, 1999). A distance intermédiaire, les forces répulsives prédominent et une barrière à l'agrégation se met en place.

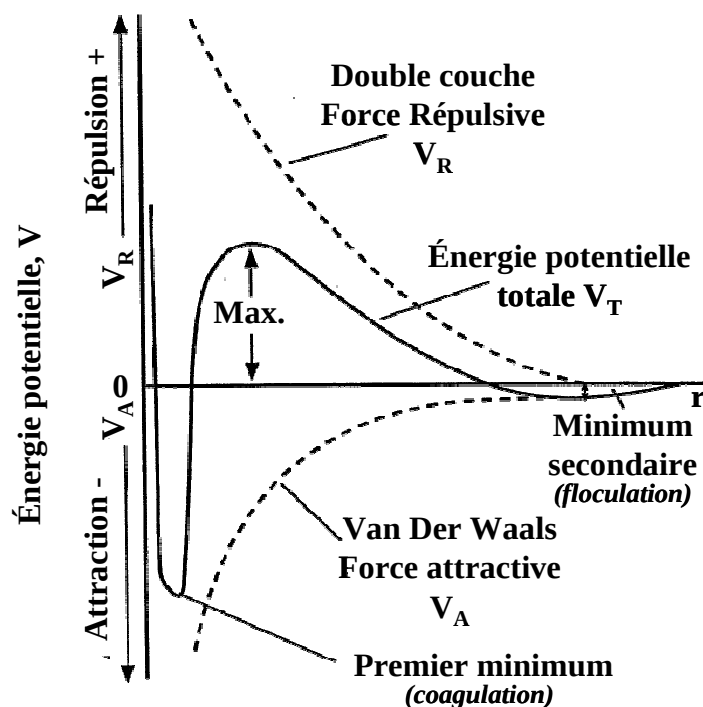


Figure I-3 : Diagramme d'énergie potentielle entre particules colloïdales (Parker, 1999).

La barrière d'énergie est également influencée par la force ionique du milieu. A force ionique élevée ($>10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$), l'apparition d'un minimum secondaire est observé; ceci se traduit par un phénomène d'attraction réversible. La barrière d'énergie ne disparaît pas totalement ce qui prévient de tout phénomène de coagulation irréversible. A force ionique faible ($<10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), la barrière d'énergie augmente et la stabilité du système colloïdal apparaît. Pour des forces ioniques de 10^{-5} à $10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, cet état de stabilité est atteint (Kammer, 2004). A extrêmement faible ou forte force ionique, la barrière d'énergie devient très faible voir nulle et le phénomène de coagulation devient irréversible. Lorsque (r) devient trop petit, l'interaction tend vers l'infini et la coagulation devient irréversible quelque soit la force ionique du milieu.

A titre d'exemple, O'melia (1989) a montré que dans les eaux douces, avec une force ionique qui varie entre 10^{-4} et $10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, l'épaisseur de la couche de diffusion peut varier de 3 à 30 nm. Dans les lacs salés et l'océan, le force ionique peut aller jusqu'à 1 mol L^{-1} . Ceci entraîne une diminution sensible de l'épaisseur de la couche de diffusion à 0,3 nm. Ce résultat montre clairement que le milieu chimique joue un rôle indirect très important dans la stabilité des colloïdes en modifiant l'épaisseur de la couche de diffusion.

Un autre mécanisme important intervient dans la stabilité des colloïdes : la stabilisation stérique. Ce type de stabilisation résulte de l'adsorption de polymères à

l'interface colloïde - eau. Si la quantité de polymère adsorbé est importante, l'épaisseur de la couche sera suffisante pour garder les particules séparées par répulsion stérique. Les forces attractives de Van der Waals seront alors trop faibles pour faire adhérer les particules et déstabiliser le système colloïdal.

I.3. Classification des colloïdes

Les colloïdes sont omniprésents dans l'environnement. Ils peuvent avoir une origine naturelle mais aussi une origine anthropique. Leur diversité est très grande compte tenu de la définition proposée, de leur origine et de leur nature bio-physico-chimique. On peut notamment citer : les protéines, les nanoparticules métalliques, les polymères synthétiques lipophiles ou hydrophiles ou encore les nanotubes de carbone (NTC).

Les colloïdes rencontrés dans les eaux naturelles se répartissent en deux groupes principaux : les colloïdes **inorganiques** et les colloïdes **organiques** (Figure I-4).

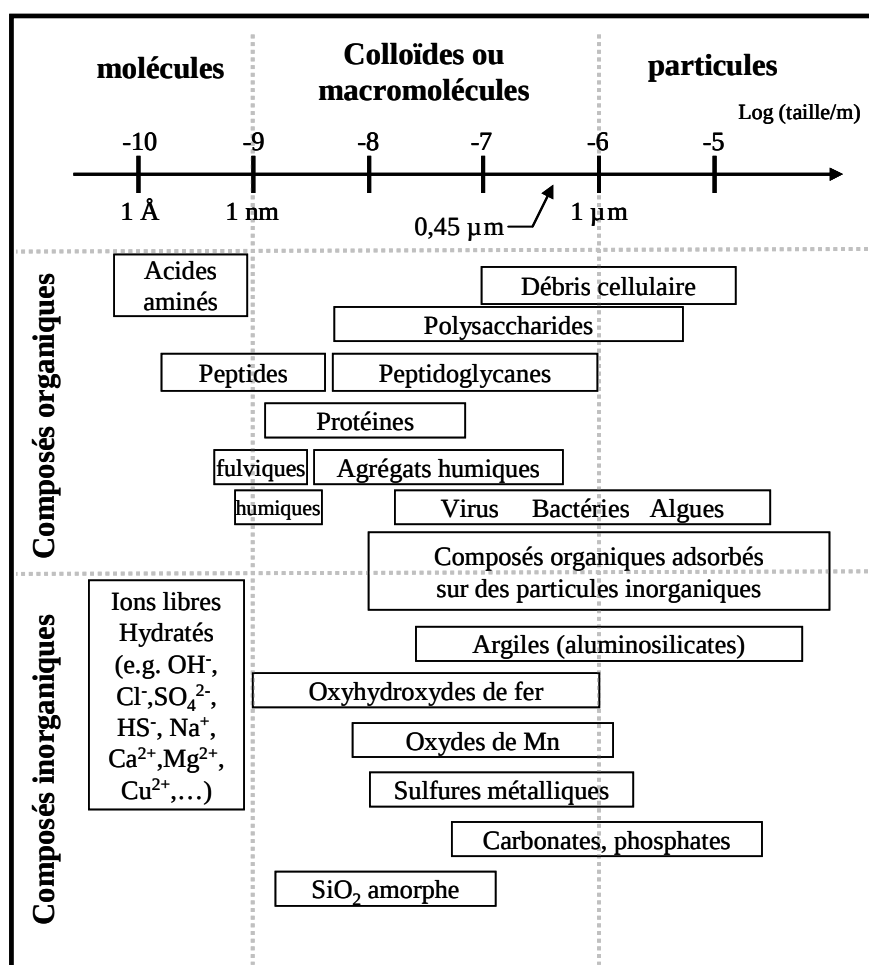


Figure I-4 : Classification des colloïdes selon leur taille et leur nature (Lead et Wilkinson, 2006).

Dans les eaux oxiques, les colloïdes **inorganiques** sont constitués essentiellement d'argiles (aluminosilicates), d'oxyhydroxydes métalliques et de carbonates métalliques. Le carbonate de calcium fait partie des colloïdes de grande taille. Les aluminosilicates sont les colloïdes les plus abondants et ceci à cause de l'érosion des roches (Filella, 2007). D'autres colloïdes inorganiques ont été mis en évidence mais en quantités bien plus faibles. Il s'agit en particulier des oxydes d'aluminium et de manganèse ainsi que des sulfures de fer. Ce dernier type de colloïde est présent seulement dans les eaux anoxiques. Il est à noter que la plupart des colloïdes inorganiques sont recouverts d'une couche de matière organique. Dans les eaux douces, cette couche est principalement composée de substances fulviques d'origine terrigène. Dans l'eau de mer, elle est composée de matière organique réfractaire issue de la recombinaison des acides aminés et des sucres rejetés par le phytoplancton. L'existence de ce dépôt organique modifie les propriétés des colloïdes inorganiques (Buffle *et al.*, 1998). Par exemple, pour un pH neutre ou proche de la neutralité, les oxyhydroxydes de fer sont neutres ou chargés positivement. Avec ce dépôt organique, ils deviennent chargés négativement; il en va de même pour la plupart des colloïdes inorganiques.

Les colloïdes **organiques** regroupent notamment les carbohydrates, les protéines, les lipides, les agrégats humiques, les acides fulviques et humiques. Dans les eaux estuariennes, il existe deux sources potentielles pour ce type de colloïdes. La source biotique est liée à l'excrétion et/ou à la dégradation « in-situ » des composés qui proviennent des organismes aquatiques : du phytoplancton et des bactéries en particulier. La source pédogénique est due à l'apport de composés qui trouvent leur origine dans les plantes terrestres. Sigleo *et al.* (1982) ont effectué la caractérisation chimique des colloïdes organiques de taille comprise entre 1,2 nm et 0,4 μ m en milieu estuarien. Leurs travaux, basés sur des analyses par couplage pyrolyse GC-MS, ont montré que dans l'estuaire de Patuxent, la source majoritaire de la matière organique colloïdale est produite « in-situ » par les microorganismes. En effet, les polymères de faible poids moléculaire rencontrés dans les colloïdes organiques semblent provenir du plancton. Par ailleurs, l'absence de produit caractéristique des grandes plantes indique que les apports organiques d'origine terrestre ont été métabolisés avant d'arriver à l'estuaire. De par ces caractéristiques propres, la matière organique colloïdale est capable : (i) de complexer ou d'adsorber d'autres espèces chimiques du milieu, (ii) de servir comme agent réducteur dans des réactions chimiques et (iii) d'accélérer ou de retarder des réactions photochimiques ayant lieu dans le milieu. Ces différentes propriétés sont impliquées dans divers processus qui ont lieu dans le milieu aquatique. Ceci conditionne le devenir des

composés chimiques dans l'environnement et des métaux en particulier (Sigleo et Means, 1990).

En milieu estuarien, la nature inorganique ou organique des colloïdes est susceptible d'être modifiée en fonction de la période de l'année et aussi le long du gradient salé. En effet, des différences très importantes dans la composition colloïdale ont été mises en évidence en milieu estuarien. A titre d'exemple, dans l'estuaire du Patuxent, les colloïdes prélevés en hiver sont caractérisés par des teneurs importantes en argiles minérales et en oxydes de fer. Ceci peut être le résultat d'une érosion importante des sols (lessivage) à cette période de l'année. En été, par contre, le carbone et l'azote organique deviennent majoritaires et ceci pour l'ensemble de l'estuaire. Ce résultat est la conséquence d'une production primaire élevée à cette période de l'année (Sigleo et Helz, 1981; Sigleo *et al.*, 1982; Sigleo et Means, 1990).

I.4. Interactions avec les éléments traces métalliques

Au travers des interactions covalentes, électrostatiques ou hydrophobiques, une grande proportion (~ 40 à 90%) des composés traces peuvent être adsorbés sur les colloïdes, aussi bien dans les eaux douces que dans les eaux marines (Buffle *et al.*, 1998). Les colloïdes sont donc susceptibles de jouer un rôle important dans la distribution des métaux. Due à leur rapport surface/taille élevé, les colloïdes sont des « éliminateurs » actifs pour les éléments traces dissous. En outre, de par leur petite taille ils ne se déposent pas et restent en suspension. Par conséquent, ces deux facteurs font des colloïdes des contrôleurs potentiels pour la spéciation et le transport des métaux (Singhal *et al.*, 2006).

La taille des particules peut être importante dans la détermination de la spéciation des métaux pour plusieurs raisons. La disponibilité des particules, pour capter les espèces dissoutes, est en partie dépendante de sa surface spécifique. Pour une morphologie donnée, l'aire en surface augmente quand la taille décroît résultant d'une grande densité de charge de sites liant par unité de masse. La nature et la quantité de sites susceptibles de complexer les éléments métalliques dans chaque phase (dissoute, colloïdale, particulaire) et l'intensité avec lesquels les éléments traces interagissent avec chaque type de site vont conditionner la préférence des éléments métalliques par l'une ou l'autre des phases.

Les éléments métalliques peuvent être liés d'une façon générale à des colloïdes ***inorganiques*** et à des colloïdes ***organiques***.

En ce qui concerne les liaisons avec les colloïdes **inorganiques**, la variation du pH du milieu constitue un paramètre important. Elle va conditionner, en modifiant la charge de surface des colloïdes et la spéciation de l'ion métallique, la compétition entre le proton et l'ion métallique considéré. Par exemple, les oxydes de fer peuvent présenter une charge négative ou positive suivant le pH. Un autre paramètre susceptible d'influencer la charge du colloïde est la couche de matière organique qui les recouvre.

Pour ce qui est des liaisons avec les colloïdes **organiques**, le pH et la nature hétérogène des substances humiques constituent les paramètres essentiels affectant les interactions entre les éléments traces métalliques et ce type de colloïde. La charge n'intervient ici qu'en second lieu. Les substances humiques sont, entre autres, responsables des effets de répulsions de charge et donc induisent la stabilisation. Des interactions sont aussi possibles avec la matière vivante « colloïdale » : les bactéries et les virus en particulier. Ces espèces peuvent apporter une contribution importante aux liaisons entre les éléments traces métalliques et les colloïdes en raison de : a) leur ubiquité, b) leur haute réactivité et c) leur grande concentration dans le milieu. Dans le cas particulier des bactéries, les liaisons sont fonction du pH, de la force ionique, et du rapport élément métallique - solide.

Le schéma ci-après (Figure I-5) résume les processus contrôlant les interactions colloïdes - éléments traces métalliques dans les eaux estuariennes et côtières.

D'après Wells et Goldberg (1994) et Buffle et Leppard (1995a), les colloïdes sont générés selon différents processus. On peut citer : l'érosion mécanique et chimique des sols, la resuspension des sédiments, les débris biologiques, la production chimique ou biochimique comme les activités microbiennes ou encore la destruction photochimique des macroparticules organiques détritiques. Un processus intervenant également dans la génération des colloïdes est l'agglomération des éléments présents dans la phase réellement dissoute.

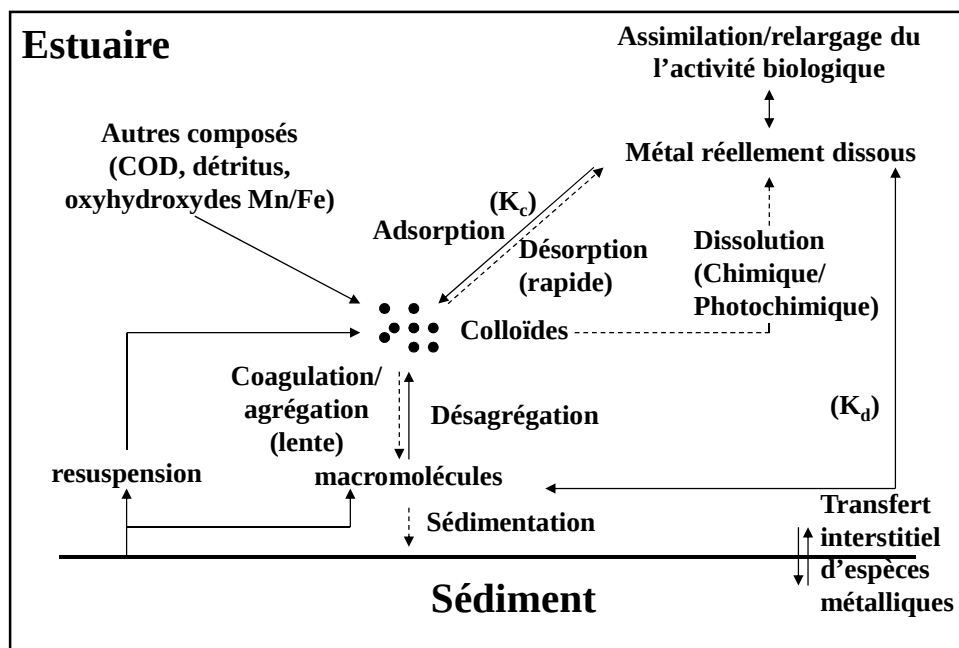


Figure I-5 : Processus contrôlant les interactions Colloïdes - Métaux (Wells et Goldberg, 1994; Buffle et Leppard, 1995a).

L'élimination des colloïdes est engendrée par divers processus tels que l'agrégation (coagulation, floculation), la dissolution des solides inorganiques, l'hydrolyse des polymères organiques, l'absorption par les microorganismes, l'oxydation photochimique, la dégradation biologique, ... Comme pour la génération des colloïdes, l'élimination des colloïdes intervient aussi par une progressive agrégation des colloïdes sur les macroparticules ($>1 \mu\text{m}$). Ce dernier processus est probablement le premier mécanisme d'élimination de la matière colloïdale de l'eau de mer (Wells et Goldberg, 1994). L'agrégation colloïdale a été reconnue comme un facteur dominant dans l'élimination de la matière organique et les métaux dans les estuaires (Eckert et Sholkovitz, 1976).

II. Séparation et caractérisation des colloïdes

Les techniques de filtration habituelles (généralement 0,45 μm ou 0,22 μm) ne permettent pas de séparer ou de fractionner les colloïdes des molécules (fraction réellement dissoute). Depuis quelques années un grand intérêt a été porté aux nanotechnologies et leur utilisation industrielle (Wigginton *et al.*, 2007). Ceci nécessite l'étude du devenir de telles particules ainsi que leur impact dans l'environnement. Dans le cas des colloïdes de nombreuses méthodes physico-chimiques de séparation ont été développées. Il s'agit des techniques de fractionnement « physique » comme la dialyse, la centrifugation, l'ultrafiltration frontale, l'ultrafiltration tangentielle, le fractionnement par couplage de force (FFF) ou encore les filtrations sur gel.

II.1. Techniques de fractionnement des colloïdes

II.1.1. La dialyse

La dialyse permet de séparer des molécules entre 0,5 et 10 nm par diffusion. Les inconvénients majeurs liés à cette technique sont : a) les risques de contamination, b) l'adsorption possible des métaux sur la membrane de dialyse, c) la dissociation probable des complexes métalliques (Florence, 1982) et d) un temps de manipulation très long (De Mora et Harrison, 1983). Le principal avantage est la limitation de la coagulation (Buffle et Van Leeuwen, 1992). A titre d'exemple, la dialyse a été utilisée pour la détermination de la capacité complexante des acides fulviques et humiques vis-à-vis des métaux traces en utilisant des membranes imperméables à ces composés (Truitt et Weber, 1981; Rainville et Weber, 1982; Weber, 1988).

II.1.2. La centrifugation

La centrifugation est une technique de fractionnement basée sur les caractéristiques physiques c'est-à-dire sur la taille et la densité des particules. Contrairement à la filtration, c'est une technique qui ne souffre pas des effets de membrane (encrassement, coagulation de surface) lesquels sont sujets à la production d'artéfacts. Un avantage important de la centrifugation est que les tubes utilisés sont plus facilement décontaminés et stérilisés (Buffle

et Leppard, 1995a; Lead *et al.*, 1997). En revanche, elle augmente la possibilité d'agrégation des colloïdes par décantation différentielle (Lead *et al.*, 1997). La centrifugation en cascade est recommandée afin de minimiser les artéfacts de coagulation causés par dépôt différentiel (coagulation entre la sédimentation rapide des grandes particules et la sédimentation lente des petites) (Perret *et al.*, 1994; Lead *et al.*, 1997).

II.1.3. Le fractionnement par couplage de force (FFF)

Le FFF est une technique de fractionnement permettant de séparer les particules des colloïdes d'une solution hétérogène en suspension dans le domaine de taille 1 nm-100 μ m. Le FFF fait partie de la famille des chromatographies liquides comme l'élution. La force appliquée peut être un champ gravitationnel, électrique, magnétique, un gradient thermique ou un flux transversal du fluide (Buffle et Leppard, 1995a,b; Lead *et al.*, 1997; Parker, 1999). Les principaux avantages de cette technique sont les suivantes : (i) un large domaine de séparation de taille des colloïdes accessible (1 nm à 100 μ m), (ii) une séparation basée sur le coefficient de diffusion des colloïdes lequel est un paramètre clé gouvernant leur comportement dans les systèmes naturels, (iii) les techniques FFF basées sur des théories bien établies fournissent une distribution de taille complète des colloïdes avec une possibilité pour les analyses chimiques des fractions et (iv) les faibles interactions entre l'échantillon et la phase stationnaire qui peuvent conduire, dans le cas contraire, à une rétention et à une calibration de taille anormale. Cependant, comme toute méthode, l'utilisation de la FFF a également des inconvénients dont les plus importants sont : (i) une limitation à des échantillons contenant uniquement des colloïdes de petites masses (Beckett et Hart, 1993), (ii) une dilution de l'échantillon introduit par un facteur 100 voir 200, (iii) une calibration délicate liée à des problèmes de comparaison entre les standards utilisés (Polystyrène Sulfonate de sodium (PSS),...) et les colloïdes naturels.

II.1.4. Les techniques chromatographiques

Parmi les différentes filtrations sur gel existantes, la GFC (Gel Filtration Chromatography) peut être citée. C'est une méthode chromatographique permettant d'obtenir un spectre de taille complet. Le principal avantage pour les études de spéciation est la capacité à obtenir un spectre de taille continu plutôt que des domaines discrets de taille. Cela permet d'obtenir une meilleure séparation des espèces organométalliques et une plus juste estimation

de leur poids moléculaire. L'utilisation de la GFC est cependant limitée aux eaux naturelles ayant des concentrations métalliques relativement élevées due à des facteurs de dilution et à de blancs élevés.

II.1.5. L'ultrafiltration

L'ultrafiltration (UF) est une technique mettant en jeu un gradient de pression. Elle peut être conduite selon deux modes d'écoulement : l'UF frontale ou l'UF tangentielle (CFF). Pour ce faire, on utilise des membranes ayant des pores variant de 1 à 15 nm. Par conséquent, cette méthode nécessite une étape de pré-filtration avec des membranes de 0,2 à 0,5 µm. La CFF permet de filtrer de grands volumes (10 à 10000 L) tandis que l'UF frontale est utilisée pour de petits volumes. L'ultrafiltration frontale présente un flux perpendiculaire à la membrane, lequel est poussé par une pression permettant à la solution de passer à travers la membrane. A la différence de la filtration frontale, la CFF utilise un flux tangentiel parallèle à la surface de la membrane ainsi qu'une pression hydrostatique (Buessler *et al.*, 1996). L'inconvénient majeur de ces deux techniques réside dans le possible encrassement des membranes par les colloïdes de grande taille. En effet, les colloïdes qui ont une taille trop importante par rapport à la membrane, peuvent s'accumuler (coagulation) dans la couche de diffusion, à l'interface solution-membrane. Les éléments métalliques présents en solution sont alors susceptibles de s'adsorber sur les colloïdes coagulés. Il a été montré cependant, que des conditions opératoires judicieusement choisies pouvaient minimiser l'effet d'encrassement des membranes (Guéguen *et al.*, 2002). La procédure la plus simple consiste à réduire l'épaisseur de la couche de diffusion en appliquant une agitation douce juste au-dessus de la membrane dans le cas de la filtration frontale, ou en utilisant un plus grand débit dans le cas de la filtration tangentielle (Buffle et Leppard, 1995b).

II.2. Techniques de caractérisation des colloïdes

Les méthodes utilisées pour la caractérisation ou la détection des colloïdes sont très nombreuses en fonction des informations que nous souhaitons obtenir. Certaines techniques interviennent pour donner des informations sur la structure des colloïdes, d'autres sur la composition chimique et/ou sur la concentration. Par exemple, nous pouvons citer la spectroscopie de masse à couplage inductif (ICP - MS) et la spectroscopie d'émission atomique à couplage inductif (ICP - AES), la spectroscopie UV, la diffraction à rayon X, les

techniques de microscopie telles que la microscopie électronique à transmission (TEM), la microscopie électronique à balayage (SEM) et la microscopie à force atomique (AFM).

La microscopie électronique, permet d'observer directement la taille et la forme des particules; elle peut fournir une information chimique si elle est couplée avec la spectroscopie à rayons X à énergie dispersive (EDS) (Filella, 2007).

La microscopie électronique à balayage (SEM) et la microscopie électronique à transmission (TEM) permettent la détermination des structures physiques. La SEM est limitée à la visualisation topographique de la surface tandis que la TEM permet l'observation des structures fines, des hétérogénéités internes et des porosités en plus de la taille et des formes. L'utilisation de la TEM est, par conséquent, préférable à la SEM (Wells et Goldberg, 1994; Buffle et Leppard, 1995b).

La microscopie à force atomique (AFM) est utilisée également pour déterminer la taille et la forme des colloïdes (Stolpe et Hassellöv, 2010). La spectroscopie UV est utilisée pour estimer la concentration des colloïdes organiques. L'ICP - MS et l'ICP - AES donnent des informations sur la nature et la concentration des différents composés entrant dans la composition des colloïdes.

Les méthodes utilisant la diffusion de la lumière permettent d'accéder à la taille et à la masse molaire. Le MALLS donne spécifiquement une évaluation du rayon et de la masse molaire (Baalousha *et al.*, 2005; Baalousha *et al.*, 2006).

III. Contribution des méthodes de séparation physique et chimique à l'étude des éléments métalliques en milieu estuarien

De nombreuses études ont montré que les éléments métalliques peuvent être toxiques à l'état de trace. Elles ont montré également que la seule connaissance des concentrations totales en métaux dans l'environnement ne permet pas d'évaluer leur effet potentiel sur les organismes. La biodisponibilité des métaux est étroitement liée aux formes physico-chimiques auxquelles les organismes sont exposés (Anderson *et al.*, 1978). L'étude de la spéciation physico-chimique des métaux traces dans les eaux et leur répartition dans les différentes fractions (particulaire, colloïdale et dissoute) apparaissent indispensables pour mieux comprendre les facteurs contrôlant leur transfert dans les écosystèmes et leur biodisponibilité pour les organismes aquatiques (Tessier et Turner, 1995; Buffle, 1988).

Avant d'aborder les méthodes de séparation proprement dites, il est important de rappeler la définition de « labilité ». Le terme labile est généralement défini par rapport à une méthode analytique donnée et reflète la réactivité d'une espèce donnée. De façon générale, ce qui est labile correspond ainsi aux espèces aisément modifiables, échangeables, en interaction facile et rapide avec la solution environnante. Par conséquent, cette fraction comprend généralement les espèces libres ainsi que des complexes peu stables (Tusseau-Vuillemin *et al.*, 2003).

Dans le cas des éléments métalliques en solution, deux grandes catégories de méthodes, susceptibles d'accéder aux différentes formes physico-chimiques, sont généralement distinguées : les méthodes **électrochimiques** dites directes et non séparatives et les méthodes indirectes ou **séparatives** (Buffle, 1988).

Les méthodes **séparatives** s'attachent à quantifier les différentes fractions en ajoutant une phase de séparation préalable à l'analyse. Celle-ci peut être de nature physique, par classe de taille (filtration, ultrafiltration...), mais aussi de nature chimique. Dans ce cas, il est possible d'utiliser des résines échangeuses afin d'isoler soit la fraction labile (gradient de diffusion en couche mince - DGT; Davlson et Zhang, 1994) soit les différents complexes métaux - ligands (chromatographie liquide - solide en phase inverse; Mills et Quinn, 1981).

Les méthodes **électrochimiques** dites directes, peuvent permettre d'accéder sans étape de séparation préalable à la concentration en métal libre et/ou aux complexes labiles.

Dans la suite du chapitre, quelques exemples de méthodes séparatives et électrochimiques appliquées au milieu estuarien sont présentés.

III.1. Le partage dissous - particulaire

Lors de l'analyse d'une eau naturelle, il est généralement admis que le terme "dissous" fait référence à la fraction pouvant passer à travers une membrane filtrante de 0,45 μm (ou 0,2 μm) ; le terme "particulaire" désignant quant à lui la fraction retenue sur cette membrane. Ce critère purement conventionnel a été appliqué pour des raisons pratiques et non scientifiques. Cependant, son utilisation depuis les travaux de Goldberg *et al.* (1952) a permis d'améliorer significativement les connaissances sur les éléments chimiques dans le milieu marin.

En milieu estuarien en particulier, cela a permis de :

- déterminer les teneurs des fractions dissoutes et particulaires des métaux et de mener des comparaisons entre différents systèmes,
- d'identifier des transformations (échange dissous - particulaire) pouvant s'opérer lors du mélange estuarien,
- d'estimer les flux de différents éléments vers le milieu marin.

Dans les parties suivantes sont présentées les teneurs dissoutes et particulaires dans l'eau de surface de certains éléments métalliques, en l'occurrence celles de Cu, Pb, Cd et Fe nous intéressent particulièrement pour cette étude. Le concept de diagramme de mélange permettant de révéler le comportement des éléments chimiques en milieu estuarien est ensuite décrit. Enfin, des exemples de comportement de l'antimoine et du fer en milieu estuarien sont présentés.

III.1.1. Teneurs

Les concentrations des éléments traces métalliques varient de façon importante selon le système considéré. Le tableau I-1 présente les niveaux de concentrations en éléments dissous (Cu, Pb, Cd et Fe) dans différents systèmes estuariens. Parmi les estuaires présentés, certains sont considérés comme perturbés (Gironde, baie de San Francisco, Loire, Morlaix, Penzé) et d'autres comme non perturbés (Lena et Ochlockonee) par des apports anthropiques de natures diverses (activités industrielles, agricoles et/ou urbaines).

Les concentrations varient de 0,5 à 40 nM pour le cuivre, de 0,01 à 4 nM pour le plomb, et de 0,05 à 1 nM pour le cadmium. Des différences notables de concentrations existent entre les systèmes perturbés et non perturbés. Les teneurs élevées en cadmium dans la

Gironde sont dues aux rejets d'une ancienne mine de zinc dont le cadmium est un sous-produit d'extraction.

Tableau I-1 : Teneurs en métaux dissous dans différents systèmes estuariens.

Estuaires	Cu (nM)	Pb (nM)	Cd (nM)	Fe (nM)
Lena^a	5,6-11,8	0,01-0,15	0,02-0,20	29-814
Gironde^b	6,1-21,2	0,1-0,3	0,2-1,2	4-59
Baie de San Francisco^c	4,4-36,3	-	0,15-1,10	1-344
Ochlockonee^d	2,0-5,4	-	0,04-0,05	41-6980
Loire^e	8,0-23,6	0,04-0,26	0,08-0,49	-
Morlaix^f	0,6-19,0	0,2-3,8	0,04-0,48	-
Penzé^g	1,8-9,5	0,04-0,62	0,06-0,46	12-842

^a Martin *et al.*, 1993; ^b Kraepiel *et al.*, 1997; ^c Sañudo-Wilhelmy *et al.*, 1996; ^d Powell *et al.*, 1996;

^{e, g} Waeles, 2003; ^f Monbet, 2001.

Le fer rencontré en milieu aquatique n'est en général pas considéré comme un élément toxique. Cependant, il est suffisamment abondant et réactif pour influencer le devenir des éléments traces métalliques (Boust *et al.*, 1999). Le fer est naturellement présent dans la croûte terrestre, les roches cristallines et sédimentaires. Les variations des teneurs en fer dissous sont particulièrement importantes (de 1 à 7000 nM).

Les teneurs en métal particulaire dans les différents systèmes estuariens sont aussi présentées (Tableau I-2). De la même manière que précédemment, nous pouvons différencier ceux considérés comme perturbés par des apports anthropiques (Escaut, Conwy, Gironde, Morlaix, Penzé) de ceux considérés comme non perturbés (Lena).

Sur l'ensemble des systèmes estuariens, les concentrations en cuivre particulaire varient de 2 à 300 $\mu\text{g g}^{-1}$; celles en Pb de 12 à 1000 $\mu\text{g g}^{-1}$; et celles en cadmium de 0,1 à 70 $\mu\text{g g}^{-1}$. Les concentrations dans les systèmes soumis à de forts apports anthropiques tels que l'estuaire de Conwy sont notablement plus élevées que celles relevées dans les systèmes non perturbés comme celui de l'estuaire de Lena.

Tableau I-2 : Teneurs en métaux particuliers dans différents systèmes estuariens.

Estuaires	Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Cd ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Fe (mg g^{-1})
Escaut ^a	10-288	12-279	<0,5-13,9	–
Conwy ^b	177±94	546±536	58±10	32±3
Gironde ^c	32,4-47,0	30,3-63,2	0,4-1,0	30,7-52,9
Morlaix ^d	2-146	20-394	0,1- 7,2	-
Penzé ^e	5-98	29-61	0,4-2,4	29-50
Lena ^f	25-51	21-41	<1-2	-

^a Zwolsman et van Eck, 1999; ^b Zhou *et al.*, 2003; ^c Kraepiel *et al.*, 1997; ^d Monbet, 2001; ^e Waeles, 2003,

^f Martin *et al.*, 1993.

Les concentrations en fer particulaire sont élevées (29-52 mg g^{-1}) par rapport aux autres métaux. Elles reflètent d'une manière générale la nature du matériel sédimentaire (abondance de la fraction argileuse).

III.1.2. Comportements des éléments métalliques en milieu estuarien

Dans les estuaires, en réponse aux conditions hydrodynamiques et physico-chimiques contrastées, les éléments métalliques sont susceptibles de subir des modifications importantes de leur forme chimique et du partage entre les phases particulaire et dissoute. Afin d'étudier ces modifications et le comportement du métal dans l'estuaire, un outil essentiel est utilisé : le diagramme de mélange (Boyle *et al.*, 1974). Ce dernier relie la concentration de l'élément à la salinité (Figure I-6).

La droite de mélange (a) ou encore appelée droite théorique de dilution indique que l'élément possède un comportement conservatif dans l'estuaire. Dans ce cas, seul le mélange physique des eaux douces avec les eaux marines est observé et par conséquent aucun processus biogéochimique n'intervient. En fait, les éléments dits « conservatifs » réagissent peu avec les constituants du milieu. Lorsque le comportement du métal est dit non conservatif, deux cas se présentent. La courbe (b) montre un enrichissement de l'élément dans la zone de mélange. Dans ce cas, il peut s'agir par exemple d'un relargage de cet élément depuis la phase particulaire.

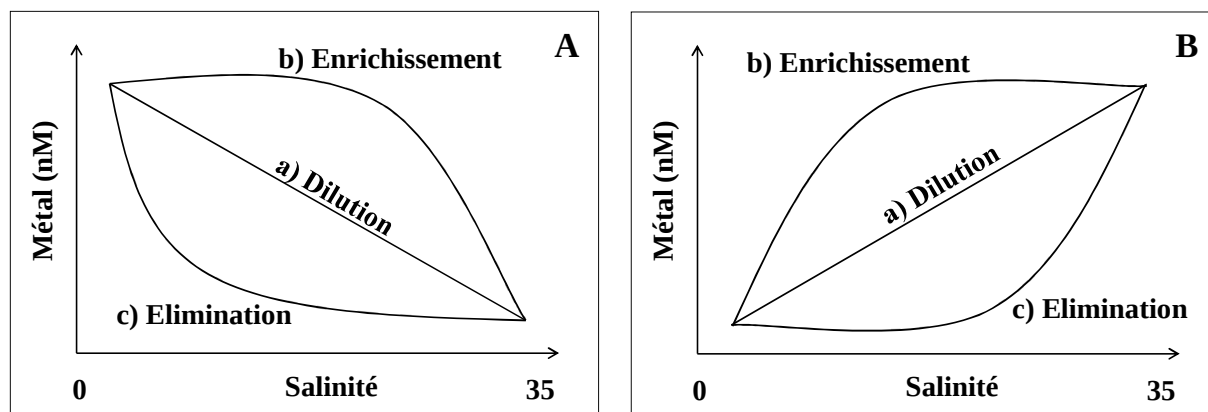


Figure I-6 : Diagrammes de mélange représentant les comportements types des éléments métalliques en milieu estuarien. A) Élément dont la concentration est plus importante dans les eaux fluviales. B) Élément dont la concentration est plus importante dans les eaux marines.

La courbe (c) indique une redistribution de l'élément dans l'estuaire c'est-à-dire un retrait ou une élimination du métal de la phase dissoute.

De nombreuses études ont été effectuées sur le comportement des métaux traces en milieu estuarien. Plusieurs processus peuvent participer à la distribution des métaux dans ce type d'écosystème (Baeyens *et al.*, 1998; Parker, 1999; Dange, 2002) :

- les mécanismes d'adsorption/désorption englobant les réactions de complexation et d'échange solide / liquide,
- les phénomènes de (co)-précipitation / dissolution,
- les mécanismes de floculation / défloculation,
- les réactions d'assimilation / régénération biologique,
- la remise en suspension des sédiments et les apports benthiques par diffusion,
- les apports externes (rejets industriels par exemple).

La figure I-7 présente, à titre d'exemple, le diagramme de mélange de l'antimoine dissous dans l'estuaire du Tage (Portugal). L'antimoine a un comportement non conservatif avec une importante anomalie positive des concentrations. Les auteurs ont mis en évidence que cette augmentation des teneurs serait à relier à la présence d'une source externe à l'écosystème, d'origine industrielle. En effet, les fortes teneurs en antimoine proviendraient des apports d'une usine travaillant sur le grillage de la pyrite pour produire du fer et du soufre métallique.

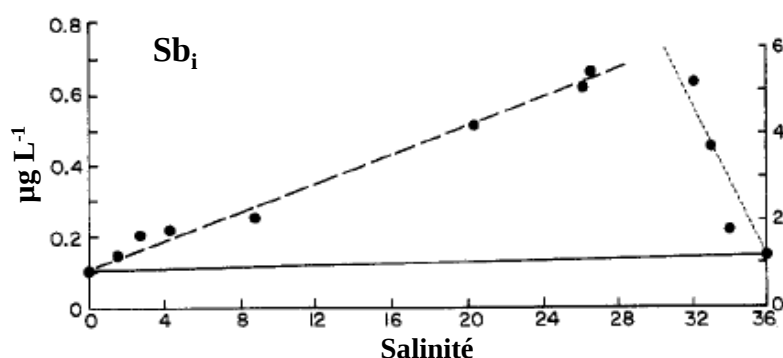


Figure I-7 : Diagrammes de mélange de l'antimoine inorganique dissous dans l'estuaire du Tage (Portugal)
(Andreae *et al.*, 1983).

Le comportement du fer dissous en milieu estuarien a été compris depuis les travaux de Boyle *et al.* (1977) et de Sholkovitz *et al.* (1978). Les auteurs ont montré que la redistribution du fer dans l'estuaire se produit car les cations présents dans l'eau de mer, neutralisent les charges négatives des colloïdes riches en fer. Ceci entraîne la floculation des colloïdes et le retrait du fer de la phase dissoute. La figure I-8 présente le diagramme de mélange du fer dissous et du fer « floculé » dans l'estuaire du North River (Massachusetts) (Escoubé *et al.*, 2009). Les résultats montrent qu'à partir de 12 de salinité, 80% environ du fer dissous a floculé.

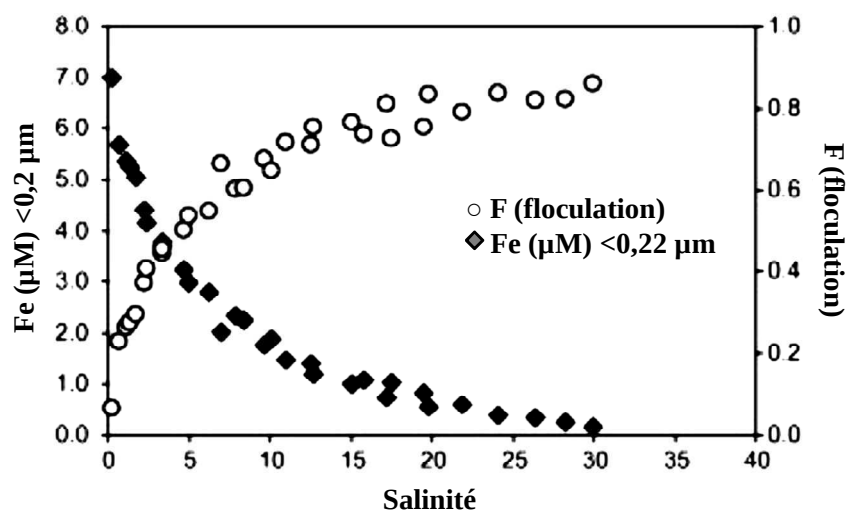


Figure I-8: Diagrammes de mélange du fer dissous et du pourcentage de fer floculé en fonction de la salinité dans l'estuaire du North River (Massachusetts) (Escoubé *et al.*, 2009).

III.2. La spéciation chimique

Nous avons vu précédemment que l'utilisation de résines échangeuses d'ions peut permettre d'isoler différents types de complexes métal - ligand. L'utilisation de ce type de technique de séparation peut permettre de mieux identifier, voire de mieux comprendre quels sont les processus impliqués dans la distribution de certains métaux en milieu estuarien.

Le cuivre peut avoir un comportement différent selon les estuaires considérés mais aussi, selon la saison, dans un même estuaire. La figure I-9 présente, à titre d'exemple, des résultats obtenus en hiver 2001 et au printemps 2002 dans l'estuaire de la Loire par Waeles *et al.* (2004).

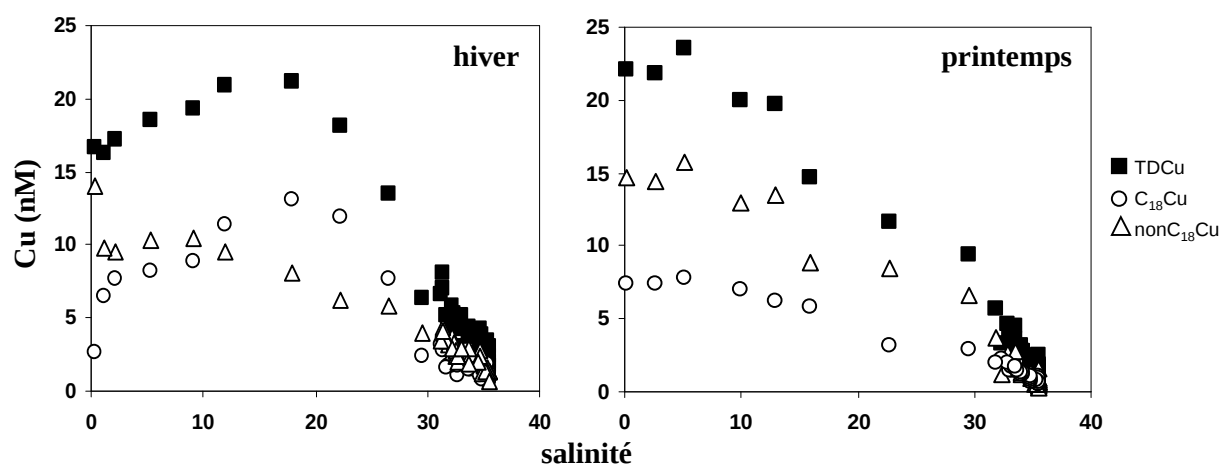


Figure I-9 : Diagramme de mélange des différentes formes chimiques du cuivre dissous dans l'estuaire de la Loire; TDCu (■), C₁₈Cu (○) et non-C₁₈Cu (△) (Waeles *et al.*, 2004).

Les résultats montrent que, suivant la saison, le cuivre total dissous (TDCu, <0,45 µm) a un comportement différent : conservatif au printemps et non conservatif en hiver. Afin de mieux comprendre le comportement du métal, la spéciation du cuivre a également été étudiée. Pour ce faire une méthode de séparation basée sur la chromatographie sur colonne liquide - solide en phase inverse (résine Isolute® - C₁₈) a été utilisée. La fraction C₁₈Cu représente les complexes organiques hydrophobes du cuivre et la fraction non-C₁₈Cu les complexes organiques et inorganiques hydrophiles.

En hiver, les teneurs en TDCu montrent une augmentation de 27% entre les salinités 2 et 18; elles diminuent ensuite avec l'augmentation de la salinité. L'enrichissement du cuivre peut être attribué à la désorption du métal à partir des particules dans la colonne d'eau et/ou des sédiments. Le fait que la fraction C₁₈Cu présente le même type de comportement que le

cuivre total dissous suggère qu'une large part du cuivre relargué des particules est complexé avec des ligands organiques hydrophobes non polaires. Il s'agit d'une fraction du métal peu biodisponible pour la matière vivante.

Au printemps, le comportement du TDCu est différent de celui observé en hiver : il est quasi conservatif indiquant une simple dilution du métal dans l'estuaire. Les fractions C₁₈Cu et non-C₁₈Cu présentent également un comportement conservatif. Il est à noter qu'à cette période de l'année les complexes organiques et inorganiques hydrophiles, sont majoritaires.

III.3. Les méthodes électrochimiques

Les méthodes électrochimiques, en particulier celles utilisant les techniques de redissolution, ont contribué de manière très importante à l'amélioration des connaissances concernant le cycle biogéochimique des éléments traces métalliques dans le milieu marin. Leur sélectivité, leur faible limite de détection, leur coût restreint et leur mise en œuvre relativement aisée font que ces méthodes sont désormais largement utilisées pour la mesure et la spéciation des éléments traces (Achterberg et Braungardt, 1999). Les avancées importantes réalisées depuis les années 70 ont contribué à développer des méthodes permettant de doser un nombre important d'éléments métalliques dans l'eau de mer (plus de 20 métaux) et ce à des concentrations subnanomolaires (Colombo *et al.*, 1997; Cobelo-Garcia *et al.*, 2005).

Les méthodes électrochimiques par redissolution peuvent être classées selon le type de spéciation auquel elles permettent d'accéder.

- une **spéciation redox** peut être menée pour les éléments présentant dans le milieu des concentrations mesurables à différents degrés d'oxydation (As, Cr, ou Sb par exemple). Le plus souvent, un seul degré d'oxydation de l'élément est électroactif. Dans certains cas, l'ajout d'un ligand spécifique peut s'avérer nécessaire. La méthode mise au point par (Boussemart *et al.*, 1992) par exemple, utilisant l'acide diéthylène-triamine-penta acétique (DTPA) permet l'analyse de Cr(III) avec une électrode à goutte de mercure. Après réduction de l'échantillon, la teneur en Cr(VI) peut aussi être déterminée.

- **l'analyse directe** de la fraction labile et/ou de l'étude des propriétés entre métaux et ligands organiques peut être envisagée pour les éléments ayant une affinité importante pour la matière organique : cuivre, nickel ou cadmium par exemple.

Quelques exemples d'applications de ces différentes méthodes à l'étude des métaux ou métalloïdes en milieu estuarien sont présentés ci-après.

III.3.1. Spéciation redox : exemple de l'arsenic

Les travaux menés par (Vandenhecke *et al.*, 2007) se sont intéressés à la spéciation inorganique de l'arsenic dans l'estuaire de la Penzé. Dans cette étude, les teneurs relativement élevées en As inorganique dans les eaux fluviales (supérieures à 10 nM) ont été reliées à la nature fortement agricole du bassin versant, en particulier à l'utilisation de ce métalloïde comme agent antibiotique pour l'élevage porcin. Dans la zone du gradient salé, l'arsenate [As(V)], espèce majoritaire, présente un comportement non conservatif (Figure I-10). Le retrait de cette espèce de la fraction dissoute se fait par co-précipitation avec les oxydes de fer. L'arsenite [As(III)] présente quant à lui un comportement conservatif. Le fait que l'arsenate soit la seule espèce affectée par la co-précipitation implique que la part d'arsenite augmente (de 5 à 15%) lors du transit estuarien.

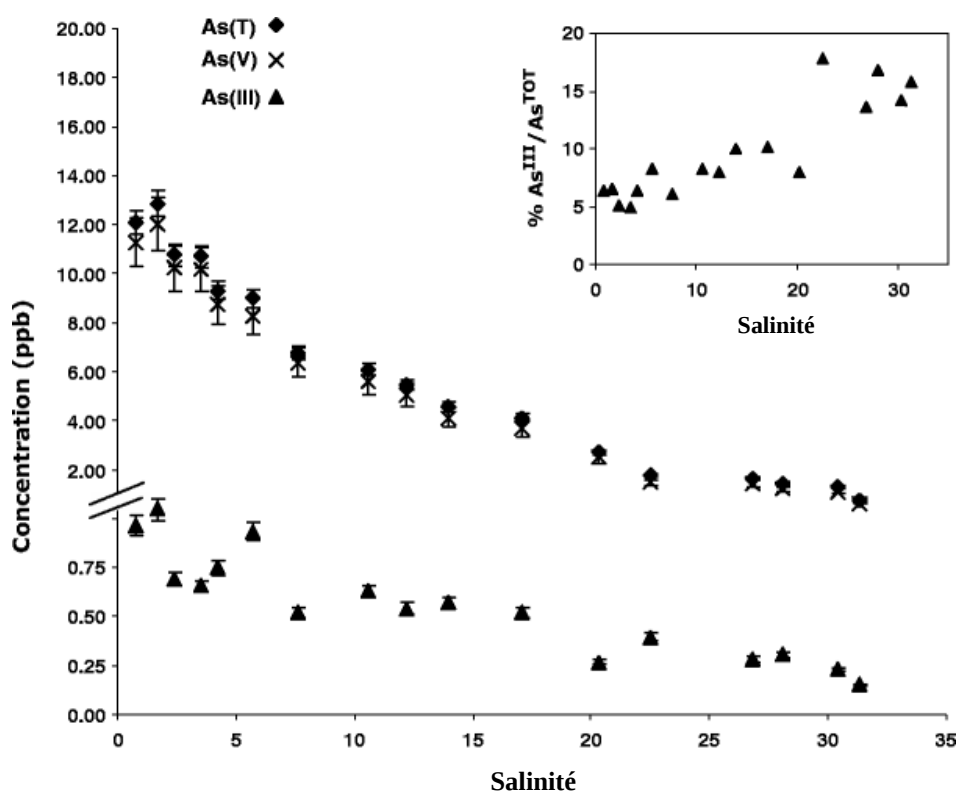


Figure I-10 : Diagramme de mélange des différentes formes de l'arsenic dissous dans l'estuaire de la Penzé (Vandenhecke *et al.*, 2007).

III.3.2. Etude des complexes labiles : exemple du cadmium

L'analyse de la fraction labile et de la fraction totale dissoute ($<0,45 \mu\text{m}$) du cadmium a été menée par Waeles *et al.* (2004) dans l'estuaire de la Loire. La figure I-11 présente le diagramme de mélange obtenu pour ces deux fractions.

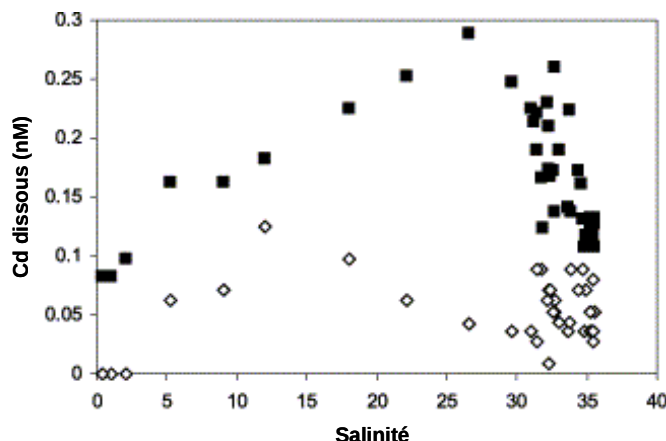


Figure I-11 : Diagramme de mélange du cadmium total dissous TDCd (■) et du cadmium labile dissous LabCd (◇) dans l'estuaire de la Loire (Waeles *et al.*, 2004).

Le cadmium total dissous (TDCd) présente un comportement non conservatif dans cet estuaire avec une courbe en forme de « cloche » avec un maximum entre 25 et 30 de salinité. Les auteurs ont mis en évidence une augmentation de 360% des teneurs en TDCd entre 0 et 26 de salinité. Pour des salinités supérieures, les teneurs décroissent rapidement pour atteindre les valeurs caractéristiques des eaux marines. Le comportement du cadmium labile est différent. En effet, les concentrations augmentent seulement dans l'intervalle 0-12 de salinité puis décroissent ensuite progressivement. Ces résultats mettent en évidence, à basse salinité, un enrichissement du TDCd provenant de la formation de complexes labiles; ces composés sont des chlorocomplexes formés par la désorption du cadmium des particules. Pour des salinités supérieures à 12, la dégradation de la matière organique particulaire dans le compartiment benthique peut expliquer la présence de formes organiques dans la colonne d'eau.

III.3.3. Etudes des propriétés métal - ligands organiques

La complexation du cuivre par des ligands organiques en milieu estuarien peut être étudiée en utilisant une méthode de redissolution cathodique suivie par voltammétrie (CSV - Cathodic Stripping Voltammetry) avec compétition de ligand (Catéchol et 8-hydroxyquinoléine) (Van Den Berg *et al.*, 1990). Dans leurs travaux sur l'estuaire du Tamar, Van Den Berg *et al.* (1990) ont mis en évidence que la stabilité de complexes organiques du cuivre est plus importante dans l'eau douce que dans l'eau de mer; une nette diminution est observée dans la zone de mélange (Figure I-12). De ce fait, les concentrations en Cu^{2+} libre, espèce la plus biodisponible, sont plus élevées dans l'eau de mer que dans l'eau douce, malgré l'existence de concentrations en cuivre dissous 20 fois supérieures dans l'eau douce.

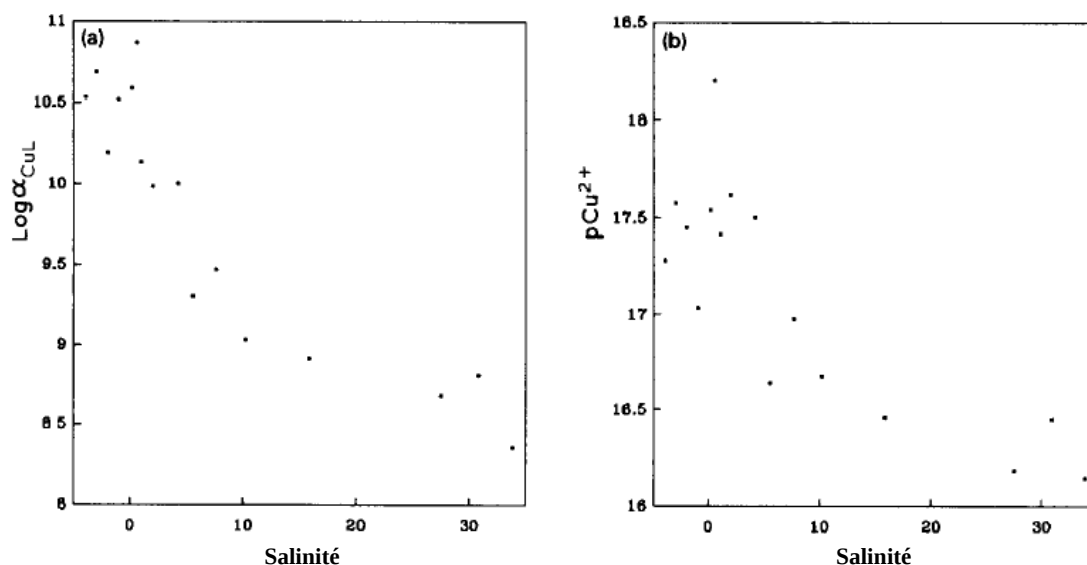


Figure I-12 : Diagramme de mélange de $\text{Log } \alpha_{\text{CuL}}$ (a) et pCu^{2+} dans l'estuaire du Tamar (Angleterre) ; α_{CuL} est le coefficient de complexation du Cu^{2+} par des ligands organiques (L) naturels (Van Den Berg *et al.*, 1990).

La spéciation du cuivre dissous a été étudiée dans la Baie de San Francisco par Donat *et al.* (1994) en utilisant différentes techniques de spéciation directes et indirectes : a) la redissolution anodique suivie par voltammétrie avec une électrode à film de mercure (DPASV-Different Pulse Anodic Stripping Voltammetry/TMF-RGCDE Thin Mercury Film-Rotating Glassy Disk Electrode), b) la redissolution anodique suivie par voltammétrie avec une électrode à goutte de mercure (DPASV/HMDE) et c) le couplage résine échangeuses et l'absorption atomique (CRCP-GFAAS).

La figure I-13 montre que le cuivre dissous dans la baie de San Francisco se trouve de façon prédominante complexé à la matière organique (>70%; complexes CuL_1 et CuL_2). Environ 27% du cuivre est associé à des complexes très stables (CuL_1 ; $\log K'_{\text{CuL}_1} > 13,5$) et entre 52 et 65% à des complexes moins stables (CuL_2 ; $\log K'_{\text{CuL}_2} = 9,0-9,6$). La quantité de cuivre labile représente entre 8 et 23% du métal total dissous, ceci étant fonction de la technique analytique utilisée.

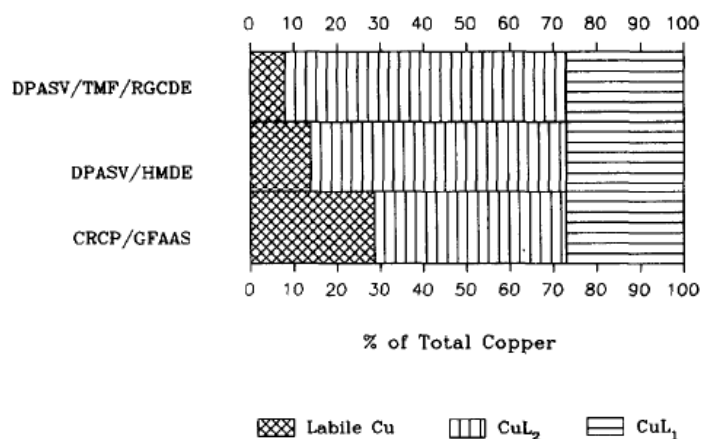


Figure I-13 : Spéciation du cuivre dissous dans la Baie de San Francisco (Donat *et al.*, 1994).

III.4. Spéciation colloïdale des éléments métalliques; application en milieu estuarien

Comme nous l'avons souligné précédemment, l'analyse des éléments traces métalliques à l'état « dissous » et « particulaire » dans un estuaire, peut nous permettre d'identifier l'existence de mécanismes de transfert de phase. Si le transfert de phase existe, ceci indique que le métal considéré a une réactivité importante lors du mélange eau douce - eau de mer.

L'étude de la distribution des éléments métalliques dans les fractions colloïdales peut nous permettre d'apporter des informations complémentaires. On pourrait ainsi mieux identifier les mécanismes responsables des transferts de phase se produisant entre les espèces dissoutes et particulaires. Quelques exemples d'application à l'étude de la spéciation colloïdale en milieu estuarien sont présentés ci-après.

Dai et Martin (1995), dans l'estuaire de l'Ob, ont montré que le plomb total dissous et le plomb colloïdal ont un comportement non conservatif avec un retrait du métal. La fraction réellement dissoute présente au contraire un comportement quasiment conservatif (Figure

I-14). La fraction colloïdale gouverne donc la redistribution du plomb dans l'estuaire. Cette redistribution serait due à l'agrégation des colloïdes laquelle conduit à l'élimination du plomb dissous ($<0,45\mu\text{m}$).

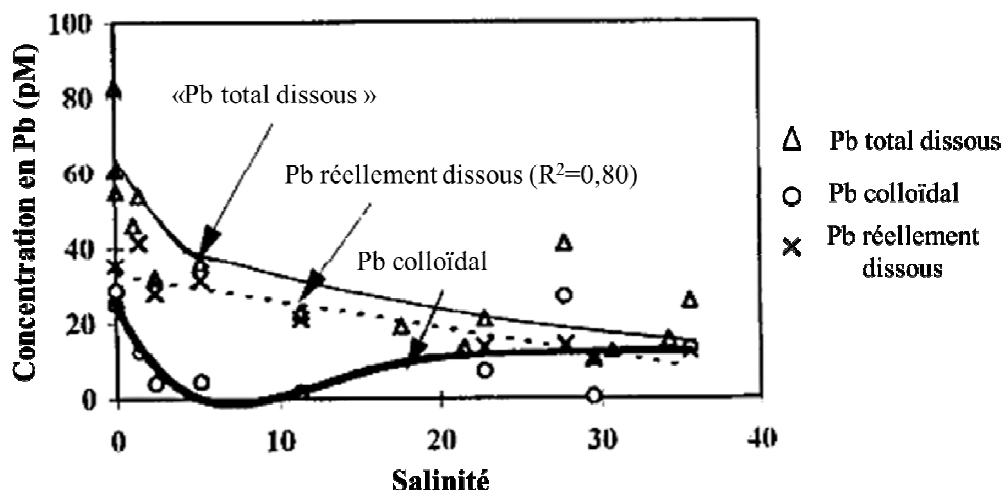


Figure I-14 : Diagramme de mélange de différentes formes physico-chimiques du plomb dans l'estuaire de l'Ob (Dai et Martin, 1995).

Guieu *et al.*, (1998) ont étudié de façon approfondie les processus biogéochimiques qui participent à la distribution de certains éléments métalliques dans l'estuaire du Danube. Sur un nombre limité d'échantillons, ils ont également étudié la distribution des éléments métalliques sur deux fractions colloïdales : $0,45\mu\text{m}$ -10 kDa (HMW - High Molecular Weight) et <10 kDa (M and LMW - Medium and Low Molecular Weight). La figure I-15 présente le diagramme de mélange des différentes formes chimiques du cuivre dissous.

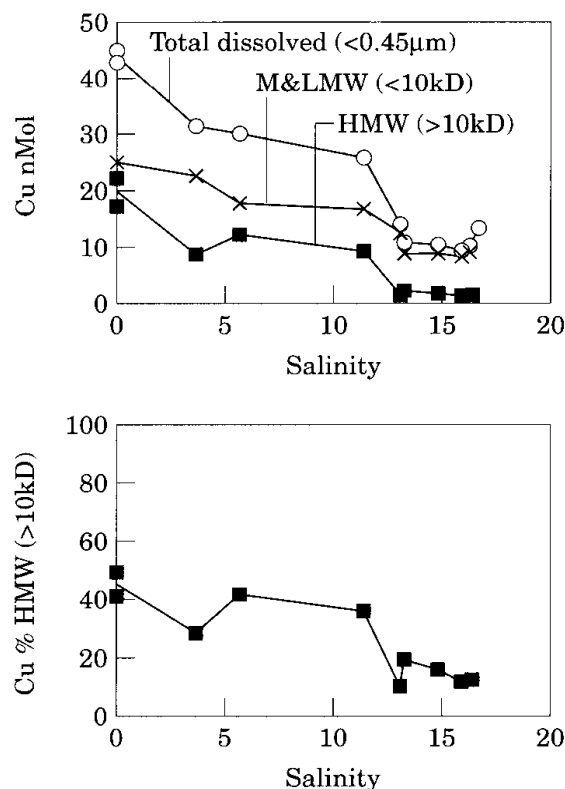


Figure I-15 : Diagramme de mélange de différentes formes physico-chimiques du cuivre dissous dans l'estuaire du Danube (Guieu *et al.*, 1998).

Les résultats montrent un comportement globalement conservatif des différentes formes chimiques. Les fractions colloïdales comptent pour 40% environ du cuivre dissous dans l'eau douce. Cette proportion diminue de façon importante avec la salinité. La grande stabilité des complexes organiques du cuivre peut prévenir des échanges entre les différentes fractions et explique le comportement conservatif du cuivre pour la fraction dissoute et celle de haut poids moléculaire.

IV. Conclusion

Les colloïdes sont des molécules ou des particules ayant une dimension comprise entre 1 nm et 1 μm . Ils jouent un rôle primordial dans la distribution et le comportement des éléments traces métalliques en milieu estuarien. Ceci est lié essentiellement à deux propriétés caractéristiques des colloïdes : a) **leur surface spécifique élevée**, qui induit une densité importante de sites d'adsorption et/ou d'absorption pour les éléments dissous à l'état de trace et b) **leur petite taille**, qui fait que les colloïdes ne se déposent pas et restent en suspension.

Le rôle des colloïdes vis-à-vis des éléments traces métalliques peut être **direct** (agrégation, coagulation, floculation) ou **indirect** en favorisant l'existence de processus chimiques (réactions de complexation, redox, etc...). Il est important de noter que ces différents processus peuvent avoir lieu à différentes périodes de l'année mais aussi dans différentes zones du gradient salé.

Les techniques de séparation et de caractérisation des colloïdes sont nombreuses. Elles ont toutes des avantages et des inconvénients. Le choix de la technique dépendra, entre autres, du niveau de concentration des éléments à étudier et des caractéristiques du milieu chimique. Lors de ce travail, c'est **l'ultrafiltration frontale (UF)** qui a été retenue. En effet, il s'agit d'une technique non destructive, simple à mettre en œuvre, peu coûteuse et qui ne nécessite pas d'addition de réactifs.

Les méthodes de séparation physico-chimiques disponibles pour l'étude des différentes formes des éléments traces métalliques en milieu marin sont particulièrement nombreuses. On peut distinguer les méthodes **directes** (électrochimiques) et les méthodes **indirectes**, qui nécessitent une étape de séparation préalable à l'analyse.

Les études ayant examiné la « spéciation » colloïdale des éléments métalliques en milieu estuarien ne sont pas très nombreuses. Elles montrent cependant la puissance d'un tel outil pour la compréhension des processus qui gouvernent la distribution et le devenir des éléments traces métalliques en milieu marin.

Chapitre II

Matériel et méthodes

I. Cadre de l'étude : l'estuaire de la Penzé

Les travaux ont été conduits dans l'estuaire de la Penzé situé en Manche Occidentale (Bretagne; figure II-1).

La Penzé est une rivière de 28 km de long dont les eaux se jettent dans la baie de Morlaix. Elle possède trois affluents : le Coat Toulzac'h, l'Eon et le Traon. Son débit moyen annuel est de $2,84 \text{ m}^3/\text{s}$. Le bassin versant drainé par cette rivière est de 141 km^2 . Les activités sur ce dernier sont essentiellement de type agricole (cultures légumières, élevages de bovins, de porcs et de volailles). En outre, des activités conchylicoles et piscicoles sont également présentes sur sa partie aval.

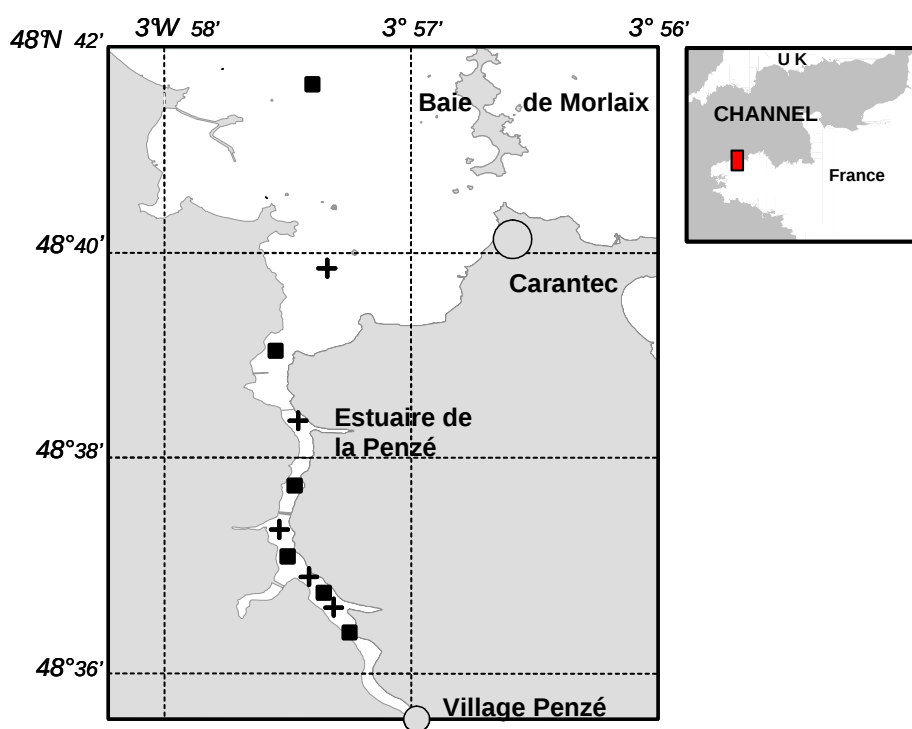


Figure II-1 : Zone d'étude et localisation des stations de prélèvements.

(+) stations sans fractionnement colloïdal des métaux

(■) stations avec fractionnement colloïdal des métaux

L'estuaire de la Penzé est long de 12 km. Il présente, comme beaucoup d'estuaires sur les côtes de Bretagne Nord, une géomorphologie de ria avec une intrusion haline forte. A chaque marée la partie amont de l'estuaire se vide entièrement et, en période de vives-eaux, il se vide quasi-totalement dans la partie aval (chenal). A pleine mer, la largeur du chenal est

d'environ 100 m, tandis qu'à basse mer, les eaux douces s'écoulent dans un chenal étroit d'environ 10 m de large. L'axe du chenal, dont le fond se compose de cailloutis, est compris entre deux talus vaseux. Dans sa partie aval (Baie de Morlaix), l'estuaire présente un vaste estran sableux ou sablo-vaseux.

7 campagnes de prélèvements ont été effectuées dans l'estuaire de la Penzé entre le 6 février et le 13 novembre 2009. Les 11 stations de prélèvements ont été choisies de manière à couvrir l'ensemble de la zone de mélange eau douce - eau de mer. Les prélèvements ont été réalisés à l'aide d'un zodiac, en période de mortes-eaux, entre l'étale de basse mer et le premier flot. Les conditions de prélèvements sont synthétisées dans le tableau II-1.

Tableau II-1 : Dates et conditions de prélèvements dans l'estuaire de la Penzé en 2009.

Date	Heure Basse Mer	Coefficient de marée	Marnage (m)
6 février	9h09	49	4,2
23 mars	10h27	55	4,7
4 mai	9h25	56	4,7
2 juin	8h44	56	4,6
17 juillet	7h42	47	3,8
15 septembre	10h02	52	4,4
13 novembre	9h21	67	5,5

II. Prélèvements et techniques de mesure des différents paramètres physico-chimiques et biologiques

Afin d'être en mesure de comprendre la distribution et le comportement des éléments métalliques dans l'estuaire, il est indispensable de connaître le fonctionnement physico-chimique (distribution de la température, sels nutritifs, COD, ...) et biologique (Chlorophylle *a*, COP et NOP) de l'écosystème. Les protocoles d'échantillonnage, les moyens de conservation, et le traitement des échantillons utilisés avant l'analyse des différents paramètres sont schématisés sur la figure II-2.

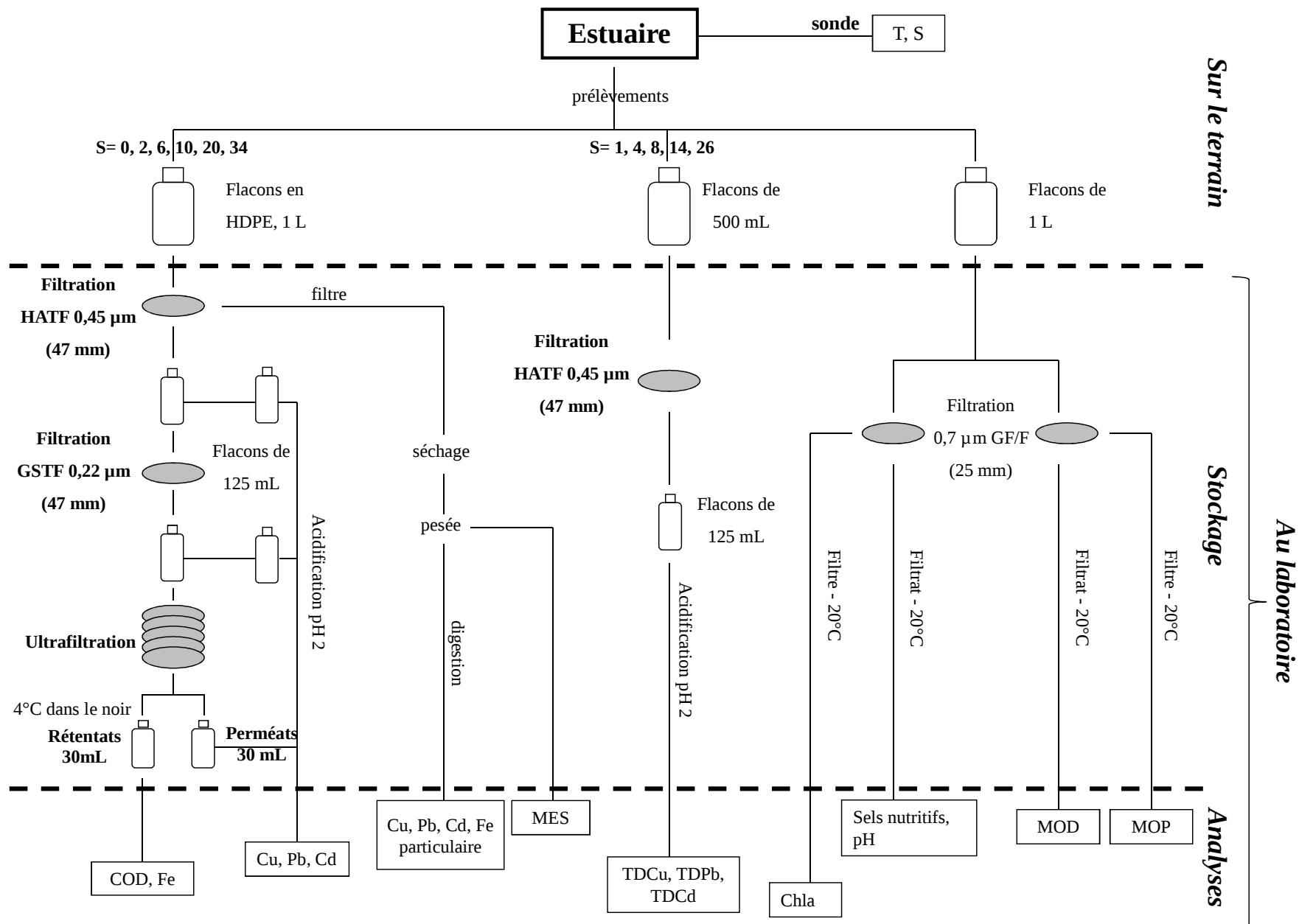


Figure II-2 : Schéma récapitulatif de prélèvements et d'analyses dans l'estuaire de la Penzé.

II.1. Paramètres hydrologiques

II.1.1. Salinité, température, pH

La salinité et la température ont été mesurées in-situ à l'aide d'une sonde WTW (Weilheim, Germany) ProfiLine LF 197 (précision $\pm 0,1$). De retour au laboratoire, le pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre de type HI 931400 Hanna Instrument (précision $\pm 0,01$).

II.1.2. Matière en suspension

Les échantillons d'eau ($\sim 0,5-0,7$ L) ont été filtrés sur des filtres de $0,45 \mu\text{m}$ (mélange d'ester de cellulose HATF, Millipore[®], 47 mm). Avant utilisation, les filtres ont été lavés à l'eau acidifiée puis rincés à l'eau Milli-Q[®] et enfin séchés à l'étuve pendant quatre heures à 60°C . Ils ont ensuite été placés dans un dessiccateur pendant deux heures et tarés. Une fois la filtration effectuée, les filtres sont à nouveau séchés puis pesés. La différence entre la masse et la tare permet de déterminer la quantité de matière en suspension pour le volume filtré. La précision de la mesure est de $\pm 0,1$ mg.

II.2. Éléments nutritifs

Les échantillons d'eau, filtrés sur des filtres Wathman GF/F de 25 mm de diamètre et $0,7 \mu\text{m}$ de porosité, ont été conservés à -20°C jusqu'à l'analyse.

II.2.1. Nitrate

La détermination des nitrates par analyse automatique s'effectue selon la méthode mise au point par Bendschneider et Robinson (1952). Les nitrates dissous sont réduits quantitativement en nitrites par passage sur une colonne Cd-Cu. En réalité, la somme des nitrates plus nitrites est mesurée. Wafar *et al.* (1989) ont montré dans la rivière de Morlaix que les nitrites représentent en moyenne 2% des teneurs en azote inorganique total dissous. Par conséquent, il est considéré que la somme des nitrates et des nitrites est une bonne estimation de la teneur en nitrates. Pour des teneurs inférieures à $20 \mu\text{M}$, la précision de la méthode est de $0,1 \mu\text{M}$.

II.2.2. Phosphate

Le phosphore minéral dissous dans l'eau de mer est essentiellement présent sous forme d'orthophosphate. La concentration en orthophosphate dans l'eau de mer dépend des phénomènes physiques (mélange, advection, diffusion) et biologiques (consommation par le phytoplancton, excrétion du zooplancton, régénération de la matière organique).

Dans cette étude, la méthode utilisée pour le dosage des orthophosphates a été mise au point par Murphy et Riley (1962). L'orthophosphate réagit avec le molybdate d'ammonium en milieu acide pour former un complexe jaune, le phosphomolybdate d'ammonium. Une réduction de ce complexe par l'acide ascorbique conduit à une coloration bleue. La mesure de la densité optique s'effectue à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 885 nm. La précision de la méthode est de $\pm 0,02 \mu\text{M}$.

II.3. Paramètres biologiques

II.3.1. Chlorophylle a et phaeopigments

La méthode utilisée est une technique de fluorimétrie décrite par Neveux (1976). Entre 0,03 et 0,50 L d'eau environ a été filtré sur des filtres Whatman GF/F de 25 mm de diamètre et de $0,7 \mu\text{m}$ de porosité. Ces filtres ont été stockés et congelés à -20°C dans des tubes à hémolyse jusqu'à l'analyse. La chlorophylle *a* et les phaeopigments sont extraits avec un mélange acétone-eau (90/10). Les mesures sont réalisées avec un fluorimètre TURNER Modèle III. Les pigments sont excités par un faisceau lumineux de longueur d'onde égale à 450 nm. La fluorescence émise est mesurée à 670 nm. La précision de la mesure est supérieure à 8% pour des teneurs $>0,5 \mu\text{g L}^{-1}$.

II.3.2. Matière organique (MO)

La matière organique possède un fort pouvoir complexant vis-à-vis des métaux. La prise en compte du rôle de la MO est, par conséquent, nécessaire pour pouvoir interpréter le comportement des éléments métalliques dans un environnement aquatique.

II.3.2.1. Matière organique particulaire (MOP) : azote et carbone (NOP, COP)

Les échantillons d'eau (~ 0,02 - 0,42 L) ont été filtrés sur des filtres Wathman GF/F de 25 mm de diamètre et de 0,7 µm de porosité. Ces filtres ont été, au préalable, calcinés (4 heures à 450°C) afin d'éliminer toute trace de matière organique. Après filtration des échantillons, les filtres ont été conservés à - 20°C jusqu'à l'analyse, dans des piluliers en verre soigneusement lavés et également calcinés. Avant l'analyse, ils ont été séchés, décarbonatés à l'acide chlorhydrique fumant à 37%, puis à nouveau, séchés. Les teneurs en carbone et azote organiques particulaires ont été déterminées à l'aide d'un analyseur élémentaire « CHN » ThermoQuest - FlashEA 1112. L'acétanilide a été utilisée comme étalon et une correction de « blanc » a été appliquée dans tous les cas (filtre vierge traité au four). La précision sur la mesure est de 5%.

II.3.2.2. Matière organique dissoute (MOD)

II.3.2.2.1. Carbone organique dissous (COD)

Les filtrats des échantillons d'eau filtrée à 0,7 µm pour la MOP ainsi qu'une partie des réténats lors du fractionnement colloïdal ont été recueillis dans des flacons en verre puis congelés à - 20°C jusqu'à analyse.

Les concentrations en Carbone Organique Dissous (COD) ont été déterminées par combustion catalytique (Pt) à 690°C (Benner et Strom, 1993). Le CO₂ formé est mesuré par un détecteur infrarouge non dispersif (NDIR). Avant analyse, les ions carbonates ont été éliminés par addition d'acide chlorhydrique (30%, pro analysis Fischer) à une concentration de 1,5%, suivi d'un barbotage de 7 minutes sous dioxygène (5.0, Linde gaz). L'analyse du COD s'effectue à l'aide d'un analyseur TOC-VCSH (Shimadzu), équipé d'un passeur d'échantillon ASI-V (Volume d'échantillon, 24 mL; volume d'injection, 50 µL). La méthode est étalonnée avec des solutions standards de phtalate acide de potassium (0-10 mg C L⁻¹). Chaque échantillon a été analysé entre 3 et 5 fois. Dans ces conditions, la limite de détection et la déviation standard de la mesure de COD sont respectivement de 0,15 mg C L⁻¹ (ou 12,5 µM C) et de 0,01 mg C L⁻¹ (ou 0,8 µM C) (Louis *et al.*, 2009).

II.3.2.2.2. Substances Humiques (SH)

Les substances humiques ont été analysées par voltammétrie par redissolution à ondes carrées après adsorption (AdSWV - Adsorptive Square Wave Voltamperometry) à une électrode à goutte de mercure, selon la méthode mise au point par Quentel *et al.* (1986) et Quentel et Elleouet (2001). Cette méthode s'effectue en présence de Mo(VI) à des teneurs proches de celles de l'eau de mer ($\sim 10 \mu\text{g L}^{-1}$). Par conséquent, dans le cas de l'analyse d'échantillons fluviaux ou estuariens l'addition de molybdène s'avère nécessaire.

Le principe de la méthode est le suivant. Tout d'abord l'échantillon est dégazé sur flux d'azote (10 min) afin d'éliminer le dioxygène dissous. Ensuite, un potentiel de - 300 mV est appliqué sous agitation, pendant une période de temps réduite (de 100 à 240 s). Dans ces conditions, il se produit à la surface de l'électrode de travail l'adsorption du complexe Mo(VI)-SH et la réduction du Mo(VI) en Mo(V) dans le complexe. Une fois le temps d'adsorption écoulé, l'agitation est arrêtée. Après une période de repos de 20 s, le balayage cathodique du potentiel est effectué. Lors de cette étape, l'apparition d'un pic de redissolution situé à $-525 \pm 25 \text{ mV}$ (vs. Ag/AgCl, KCl 3 M) caractéristique de la présence des SH, permet leur quantification. Pour ce faire, la méthode des ajouts dosés est utilisée. Les solutions étalons ont été préparées à partir d'un échantillon d'acide fulvique certifié et provenant de la rivière de Suwannee (IHSS, R 15101F). L'incertitude de la méthode est de 5% et la limite de détection de $6 \mu\text{g C L}^{-1}$.

III. Détermination des teneurs en métaux

III.1. Précautions

Lors des différentes manipulations des échantillons (prélèvement, filtration, stockage, et analyse), le risque de contamination est considérable. Dans le but de limiter ce risque, il est indispensable de prendre certaines précautions :

- Les flacons utilisés sont en HDPE, polyéthylène (Flacons Nalgene[®]); avant utilisation, ils ont été soigneusement lavés à l'eau acidifiée (pH 2; HCl Suprapur Merck[®]) puis rincés abondamment à l'eau ultra pure (Milli-Q Élément[®], résistivité $>18 \text{ M}\Omega$).
- L'ensemble des manipulations au laboratoire, a été réalisé sous hotte à flux laminaire de classe 100.

Les caractéristiques des étapes de filtration et d'ultrafiltration seront détaillées dans la partie IV de ce chapitre.

III.2. Métaux dissous (Cu, Pb, Cd)

Les teneurs en métaux des différentes fractions isolées ont été déterminées au moyen d'une analyse chronopotentiométrique par redissolution (SCP - Stripping ChronoPotentiometry) c'est-à-dire la redissolution à courant constant (CCSA - Constant Current Stripping Analysis) simple et performante. Cette technique a été développée au laboratoire (Riso *et al.*, 1997a et b).

III.2.1. Equipement

Les chronopotentiogrammes ont été obtenus avec deux systèmes potentiométriques selon les métaux à doser :

- (1) un système potentiométrique μ Autolab[®] type III piloté par un ordinateur utilisant le logiciel GPES4.9[®] dans le cas du cadmium et du plomb,
- (2) un système potentiométrique Tracelab PSU22 (radiometer[®], Copenhague) relié à un ordinateur utilisant le logiciel TAP2 TraceTalk de radiometer[®] lors de l'analyse du cuivre.

La figure II-3 présente de façon schématique le montage utilisé. Un montage à trois électrodes est utilisé dans le but de ne pas modifier ou très peu le potentiel de l'électrode de référence lors de l'analyse. L'électrode de travail pour l'analyse du Pb et du Cd est une électrode tournante en carbone vitreux de 2,5 mm de diamètre pilotée par une unité Autolab[®] permettant de régler sa vitesse de rotation. Un film de mercure est déposé dans des conditions contrôlées avant l'analyse. Dans le cas du cuivre, l'électrode de travail est une électrode tournante en or solide de 2,5 mm de diamètre pilotée par une unité CTV 101. L'électrode auxiliaire est une électrode en graphite ou en platine. Afin de limiter les risques de pollution de l'échantillon, l'électrode auxiliaire est isolée de l'échantillon par l'intermédiaire d'un pont salin rempli avec une solution de nitrate de potassium à 0,5 M. Les potentiels sont reportés à une électrode de référence Ag/AgCl, KCl à 3 M.

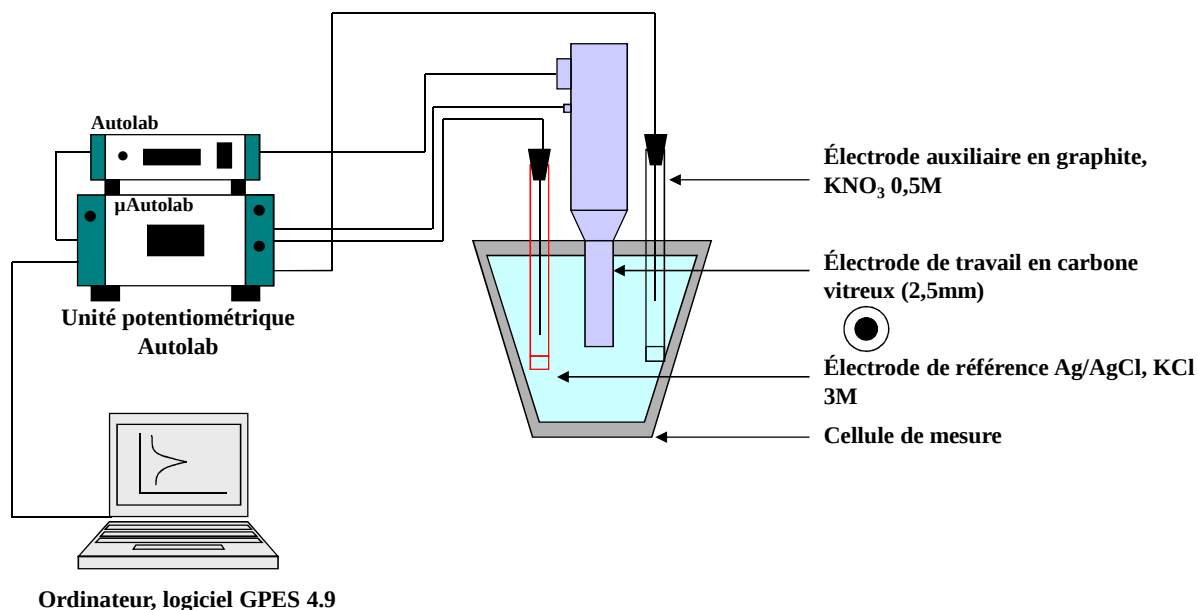


Figure II-3 : Schéma du montage pour l'analyse chronopotentiométrique du Pb et du Cd.

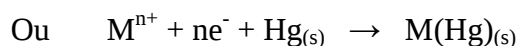
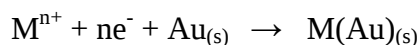
III.2.2. Préparation de l'électrode à film de mercure

Lors de l'analyse du cadmium et du plomb, l'électrode de travail en carbone vitreux nécessite le dépôt d'un film de mercure à sa surface. Ce dernier est déposé lors d'une étape préliminaire à l'analyse dans une solution de chlorure de sodium à 0,5 M (pH $\sim$ 2) à laquelle est ajoutée 50 μL de solution de Hg^{2+} à $1 \cdot 10^{-2}$ M. Cette étape est réalisée sous agitation et par l'application d'un potentiel de - 1200 mV pendant dix minutes.

III.2.3. Principe de la chronopotentiométrie par redissolution (SCP)

Comme toutes les méthodes électrochimiques par redissolution, la SCP comporte deux étapes :

- **une étape d'électrolyse** : l'élément à doser est préconcentré à la surface de l'électrode de travail; cette étape est réalisée sous agitation et à un potentiel judicieusement choisi c'est-à-dire à un potentiel suffisamment négatif pour réduire le métal.



Selon la loi de Fick, en régime de diffusion convection, la quantité de métal déposée à la surface de l'électrode répond à l'équation suivante :

$$\Gamma_M = \frac{[M^{n+}] t_d D_m^{M^{n+}} A}{\delta_e} \quad (1)$$

Γ_M : quantité de métal déposée à la surface de l'électrode

$[M^{n+}]$: concentration de M^{n+} dans la solution

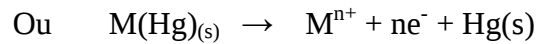
t_d : temps de dépôt

D_m : coefficient de diffusion de M^{n+}

A : surface de l'électrode

δ_e : épaisseur de la couche de diffusion

- **une étape de redissolution ou stripping** : l'élément métallique préconcentré repasse en solution (réoxydation); cette opération est réalisée sous l'application d'un courant constant de faible intensité.



C'est lors de cette étape que les informations analytiques sont relevées en mesurant les variations du potentiel en fonction du temps [courbes $E = f(t)$]. Le temps nécessaire à la réoxydation est directement proportionnel à la concentration du métal préalablement réduit. A partir des courbes obtenues, l'unité d'analyse établit des courbes dérivées. Ces courbes $dt/dE = f(E)$ présentent des pics dont la hauteur est proportionnelle à la concentration du métal ; l'expression de signal est (Hua *et al.*, 1987) :

$$t_s = \sqrt{\frac{\omega_e}{\omega_s}} \frac{[M^{n+}] t_d AK}{i} \quad (2)$$

t_s : temps de redissolution

ω_e : vitesse de rotation de l'électrode pendant l'électrolyse

ω_s : vitesse de rotation de l'électrode pendant la redissolution

K : constante faisant intervenir D_m et δ_e

A : surface de l'électrode

i : courant d'oxydation

t_d : temps d'électrolyse

III.2.4. Conditions d'analyse du Cu, Pb et Cd

Les concentrations obtenues dans les différentes fractions colloïdales étant extrêmement faibles, il a été nécessaire d'améliorer la limite de détection des méthodes utilisées. La détermination de la concentration s'effectue par la méthode des ajouts dosés. Pour ce faire, l'addition à l'échantillon de quantités connues de l'élément à doser est effectuée.

Le tableau II-2 résume les conditions électrochimiques expérimentales avec les précisions, les reproductibilités et les limites de détection. Les résultats des analyses réalisées sur des eaux certifiées sont également présentés. Pour le plomb et le cadmium, le protocole a été détaillé par ailleurs (Riso *et al.*, 1997b). Pour le cuivre, la méthode d'utilisation courante au laboratoire a été décrite précédemment (Riso *et al.*, 1997a).

Tableau II-2 : Conditions opératoires optimisées pour les analyses électrochimiques par SCP.

	Pb	Cd	Cu
Electrode de travail	Film de mercure (2,5 mm)		Disque d'or (2,5 mm)
Potentiel de dépôt vs Ag/AgCl	- 1200 mV		- 350 mV
Vitesse de rotation	2500 rpm		2500 rpm
Temps de dépôt	10-25 min*		5-15 min*
Courant de redissolution	0,5 μ A		0,8 μ A
Reproductibilité (n=9)	5% (à 0,19 nM)	4% (à 0,12 nM)	2% (à 3,1 nM)
NASS 4 valeurs trouvées (ng L ⁻¹)	13 $\pm$ 2	19 $\pm$ 1	223 $\pm$ 10
NASS 4 valeurs certifiées (ng L ⁻¹)	13 $\pm$ 5	16 $\pm$ 3	228 $\pm$ 11
Limite de détection	2 pM (25 min)	9 pM (25 min)	50 pM (15 min)

*selon la concentration de l'échantillon

III.2.5. Exemples de dosage du cuivre, du plomb et du cadmium

La figure II-4 montre le dosage du cuivre d'une eau estuarienne filtrée à 0,22 μ m (S = 33,1) dans les conditions électrochimiques optimales retenues. Ce dosage a été effectué selon la méthode des ajouts dosés. La concentration mesurée est de 177 ± 4 ng L⁻¹.

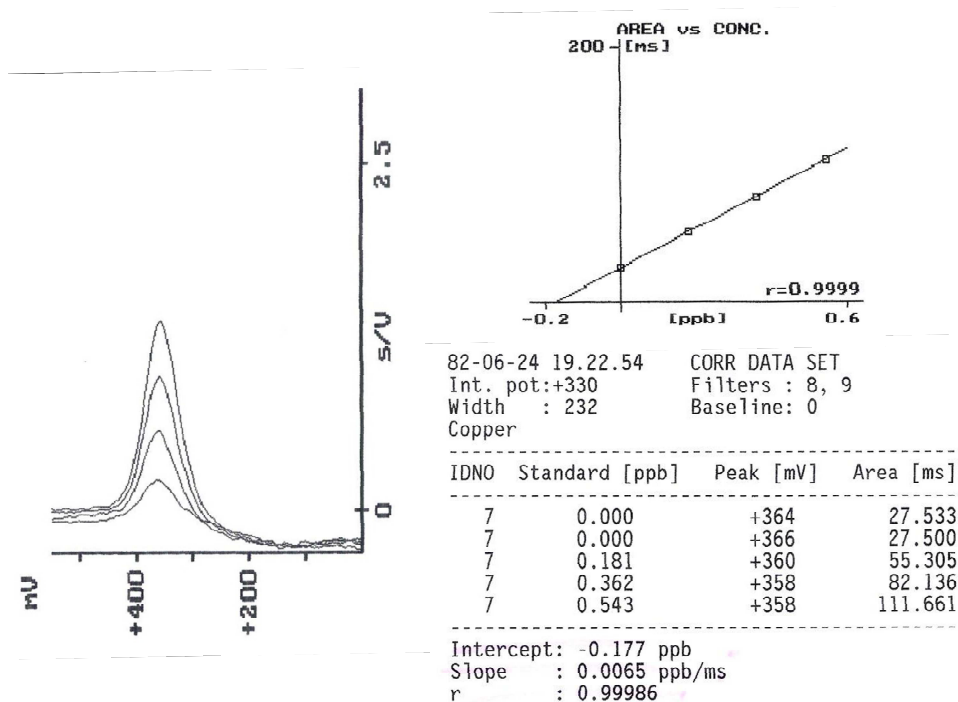


Figure II-4 : Dosage du cuivre d'une eau estuarienne selon la méthode des ajouts dosés (échantillon + 3 ajouts de 181 ng L⁻¹; E_d = - 0,35 V, t_d = 5 min, i = 0,8 μ A).

La figure II-5 montre le dosage simultané du plomb et du cadmium d'une eau estuarienne filtrée à $0,22\ \mu\text{m}$ ($S = 5,7$) dans les conditions opérationnelles retenues. Ce dosage a été également effectué selon la méthode des ajouts dosés. Les concentrations mesurées pour le plomb et le cadmium sont de 36 ± 2 et $20 \pm 1\ \text{ng L}^{-1}$ respectivement.

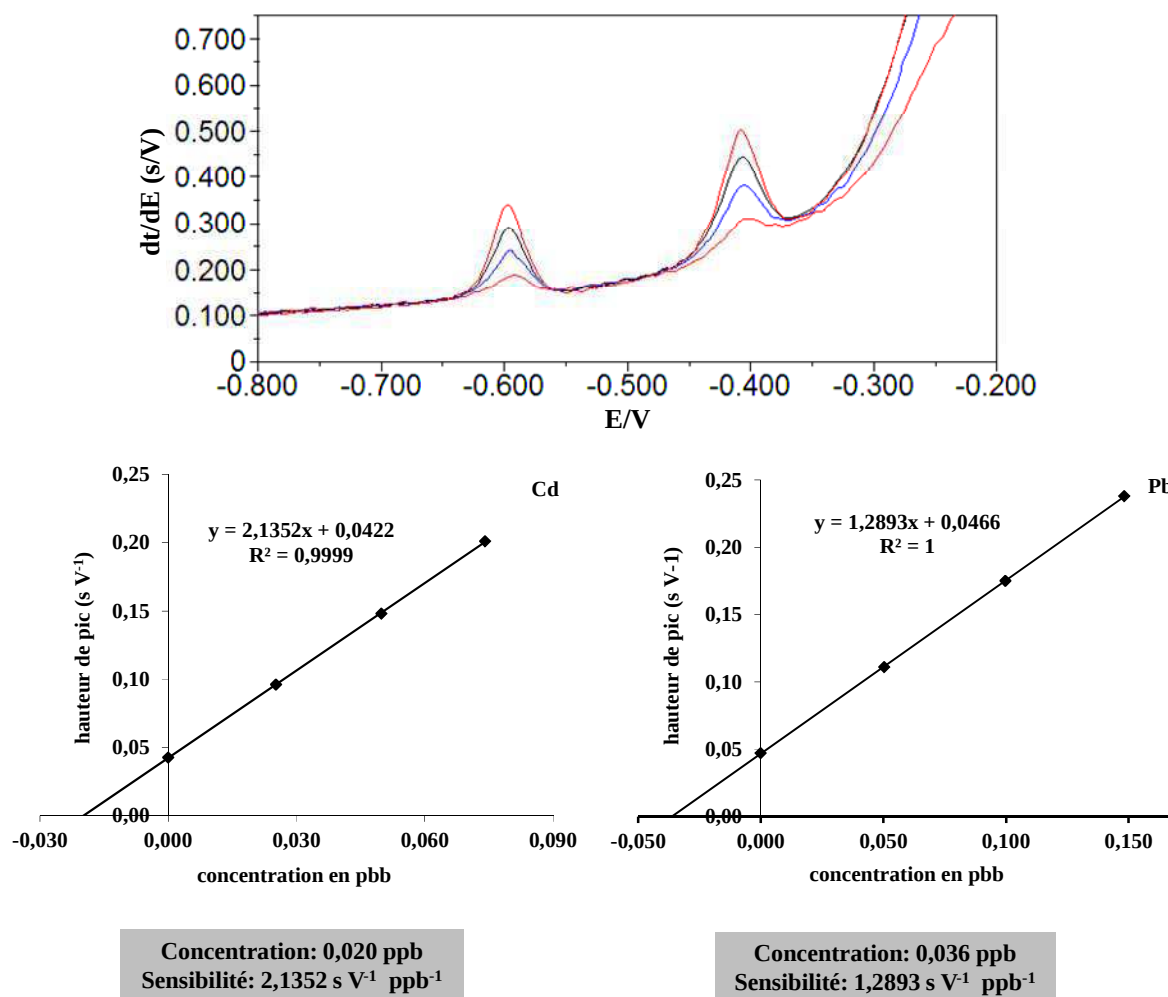


Figure II-5 : Dosage simultané du plomb et du cadmium d'une eau estuarienne (échantillon + 3 ajouts de $25\ \text{ng L}^{-1}$ pour le cadmium et $50\ \text{ng L}^{-1}$ pour le plomb; $E_d = -1,2\ \text{V}$, $t_d = 12\ \text{min}$, $i = 0,5\ \mu\text{A}$).

III.3. Analyse du fer dissous

Le fer est un élément suffisamment abondant et réactif en milieu estuarien pour influencer le devenir des éléments métalliques.

Les analyses de cet élément ont été réalisées à l'aide d'un ICPMS 7500ce des technologies Agilent (Tokyo, Japon), équipé en ligne d'une cellule octopole de réaction / collision. Les gaz utilisés sont l'hélium et l'hydrogène à 99,995% de pureté (Linde, Paris, France). Le système d'introduction de l'échantillon est constitué d'un nébuliseur concentrique (Associés Meinhard, Californie, USA) et d'une chambre de vaporisation de type Scott double passe refroidit à 2°C. Les conditions opératoires ont été optimisées en utilisant une solution de 1 µg L⁻¹ de gallium, yttrium, thallium et cérium, avec les paramètres suivant : puissance du plasma 1500 W, flux de gaz réfrigérant 15 L min⁻¹, gaz vecteur 1,05 L min⁻¹. Pour les mesures totales, l'isotope ⁵⁶Fe est utilisé (temps d'intégration 0,05 s par isotope, 3 points par pic, 5 réplicats). L'échantillonneur et les « skimmers » sont en nickel. La solution standard contient 1000 mg L⁻¹ de Fe dans l'eau ultrapure (Milli-Q®, 18 MΩ). Elle est stockée dans le noir au réfrigérateur (4°C). Les solutions standard diluées sont préparées quotidiennement par dilution dans de l'eau ultrapure acidifiée.

III.4. Métaux particuliers (Cu, Pb, Cd, Fe)

Pour le dosage des métaux dans les particules en suspension, la spectrométrie d'absorption atomique a été préférée. La minéralisation de ces particules ramène les métaux en solution aqueuse acide sans matrice saline. L'analyse par spectrométrie d'absorption atomique de ce type d'échantillon est donc plus adaptée et plus rapide que l'électrochimie.

III.4.1. Protocole de minéralisation

Les filtres contenant les MES ont été congelés jusqu'à l'analyse. Ces filtres ont été placés dans des bombes en téflon de 30 mL. 5 mL d'HNO₃ concentré et 2 mL d'HF concentré y sont ajoutés. L'ensemble est chauffé à 100°C dans un bloc chauffant Stuart et évaporé à sec. Cette procédure est répétée trois fois. Ensuite 5 mL de HNO₃ sont ajoutés puis chauffés à 100°C pendant 2 heures. La solution est ensuite diluée avec de l'eau ultrapure afin d'atteindre un volume total de 100 mL, avant l'analyse du métal par Spectrométrie d'absorption atomique à four en graphite (GFAAS- Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry).

III.4.2. Analyse par spectroscopie d'absorption atomique

Les déterminations des teneurs en métal ont été réalisées à l'aide d'un spectromètre d'absorption atomique de type Perkin-Elmer SIMAA 6100 fonctionnant en mode mono-élémentaire. Des tubes revêtus d'une couche de graphite pyrolytique et équipés de plateformes intégrées ont été utilisés. Le gaz inerte est de l'argon. Les échantillons ont été introduits dans le four à l'aide d'un passeur d'échantillons automatique Perkin-Elmer AS-800 et stockés dans des petits godets en polypropylène préalablement lavés à l'acide avant injection. Les sources de lumière sont des lampes à cathode creuse Perkin-Elmer. Pour la détermination du cuivre et du fer, l'atomisation est réalisée à 2100°C. Pour les éléments volatils comme le cadmium et le plomb, l'atomisation est réalisée à 1800°C. Lors de l'atomisation, le débit du gaz vecteur (250 mL min^{-1}) est stoppé. Aucune étape de prétraitement n'est utilisée pour la détermination de ces métaux dans ces différentes solutions. 10 μL de Pd, introduit sous forme de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, sont utilisés comme modificateur chimique pour les mesures de Cd et de Pb.

III.4.3. Validation de la méthode

Afin de valider le protocole de minéralisation, deux sédiments certifiés MESS-1 et BCSS-1 ont été utilisés. Ces derniers sont des sédiments estuariens lyophilisés et tamisés. Ils sont soumis au même protocole de minéralisation que les échantillons.

Les résultats obtenus se trouvent dans l'intervalle de confiance des valeurs certifiées (Tableau II-3). Pour BCSS-1, les pourcentages de recouvrement sont respectivement de 77, 76 et 71% pour le cuivre, le plomb, le cadmium. Pour MESS-1, les pourcentages de recouvrement sont respectivement de 89, 84 et 73% pour ces trois métaux.

Tableau II-3 : Analyses de Cu, Pb, Cd dans les sédiments certifiés.

<i>Sédiment certifié</i>	<i>BCSS-1</i>	<i>MESS-1</i>
Cuivre ($\mu\text{g g}^{-1}$)		
Valeur certifiée	$18,3 \pm 2,7$	$25,1 \pm 3,8$
Cette étude	$14,0 \pm 1,1$	$22,4 \pm 1,7$
Plomb ($\mu\text{g g}^{-1}$)		
Valeur certifiée	$22,7 \pm 3,4$	$34,0 \pm 6,1$
Cette étude	$17,3 \pm 3,0$	$28,7 \pm 3,6$
Cadmium ($\mu\text{g g}^{-1}$)		
Valeur certifiée	$0,25 \pm 0,02$	$0,59 \pm 0,10$
Cette étude	$0,18 \pm 0,01$	$0,43 \pm 0,08$

IV. Mise au point des techniques et des protocoles utilisés pour le fractionnement des colloïdes

Parmi les nombreuses méthodes existantes pour la séparation des colloïdes en différentes classes de taille, l'ultrafiltration frontale a retenu notre attention. Il s'agit d'une technique non destructive, qui n'a pas besoin d'addition de réactifs, dont la mise en œuvre est simple et peu coûteuse (De Mora et Harrison, 1983; Singhal *et al.*, 2006; Waeles *et al.*, 2008). Cette technique nécessite une étape de pré-filtration de par la petite taille des pores des membranes utilisées entre 1 et 15 nm (Florence, 1982; De Mora et Harrison, 1983).

IV.1. Pré-filtration

Les échantillons sont pré-filtrés séquentiellement sur des filtres de 0,45 μm et 0,22 μm [mélange d'esters de cellulose (HATF), Millipore®]. Après chaque filtration, une partie du filtrat est acidifiée à pH 2 (HCl suprapur, Merck®) et stockée dans des flacons (Nalgene®, HDPE) jusqu'à l'analyse. Le filtrat restant de la fraction à 0,22 μm est utilisé pour la mise en place de la procédure de fractionnement par ultrafiltration. Ce dernier est conservé au maximum 7 jours dans le noir au réfrigérateur (4°C) jusqu'à la réalisation de l'ultrafiltration.

IV.2. Ultrafiltration

IV.2.1. Principe

Le fractionnement des colloïdes par ultrafiltration frontale peut être effectué selon deux modes différents : le mode *diafiltration* ou le mode *concentration*.

Dans le fractionnement par *diafiltration*, le volume, dans la cellule de fractionnement, est maintenu constant. Pour cela, un flux continu d'échantillon est apporté dans la cellule et le volume du *perméat* (particules qui passent à travers la membrane) isolé est compensé par l'ajout d'une solution non polluante (c'est-à-dire par de l'eau ultrapure). Le *rétenant* (particules qui restent au-dessus de la membrane) est recyclé en retour dans le réservoir de la cellule de fractionnement avec l'échantillon ajouté par compensation.

Dans le mode *concentration*, l'échantillon à fractionner est poussé à travers la membrane par l'application d'une faible pression (<1,5 bar) (Buffle et Van Leeuwen, 1992;

Wen *et al.*, 1996). La concentration des colloïdes au-dessus de la membrane augmente avec le temps.

Lors de ce travail, le mode *concentration* a été préféré au mode *diafiltration*. En effet, en accord avec les travaux de Buffle (1988), l'ajout exigé d'une solution non polluante dans le mode *diafiltration* pour maintenir un volume constant dans la cellule de filtration peut provoquer des pertes pour beaucoup d'éléments métalliques et pour le COD, lesquels sont associés avec des macromolécules de poids moléculaires égaux ou plus petits que la limite de poids moléculaire nominal de la membrane.

Dans le but de minimiser les artéfacts causés par la coagulation des colloïdes à la surface de la membrane, de petits facteurs de concentration (3-13), et des faibles débits de 1,5 à 4,5 mL min⁻¹ seront utilisés (Perret *et al.*, 1994). De plus, une agitation douce sera appliquée sur la membrane pour réduire les effets de la concentration de polarisation due à la densification des macromolécules à la surface de la membrane (Burba *et al.*, 1998).

IV.2.2. Protocole

L'ultrafiltration séquentielle est réalisée à partir de la fraction <0,22 µm en utilisant une cellule agitée 8200 Amicon[®] avec 5 types de membranes. Les tailles des membranes sont de 300, 50, 30, 10 (polyéthersulfone, Biomax PB, Millipore[®]) et 5 kDa (cellulose régénérée, Ultracel PL, Millipore[®]). Le gaz utilisé est de l'azote et la pression appliquée varie de 0,4 à 1,8 bar selon le poids moléculaire des membranes et la salinité de l'échantillon. A chaque étape, une partie du perméat est récupérée et acidifiée (pH ~ 2, HCl suprapur, Merck[®]) afin d'effectuer le dosage des métaux traces et de la matière organique réfractaire. La figure II-6 résume le protocole de filtration / ultrafiltration dans son ensemble pour le fractionnement des eaux estuariennes.

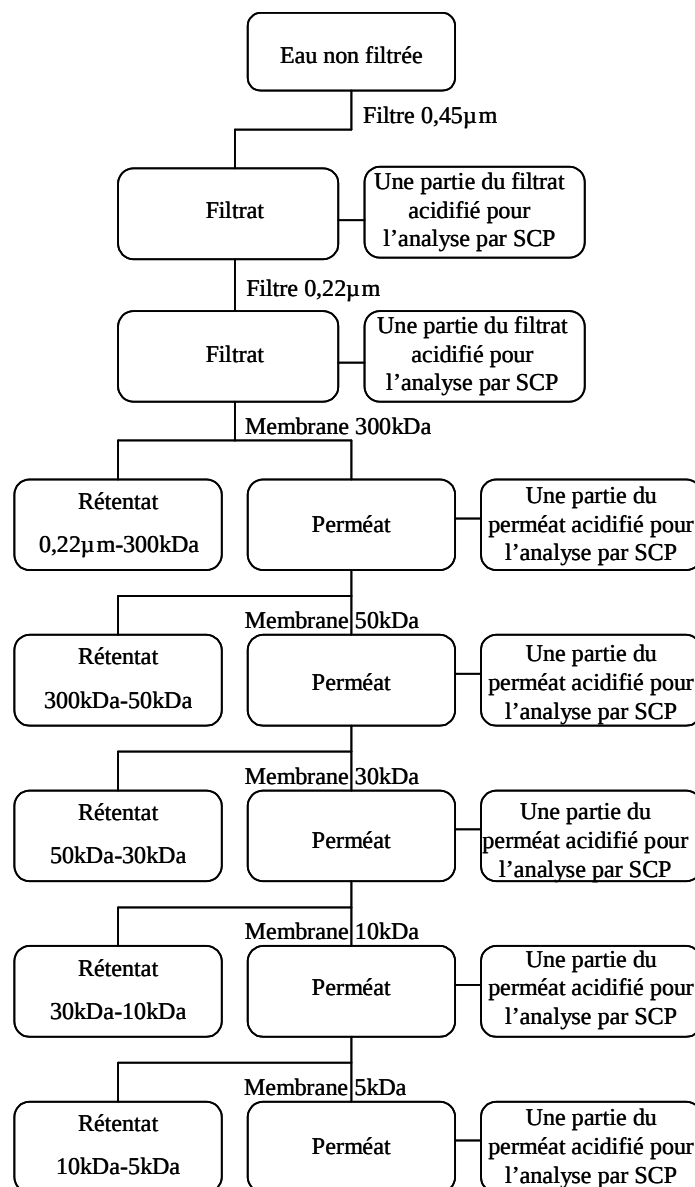


Figure II-6 : Schéma du protocole de filtration et d'ultrafiltration.

Les concentrations en métaux des rétentats sont calculées par différence entre la concentration du perméat de la taille précédente et celle du perméat correspondant à la membrane utilisée, en appliquant les facteurs de concentrations correspondants. Les facteurs de concentration pour les perméats sont calculés en effectuant le rapport entre le volume à filtrer et celui du perméat. Il est important de noter que les concentrations en éléments métalliques de certains perméats sont au niveau de la limite de détection de la méthode analytique utilisée.

IV.2.3. Traitement des membranes et de la cellule d'ultrafiltration

Le conditionnement des membranes d'ultrafiltration constitue une étape particulièrement importante du travail afin de minimiser les risques de contamination et d'éviter une modification de la taille des pores. Avant chaque utilisation, les membranes sont trempées dans de l'eau Milli-Q[®] pendant une journée. Elles sont ensuite lavées par immersion dans une solution d'acide nitrique 0,1 M dans l'eau Milli-Q[®] pendant une autre journée. Enfin, elles sont rincées, toujours par immersion, dans de l'eau Milli-Q[®] pendant trois jours en changeant régulièrement d'eau. Cette dernière étape est nécessaire afin d'éviter toute perturbation des colloïdes. Après utilisation, les membranes sont trempées dans une solution de soude (suprapur, Merck[®]) à 0,1 M dans l'eau Milli-Q[®] pendant 30 minutes. Elles sont ensuite rincées par immersion avec de l'eau Milli-Q[®] pendant une journée. Les membranes sont enfin stockées dans un mélange éthanol / eau à 10% à 4-6°C.

La cellule d'ultrafiltration (figure II-7) est lavée, avant chaque utilisation, en respectant le protocole suivant : a) rinçage avec de l'eau Milli-Q[®], b) remplissage de la cellule avec l'eau Milli-Q[®] pendant deux jours en changeant l'eau plusieurs fois, c) remplissage de la cellule avec de l'eau Milli-Q[®] acidifiée (pH ~ 3, HCl suprapur, Merck[®]) pendant une journée, et enfin d) rinçage avec de l'eau Milli-Q[®] pendant trois jours. Entre chaque filtration, la cellule est démontée et nettoyée rigoureusement avec de l'eau Milli-Q acidifiée (pH ~ 2, HCl suprapur, Merck[®]) et rincée abondamment à l'eau Milli-Q[®].

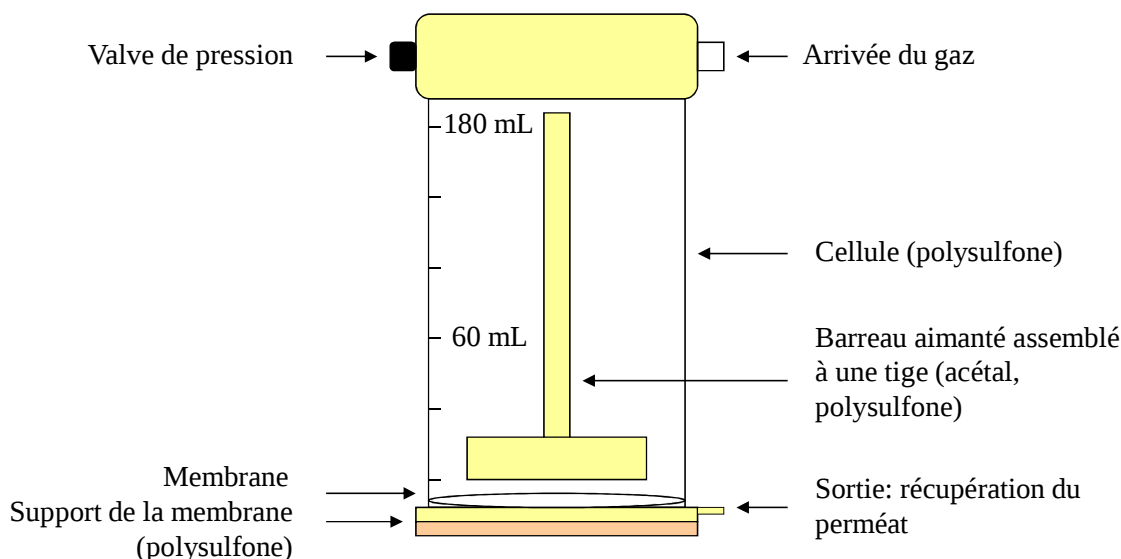


Figure II-7 : Schéma de la cellule agitée 8200 Amicon®.

IV.3. Validation de la technique d'ultrafiltration

IV.3.1. Reproductibilité

Le nombre d'échantillons à traiter étant élevé pour chaque campagne (6 stations pour l'ultrafiltration), le nombre de jours de manipulation suivant le prélèvement peut atteindre 5 à 6 jours. Le temps de manipulation étant relativement important, le contrôle de la stabilité de l'échantillon, c'est-à-dire l'évolution de ce dernier en fonction du temps après le prélèvement, est nécessaire. Le test a été réalisé sur une eau de mer côtière. La reproductibilité de l'ultrafiltration a été testée 24h, 48h et 7 jours après le jour de prélèvement. Les échantillons ont été immédiatement filtrés après prélèvement à 0,45 et 0,22 μm afin de limiter le risque d'agrégation des particules. Ils ont ensuite été conservés dans le noir au réfrigérateur (4°C) jusqu'à la réalisation de l'ultrafiltration.

Les résultats du test de reproductibilité du plomb, du cadmium et du cuivre sont présentés sur la figure II-8. Nous constatons que les écarts types varient en fonction des métaux et de la taille des membranes utilisées. En effet, ils sont en moyenne de $\pm 0,28 \text{ nM}$ pour le cuivre, de $\pm 0,013 \text{ nM}$ pour le plomb et de $\pm 0,008 \text{ nM}$ pour le cadmium. Ces résultats sont très satisfaisants au regard du nombre important d'étapes et de la faible teneur en métal. Par conséquent, nous pouvons conclure que, dans les conditions de stockage préconisées, nos

échantillons sont stables pendant les 7 jours suivant le prélèvement pour la réalisation de l'ultrafiltration.

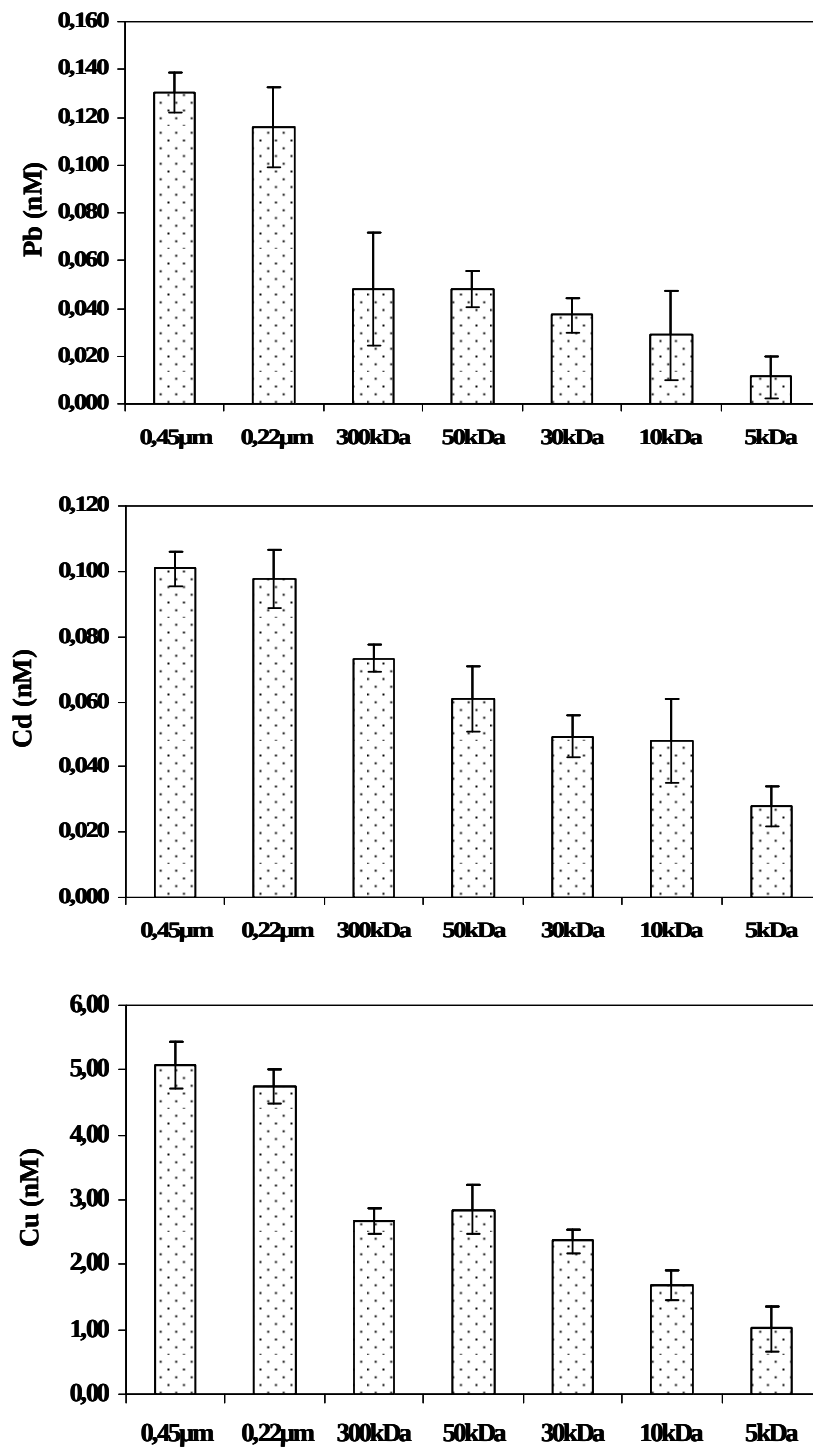


Figure II-8 : Tests de reproductibilité pour le Pb, le Cd et le Cu.

IV.3.2. Recouvrement

Les taux de recouvrement du système d'ultrafiltration séquentielle en métaux ont été estimés pour chaque salinité. Pour cela, nous avons comparé le résultat obtenu en additionnant les concentrations obtenues en éléments métalliques dans les différentes fractions colloïdales à celui de la fraction totale dissoute ($<0,45 \mu\text{m}$). Le taux de recouvrement est résumé par l'équation suivante :

$$\text{Recouvrement (\%)} = (\text{somme des fractions} * 100) / \text{TDM}$$

avec TDM la concentration dans la fraction $<0,45 \mu\text{m}$. En moyenne, pour l'ensemble des prélèvements effectués lors de cette étude, les recouvrements obtenus pour le Cu, le Pb et le Cd sont de $102 \pm 8\%$ ($n = 42$), $100 \pm 2\%$ ($n = 42$), et $109 \pm 12\%$ ($n = 42$) respectivement. Ils permettront une estimation convenable de la distribution colloïdale des différents métaux.

Chapitre III
Variations saisonnières des caractéristiques
physico-chimiques de l'estuaire de la Penzé

I. Introduction

Ce chapitre est consacré à la présentation des variations saisonnières des différents paramètres physiques, chimiques et biologiques de l'estuaire de la Penzé. Le suivi de ces différents paramètres est nécessaire pour caractériser le fonctionnement de l'écosystème. Il constitue un préambule indispensable à la compréhension des processus susceptibles de gouverner la spéciation physico-chimique des éléments métalliques.

L'estuaire de la Penzé, situé en Manche occidentale, est soumis à d'importants courants de marée. Il en résulte un mélange rapide des eaux douces avec l'eau de mer et un gradient salé réduit dans l'espace. Dans ce système, la colonne d'eau est partiellement homogène et il existe au voisinage de l'intrusion saline une accumulation de sédiments fins (bouchon vaseux) dont l'intensité et la dynamique sont liées au cycle de marée et aux apports fluviaux. Ce système est également caractérisé par la nature agricole de son bassin versant. Les apports en nutriments (nitrates et phosphates) sont considérables et sont à l'origine d'importantes efflorescences algales en période estivale (Maguer *et al.*, 2004).

Dans une première partie du chapitre, les variations des caractéristiques hydrologiques du système sont présentées. Les parties suivantes sont consacrées à l'étude des composés chimiques dans l'estuaire de la Penzé. La matière organique dissoute et le fer dissous sont susceptibles de jouer un rôle majeur dans la spéciation métallique. Dans le cas particulier de ces deux espèces chimiques, un fractionnement colloïdal a été effectué et ceci pour la première fois au laboratoire. Les variations des concentrations en carbone organique dissous, en substances humiques et en fer dissous seront présentées à différentes périodes de l'année.

II. Pluviométrie et débit fluvial

La figure III-1 présente les précipitations pour l'année 2009 à Pleyber-Christ. Les variations de la pluviosité mettent en évidence un régime de précipitations relativement classique pour une zone océanique tempérée. Relativement importantes en hiver, les précipitations diminuent en moyenne de mars à septembre. La caractéristique la plus importante du cycle saisonnier est l'existence d'une pluviosité importante en automne, au mois de novembre en particulier. En effet, les valeurs observées en novembre dépassent de presque 50% les valeurs moyennes sur une période de 30 années.

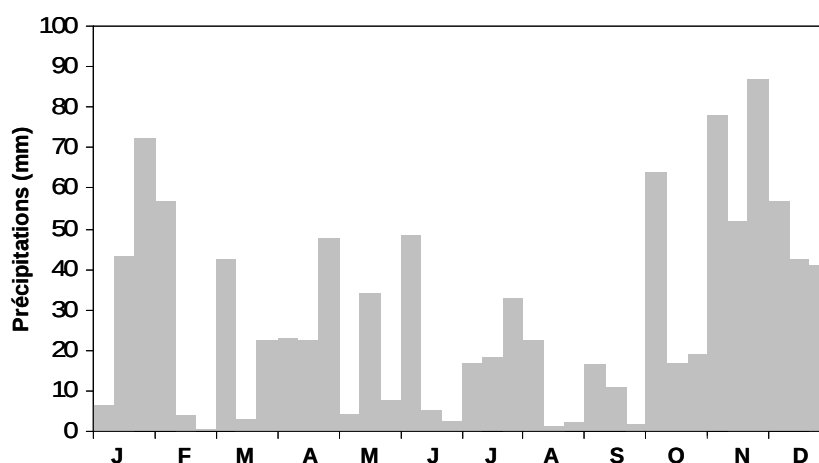


Figure III-1 : Variations saisonnières de la pluviosité par décade à Pleyber-Christ (Station Météo-France) pour l'année 2009.

La figure III-2 présente les variations saisonnières du débit fluvial mesuré à Taulé (station Penhoat, *Eaufrance*) pendant l'année 2009. Le débit fluvial varie de 0,2 à 16,6 m³ s⁻¹ durant la période étudiée. Elevé pendant l'hiver, le débit diminue ensuite considérablement au printemps jusqu'à l'été. Au mois de novembre, une augmentation importante est observée. Les variations du débit suivent d'une année sur l'autre une distribution saisonnière relativement marquée (Waeles, 2003; Vandenhecke, 2009). Le débit moyen annuel est de 2,86 m³ s⁻¹.

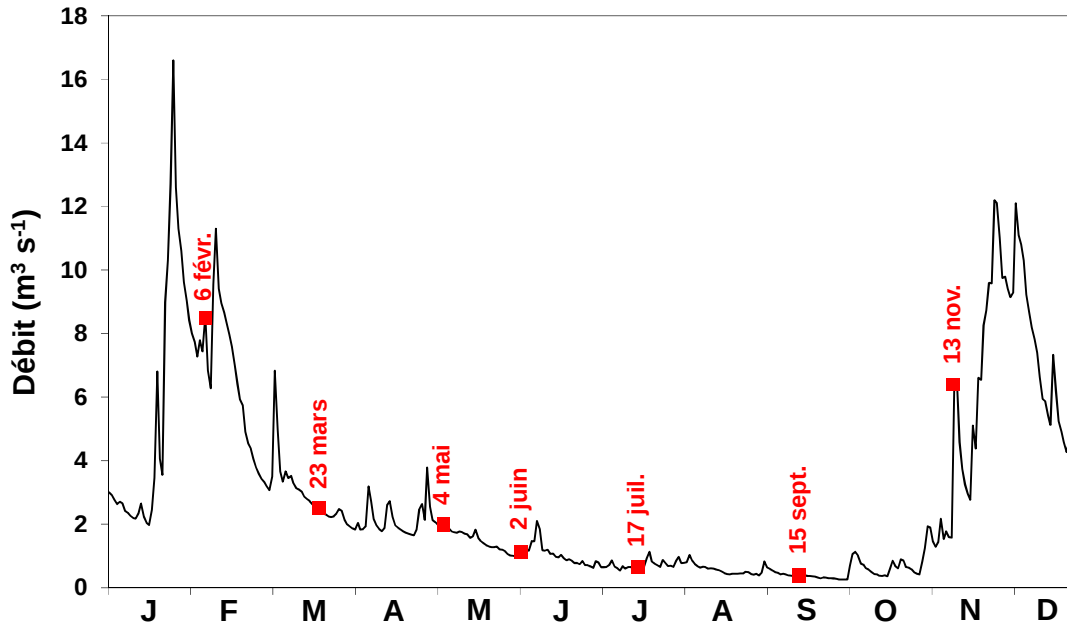


Figure III-2 : Variations saisonnières du débit fluvial à Taulé (■ dates des prélèvements).

III. Température de l'eau

La figure III-3 présente les variations saisonnières de la température dans l'estuaire.

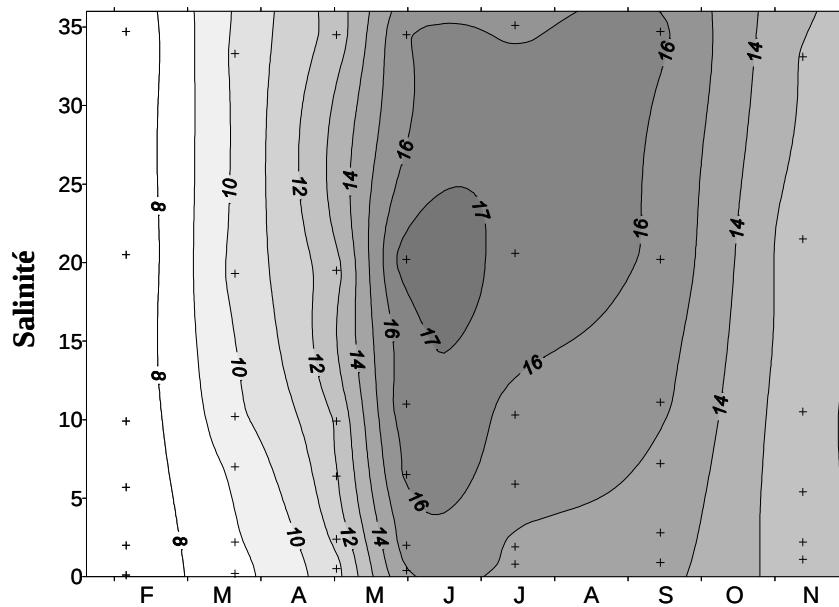


Figure III-3 : Variations saisonnières de la température le long du gradient salé pour l'année 2009.

Au cours de l'année 2009, les températures sont comprises entre 7,1 et 17,6°C. Les températures sont faibles en hiver puis elles augmentent progressivement au printemps pour

atteindre un maximum au mois de juin. Elles diminuent ensuite progressivement jusqu'à la fin du cycle saisonnier.

Les variations de température le long du gradient salé sont faibles et la plupart du temps inférieures à 2°C exceptées au mois de juillet où elles atteignent 2,6°C.

IV. pH

Les variations du pH peuvent influencer de façon plus au moins importante la spéciation et la distribution des éléments traces métalliques dans les milieux aquatiques. Elles peuvent aussi jouer un rôle dans l'absorption biologique des métaux (Campbell et Stokes, 1985).

Le système carbonate, (CO_2 , H_2O ; HCO_3^- ; et CO_3^{2-}) joue un rôle majeur dans la régulation du pH de l'eau de mer. En effet, le pH de l'eau de mer résulte de sa composition ionique, et essentiellement de la présence des ions carbonates (CO_3^{2-}) issus de l'échange du dioxyde de carbone entre l'eau et l'atmosphère, ainsi que la dissolution du calcaire. Le pH des eaux marines de surface en équilibre avec l'atmosphère varie peu $8,2 \pm 0,1$. Il est affecté par des processus naturels qui déplacent les équilibres du système carbonate, comme le développement du phytoplancton, consommateur de CO_2 , ou la reminéralisation de la matière organique, productrice de CO_2 . Les variations du pH qui en résultent dépassent rarement 2 à 3 dixièmes d'unité de pH.

Dans les estuaires, le pH peut varier de façon plus importante du fait du mélange eau douce - eau de mer. En effet, la teneur et la composition en minéraux dissous dans les eaux douces sont très variables et plusieurs systèmes chimiques interviennent en complément des carbonates dans la fixation du pH, généralement inférieur à celui de l'eau de mer. De plus, l'accumulation des matières organiques d'origine continentale et la contamination par des rejets urbains ou industriels contribuent également à la modification du pH naturel (Aminot et Kérouel, 2004).

Les variations saisonnières du pH le long du gradient salé sont présentées sur la figure III-4. Au cours de l'année 2009, sur l'ensemble de l'estuaire, les valeurs du pH sont comprises entre 7,7 et 8,4. Le pH varie peu entre l'amont et l'aval. Il augmente légèrement des eaux fluviales aux eaux marines excepté au mois de novembre où la situation inverse est observée.

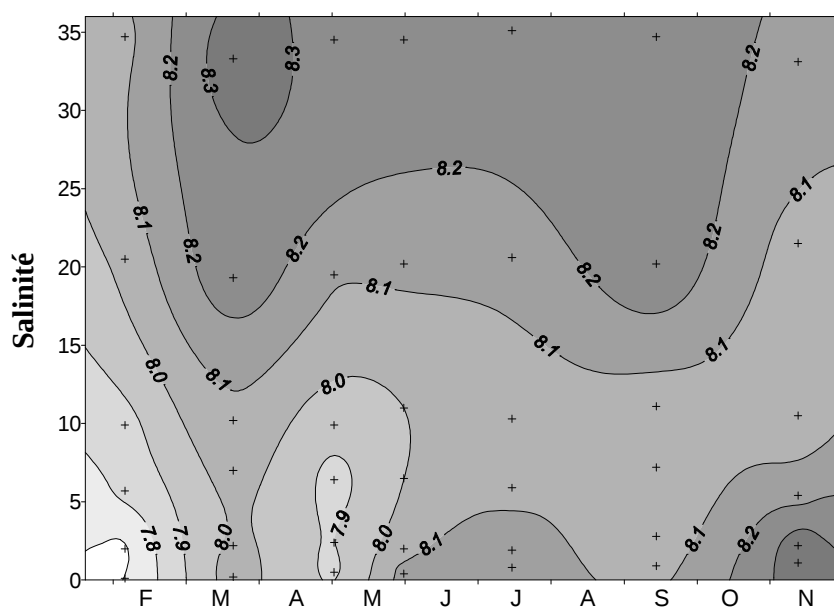


Figure III-4 : Variations saisonnières du pH sur l'ensemble de l'estuaire pour l'année 2009.

V. Éléments nutritifs

L'azote et le phosphore sont deux éléments essentiels à la croissance des végétaux. Ils sont fortement utilisés en agriculture sous forme d'engrais artificiels et naturels (épandage de lisiers et de fumiers). L'ensemble des quantités déversées ne sont que partiellement utilisées par les plantations et le reste est donc stocké dans les sols. L'azote et le phosphore sont alors susceptibles de rejoindre le réseau hydrologique suivant différents modes de transfert. Les nitrates sont peu retenus par les complexes argilo-humiques du sol mais ils percolent rapidement en profondeur pour rejoindre les nappes phréatiques (Buchet, 2000). Les phosphates s'adsorbent facilement sur les colloïdes et les hydroxydes métalliques. Leur exportation vers les eaux fluviales repose sur l'érosion mécanique exercée par les eaux de ruissellement sur les sols (Probst, 1992).

Les quantités de ces éléments apportés au milieu aquatique vont dépendre essentiellement des précipitations mais aussi de la nature du bassin versant. Par conséquent, ces deux éléments peuvent aussi être utilisés comme indicateurs de l'impact des activités agricoles sur l'estuaire.

V.1. Nitrate

Les concentrations en nitrate le long du gradient salé dans l'estuaire varient entre 7 et 830 μM (figure III-5).

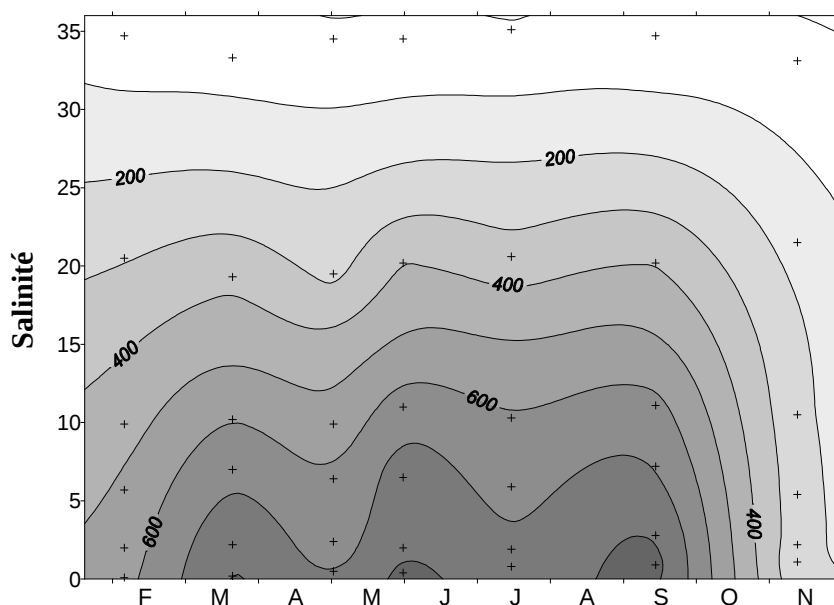


Figure III-5 : Variations saisonnières des nitrates (μM) le long du gradient salé pour l'année 2009.

Les teneurs en nitrate diminuent fortement entre l'amont et l'aval c'est à dire entre les eaux fluviales ($672 \pm 222 \mu\text{M}$) et les eaux marines ($29 \pm 16 \mu\text{M}$).

Les variations saisonnières montrent deux périodes distinctes. Une première période, de mars à septembre, est caractérisée par des teneurs élevées en nitrate. Ces fortes teneurs semblent pouvoir être reliées à la topologie du bassin versant. En effet, la Penzé présente un bassin versant agricole avec des réserves souterraines importantes riches en nitrate (Watremez et Talbo, 1999). Lorsque les précipitations sont moins importantes (de mars à septembre), la contribution de ces réserves souterraines augmente et par conséquent, les teneurs en nitrate augmentent.

La deuxième période est représentée par les mois de février, octobre et novembre où une diminution sensible des concentrations est observée. Celle-ci est probablement à relier aux fortes précipitations qui provoquent un effet de dilution de la concentration en nitrate.

V.2. Phosphate

Sur l'ensemble de l'estuaire, les teneurs en phosphate varient entre 0,04 et 4,38 μM (figure III-6).

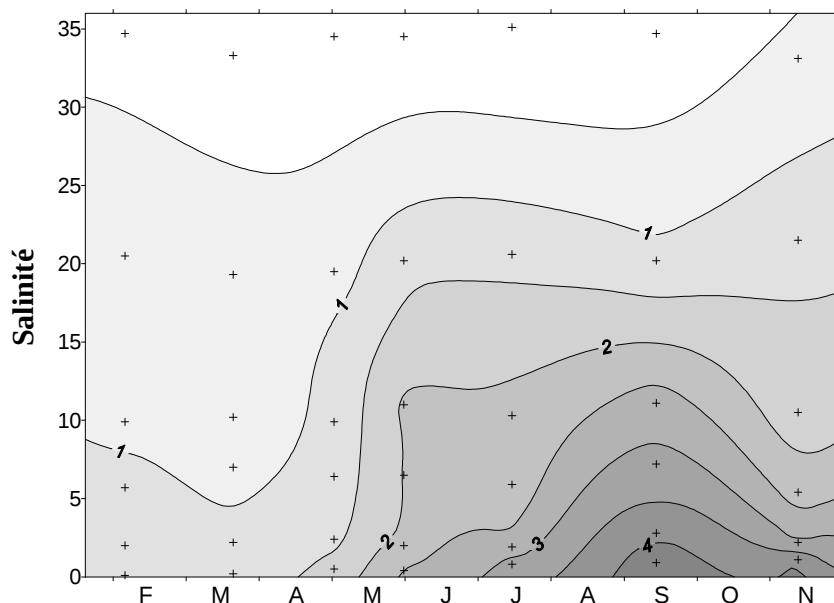


Figure III-6 : Variations saisonnières des phosphates (μM) le long du gradient salé pour l'année 2009.

Les concentrations en phosphate diminuent des eaux fluviales ($2,65 \pm 1,65 \mu\text{M}$) aux eaux marines ($0,24 \pm 0,21 \mu\text{M}$).

En hiver (février - mars) les teneurs sont inférieures à $1,5 \mu\text{M}$, puis elles augmentent au printemps pour atteindre des concentrations supérieures à $3,0 \mu\text{M}$ en été et en automne (juillet - octobre) pour des salinités inférieures à 5 environ. Ces teneurs élevées sont dues à l'augmentation des concentrations en phosphate dans les eaux fluviales. Elles peuvent être expliquées en partie, par les variations du débit de la rivière et de la pluviosité du bassin versant.

La figure III-7 représente les variations de la concentration en phosphate en fonction du débit de la rivière. Pour des faibles débits ($< 2 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$), les concentrations sont relativement élevées et présentent une variabilité importante ($1,72$ à $4,38 \mu\text{M}$). Les apports en phosphate via les eaux de ruissellement peuvent enrichir ponctuellement la faible quantité d'eau de la rivière. Pour des débits supérieurs à $2 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ (février - mars), les concentrations en phosphate sont faibles ($1,39$ et $1,21 \mu\text{M}$ respectivement) et varient peu. Dans ce cas, la dilution semble être le facteur le plus important pour contrôler les teneurs en phosphate. Un autre facteur

susceptible d'intervenir dans la régulation des teneurs en phosphate, est l'adsorption du phosphate sur les particules en suspension. L'érosion des sols lors de fortes précipitations a pour effet d'augmenter les teneurs en matière en suspension dans les eaux fluviales qui peut réduire la teneur en phosphate dans la colonne d'eau (Aminot *et al.*, 1993).

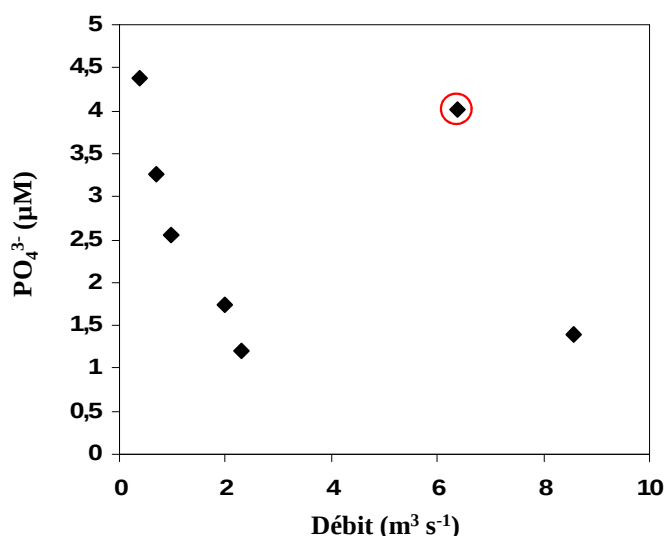


Figure III-7 : Variations du phosphate (μM) dans les eaux fluviales en fonctions du débit fluvial.

Il existe cependant une période de prélèvement (novembre $\circ$) qui ne suit pas ce comportement. En effet, malgré un fort débit ($6,4 \text{ m}^3 \text{s}^{-1}$), la concentration en phosphate est particulièrement élevée. Un autre paramètre que le débit semble donc intervenir dans la variation des concentrations en phosphate à cette période. Il est important de noter que la veille du jour de prélèvement les précipitations étaient abondantes (15 mm) ce qui a pu entraîner un fort lessivage des sols et par voie de conséquence un enrichissement en phosphate des eaux.

V.3. Comparaison avec les teneurs d'autres études

Les concentrations en éléments nutritifs présentées, dans ce travail, ont été comparées à celles d'études précédentes effectuées dans le même estuaire d'une part et à celles observées dans des systèmes caractérisés par des bassins versants de nature différente d'autre part. Ces derniers sont distingués selon la classification de Meybeck (1982) en systèmes « non pollués », « pollués » et « fortement pollués ». Le tableau III-1 présente les gammes de concentrations en nitrate et en phosphate dans ces différents systèmes.

Tableau III-1 : Concentrations en éléments nutritifs (μM) dans différentes rivières.

Eléments nutritifs	Penzé 2009	Rivières « non polluées » ^a	Rivières « polluées » ^a	Rivières « fortement polluées » ^a	Penzé 2001 ^b	Penzé 2008 ^c
Nitrate	213-830	0,3-3,8	8-163	200-700	610-1200	495-794
Phosphate	1,2-4,4	0,02-0,25	0,1-5,3	16-60	1,4-7,9	0,9-2,9

^a Meybeck, 1982; ^b Waeles, 2003; ^c Vandenhecke, 2009

Les teneurs en éléments nutritifs dans la Penzé sont particulièrement élevées par rapport à celles des rivières considérées comme « non polluées ». Les activités agricoles importantes le long du bassin versant sont vraisemblablement responsables des teneurs élevées en nitrate et en phosphate. Les éléments nutritifs ainsi apportés enrichissent de façon considérable les eaux estuariennes et soutiennent largement la production phytoplanctonique. A titre d'exemple, Maguer *et al.* (2004) ont montré que la présence de ces nutriments peut être à l'origine d'importantes efflorescences algales (*Alexandrium minutum*) dans l'estuaire de la Penzé.

Cependant, il est intéressant de noter que les concentrations en éléments nutritifs sont comparables à celles obtenues dans la rivière Penzé en 2008 et qu'elles sont moins importantes qu'en 2001. Ce phénomène peut s'expliquer par l'irrégularité des épisodes pluvieux d'une année sur l'autre. Le lessivage régulier des sols probablement limite l'accumulation de grandes quantités d'éléments nutritifs. Une utilisation plus raisonnée des engrais dans les cultures peut aussi être envisagée.

VI. Chlorophylle *a* et phaeopigments

La chlorophylle *a* est un pigment indispensable à la photosynthèse des algues. Elle est utilisée comme indicateur de la biomasse du phytoplancton. L'évolution des teneurs en chlorophylle *a* dans les eaux superficielles est essentiellement saisonnière, le développement phytoplanctonique étant tributaire des variations de l'énergie lumineuse, du stock de sels nutritifs, de la stabilité des masses d'eau et de l'intensité du broutage par le zooplancton. Le phytoplancton se développe de façon intense en milieu estuarien en raison des fortes teneurs en éléments nutritifs (Monbet, 1992). Lors de son développement, il peut assimiler de façon significative certains éléments métalliques (Luoma *et al.*, 1998). Il peut en résulter en particulier des modifications notables de la distribution et de la spéciation de ces éléments.

L'analyse de la chlorophylle *a* permettra de suivre l'évolution du développement phytoplanctonique lors du cycle annuel. Les variations saisonnières de la chlorophylle *a* le long du gradient salé sont présentées sur la figure III-8.

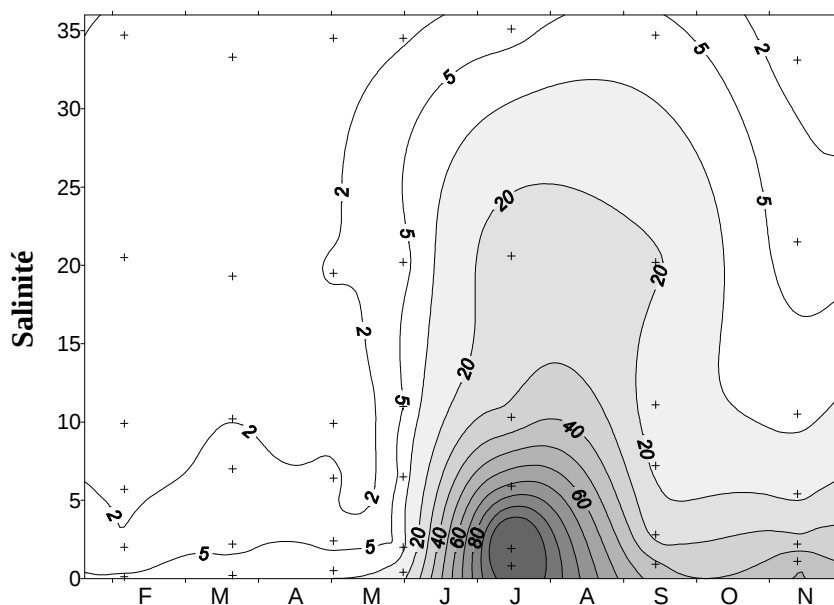


Figure III-8 : Variations saisonnières en 2009 de la chlorophylle *a* ($\mu\text{g L}^{-1}$) le long du gradient salé.

Les teneurs en chlorophylle *a* dans l'estuaire de la Penzé varient entre 0,5 et $130 \mu\text{g L}^{-1}$. Faibles en hiver, elles augmentent progressivement à la fin du printemps pour atteindre des valeurs maximales en été (juillet). A la fin de l'été (septembre) et en automne (novembre), les concentrations diminuent mais restent néanmoins relativement élevées.

Les concentrations en chlorophylle *a* diminuent des eaux fluviales aux eaux marines. Ces variations sont particulièrement marquées de juin à septembre. A cette période, les teneurs les plus élevées sont observées entre 0 et 25 de salinité. Cependant, la présence de chlorophylle *a* dans l'estuaire ne rend pas compte de l'état physiologique des populations phytoplanctoniques. Le rapport chlorophylle *a* / phaeopigments est un bon indice de l'état de dégradation des populations.

La figure III-9 présente les variations saisonnières du rapport chlorophylle *a* / phaeopigments le long du gradient salé.

En hiver, au printemps et à la fin de l'automne, le rapport est faible ($<1,2$). Les fortes concentrations de chlorophylle *a* rencontrées en amont ($0 < S < 10$) (Figure III-8) sont donc probablement liées à l'apport de végétaux terrestres par la rivière.

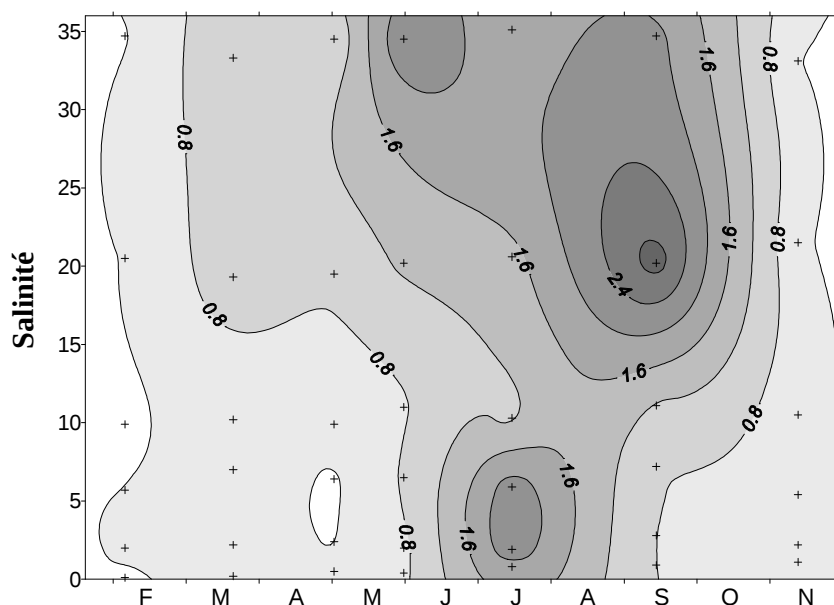


Figure III-9 : Variations saisonnières du rapport chlorophylle *a* / phéopigments le long du gradient salé.

En été les valeurs supérieures à 1,6 en aval du système, dans la zone peu turbide ($S > 15$), peuvent être reliées au développement local du phytoplancton. Cependant, le rapport chlorophylle *a* / phaeopigments reste relativement faible en cette saison ce qui témoigne d'un état physiologique moyen du phytoplancton lors de nos prélèvements menés en 2009. En comparaison, des valeurs supérieures à 4 (maximum 8,5) ont pu être observées lors d'études précédentes menées dans ce système (Waeles, 2003; Vandenhecke, 2009).

VII. Matière en suspension (MES)

En milieu estuarien, les particules en suspension proviennent de diverses sources (Salomons et Forstner, 1984). Elles ont pour origine l'érosion côtière et continentale, la production *in-situ* par des processus chimiques et biologiques, les échanges avec l'atmosphère et les activités anthropiques (urbaines, industrielles) (Turner et Millward, 2002). Par conséquent, la matière particulaire est constituée d'un mélange hétérogène telles que :

- Les particules fluviales composées essentiellement de phases minérales d'origine lithogénique (silice, quartz, argile...), d'hydroxydes de fer et de manganèse et de débris organiques d'origine terrestre (acides humiques, acides fulviques, débris végétaux).
- Les particules apportées par les dépôts atmosphériques sont composées essentiellement de cendres.

- Les particules marines peuvent être d'origine biogénique (débris d'organismes marins, matière organique) ou inorganique (sédiment côtier, particules formées *in-situ* dans la colonne d'eau).
- Les particules générées dans l'estuaire par floculation, précipitation et production biologique (vivante ou non).

Les épisodes d'érosion et de sédimentation des particules sont contrôlés essentiellement par les mouvements de marée et les variations du débit de la rivière. Les particules apportées via ces divers processus ainsi que leur forte réactivité expliquent le fait qu'elles jouent un rôle clef dans les teneurs, la spéciation et le transport des éléments métalliques en milieu estuarien.

Les variations saisonnières de la matière en suspension (MES), dans l'estuaire de la Penzé, sont présentées sur la figure III-10. Les teneurs en MES varient de 2 à 1443 mg L⁻¹ sur l'ensemble de l'estuaire.

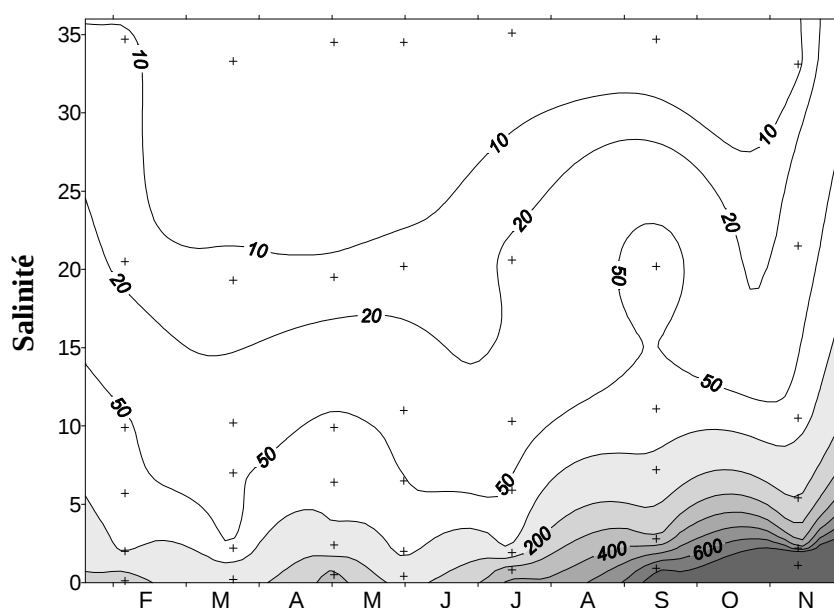


Figure III-10 : Variations saisonnières de la matière en suspension (mg L⁻¹) le long du gradient.

Le long du gradient salé, une forte diminution des teneurs en matière en suspension est observée de l'amont vers l'aval. Les concentrations les plus importantes en particules sont mises en évidence aux salinités inférieures à 5.

Peu de variations saisonnières sont visibles; il faut cependant remarquer l'existence de teneurs particulièrement élevées en matière en suspension en automne (septembre et

novembre). En effet, les teneurs en MES observées à cette période dépassent d'un facteur 4 environ, les teneurs maximales observées lors des études précédentes (Waeles, 2003; Vandenhecke, 2009). Elles sont vraisemblablement à relier à la forte pluviosité (lessivage des sols) observée à cette période de l'année.

Dans les estuaires macrotidaux, les processus physiques de mélange des eaux dans l'estuaire vont influencer la distribution de la matière en suspension. Dans un estuaire partiellement homogène comme celui-ci, il existe une circulation inversée entre la surface et le fond. Les eaux douces plus légères s'écoulent en surface tandis que les eaux marines plus denses remontent l'estuaire en profondeur en se mélangeant jusqu'à un point au-delà duquel toute la masse d'eau est fluviatile et les courants moyens dirigés vers l'aval. L'action commune de la stratification haline et de la déformation de l'onde de marée ont pour conséquence l'accumulation de particules en suspension au point d'intrusion de l'eau de mer; "le bouchon vaseux" est ainsi formé. L'intensité de ce dernier dépend alors du débit de la rivière et de la marée. Etant donné que lors de notre étude, les prélèvements ont été conduits dans des conditions de marée relativement constantes (mortes-eaux), l'accumulation de particules sera alors principalement liée à l'intensité des précipitations sur le bassin versant et au débit fluvial. En particulier, en période de fortes précipitations, le lessivage des sols peut être à l'origine d'un plus grand apport de particules.

VIII. Matière organique

La matière organique est divisée généralement en deux catégories : la matière organique dissoute (MOD) et la matière organique particulaire (MOP). La matière organique est caractérisée par un fort pouvoir complexant. De ce fait, elle peut intervenir sur la distribution des éléments métalliques en modifiant en particulier l'équilibre entre les différentes fractions : réellement dissoute, colloïdales et particulaires.

VIII.1. Matière organique particulaire (MOP)

En milieu estuarien, la MOP peut avoir deux origines. Les apports allochtones prédominent lorsque le débit est élevé et que la turbidité ralentit la croissance du phytoplancton. Toutefois, en période d'étiage, la MOP peut présenter une origine autochtone

qui est reliée à de fortes poussées phytoplanctoniques. En zone côtière et dans les panaches fluviaux, des dominantes terrigènes sont rencontrées plutôt en hiver et des développements intenses de phytoplancton sont observés au printemps et en été.

La MOP a été étudiée par l'analyse du carbone et de l'azote qui constituent les deux principaux composants élémentaires. Les teneurs peuvent être exprimées, soit en masse de carbone ou d'azote par unité de volume d'eau, soit en pourcentage massique de carbone ou d'azote dans la matière en suspension. Cette dernière unité permet d'avoir plus d'information sur la nature des particules, c'est la raison pour laquelle elle a été choisie.

Sur l'ensemble de l'estuaire, les teneurs en COP sont comprises entre 3 et 46% (Figure III-11).

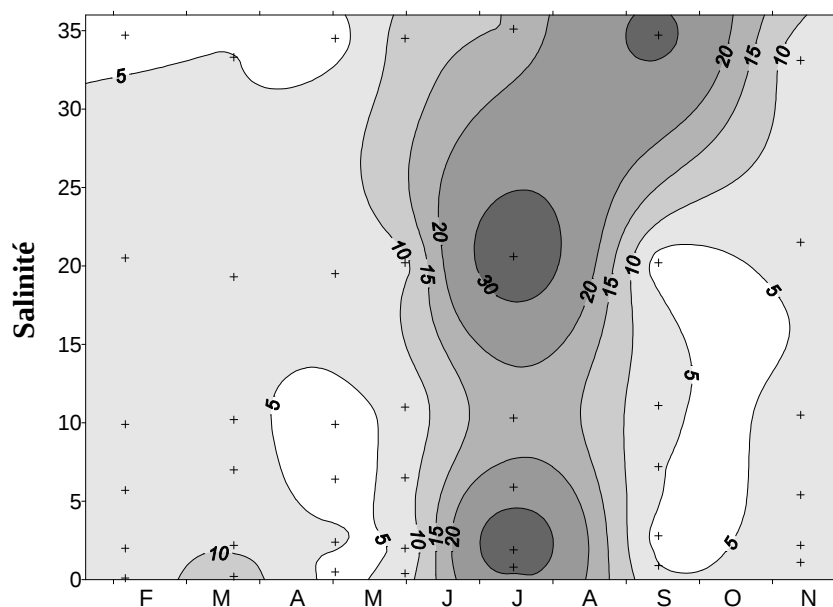


Figure III-11 : Variations saisonnières en 2009 du COP (%) le long du gradient salé.

Les teneurs en COP sont faibles en hiver et au printemps sur l'ensemble du gradient salé. En juin, une augmentation importante du COP est observée; elle se poursuit en été (juillet principalement) où le COP atteint des valeurs maximales. En automne, les valeurs du COP diminuent et atteignent des valeurs observées en hiver et au printemps.

Les teneurs en NOP sont comprises entre 0,3 et 6,6% (Figure III-12). Comme pour le COP, les particules de juin à septembre présentent des teneurs en NOP supérieures aux autres mois de l'année. Peu de variations des teneurs en NOP sont observées le long du gradient salé.

Suivant les saisons, les particules dans l'estuaire semblent présenter des caractéristiques différentes. Au cours de l'hiver, au printemps et en automne, la contribution de la matière organique au stock de particules est faible. Les particules seraient alors dominées par du matériel inorganique. En juin et en été, la contribution de la matière organique est plus importante; il existe une variation saisonnière marquée. Les fortes valeurs du COP et du NOP observées dans l'estuaire en juin et en été sont vraisemblablement liées au développement du phytoplancton. En l'absence de cette activité, les valeurs élevées en amont de l'estuaire proviennent probablement de matériel organique détritique.

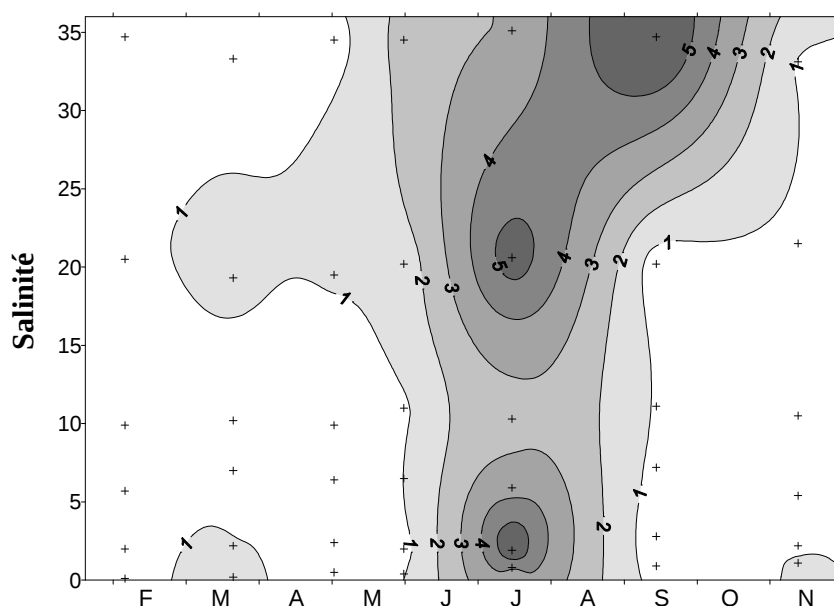


Figure III-12 : Variations saisonnières en 2009 du NOP (%) le long du gradient salé.

Afin de vérifier les observations précédentes, le rapport C/N a été calculé. Cet indice reflète l'état d'évolution de la matière organique particulaire ainsi que son origine. De faibles rapports C/N (<7) sont caractéristiques des populations phytoplanctoniques. Des rapports plus importants résultent, en particulier dans les zones estuariennes et côtières, d'apports terrestres ou d'une augmentation de la matière organique détritique provoquée par la dégradation du matériel vivant.

Les variations du rapport C/N sont présentées sur la figure III-13. Dans l'estuaire de la Penzé, les rapports C/N sont élevés en amont de l'estuaire et confirment la présence de matériel organique détritique. A l'inverse, de faibles valeurs du rapport C/N sont observées en été en aval de l'estuaire indiquant une contribution importante du phytoplancton à la matière organique particulaire.

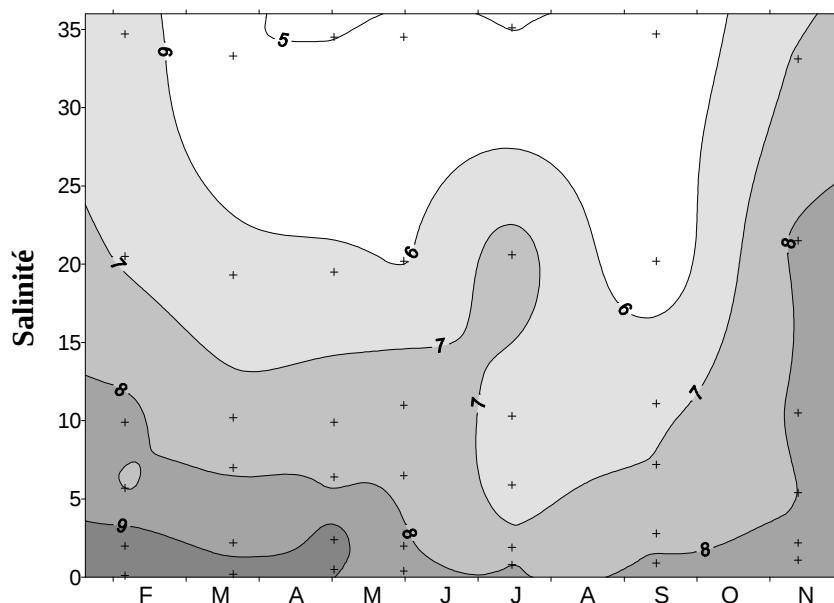


Figure III-13 : Variations saisonnières du rapport C/N des particules le long du gradient salé.

VIII.2. Matière organique dissoute (MOD)

En milieu océanique, la MOD est produite majoritairement « *in-situ* » par l'accumulation et la dégradation successive des produits synthétisés par le phytoplancton. En milieu côtier une part plus ou moins importante, en fonction de la période de l'année, a une origine terrestre. En effet, l'écoulement des eaux de pluie sur la matière organique des sols, elle-même originaire de la décomposition des plantes peut constituer une source importante.

Malgré l'extrême hétérogénéité de la MOD, il est tout de même possible de distinguer systématiquement des composés labiles caractérisables (biopolymères : acides aminés, protéines, lipides, sucres, polysaccharides...) et des groupes de composés réfractaires non caractérisables (géopolymères : substances humiques, ...). En milieu estuarien, les substances humiques peuvent représenter plus de 70% de la MOD. Il s'agit de composés de haut poids moléculaire élaborés par les microorganismes du sol et des eaux. Ils sont majoritairement représentés dans les eaux par les acides humiques, dérivés de la lignine et insolubles à pH 2, et par les acides fulviques provenant de la cellulose et solubles sur toute la gamme de pH. Ces substances sont des molécules qui possèdent une grande variété de groupements fonctionnels ainsi qu'une forte affinité pour les ions métalliques (Thurman, 1985; Voelker et Kogut, 2001) ce qui en fait des molécules incontournables dans les études de spéciation.

Vu l'importance des composés de type humique, une analyse de ces substances a été réalisée dans les différentes fractions colloïdales. Sur la base des travaux précédents ayant

examiné l'évolution de ce paramètre dans l'estuaire de la Penzé (Jegaden, 2010; Lataste, 2010), seuls les mois de mai, juillet et novembre ont été retenus pour l'analyse de cette matière organique dissoute réfractaire correspondant aux « substances humiques ». Dans le cas du COD seuls les mois de juillet et de novembre ont été retenus.

VIII.2.1. Substances humiques (SH)

Le terme SH « total dissous » représente la concentration en SH des échantillons filtrés à 0,22 μm , c'est-à-dire avant le début du fractionnement colloïdal. Les concentrations varient entre 0,1 et 4,8 mg C L^{-1} . Ces résultats sont en accord avec ceux observés dans le même système par Jegaden (2010). En effet, l'auteur a mesuré des variations entre 0,07 et 4,8 mg C L^{-1} . La figure III-14 présente le diagramme de mélange SH « total dissous » - salinité pour les trois périodes étudiées (printemps, été et automne). Le comportement est conservatif au printemps et en été, il est non conservatif en automne avec une légère anomalie positive. A cette période des teneurs en SH particulièrement importantes sont observées, avec des concentrations supérieures à 4 mg C L^{-1} dans la partie amont de l'estuaire (salinité <6).

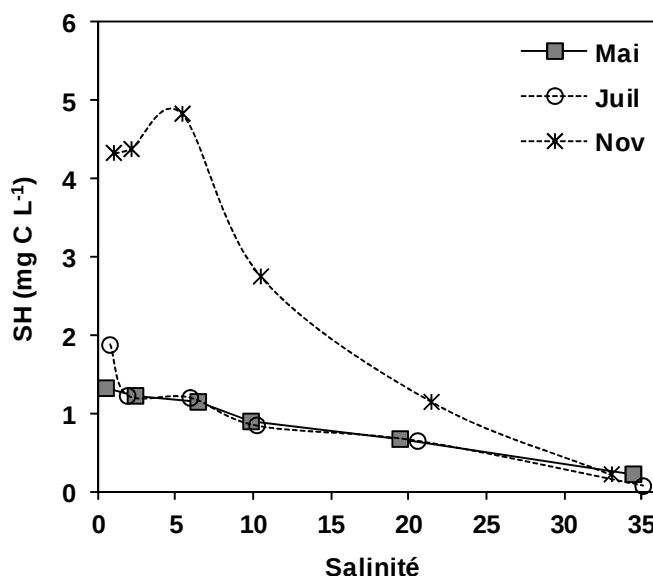


Figure III-14 : Diagramme de mélange de SH « total dissous » pour les trois différentes périodes de l'année.

Les fortes teneurs en SH reportées au mois de novembre 2009 doivent être liées aux conditions de pluviosité exceptionnelles enregistrées dans les 3 jours précédents notre prélèvement du 13 novembre (34 mm en 3 jours). La forte augmentation du débit fluvial à

l'occasion de ces précipitations (de 1,6 à 6,4 m³ s⁻¹) témoigne de l'intensité du phénomène et suggère un fort lessivage des sols du bassin versant. De plus, à cette période de l'année, ces sols sont riches en débris organiques et particulièrement en substances de type humique qui se sont accumulées sur plusieurs semaines, avant que les premières précipitations significatives de l'automne ne se produisent.

La figure III-15 présente les variations des concentrations en SH dans les différentes fractions colloïdales en fonction de la salinité pour les trois périodes retenues. La concentration en SH nommée « réellement dissoute » correspond à la fraction <5 kDa (environ <2,5 nm). Les différentes fractions qui se trouvent entre celle-ci et celle obtenue après filtration à 0,22 µm représentent les fractions colloïdales. Nos résultats montrent que, au printemps, les substances humiques se présentent majoritairement sous forme de macromolécules organiques d'une taille supérieure à 300 kDa. En Juillet et en novembre, les SH sont par contre trouvées significativement sur l'ensemble du spectre colloïdal.

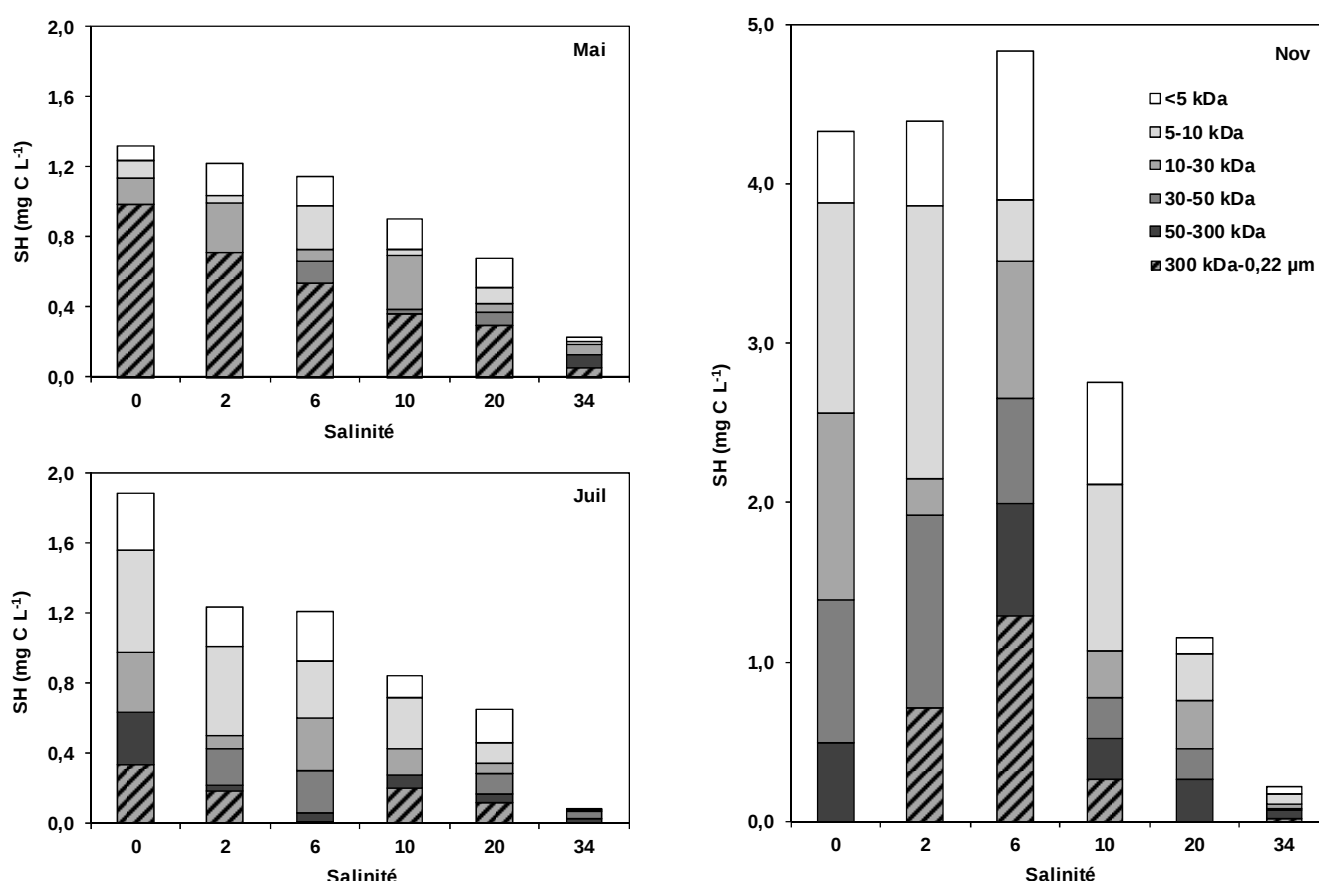


Figure III-15 : Distribution des différentes fractions colloïdales des SH le long du gradient salé pour les mois de mai, juillet et novembre.

Afin d'examiner de façon synthétique la distribution colloïdale des SH, des regroupements de fractions ont été effectués (Figure III-16). La fraction 50 kDa-0,22 μ m regroupe les colloïdes de haut poids moléculaire, la fraction 5-50 kDa correspond aux colloïdes de bas poids moléculaire et la fraction <5 kDa représente les SH appartenant au pool réellement dissous.

Les substances humiques sont présentes essentiellement dans la phase colloïdale (5 kDa-0,22 μ m); celle-ci représente en moyenne $83 \pm 6\%$ ($n = 18$) du total dissous. Les formes réellement dissoutes ne contribuent que pour $17 \pm 6\%$ ($n = 18$). Les rapports « formes colloïdales / réellement dissoutes » sont relativement constants le long du gradient salé et ne montrent pas de variations saisonnières marquées.

Bien que la proportion colloïdale / réellement dissous varie peu entre les trois saisons, il n'en va pas de même pour le fractionnement suivant les classes de taille. Ainsi au printemps (mai), il est clairement noté que les gros colloïdes (50 kDa-0,22 μ m) sont les plus abondants. En effet, la contribution de cette fraction colloïdale est élevée, $53 \pm 13\%$ ($n = 6$) en moyenne. Pour les mois de juillet et novembre, par contre, ce sont plutôt des colloïdes de petite taille qui dominent la spéciation physique des substances humiques. La fraction 5-50 kDa représente alors $57 \pm 10\%$ ($n = 6$) et $61 \pm 15\%$ ($n = 6$) de la fraction totale dissoute pour les mois de juillet et novembre respectivement.

Les acides humiques et fulviques qui représentent l'essentiel des substances humiques en milieu estuarien sont caractérisés par des masses moléculaires comprises entre 1 kDa et 100 kDa (Guo et Santschi, 2007). Ainsi, Les différences saisonnières observées dans l'estuaire de la Penzé pourraient s'expliquer par un niveau d'agrégation supérieure des substances humiques au printemps par rapport aux autres périodes.

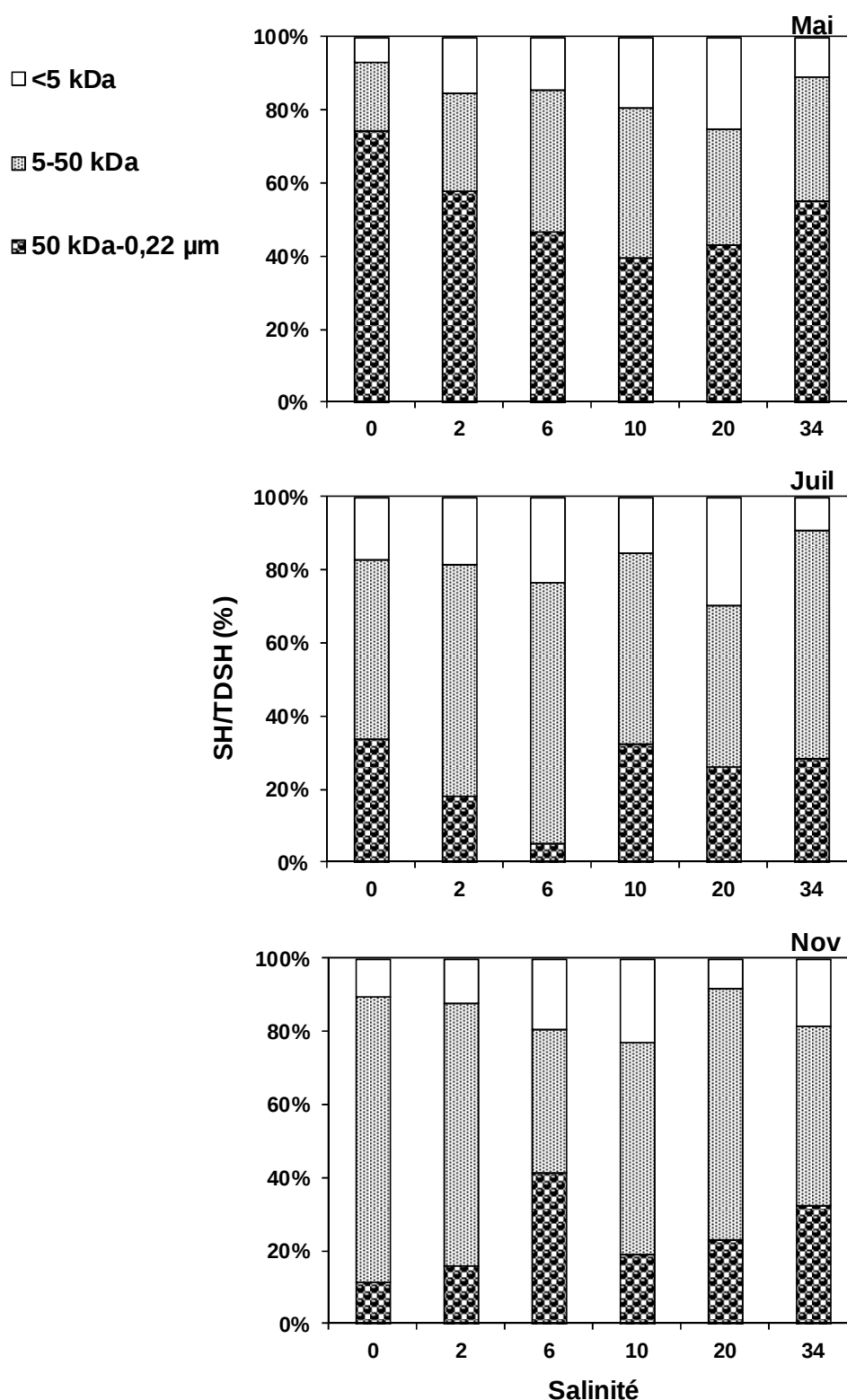


Figure III-16 : Répartition des SH (en %) entre les fractions colloïdales de haut poids moléculaire (50 kDa-0,22 µm), les fractions colloïdales de bas poids moléculaire (5-50 kDa) et la fraction réellement dissoute (<5 kDa) en fonction de la salinité.

VIII.2.2. Carbone Organique Dissous (COD)

Les teneurs en COD ont également été déterminées dans les différentes fractions colloïdales comprises entre 5 kDa et 0,22 μm . La figure III-17 présente la distribution de ce paramètre (traits gras) en fonction de la salinité. A titre comparatif, les concentrations en SH dans les mêmes fractions colloïdales (traits fins) sont également présentées.

Au mois de juillet, les valeurs de COD total sont relativement faibles et inférieures à 3 mg C L⁻¹. Au mois de novembre, les valeurs en COD sont par contre élevées et dépassent les 4 mg C L⁻¹ pour des salinités allant jusqu'à 20.

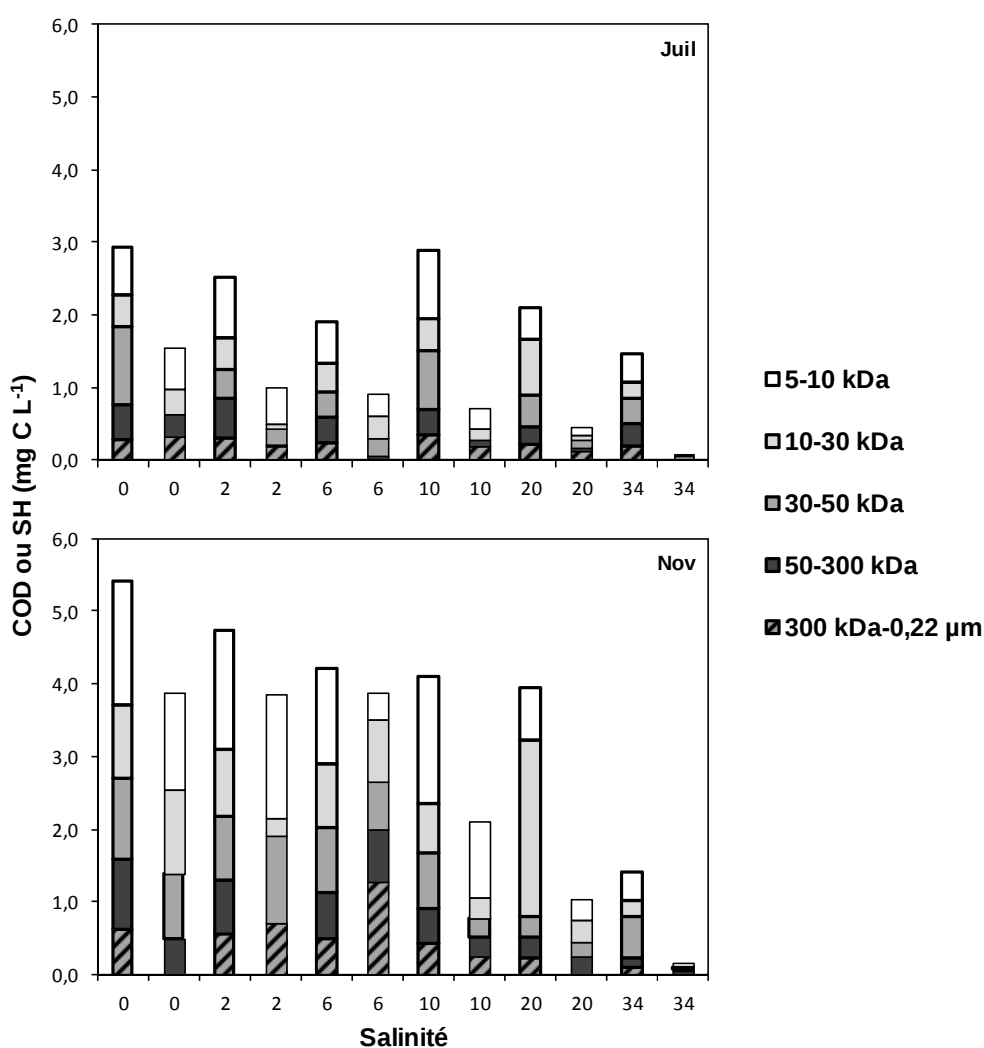


Figure III-17 : Répartitions du COD (traits gras) et des SH (traits simples) en mg C L⁻¹ dans les différentes fractions colloïdales le long du gradient salé.

Afin de caractériser la nature (labile ou réfractaire) de la matière organique, les variations des rapports SH/COD correspondant aux deux différentes périodes ont été analysées (Figure III-18). Les SH représentent entre 6 et 93% de la matière organique dissoute dans l'estuaire de la Penzé. En été, le rapport SH/COD diminue entre l'amont de l'estuaire (56%) et les eaux marines (6%). En novembre, une augmentation entre l'amont de l'estuaire et 6 de salinité (93%) est observée puis une rapide diminution vers les eaux marines (15%) est constatée. Les résultats montrent clairement que la part de la matière organique réfractaire est beaucoup plus importante au mois de novembre (15 à 93%) qu'au mois de juillet (6 à 64%).

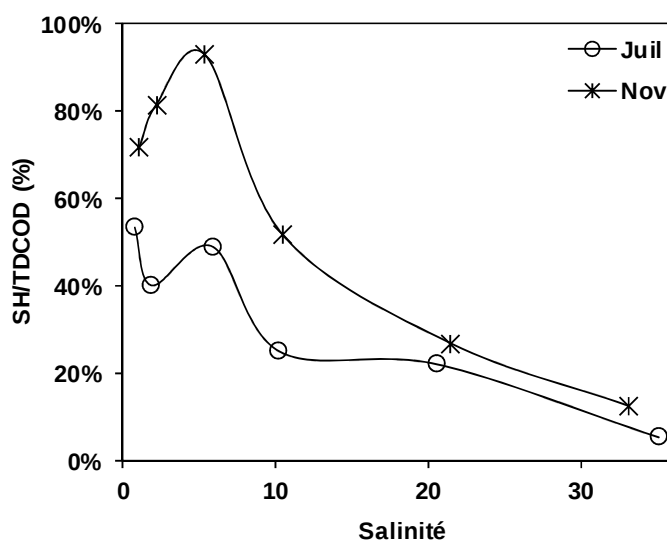


Figure III-18 : Variation du rapport SH/COD (fraction totale dissoute) le long du gradient salé.

IX. Fer

Dans les systèmes estuariens, le fer est généralement abondant et très réactif. A ce titre, il peut influencer le devenir des autres éléments métalliques (Boust *et al.*, 1999; Ouddane *et al.*, 2001). Dans ce contexte, un fractionnement colloïdal identique à celui proposé pour la matière organique dissoute et pour les éléments métalliques (Cu, Cd et Pb) qui font l'objet de ce travail, a été effectué. Sur la base des travaux précédents dans le système (Waeles, 2003), seuls les mois de février, mai, juillet et novembre ont été retenus pour l'analyse du fer dissous dans les différentes fractions colloïdales.

Les teneurs en fer « total dissous » varient entre 160 et 1800 nM. Elles sont relativement élevées par rapport aux teneurs observées précédemment (12 à 840 nM) dans le même système (Waeles, 2003). Ces teneurs sont mêmes supérieures à celles observées dans la

Seine (120-1050 nM) par Boust *et al.* (1999). Les teneurs élevées en fer dissous reportées au mois de novembre doivent être liées aux conditions de pluviosité exceptionnelles mentionnées dans la section précédente et ayant entraîné un lessivage intense des sols du bassin versant.

La figure III-19 présente les diagrammes de mélange fer - salinité pour les quatre périodes étudiées. Le métal montre, à toutes les saisons, un comportement non conservatif avec une forte anomalie négative des concentrations. Cette anomalie, caractéristique du comportement du fer dissous en milieu estuarien, indique une redistribution du métal vers la phase particulaire.

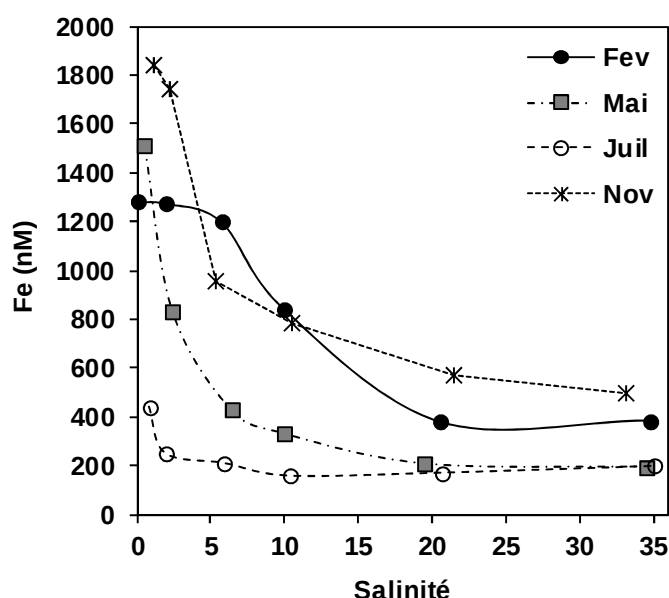


Figure III-19 : Diagramme de mélange de fer total dissous - salinité pour les différentes périodes de l'année.

La figure III-20 présente les variations des concentrations en fer dans les différentes fractions colloïdales en fonction de la salinité pour les quatre périodes. La concentration en fer nommée « réellement dissoute » correspond à la fraction <5 kDa (environ <2,5 nm). Les différentes fractions qui se trouvent entre celle-ci et celle obtenue après filtration à 0,22 μm représentent les fractions colloïdales.

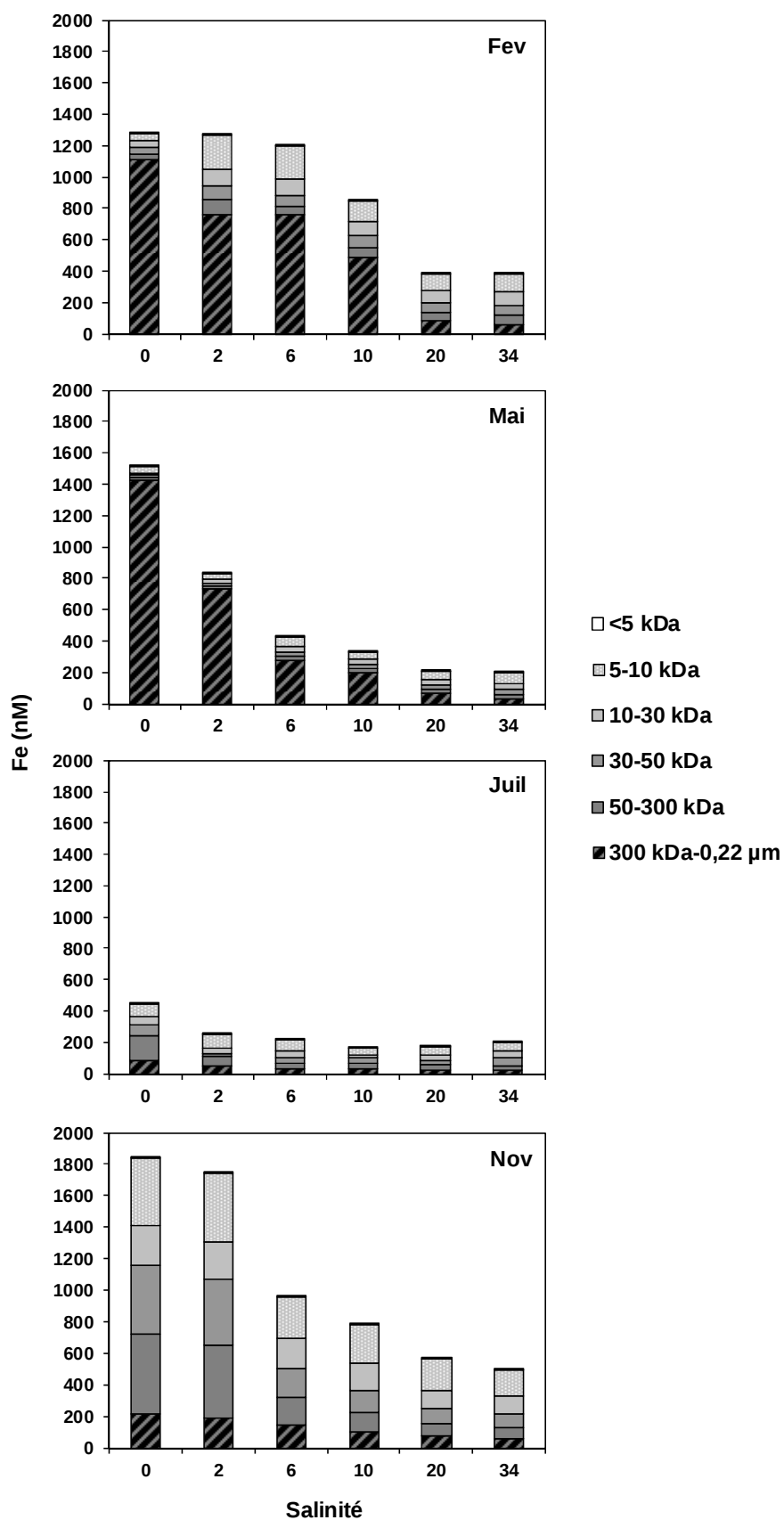


Figure III-20 : Concentrations en fer dans les différentes fractions colloïdales le long du gradient salé pour les quatre mois étudiés.

Le fractionnement colloïdal met clairement en évidence une répartition du fer différente en fonction des périodes de l'année. En février et en mai, les colloïdes de grande taille (50 kDa-0,22 µm) sont dominants et représentent en moyenne $62 \pm 23\%$ ($n = 12$) du fer dissous. En juillet et en novembre, ce sont au contraire les petites fractions (5-50 kDa) qui sont largement majoritaires puisqu'elles représentent $66 \pm 9\%$ ($n = 12$) du métal dissous. Ces variations saisonnières sont proches de celles observées pour les substances humiques. La mobilisation accrue du métal à cette saison doit très probablement trouver son origine dans la mobilisation des substances organiques réfractaires. De nombreux travaux menés en milieu fluviaux ont, en effet, montré la capacité des composés de type humique à s'adsorber sur les oxydes de fer formant ainsi des composés organo-minéraux très stables (Tipping *et al.*, 2002).

X. Conclusion

L'estuaire de la Penzé est un estuaire macrotidal. Il est caractérisé par la présence d'un bouchon vaseux important. Lors de nos prélèvements menés pendant l'été et l'automne, des teneurs particulièrement importantes en MES ont été observées dans la partie amont du système. Les rapports C/N élevés à cette période (>8) indiquent qu'il s'agit vraisemblablement des particules d'origine allochtone et riches en matière organique détritique.

Les concentrations en nutriments (nitrate et phosphate) sont élevées. Ceci est sans doute à relier aux activités agricoles sur le bassin versant. Il faut noter cependant que les teneurs sont très proches de celles mesurées en 2008 ce qui confirme une diminution sensible par rapport aux années précédentes. Ceci peut être le résultat d'une utilisation plus raisonnée des engrais sur les cultures. En ce qui concerne le phosphate, il est à remarquer la présence de teneurs particulièrement élevées dans la période automnale. Ceci est à relier à la forte pluviosité à cette période et à une voie d'apport préférentielle par lessivage.

Les variations du rapport chlorophylle *a* / phaeopigments ont montré que la production phytoplanctonique dans l'estuaire de la Penzé était peu marquée au cours de l'année 2009. Cependant, la production la plus intense est observée à mi-estuaire et dans les eaux les plus marines durant la période estivale.

L'étude de la spéciation de la matière organique dissoute a permis de mettre en évidence tout d'abord, que la matière organique réfractaire (SH) représente entre 6 et 93% du COD; les valeurs les plus importantes étant relevées pendant la période automnale. A cette période automnale, un apport particulièrement important de substances humiques, mobilisées depuis les sols du bassin versant, a aussi été mis en évidence. A cette même période, le fer dissous est présent à de fortes teneurs et montre une répartition colloïdale proche de celle des substances humiques. Ceci suggère une mobilisation concomitante du métal et des SH depuis les sols du bassin versant et la présence importante de composés organo-minéraux dans les eaux fluvio-estuariennes.

Chapitre IV
*The removal of colloidal Pb during estuarine mixing:
seasonal variations and importance of iron oxides and
humic substances*

Virginie Tanquy^{a,b}, Matthieu Waeles^{a,b,*}, Julien Gigault^d, Jean-Yves Cabon^{a,c}, François Quentel^{a,c} and Ricardo D. Riso^{a,b}

^aUniversité Européenne de Bretagne, Brest, France

^bUniversité de Bretagne Occidentale, IUEM, LEMAR, UMR-CNRS 6539, Equipe Chimie Marine, place N. Copernic, 29280 Plouzané, France

^cUniversité de Bretagne Occidentale, UMR-CNRS 6521, 6 avenue V. Le Gorgeu, CS 93837, 29238 Brest Cedex 3, France

^dLaboratoire de Chimie Analytique, LCABIE, UMR CNRS 5034, Université de Pau et des Pays de l'Adour, Avenue de l'Université, BP 1155, 64013 Pau, France

* corresponding author : waeles@univ-brest.fr

Marine and Freshwater Research, *in-press*.

Publiée en Avril 2011(Voir en annexe) **2011, 62(4)** 329-341.

Les travaux concernant le plomb dans l'estuaire de la Penzé ont fait l'objet d'un article accepté pour publication (actuellement sous-presse) dans la revue *Marine and Freshwater Research*. Un résumé en français est présenté ci-dessous suivi de la publication. A la fin de ce chapitre, un bilan annuel des flux de métal est présenté pour les différentes fractions de taille (particulaire, colloïdale et réellement dissous). Le détail des calculs des flux est également détaillé.

Résumé :

Lors de ce travail, les teneurs en plomb, dans sept fractions colloïdales, ont été déterminées dans l'ensemble de la zone de mélange de l'estuaire de la Penzé sur l'année 2009. L'objectif était d'apporter des explications concernant les mécanismes responsables de l'élimination du plomb dissous ($<0,45 \mu\text{m}$) lors du mélange des eaux dans l'estuaire. Nos résultats ont montré que le plomb est généralement associé aux colloïdes de grande taille ($>300 \text{ kDa}$) et que l'élimination du métal dissous se produit entre 0 et 10 de salinité. Cette élimination concerne l'ensemble des fractions colloïdales dans lesquelles le plomb est présent de façon significative. Du fait que le fractionnement colloïdal du plomb est fortement lié à celui du fer dissous et des substances humiques, l'élimination du métal dans la zone de mélange est vraisemblablement provoquée par la floculation des complexes organominéraux. Il a été montré également que les premières précipitations automnales constituent une période très importante dans la mobilisation du métal depuis les sols du bassin versant. Lors de cette période de l'année, la mobilisation du plomb (et du fer) est accentuée par la mobilisation concomitante des substances humiques. Cette dernière est responsable d'une association du métal avec des colloïdes de plus faible poids moléculaire (30-300 kDa).

Abstract

In this study, seven colloidal fractions of lead were analysed along the mixing zone of the Penzé estuary over the year 2009 with the aim to give some insights in the mechanism that remove the metal from the <0.45- μm fraction. According to our results, Pb was generally found as large colloids (over 300 kDa) and was removed in the salinity range 0-10 from all the size fractions where it was significantly found. Because the colloidal fractionation of Pb was strongly linked to that of Fe and humic substances (HS), the removal of lead in the mixing area must occur under flocculation of organomineral complexes. A key period corresponding to the first strong autumnal precipitations was also revealed in this work. At this time of the year, the mobilisation of Pb (and Fe) from catchment's soils is enhanced by the mobilisation of HS and the metal is associated with smaller colloids (30-300 kDa).

Keywords: Pb; colloids; estuarine waters; seasonal variations; Fe; humic substances

I. Introduction

The removal of total dissolved Pb during estuarine mixing, although not systematic, has been observed in most of the estuaries (Danielsson *et al.*, 1983; Windom *et al.*, 1985; Windom *et al.*, 1988; Chiffoleau *et al.*, 1999; Monbet, 2006; Waeles *et al.*, 2007; Waeles *et al.*, 2008). The role of Fe oxides as an efficient scavenger for Pb has been relatively well identified (Spencer *et al.*, 1980; Windom *et al.*, 1988; Dehairs *et al.*, 1989; Baeyens, 1997; Jiann *et al.*, 2005). However, different statements have been given about the exact mechanism involved. Some authors indicated an adsorption of dissolved Pb onto particles (Windom *et al.*, 1985; Chiffoleau *et al.*, 1999; Monbet, 2006). According to the study of (Elbaz-Poulichet *et al.*, 1984), incorporation of lead in the particulate phase in the Gironde estuary may ensue from two processes: in the tidal estuary, Pb is adsorbed onto particles due to the increase in turbidity and in the specific surface area, whereas in the lower estuary, organic Pb associated with Fe-Mn hydrous oxides is coagulated. In their study of the Bang Pakong estuary, (Windom *et al.*, 1988) suggest that incorporation of Pb in the particulate phase occurs via the oxidation of Fe(II) to Fe(OH)₃ and/or the decrease of solubility of Fe(OH)₃. Thus, and contrarily to the statements of (E.A. Boyle *et al.* 1977) and (Sholkovitz *et al.*, 1978), they do not consider the flocculation of colloids to be the mechanism that remove Fe in their system.

Only a few reports exist on the colloidal distribution of Pb in estuaries. Some of them have focused on its variations along the salinity gradient (e.g. Benoit *et al.*, 1994; Dai et Martin, 1995; Martin *et al.*, 1995) and have identified a removal of Pb from either the colloidal fraction of the truly dissolved phase according to the estuary of concern. Others have dealt with the nature and properties of Pb organic complexes (e.g. Muller, 1996; Kozelka *et al.*, 1997; Wells *et al.*, 1998). Wells *et al.* (1998) identified two classes of organic ligands in the Narragansett Bay. The stronger Pb-binding ligands resided in the colloidal phase while the weaker class of ligands occurred predominantly in the soluble phase (<1 kDa). On the contrary, Kozelka *et al.* (1997) observed the stronger class of organic ligands in the soluble phase (<8 kDa). The importance of the organic Pb complexation was underlined in these two latter studies because excess amounts of unbound strong ligands were found. However, in their study of various rivers and estuaries of the boreal Russia, Pokrovsky et Schott (2002) indicates that Pb-bearing colloids consisted mainly of iron oxy(hydr)oxides instead of organic complexes.

In this study, we investigated the variations of colloidal Pb in the Penzé estuary. The originality of this work resides on examining seven colloidal/dissolved fractions at seven different periods of the year whereas previous studies on estuaries generally considered two or three fractions and were focused on a unique survey. The objective was to examine the colloidal distribution of Pb and its changes along the whole salinity gradient and over the seasonal cycle. Three interrelated questions, with respect to (1) the control of Pb inputs by fluvial waters, (2) the nature of the colloids that complex Pb in estuaries and (3) the mechanism of Pb removal during estuarine mixing, guided our investigations.

II. Material and methods

II.1. Study area

The Penzé River (North Brittany, France) is 28 km long and has a drainage area of 141 km². The water discharge at the village of Penzé generally fluctuates from 0.5 to 14 m³ s⁻¹. The estuary is situated between the village of Penzé and the Morlaix Bay, covering a distance of ca. 10 km (Fig IV-1). It is subjected to a macrotidal regime as the tidal range fluctuates between 1.8 and 9.2 m. The residence time of water within the estuary, which is highly dependent on the tide and the river flow, varies between 2 days at spring tide and 13 days at neap tide and low discharge.

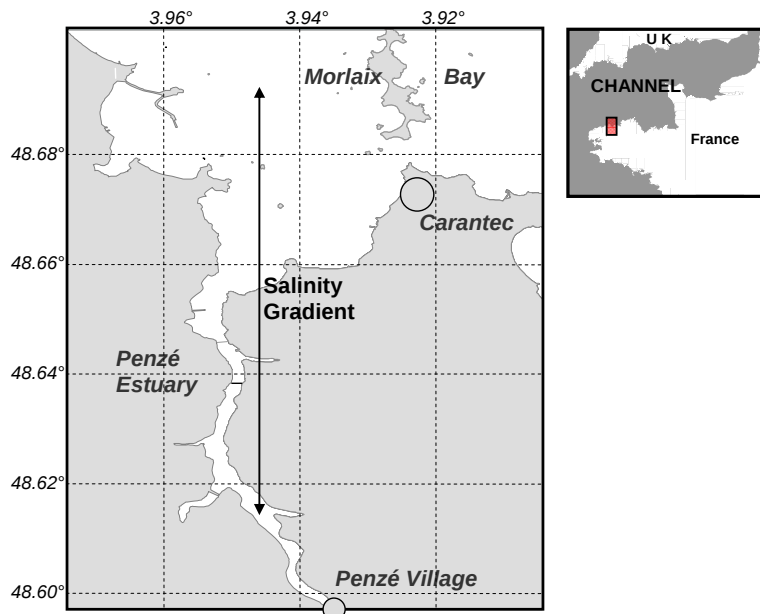


Figure IV-1: Study area and approximate position of the sampled salinity gradient (for more details on sampling stations positions, see figure IV-2).

II.2. Sampling

Seven cruises were conducted along the salinity gradient of the Penzé estuary over the year 2009. The sampling conditions (date, water discharge, tidal range, water temperature and SPM concentrations) are summarised in table IV-1. Sampling was conducted at neap tide, between the stand of tide and the first flood. Water samples were collected at 11 field stations (S_0 , S_1 , S_2 , S_4 , S_6 , S_8 , S_{10} , S_{14} , S_{20} , S_{26} , S_{34}) with the aim of covering the whole freshwater-seawater mixing zone (approximate salinity at S_i was i , see figure IV-2 for more details on sampling positions). Samples dedicated to analysis of total dissolved ($<0.45 \mu\text{m}$) Pb were collected at all stations whereas samples dedicated to the analysis of particles and of the various colloidal fractions were collected at S_0 , S_2 , S_6 , S_{10} , S_{20} and S_{34} . Sampling was performed from a Zodiac inflatable boat with 500 mL and 1 L HDPE Nalgene[®] bottles. Water was sampled by hand at ca. 0.5 m below the surface with the arm fully covered with a plastic glove (92 cm, Polysem[®]).

Table IV-1: Sampling dates and conditions; number in bracket for water discharge indicates the variation of this parameter during the 3 days before sampling.

Sampling date	Water discharge ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$)	Tidal Range (m)	T range ($^{\circ}\text{C}$)	SPM range (mg L^{-1})
6-Feb	8.6 (+1.3)	4.2	7.1-7.3	12-260
23-Mar	2.3(-0.1)	4.7	8.5-10.3	2.5-160
4-May	2.0(-0.6)	4.7	10.6-12.6	5.9-340
2-Jun	1.0(-0.1)	4.6	15.0-17.6	2.3-150
17-Jul	0.7(+0.0)	3.8	14.8-16.6	2.4-400
15-Sep	0.4(+0.0)	4.4	14.4-16.2	1.7-720
13-Nov	6.4(+4.6)	5.5	12.2-12.9	7.6-1400

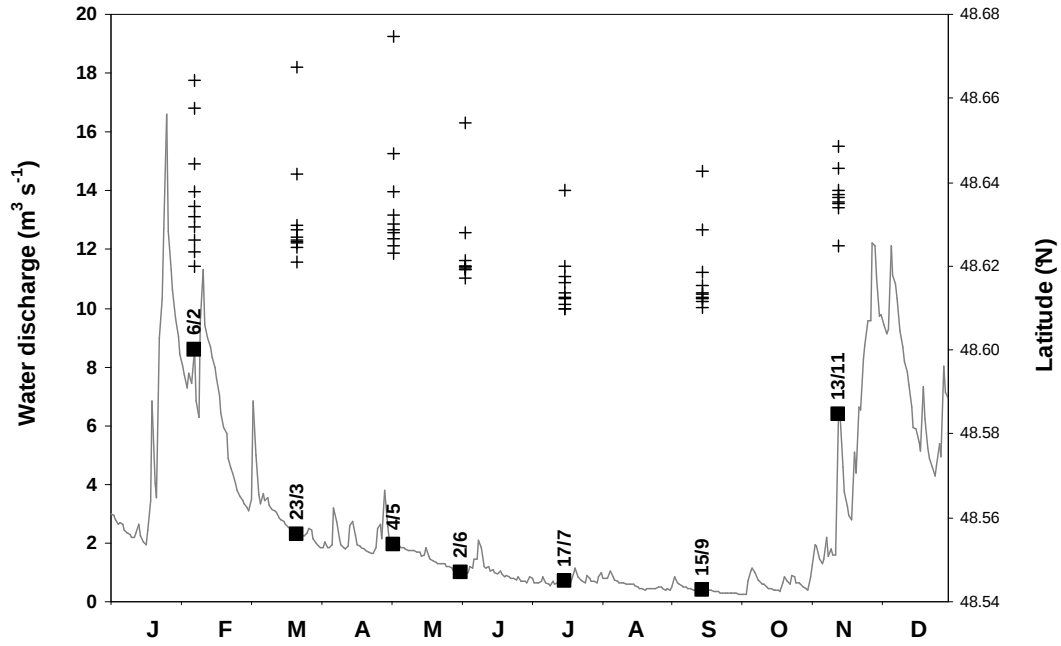


Figure IV-2: Variations of the water discharge of the Penzé estuary over the year 2009 (Penhoat field station, “Agence de l’eau Loire-Bretagne”). Black squares indicate dates of sampling (see also Table IV-1). Crosses indicate the position of each sampling stations along the salinity gradient.

II.3. Filtration

In the laboratory, the water samples were sequentially passed through 0.45 μm and 0.22 μm filters (HATF, Millipore). After each filtration, an aliquot of 50 mL was acidified at pH 2 (HCl suprapur, Merck) and stored till further analysis of the <0.45 and <0.22 μm fractions. The remaining aliquot of the 0.22 μm filtration (~350 mL) was stored in the dark at 6°C till application of the ultrafiltration method within 3 days (Chen et Buffle, 1996; Filella et Buffle, 1993). Membranes from the 0.45 μm filtration were introduced inside Teflon vials for further mineralisation and determination of total particulate Pb and Fe (PPb, PFe).

II.4. Ultrafiltration

II.4.1. Method principle

Isolation of colloidal matter by ultrafiltration can be conducted either using cross-flow or frontal filtration (Buffle et Leppard, 1995a). Since cross-flow necessitates large-volume samples (10-1000 L; (Guéguen *et al.*, 2002), we selected frontal filtration for its easy

handling. Frontal filtration was carried out in cascade (sequential) way as recommended by Lead *et al.* (1997) and Buffle et Van Leeuwen (1992) because this method, contrarily to parallel one, minimizes aggregation of colloids at the surface. We also used the concentration mode rather than the diafiltration mode (Wen *et al.*, 1996; Buffle et Chalmers, 1988). By using the concentration mode, a pressure is applied to push the sample to be filtered through the membrane. In order to minimize artefacts caused by coagulation of colloids at the membrane surface (Perret *et al.*, 1994), small concentration factors (3-13), and flow rates (1.5-4.5 mL min⁻¹) were used for this study. In addition, a stirring over the membrane was also applied for reducing concentration polarization effect due to the densification of macromolecules at the membrane surface (Burba *et al.*, 1998).

II.4.2. Sequential ultrafiltration processing

Sequential ultrafiltration from the <0.22 µm fraction was conducted using a 8200-Amicon[®]-stirred cell with 5 types of membrane. Nominal sizes of the membranes were 300, 50, 30, 10 (polyether sulfone, Biomax PB, Millipore) and 5 kDa (regenerated cellulose, Ultracel PL, Millipore). Samples were pushed through membranes using N₂ at a pressure varying from 0.4 to 1.8 bar according to filter nominal size and sample salinity. Pb and humic substances (HS) were analysed from each permeate acidified at pH 2 with HCl. Fe was analysed on each retentate (pH 2, HCl). Concentrations in the various size fractions were obtained by difference from analyses of the various permeates and by applying concentration factors. The concentration factors were calculated from each filtration by dividing the total volume processed by the retentate volume. It is worth noting that only 3 permeates contained Pb at levels lower than 2 pM which is the limit of quantification of the analytical method.

Prior to use all the membranes were washed and stood in Milli-Q RG[®] water for 24 h, then in diluted nitric acid (pH 1, HNO₃ suprapur[®], Merck) for 24 h, and finally rinsed several times and soaked in Milli-Q water during the last 72 h. After being used, they were immersed in 0.1 M NaOH (traceselect, Fluka) for 30 min, then washed and stood in Milli-Q water for 24 h before their storage at 6°C in ethanol-water (10:90) mixtures. Before sample set processing, the Amicon cell was abundantly washed with Milli-Q water, soaked in Milli-Q water for 2 days and in diluted nitric acid (pH 3) for 24 h. Then, it was rinsed and stood in Milli-Q water for 3 days. All sample manipulations and analyses were performed under a class 100 laminar flow hood.

II.4.3. Reproducibility and recovery

The reproducibility of the whole filtration-ultrafiltration procedure ($n = 3$) was tested on Pb content in the various fractions with a seawater sample collected in the Bay of Brest. 0.45 and 0.22 μm filtrations were carried out within 2h after sampling whereas ultrafiltration protocol was carried out after 24 h, 48 h and 72 h. Table IV-2 summarizes the results obtained following the analyses of Pb. The recovery of each procedure was determined by comparing the sum of the concentrations in the various fractions under 0.22 μm to the concentration measured in the <0.22 μm fraction. For 24, 48 and 72 h, recovery was 101, 102 and 108%, respectively. For the whole sample set ($n = 42$), recovery was $101 \pm 3\%$.

Table IV-2 : Testing of the reproducibility of the whole procedure for Pb content (nM) in the various colloidal fractions ($n = 3$, Seawater sample collected in the Bay of Brest).

	<0.45 μm	0.22 μm	0.45- 0.22 μm	0.22 μm - 300 kDa	300- 50 kDa	50- 30 kDa	30- 10 kDa	10- 5 kDa	<5 kDa
mean	0.130	0.116	0.014	0.068	0.007	0.004	0.018	0.017	0.011
s.d.	± 0.008	± 0.017	± 0.008	± 0.009	± 0.007	± 0.004	± 0.006	± 0.010	± 0.009

II.5. Pb, Fe and HS analyses in the colloidal fractions

Pb measurements in the various isolated fractions were determined by means of a stripping chropotentiometric (SCP) technique, i.e. constant current stripping analysis (CCSA), at a mercury film electrode (Riso *et al.*, 1997b). This method was selected for its low detection thresholds and because it is particularly well-suited for saline and organic-rich waters. Moreover, the reagent requirement is minimal thus preventing contamination of the sample. Details about the experimental electrochemical conditions together with precisions, reproducibility and results from certified reference material analyses are given in (Waeles *et al.*, 2008). Briefly, Pb was concentrated at the mercury film electrode by applying a potential of -1200 mV (vs Ag/AgCl, KCl 3 M) under stirring conditions (4130 rpm). Stripping consisted of the application of a 0.5 μA current. Analyses were made by spiking each sample three times with standards and the detection limit was 2 pM after 25 min. deposition time.

Fe analysis was performed with an ICPMS 7500ce from Agilent technologies (Tokyo, Japan), equipped with on-line octopole collision/reaction cell. Recommended gases are helium and hydrogen of 99.995% purity (Linde, Paris, France). The sample introduction

system consisted of a concentric nebuliser (Meinhard Associates, California, USA) and a Scott double pass spray chamber cooled to 2°C. Sampler and skimmer cones used were nickel ones. The operating conditions were optimised using a solution of 1 µg L⁻¹ of gallium, yttrium, thallium and cerium, with typical settings being: plasma power 1500 W, cooling gas flow 15 L min⁻¹, carrier gas 1.05 L min⁻¹. ⁵⁶Fe isotope was monitored on 5 replicates using an integration time of 0.05 s and 3 points per peak. Detection limit of the method was 0.16 µg L⁻¹. Only Four samples had Fe concentrations under the 0.53 µg L⁻¹ limit of quantification.

Humic substances were analysed by square-wave voltammetry at a static mercury drop electrode (Quentel *et al.*, 1986; Chanudet *et al.*, 2006). Briefly, after adding a small amount of Mo(VI) (10 µg L⁻¹) to the acidified (0.01 mol L⁻¹ HCl) sample in order to ensure the formation of the adsorbed complex, the sample is deaerated with nitrogen for 3 min and deposition at -300 mV (vs Ag/AgCl, KCl 3 M) is performed with stirring. After the deposition time (100-240 s), the stirring is stopped and, following a 20 s rest period, the scan is initiated in the negative direction. The operational parameter values used were frequency 50 Hz, step potential 1 mV and amplitude 50 mV. Concentrations were determined by standard additions of Suwannee River fulvic acid (IHSS, R 15101F) with an uncertainty lower than 5% and a detection limit of 6 µg C L⁻¹.

II.6. Analyses of PPb and PFe

To determine particulate lead and iron concentrations (PPb and PFe), 7 mL of HNO₃/HF (5:2) mixture was added to each of the filters. Then, the Teflon vials were placed on a Stuart block heater at 100°C until the acid mixture was evaporated to dryness. After repeating 3 times this procedure, 5 mL of 20% HNO₃ was added and each sample was heated at 100°C for 2 hours. The solution was then diluted with water to make up 100 mL before metal analysis by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS)

The metal concentrations in the digested solutions were determined by electrothermal atomic absorption spectrometry. A Perkin-Elmer SIMAA 6100 working in the single element monochromator mode was used for all atomic absorption measurements. End-capped pyrolytic coated graphite tubes equipped with integrated platforms were used. The inert gas was argon. Samples were delivered to the furnace using a Perkin-Elmer AS-800 auto-sampler and stored in acid washed polypropylene cups prior to injection. The light sources were Perkin-Elmer hollow cathode lamps. Calibration curves were drawn up and, when necessary,

solutions were diluted before measurements. Dilutions were carried out with calibrated Gilson Pipetman pneumatic syringes. For the determination of Fe a 2100°C atomization temperature was used whereas, for Pb, this temperature was set to 1800°C. No pretreatment step was used for the determination of metals in these different solutions. 10 µg of Pd, introduced as Pd(NO₃)₂, was used as a chemical modifier for Pb measurements.

II.7. S, T, SPM measurements

Salinity(S) and temperature (T) were in-situ measured with a WTW ProfiLine LF 197 probe (± 0.1 and 0.1°C , precisions). Suspended particulate matter (SPM) concentrations were determined by gravimetry on the 0.45 µm filter with an uncertainty lower than 5%.

III. Results

According to previous studies (e.g. Dai *et al.*, 1995), we refer to different size fractions as follows. “Total dissolved (TD) metal” indicates the fraction that passes through the 0.45 µm (or the 0.22 µm) membrane, “colloidal metal” corresponds to the 5 kDa-0.45 µm (or 5 kDa-0.22 µm) fraction whereas “truly dissolved metal” refers to the <5 kDa fraction.

Figure IV-3 displays the Pb concentrations in its distribution in the various fractions under 0.45 µm. Total dissolved Pb (<0.45 µm) fluctuated between 0.04 and 0.52 nM over the period of study. These concentrations were closed to the ones observed in 2001 with values in the range 0.04-0.62 nM (Waeles *et al.*, 2007). Concentrations were always decreasing along the salinity gradient. They were generally over 0.20 nM at salinity 0 whereas levels at salinity 34 were under 0.07 nM. Along the seasonal cycle, the highest concentrations were observed in February and November that correspond to period of higher discharge.

According to our results, Pb occurred mainly in the colloidal fractions and thus, truly dissolved concentrations were very low (i.e. in the range 2-16 pM). Colloidal forms of Pb represented $94 \pm 4\%$ ($n = 42$) of the <0.45 µm pool whereas truly dissolved Pb contributed only to $6 \pm 5\%$ ($n = 42$). Interestingly, the contribution of the truly dissolved fraction increased from $3 \pm 2\%$ ($n = 14$) at low salinities ($0 < S < 3$) to $11 \pm 5\%$ ($n = 7$) at salinities > 33 .

A further examination of the metal distribution shows that Pb was mainly associated with large colloids. The 300 kDa-0.22 µm fraction generally dominated the Pb speciation; a

third of the $<0.45\ \mu\text{m}$ pool being found in this fraction and a fifth in the $0.22\text{-}0.45\ \mu\text{m}$ one. However, the metal distribution in colloids was different in November. At this time, Pb occurred as smaller colloids and was principally observed in the range 30-300 kDa.

Concentrations of Fe varied very closely to that of Pb (Fig. IV-3). In February and May, Fe levels in the total dissolved fraction were in the range 200-1500 nM and concentrations decreased seaward. In July, concentrations were low, generally under 400 nM for total dissolved metal whereas in November, they were at their highest, with values close to 2000 nM at low salinities. Fe-Pb covariations are also illustrated by the very strong correlations found between the two particulate fractions of both metal ($\text{PPb(nM)} = 4.25 \cdot 10^{-4} \text{PFe(nM)} + 2.03$, $r^2 = 0.994$, $n = 42$) and between their total dissolved fractions ($\text{TDPb(nM)} = 2.5 \cdot 10^{-4} \text{TDFe (nM)} - 0.025$, $r^2 = 0.87$, $n = 24$). Fe colloidal distribution in the Penzé estuary also followed that of Pb. Fe was mainly found in the 300 kDa- $0.22\ \mu\text{m}$ (approximately a half) in February and May. As for Pb, Fe was observed in smaller fractions in July and November but some differences could be noted; Fe being also significantly observed in smaller colloids.

Humic substances concentrations in the total dissolved fraction varied within the range 0.09 to $4.8\ \text{mg C L}^{-1}$ (Fig. IV-3). They were relatively low in May and July (under $2\ \text{mg C L}^{-1}$) whereas much higher levels were detected in November. At this time, HS concentrations were above $4\ \text{mg C L}^{-1}$ in the upstream part of the estuary ($S < 6$). The colloidal distribution of HS was also variable. HS were rather found as large colloids in May and were observed in the whole size spectrum in July and November. Their occurrence in the truly dissolved fraction was $17 \pm 7\%$ ($n = 18$) for the 3 studied situations.

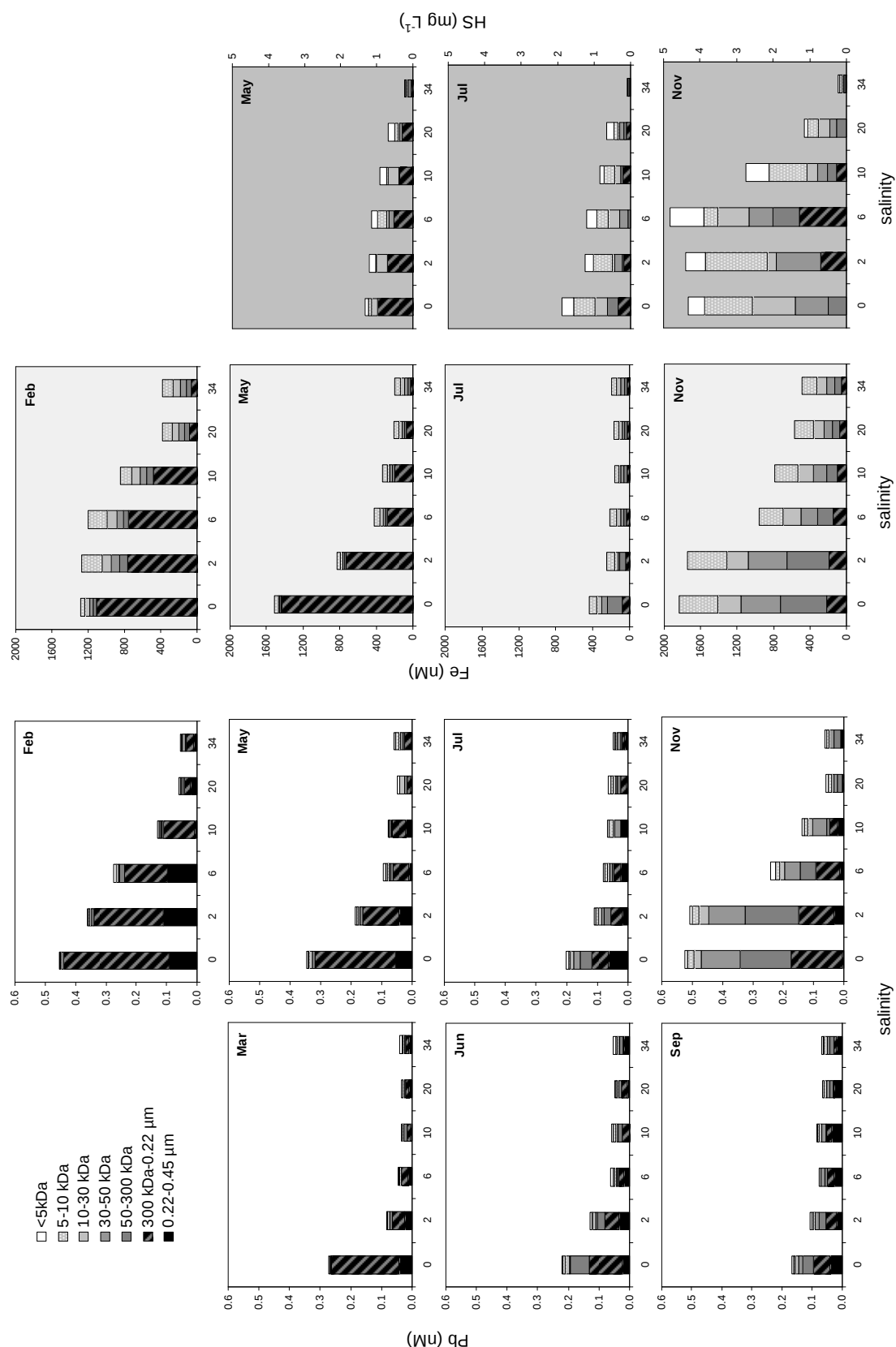


Figure IV-3: Distribution of Pb (white background), Fe (light grey background) and HS (grey background) in the various colloidal fractions. Pb was analysed in the seven fractions under 0.45 μm (filtrates), Fe was analysed in the five fractions between 0.22 μm and 5 kDa (retentates) and HS were analysed in the six fractions under 0.22 μm (filtrates).

IV. Discussion

IV.1. Colloidal distribution of Pb : comparison with literature data

The comparison of colloidal distribution of Pb in estuaries with literature data is limited because the few studies that have been conducted in such systems generally consider only one colloidal fraction (Benoit *et al.*, 1994; Martin *et al.*, 1995; Jiann *et al.*, 2005; Kozelka *et al.*, 1997). To our knowledge, the study by Wen *et al.* (1999) about the Galveston Bay is the only one that deals with 2 different colloidal fractions. Another difficulty in comparing the data is due to the nominal cut-off selected by the authors (1, 5 or 10 kDa) for distinguishing colloidal matter from truly dissolved compounds.

The strong association of Pb with colloids (as opposed to its low truly dissolved fraction) appears to be a general finding in estuarine waters. As an example, in the Venice Lagoon, colloidal Pb accounted for most (up to 94%) of the total dissolved metal (Martin *et al.*, 1995). In the Danshuei estuary, Jiann *et al.* (2005) also observed a high fraction of large colloidal Pb. In their study, Pb under 0.45 μm was mainly associated with colloids $>0.01 \mu\text{m}$ that corresponds approximately to 500 kDa (Guo et Santschi, 2007). In the Galveston Bay, Benoit *et al.* (1994) observed that colloidal concentration of Pb was almost the same as the Pb content in the total dissolved pool. In the same system, Wen *et al.* (1999) had also a high colloidal fraction for Pb ($\sim 65\%$ of the 0.45 μm filter passing pool). Wen *et al.* (1999) found that colloids above 10 kDa dominated the speciation of Pb at very low salinities ($S < 5$). However, and contrarily to our results, Pb in the remaining part of the estuary was more associated with small colloids (i.e. in the range 1-10 kDa). In the same way, Kozelka *et al.* (1997) observed in the South San Francisco Bay that Pb was preferentially associated with organic ligands of small molecular weight (under 10 kDa).

IV.2. Seasonal variations of Pb concentrations and colloidal distribution

Both concentrations and speciation of dissolved lead in the estuary are highly dependent on their input via fluvial waters. Our data indicates that concentrations of lead in waters entering the estuary are first controlled by the meteorological conditions. The periods with higher dissolved Pb concentrations (February and November) corresponded to relatively high water discharges (Fig. IV-2, Table IV-1). As described in (Waeles *et al.*, 2007), elevation

of dissolved Pb levels in the river should be linked to the mobilization of the metal from erosion and leaching of catchments soils. Because iron oxides are known to act as the principal adsorbent/carrier phase for Pb (Luoma et Davis, 1983; Luoma, 1989; Tessier, 1992), it is not surprising that mobilisation of Fe also occurs preferentially at the same time than Pb as displayed in figure IV-4.

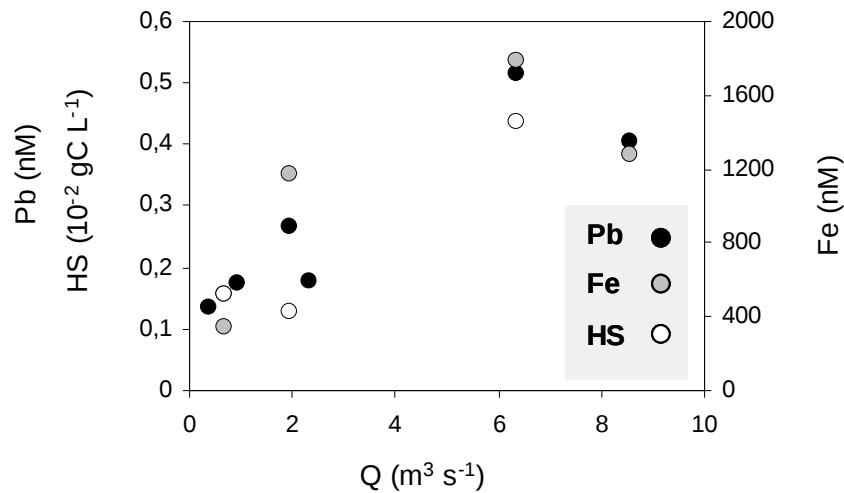


Figure IV-4: Pb, Fe and HS concentrations at salinity 0 as a function of freshwater discharge.

The fact that the mobilisation of Fe and Pb was at its highest in November can be explained by two complementary phenomena. Firstly, precipitations were particularly important the day and the day before our sampling campaign of the 13th of November (22 and 21 mm, respectively, which represent the maximum amounts recorded in summer-autumn 2009 period), resulting in a strong elevation of the water discharge (Fig. IV-2), passing in 24 h from 1.58 to 6.36 m³ s⁻¹, and also in a hard weathering of the soils. Secondly, the leached soils were probably enriched in plant debris at this time of year. These debris, that consist mainly on humic substances (fulvic acids and humic acids), have been accumulated for several weeks before the above mentioned precipitations, which were the most important of the autumn, occurred. The weathering of the soils in autumn is thus at the origin of much high levels of humic substances in the riverine waters. Many studies have shown that HS from soils and fluvial waters form organomineral complexes of highly resiliency with various mineral surfaces including Fe oxides (e.g. Tipping, 1981; Myneni *et al.*, 1999). Their role in the mobility of Fe and Pb is probably of capital importance. Our results also show that humic substances could determine in a great extent the colloidal distribution of both metal entering

the estuarine system; the distribution of Pb and particularly Fe in the various size fractions being closely related to that of HS.

IV.3. Behaviour of Pb and of its various size fractions along the salinity gradient

Figure IV-5 displays the behaviour of the various size fractions of Pb along the salinity gradient. Particulate Pb ($>0.45\ \mu\text{m}$) concentrations were high at very low salinities (in the range 45-430 nM at salinity 0) mainly because of the presence of a maximum turbidity zone (MTZ) which is a common feature of the macrotidal estuaries. Concentrations of particulate Pb normalised to SPM poorly varied along the salinity gradient and over the year ($70 \pm 10\ \mu\text{g g}^{-1}$; $n = 42$). Thus a strong correlation was observed between PPb and SPM concentrations ($\text{SPM} = 3.25 \text{ PPb}(\text{nM}) - 5.82$, $r^2 = 0.994$; $n = 42$). From the MTZ, particulate Pb concentrations rapidly decreased in waters with less particle charge.

Total dissolved Pb ($<0.45\ \mu\text{m}$) had, in all cases, a non-conservative behaviour with strong negative deviations from linearity. These deviations, indicative of a removal are particularly obvious in the salinity range 0-10. The removal of Pb from the $<0.45\ \mu\text{m}$ fraction is attributable to its redistribution to the particulate phase. Examination of the behaviour of the colloidal fractions under $0.45\ \mu\text{m}$ clearly indicates that Pb is removed from its dominant fraction (300 kDa- $0.22\ \mu\text{m}$). In the lower fractions, Pb is removed only where it is significantly found at salinity 0 (i.e. at concentrations above 50 pM). In the 50-300 kDa fraction, the removal of the metal is obvious for four months (June, July, September and November) whereas it is observed only in November in the case of the 5-50 kDa fraction. In the truly dissolved fraction, the behaviour of Pb is not clear because of its very low concentrations. It is worth noting that behaviour of Pb in the range $0.22\text{-}0.45\ \mu\text{m}$ differs from other fractions; the metal being occasionally added to or removed from this size fraction.

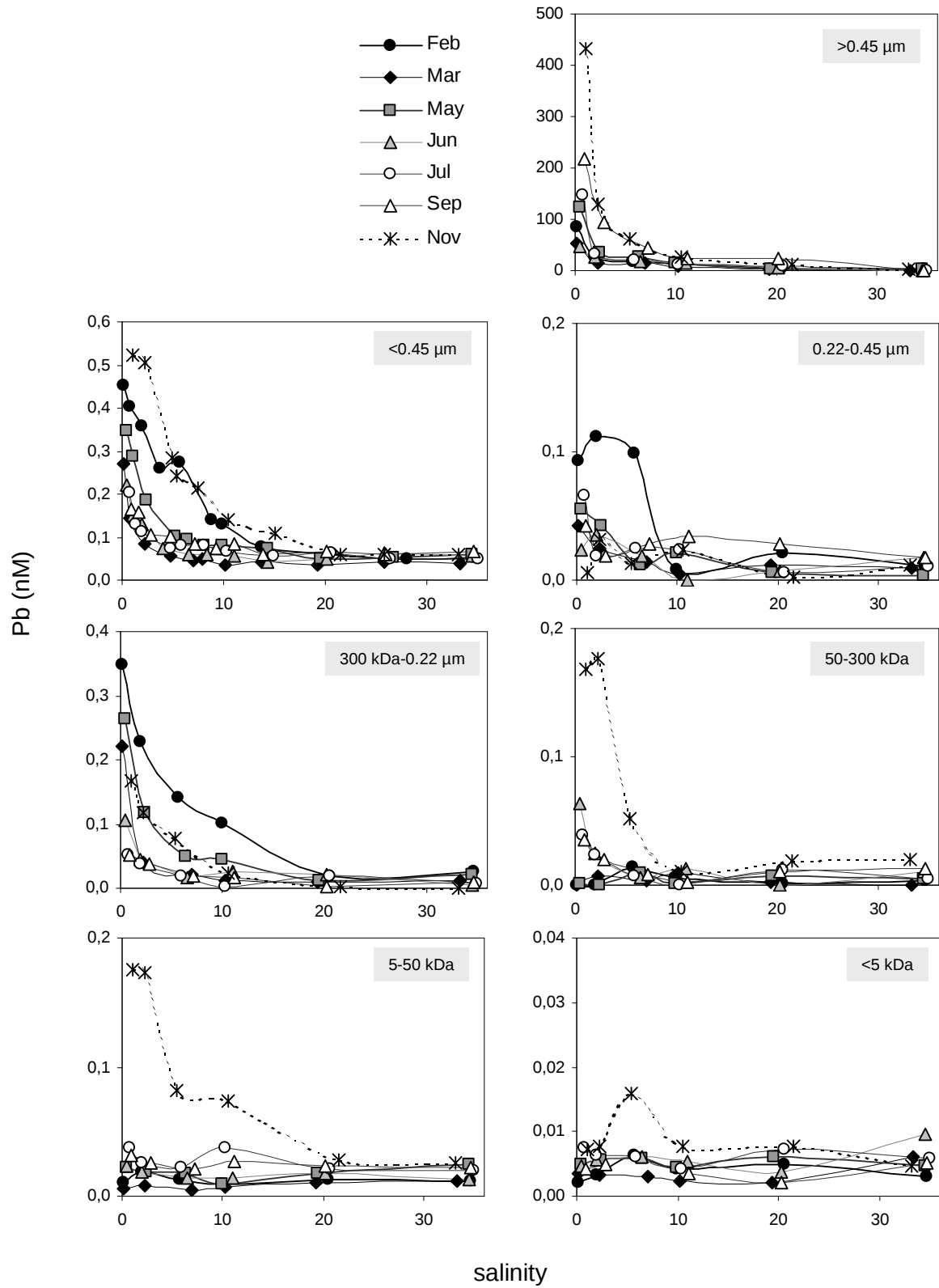


Figure IV-5: Metal-salinity distributions over the year 2009 for PPb, TDPb and the various fractions under 0.45 µm.

The total dissolved Fe ($<0.22 \mu\text{m}$) and total dissolved HS ($<0.22 \mu\text{m}$) behaviours along the salinity gradient are displayed in Figure IV-6. Fe exhibited negative deviations indicative of a removal. This removal was well correlated to that of total dissolved Pb and its intensity was linked, as for Pb, to the initial concentration at salinity 0. The behaviour of HS was more variable. Compare to Pb and Fe, HS concentrations were closer to conservativity in May and July. In November, although an addition occurred at low salinity, HS were removed over the remaining part of the estuary.

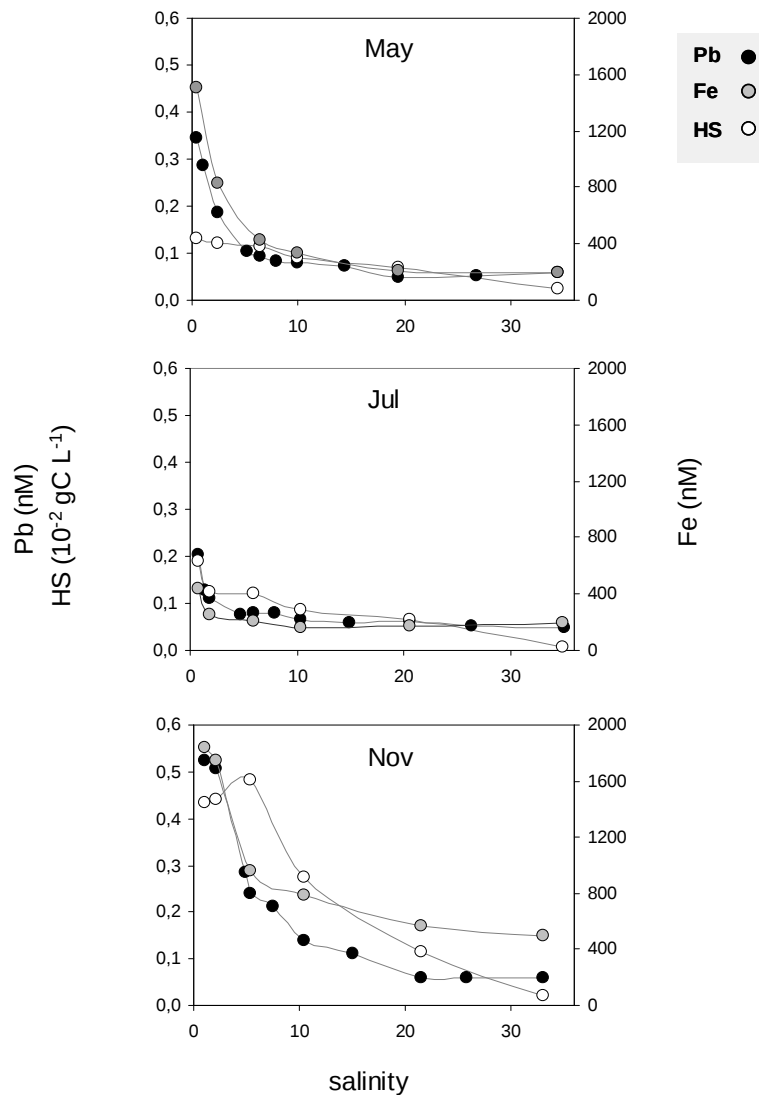


Figure IV-6: Total dissolved Pb-, Fe- and HS-salinity distributions in May, July and November.

Fe behaviour in estuaries has been resolved since the work by Boyle, Sholkovitz and co-workers (Boyle *et al.*, 1977; Sholkovitz *et al.*, 1978). These authors have shown that the removal of iron in estuaries occurs because the seawater cations neutralize the negatively

charged iron-bearing colloids allowing flocculation. Pb has been suggested by some authors to be removed from the dissolved fraction by the same mechanism (Dai et Martin, 1995). Our data showing the very close link between Fe and Pb concentrations on one hand, and between Pb and Fe colloidal distribution on the other hand, strongly confirm the Pb co-removal with Fe oxides.

Our results also indicate that almost all Pb colloidal fractions (from 5 kDa to 0.22 μm) are concerned by this removal. However, Pb seems not being removed from the truly dissolved fraction. About the 0.22-0.45 μm fraction, two competitive phenomena could explain why it is not always displaying negative deviation. Pb could be probably removed from this fraction but can also be added by coagulation of the smaller sized fractions.

In the Ob and Yenisey estuary, (Dai et Martin, 1995) observed a removal of colloidal Pb and not of the truly dissolved metal which is in agreement with our finding. Conversely, in the Venice Lagoon estuary, (Martin *et al.*, 1995) found a Pb removal only of the truly dissolved forms despite the importance of the colloidal fraction (58%). According to these authors; the non-flocculation of colloids in this system ensues from the fact that organic matter is produced in the estuary itself rather than being derived from terrestrial sources.

A question remains about the behaviour of HS that did not strictly follow that of Pb and Fe. Humic substances are roughly composed of two types of refractory organic acids: fulvic acids (FA) and humic acids (HA). FA represent $\sim 90\%$ of the HS pool in fluvial waters (Aiken *et al.*, 1985; Thurman, 1985; Nagao *et al.*, 2003) and are probably dominant in estuarine waters. HA is thus a small fraction of HS but this fraction is the one that flocculates during estuarine mixing (Sholkovitz *et al.*, 1978; Hunter et Liss, 1979; Pempkowiak et Kupryszewski, 1980; Mantoura et Woodward, 1983; Fox, 1984; Ertel *et al.*, 1986). According to Sholkovitz *et al.* (1978), this flocculation removes approximately 60 to 80% of the dissolved humic acid.

V. Conclusion

Over this study, the colloidal fractionation of Pb has highlighted several points regarding the input and the behaviour of this metal in the Penzé estuary. First, dissolved Pb inputs by fluvial waters occurred preferentially in periods of high precipitation/water discharge. A key period that corresponds to the first strong autumnal precipitations was revealed. At this time, the mobilisation of lead is enhanced by the mobilisation of humic substances that have been accumulated in the soils. Our data also shown that Pb is generally found as large colloids of size over 300 kDa. However, association of the metal with smaller colloids (30-300 kDa) was observed in autumn. In the mixing zone, the redistribution of dissolved Pb was systematic and occurred in the salinity range 0-10. Because of the strong association of Pb with organomineral complexes (probably iron oxides coated with humic substances), the removal of the metal occurs under flocculation of these complexes.

VI. Etude complémentaire du plomb colloïdal

Dans cette partie, des informations concernant le plomb ont été ajoutées afin de décrire avec une certaine homogénéité le comportement des trois métaux étudiés. Un traitement similaire à celui appliqué au cuivre et au cadmium a donc été réalisé. Il s'agit d'une part de décrire la répartition colloïdale du plomb dans la fraction dissoute ($<0,45 \mu\text{m}$). Il s'agit d'autre part d'estimer les flux de métal dans les différentes fractions et de rendre compte de leur évolution entre l'entrée et la sortie de l'estuaire.

VI.1. Concentration et répartition du plomb dans les différentes fractions colloïdales

Afin d'obtenir une vue large et synthétique des résultats, des regroupements de fractions colloïdales ont été effectués (Figure IV-7) : Les colloïdes de haut poids moléculaire désignent la fraction comprise entre 50 kDa et $0,45 \mu\text{m}$; les colloïdes de bas poids moléculaire correspondent à la fraction 5-50 kDa. La fraction réellement dissoute ($<5 \text{ kDa}$) est également représentée sur cette figure.

Nos résultats montrent, tout d'abord, que les colloïdes de haut poids moléculaire dominent largement la spéciation physique du plomb dissous. Cette fraction compte, pour l'ensemble des données enregistrées, pour $69 \pm 16\%$ ($n = 42$). L'association du plomb avec cette fraction est particulièrement importante dans les eaux fluviales ($85 \pm 12\%$, $n = 7$) puis celle-ci diminue le long du gradient salé. Dans les eaux marines, la contribution de cette fraction reste majoritaire mais n'est plus que de $57 \pm 9\%$ ($n = 7$). Au contraire de ce qui est observé pour les grands colloïdes, la contribution des colloïdes de faible poids moléculaire ainsi que celle de la fraction réellement dissoute augmente le long du gradient salé. Dans la partie amont du système, ces deux fractions ne représentent qu'une faible part du plomb dissous (13 ± 12 et $2 \pm 1\%$, respectivement; $n = 7$). Dans la partie marine, la contribution des colloïdes de bas poids moléculaire est de $33 \pm 9\%$ ($n = 7$); celle de la phase réellement dissoute est de $10 \pm 5\%$ ($n = 7$).

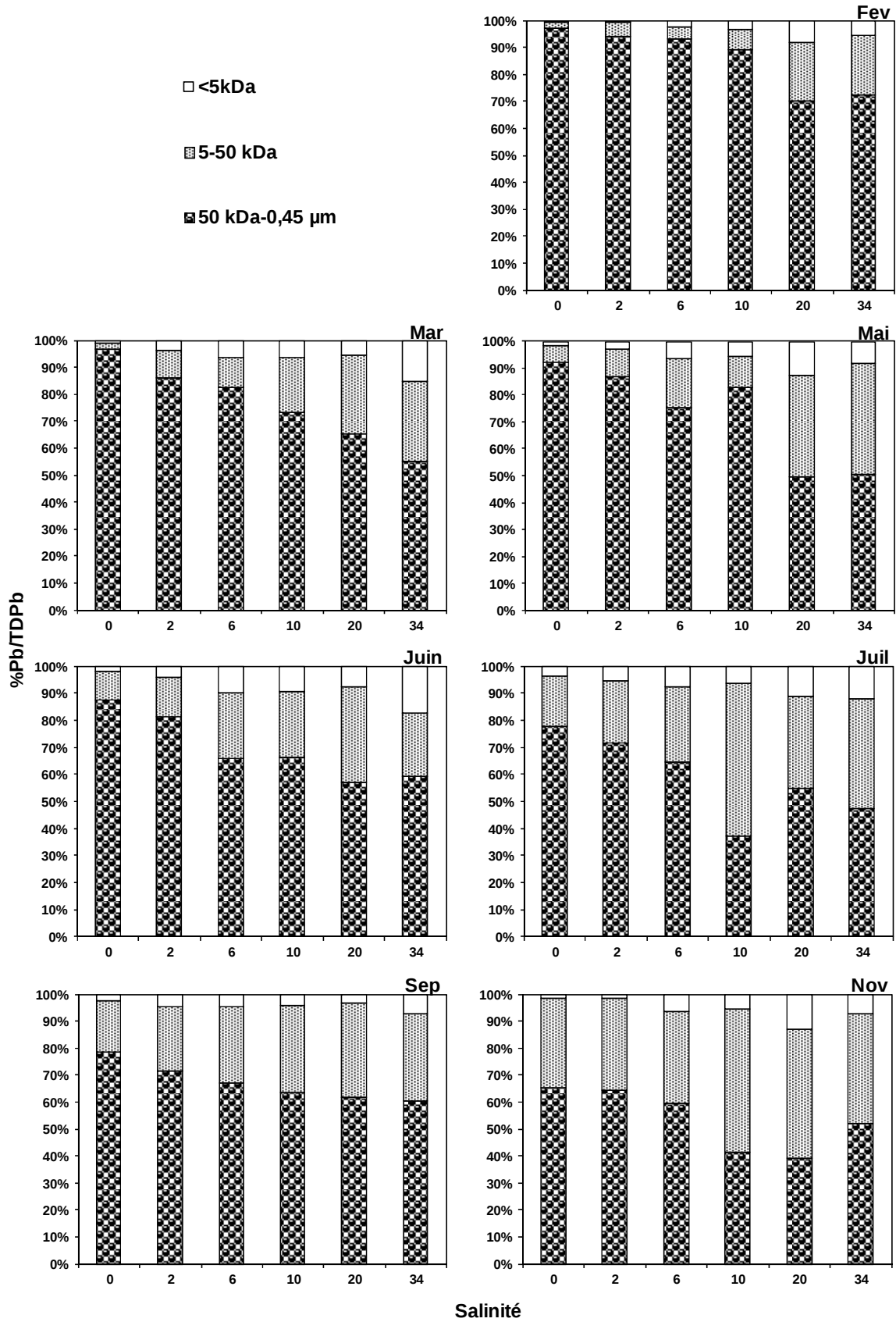


Figure IV-7 : Répartition du plomb (en %) entre les fractions colloïdales de haut poids moléculaire (50 kDa-0,45 µm), les fractions colloïdales de bas poids moléculaire (5-50 kDa) et la fraction réellement dissoute (<5 kDa) en fonction de la salinité.

Comme le montrent nos résultats précédents (section IV, paragraphe IV-3), cette redistribution du plomb lors du mélange estuarien doit être expliquée par une plus forte élimination du métal depuis les colloïdes de haut poids moléculaire. Dans le cas du fer dissous ($<0,45 \mu\text{m}$), l'élimination est également particulièrement marquée dans cette fraction et accompagne de manière significative celle du plomb (Figure IV-8). L'élimination du plomb dissous en milieu estuarien résulterait donc principalement de la floculation des oxydes de fer de grande taille ($>50 \text{ kDa}$) auxquels ils sont fortement associés.

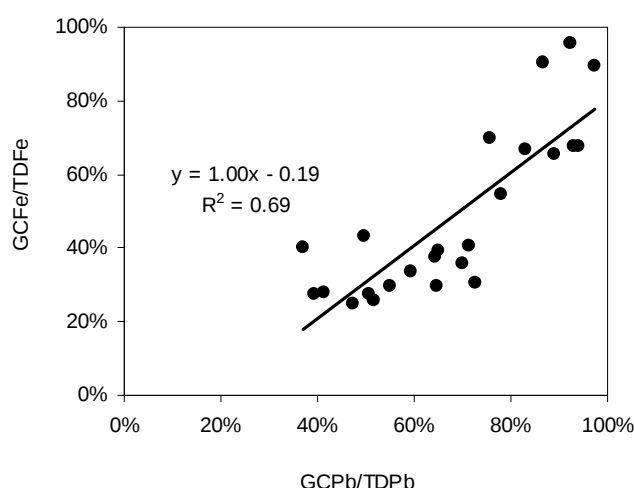


Figure IV-8 : Part de Fe dissous associée aux colloïdes de haut poids moléculaire en fonction de la part de Pb dissous associée à cette même fraction. Pour le fer, les concentrations ne sont connues que dans les fractions comprises entre 5 kDa et $0,22 \mu\text{m}$; les grands colloïdes (GC) correspondent donc à la gamme de taille 50 kDa- $0,22 \mu\text{m}$. Dans le cas du plomb, les grands colloïdes correspondent à la gamme 50 kDa- $0,45 \mu\text{m}$.

La répartition du plomb entre les différentes fractions colloïdales évolue peu lors du cycle saisonnier. Cependant, il est à noter la particularité du mois de novembre pour lequel la contribution des colloïdes de haut poids moléculaire est relativement faible. Celle-ci représente $53 \pm 12\%$ ($n = 6$) et est donc inférieure à celle observée le reste de l'année ($72 \pm 16\%$, $n = 36$). Comme montré précédemment, l'implication des substances humiques, dont la concentration est particulièrement élevée en cette période automnale de reprise des précipitations, doit être déterminante pour expliquer cette différence.

VI.2. Flux

Les quantités de plomb apportées à l'estuaire par le fleuve (flux bruts) et celles qui quittent l'estuaire (flux nets) ont été évaluées pour les 4 fractions de taille suivantes :

- fraction réellement dissoute (<5 kDa) ;
- fraction liée aux colloïdes de bas poids moléculaire (entre 5 et 50 kDa) ;
- fraction liée aux colloïdes de haut poids moléculaire (entre 50 kDa et 0,45 μm) ;
- fraction particulaire (>0,45 μm).

VI.2.1. Calcul des flux pour les fractions dissoutes (<0,45 μm)

Pour les 3 fractions dissoutes, les flux bruts ont été calculés à partir des concentrations fluviales (C_0) moyennées pour les 7 campagnes de prélèvements effectuées. Ces concentrations ont ensuite été multipliées par le débit moyen enregistré lors des prélèvements. Il est à noter que ce débit moyen ($3,0 \pm 2,9 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, $n = 7$) est très proche de celui observé sur l'ensemble de l'année 2009 ($2,9 \pm 3,0 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, $n = 365$) ce qui assure une certaine représentativité des flux calculés à l'échelle annuelle. Dans le tableau IV-3 sont regroupés les résultats des estimations des flux bruts ainsi que des concentrations fluviales ayant permis la détermination de ces flux.

Tableau IV-3 : Estimation des concentrations fluviales moyennes et des flux bruts de plomb dissous (avec leur intervalle de confiance à 95%). Le débit moyen utilisé est de $3,03 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$.

Fraction	n	C_0 (nM)	IC 95%	flux brut (kg an^{-1})	IC95%
RD (<5kDa)	7	0,005	0,002	0,10	0,03
PC (5-50 kDa)	7	0,04	0,04	0,9	0,9
GC (50 kDa-0,45 μm)	7	0,26	0,08	5,2	1,7
TD (<0,45 μm)	7	0,31	0,10	6,2	2,0

Les flux nets pour les 3 fractions dissoutes (<0,45 μm) ont été calculés à partir des concentrations théoriques à salinité 0 ($C_{\text{th}(S=0)}$). Ces concentrations sont déterminées selon la méthode de Boyle *et al.* (1974). Cette méthode consiste en une extrapolation de la droite de régression effectuée dans l'intervalle de salinité où le métal devient conservatif. Cet intervalle de salinité a été choisi de façon à obtenir l'intervalle de confiance à 95% sur la valeur de $C_{\text{th}(S=0)}$ le plus faible possible. Dans la littérature, l'intervalle de salinité est généralement

choisi de façon à obtenir la valeur la plus élevée possible pour le coefficient de corrélation r^2 (e.g. Michel *et al.*, 2000). Cependant, dans le cas de notre étude, les concentrations en plomb évoluent peu en fonction de la salinité. La pente de la droite de dilution est alors très faible et ceci peut engendrer une grande erreur sur l'estimation de $C_{th(S=0)}$ par cette méthode. Il est à noter que pour les 2 autres métaux étudiés (Cd et Cu), dont les calculs de flux figurent en fin de chapitre V et VI, la méthode utilisée pour la détermination de $C_{th(S=0)}$ est par contre la méthode maximisant la valeur de r^2 . Une fois les valeurs de $C_{th(S=0)}$ déterminées (après régression menée sur l'ensemble des données des 7 campagnes de prélèvement), les flux nets sont calculés en multipliant ces valeurs par le débit fluvial moyen. Dans le tableau IV-4 figure le nombre de points utilisés pour chaque régression linéaire, les paramètres de cette régression linéaire (pente et ordonnée à l'origine), ainsi que les résultats des calculs de flux nets.

Tableau IV-4 : Estimation des concentrations théoriques à salinité 0 et des flux nets de plomb dissous (avec leur intervalle de confiance à 95%). Le débit moyen utilisé est de $3,03 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$.

Fraction	n	Pente (pM)	$C_{th(S=0)}$ (pM)	IC 95%	flux net (kg an^{-1})	IC95%
RD (<5kDa)	37	-0,003	5	2	0,11	0,03
PC (5-50 kDa)	23	-0,058	21	11	0,41	0,21
GC (50 kDa-0,45 μm)	19	-0,29	40	14	0,79	0,26
TD (<0,45 μm)	26	-0,56	71	17	1,40	0,33

VI.2.2. Calcul des flux pour la fraction particulaire (>0,45 μm)

Les quantités annuelles de plomb particulaire apportées par la rivière ont été calculées à partir de la quantité de matière en suspension entrant dans l'estuaire de la Penzé et de la concentration moyenne en métal dans les particules fluviales. Le flux de matière en suspension étant de $3 \cdot 10^6 \text{ kg an}^{-1}$ (Verney *et al.*, 2008) et la concentration moyenne de plomb particulaire de $68 \pm 3 \mu\text{g g}^{-1}$ ($n = 14$), cela représente un flux brut de $200 \pm 10 \text{ kg an}^{-1}$.

Les quantités de métal particulaire exporté vers le domaine côtier sont calculées de la même manière. Le système étant à l'équilibre (Verney *et al.*, 2008), la quantité de particules exportés est aussi égale à $3 \cdot 10^6 \text{ kg an}^{-1}$. La teneur moyenne des particules en plomb en aval de l'estuaire étant de $72 \pm 7 \mu\text{g g}^{-1}$ ($n = 14$), il en résulte un flux net de $215 \pm 21 \text{ kg an}^{-1}$.

VI.2.3. Flux bruts et flux nets du plomb dans l'estuaire de la Penzé

La figure IV-9b représente les flux des différentes fractions de taille du plomb (exprimées en g an^{-1} selon une échelle logarithmique). Le plomb est majoritairement apporté à l'estuaire sous forme particulaire ($\sim 200 \text{ kg an}^{-1}$), le flux de métal particulaire étant d'au moins un ordre de grandeur supérieur au flux de métal dissous. Dans le compartiment dissous ($<0,45 \mu\text{m}$), les apports sous forme de colloïdes de haut poids moléculaires sont dominants ($\sim 5 \text{ kg an}^{-1}$). Ils dépassent ceux de la fraction colloïdale de bas poids moléculaire ($\sim 1 \text{ kg an}^{-1}$) et sont largement supérieurs à ceux de la fraction réellement dissoute ($\sim 0,1 \text{ kg an}^{-1}$).

Les flux exportés vers le milieu marin (flux nets) sont également dominés par le plomb particulaire (Figure IV-9a). Le flux de métal particulaire ($\sim 220 \text{ kg an}^{-1}$) dépasse de 2 ordres de grandeur celui en métal dissous ($\sim 1,4 \text{ kg an}^{-1}$). Dans la fraction dissoute, le flux net reste majoritairement constitué de métal lié aux grands colloïdes ($\sim 0,8 \text{ kg an}^{-1}$). Cependant ces quantités sont concurrencées par celles des fractions de taille inférieure ($\sim 0,8$ et $0,1 \text{ kg an}^{-1}$, respectivement).

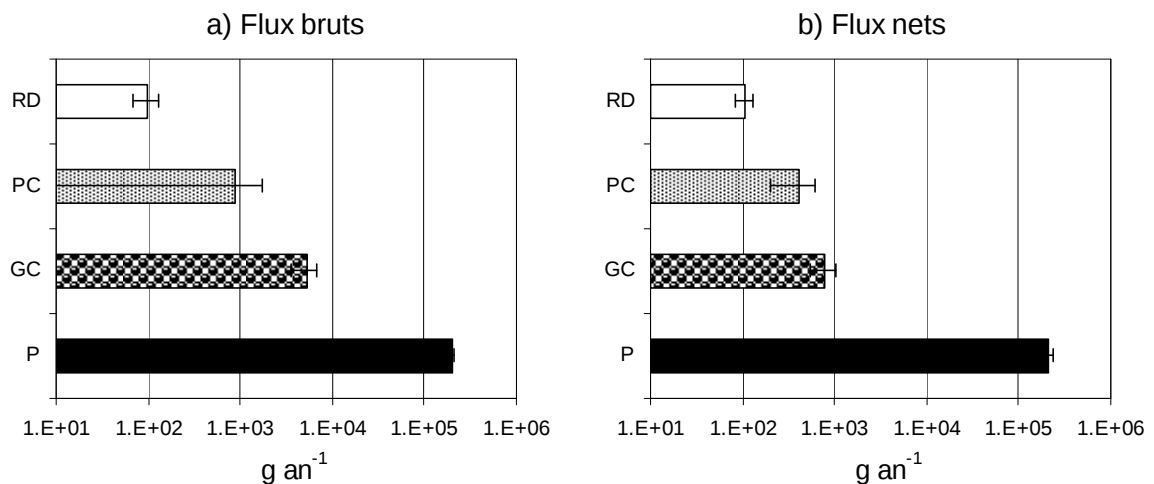


Figure IV-9 : Flux de plomb à l'entrée (flux bruts) et à la sortie (flux nets) de l'estuaire de la Penzé. RD : fraction $<5 \text{ kDa}$; PC : fraction colloïdale comprise entre 5 et 50 kDa; GC : fraction colloïdale comprise entre 50 kDa et $0,45 \mu\text{m}$; P : fraction $>0,45 \mu\text{m}$.

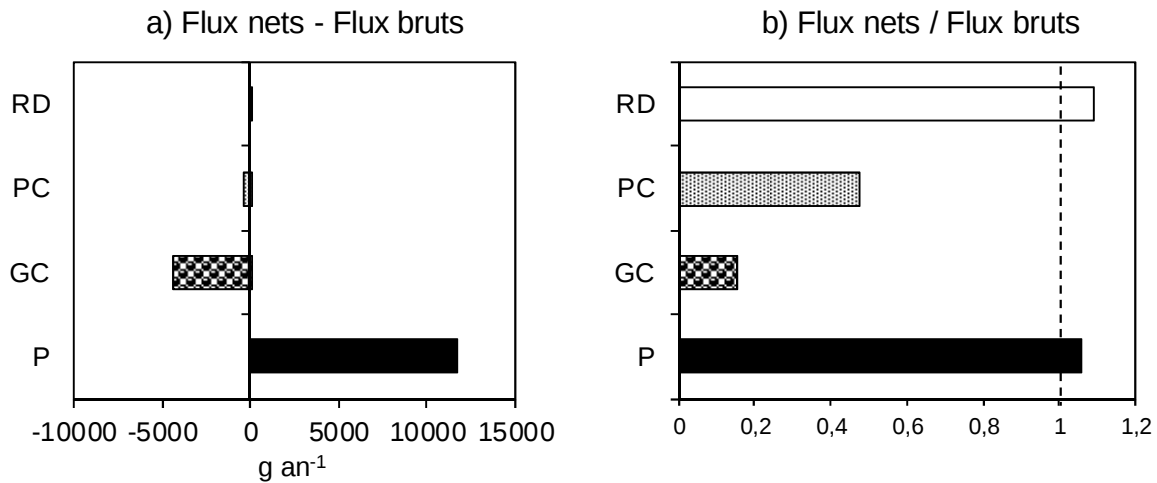


Figure IV-10 : Bilan absolu et relatif des flux de plomb dans l'estuaire de la Penzé. RD : fraction <5 kDa; PC : fraction colloïdale comprise entre 5 et 50 kDa; GC : fraction colloïdale comprise entre 50 kDa et 0,45 μm ; P : fraction >0,45 μm .

La figure IV-10 illustre les échanges s'opérant au sein de l'estuaire entre les différentes fractions de taille. Ces échanges ont été déduits des flux bruts et nets et sont exprimés à la fois en quantités absolues (Figure V-10a) et en quantités relatives (Figure V-10b). Ils montrent un enrichissement de la fraction particulaire lié à un transfert de métal depuis la fraction dissoute. La floculation des oxydes de fer, phénomène identifié comme étant responsable de ce transfert, agit principalement sur la fraction colloïdale de haut poids moléculaire. La "perte" de métal dans cette fraction est de l'ordre de 80%; elle est d'environ 50% dans la fraction colloïdale de bas poids moléculaire. Il est à noter que la fraction réellement dissoute apparaît peu affectée par le transfert du métal dans le gradient salé estuarien.

Chapitre V
Variations saisonnières et comportement du cadmium
colloïdal

I. Introduction

De nombreuses études conduites en laboratoire et sur le terrain ont montré sans ambiguïté que le cadmium lié à la matière en suspension est désorbé lorsque les eaux de rivière se mélangent avec l'eau de mer (Edmond *et al.*, 1985; Elbaz-Poulichet *et al.*, 1987; Shiller et Boyle, 1991; Boutier *et al.*, 1993; Zwolsman *et al.*, 1997). Le diagramme de mélange du Cd dissous en milieu estuarien se présente donc systématiquement selon une courbe en forme de "cloche". Dans la première partie du mélange, l'intense remobilisation du cadmium depuis les particules en suspension se traduit par une augmentation significative de la concentration en métal dissous. Puis, la seconde partie du mélange se caractérise généralement par une simple dilution des concentrations avec les eaux marines moins riches en cadmium (Dange, 2002). Si le cadmium est souvent donné comme exemple typique d'élément présentant une anomalie positive lors du mélange estuarien, les mécanismes à l'origine de cette désorption depuis le matériel particulaire ne sont pas encore bien cernés. Paalman *et al.* (1994) ont proposé une compétition avec le calcium sur les sites de sorption comme étant le mécanisme majeur de la désorption. Les calculs de spéciation (Comans et Van Dijk, 1988) indiquent une association préférentielle du métal désorbé avec des ligands inorganiques (chlorures en particulier). Cependant, les mesures effectuées dans de nombreux systèmes (Wells *et al.*, 1998; Muller, 1996; Waeles *et al.*, 2004; Waeles *et al.*, 2005) montrent que la complexation organique pourrait jouer un rôle au moins aussi important que la chlorocomplexation.

Les études ayant examiné le fractionnement colloïdal du cadmium en milieu estuarien montrent généralement une présence accrue du métal dans les fractions de très faible poids moléculaire (e.g. Dai *et al.*, 1995; Wen *et al.*, 1999). Ces études montrent également une forte anomalie positive en cadmium dans ces fractions les plus riches en métal. Cependant, le faible nombre de fractions considérées par ces études (généralement 2), ainsi que l'échantillonnage mené dans la plupart des cas de façon ponctuelle ne permettent pas toujours de comprendre avec précision comment s'exerce le contrôle du comportement du métal.

Lors de notre étude de l'estuaire de la Penzé, un fractionnement colloïdal sans précédent a été mené (7 fractions). La prise en compte non seulement de l'ensemble du gradient salé mais aussi du cycle saisonnier doit nous permettre :

- de mettre en évidence les différents facteurs pouvant contrôler les concentrations en cadmium dans l'estuaire.
- d'examiner comment s'effectuent les échanges entre les différentes fractions physico-chimiques.
- d'établir des bilans pour les différentes fractions considérées à l'entrée et à la sortie du système.

II. Variations saisonnières du cadmium particulaire et du cadmium total dissous

La figure V-1 présente les variations saisonnières du cadmium particulaire (fraction $>0,45 \mu\text{m}$). Sur l'ensemble de l'estuaire, les concentrations sont comprises entre 0,6 et $5,7 \mu\text{g g}^{-1}$.

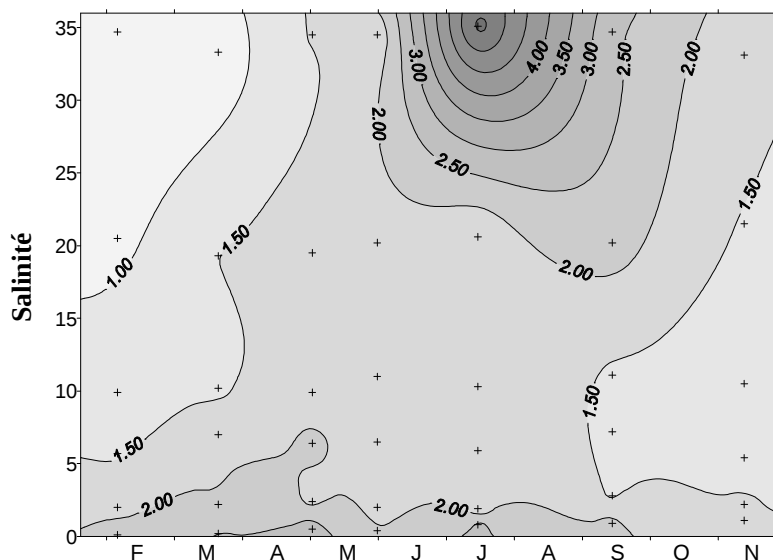


Figure V-1 : Variations saisonnières du cadmium particulaire ($\mu\text{g g}^{-1}$) dans l'estuaire.

Les concentrations en cadmium particulaire sont proches de $2,0 \mu\text{g g}^{-1}$ dans la partie amont du système et diminuent rapidement avec l'augmentation de la salinité. Dans les eaux marines, des teneurs très variables sont observées selon la période l'année. Dans cette partie de l'estuaire, de faibles teneurs sont mesurées en hiver (inférieures à $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$). Celles-ci augmentent au cours du printemps et de l'été avec un maximum au mois de juillet. Il est à noter que l'augmentation entre le mois de juin et le mois de juillet est particulièrement importante ; les teneurs en métal dans les particules passant d'environ $2 \mu\text{g g}^{-1}$ à $5,7 \mu\text{g g}^{-1}$. Les teneurs diminuent ensuite en automne pour retrouver des valeurs conformes à celles observées en hiver.

La figure V-2 présente les variations saisonnières du cadmium « total dissous » dans la fraction $<0,45 \mu\text{m}$ (TDCd). Dans l'estuaire de la Penzé, les teneurs en cadmium dissous ont varié au cours de l'année 2009 entre 0,02 et 0,39 nM. Ces concentrations sont proches de

celles observées lors d'une étude conduite dans ce même estuaire en 2001 avec des valeurs comprises entre 0,06 et 0,46 nM (Waeles *et al.*, 2005).

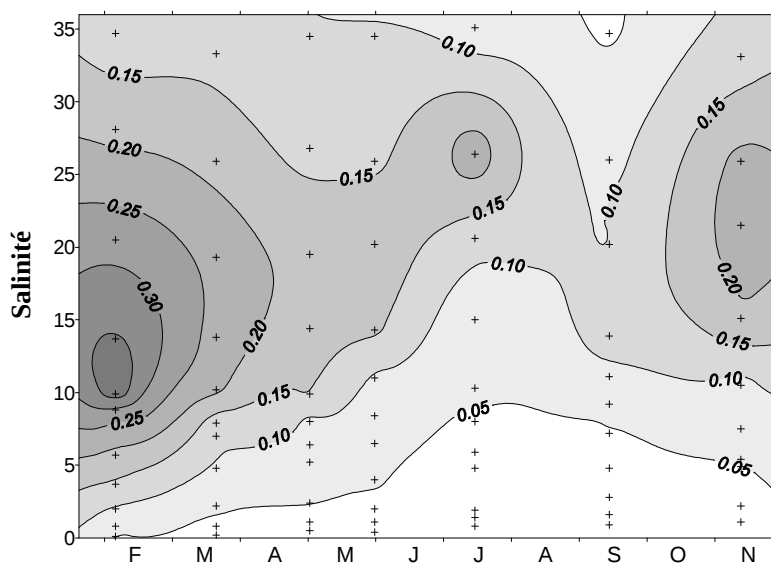


Figure V-2 : Variations saisonnières du cadmium dissous le long de l'estuaire.

Les variations en cadmium dissous sont très marquées le long du gradient salé. Les teneurs sont relativement faibles dans la partie amont de l'estuaire. En effet, pour des salinités inférieures à 2, les concentrations sont généralement inférieures à 0,05 nM ($0,03 \pm 0,02$ nM ; $n = 14$). Les teneurs en métal augmentent fortement vers des salinités plus élevées et un maximum est observé à mi-estuaire. Ce maximum se situe autour de 10 de salinité au mois de février. Il se déplace par contre vers des salinités supérieures (autour de 20) le reste de l'année. Les eaux marines sont quant à elles caractérisées par des concentrations proches de 0,10 nM (à $S = 34$: $\text{TDCd} = 0,10 \pm 0,03$ nM).

Lors du cycle saisonnier, les teneurs en cadmium dissous les plus élevées sont observées en février. Une forte diminution des concentrations en métal dissous de l'hiver à la fin de l'été est constatée sur l'ensemble de l'estuaire. Au mois de septembre, les teneurs à mi-estuaire sont trois fois plus faibles que celles enregistrées en hiver. A l'automne, les teneurs augmentent à nouveau et atteignent des valeurs proches de celles rencontrées en hiver.

La présence d'un maximum à mi-estuaire est une caractéristique générale du cadmium dissous en milieu estuarien. L'enrichissement en métal dissous a été attribué à la désorption du métal à partir des particules en suspension (Edmond *et al.*, 1985; Elbaz-Poulichet *et al.*, 1987). Dans notre cas, ce phénomène permet aussi d'expliquer la diminution concomitante

des teneurs dans la fraction particulaire. Le comportement du cadmium dans la zone de mélange sera examiné de façon plus détaillée dans la section V de ce chapitre, en relation avec la répartition du métal dans les différentes fractions colloïdales.

Les variations observées au cours du cycle saisonnier montrent clairement une forte diminution des teneurs en métal dissous ($<0,45 \mu\text{m}$) au printemps et en été ainsi qu'une augmentation concomitante des teneurs en métal particulaire. Ces variations sont vraisemblablement liées au développement du phytoplancton (Mart et Nürnberg, 1986; Shiller et Boyle, 1991; Wangersky *et al.*, 1989). L'effet du phytoplancton sur les concentrations en cadmium dissous et particulaire peut être directe suite à l'absorption du métal; il a été montré, notamment en milieu océanique, que cette absorption a lieu lors de l'assimilation du phosphate (Saager *et al.*, 1992). Un effet indirect peut aussi être envisagé car le développement du phytoplancton induit généralement une augmentation du pH des eaux ce qui peut favoriser l'adsorption du métal sur les particules en suspension (Zwolsman *et al.*, 1997). Cette utilisation du cadmium dissous par le phytoplancton est mise en évidence sur la figure V-3. En effet, celle-ci montre que les teneurs les plus faibles en métal dissous (moyennées sur l'ensemble de l'estuaire) sont rencontrées lorsque le phytoplancton présente un bon état physiologique (rapport chl *a* / phaeopigments élevé).

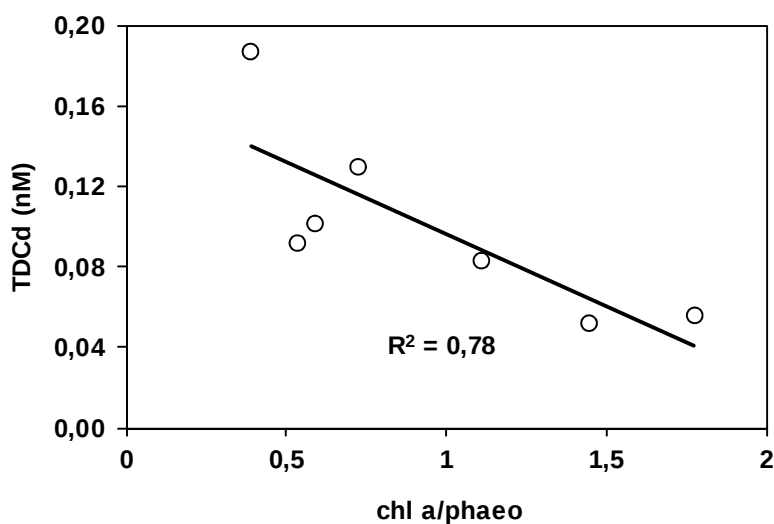


Figure V-3 : Relation entre le cadmium total dissous et le rapport chl *a* / phaeopigments. Chaque valeur correspond à une moyenne effectuée sur l'ensemble du gradient salé pour une campagne de prélèvement donnée.

III. Concentrations et répartition du cadmium dans les différentes fractions colloïdales

La figure V-4 présente les concentrations en cadmium dissous dans les différentes fractions colloïdales (5 kDa-0,45 μ m) et dans la fraction réellement dissoute (<5 kDa). Selon nos résultats, le cadmium se présente majoritairement dans les fractions colloïdales. En effet, les formes colloïdales du cadmium représentent $78 \pm 8\%$ ($n = 42$) de la fraction <0,45 μ m. Il est important de remarquer que la contribution en cadmium réellement dissous n'est pas négligeable puisqu'elle représente $22 \pm 8\%$ ($n = 42$).

Contrairement au plomb, la répartition du cadmium au sein des différentes fractions colloïdales et de la fraction réellement dissoute ne permet pas de distinguer une affinité du cadmium pour une fraction particulière. Toutefois, le cadmium semble préférentiellement associé aux trois fractions colloïdales de plus faible poids moléculaire. Il s'agit surtout des fractions 5-10 et 10-30 kDa et dans une moindre mesure de la fraction 30-50 kDa.

Afin d'obtenir une vue plus large et synthétique de ces résultats, les fractions colloïdales ont été rassemblées de manière à examiner la répartition du métal dissous entre les colloïdes de haut poids moléculaire (50 kDa-0,45 μ m) et les colloïdes de bas poids moléculaire (5-50 kDa). La contribution de la fraction réellement dissoute (<5 kDa) a aussi été ajoutée (Figure V-5). Dans un premier temps, les variations le long du gradient salé seront présentées. Nous examinerons ensuite celles correspondant aux différentes saisons.

III.1 Variations le long du gradient salé

Dans les eaux fluviales (salinité 0), le cadmium est associé de façon significative avec la fraction de haut poids moléculaire. Cette association est particulièrement importante dans certains cas (mois de février, mai, juillet et septembre) puisqu'elle représente plus de 60% du métal total dissous. Dans cette zone de l'estuaire, la fraction réellement dissoute représente une part relativement faible ($15 \pm 7\%$, $n = 7$). Le long du gradient salé, cette répartition est rapidement modifiée. Les colloïdes de bas poids moléculaire dominent alors la spéciation du métal sur un large domaine de l'estuaire. Par exemple, à mi-estuaire, où les concentrations les plus élevées en métal total dissous sont généralement observées, cette fraction représente $60 \pm 5\%$ ($n = 7$). Il est à noter que la part de la fraction réellement dissoute (<5 kDa) a tendance à augmenter avec la salinité; celle-ci passant de $15 \pm 7\%$ ($n = 7$) dans les eaux

fluviales à $27 \pm 8\%$ ($n = 7$) dans les eaux marines, soit une augmentation proche d'un facteur 2.

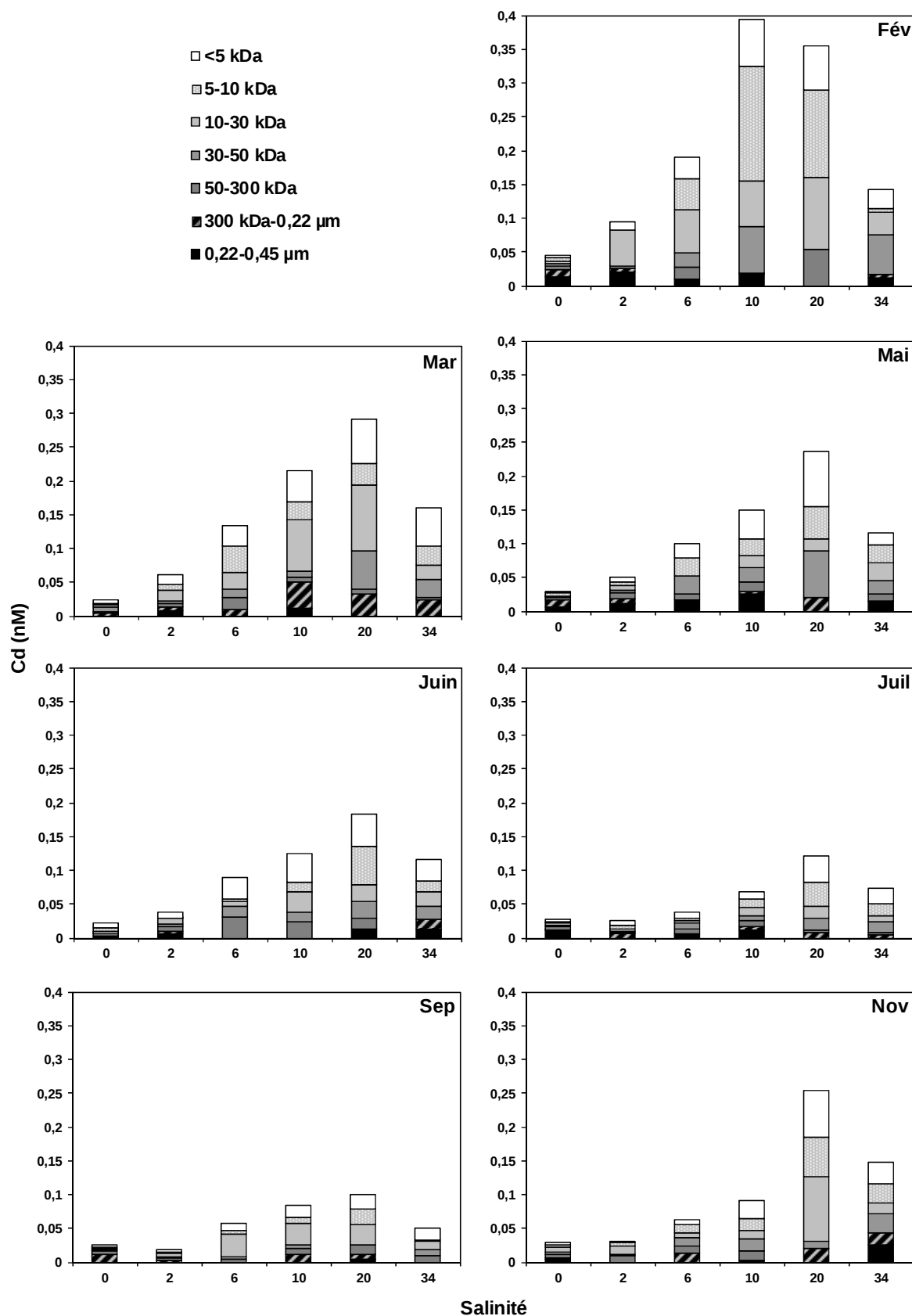


Figure V-4 : Concentration en cadmium (nM) dans les différentes fractions <0,45µm en fonction de la salinité.

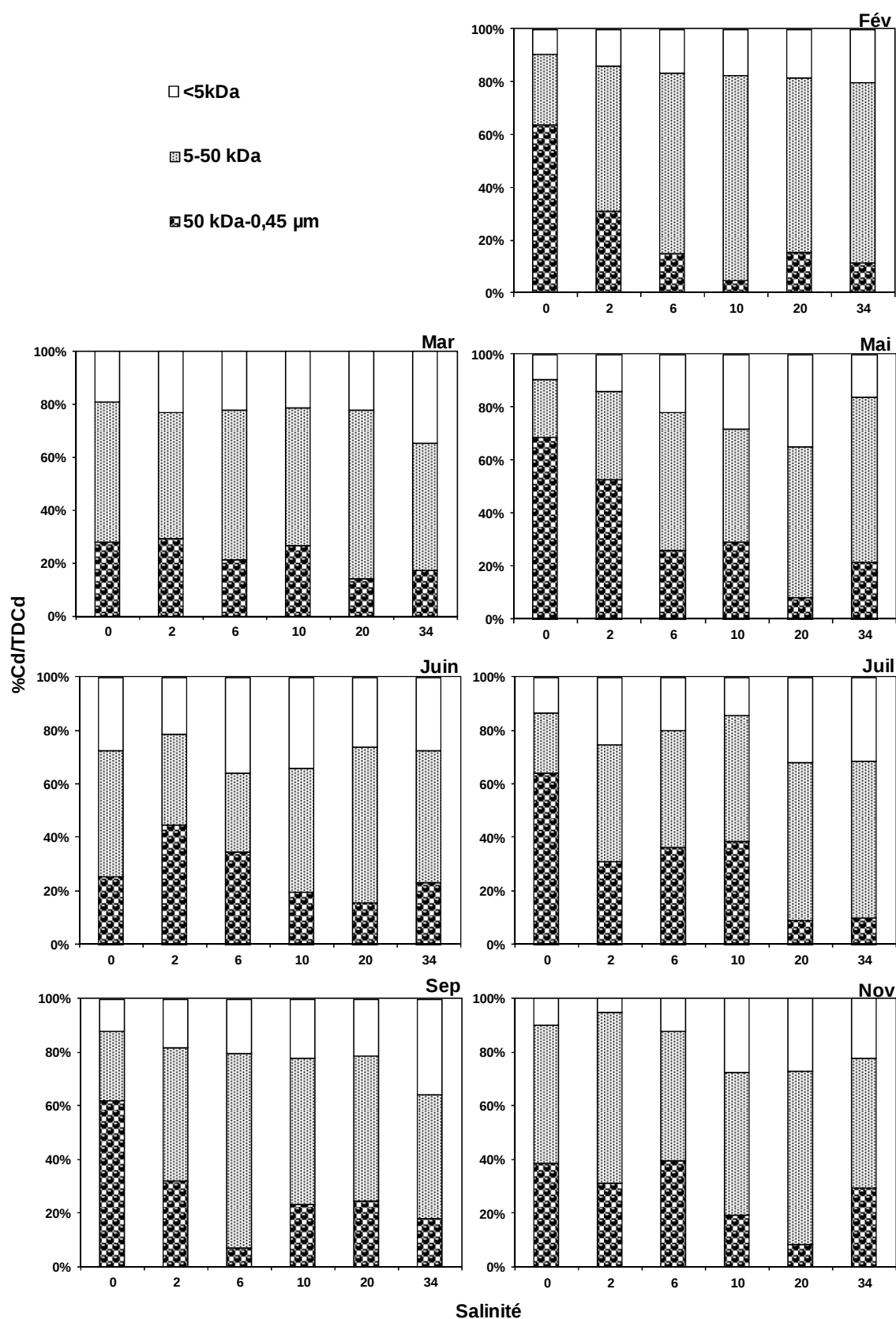


Figure V-5 : Répartition du cadmium (en %) entre les fractions colloïdales de haut poids moléculaire (50 kDa-0,45 µm), les fractions colloïdales de bas poids moléculaire (5-50 kDa) et la fraction réellement dissoute (<5 kDa) en fonction de la salinité.

III.2 Variations saisonnières

Des différences saisonnières peu marquées sont observées dans la répartition du métal entre les différentes fractions représentées en figure V-5. Un examen plus approfondi des données indique toutefois une association plus importante du cadmium avec les colloïdes de bas poids moléculaire en hiver ($56 \pm 11\%$, pour les mois de Février, Mars et Novembre) en comparaison avec le reste de l'année ($46 \pm 13\%$).

Des différences plus significatives sont par contre observées dans l'évolution saisonnière de la fraction réellement dissoute. La figure V-6 montre, en effet, que la part de cadmium réellement dissous (moyennée sur l'ensemble de l'estuaire) est plus importante dans la période printemps - été. Ces résultats sont à relier avec ceux relevés dans le même système par Waeles *et al.* (2005) pour l'année 2001. Ces auteurs ont réalisé des mesures électrochimiques de métal labile à l'électrode à film de mercure. Ils ont également observé une part élevée de cadmium labile (par rapport au métal total dissous) à la période printemps - été.

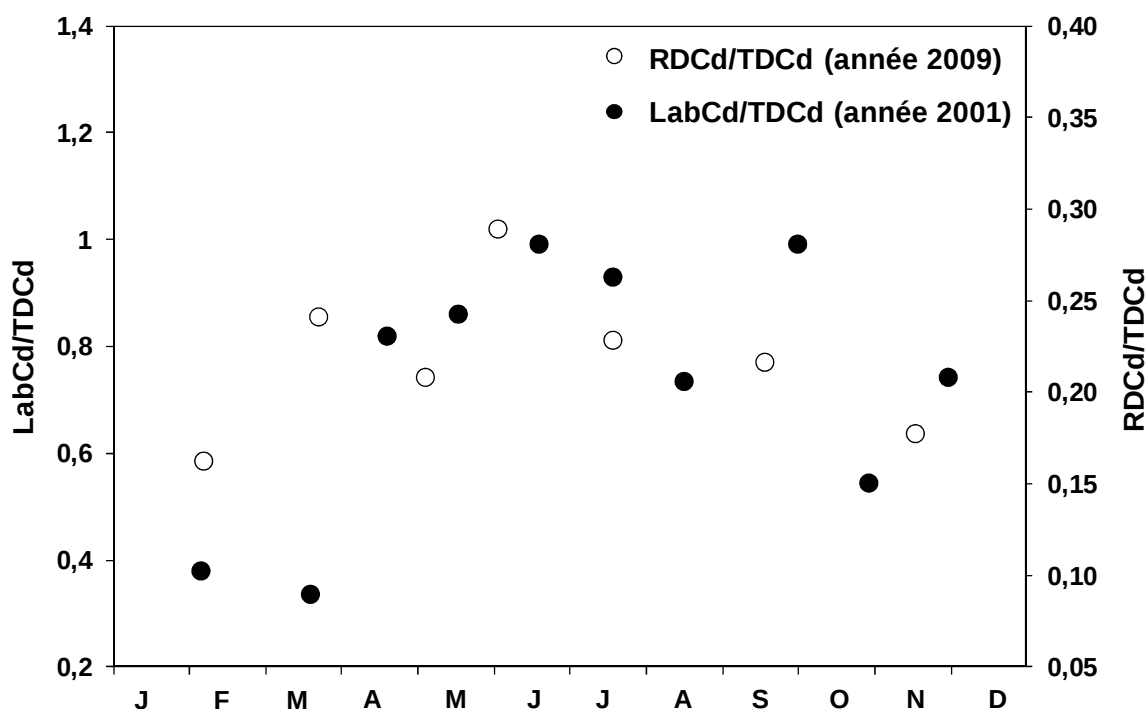


Figure V-6 : Variations de la contribution du cadmium réellement dissous (RDCd) au cadmium total dissous (TDCd) lors de l'année 2009 dans l'estuaire de la Penzé. Ces variations sont comparées à celles du rapport cadmium labile (LabCd) / TDCd lors de l'année 2001 (Waeles *et al.* 2005). Chaque rapport est moyenné sur l'ensemble de l'estuaire.

Deux résultats intéressants peuvent être déduits de cette précédente constatation. D'une part, le métal présent dans la fraction inférieure à 5 kDa pourrait présenter une biodisponibilité supérieure à celle trouvée dans la fraction colloïdale. Certains composés présents dans cette fraction, tels que des ions libres hydratés ou des composés inorganiques (de type chlorocomplexes dans le cas du cadmium) sont connus pour être facilement assimilables (e.g. Van Ginneken *et al.*, 2001; Vignati *et al.*, 2005). Nos résultats suggèrent que les complexes formés avec les petites entités organiques, tels les acides fulviques ou les acides aminés, présentent également une biodisponibilité non négligeable. D'autre part, cette constatation permet aussi d'expliquer comment s'exerce le contrôle des concentrations en métal dans l'estuaire (Section II) : en hiver, il existe peu de composés labiles indiquant une association préférentielle du métal avec des ligands organiques fortement complexants plutôt présents dans la fraction colloïdale. En été, la contribution du métal labile est élevée. La biodisponibilité accrue du cadmium coïncidant avec la période de développement du phytoplancton, il en résulte des concentrations en métal « total dissous » beaucoup plus faibles sur l'ensemble du système. Il en ressort aussi des concentrations plus importantes dans les particules, surtout dans la zone aval de l'estuaire où l'influence du bouchon vaseux est moins marquée.

IV. Importance de la fraction colloïdale du cadmium : comparaison avec les données de la littérature

Le tableau V-1 présente, pour différents systèmes estuariens, la part que représente le cadmium colloïdal au sein de la fraction totale dissoute (selon les études, inférieure à 0,2, 0,4 ou 0,45 μm). Dans les études réalisées sur cet élément, la limite souvent utilisée pour distinguer la fraction colloïdale de la fraction réellement dissoute est 10 kDa. Pour pouvoir mener une comparaison directe avec ces études, nos résultats ont aussi été exprimés en tenant compte de cette limite.

Tableau V-1 : Part de cadmium colloïdal dans la fraction totale dissoute dans différents systèmes estuariens.

Estuaire	Références	S	COD (μM)	Limites utilisées pour la fraction colloïdale	% Cd colloïdal
Baie de San Francisco	Sañudo-Wilhelmy <i>et al.</i> (1996)	0-32	60-120	10 kDa-0,2 μm	0-9
Baie de Narragansett	Wells <i>et al.</i> (1998)	25-30		8 kDa-0,2 μm	6-11
Rhône	Dai <i>et al.</i> (1995)	0-38	80-150	10 kDa-0,4 μm	0-38
Baie de Galveston	Wen <i>et al.</i> (1999)	0-34	100-350	10 kDa-0,45 μm	7-41
Lagon Venise	Martin <i>et al.</i> (1995)	0-36	120-320	10 kDa-0,4 μm	1-63
Ob et Yenisey	Dai et Martin (1995)	0-35	80-600	10 kDa-0,4 μm	1-76
Estuaires du Sud de l'Angleterre	Muller (1996)	20-35	100-700	3kDa-0,4 μm	5-72
Penzé	Cette étude	0-35	100-500	10 kDa-0,45 μm	39-86

En premier lieu, il est à noter que la part que peut représenter le cadmium colloïdal au sein d'un même système est très variable. Cependant, on peut distinguer, d'une part, les systèmes pour lesquels la fraction colloïdale du métal est minoritaire. C'est le cas par exemple de la baie de Galveston, de l'estuaire du Rhône, de la baie de Narragansett ainsi que de la Baie de San Francisco. Dans ces deux derniers, la contribution du cadmium colloïdal est particulièrement faible (<10%). Il existe, d'autre part, des systèmes dans lesquels cette

contribution peut devenir majoritaire : c'est le cas notamment du Lagon de Venise et des estuaires de l'Ob et de l'Yenisey. Dans l'estuaire de la Penzé, nos résultats montrent que l'association colloïdale du cadmium est particulièrement élevée.

Les macromolécules organiques, constituants principaux des colloïdes, offrent une capacité de complexation élevée au regard du nombre de sites disponibles par unité de masse (Santschi *et al.*, 1995). Cependant, la capacité des macromolécules à complexer ce métal est concurrencée par celle des constituants organiques de faible poids moléculaire ou des ligands inorganiques tels que les chlorures. Les différences observées d'un système à l'autre dans le partage du cadmium entre la fraction colloïdale et la fraction réellement dissoute doivent alors être fonction de l'importance et de la nature du matériel organique (en particulier de son pouvoir complexant vis-à-vis du cadmium) dans chacune de ces fractions. Il est intéressant de constater que les systèmes, où la part de cadmium colloïdal est élevée, présentent des teneurs en COD particulièrement importantes. Cependant, ce résultat est à prendre avec précaution car la nature de la matière organique présente dans ces systèmes est probablement différente. A titre de comparaison, Martin *et al.* (1995) indiquent une production locale importante de la matière organique dans le Lagon de Venise alors que celle-ci a une origine plutôt continentale (forêts, lacs, marécages) pour les estuaires de l'Ob et de l'Yenisey (Dai et Martin, 1995).

A ce niveau de la discussion, il peut être important de citer les travaux ayant examiné le pouvoir complexant des ligands organiques vis-à-vis du cadmium à la fois dans la fraction colloïdale et dans la fraction réellement dissoute. L'étude de Wells *et al.* (1998) indique que les ligands organiques du cadmium dans la baie de Narragansett (domaine de salinité 25-30) résident majoritairement dans la fraction réellement dissoute (<1 kDa). Ces ligands excèdent d'un ordre de grandeur les concentrations en cadmium et présentent des constantes conditionnelles de l'ordre de 10^9 ; il en résulte une complexation organique élevée dans ce système (70-80%). Dans le même sens, les travaux de Muller (1998 et 1999) indiquent que les eaux côtières ($S > 30$) du Forth of Clyde présenteraient des ligands organiques aux caractéristiques proches de ceux de la baie de Narragansett (ligands présents dans la fraction réellement dissoute et constantes conditionnelles de complexation de l'ordre de 10^{10}). Cependant, la concentration de ces derniers étant relativement faible vis-à-vis du cadmium, la part de métal organique est plus faible (environ 30%). Dans ce système, il doit aussi être mentionné l'origine plutôt marine de ces ligands (Muller, 1999). L'étude de Muller (1996) montre par contre des résultats significativement différents dans le cas de systèmes estuariens

du sud de l'Angleterre. Dans ceux-ci, la part de ligands organiques présents dans la fraction colloïdale est plus élevée (entre 40 et 60% généralement). Dans l'estuaire de Beaulieu en particulier, [système caractérisé par de relativement faibles concentrations en Cd (environ 0,2 nM), de fortes teneurs en matière organique (COD = 100-700 μM ; Turner *et al.*, 1998) et en substances humiques dont la taille varie entre 2 et 40 nm (Muller, 1996)] la majorité des ligands organiques capables de complexer le métal correspond à des composés colloïdaux. Il en résulte une part de métal colloïdal relativement importante (entre 42 et 70%) dans cet estuaire.

L'estuaire de la Penzé présente des caractéristiques physiques (débit, marnage, concentrations en particules en suspension) et chimiques (Cd, COD, substances humiques) très proches de celui de Beaulieu. Il est remarquable de constater que cette similitude s'étend aussi à la répartition du cadmium entre la phase colloïdale et réellement dissoute. Dans notre système, les résultats indiquent qu'il existe une corrélation significative entre la part de métal colloïdal et la part de substances humiques colloïdales (Figure V-7). Ceci suggère que les substances humiques, dont l'origine est essentiellement continentale, exerce un contrôle important de la spéciation du cadmium dans ce type de système estuarien.

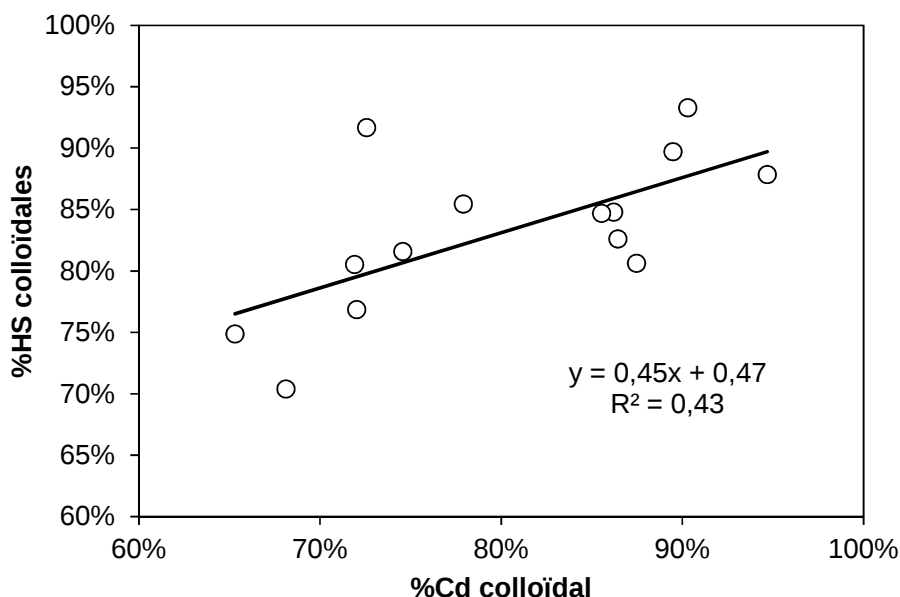


Figure V-7: Part de substances humiques colloïdales dans la fraction <0,45 μm en fonction de la part de cadmium colloïdal dans la fraction <0,45 μm . Les données concernent la gamme de salinité 0-25.

V. Comportement des différentes fractions de taille le long du gradient salé

V.1 Résultats

La figure V-8 présente le comportement des différentes fractions du cadmium le long du gradient salé au cours de l'année 2009. Le cadmium total dissous ($<0,45 \mu\text{m}$) a, dans tous les cas, un comportement non conservatif avec une forte anomalie positive par rapport à la droite théorique de dilution. Ces anomalies indiquent un enrichissement en métal, lequel se traduit par une augmentation des concentrations jusqu'à mi-estuaire. Les teneurs en métal diminuent ensuite vers l'aval sous l'effet probablement d'une dilution avec les eaux marines présentant des teneurs plus faibles. Le maximum en cadmium total dissous est généralement situé à une salinité comprise entre 15 et 20. Cependant, deux situations se détachent de cette observation générale. Au mois de février, le maximum est trouvé à 10 de salinité et celui-ci est particulièrement intense (0,39 nM). Au mois de juillet, il est par contre observé dans des eaux présentant un fort caractère marin (salinité 26).

L'étude du comportement des fractions colloïdales inférieures à $0,45 \mu\text{m}$ indique clairement que l'enrichissement en cadmium dissous concerne essentiellement les fractions inférieures à 50 kDa. En effet, dans ces fractions, l'augmentation des concentrations en métal est considérable. Entre les eaux fluviales, où elles sont généralement inférieures à 0,01 nM et le mi-estuaire où elles sont maximales, un facteur d'augmentation proche de 15 est constaté pour chacune des trois fractions (10-50 kDa, 5-10 kDa et <5 kDa). Il est à noter qu'au mois de février, l'augmentation particulièrement intense du métal total dissous est liée principalement à un enrichissement de la fraction 5-10 kDa. Pour cette fraction un facteur d'enrichissement proche de 30 a été calculé entre 0 et 10 de salinité.

Pour les trois fractions supérieures à 50 kDa (regroupées dans la figure V-8b), l'enrichissement en cadmium est par contre peu significatif puisque le facteur d'augmentation (calculé entre salinité 0 et 20) est généralement inférieur à 3.

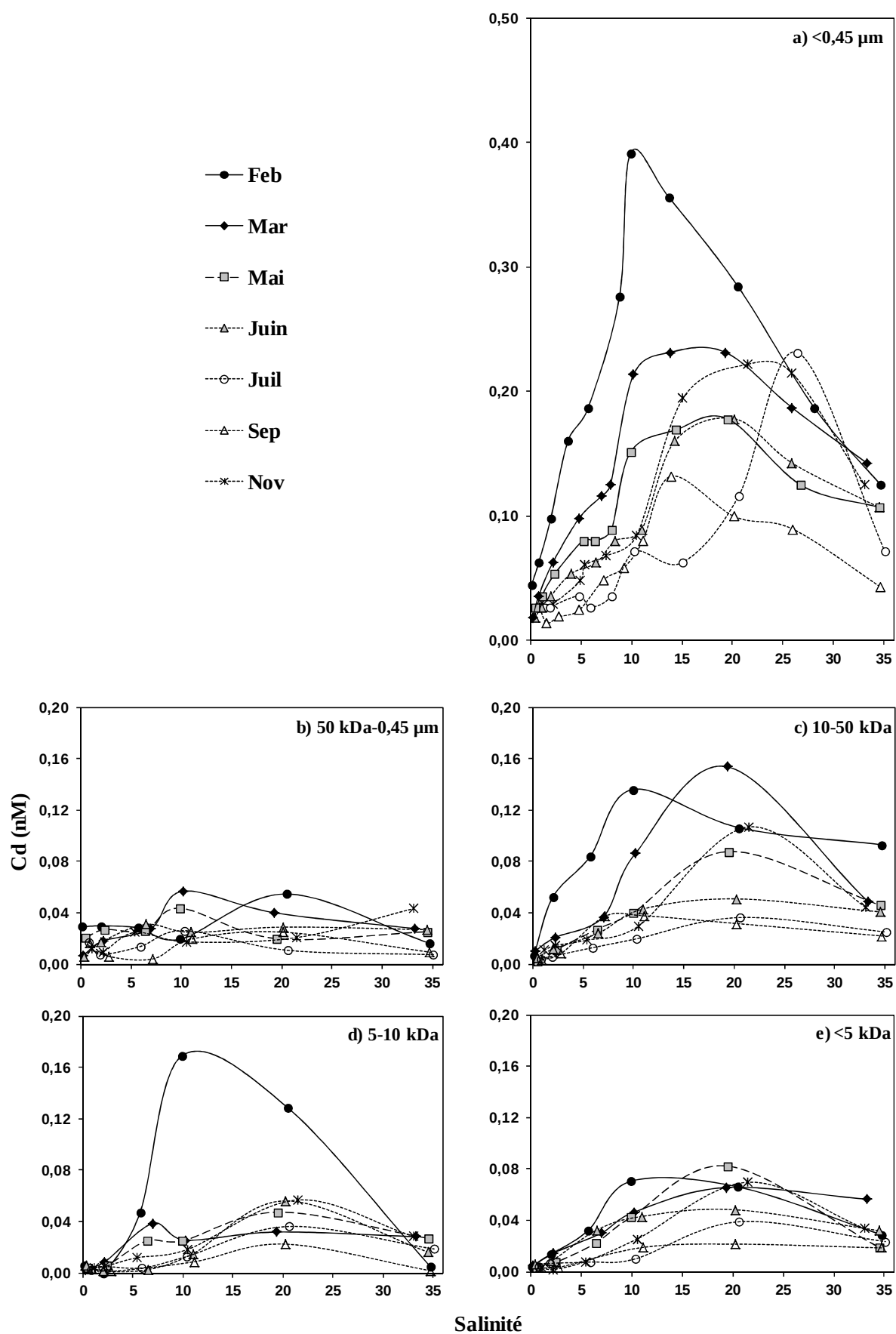


Figure V-8 : Comportement des différentes fractions du cadmium le long du gradient salé.

V.2 Discussion

V.2.1 Comparaison avec d'autres systèmes estuariens

Plusieurs travaux ont examiné le comportement de la fraction colloïdale et de la fraction réellement dissoute du cadmium dans la zone de mélange estuarienne (Dai *et al.*, 1995; Dai et Martin, 1995; Sañudo-Wilhelmy *et al.*, 1996; Wen *et al.*, 1999). Ces études montrent, comme dans notre cas, un comportement non conservatif du métal total dissous avec une anomalie positive importante. Dans les systèmes présentant une très faible part de métal colloïdal, il n'est pas surprenant que la forte anomalie positive soit liée essentiellement à une augmentation en métal réellement dissous. Dans la baie de San Francisco par exemple, la part de métal colloïdal est inférieure à 10% et l'anomalie observée pour le métal total dissous est d'un facteur 3 environ par rapport à la droite de mélange théorique. Il en résulte un profil quasiment identique du cadmium réellement dissous et du cadmium total dissous. L'exemple de la Baie de San Francisco est cependant particulier en terme de représentativité de la fraction colloïdale. Dans les autres systèmes étudiés (Dai *et al.*, 1995; Dai et Martin, 1995; Wen *et al.*, 1999), bien que la fraction réellement dissoute soit majoritaire, il existe tout de même une participation notable de la fraction colloïdale à l'anomalie positive. Par exemple, l'étude de Wen *et al.* (1999) dans la baie de Galveston, montre une augmentation (dans la gamme de salinité 0-30) d'un facteur environ 7 non seulement de la fraction réellement dissoute du cadmium mais également de la fraction colloïdale comprise entre 1 et 10 kDa.

V.2.2 Processus à l'origine de l'anomalie positive

Le comportement du cadmium dans les estuaires est bien documenté. Les travaux menés sur cet élément ont systématiquement montré un enrichissement marqué dans la phase dissoute (Chiffoleau *et al.*, 1994; Chiffoleau *et al.*, 1999; Chiffoleau *et al.*, 2001; Zwolsman *et al.*, 1997; Kraepiel *et al.*, 1997). Cet enrichissement a généralement été attribué à la désorption du métal depuis les particules en suspension (Comans et Van Dijk, 1988). Cette désorption est liée à l'augmentation de la force ionique au cours du transit estuarien des particules. Les expériences de Paalman *et al.* (1994) indiquent que cette désorption est le résultat d'une compétition entre les ions Ca^{2+} et les ions Cd^{2+} sur les sites d'adsorption des oxydes de fer et de manganèse. Les calculs de spéciation ont suggéré que cette désorption est

favorisée par la formation de chlorocomplexes (Turner *et al.*, 1981; Comans et Van Dijk, 1988). D'autres travaux ont par contre montré l'implication des ligands organiques dans la complexation du cadmium dissous (Wells *et al.*, 1998; Waeles *et al.*, 2004; Muller, 1996).

Dans l'estuaire de la Penzé, l'augmentation du cadmium dans la fraction réellement dissoute est probablement due à la formation de chlorocomplexes. Cependant, l'association du métal avec des entités organiques de petite taille ne peut être complètement écartée. L'augmentation du cadmium dans les fractions colloïdales de bas poids moléculaire doit, quant à elle, être liée à la formation de complexes organiques. La complexation organique du cadmium peut être importante en milieu estuarien. Ce point a été souligné et a fait l'objet d'une discussion dans la section précédente (section IV).

V.2.3 Position du maximum

Dans cette discussion sur le comportement du cadmium, il peut être important de considérer également la position du maximum en métal marquant généralement la fin de l'enrichissement en cadmium dans la fraction totale dissoute. Selon les travaux de Chiffoleau et collaborateurs (Chiffoleau *et al.*, 1994; Chiffoleau *et al.*, 2001) deux facteurs semblent contrôler la position du maximum. Dans les zones très turbides, le relargage depuis les particules en suspension est limité par la présence importante de sites d'adsorption. La désorption du cadmium n'est alors observée qu'en aval du bouchon vaseux. Le facteur cinétique est également important à considérer; la position du maximum en métal dépendra alors du temps de résidence des eaux dans l'estuaire.

Dans le cas de l'estuaire de la Penzé, Tessier (2002) a montré que le temps de résidence est proportionnel au débit et inversement proportionnel au carré de l'amplitude de marée. Nos prélèvements conduits de mars à septembre ont été effectués en mortes-eaux et en période d'étiage (débit $< 2,5 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$). Dans ces conditions correspondants à des temps de résidence très courts (inférieurs à 6 jours, tableau V-2), la désorption du cadmium s'opère jusqu'à des salinités relativement élevées. Par contre, les prélèvements du mois de Février, effectués en période de crue, sont caractérisés par un temps de transit élevé (> 20 jours). Nos résultats montrent que dans ces conditions, la désorption de métal s'effectue dans une gamme de salinité plus faible. Il est à noter également que les faibles teneurs en matière en suspension enregistrées en février favorisent une désorption précoce du métal le long du gradient. En effet, une augmentation rapide des teneurs est observée dans la zone de salinité 0-5 ce qui n'est pas le cas lors des autres prélèvements.

La particularité du profil observé au mois février pourrait aussi être expliquée par une complexation du cadmium par des ligands organiques de nature différente. Nos résultats montrent, en effet, une contribution importante des colloïdes de très faible poids moléculaire (5-10 kDa) à l'anomalie positive. Ces ligands pourraient présenter des propriétés complexantes élevées favorisant une désorption plus rapide du métal.

Tableau V-2 : Caractéristiques physiques des prélèvements conduits lors de l'année 2009 dans l'estuaire de la Penzé (Temps de résidence estimés d'après les travaux de Tessier (2002)) ; la valeur entre parenthèses pour le débit correspond à une variation du débit entre le jour de prélèvement et trois jours avant, (+) signifie une augmentation du débit et (-) une diminution du débit.

Date	Débit (m ³ s ⁻¹)	Marnage (m)	Temps de résidence (jours)
6-Fev	8,6 (+1,3)	4,2	26
23-Mar	2,3(-0,1)	4,7	6
4-Mai	2,0(-0,6)	4,7	5
2-Juin	1,0(-0,1)	4,6	2
17-Juil	0,7(+0,0)	3,8	2
15-Sep	0,4(+0,0)	4,4	1
13-Nov	6,4(+4,6)	5,5	10

VI. Flux

Les flux de cadmium ont été estimés à l'entrée et à la sortie de l'estuaire de la Penzé. Ils sont exprimés à l'échelle annuelle. Leur représentativité en terme de bilan annuel ainsi que les modes de calcul exacts de ces différents flux sont exposés dans le chapitre IV (section VI, paragraphe VI-2). Dans les tableaux V-3 et V-4, sont regroupés pour le cadmium dissous les résultats des estimations des concentrations fluviales C_0 ainsi que celles des concentrations théoriques à salinité 0 ($C_{th(S=0)}$) ayant permis la détermination des flux entrants (flux bruts) et des flux sortants (flux nets). Le calcul des flux bruts et nets de cadmium particulaire selon le modèle exposé en fin de chapitre IV (section VI, paragraphe VI-2) donne des valeurs de $6,9 \pm 1,0$ et $4,6 \pm 1,0 \text{ kg an}^{-1}$, respectivement.

Tableau V-3 : Estimation des concentrations fluviales moyennes et des flux bruts de cadmium dissous (avec leur intervalle de confiance à 95%). Le débit moyen utilisé est de $3,03 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$.

Fraction	n	C_0 (nM)	IC 95%	flux brut (kg an^{-1})	IC 95%
RD (<5 kDa)	7	0,004	0,001	0,04	0,01
PC (5-50 kDa)	7	0,010	0,003	0,11	0,03
GC (50 kDa-0,45 μm)	7	0,015	0,006	0,16	0,07
TD (<0,45 μm)	7	0,029	0,007	0,31	0,07

Tableau V-4 : Estimation des concentrations théoriques à salinité 0 et des flux nets de cadmium dissous (avec leur intervalle de confiance à 95%). Le débit moyen utilisé est de $3,03 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$.

Fraction	n	r^2	Pente (pM)	$C_{th(S=0)}$ (nM)	IC 95%	flux net (kg an^{-1})	IC 95%
RD (<5 kDa)	14	0,42	-1,9	0,09	0,04	1,0	0,4
PC (5-50 kDa)	14	0,40	-5,2	0,24	0,12	2,6	1,2
GC (50 kDa-0,45 μm)	21	0,07	-0,4	0,03	0,02	0,4	0,2
TD (<0,45 μm)	21	0,37	-6,4	0,32	0,11	3,5	1,2

L'ensemble des résultats concernant les calculs de flux est illustré par la figure V-9 dans laquelle les concentrations sont exprimées en g an^{-1} (échelle logarithmique). Selon nos estimations, le cadmium est très majoritairement apporté à l'estuaire sous forme particulaire (à plus de 95%). Dans la fraction dissoute (<0,45 μm), les colloïdes représentent le vecteur principal de ce métal (55 et 35% pour les colloïdes de haut poids et de bas poids moléculaire, respectivement) ; la fraction réellement dissoute ne représentant pas plus de 15% du flux brut de cadmium total dissous.

Les flux exportés depuis l'estuaire vers le milieu côtier montrent un flux de cadmium particulaire du même ordre de grandeur que le flux de cadmium dissous. Dans la fraction dissoute, le métal est exporté majoritairement sous forme de colloïdes de bas poids moléculaire. La contribution du métal réellement dissous est relativement importante puisque celle-ci représente environ le quart des exportations de métal dissous et 10 à 15% du flux net total. La part associée aux colloïdes de haut poids moléculaire est quant à elle relativement faible (moins de 5% du flux net total).

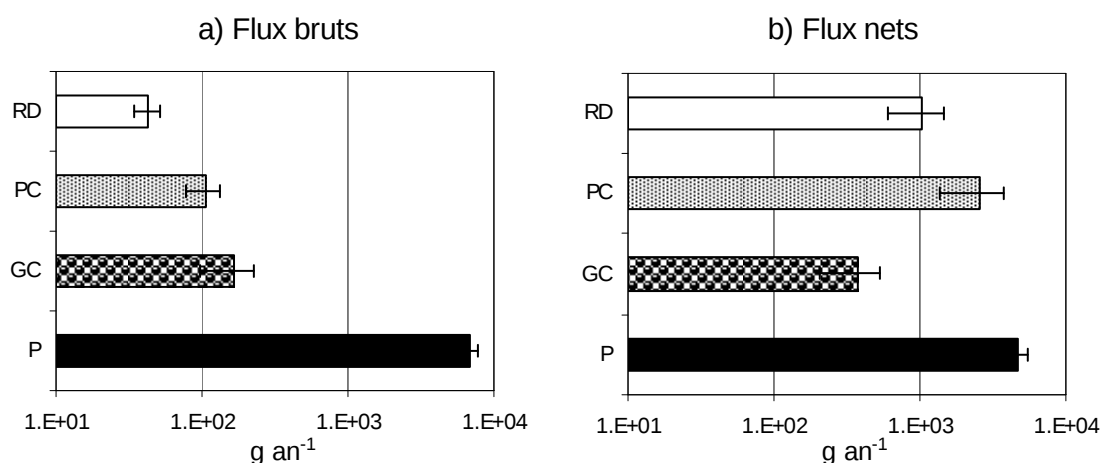


Figure V-9 : Flux de cadmium à l'entrée (flux bruts) et à la sortie (flux nets) de l'estuaire de la Penzé. RD : fraction <5 kDa; PC : fraction colloïdale comprise entre 5 et 50 kDa; GC : fraction colloïdale comprise entre 50 kDa et 0,45 µm; P : fraction >0,45 µm.

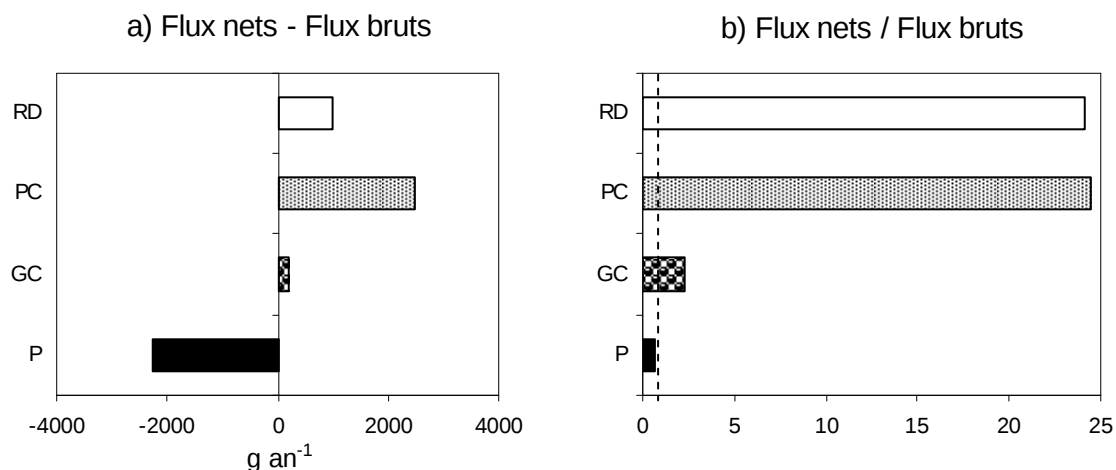


Figure V-10 : Bilan absolu et relatif des flux de cadmium dans l'estuaire de la Penzé. RD : fraction <5 kDa; PC : fraction colloïdale comprise entre 5 et 50 kDa; GC : fraction colloïdale comprise entre 50 kDa et 0,45 µm; P : fraction >0,45 µm.

La figure V-10 illustre les échanges s'opérant au sein de l'estuaire entre les différentes fractions. Ces échanges ont été déduits des flux bruts et nets et sont exprimés à la fois en quantités absolues (Figure V-10a) et en quantités relatives (Figure V-10b). Nos résultats montrent qu'il existe essentiellement un transfert du cadmium de la phase particulaire vers les colloïdes de bas poids moléculaire et vers la fraction réellement dissoute. En effet, la "perte" de cadmium dans la phase particulaire lors du mélange estuarien est d'environ 30%. Dans le même temps, un facteur d'enrichissement d'environ 20 est constaté dans les deux fractions citées ci-dessus.

VII. Conclusion

Dans l'estuaire de la Penzé, nos travaux montrent une présence accrue du cadmium dans la phase colloïdale (à environ 80%), plus élevée que celle habituellement reportée pour d'autres systèmes estuariens. Dans ce système, présentant des teneurs relativement faibles en métal, mais dont les eaux sont très riches en matière organique dissoute, particulièrement en substances réfractaires de type humique, la part de métal organique est élevée. Ainsi, les chlorocomplexes, espèces habituellement considérés comme largement majoritaires en milieu marin, constituent une part réduite du métal dans cet estuaire.

Lors du cycle saisonnier, des variations significatives de la répartition colloïdale du métal ont été observées. Ces variations concernent essentiellement la part de métal réellement dissous, dont l'importance est maximale en été (environ 30% du métal total dissous). Ces composés présents dans la fraction réellement dissoute ont une labilité relativement importante, ce qui doit favoriser d'autant plus l'absorption biologique du métal à cette saison.

Lors du transit estuarien, il existe une désorption importante du métal depuis les particules en suspension. L'enrichissement en métal dissous qui en résulte se fait essentiellement à la faveur de composés de faible poids moléculaire (fractions <50 kDa). Nos travaux ont également permis de mieux cerner les facteurs qui contrôlent cette désorption du métal ; un temps de résidence des eaux réduit ainsi qu'un bouchon vaseux concentré favorisant une désorption à des salinités plus élevées.

Chapitre VI
Variations saisonnières et comportement du cuivre
colloïdal

I. Introduction

Le cuivre est l'un des métaux traces le plus étudié dans les eaux naturelles. Cet élément chimique est un micronutriment mais présente aussi un caractère toxique pour les organismes marins. Ce caractère toxique se manifeste lorsque l'élément est présent en excès et sous des formes chimiques disponibles (Manahan et Smith, 1973; Brand *et al.*, 1986; Peers *et al.*, 2005; Buck *et al.*, 2007). A titre d'exemple, des concentrations élevées en métal libre (Cu^{2+}), espèce la plus toxique, peuvent induire une inhibition du métabolisme du phytoplancton (Bruland *et al.*, 1991), un stress chez les mollusques bivalves (Luoma, 1995) ou encore une diminution de la croissance des crabes (Sanders et Jenkins, 1984).

Dans les eaux estuariennes et côtières, le cuivre est connu pour être fortement complexé par la matière organique (Voelker et Kogut, 2001). En effet, plusieurs travaux ont montré que les formes organiques représentent plus de 99% de sa spéciation dissoute (Coale et Bruland, 1988; Donat *et al.*, 1994; Hurst et Bruland, 2005). Les concentrations en cuivre total dissous sont typiquement comprises entre 3 et 50 nM tandis que celles de l'ion libre Cu^{2+} sont généralement très inférieures à 1 nM en raison de la forte complexation organique du métal (Donat *et al.*, 1994; Kozelka et Bruland, 1998; Shank *et al.*, 2004).

Les études ayant examiné le comportement de différentes fractions colloïdales le long de gradients salés estuariens peuvent être classées selon le comportement de la fraction totale dissoute. On peut distinguer, d'une part, les systèmes dans lesquels le cuivre dissous présente un comportement conservatif ou proche de la conservativité. Ainsi, dans le Rhône (Dai *et al.*, 1995), le Danube (Guieu *et al.*, 1998), l'Ob et l'Yenisey (Dai et Martin, 1995), ni le métal total dissous, ni les différentes fractions isolées ne sont affectées lors du mélange eau douce - eau de mer. Il a été suggéré par les différents auteurs que la forte stabilité des complexes organiques du cuivre dans ces systèmes empêche tout échange de métal entre les différentes fractions. Dans les systèmes où le cuivre présente une anomalie positive, les études montrent plutôt un enrichissement de la fraction de taille la plus faible. Ainsi dans la Baie de San Francisco, Sañudo-Wilhelmy *et al.* (1996) observent un enrichissement en cuivre dans la fraction <10 kDa, identique à celui de la fraction totale dissoute. Une hypothèse de remobilisation du cuivre depuis les particules en suspension et vers la fraction de très faible poids moléculaire est avancée par ces auteurs. Dans la Baie de Galveston, Tang *et al.* (2001) notent aussi une très forte augmentation du cuivre dans la fraction <1 kDa. Celle-ci est d'une intensité supérieure à celle en cuivre total dissous. Dans ce système, cela nécessite qu'une

partie du cuivre et des ligands organiques soient éliminés de la fraction colloïdale par floculation.

Il faut souligner que le nombre d'études ayant examiné le comportement colloïdal du cuivre en milieu estuarien est relativement réduit. De plus, les variations lors du cycle saisonnier ne sont en général pas prises en compte. Pourtant des différences significatives de comportement du cuivre total dissous ont pu être observées pour un même système (Waeles, 2003; Waeles *et al.*, 2005). L'examen de la répartition colloïdale du métal pourrait nous aider à mieux cerner cette variabilité dont les causes demeurent encore peu connues. Outre cet objectif, notre travail vise également à apporter des informations sur les ligands organiques qui complexent le cuivre en milieu estuarien. Il s'agit également d'établir des bilans de transport des différentes fractions de taille du métal dans la zone de transit estuarienne.

II. Variations saisonnières du cuivre particulaire et du cuivre total dissous

II.1 Cuivre particulaire

La figure VI-1 présentant les variations saisonnières du cuivre particulaire ($>0,45 \mu\text{m}$) montre que les concentrations en métal dans les particules en suspension sont comprises entre 32 et 62 $\mu\text{g g}^{-1}$.

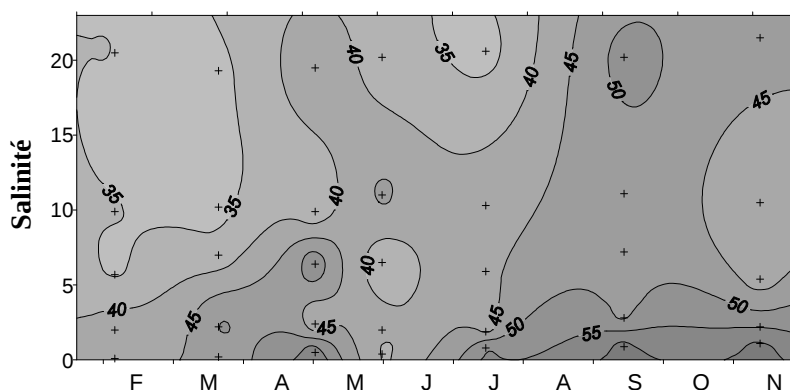


Figure VI-1 : Variations saisonnières du cuivre particulaire ($\mu\text{g g}^{-1}$) le long du gradient salé. Les erreurs de mesures du cuivre particulaire étant relativement importantes à salinité 34, seul le gradient de salinité 0-25 est représenté.

Les teneurs en métal sont proches de 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ dans la partie amont de l'estuaire. Elles diminuent rapidement avec l'augmentation de la salinité. Dans les eaux de salinité supérieure à 10, les teneurs en cuivre avoisinent 40 $\mu\text{g g}^{-1}$.

Les variations lors du cycle saisonnier sont peu marquées. Toutefois, des concentrations plus faibles sont observées en hiver et au début du printemps (février et mars) sur l'ensemble du gradient salé. Les concentrations les plus élevées sont quant à elles observées à la fin de l'été (Septembre).

II.2 Cuivre dissous

La figure VI-2 représente les variations saisonnières en cuivre total dissous (TDCu; $<0,45 \mu\text{m}$). Les concentrations varient entre 2,1 et 7,1 nM pendant la période étudiée. Elles sont conformes à celles observées lors d'une précédente étude conduite dans ce système en 2001 par (Waeles *et al.* 2005) avec des valeurs comprises entre 1,8 et 9,5 nM.

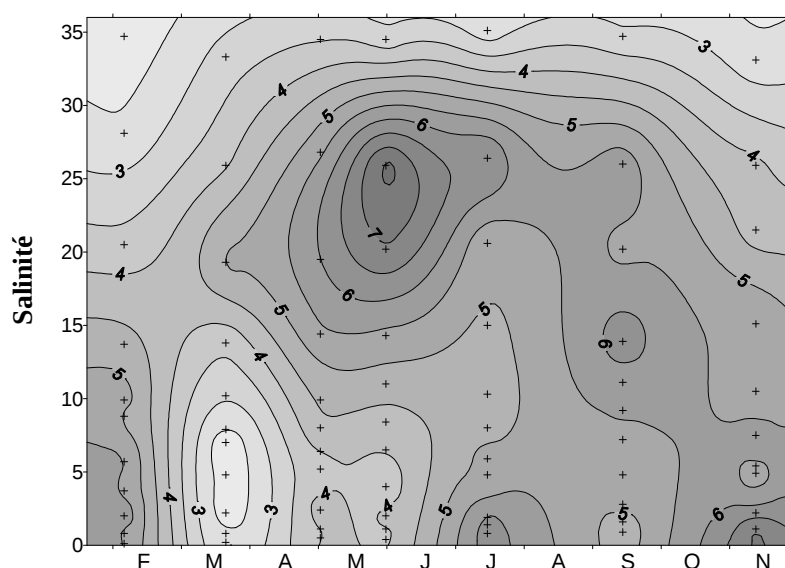


Figure VI-2 : Variations saisonnières du cuivre total dissous (nM) le long du gradient salé.

Les variations le long du gradient salé sont très marquées. Dans certains cas, il existe une diminution des concentrations de l'amont vers l'aval (février et novembre) et les teneurs les plus élevées (environ 7 nM) sont mesurées dans les eaux fluviales. Dans d'autre cas, on observe par contre une concentration maximale à mi-estuaire (salinité proche de 20). Les plus faibles teneurs sont généralement trouvées dans les eaux marines (à $S = 34$, $\text{TDCu} = 2,9 \pm 0,4 \text{ nM}$, $n = 7$).

Les variations lors du cycle saisonnier sont également marquées. Celles-ci sont relativement complexes mais deux faits marquants peuvent être distingués. Dans les eaux fluviales, d'une part, des teneurs relativement faibles (inférieures à 4 nM) sont observées au printemps. A mi-estuaire, d'autre part, il existe une augmentation significative des concentrations au printemps et ces dernières restent élevées (supérieures à 5 nM) pendant la période estivale.

Au sein d'un estuaire, les teneurs en un élément donné sont contrôlées, d'une part, par les variations des eaux sources, fluviales et marines et, d'autre part, par les processus intervenant dans la zone de mélange. Les variations en cuivre dissous dans les eaux fluviales sont présentées et discutées ci-après. Les variations observées le long du gradient salé seront examinées à l'aide des diagrammes de mélange présentés en section VI.

II.3 Variations du cuivre dissous dans les eaux fluviales

Les eaux de ruissellement et les eaux souterraines constituent les deux voies principales d'alimentation des cours d'eau. Dans le cas du bassin versant de la Penzé, la contribution moyenne des eaux souterraines au débit du cours d'eau est d'environ 60% (Mougin *et al.*, 2004). Les teneurs des éléments chimiques dans les eaux fluviales sont donc dépendantes de la proportion relative de ces deux sources qui varie de façon importante au cours du cycle saisonnier. Dans le cas du nitrate et du phosphate, nous avons mentionné quelles étaient les voies d'apports préférentielles de ces deux éléments pour le bassin versant de la Penzé (p. 71-75, chapitre III). Le phosphate, apporté majoritairement par les eaux de ruissellement, est présent à des teneurs élevées en période de précipitations intenses. Au contraire, les fortes teneurs en nitrate sont enregistrées lorsque les apports par les eaux souterraines sont dominants (printemps).

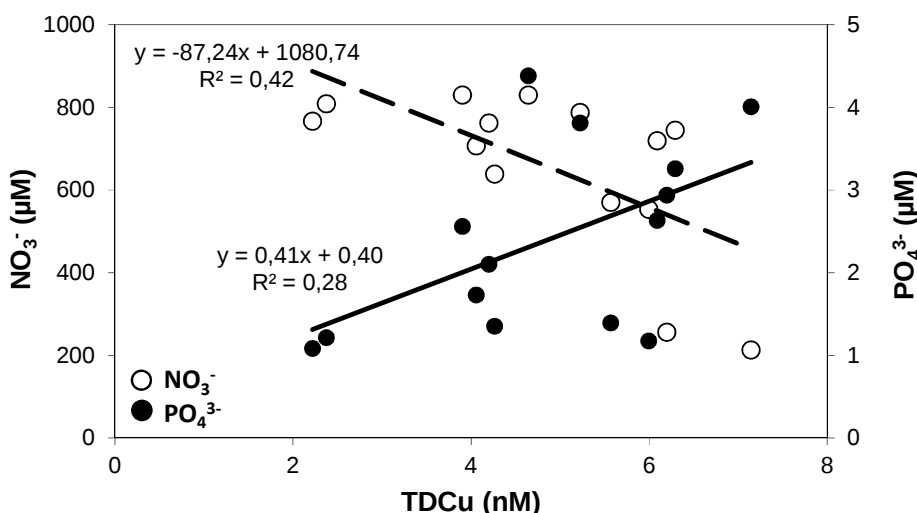


Figure VI-3 : Concentrations en nitrate et en phosphate en fonction de celles en cuivre total dissous dans les eaux "fluviales" ($0 < S < 3$) de la Penzé.

Les concentrations en phosphate et en nitrate dans les eaux fluviales ont été tracées en fonction de celles en cuivre dissous (Figure VI-3). Dans le cas du phosphate, une corrélation positive significative ($p = 0,05$; $n = 14$) est observée avec le cuivre dissous suggérant une source commune (eaux de ruissellement) pour ces deux éléments. Dans le cas du nitrate, une corrélation négative est par contre observée. Cette corrélation négative indique non seulement que les eaux souterraines du bassin versant de la Penzé seraient pauvres en cuivre dissous mais renforce également l'hypothèse selon laquelle le cuivre serait apporté préférentiellement

par les eaux de ruissellement. La forte baisse des teneurs en cet élément dans les eaux fluviales de la Penzé au printemps doit alors être expliquée :

- par la baisse significative des précipitations à cette saison,
- par l'augmentation concomitante de la contribution des réserves souterraines; ces réserves étant importantes en cette période post-hivernale.

La figure VI-4a montre que l'intensité des précipitations lors des 3 jours précédents le prélèvement (P_{3j}) explique pour une bonne partie les teneurs en cuivre dissous dans les eaux fluviales. Cependant, un modèle du type $TDCu = f(P_{3j}/Q^{1/2})$ faisant intervenir le débit (Q) semble être mieux adapté pour prendre en compte la dilution de cet apport (Figure VI-4b).

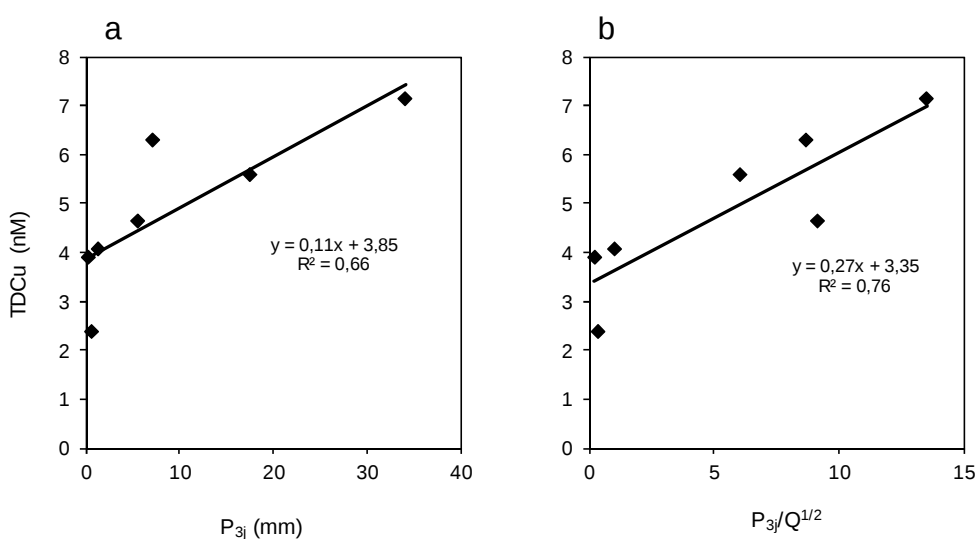


Figure VI-4 : Concentrations en cuivre total dissous (TDCu) en fonction a) de l'intensité des précipitations lors des 3 jours précédents le prélèvement et b) du modèle $TDCu = f(P_{3j}/Q^{1/2})$.

III. Concentrations et répartition du cuivre dans les différentes fractions colloïdales

La figure VI-5 présente les concentrations en cuivre dissous dans les différentes fractions colloïdales (5 kDa-0,45 μ m) et dans la fraction réellement dissoute (<5 kDa). Sur l'ensemble de l'estuaire, nos résultats montrent que le cuivre se présente majoritairement associé à la phase colloïdale. En effet, les formes colloïdales du cuivre représentent $89 \pm 4\%$ ($n = 42$) de la fraction <0,45 μ m. Par conséquent, la contribution de la fraction réellement dissoute (<5 kDa) est faible puisqu'elle représente seulement $11 \pm 4\%$ ($n = 42$) du métal total dissous.

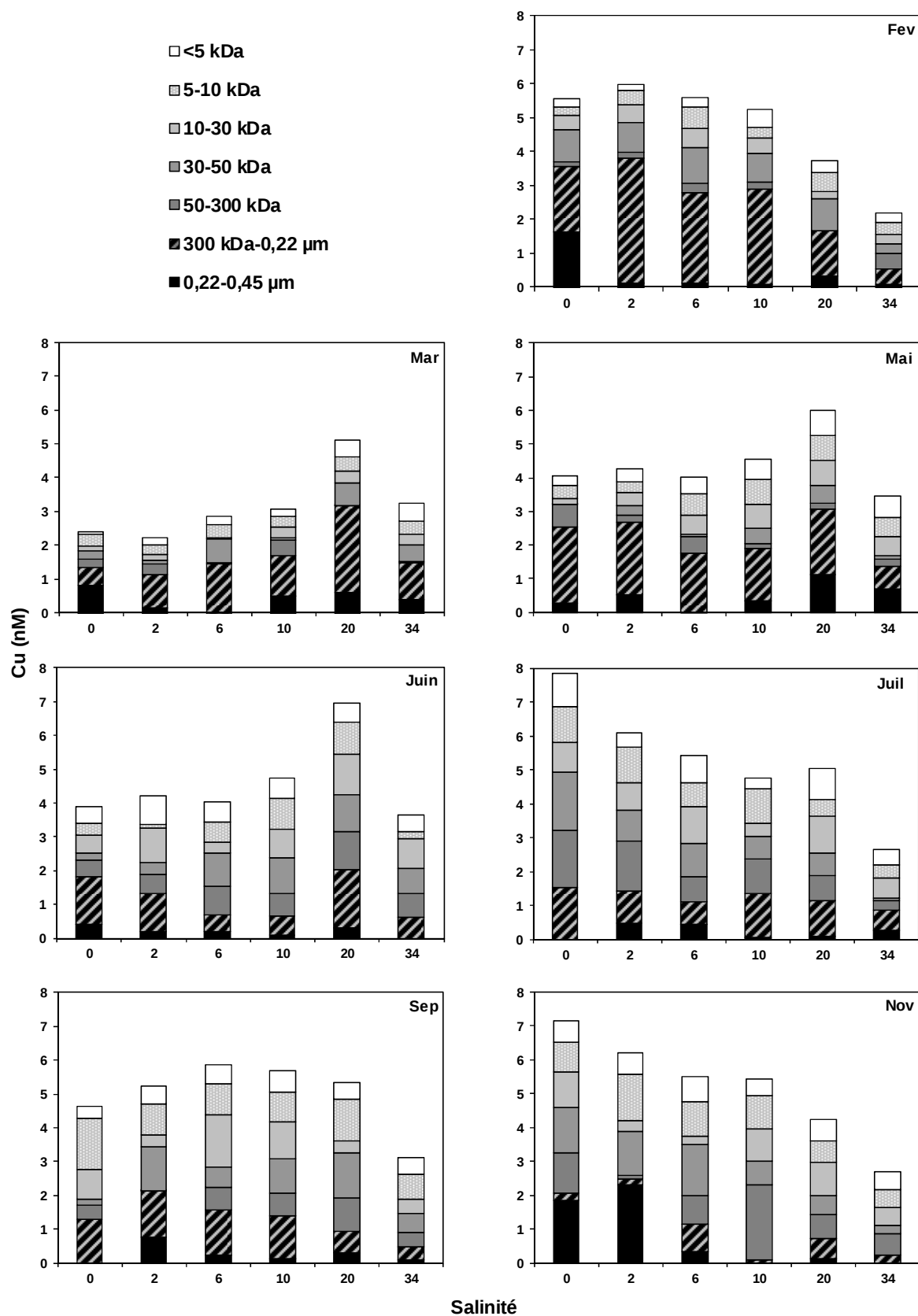


Figure VI-5 : Concentrations en cuivre (nM) dans les différentes fractions <0,45 µm en fonction de la salinité.

Une étude plus poussée de la répartition en cuivre montre que ce dernier semble avoir une affinité particulière pour les colloïdes de taille comprise entre 300 kDa et 0,22 μm . En effet, cette fraction compte, sur l'ensemble de l'estuaire et sur l'ensemble du cycle annuel, pour $27 \pm 16\%$ ($n = 42$) du métal total dissous. En hiver et au printemps (février, mars et mai), cette affinité est particulièrement importante et cette fraction représente alors $40 \pm 13\%$ ($n = 18$). La contribution de chacune des autres fractions colloïdales et de la fraction réellement dissoute est généralement inférieure à 15% du cuivre total dissous.

Il est à noter la distribution particulière du mois de novembre pour laquelle la fraction 300 kDa-0,22 μm , habituellement majoritaire, est très faible. Aux faibles salinités ($S < 2$), il existe par contre une participation significative de la fraction 0,22-0,45 μm . Sur le reste de l'estuaire, le métal est essentiellement associé à des colloïdes de moyen et de bas poids moléculaire.

Afin d'examiner de façon synthétique la distribution colloïdale du cuivre, des regroupements de fractions ont été effectués (Figure VI-6). La fraction 50 kDa-0,45 μm regroupe les colloïdes de haut poids moléculaire, la fraction 5-50 kDa correspond aux colloïdes de bas poids moléculaire et la fraction < 5 kDa représente le cuivre réellement dissous. Les variations de la répartition du cuivre entre ces différentes fractions sont tout d'abord examinées le long du gradient salé. Celles observées lors du cycle saisonnier sont ensuite discutées.

III.1 Variations le long du gradient salé

Dans les eaux fluviales, le cuivre est majoritairement associé aux colloïdes de haut poids moléculaire. Sur l'ensemble du cycle saisonnier cette association représente $56 \pm 15\%$ ($n = 7$) du métal total dissous. La part de cuivre associé aux colloïdes de bas poids moléculaire représente environ 1/3 du métal total dissous ; la part de cuivre réellement dissous est quant à elle relativement faible ($8 \pm 4\%$, $n = 7$). Cette répartition du cuivre entre les différentes fractions colloïdales est progressivement modifiée le long du gradient salé. L'association avec les colloïdes de haut poids moléculaire diminue pour atteindre $40 \pm 7\%$ ($n = 7$) dans les eaux marines. Dans le même temps, la part de métal liée aux petits colloïdes augmente, passant de 36 ± 14 à $44 \pm 8\%$. Si cette augmentation n'est pas réellement significative, il n'en va pas de même pour la contribution du métal réellement dissous qui

passé de $8 \pm 4\%$ ($n = 7$) dans la partie fluviale du système à $16 \pm 2\%$ ($n = 7$) dans la partie marine.

III.2 Variations saisonnières

Des différences saisonnières relativement marquées sont observées dans la répartition du métal entre les différentes fractions présentées en figure VI-6. En hiver et au printemps, (février, mars et mai), nos résultats montrent une association plus importante du cuivre avec les colloïdes de haut poids moléculaire. En effet, la part de métal colloïdal dans la fraction 50 kDa-0,45 μm représente alors plus de la moitié du cuivre total dissous ($58 \pm 10\%$, $n = 18$). Pour le reste de l'année, la fraction contenant les colloïdes de bas poids moléculaire (5-50 kDa) domine ; celle-ci représente environ 50% de la spéciation physique du métal dissous ($48 \pm 7\%$, $n = 24$). A cette même période, la fraction comprenant les plus grands colloïdes compte quant à elle pour $40 \pm 7\%$ ($n = 24$). Aucune variation saisonnière significative n'est par contre observée dans la fraction réellement dissoute.

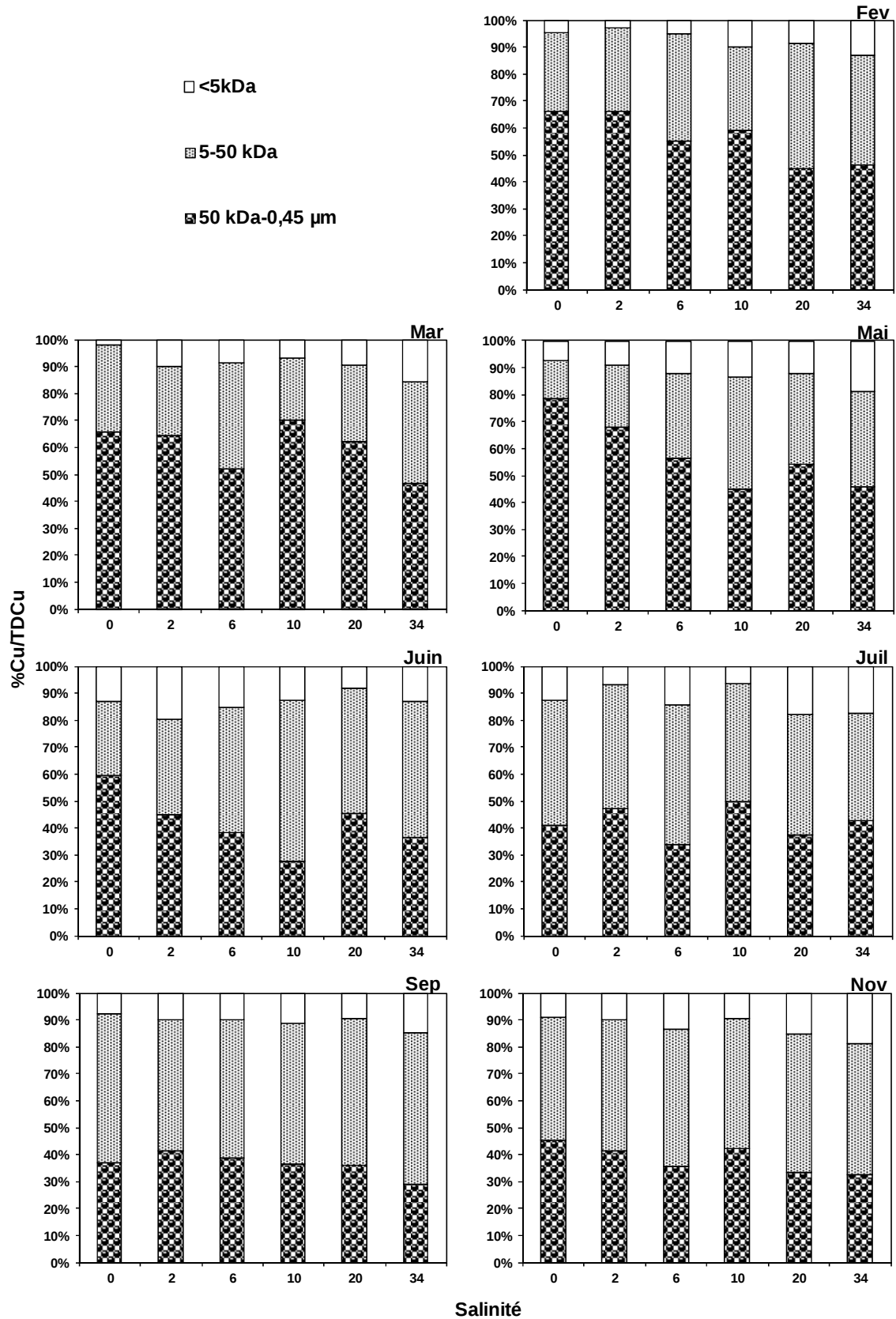


Figure VI-6 : Répartition du cuivre (en %) entre les fractions colloïdales de haut poids moléculaire (50 kDa-0,45 µm), les fractions colloïdales de bas poids moléculaire (5-50 kDa) et la fraction réellement dissoute (<5 kDa) en fonction de la salinité.

IV. Importance de la fraction colloïdale du cuivre : comparaison avec les données de la littérature

Le tableau VI-1 présente, pour différents systèmes estuariens, la part de cuivre colloïdal au sein de la fraction totale dissoute (selon les études, inférieure à 0,2, 0,4 ou 0,45 μm). Afin de mener une comparaison directe avec ces différents travaux, nos résultats sont exprimés en tenant compte d'une limite de 10 kDa. En effet, cette limite est la plus fréquemment utilisée pour distinguer la fraction colloïdale de la fraction réellement dissoute.

Tableau VI-1: Pourcentage de cuivre colloïdal dans la fraction totale dissoute dans différents systèmes estuariens.

Système	Références	S	Limites utilisées pour la fraction colloïdale	% Cu colloïdal
Baie de San Francisco	Sañudo-Wilhelmy <i>et al.</i> (1996)	0-32	10 kDa-0,2 μm	1-18
Baie de Narragansett	Wells <i>et al.</i> (2000)	24-31	8 kDa-0,2 μm	6-19
Baie de Galveston	Wen <i>et al.</i> (1999)	0-34	10 kDa-0,45 μm	1-23
Estuaire du Rhône	Dai <i>et al.</i> (1995)	0-38	10 kDa-0,4 μm	20-40
Estuaire du Danube	Guieu <i>et al.</i> (1998)	0-17	10 kDa-0,45 μm	10-50
Lagon de Venise	Martin <i>et al.</i> (1995)	0-36	10 kDa-0,4 μm	20-59
Estuaire de l'Ob et du Yenisey	Dai et Martin (1995)	0-35	10 kDa-0,4 μm	23-39
Estuaires du Sud de l'Angleterre	Muller (1996)	20-35	3kDa-0,4 μm	15-60
Ochlockonee	Powell <i>et al.</i> (1996)	0-29	10 kDa-0,45 μm	10-61
Penzé	Cette étude	0-35	10 kDa-0,45 μm	60-91

Les systèmes estuariens étudiés pour leur composition colloïdale en cuivre peuvent être classés en deux groupes. On distingue, d'une part, les estuaires pour lesquels la part de métal colloïdal est largement minoritaire. A titre d'exemple, dans les systèmes estuariens de la baie de San Francisco, de la baie de Galveston ainsi que de la baie de Narragansett, le métal est faiblement associé aux colloïdes. Dans ces différents systèmes, la contribution du cuivre colloïdal au cuivre dissous ne dépasse pas 25%.

Dans les autres systèmes étudiés, la part de cuivre colloïdal est généralement plus importante et représente près de la moitié du métal total dissous. C'est le cas notamment du Rhône et du Danube. Seuls quelques systèmes, comme les estuaires de Beaulieu et de l'Itchen dans le Sud de l'Angleterre (Muller, 1996), peuvent présenter une association du métal avec la fraction colloïdale pouvant être majoritaire. Dans l'estuaire de la Penzé, nos résultats montrent qu'il existe une contribution particulièrement élevée de la fraction colloïdale. Cette dernière représente entre de 60 et 90% du métal total dissous.

Une comparaison de nos résultats peut également être menée avec une étude ayant examiné de façon plus poussée la répartition colloïdale du cuivre (Tableau VI-2). Les travaux d'Ingri *et al.* (2004) présentent des concentrations en métal dans cinq fractions (filtrations effectuées : 0,22 μm / 100 kDa / 10 kDa / 5 kDa / 1 kDa); ils ont été réalisés dans la Baie d'Ekhagen en Mer Baltique à une station dont la salinité est comprise entre 1 et 3. Dans ce système, les teneurs en cuivre total dissous sont relativement élevées (environ 30 nM) et le cuivre se trouve essentiellement dans les fractions de petite taille (<10 kDa). Afin de réaliser la comparaison, dans l'estuaire de la Penzé, nous avons tenu compte uniquement des données dont la salinité est comprise entre 0 et 3 de salinité. Dans ce système présentant des concentrations en cuivre total dissous plus faibles (entre 7,1 et 2,4 nM), le métal est trouvé à des teneurs du même ordre de grandeur dans les différentes fractions séparées.

Tableau VI-2 : Concentrations en cuivre (nM) mesurées dans différentes fractions colloïdales par Ingri *et al.* (2004). Nos données dans la gamme de salinité 0-3 ont également été ajoutées.

	kDa							μm		
Gamme de taille	0-1	1-5	5-10	10-30	30-50	50-100	100-300	300 kDa-0,22 μm	0,22-0,45	0,45-2,7
Ekhagen ($1 < S < 3$, $n=3$)	12	3,3	8,1	0,5			1,2			
Penzé ($0 < S < 3$, $n=12$)	0,5		0,6	0,6	0,8	0,5		1,4	0,4	

Afin de poursuivre cette comparaison en s'affranchissant du biais lié à l'utilisation de membranes de tailles différentes, les données d'Ingri *et al.* (2004) et celles obtenues pour l'estuaire de la Penzé ont été traitées de la manière suivante. Chaque concentration mesurée (exprimée en pM) a été normalisée à 1 nm. Par exemple, une concentration de 1000 pM dans la fraction 50-300 kDa qui couvre une gamme d'environ 10 nm donnerait une valeur de

100 pM nm^{-1} . La figure VI-7 permet ainsi de mieux visualiser la répartition du cuivre sur l'ensemble du spectre de taille des nanoparticules. Cette représentation indique que les teneurs normalisées en cuivre diminuent au fur et à mesure que la taille des colloïdes augmente. Dans l'estuaire de la Penzé, les concentrations normalisées les plus importantes (environ 1000 pM nm^{-1}) sont observées autour de 1 nm . Il s'agit en particulier des fractions 5-10 et 10-30 kDa.

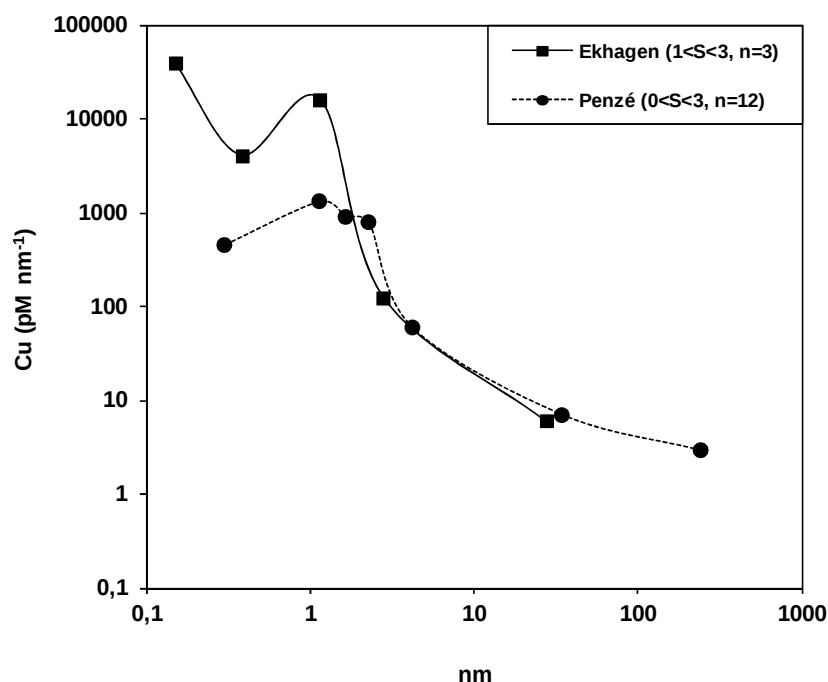


Figure VI-7 : Concentrations en cuivre normalisées à 1 nm dans la gamme de taille colloïdale. Système Ekshagen (Ingri *et al.*, 2004). Nos données dans la gamme de salinité 0-3 ont également été ajoutées.

Etant donnée la forte affinité du cuivre pour la matière organique, les différences observées d'un système à l'autre doivent être liées à la nature et au pouvoir complexant des différents ligands organiques intervenant dans la complexation du métal. Dans la Baie d'Ekshagen, Ingri *et al.* (2004) notent une répartition particulière de la matière organique avec une forte présence de composés organiques de très faible poids moléculaire ($<1 \text{ kDa}$). Au contraire, dans beaucoup d'estuaires (La Penzé y compris), le pool de composés colloïdaux organiques est dominant (Guo et Santschi, 1997). Ce contrôle de la spéciation physico-chimique du cuivre par la matière organique est discuté plus en détail dans la section suivante.

V. La complexation organique du cuivre comme facteur de contrôle de la répartition colloïdale du cuivre

Dans les eaux naturelles et dans les estuaires en particulier, le cuivre est connu pour être principalement associé avec des ligands organiques (Bruland *et al.*, 1991; Donat et Bruland, 1995; Donat *et al.*, 1994; Baeyens *et al.*, 1998; Tang *et al.*, 2001; Shank *et al.*, 2004). A titre d'exemple, dans la Baie de Galveston, Tang *et al.* (2001) ont montré que les formes organiques du cuivre représentent plus de 99,9% de la spéciation de ce métal. A ce jour, il n'existe que peu d'information sur la nature et la structure de ces ligands (Gordon *et al.*, 2000; Vachet et Callaway, 2003). Cependant, différentes approches analytiques ont pu rendre compte de quelques propriétés les concernant : stabilité (constantes de complexation), hydrophobicité, susceptibilité à la dégradation...

Le premier paragraphe de cette section décrit les résultats obtenus par les études ayant examiné les constantes de complexation des ligands organiques du cuivre dans les eaux naturelles. Les ligands les plus fortement complexants étant déterminants quant à la spéciation physico-chimique du métal, il s'agit d'examiner ensuite quelles sont les hypothèses sur l'origine de ces ligands (paragraphe V.2). Nos résultats concernant l'estuaire de la Penzé sont alors replacés dans ce contexte (paragraphe V.3).

V.1 Constantes de complexation des ligands organiques et distribution colloïdale

Les titrations effectuées selon des méthodes voltammétriques telles que la redissolution anodique (ASV; Chau et Gachter, 1974; Ndungu *et al.*, 2005) ou la redissolution cathodique par compétition de ligands (CSV, Van Den Berg, 1984; Shank *et al.*, 2004) permettent d'accéder aux concentrations des ligands organiques du cuivre ainsi qu'aux constantes de stabilité des complexes. Dans les eaux estuariennes, deux ou trois classes de ligands ont pu être mis en évidence (Donat, 1994; Kozelka et Bruland, 1998). Ces ligands nommés L_1 et L_2 (voire L_3) sont distingués par la stabilité des complexes qu'ils forment avec le métal. Les ligands les plus fortement complexants (L_1) sont caractérisés par des constantes de stabilité thermodynamiques de l'ordre de 10^{13} à 10^{15} ($\log K'_{CuL} \sim 13-15$). Les ligands plus faiblement complexants présentent quant à eux des constantes de stabilité de l'ordre de 10^9 à 10^{11} (Santos-Echeandía *et al.*, 2008).

Dans les systèmes fluviaux et estuariens, la concentration en ligands organiques "forts" excède souvent la teneur en cuivre dissous. La répartition du métal entre les différentes fractions de taille est alors directement fonction de celle des ligands les plus fortement complexants. Ainsi, l'étude de Hoffmann *et al.* (2007) menée dans la rivière Milwaukee montre que la présence majoritaire du cuivre dans la fraction <3 kDa est liée à la présence dans cette même fraction de complexes dont la constante de stabilité thermodynamique ($\log K'_{\text{CuL}} = 14,0$) dépasse d'un ordre de grandeur celle des complexes trouvés dans les fractions de taille supérieure. L'étude de Tang *et al.* (2001) dans la baie de Galveston montre, au contraire, que les ligands organiques les plus fortement complexant ($\log K'_{\text{CuL}} \sim 12$) se situent dans la fraction colloïdale (1 kDa-0,45 μm). Dans cette même fraction, les concentrations en cuivre sont proches de 10 nM alors qu'elles n'excèdent pas 5 nM dans la fraction réellement dissoute. L'étude menée par Muller (1996) dans les estuaires de Beaulieu et de l'Itchen (Sud de l'Angleterre) montre que les plus forts ligands sont également répartis entre la fraction colloïdale (>3 kDa) et la fraction réellement dissoute. Il en résulte une part de cuivre colloïdal d'environ 50% pour ces deux systèmes ($51 \pm 11\%$ et $48 \pm 7\%$ pour les estuaires de Beaulieu et de l'Itchen, respectivement).

Bien que largement utilisée, cette classification en ligands spécifiques (de type L_1 ou L_2) n'est pas forcément nécessaire selon Town et Filella (2000). Ces auteurs ont montré que les résultats obtenus par les études évoquées précédemment peuvent en fait être expliqués par la présence d'une large panoplie de ligands dont la taille et les propriétés complexantes sont très variables. Ainsi, les sites les plus complexants sont utilisés lorsque les concentrations en cuivre sont faibles, puis, progressivement, les sites de moins en moins complexants sont mis à contribution lorsque la concentration en cuivre augmente. Si Town et Filella (2000) préfèrent évoquer la notion de continuum de sites complexants plutôt que celle de ligands spécifiques (notamment à cause de la large gamme de taille couverte par ces espèces et de leur hétérogénéité), la question de l'origine des espèces organiques les plus fortement complexantes reste ouverte.

V.2 Hypothèses sur l'origine des ligands organiques du cuivre

La source **biotique** a très souvent été proposée pour expliquer la présence des ligands organiques les plus fortement complexants. Ces composés (thiols, exopolymères...) seraient excrétés par les espèces phytoplanctoniques pour maintenir des concentrations très faibles en cuivre libre (Van Den Berg *et al.*, 1979; Gerringa *et al.*, 1995). A titre d'exemple, les travaux de Leal *et al.* (1999) ont montré que l'ajout de cuivre en milieu de culture (*Emiliana Huxelia*) pouvait induire un relargage important de composés de type thiol. Si cette hypothèse d'une origine biotique comme contrôle de la concentration en cuivre libre est plausible dans certains cas (notamment lorsque la concentration en ligands de type L_1 excède la concentration en métal), il existe cependant de nombreuses études dans lesquelles les concentrations en cuivre dissous sont supérieures à celles des ligands de type L_1 (Hirose *et al.*, 1982; Donat *et al.*, 1994).

D'autres études, telles que celles de Kogut et Voelker (2001) et Shank *et al.* (2004), suggèrent par contre que les ligands organiques du cuivre (ligands de type L_1 y compris) pourraient consister principalement en des **composés organiques réfractaires**. Ces composés, usuellement nommés « substances de type humique », peuvent présenter une origine pédogénique (PROM), ou aquatique (AROM). Les composés d'origine pédogénique comprennent les acides fulviques et les acides humiques. Les composés d'origine aquatique proviennent de la décomposition des macrophytes et du phytoplancton (Chanudet *et al.*, 2006). Dans les eaux océaniques, la matière organique réfractaire est principalement d'origine aquatique. Dans les eaux côtières, la contribution des substances pédogéniques peut être significative (Anderson *et al.*, 1984) et celle-ci est largement majoritaire dans les eaux fluviales (Buffle, 1988). Dans les estuaires riches en matière organique, la conservativité du carbone organique dissous suggère également une origine principalement pédogénique. Ainsi, Kogut et Voelker (2003) ont montré que la complexation du cuivre dans les eaux estuariennes proche de Cape Cod peut être efficacement modélisée à l'aide de concentrations en substances humiques de 0,3 à 0,7 mg C L⁻¹.

Il est à noter que les substances de type humique représentent la fraction la plus hydrophobe de la matière organique du cuivre (Kogut et Voelker, 2003; Paulson *et al.*, 1994). Les études ayant isolé les substances organiques selon cette propriété (typiquement sur des colonnes de type C₁₈) ont montré qu'une part importante du cuivre pouvait être liée à des complexes hydrophobes non-polaires. A titre d'exemples, ces complexes représentent entre

11 et 36% du cuivre dans les eaux de l'Atlantique Nord et du Pacifique Nord (Hanson et Quinn, 1983; Donat *et al.*, 1986), 11 à 55% dans les eaux méditerranéennes (Elbaz-Poulichet *et al.*, 1994; Yoon *et al.*, 1999). Dans les eaux estuariennes et côtières, des rapports $C_{18}Cu/TDCu$ plus élevés ont été reportés (entre 10 et 66%, Waeles *et al.*, 2004).

Une source supplémentaire de ligands forts du cuivre peut aussi être considérée pour les systèmes fluviaux et estuariens soumis à des rejets urbains importants. Pernet-coudrier *et al.* (2008) ont montré que cette matière organique se distingue par une teneur importante en structures protéiniques (12% d'azote et 3% de soufre) induisant une diversité et un nombre élevé de groupements fonctionnels. Ils ont aussi montré que ces composés, plutôt hydrophiles, présentent une capacité de complexation plus importante vis-à-vis du cuivre que les fractions hydrophobes provenant de sites moins urbanisés et que les acides fulviques provenant de la rivière Suwannee (IHSS – International Humic Substances Society).

V.3 Complexation organique du cuivre dans l'estuaire de la Penzé

Une analyse simple de la répartition colloïdale du cuivre dans l'estuaire de la Penzé (Figure VI-6) ne permet pas une identification directe du type de ligands organiques impliqués. En effet, les ligands macromoléculaires dans le domaine 50 kDa-0,45 μm peuvent correspondre à des agrégats humiques réfractaires (Lead et Wilkinson, 2006). Dans cette gamme de taille, il peut aussi s'agir de composés d'origine biotique telles que des biomolécules intracellulaires de hauts poids moléculaires (protéines, peptiglycane, polysaccharides extracellulaires,...) (Kaplan *et al.*, 1987; Lee *et al.*, 1996; Hung *et al.*, 2001; Lead et Wilkinson, 2006). Les ligands organiques colloïdaux dans la fraction 5-50 kDa peuvent quant à eux correspondre à des composés humiques ou fulviques. Une origine phytoplanctonique (e.g. les peptides telles que les phytochélatines) peut également être suspectée (Kawakami *et al.*, 2006).

Si l'origine de ces ligands reste floue à ce stade, plusieurs indications permettent par contre d'envisager, dans notre système, une complexation préférentielle du cuivre par les composés de type humique.

En premier lieu, une comparaison du spectre colloïdal du cuivre avec celui des substances humiques (concentrations rapportées à une gamme de 1 nm) a été menée (Figure VI-8). Cette comparaison a été effectuée pour les trois campagnes de prélèvement pour lesquelles les substances humiques ont été mesurées (Mai, Juillet, Novembre). La figure

VI-8a (concentrations exprimées sur une échelle logarithmique) montre clairement que ces deux espèces sont réparties de façon similaire sur le spectre colloïdal. Les substances humiques, ainsi que le cuivre, sont trouvées à des concentrations élevées dans les colloïdes de l'ordre de 1 nm. Ainsi, la fraction 5-50 kDa, bien que ne couvrant qu'une faible partie du spectre colloïdal (1-3 nm), contient généralement la majorité de ces composés.

Nos résultats montrent de plus que les concentrations en cuivre dans la Penzé sont grandement contrôlées par celles de ces composés organiques réfractaires (Figure VI-8b). La mobilisation simultanée de ces deux espèces chimiques sur les sols du bassin versant, d'une part, ainsi que l'augmentation du pouvoir complexant des composés humiques avec l'augmentation de leur concentration, d'autre part, doivent expliquer ce résultat.

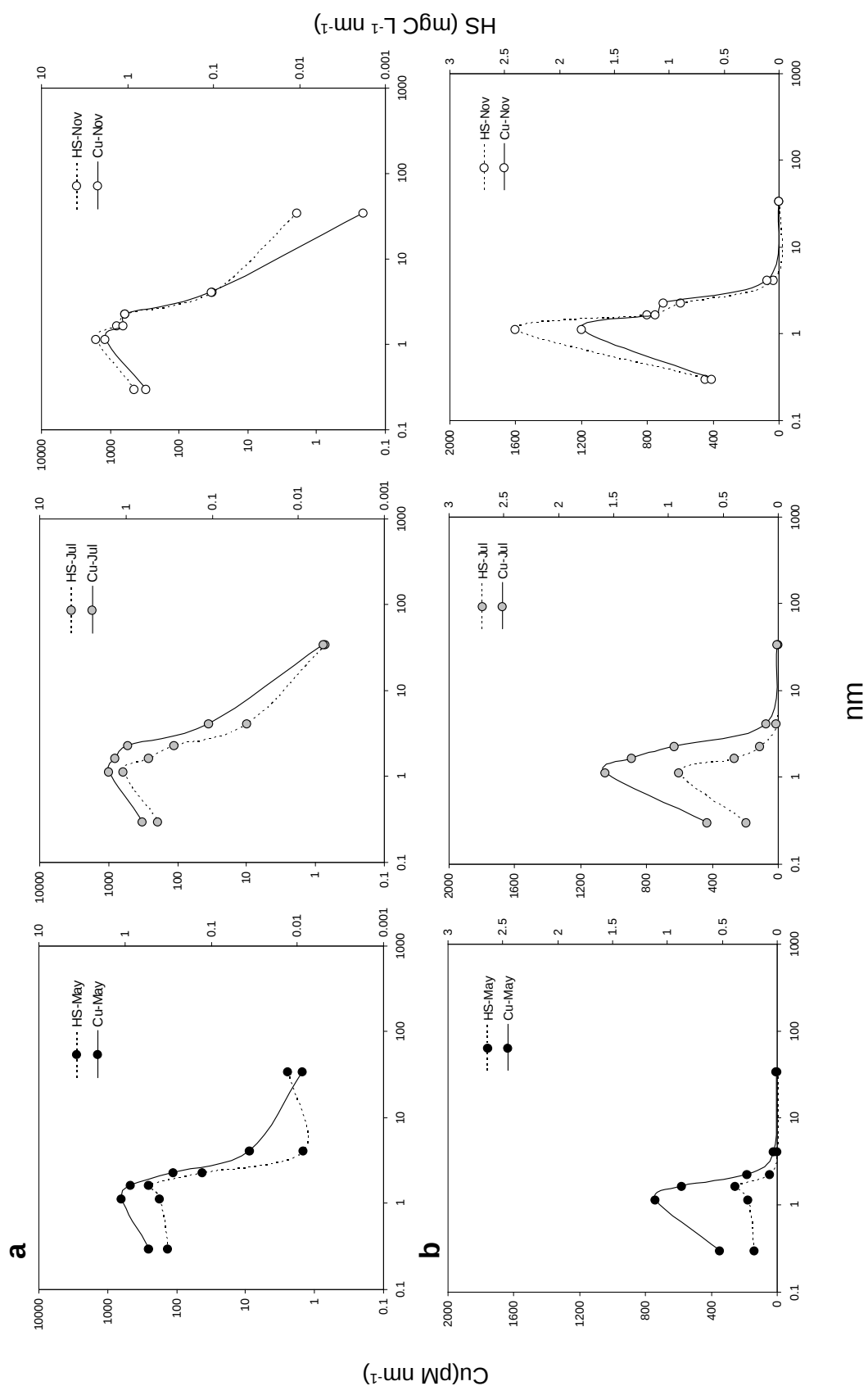


Figure VI-8 : Concentrations en cuivre et en substances humiques normalisées à 1 nm sur l'ensemble du spectre de taille colloïdal. a) concentrations sur une échelle logarithmique; b) concentrations sur une échelle non-logarithmique.

Les variations saisonnières mises en évidence pour la distribution colloïdale du cuivre ont montré essentiellement une différence entre la période hiver / printemps (poids majoritaire de la fraction 50 kDa-0,45 μm) et l'été / automne (cuivre présent majoritairement dans la fraction 5-50 kDa). Ces variations ne sont donc pas liées à celle du phytoplancton autochtone dont la période de développement est relativement courte [généralement en début d'été et limitée à quelques semaines, e.g. Vandenhecke (2009)]. Une liaison directe avec le phytoplancton d'origine fluviale semble également peu probable étant donné l'étendue des deux périodes mises en évidence. Cette alternance saisonnière apparaît, au contraire, étroitement liée à celle des substances de type humique. Comme le montre la figure VI-9, incluant les données de Jegaden (2010) pour l'année 2008, les substances humiques représentent une part relativement faible de la matière organique à la fin de l'hiver et au printemps, puis cette contribution augmente fortement au cours de l'été et est maximale à la fin de l'automne. Lorsque la contribution des substances humiques est importante, on note une plus forte présence du métal dans la fraction de taille (5-50 kDa) contenant préférentiellement ces composés.

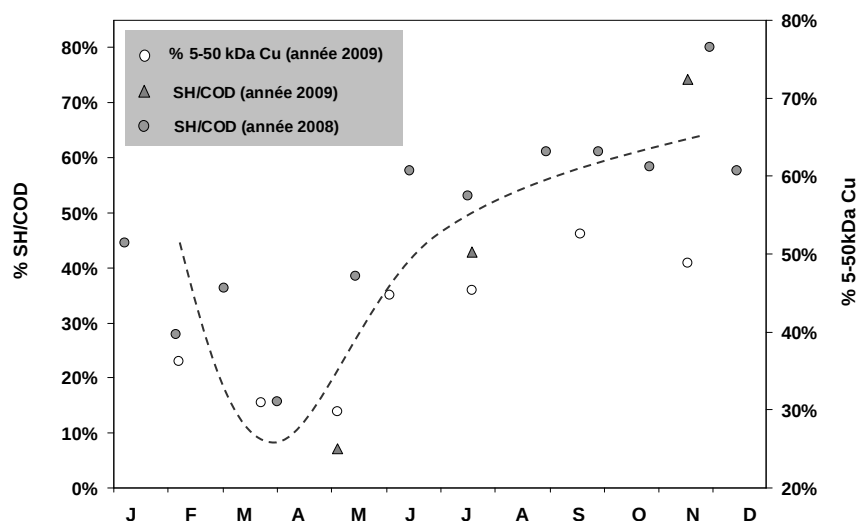


Figure VI-9 : Variations saisonnières de la contribution des substances humiques au carbone organique dissous (données 2008 : Jegaden, 2010) et de la part de cuivre liée à la fraction de taille 5-50 kDa.

Les espèces humiques présentant des propriétés hydrophobes, la fraction du cuivre isolée sur colonne C_{18} (Mills et Quinn, 1981; Donat *et al.*, 1986) permet d'apprécier la part de cuivre liée à ces substances. L'analyse des données de Waeles *et al.* (2005) obtenues lors de l'année 2001 dans l'estuaire de la Penzé montre une variabilité saisonnière comparable à celle que nous obtenons dans la fraction 5-50 kDa (Figure VI-10). Ceci apporte une confirmation

supplémentaire que l'association du cuivre avec les substances humiques est particulièrement élevée pour la période été-automne.

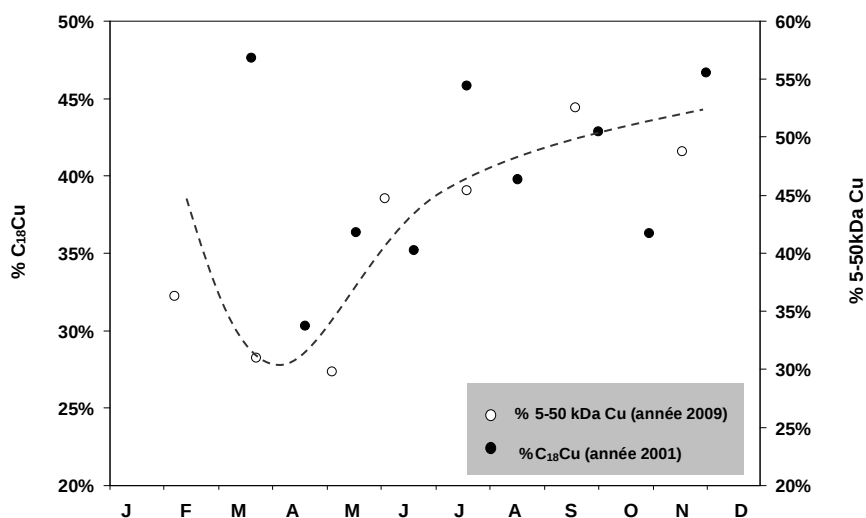


Figure VI-10 : Variations saisonnières de la fraction hydrophobe non polaire du cuivre dissous (données 2001 : Waeles *et al.*, 2005) et de la part de cuivre liée à la fraction de taille 5-50 kDa.

Le contrôle de la spéciation du cuivre par les substances humiques est donc révélé par différentes approches. Ces substances ont un caractère un peu moins complexant que d'autres espèces organiques (Donat *et al.*, 1997). Cependant, dans les systèmes telle que la Penzé, celles-ci sont présentes en concentrations très importantes et probablement bien supérieures à celles des ligands biotiques. Nous proposons, dans de tels systèmes, qu'elles constituent le groupe de ligands organiques déterminant essentiellement la spéciation du métal.

VI. Comportement des différentes fractions de taille du cuivre le long du gradient salé

VI.1 Résultats

La figure VI-11 présente les diagrammes métal-salinité pour les différentes fractions du cuivre dissous. Ces diagrammes ont été regroupés par saison étant donné les similitudes observées dans certains cas.

En hiver et en automne (Février et Novembre), le comportement du métal total dissous ($<0,45 \mu\text{m}$) est quasi-conservatif avec une diminution linéaire des teneurs suivant la salinité. Au printemps (Mars, Mai et Juin), une forte anomalie positive est observée avec une augmentation importante des concentrations dans la gamme de salinité 5-20. L'anomalie la plus marquée se produit au mois de juin avec des teneurs passant d'environ 4 nM dans la zone de basse salinité ($S < 5$) à 7,7 nM à salinité 26. En été (Juillet et Septembre), la fraction totale dissoute présente également une anomalie positive. Cependant, la déviation observée est beaucoup moins marquée qu'au printemps et l'augmentation des teneurs n'est visible que sur une partie réduite du gradient salé (20-25).

Nos résultats ont également permis de tracer les diagrammes de mélange des différentes fractions colloïdales du cuivre :

- En hiver et en automne, les écarts à la droite théorique de dilution ne sont pas non plus significatifs dans le cas des trois fractions examinées.
- Au printemps, si la fraction réellement dissoute ne présente pas de variation significative, des déviations importantes à la droite théorique de dilution sont par contre à noter dans le cas des deux fractions colloïdales considérées. Dans la fraction colloïdale de faible poids moléculaire (5-50 kDa), il existe un enrichissement en métal dans la gamme de salinité 0-20 dont l'intensité augmente de mars à juin. Dans la fraction colloïdale de haut poids moléculaire, deux phénomènes semblent se produire le long du gradient. Il existe une élimination du métal dans l'intervalle de salinité 0-10 puis un enrichissement marqué, de 1 à 2 nM, dans la gamme $S = 10$ à $S = 20$. L'élimination du métal dans la partie amont du système doit être liée à la floculation des grands colloïdes (Tang *et al.*, 2001). Si l'incidence de cette élimination sur les teneurs en cuivre total dissous du système est relativement faible, l'enrichissement

plus en aval présente, au contraire, une influence considérable sur les teneurs en métal du système. Ce point important est donc discuté plus en détail dans la section suivante.

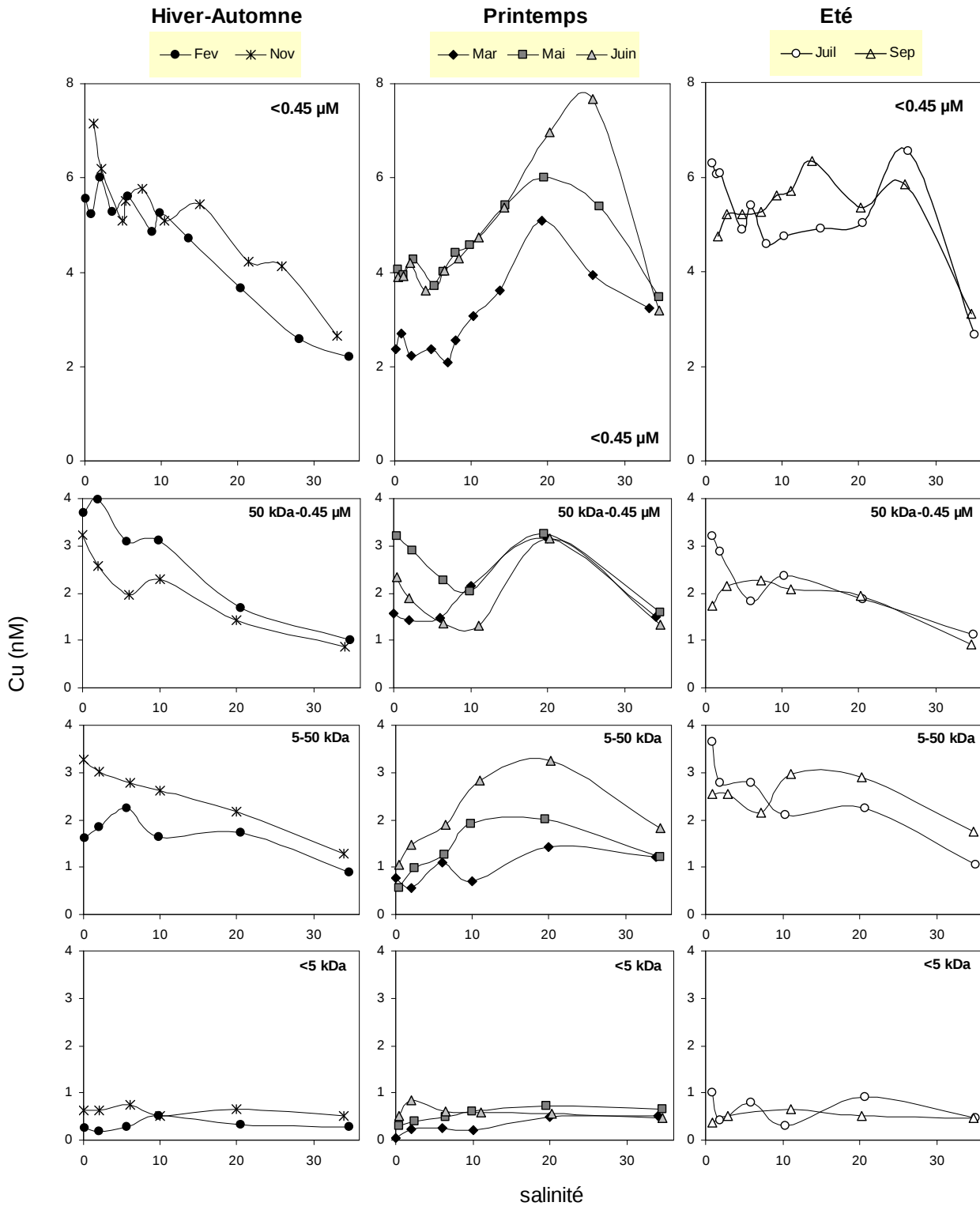


Figure VI-11 : Comportement des différentes fractions du cuivre dissous le long du gradient salé.

- En été, des anomalies peu marquées sont observées dans les différentes fractions colloïdales. Cependant, il existe un manque d'information entre 20 et 35 de salinité ce qui ne permet pas d'attribuer à l'une ou l'autre des fractions colloïdales, l'enrichissement observé dans la fraction totale dissoute.

VI.2 Discussion

Notre étude de l'estuaire de la Penzé montre qu'il existe, sur la période printemps-été (Mars-Juin), une anomalie positive marquée des teneurs avec une intensité maximale constatée au mois de juin. La position du maximum de métal dissous est certes peu variable mais réelle le long du gradient salé ($20 < S < 25$). Une analyse de la position géographique révèle par contre une position très localisée de ce maximum, entre $48^{\circ}64$ et $48^{\circ}65$ N. Cette position localisée suggère qu'il existe un apport sédimentaire de métal dissous conséquent dans cette zone de l'estuaire. Les travaux de Lerat (1990) menés dans ce même système, à une station ("station 1" située à $48^{\circ}65$ N) très proche de la zone identifiée, ont montré que les apports d'ammonium par le compartiment benthique étaient également très importants à cette période de l'année. En particulier, les flux enregistrés de mai à juin dépassent d'un à deux ordres de grandeur ceux observés sur le reste de l'année. Ces flux importants d'ammonium trouvent leur origine dans plusieurs phénomènes. D'une part, les forts débits en période hivernale contribuent à transporter une quantité importante de matière organique de nature essentiellement détritique qui sédimente dans cette zone de l'estuaire (Lerat, 1990; Nouredin, 1988). D'autre part, l'intensification de la production primaire microphytobenthique au printemps (Riaux-Gobin *et al.*, 1989) et de la production primaire pélagique en début d'été dans ce système (Lerat, 1990) participent également à l'enrichissement de la partie superficielle de ce sédiment. Ainsi, les teneurs en COS (Carbone organique sédimentaire) mesurées par Lerat (1990) sont extrêmement élevées entre avril et juin, de 3 à 6 fois supérieures à celles reportées sur le reste de l'année. La dégradation de cette matière organique conduit donc à de très fortes teneurs en ammonium dans les eaux interstitielles de cette zone ce qui conduit à une diffusion importante vers la colonne d'eau. Etant donnée la forte association du cuivre avec la matière organique particulaire pélagique (Le Roux, 2000; Ouddane *et al.*, 1992) et sédimentaire (Davidson *et al.*, 1994; Davies-Colley *et al.*, 1984; Tessier *et al.*, 1979), nous suggérons que la dégradation de la matière organique benthique dans cette zone de l'estuaire conduit également à un flux conséquent de métal vers la colonne d'eau. Il est à noter que les travaux d'Andrieux-Loyer *et al.* (2008) révèlent

également un apport benthique élevé en phosphate dans cette partie du système avec une augmentation de son intensité, de mars à juin, similaire à celle que nous observons pour l'enrichissement en cuivre dissous. Les mesures de Monbet (2004), menées dans l'estuaire voisin de Morlaix, indiquent également des apports benthiques par diffusion du cuivre dissous. Si ces apports restent relativement faibles dans ce système en raison probablement d'un dragage fréquent, les plus conséquents sont cependant observés à cette même période de l'année.

Les travaux de Gerringa (1990) menés en laboratoire ainsi que ceux de Skrabal *et al.* (1997) conduits dans la Baie de Chesapeake ont montré que le cuivre relargué depuis le compartiment benthique suite à la dégradation de la MOP se présentait essentiellement sous forme de complexes organiques. Dans le cas de la Baie de Chesapeake, il s'agit de complexes très stables formés à partir de ligands de type L_1 . Dans l'estuaire du Tamar, les résultats de Van Den Berg (1991) obtenus par des mesures chronopotentiométriques suggèrent par contre une certaine labilité de ces complexes. Outre ces propriétés, quelques études permettent également d'apprécier la taille des composés organiques qui complexeraient le cuivre transféré depuis le compartiment benthique. Les données de Muller (1998) dans le Firth of Clyde, suggèrent une association préférentielle à des composés colloïdaux supérieurs à 1 kDa. Les mesures effectuées par Huerta-Diaz *et al.* (2007) (Baie de San Francisco) montrant une association colloïdale (>3 kDa) du cuivre importante dans les eaux interstitielles et supérieure à celle de la colonne d'eau soutiennent l'hypothèse de Muller (1998). Il est intéressant de noter également que les résultats de Huerta-Diaz *et al.* (2007) montrent une contribution très significative des très grands colloïdes ($0,1-0,45 \mu m$) qui peuvent représenter jusqu'à 60% de la spéciation du cuivre dans les eaux interstitielles superficielles.

Dans le cas de l'estuaire de la Penzé, nos résultats montrent que l'apport en métal dissous par le compartiment benthique correspond également à des composés de haut poids moléculaire, plus particulièrement à des composés majoritairement présents dans la fraction 300 kDa- $0,45 \mu m$; cette gamme de taille correspondant approximativement à celle reportée par Huerta-Diaz *et al.* (2007). La source exacte des ligands organiques qui complexent le cuivre dans les eaux interstitielles n'a pas, pour l'instant, été identifiée. Skrabal *et al.* (2000) ont évoqués différentes sources biotiques telles que des exsudats bactériens, des métabolites bactériens ou des exsudats macrofauniques. Le fait que les substances organiques réfractaires présentent un comportement conservatif au printemps dans notre système ne penche pas en faveur d'une association avec des composés de type humique. Ces résultats suggèrent par contre une origine biotique comme celle proposée par Skrabal *et al.* (2000).

VII. Flux

Les flux de cuivre ont été estimés à l'entrée et à la sortie de l'estuaire de la Penzé pour l'année 2009. Les modes de calcul exacts de ces différents flux sont exposés dans le chapitre IV (section VI, paragraphe VI-2). Dans les tableaux VI-3 et VI-4, sont regroupés les résultats des estimations des concentrations fluviales (C_0) ainsi que celles des concentrations théoriques à salinité 0 ($C_{th(S=0)}$) ayant permis la détermination des flux bruts (flux entrants) et des flux nets (flux sortants). Le calcul des flux en cuivre particulaire (détail des calculs dans le chapitre IV en section VI, paragraphe VI-2) conduit à un flux entrant de $150 \pm 20 \text{ kg an}^{-1}$ et à un flux sortant de $110 \pm 30 \text{ kg an}^{-1}$.

Tableau VI-3 : Estimation des concentrations fluviales moyennes et des flux bruts de cuivre dissous (avec leur intervalle de confiance à 95%). Le débit moyen utilisé est de $3,03 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$.

Fraction	n	C_0 (nM)	IC 95%	flux brut (kg an^{-1})	IC95%
RD (<5kDa)	7	0,4	0,3	2,7	1,4
PC (5-50 kDa)	7	1,5	0,4	9	3
GC (50 kDa-0,45 μm)	7	2,7	0,7	16	4
TD (<0,45 μm)	14	4,9	0,8	30	5

Tableau VI-4 : Estimation des concentrations théoriques à salinité 0 et des flux nets de cuivre dissous (avec leur intervalle de confiance à 95%). Le débit moyen utilisé est de $3,03 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$.

Fraction	n	r^2	Pente (nM)	$C_{th(S=0)}$ (nM)	IC 95%	flux net (kg an^{-1})	IC95%
RD (<5kDa)	21	0,15	-0,008	0,8	0,4	5	3
PC (5-50 kDa)	14	0,040	-0,012	2,8	0,8	17	5
GC (50 kDa-0,45 μm)	21	0,57	-0,086	4,1	1,4	25	8
TD (<0,45 μm)	14	0,43	-0,174	9,1	2,7	55	17

Les flux bruts et les flux nets de cuivre sont représentés, selon une échelle logarithmique, sur la figure VI-12. Selon nos estimations, le cuivre est préférentiellement apporté à l'estuaire sous forme particulaire (à $\sim 80\%$). Dans la fraction dissoute (<0,45 μm), les colloïdes représentent le vecteur principal de ce métal (60 et 30% pour les colloïdes de haut poids et de bas poids moléculaire, respectivement). La fraction réellement dissoute du cuivre ne représente qu'une part relativement faible de ce flux brut de métal dissous ($\sim 10\%$).

Les flux nets montrent que le métal est exporté vers le milieu marin sous forme particulaire à environ 65%. Dans la fraction dissoute ($<0,45 \mu\text{m}$), les contributions des différentes fractions considérées sont peu différentes de celles estimées pour les flux bruts. Ces contributions sont de 55, 35 et 10%, pour les grands colloïdes (50 kDa - $0,45 \mu\text{m}$), les petits colloïdes (5 - 50 kDa) et la fraction réellement dissoute ($<5 \text{ kDa}$), respectivement.

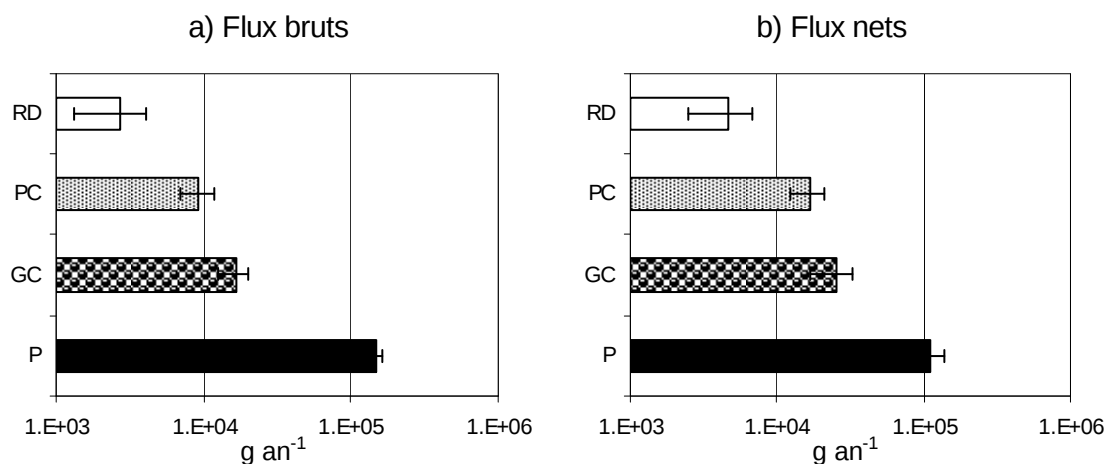


Figure VI-12 : Flux de cuivre à l'entrée (flux bruts) et à la sortie (flux nets) de l'estuaire de la Penzé. RD : fraction $<5 \text{ kDa}$; PC : fraction colloïdale comprise entre 5 et 50 kDa ; GC : fraction colloïdale comprise entre 50 kDa et $0,45 \mu\text{m}$; P : fraction $>0,45 \mu\text{m}$.

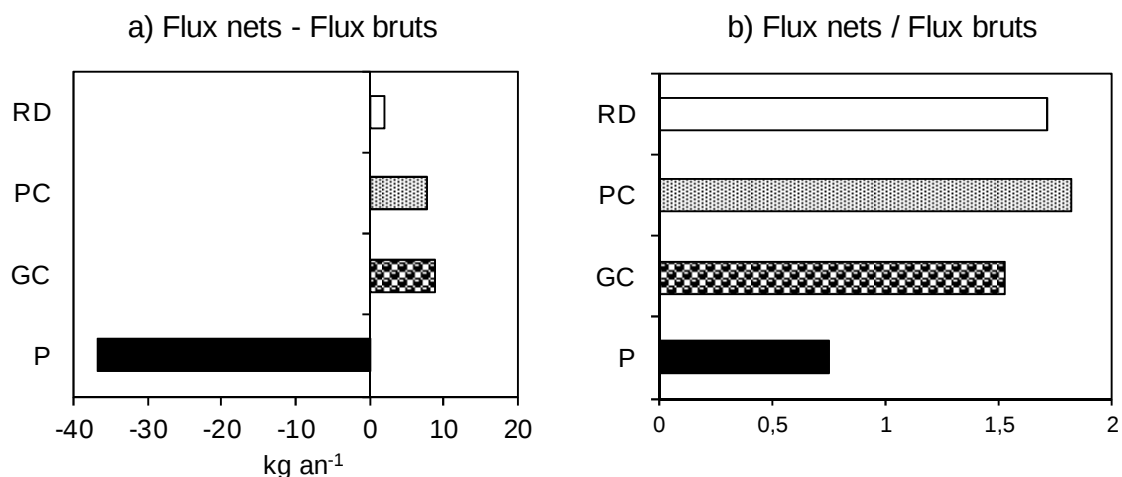


Figure VI-13 : Bilan absolu et relatif des flux de cadmium dans l'estuaire de la Penzé. RD : fraction $<5 \text{ kDa}$; PC : fraction colloïdale comprise entre 5 et 50 kDa ; GC : fraction colloïdale comprise entre 50 kDa et $0,45 \mu\text{m}$; P : fraction $>0,45 \mu\text{m}$.

La figure VI-13 permet d'examiner plus précisément les échanges de métal qui s'opèrent dans la zone du gradient salé estuarien entre les différentes fractions. Ces échanges ont été déduits des flux bruts et des flux nets et sont exprimés en quantités absolues (Figure VI-13a) ou relatives (Figure V-13b). Nos résultats montrent que le métal est essentiellement transféré de la phase particulaire vers la phase colloïdale. La "perte" en cuivre dans la phase particulaire est d'environ 25%. Dans le même temps, un facteur d'enrichissement compris entre 1,5 et 2 est constaté pour chaque fraction colloïdale ainsi que pour la fraction totale dissoute. Il est à noter que ces facteurs sont peu différents de 1. Au contraire de ceux qui ont pu être observés dans le cas du plomb ou du cadmium, la réactivité du cuivre dans le gradient salé estuarien est relativement faible à l'échelle annuelle.

VIII. Conclusion

Dans le cas du cuivre, nos résultats ont montré une association relativement importante de cet élément avec la fraction colloïdale; la fraction réellement dissoute ne représentant qu'environ 10% du métal dissous. En période hivernale et printanière, cette association se fait préférentiellement avec des composés de haut poids moléculaire (>50 kDa). En été et en automne, il existe par contre une contribution plus importante de la fraction colloïdale comprise entre 5 et 50 kDa.

Nos travaux révèlent que la matière organique réfractaire d'origine pédogénique, de par ses propriétés complexantes vis-à-vis du cuivre et sa forte concentration dans le système, est le facteur principal qui permet d'expliquer ces différences. En outre, ces substances exercent également un contrôle important des apports en métal par les eaux fluviales en raison d'une co-mobilisation depuis les sols du bassin versant.

Lors du mélange, le cuivre présente généralement un comportement proche de la conservativité. Cependant, des déviations positives importantes se produisent en période printanière. Ces déviations ont été reliées à des apports par le compartiment benthique qui trouvent leur origine dans la dégradation de la matière organique particulaire. Les apports ont lieu principalement sous forme de composés de haut poids moléculaire ce qui suggère une association avec des composés d'origine biotique.

Nos estimations des quantités transitant par le système montrent que les apports se font principalement sous forme particulaire (à ~ 80%). Si les formes exportées restent majoritairement particulières (à ~ 65%), la fraction colloïdale contribue de façon significative à ce flux net (à ~ 30%), en raison principalement des apports benthiques qui surviennent au printemps.

Conclusion générale

Conclusion générale

Cette étude a porté sur la spéciation colloïdale du cuivre du plomb et du cadmium dissous en milieu estuarien. Pour ce faire, un fractionnement sans précédent (7 fractions) a été mené. Ainsi, la fraction réellement dissoute (<5 kDa) et six fractions colloïdales (5-10 kDa; 10-30 kDa; 30-50 kDa; 50-300 kDa; 300 kDa- $0,22\ \mu\text{m}$ et $0,22$ - $0,45\ \mu\text{m}$) ont été considérées.

Une attention particulière a été portée, en premier lieu, au choix et à la mise en place de la technique utilisée pour le fractionnement colloïdal. C'est l'ultrafiltration frontale (UF) qui a été retenue. Il s'agit d'une technique non destructive, qui ne nécessite pas d'addition de réactifs et dont la mise en œuvre est relativement simple et peu coûteuse. Au regard du nombre particulièrement important d'échantillons à traiter, il a été nécessaire de tester la stabilité de ces deniers avant l'application de l'ultrafiltration. Nos résultats ont montré que, dans les conditions de stockage préconisées (filtration à $0,45\ \mu\text{m}$ et à $0,22\ \mu\text{m}$ puis conservation au réfrigérateur), la répartition du métal entre les différentes fractions considérées est reproductible sur une période de 7 jours suivant le prélèvement. Un effort important a aussi été consacré à l'ajustement des techniques électrochimiques par redissolution aux très faibles teneurs rencontrées dans certaines fractions colloïdales. En effet, dans les échantillons les moins concentrés, les teneurs peuvent descendre jusqu'à $10\ \text{pM}$ pour le plomb, $30\ \text{pM}$ pour le cadmium et $1\ \text{nM}$ dans le cas du cuivre. Les modifications apportées ont ainsi permis d'abaisser les seuils de détection de nos méthodes d'un facteur 2 à 5 en fonction du métal considéré.

Le système choisi pour mener à bien ce travail a été l'estuaire de la Penzé. Il s'agit d'un estuaire de type homogène, caractérisé par un bassin versant essentiellement de type agricole. Les travaux ont pris en compte non seulement l'ensemble du gradient salé mais aussi le cycle saisonnier. Il s'agissait, en particulier, de mieux comprendre les processus qui contrôlent le comportement et le devenir du cuivre, du plomb et du cadmium en milieu estuarien.

Un examen de la répartition des éléments étudiés entre les différentes fractions colloïdales et la fraction réellement dissoute a tout d'abord été mené. Le **plomb** dissous est présent essentiellement dans les fractions colloïdales; les concentrations dans la fraction réellement dissoute étant très faibles ($<16\ \text{pM}$). Les fractions colloïdales représentent $94 \pm 4\%$ ($n = 42$) du métal total dissous ($<0,45\ \mu\text{m}$). En ce qui concerne plus particulièrement la répartition à l'intérieur de la fraction colloïdale, le métal est majoritairement associé aux colloïdes de grande taille. La fraction 300 kDa- $0,22\ \mu\text{m}$ domine de façon générale la spéciation du plomb. Cependant, la répartition est différente durant le mois de novembre. A

cette période de l'année, le plomb est présent de façon majoritaire dans des colloïdes de plus faible poids moléculaire (30-300 kDa).

Le **cadmium** dissous est aussi présent de façon majoritaire dans la fraction colloïdale. En effet, cette fraction représente $78 \pm 8\%$ ($n = 42$) du métal total dissous ($<0,45 \mu\text{m}$). Il est important de remarquer que la fraction réellement dissoute n'est pas négligeable; cette dernière représentant $22 \pm 8\%$ ($n = 42$) du métal total dissous. Contrairement au plomb, la répartition du cadmium au sein des différentes fractions ne permet pas de distinguer une affinité du cadmium pour une fraction particulière. Le métal semble cependant préférentiellement associé aux trois fractions colloïdales de faible poids moléculaire; il s'agit essentiellement des fractions 5-10 kDa et 10-30 kDa, et dans une moindre mesure de la fraction 30-50 kDa.

Comme pour les autres métaux, nos résultats montrent que le **cuivre** est majoritairement associé à la fraction colloïdale. En effet, celle-ci représente $89 \pm 4\%$ ($n = 42$) tandis que la fraction réellement dissoute représente seulement $11 \pm 4\%$ ($n = 42$). En hiver et au printemps, cette association colloïdale se fait majoritairement avec des composés de haut poids moléculaire, d'une taille supérieure à 50 kDa. En été et en automne, le métal est par contre observé préférentiellement dans des fractions de taille comprises entre 5 et 50 kDa.

Nous avons pu également mieux identifier les processus qui contrôlent le comportement des éléments métalliques dans la zone de mélange. Le **plomb** total dissous montre, sur l'ensemble de la période étudiée, un comportement non conservatif avec une forte anomalie négative des concentrations. Cette anomalie, liée à une redistribution du plomb vers la phase particulaire, est particulièrement importante entre 0 et 10 de salinité. L'analyse du fractionnement colloïdal indique, d'une manière générale, que la redistribution du plomb s'effectue essentiellement à partir de la fraction dominante (300 kDa- $0,22 \mu\text{m}$). Seul le mois de novembre montre une redistribution importante à partir des petits colloïdes (5-50 kDa). L'étude couplée du comportement des fractions colloïdales du plomb, du fer et des substances humiques indique clairement que, dans l'estuaire de la Penzé, la redistribution du plomb se produit à partir de complexes organo-minéraux. Il s'agit très probablement d'oxydes de fer recouverts de composés de type humique.

Le **cadmium** dissous présente quant à lui un comportement non conservatif avec une forte anomalie positive des concentrations. Ces anomalies indiquent un enrichissement en métal dissous, lequel se traduit par une augmentation des concentrations jusqu'à mi-estuaire. Il a été montré que la position du maximum dépend fortement du temps de résidence des eaux dans l'estuaire, ainsi que de la concentration en matières en suspension. L'analyse du fractionnement colloïdal indique clairement que l'enrichissement concerne essentiellement

les fractions inférieures à 50 kDa. En effet, entre les eaux fluviales et la zone du maximum, des facteurs d'enrichissement compris entre 15 et 30 ont été mis en évidence pour certaines fractions. L'étude du fractionnement colloïdal nous a aussi permis de montrer que deux phénomènes antagonistes contrôlent la spéciation du cadmium dans l'estuaire. D'une part, les substances humiques favorisent la présence du métal dans les fractions colloïdales. D'autre part, le développement phytoplanctonique induit l'incorporation directe au indirecte, du cadmium dans la phase particulaire.

Le **cuivre** est caractérisé par un comportement différent selon les saisons. En hiver et en automne le métal dissous ($<0,45 \mu\text{m}$) est conservatif. Au printemps et en été, une anomalie positive est par contre observée. Cette anomalie est différente, d'une période à l'autre, dans l'intensité mais aussi dans la localisation du maximum. Au printemps, l'analyse du fractionnement colloïdal, nous a permis de montrer que ce sont les fractions 5-50 kDa et 50 kDa- $0,45 \mu\text{m}$ qui participent à l'enrichissement du cuivre. En été, les anomalies sont moins marquées et concernent plutôt l'ensemble des fractions colloïdales. La spéciation et le comportement du cuivre dans l'estuaire de la Penzé dépendent très fortement des associations du métal avec la matière organique. Nos résultats montrent que la répartition du cuivre dans les différentes fractions colloïdales est directement liée à la présence de matière organique réfractaire d'origine pédogénique (substances humiques). Cependant les anomalies positives des concentrations observées au printemps, seraient plutôt liées à une association du cuivre avec de la matière organique d'origine biotique en provenance du compartiment sédimentaire.

La quantification des flux de métaux pour les différentes fractions de taille a permis de mieux cerner les principaux échanges qui s'opèrent au sein de l'estuaire. Pour le **plomb**, il existe essentiellement un enrichissement de la fraction particulaire dans la zone de mélange ; celle-ci est liée à un transfert du métal depuis la fraction dissoute. La floculation des oxydes de fer, phénomène identifié comme étant responsable de ce transfert, agit principalement sur la fraction colloïdale de haut poids moléculaire. La perte de métal dans cette fraction est de l'ordre de 80% ; dans la fraction de plus faible poids moléculaire, elle est d'environ 50%. Pour ce métal, la fraction réellement dissoute n'apparaît que très peu affectée par le transfert du métal dans le gradient salé estuarien.

Dans le cas du **cadmium**, nos estimations montrent qu'il existe un transfert important du métal de la phase particulaire vers la phase dissoute. Ce transfert se fait essentiellement à la faveur des colloïdes de bas poids moléculaire et de la fraction réellement dissoute. La perte en cadmium dans la fraction particulaire est d'environ 30% lors du mélange estuarien. Dans le même temps, un facteur d'enrichissement d'environ 20 environ est constaté pour les deux fractions en solution.

Pour le **cuivre**, nos résultats indiquent, d'une manière globale, que le métal est transféré de la phase particulaire vers la phase colloïdale lors du mélange des eaux dans l'estuaire. La « perte » en cuivre particulaire est d'environ 25%. Parallèlement à celle-ci, un enrichissement, avec des facteurs d'augmentation compris entre 1,5 et 2, est constaté dans les différentes fractions colloïdales ainsi que dans la fraction réellement dissoute.

Ces travaux menés dans l'estuaire de la Penzé ont donc montré une présence particulièrement importante des éléments métalliques (Cu, Pb, Cd) dans la fraction colloïdale. Si le cadmium est trouvé dans la partie plutôt basse du spectre de taille colloïdal (<50 kDa), le plomb est par contre préférentiellement associé à des composés de haut poids moléculaire (>300 kDa) ; le cuivre présentant quant à lui une distribution intermédiaire. Lors du cycle saisonnier, deux phénomènes majeurs ont été identifiés. Ils affectent non seulement la répartition colloïdale des éléments étudiés mais jouent également un rôle important dans les quantités et les formes transférées vers la zone côtière. Ces deux phénomènes sont :

- D'une part, la forte mobilisation des substances humiques depuis les sols du bassin versant lors des événements pluvieux intenses de l'automne.
- D'autre part, la dégradation du matériel organique particulaire d'origine continentale dans une zone très localisée du compartiment benthique au printemps.

La poursuite de nos travaux dans le milieu estuarien devra nous permettre d'examiner de façon plus approfondie l'origine et l'impact des phénomènes cités ci-dessus. Il serait intéressant, en particulier, de mettre en place une étude fine des échanges au niveau de l'interface colonne d'eau - compartiment sédimentaire dans la zone de dépôt préférentielle des particules organiques d'origine pédogénique. Cette approche pourra être soutenue par le développement de techniques électrochimiques de plus en plus performantes, rendant ainsi possible l'analyse et la spéciation chimique des éléments présents en faibles teneurs (arsenic et antimoine par exemple). Au regard de son importance, il sera essentiel, lors de ces futurs travaux, de prendre en compte la fraction colloïdale.

Références bibliographiques

- Achterberg, E.P. et Braungardt, C., **1999**. Stripping voltammetry for the determination of trace metal speciation and in-situ measurements of trace metal distributions in marine waters. *Analytica Chimica Acta*, **400(1-3)**, p.381-397.
- Aiken, G., McKnight, D.M., Wershaw, R.L. et MacCarthy, P., **1985**. *An introduction to humic substances in soil, sediment, and water.*, New York (USA): Wiley.
- Aminot, A., Guillaud, J.F. et Andrieux, F., **1993**. Spéciation du phosphore et apports en baie de Seine orientale. *Oceanologica Acta*, **16(5)**, p.617-624.
- Aminot, A. et Kérouel, R., **2004**. *Hydrologie des écosystèmes marins: paramètres et analyses* Ifremer., Editions Quae.
- Anderson, M., Morel, F.M.M. et Guillard, R., **1978**. Growth limitation of a coastal diatom by low zinc ion activity. *Nature*, **276(5683)**, p.70-71.
- Anderson, D.M., Lively, J.S. et Vaccaro, R.F., **1984**. Copper complexation during spring phytoplankton blooms in coastal waters. *Journal of Marine Research*, **42(3)**, p.677-695.
- Andreae, M.O., Byrd, J.T. et Froehlich, P.N., **1983**. Arsenic, antimony, germanium, and tin in the Tejo estuary, Portugal: modeling a polluted estuary. *Environmental Science et Technology*, **17(12)**, p.731-737.
- Andrieux-Loyer, F., Philippon, X., Bally, G., Kérouel, R., Youenou, A. et Grand, J., **2008**. Phosphorus dynamics and bioavailability in sediments of the Penzé Estuary (NW France): in relation to annual P-fluxes and occurrences of *Alexandrium Minutum*. *Biogeochemistry*, **88(3)**, p.213-231.
- Apte, S.C., Gardner, M.J., Gunn, A.M., Ravenscroft, J.E. et Vale, J., **1990**. Trace metals in the Severn estuary: a reappraisal. *Marine Pollution Bulletin*, **21(8)**, p.393-396.
- Baalousha, M., Kammer, F., Motelica-Heino, M. et Le Coustumer, P., **2005**. 3D characterization of natural colloids by FIFFF-MALLS-TEM. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **383(4)**, p.549-556.
- Baalousha, M., Kammer, F.V.D., Motelica-Heino, M., Hilal, H.S. et Le Coustumer, P., **2006**. Size fractionation and characterization of natural colloids by flow-field flow fractionation coupled to multi-angle laser light scattering. *Journal of Chromatography A*, **1104(1-2)**, p.272-281.
- Baeyens, W., **1997**. Evolution of trace metal concentrations in the Scheldt estuary (1978-1995). A comparison with estuarine and ocean levels. *Hydrobiologia*, **366(1)**, p.157-167.
- Baeyens, W., Elskens, M., Gillain, G. et Goeyens, L., **1997**. Biogeochemical behaviour of Cd, Cu, Pb and Zn in the Scheldt estuary during the period 1981-1983. *Hydrobiologia*, **366(1)**, p.15-44.
- Baeyens, W., Goeyens, L., Monteny, F. et Elskens, M., **1998**. Effect of organic complexation on the behaviour of dissolved Cd, Cu and Zn in the Scheldt estuary. *Hydrobiologia*, **366(1)**, p.81-90.
- Balls, P.W., Laslett, R.E. et Price, N.B., **1994**. Nutrient and trace metal distributions over a complete semi-diurnal tidal cycle in the Forth Estuary, Scotland. *Netherlands Journal of Sea Research*, **33(1)**, p.1-17.
- Beckett, R. et Hart, B.T., **1993**. Use of field-flow fractionation techniques to characterize aquatic particles, colloids and macromolecules. *Environmental particles*, **2**, p.165-205.
- Bendschneider, K. et Robinson, R.J., **1952**. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water. *Journal of Marine Research*, **11(1)**, p.87-96.
- Benner, R. et Strom, M., **1993**. A critical evaluation of the analytical blank associated with DOC measurements by high-temperature catalytic oxidation. *Marine Chemistry*, **41(1-3)**, p.153-160.
- Benoit, G., Oktay-Marshall, S.D., Cantu, A., Hood, E.M., Coleman, C.H., Corapcioglu, M.O. et Santschi, P.M., **1994**. Partitioning of Cu, Pb, Ag, Zn, Fe, Al, and Mn between filter-retained particles, colloids, and solution in six Texas estuaries. *Marine Chemistry*, **45(4)**, p.307-336.

- Boussemart, M., Van Den Berg, C.M. et Ghaddaf, M., **1992**. The determination of the chromium speciation in sea water using catalytic cathodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, **262(1)**, p.103-115.
- Boust, D., Fischer, J.C., Ouddane, B., Petit, F. et Wartel, M., **1999**. *Fer et Manganèse. Réactivités et recyclages.*, Rouen: Région haute Normandie; Nanterre: Agence de l'eau Seine-Normandie; Plouzané: Ifremer.
- Boutier, B., Chiffolleau, J.F., Auger, D. et Truquet, I., **1993**. Influence of the Loire River on Dissolved Lead and Cadmium Concentrations in Coastal Waters of Brittany. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **36(2)**, p.133-145.
- Boyle, E., Collier, R., Dengler, A.T., Edmond, J.M., Ng, A.C. et Stallard, R.F., **1974**. On the chemical mass-balance in estuaries. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **38(11)**, p.1719-1728.
- Boyle, E., Edmond, J. et Sholkovitz, E., **1977**. The mechanism of iron removal in estuaries. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **41(9)**, p.1313-1324.
- Brand, L.E., Sunda, W.G. et Guillard, R.R.L., **1986**. Reduction of marine phytoplankton reproduction rates by copper and cadmium. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **96(3)**, p.225-250.
- Bruland, K.W., Donat, J.R. et Hutchins, D.A., **1991**. Interactive Influences of Bioactive Trace Metals on Biological Production in Oceanic Waters. *Limnology and Oceanography*, **36(8)**, p.1555-1577.
- Buchet, R., **2000**. *Identification des voies d'écoulement drainant les sels nutritifs et des interactions biogéochimiques intervenant lors de leur transfert aux cours d'eau*. Rapport. Université de Bretagne Occidentale.
- Buck, K.N., Ross, J.R.M., Russel-Flegal, A. et Bruland, K.W., **2007**. A review of total dissolved copper and its chemical speciation in San Francisco Bay, California. *Environmental Research*, **105(1)**, p.5-19.
- Buesseler, K.O., Bauer, J.E., Chen, R.F., Eglinton, T.I., Gustafsson, O., Landing, W., Mopper, K., Moran, S.B., Santschi, P.H., Vernonclark, R. et Wells, M.L., **1996**. An intercomparison of cross-flow filtration techniques used for sampling marine colloids: Overview and organic carbon results. *Marine Chemistry*, **55(1-2)**, p.1-31.
- Buffle, J., **1988**. *Complexation Reactions in Aquatic Systems: An Analytical Approach*. Ellis Horwood, Chichester.
- Buffle, J. et Van Leeuwen, H.P., **1992**. *Environmental Particles*. Lewis., Boca Raton, FL: Lewis Publishers.
- Buffle, J. et Leppard, G.G., **1995a**. Characterization of Aquatic Colloids and Macromolecules. 1. Structure and Behavior of Colloidal Material. *Environmental Science et Technology*, **29(9)**, p.2169-2175.
- Buffle, J. et Leppard, G.G., **1995b**. Characterization of Aquatic Colloids and Macromolecules. 2. Key Role of Physical Structures on Analytical Results. *Environmental Science et Technology*, **29(9)**, p.2176-2184.
- Buffle, J., Wilkinson, K.J., Stoll, S., Filella, M. et Zhang, J., **1998**. A Generalized Description of Aquatic Colloidal Interactions: The Three-colloidal Component Approach. *Environmental Science et Technology*, **32(19)**, p.2887-2899.
- Burba, P., Aster, B., Nifant'eva, T., Shkinev, V. et Spivakov, B.Ya., **1998**. Membrane filtration studies of aquatic humic substances and their metal species: a concise overview: Part 1. Analytical fractionation by means of sequential-stage ultrafiltration. *Talanta*, **45(5)**, p.977-988.
- Campbell, P. et Stokes, P., **1985**. Acidification and toxicity of metals of aquatic biota. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **42**, p.2034-2049.
- Chanudet, V., Filella, M. et Quentel, F., **2006**. Application of a simple voltammetric method to the determination of refractory organic substances in freshwaters. *Analytica Chimica Acta*, **569(1-2)**, p.244-249.

- Chau, Y.K. et Gachter, R., **1974**. Lum-Shue-Chan, K., 1974. Determination of the apparent complexing capacity of lake waters. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, **31**, p.1515–1519.
- Chen, Y. et Buffle, J., **1996**. Physicochemical and microbial preservation of colloid characteristics of natural water samples. I: Experimental conditions. *Water Research*, **30(9)**, p.2178-2184.
- Che, Y., He, Q. et Lin, W., **2003**. The distributions of particulate heavy metals and its indication to the transfer of sediments in the Changjiang Estuary and Hangzhou Bay, China. *Marine Pollution Bulletin*, **46(1)**, p.123-131.
- Chiffoleau, J., Cossa, D., Auger, D. et Truquet, I., **1994**. Trace metal distribution, partition and fluxes in the Seine estuary (France) in low discharge regime. *Marine Chemistry*, **47(2)**, p.145-158.
- Chiffoleau, J., Auger, D. et Chartier, E., **1999**. Fluxes of selected trace metals from the Seine estuary to the eastern English Channel during the period August 1994 to July 1995. *Continental Shelf Research*, **19(15-16)**, p.2063-2082.
- Chiffoleau, J., Auger, D., Chartier, E., Michel, P., Truquet, I., Gonzalez, J.L. et Romana, L.A., **2001**. Spatiotemporal changes in cadmium contamination in the Seine estuary (France). *Estuaries and Coasts*, **24(6)**, p.1029-1040.
- Citeau, L., **2004**. Etude des colloïdes naturels présents dans les eaux gravitaires de sols contaminés: relation entre nature des colloïdes et réactivité vis-à-vis des métaux (Zn, Cd, Pb, Cu). Thèse. Institut National d'Agronomie Paris-Grignon.
- Coale, K.H. et Bruland, K.W., **1988**. Copper Complexation in the Northeast Pacific. *Limnology and Oceanography*, **33(5)**, p.1084-1101.
- Cobelo-García, A., Santos-Echeandía, J., Prego, R. et Nieto, O., **2005**. Direct Simultaneous Determination of Cu, Ni and V in Seawater Using Adsorptive Cathodic Stripping Voltammetry with Mixed Ligands. *Electroanalysis*, **17(10)**, p.906-911.
- Colombo, C., Van Den Berg, C.M.G. et Daniel, A., **1997**. A flow cell for on-line monitoring of metals in natural waters by voltammetry with a mercury drop electrode. *Analytica Chimica Acta*, **346(1)**, p.101-111.
- Comans, R.N.J. et van Dijk, C.P.J., **1988**. Role of complexation processes in cadmium mobilization during estuarine mixing. *Nature*, **336(6195)**, p.151-154.
- Comber, S.D.W., Gunn, A.M. et Whalley, C., **1995**. Comparison of the partitioning of trace metals in the Humber and Mersey estuaries. *Marine Pollution Bulletin*, **30(12)**, p.851-860.
- Dai, M., Martin, J. et Cauwet, G., **1995**. The significant role of colloids in the transport and transformation of organic carbon and associated trace metals (Cd, Cu and Ni) in the Rhône delta (France). *Marine Chemistry*, **51(2)**, p.159-175.
- Dai, M. et Martin, J., **1995**. First data on trace metal level and behaviour in two major Arctic river-estuarine systems (Ob and Yenisey) and in the adjacent Kara Sea, Russia. *Earth and Planetary Science Letters*, **131(3-4)**, p.127-141.
- Dange, C., **2002**. Etude du comportement des éléments traces en milieu estuarien : approche expérimentale et modélisation : Application à l'étude de la spéciation de Cd, Co et Cs dans les estuaires majeurs français (Seine, Loire, Gironde, Rhône). Thèse. Université de Reims Champagne - Ardenne.
- Danielsson, L., Magnusson, B., Werterlund, S. et Zhang, K., **1983**. Trace metals in the Göta river estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **17(1)**, p.73-85.
- Davidson, C.M., Thomas, R.P., McVey, S.E., Perala, R., Littlejohn, D. et Ure, A.M., **1994**. Evaluation of a sequential extraction procedure for the speciation of heavy metals in sediments. *Analytica Chimica Acta*, **291(3)**, p.277-286.

- Davies-Colley, R.J., Nelson, P.O. et Williamson, K.J., **1984**. Copper and cadmium uptake by estuarine sedimentary phases. *Environmental Science & Technology*, **18(7)**, p.491-499.
- Davison, W. et Zhang, H., **1994**. In situ speciation measurements of trace components in natural waters using thin-film gels. *Nature*, **367(6463)**, p.546.
- Dehairs, F., Baeyens, W. et Van Gansbeke, D., **1989**. Tight coupling between enrichment of iron and manganese in North Sea suspended matter and sedimentary redox processes: Evidence for seasonal variability. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **29(5)**, p.457-471.
- De Mora, S. et Harrison, R.M., **1983**. The use of physical separation techniques in trace metal speciation studies. *Water Research*, **17(7)**, p.723-733.
- Donat, J., Statham, P. et Bruland, K., **1986**. An evaluation of a C-18 solid phase extraction technique for isolating metal-organic complexes from central North Pacific Ocean waters. *Marine Chemistry*, **18(1)**, p.85-99.
- Donat, J., **1994**. The speciation of dissolved copper and cadmium in Chesapeake Bay. *EOS*, **75(44)**, p.330.
- Donat, J.R., Lao, K.A. et Bruland, K.W., **1994**. Speciation of dissolved copper and nickel in South San Francisco Bay: a multi-method approach. *Analytica Chimica Acta*, **284(3)**, p.547-571.
- Donat, J. et Bruland, K.W., **1995**. Trace elements in the ocean. In *Trace Elements in Natural Waters*. B. Salbu and E. Steinnes, p. 247-281.
- Donat, J.R., Kango, R.A. et Gordon, A.S., **1997**. Evaluation of immobilized metal affinity chromatography (IMAC) for isolation and recovery of strong copper-complexing ligands from marine waters. *Marine Chemistry*, **57(1-2)**, p.1-10.
- Doucet, F.J., Maguire, L. et Lead, J.R., **2004**. Size fractionation of aquatic colloids and particles by cross-flow filtration: analysis by scanning electron and atomic force microscopy. *Analytica Chimica Acta*, **522(1)**, p.59-71.
- Eckert, J. et Sholkovitz, E., **1976**. The flocculation of iron, aluminium and humates from river water by electrolytes. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **40(7)**, p.847-848.
- Edmond, J., Spivack, A., Grant, B.C., Ming-Hui, H., Zexiam, C., Sung, C. et Xiushau, Z., **1985**. Chemical dynamics of the Changjiang estuary. *Continental Shelf Research*, **4(1-2)**, p.17-36.
- Elbaz-Poulichet, F., Holliger, P., Wen Huang, W. et Martin, J.M., **1984**. Lead cycling in estuaries, illustrated by the Gironde estuary, France. *Nature*, **308(5958)**, p.409-414.
- Elbaz-Poulichet, F., Martin, J.M., Huang, W.W. et Zhu, J.X., **1987**. Dissolved Cd behaviour in some selected french and chinese estuaries. Consequences on Cd supply to the ocean. *Marine Chemistry*, **22(2-4)**, p.125-136.
- Ertel, J.R., Hedges, J.I., Devol, A.H., Richey, J.E. et De Nazare Goes Ribeiro, M., **1986**. Dissolved Humic Substances of the Amazon River System. *Limnology and Oceanography*, **31(4)**, p.739-754.
- Escoube, R., Rouxel, O.J., Sholkovitz, E. et Donard, O.F.X., **2009**. Iron isotope systematics in estuaries: The case of North River, Massachusetts (USA). *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **73(14)**, p.4045-4059.
- Everett, D., **1988**. *Basic Principles of Colloid Science*,
- Filella, M. et Buffle, J., **1993**. Factors controlling the stability of submicron colloids in natural waters. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **73**, p.255-273.
- Filella, M., **2007**. Colloidal Properties of Submicron Particles in Natural Waters. Dans *Environmental particles*. IUPAC series on analytical and physical chemistry of environmental systems ; **vol. 10**. Wilkinson K.J. and Lead J.R., p. 687.

- Fischer, J., Leman, G. et Gandon, R., **1984**. Complexation du cuivre par la matière organique dans l'estuaire de la Seine. *Journal de recherche océanographique*, **9(2)**, p.63-65.
- Florence, T.M., **1982**. The speciation of trace elements in waters. *Talanta*, **29(5)**, p.345-364.
- Fox, L.E., **1984**. The relationship between dissolved humic acids and soluble iron in estuaries. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **48(4)**, p.879-884.
- Gerringa, L.J.A., **1990**. Aerobic degradation of organic matter and the mobility of Cu, Cd, Ni, Pb, Zn, Fe and Mn in marine sediment slurries. *Marine Chemistry*, **29**, p.355-374.
- Gerringa, L.J.A., Rijstenbil, J.W., Poortvliet, T.C.M., Van Drie, J. et Schot, M.C., **1995**. Speciation of copper and responses of the marine diatom *Ditylum brightwellii* upon increasing copper concentrations. *Aquatic Toxicology*, **31(1)**, p.77-90.
- Gerringa, L.J.A., Poortvliet, T.C.W. et Hummel, H., **1996**. Comparison of Chemical Speciation of Copper in the Oosterschelde and Westerschelde Estuaries, The Netherlands. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **42(5)**, p.629-643.
- Goldberg, E.D., Baker, M. et Fox, D.L., **1952**. Microfiltration in oceanographic research. I. Marine sampling with the molecular filter. *J. Mar. Res*, **11(2)**, p.194-204.
- Gordon, A.S., Donat, J.R., Kango, R.A., Dyer, B.J. et Stuart, L.M., **2000**. Dissolved copper-complexing ligands in cultures of marine bacteria and estuarine water. *Marine Chemistry*, **70(1-3)**, p.149-160.
- Graham, T., **1861**. Liquid Diffusion Applied to Analysis. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, **151**, p.183-224.
- Guéguen, C., Belin, C. et Dominik, J., **2002**. Organic colloid separation in contrasting aquatic environments with tangential flow filtration. *Water Research*, **36(7)**, p.1677-1684.
- Guieu, C., Huang, W.W., Martin, J.M. et Yong, Y.Y., **1998**. On Trace Metal Geochemistry in the Danube River and Western Black Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **47(4)**, p.471-485.
- Guo, L. et Santschi, P.H., **1997**. Isotopic and elemental characterization of colloidal organic matter from the Chesapeake Bay and Galveston Bay. *Marine Chemistry*, **59(1-2)**, p.1-15.
- Guo, L. et Santschi, P.H., **2007**. Ultrafiltration and its Applications to Sampling and Characterisation of Aquatic Colloids. In *Environmental Colloids and Particles*. IUPAC Series on Analytical and Physical Chemistry of Environmental Systems. Kevin J. Wilkinson, Jamie R. Lead, p. 159-221.
- Gustafsson, Ö. et Gschwend, P.M., **1997**. Aquatic colloids: Concepts, definitions, and current challenges. *Limnology and Oceanography*, **42(3)**, p.519-528.
- Hanson Jr, A.K. et Quinn, J.G., **1983**. The distribution of dissolved and organically complexed copper and nickel in the Middle Atlantic Bight. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **40(S2)**, p.151-161.
- Hatje, V., Birch, G.F. et Hill, D.M., **2001**. Spatial and Temporal Variability of Particulate Trace Metals in Port Jackson Estuary, Australia. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **53(1)**, p.63-77.
- Hirose, K., Dokiya, Y. et Sugimura, Y., **1982**. Determination of conditional stability constants of organic copper and zinc complexes dissolved in seawater using ligand exchange method with EDTA. *Marine Chemistry*, **11(4)**, p.343-354.
- Hoffmann, S.R., Shafer, M.M. et Armstrong, D.E., **2007**. Strong Colloidal and Dissolved Organic Ligands Binding Copper and Zinc in Rivers. *Environmental Science & Technology*, **41(20)**, p.6996-7002.
- Hua, C., Jagner, D. et Renman, L., **1987**. Determination of selenium by means of computerized flow constant-current stripping at carbon fibre electrodes : Application to human whole blood and milk powder. *Analytica Chimica Acta*, **197**, p.257-264.

- Huerta-Diaz, M.A., Rivera-Duarte, I., Sañudo-Wilhelmy, S.A. et Russel-Flegal, A., **2007**. Comparative distributions of size fractionated metals in pore waters sampled by in situ dialysis and whole-core sediment squeezing: Implications for diffusive flux calculations. *Applied Geochemistry*, **22(11)**, p.2509-2525.
- Hung, C.C., Tang, D., Warnken, K.W. et Santschi, P.H., **2001**. Distributions of carbohydrates, including uronic acids, in estuarine waters of Galveston Bay. *Marine Chemistry*, **73(3-4)**, p.305-318.
- Hunter, K. et Liss, P., **1979**. The surface charge of suspended particles in estuarine and coastal waters. *Nature*, **282**, p.823-825.
- Hurst, M.P. et Bruland, K.W., **2005**. The use of Nafion-coated thin mercury film electrodes for the determination of the dissolved copper speciation in estuarine water. *Analytica Chimica Acta*, **546(1)**, p.68-78.
- Ingri, J., Nordling, S., Larsson, J., Rönnegård, J., Nilsson, N., Rodushkin, I., Dahlqvist, R., Andersson, P. et Gustafsson, O., **2004**. Size distribution of colloidal trace metals and organic carbon during a coastal bloom in the Baltic Sea. *Marine Chemistry*, **91(1-4)**, p.117-130.
- IUPAC, **1997**. Compendium of Chemical Terminology 2nd Edition.
- Jegaden, O., **2010**. *Distribution de la matière organique dissoute réfractaire en milieu estuarien*. Rapport. Université de Bretagne Occidentale - Institut Universitaire Européen de la Mer.
- Jiann, K., Wen, L. et Santschi, P.H., **2005**. Trace metal (Cd, Cu, Ni and Pb) partitioning, affinities and removal in the Danshuei River estuary, a macro-tidal, temporally anoxic estuary in Taiwan. *Marine Chemistry*, **96(3-4)**, p.293-313.
- Kammer, F.V.D., **2004**. *Characterization of environmental colloids applying Field-Flow Fractionation - multi detection analysis with Emphasis on light scattering techniques*. Thesis. Technischen Universität Hamburg-Harburg.
- Kaplan, D., Christiaen, D. et Arad, S., **1987**. Chelating properties of extracellular polysaccharides from *Chlorella* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, **53(12)**, p.2953-2956.
- Kawakami, S.K., Gledhill, M. et Achterberg, E.P., **2006**. Production of phytochelatins and glutathione by marine phytoplankton in response to metal stress. *Journal of Phycology*, **42**, p.975-989.
- Kogut, M.B. et Voelker, B.M., **2003**. Kinetically Inert Cu in Coastal Waters. *Environmental Science & Technology*, **37(3)**, p.509-518.
- Kogut, M.B. et Voelker, B.M., **2001**. Strong Copper-Binding Behavior of Terrestrial Humic Substances in Seawater. *Environmental Science & Technology*, **35(6)**, p.1149-1156.
- Koike, I., Hara, S., Kazuki, T. et Kazuhiro, K., **1990**. Role of sub-micrometre particles in the ocean. *Nature*, **345(6275)**, p.556-556.
- Kozelka, P.B., Sañudo-Wilhelmy, S., Flegal, A.R. et Bruland, K.W., **1997**. Physico-chemical Speciation of Lead in South San Francisco Bay. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **44(6)**, p.649-658.
- Kozelka, P.B. et Bruland, K.W., **1998**. Chemical speciation of dissolved Cu, Zn, Cd, Pb in Narragansett Bay, Rhode Island. *Marine Chemistry*, **60(3-4)**, p.267-282.
- Kraepiel, A.M.L., Chiffoleau, J.F., Martin, J.M. et Morel, F.M.M., **1997**. Geochemistry of trace metals in the Gironde estuary. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **61(7)**, p.1421-1436.
- Lataste, G., **2010**. *Fractionnement colloïdal de la matière organique réfractaire en milieu estuarien*. Rapport. Université de Bretagne Occidentale - Institut Universitaire Européen de la Mer.
- Le Roux, S., **2000**. *Spéciation et réactivité des espèces métalliques en estuaire modèle*. Thèse. Université de Bretagne Occidentale.

- Lead, J., Davison, W., Hamilton-Taylor, J. et Buffle, J., **1997**. Characterizing Colloidal Material in Natural Waters. *Aquatic Geochemistry*, **3(3)**, p.213-232.
- Lead, J.R. et Wilkinson, K.J., **2006**. Aquatic Colloids and Nanoparticles: Current Knowledge and Future Trends. *Environmental Chemistry*, **3(3)**, p.159.
- Leal, M.F.C., Vasconcelos, M.T.S.D. et Van Den Berg, C.M.G., **1999**. Copper-Induced Release of Complexing Ligands Similar to Thiols by *Emiliana huxleyi* in Seawater Cultures. *Limnology and Oceanography*, **44(7)**, p.1750-1762.
- Lee, J.G., Ahner, B.A. et Morel, F.M.M., **1996**. Export of cadmium and phytochelatin by the marine diatom *Thalassiosira weissflogii*. *Environmental Science & Technology*, **30(6)**, p.1814-1821.
- Lerat, Y., **1990**. *Cycles annuels de la matière organique et des éléments nutritifs dans les sédiments d'un écosystème côtier (Baie de Morlaix, France), interactions avec le compartiment pélagique*. Thèse. Brest: Université de Bretagne Occidentale. UFR Sciences et techniques.
- L'Herroux, L., Le Roux, S. et Appriou, P., **1998**. Behaviour and speciation of metallic species Cu, Cd, Mn and Fe during estuarine mixing. *Marine Pollution Bulletin*, **36(1)**, p.56-64.
- Louis, Y., Garnier, C., Lenoble, V., Mounier, S., Cukrov, N., Omanovic, D. et Pizeta, I., **2009**. Kinetic and equilibrium studies of copper-dissolved organic matter complexation in water column of the stratified Krka River estuary (Croatia). *Marine Chemistry*, **114(3-4)**, p.110-119.
- Luoma, S.N. et Davis, J.A., **1983**. Requirements for modeling trace metal partitioning in oxidized estuarine sediments. *Marine Chemistry*, **12(2-3)**, p.159-181.
- Luoma, S.N., **1989**. Can we determine the biological availability of sediment-bound trace elements? *Hydrobiologia*, **176-177(1)**, p.379-396.
- Luoma, S., **1995**. Prediction of metal toxicity in nature from bioassays: limitations and research needs. Dans *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*. New York (USA): A. Tessier and D.R. Turner, p. 609-659.
- Luoma, S.N., Van Geen, A., Lee, B.G. et Cloern, J.E., **1998**. Metal uptake by phytoplankton during a bloom in South San Francisco Bay: Implications for metal cycling in estuaries. *Limnology and Oceanography*, **43(5)**, p.1007-1016.
- Maguer, J., Wafar, M., Madec, C., Morin, P. et Denn, E.E., **2004**. Nitrogen and Phosphorus Requirements of an *Alexandrium minutum* Bloom in the Penzé Estuary, France. *Limnology and Oceanography*, **49(4)**, p.1108-1114.
- Manahan, S.E. et Smith, M.J., **1973**. Copper micronutrient requirement for algae. *Environmental Science & Technology*, **7(9)**, p.829-833.
- Mantoura, R. et Woodward, E., **1983**. Conservative behaviour of riverine dissolved organic carbon in the Severn Estuary: chemical and geochemical implications. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **47(7)**, p.1293-1309.
- Mart, L. et Nürnberg, H., **1986**. Cd, Pb, Cu, Ni and Co distribution in the German Bight. *Marine Chemistry*, **18(2-4)**, p.197-213.
- Martin, J., Guan, D.M., Elbaz-Poulichet, F., Thomas, A.J. et Gordeev, V.V., **1993**. Preliminary assessment of the distributions of some trace elements (As, Cd, Cu, Fe, Ni, Pb and Zn) in a pristine aquatic environment: The Lena River estuary (Russia). *Marine Chemistry*, **43(1-4)**, p.185-199.
- Martin, J., Dai, M. et Cauwet, G., **1995**. Significance of colloids in the biogeochemical cycling of organic carbon and trace metals in the Venice Lagoon (Italy). *Limnology and Oceanography*, **40(1)**, p.119-131.

- Martino, M., Turner, A., Nimmo, M. et Millward, G.E., **2002**. Resuspension, reactivity and recycling of trace metals in the Mersey Estuary, UK. *Marine Chemistry*, **77(2-3)**, p.171-186.
- Meybeck, M., **1982**. Carbon, nitrogen, and phosphorus transport by world rivers. *American Journal of Science*, **282(40)**, p.1-450.
- Michel, P., Boutier, B. et Chiffoleau, J., **2000**. Net Fluxes of Dissolved Arsenic, Cadmium, Copper, Zinc, Nitrogen and Phosphorus from the Gironde Estuary (France): Seasonal Variations and Trends. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **51(4)**, p.451-462.
- Mills, G.L. et Quinn, J.G., **1981**. Isolation of dissolved organic matter and copper-organic complexes from estuarine waters using reverse-phase liquid chromatography. *Marine Chemistry*, **10(2)**, p.93-102.
- Mills, G.L. et Quinn, J.G., **1984**. Dissolved copper and copper-organic complexes in the Narragansett Bay estuary. *Marine Chemistry*, **15(2)**, p.151-172.
- Millward, G.E., **1995**. Processes affecting trace element speciation in estuaries. A review. *The Analyst*, **120(3)**, p.609-614.
- Monbet, Y., **1992**. Control of Phytoplankton Biomass in Estuaries: A Comparative Analysis of Microtidal and Macrotidal Estuaries. *Estuaries*, **15(4)**, p.563.
- Monbet, P., **2001**. *Comportement des métaux (cuivre, plomb, cadmium) dans un estuaire à fort caractère agricole; bilan de masse, cas de la Baie de Morlaix*. Thèse. Université de Bretagne Occidentale - Institut Universitaire Européen de Mer.
- Monbet, P., **2004**. Dissolved and particulate fluxes of copper through the Morlaix river estuary (Brittany, France): mass balance in a small estuary with strong agricultural catchment. *Marine Pollution Bulletin*, **48(1-2)**, p.78-86.
- Monbet, P., **2006**. Mass balance of lead through a small macrotidal estuary: The Morlaix River estuary (Brittany, France). *Marine Chemistry*, **98(1)**, p.59-80.
- Mougin, B., Carn, A., Debeglia, N., Perrin, J., Thomas, E. avec la collaboration de Jegou, J.P., **2004**. *SILURES Bretagne*. Rapport d'avancement de l'année 2 BRGM/RP-52825-FR, p.62.
- Muller, F.L.L., **1996**. Interactions of copper, lead and cadmium with the dissolved, colloidal and particulate components of estuarine and coastal waters. *Marine Chemistry*, **52(3-4)**, p.245-268.
- Muller, F.L.L., **1998**. Colloid/Solution Partitioning of Metal-Selective Organic Ligands, and its Relevance to Cu, Pb and Cd Cycling in the Firth of Clyde. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **46(3)**, p.419-437.
- Muller, F.L.L., **1999**. Evaluation of the effects of natural dissolved and colloidal organic ligands on the electrochemical lability of Cu, Pb and Cd in the Arran Deep, Scotland. *Marine Chemistry*, **67(1-2)**, p.43-60.
- Murphy, J. et Riley, J., **1962**. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, **27**, p.31-36.
- Myneni, S., Brown, J.T., Martinez, G.A. et Meyer-Ilse, W., **1999**. Imaging of Humic Substance Macromolecular Structures in Water and Soils. *Science*, **286(5443)**, p.1335-1337.
- Nagao, S., Matsunaga, T., Suzuki, Y., Ueno, T. et Amano, H., **2003**. Characteristics of humic substances in the Kuji River waters as determined by high-performance size exclusion chromatography with fluorescence detection. *Water Research*, **37(17)**, p.4159-4170.
- Ndungu, K., Hurst, M. et Bruland, K., **2005**. Comparison of Copper Speciation in Estuarine Water Measured Using Analytical Voltammetry and Supported Liquid Membrane Techniques. *Environmental Science & Technology*, **39(9)**, p.3166-3175.

- Neveux, J., **1976**. Dosage de la chlorophylle a et de la phéophytine a par fluorimétrie. Dans *Annales Institut Océanographique*, p. 165–174.
- Noureddin, S., **1988**. *Contribution à l'étude de la matière organique dans le milieu marin côtier : classe des substances humiques*. Thèse. Brest: Université de Bretagne Occidentale. UFR Sciences et techniques.
- O'melia, C.R., **1989**. Particle--particle interactions in aquatic systems. *Colloids and Surfaces*, **39(1)**, p.255-271.
- Ouddane, B., Fischer, J.C. et Wartel, M., **1992**. Evaluation statistique de la repartition des metaux en traces Cd, Pb, Cu, Zn et Mn dans la Seine et son estuaire. *Oceanologica acta*, **15(4)**, p.347-354.
- Ouddane, B., Boust, D., Martin, E., Fischer, J.C. et Wartel, M., **2001**. The Post-Depositional Reactivity of Iron and Manganese in the Sediments of a Macrotidal Estuarine System. *Estuaries*, **24(6)**, p.1015.
- Paalman, M.A.A., Weijden, C.H. et Loch, J.P.G., **1994**. Sorption of cadmium on suspended matter under estuarine conditions; competition and complexation with major sea-water ions. *Water, Air, & Soil Pollution*, **73(1)**, p.49-60.
- Parker, E.R., **1999**. *The role of colloidal material in the fate and cycling of trace metals in estuarine and coastal waters*. Thesis. University of Southampton.
- Paulson, A.J., Curl Jr., H.C. et Gendron, J.F., **1994**. Partitioning of Cu in estuarine waters, II. Control of partitioning by the biota. *Marine Chemistry*, **45(1-2)**, p.81-93.
- Peers, G., Quesnel, S. et Price, N.M., **2005**. Copper Requirements for Iron Acquisition and Growth of Coastal and Oceanic Diatoms. *Limnology and Oceanography*, **50(4)**, p.1149-1158.
- Pempkowiak, J. et Kupryszewski, G., **1980**. The input of organic matter to the Baltic Sea from the Vistula river. *Oceanologia*, **12**, p.72-98.
- Pernet-coudrier, B., Clouzot, L., Varrault, G., Tusseau-Vuillemin, M.H., Verger, A. et Mouchel, J.M., **2008**. Dissolved organic matter from treated effluent of a major wastewater treatment plant: Characterization and influence on copper toxicity. *Chemosphere*, **73(4)**, p.593-599.
- Perret, D., Newman, M., Nègre, J.C., Chen, Y. et Buffle, J., **1994**. Submicron particles in the rhine river--I. Physico-chemical characterization. *Water Research*, **28(1)**, p.91-106.
- Pokrovsky, O.S. et Schott, J., **2002**. Iron colloids/organic matter associated transport of major and trace elements in small boreal rivers and their estuaries (NW Russia). *Chemical Geology*, **190(1-4)**, p.141-179.
- Powell, R.T., Landing, W.M. et Bauer, J.E., **1996**. Colloidal trace metals, organic carbon and nitrogen in a southeastern U.S. estuary. *Marine Chemistry*, **55(1-2)**, p.165-176.
- Probst, J.L., **1992**. Géochimie et hydrologie de l'érosion continentale. Mécanismes, bilan global actuel et fluctuations au cours des 500 derniers millions d'années. *Sciences Géologiques Mémoire*, **94**, p.161.
- Quentel, F., Madec, C., Le Bihan, A. et Courtot-Coupez, J., **1986**. Determination of humic substances in seawater with adsorptive stripping voltametry at the hanging mercury drop electrode. *Analytical Letter*, **19 (3-4)**, p. 325-344.
- Quentel, F. et Elleouet, C., **2001**. Square-Wave Voltammetry of Molybdenum-Fulvic Acid Complex. *Electroanalysis*, **13(12)**, p.1030-1035.
- Rainville, D.P. et Weber, J.H., **1982**. Complexing capacity of soil fulvic acid for Cu²⁺, Cd²⁺, Mn²⁺, Ni²⁺, and Zn²⁺ measured by dialysis titration: a model based on soil fulvic acid aggregation. *Canadian Journal of Chemistry*, **60(1)**, p.1-5.
- Riaux-Gobin, C., Douchement, C. et Tréguer, P., **1989**. Microphytobenthos de deux sédiments subtidaux de Nord Bretagne. *Hydrobiologia*, **178(1)**, p.11-20.

- Riedel, G.F. et Sanders, J.G., **1998**. Trace Element Speciation and Behavior in the Tidal Delaware River. *Estuaries*, **21**(1), p.78-90.
- Riso, R.D., Monbet, P. et Le Corre, P., **1997a**. Measurement of Copper in Sea-water by Constant Current Stripping Analysis (CCSA) With a Rotating Gold Disk Electrode. *The Analyst*, **122**(12), p.1593-1596.
- Riso, R.D., Le Corre, P. et Chaumery, C.J., **1997b**. Rapid and simultaneous analysis of trace metals (Cu, Pb and Cd) in seawater by potentiometric stripping analysis. *Analytica Chimica Acta*, **351**(1-3), p.83-89.
- Saager, P.M., De Baar, H.J. et Howland, R.J., **1992**. Cd, Zn, Ni and Cu in the Indian Ocean. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, **39**(1), p.9-35.
- Salomons, W. et Forstner, U., **1984**. *Metals in the Hydrocycle*, Berlin: Springer-Verlag.
- Sanders, B.M. et Jenkins, K.D., **1984**. Relationships between free cupric ion concentrations in sea water and copper metabolism and growth in crab larvae. *Biological Bulletin*, **167**(3), p.704-712.
- Santos-Echeandía, J., Laglera, L.M., Prego, R. et Van Den Berg, C.M.G., **2008**. Copper speciation in estuarine waters by forward and reverse titrations. *Marine Chemistry*, **108**(3-4), p.148-158.
- Santschi, P.H., Guo L., Baskaran, M., Trumbore, S., Southon, J., Bianchi, T.S., Honeyman, B. et Cifuentes, L., **1995**. Isotopic evidence for the contemporary origin of high-molecular weight organic matter in oceanic environments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **59**(3), p.625-631.
- Sañudo-Wilhelmy, S.A., Rivera-Duarte, I. et Russell Flegal, A., **1996**. Distribution of colloidal trace metals in the San Francisco Bay estuary. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **60**(24), p.4933-4944.
- Shank, G.C., Skrabal, S.A., Whitehead, R.F. et Kieber, R.J., **2004**. Strong copper complexation in an organic-rich estuary: the importance of allochthonous dissolved organic matter. *Marine Chemistry*, **88**(1-2), p.21-39.
- Shiller, A.M. et Boyle, E.A., **1991**. Trace elements in the Mississippi River Delta outflow region: Behavior at high discharge. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **55**(11), p.3241-3251.
- Sholkovitz, E., Boyle, E. et Price, N., **1978**. The removal of dissolved humic acids and iron during estuarine mixing. *Earth and Planetary Science Letters*, **40**(1), p.130-136.
- Sigleo, A.C. et Helz, G.R., **1981**. Composition of estuarine colloidal material: major and trace elements. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **45**(12), p.2501-2509.
- Sigleo, A.C., Hoering, T.C. et Helz, G.R., **1982**. Composition of estuarine colloidal material: organic components. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **46**(9), p.1619-1626.
- Sigleo, A.C. et Means, J.C.S., **1990**. Organic and inorganic components in estuarine colloids: Implications for sorption and transport of pollutants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, **112**, p.123-147.
- Singhal, R., Preetha, J., Karpe, R., Tirumalesh, K., Kumar, S.C. et Hedge, A.G., **2006**. The use of ultra filtration in trace metal speciation studies in sea water. *Environment International*, **32**(2), p.224-228.
- Sirinawin, W., Turner, D.R., Westerlund, S. et Proespichaya, K., **1998**. Trace metals study in the Outer Songkla Lake, Thale Sap Songkla, a southern Thai estuary. *Marine Chemistry*, **62**(3-4), p.175-183.
- Skrabal, S.A., Donat, J.R. et Burdige, D.J., **1997**. Fluxes of copper-complexing ligands from estuarine sediments. *Limnology and Oceanography*, **42**(5), p.992-996.
- Skrabal, S.A., Donat, J.R. et Burdige, D.J., **2000**. Pore water distributions of dissolved copper and copper-complexing ligands in estuarine and coastal marine sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **64**(11), p.1843-1857.

- Spencer, D.W., Bacon, M.P. et Brewer, P.G., **1980**. The distribution of ²¹⁰Pb and ²¹⁰Po in the North Sea. *Thalassia Jugoslavica*, **16**, p.125–154.
- Stolpe, B. et Hassellöv, M., **2010**. Nanofibrils and other colloidal biopolymers binding trace elements in coastal seawater: Significance for variations in element size distributions. *Limnology and Oceanography*, **55**(1), p.187–202.
- Stumm, W. et Morgan, J.J., **1996**. *Aquatic chemistry: chemical equilibria and rates in natural waters*, Wiley.
- Tang, D., Warnken, K.W. et Santschi, P.H., **2001**. Organic complexation of copper in surface waters of Galveston Bay. *Limnology and Oceanography*, **46**(2), p.321–330.
- Tessier, A., Campbell, P.G.C. et Bisson, M., **1979**. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry*, **51**(7), p.844–851.
- Tessier, A., **1992**. Sorption of trace elements on natural particles in oxic environments. In *Environmental particles*. Buffle, J., Van Leeuwen, H.P. (Eds.), p. 425–453.
- Tessier, A. et Turner, D.R., **1995**. *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems*, Wiley.
- Tessier, C., **2002**. *Hydrologie d'un estuaire macrotidal à faible débit fluvial. L'exemple de l'estuaire de Penzé*, Plouzané Département d'Ecologie Côtière de l'Ifrémer: Université de Bretagne Occidentale U.F.R. Sciences et Techniques. Rapport.
- Thurman, E.M., **1985**. *Organic geochemistry of natural waters*, Springer Science & Business.
- Tipping, E., **1981**. The adsorption of aquatic humic substances by iron oxides. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **45**(2), p.191–199.
- Tipping, E., Rey-Castro, C., Bryan, S.E. et Hamilton-Taylor, J., **2002**. Al(III) and Fe(III) binding by humic substances in freshwaters, and implications for trace metal speciation. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **66**(18), p.3211–3224.
- Town, R.M. et Filella, M., **2000**. Dispelling the myths: Is the existence of L1 and L2 ligands necessary to explain metal ion speciation in natural waters? *Limnology and Oceanography*, **45**(6), p.1341–1357.
- Truitt, R.E. et Weber, J.H., **1981**. Determination of complexing capacity of fulvic acid for copper(II) and cadmium(II) by dialysis titration. *Analytical Chemistry*, **53**(2), p.337–342.
- Turner, D., Whitfield, M. et Dickson, A., **1981**. The equilibrium speciation of dissolved components in freshwater and sea water at 25°C and 1 atm pressure. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **45**(6), p.855–881.
- Turner, A., Nimmo, M. et Thuresson, K.A., **1998**. Speciation and sorptive behaviour of nickel in an organic-rich estuary (Beaulieu, UK). *Marine Chemistry*, **63**(1–2), p.105–118.
- Turner, A. et Millward, G.E., **2000**. Particle Dynamics and Trace Metal Reactivity in Estuarine Plumes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **50**(6), p.761–774.
- Turner, A. et Millward, G.E., **2002**. Suspended Particles: Their Role in Estuarine Biogeochemical Cycles. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **55**(6), p.857–883.
- Tusseau-Vuillemin, M., Gilbin, R. et Taillefert, M., **2003**. A Dynamic Numerical Model To Characterize Labile Metal Complexes Collected with Diffusion Gradient in Thin Films Devices. *Environmental Science and Technology*, **37**(8), p.1645–1652.
- Vachet, R.W. et Callaway, M.B., **2003**. Characterization of Cu(II)-binding ligands from the Chesapeake Bay using high-performance size-exclusion chromatography and mass spectrometry. *Marine Chemistry*, **82**(1–2), p.31–45.

- Van Den Berg, C.M.G., Wong, P.T.S. et Chau, Y.K., **1979**. Measurement of complexing materials excreted from algae and their ability to ameliorate copper toxicity. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, **36**, p.901–905.
- Van Den Berg, C., **1984**. Determination of the complexing capacity and conditional stability constants of complexes of copper(II) with natural organic ligands in seawater by cathodic stripping voltammetry of copper-catechol complex ions. *Marine Chemistry*, **15(1)**, p.1-18.
- Van Den Berg, C.M.G., Nimmo, M., Daly, P. et Turner, D.R., **1990**. Effects of the detection window on the determination of organic copper speciation in estuarine waters. *Analytica Chimica Acta*, **232**, p.149-159.
- Van Den Berg, C.M.G., **1991**. Monitoring of labile copper and zinc in estuarine waters using cathodic stripping chronopotentiometry. *Marine Chemistry*, **34(3-4)**, p.211-223.
- Vandenhecke, J., Waeles, M., Riso, R. et Le Corre, P., **2007**. A stripping chronopotentiometric (SCP) method with a gold film electrode for determining inorganic arsenic species in seawater. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **388(4)**, p.929-937.
- Vandenhecke, J., **2009**. *Spéciation des métalloïdes en milieu estuarien: Développement analytique et étude biogéochimique de l'arsenic*. Thèse. Université de Bretagne Occidentale - Institut Universitaire Européen de la Mer.
- Van Ginneken, L., Bervoets, L. et Blust, R., **2001**. Bioavailability of Cd to the common carp, *Cyprinus carpio*, in the presence of humic acid. *Aquatic Toxicology*, **52(1)**, p.13-27.
- Verney, R., Bassoullet, P., Le Hir, P., Jestin, H. et Sourisseau, M., **2008**. Hydrodynamics in a Small Muddy Macrotidal Estuary (Penzé Estuary, NW France). In *From Monitoring to Modeling PECS 2008: Physics of Estuaries and Coastal Seas*. Liverpool, England (UK), 25–29th August.
- Vignati, D., Camusso, M. et Dominik, J., **2005**. Estimation of the truly dissolved concentrations of Cd, Cu, Ni, and Zn in contrasting aquatic environments with a simple empirical model. *Ecological Modelling*, **184(1)**, p.125-139.
- Voelker, B.M. et Kogut, M.B., **2001**. Interpretation of metal speciation data in coastal waters: the effects of humic substances on copper binding as a test case. *Marine Chemistry*, **74(4)**, p.303-318.
- Waeles, M., **2003**. *Spéciation des éléments métalliques en milieu estuarien et quantification des flux vers le plateau continental*. thèse. Université de Bretagne Occidentale - Institut Universitaire Européen de Mer.
- Waeles, M., Riso, R., Maguer, J.F. et Le Corre, P., **2004**. Distribution and chemical speciation of dissolved cadmium and copper in the Loire estuary and North Biscay continental shelf, France. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **59(1)**, p.49-57.
- Waeles, M., Riso, R.D. et Le Corre, P., **2005a**. Seasonal variations of cadmium speciation in the Penzé estuary, NW France. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **65(1-2)**, p.143-152.
- Waeles, M., Riso, R.D. et Le Corre, P., **2005b**. Seasonal variations of dissolved and particulate copper species in estuarine waters. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **62(1-2)**, p.313-323.
- Waeles, M., Riso, R.D. et Le Corre, P., **2007**. Distribution and seasonal changes of lead in an estuarine system affected by agricultural practices: The Penzé estuary, NW France. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **74(3)**, p.570-578.
- Waeles, M., Tanguy, V., Lespes, G. et Riso, R., **2008**. Behaviour of colloidal trace metals (Cu, Pb and Cd) in estuarine waters: An approach using frontal ultrafiltration (UF) and stripping chronopotentiometric methods (SCP). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **80(4)**, p.538-544.

- Waeles, M., Riso, R., Maguer, J.F., Guillaud, J.F. et Le Corre, P., **2008**. On the distribution of dissolved lead in the Loire estuary and the North Biscay continental shelf, France. *Journal of Marine Systems*, **72(1-4)**, p.358-365.
- Wafar, M.V.M., Le Corre, P. et Birrien, J.L., **1989**. Transport of carbon, nitrogen and phosphorus in a Brittany river, France. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **29(5)**, p.489-500.
- Wangersky, P.J., Moran, B.S., Pett, R.J., Slauernwhite, D.E. et Zhou, X., **1989**. Biological control of trace metal residence times: an Experimental approach. *Marine Chemistry*, **28(1-3)**, p.215-226.
- Watremez, P. et Talbo, H., **1999**. Typologie des bassins versants bretons. Pollutions diffuses du bassin versant au littoral. *Actes de Colloques (ed. Ifremer)*, **24**, p.210-219.
- Weber, J.H., **1988**. Binding and Transport of Metals by Humic Materials. In *Humic substances and their role in the environment: report of the Dahlem Workshop on Humic Substances and Their Role in the Environment*, p. 165.
- Wells, M. et Goldberg, E., **1991**. Occurrence of small colloids in sea water. *Nature*, **353(6342)**, p.342.
- Wells, M.L. et Goldberg, E.D., **1992**. Marine submicron particles. *Marine Chemistry*, **40(1-2)**, p.5-18.
- Wells, M.L. et Goldberg, E.D., **1994**. The distribution of colloids in the North Atlantic and Southern Oceans. *Limnology and Oceanography*, **39(2)**, p.286-302.
- Wells, M.L., Kozelka, P.B. et Bruland, K.W., **1998**. The complexation of 'dissolved' Cu, Zn, Cd and Pb by soluble and colloidal organic matter in Narragansett Bay, RI. *Marine Chemistry*, **62(3-4)**, p.203-217.
- Wells, M.L., Smith, G.J. et Bruland, K.W., **2000**. The distribution of colloidal and particulate bioactive metals in Narragansett Bay, RI. *Marine Chemistry*, **71(1-2)**, p.143-163.
- Wen, L., Stordal, M.C., Tang, D., Gill, G.A. et Santschi, P.H., **1996**. An ultraclean cross-flow ultrafiltration technique for the study of trace metal phase speciation in seawater. *Marine Chemistry*, **55(1-2)**, p.129-152.
- Wen, L., Santschi, P.H., Gill, G.A. et Paternostro, C., **1999**. Estuarine trace metal distributions in Galveston Bay: importance of colloidal forms in the speciation of the dissolved phase. *Marine Chemistry*, **63(3-4)**, p.185-212.
- Windom, H., Smith, R., Rawlinson, C., Hungspreugs, M., Dharmvanij, S. et Wattayakorn, G., **1988**. Trace metal transport in a tropical estuary. *Marine Chemistry*, **24(3-4)**, p.293-305.
- Windom, H.L., Smith, R.G. et Maeda, M., **1985**. The geochemistry of lead in rivers, estuaries and the continental shelf of the Southeastern United States. *Marine Chemistry*, **17(1)**, p.43-56.
- Wigginton, N.S., Haus, K.L. et Hochella, M.F., **2007**. Aquatic environmental nanoparticles. *Journal of Environmental Monitoring*, **9(12)**, p.1306-1316.
- Wilkinson, K.J. et Lead, J.R., **2007**. *Environmental Colloids and Particles Behaviour, Separation and Characterisation.*, Chichester, England : John Wiley et Sons.
- Zhou, J.L., Liu, Y.P. et Abrahams, P.W., **2003**. Trace metal behaviour in the Conwy estuary, North Wales. *Chemosphere*, **51(5)**, p.429-440.
- Zwolsman, J.J., Van Eck, B.T. et Van Der Weijden, C.H., **1997**. Geochemistry of dissolved trace metals (cadmium, copper, zinc) in the Scheldt estuary, southwestern Netherlands: Impact of seasonal variability. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **61(8)**, p.1635-1652.
- Zwolsman, J.J.G. et van Eck, G.T.M., **1999**. Geochemistry of major elements and trace metals in suspended matter of the Scheldt estuary, southwest Netherlands. *Marine Chemistry*, **66(1-2)**, p.91-111.

Liste des figures et tableaux

Chapitre I : Les colloïdes et les éléments trace métalliques dans les eaux naturelles : état de l'art

Figure I-1 : Exemples de colloïdes présents dans le milieu naturel. A gauche : matière organique (Buffle et Leppard, 1995a). A droite : oxydes de fer (Wigginton <i>et al.</i> , 2007).....	9
Figure I-2 : Relation entre le poids moléculaire (kDa) et la taille (nm) de colloïdes (Guo et Santschi, 2007).....	10
Figure I-3 : Diagramme d'énergie potentielle entre particules colloïdales (Parker, 1999).....	13
Figure I-4 : Classification des colloïdes selon leur taille et leur nature (Lead et Wilkinson, 2006).....	14
Figure I-5 : Processus contrôlant les interactions Colloïdes - Métaux (Wells et Goldberg, 1994; Buffle et Leppard, 1995a).....	18
Figure I-6 : Diagrammes de mélange représentant les comportements types des éléments métalliques en milieu estuarien. A) Élément dont la concentration est plus importante dans les eaux fluviales. B) Élément dont la concentration est plus importante dans les eaux marines.....	27
Figure I-7 : Diagrammes de mélange de l'antimoine inorganique dissous dans l'estuaire du Tage (Portugal) (Andreae <i>et al.</i> , 1983).....	28
Figure I-8 : Diagrammes de mélange du fer dissous et du pourcentage de fer flocculé en fonction de la salinité dans l'estuaire du North River (Massachusetts) (Escoubé <i>et al.</i> , 2009).....	28
Figure I-9 : Diagramme de mélange des différentes formes chimiques du cuivre dissous dans l'estuaire de la Loire; TDCu (■), C ₁₈ Cu (○) et non-C ₁₈ Cu (Δ) (Waeles <i>et al.</i> , 2004).....	29
Figure I-10 : Diagramme de mélange des différentes formes de l'arsenic dissous dans l'estuaire de la Penzé (Vandenhecke <i>et al.</i> , 2007).....	31
Figure I-11 : Diagramme de mélange du cadmium total dissous TDCd (■) et du cadmium labile dissous LabCd (◇) dans l'estuaire de la Loire (Waeles <i>et al.</i> , 2004).....	32
Figure I-12 : Diagramme de mélange de Log α_{CuL} (a) et pCu ²⁺ dans l'estuaire du Tamar (Angleterre) ; α_{CuL} est le coefficient de complexation du Cu ²⁺ par des ligands organiques (L) naturels (Van Den Berg <i>et al.</i> , 1990).....	33
Figure I-13 : Spéciation du cuivre dissous dans la Baie de San Francisco (Donat <i>et al.</i> , 1994).....	34
Figure I-14 : Diagramme de mélange de différentes formes physico-chimiques du plomb dans l'estuaire de l'Ob (Dai et Martin, 1995).....	35
Figure I-15 : Diagramme de mélange de différentes formes physico-chimiques du cuivre dissous dans l'estuaire du Danube (Guieu <i>et al.</i> , 1998).....	36
Tableau I-1 : Teneurs en métaux dissous dans différents systèmes estuariens.....	25
Tableau I-2 : Teneurs en métaux particulaires dans différents systèmes estuariens.....	26

Chapitre II : Matériel et méthodes

Figure II-1 : Zone d'étude et localisation des stations de prélèvements.....	41
Figure II-2 : Schéma récapitulatif de prélèvements et d'analyses dans l'estuaire de la Penzé.....	43
Figure II-3 : Schéma du montage pour l'analyse chronopotentiométrique du Pb et du Cd.....	49
Figure II-4 : Dosage du cuivre d'une eau estuarienne selon la méthode des ajouts dosés.....	52
Figure II-5 : Dosage simultané du plomb et du cadmium d'une eau estuarienne.....	53
Figure II-6 : Schéma du protocole de filtration et d'ultrafiltration.....	59
Figure II-7 : Schéma de la cellule agitée 8200 Amicon®	61
Figure II-8 : Tests de reproductibilité pour le Pb, le Cd et le Cu.....	62
Tableau II-1 : Dates et conditions de prélèvements dans l'estuaire de la Penzé en 2009.....	42
Tableau II-2 : Conditions opératoires optimisées pour les analyses électrochimiques par SCP.....	52
Tableau II-3 : Analyses de Cu, Pb, Cd dans les sédiments certifiés.....	56

Chapitre III : Variations saisonnières des caractéristiques physico-chimiques de l'estuaire de la Penzé

Figure III-1 : Variations saisonnières de la pluviosité par décade à Pleyber-Christ (Station Météo-France) pour l'année 2009.....	68
Figure III-2 : Variations saisonnières du débit fluvial à Taulé	69
Figure III-3 : Variations saisonnières de la température le long du gradient salé pour l'année 2009.....	69
Figure III-4 : Variations saisonnières du pH sur l'ensemble de l'estuaire pour l'année 2009.....	71
Figure III-5 : Variations saisonnières des nitrates (μM) le long du gradient salé pour l'année 2009.....	72
Figure III-6 : Variations saisonnières des phosphates (μM) le long du gradient salé pour l'année 2009....	73
Figure III-7 : Variations du phosphate (μM) dans les eaux fluviales en fonctions du débit fluvial.....	74
Figure III-8 : Variations saisonnières en 2009 de la chlorophylle <i>a</i> ($\mu\text{g L}^{-1}$) le long du gradient salé.....	76
Figure III-9 : Variations saisonnières du rapport chlorophylle <i>a</i> / phéopigments le long du gradient salé.....	77
Figure III-10 : Variations saisonnières de la matière en suspension (mg L^{-1}) le long du gradient.....	78
Figure III-11 : Variations saisonnières en 2009 du COP (%) le long du gradient salé.....	80
Figure III-12 : Variations saisonnières en 2009 du NOP (%) le long du gradient salé.....	81
Figure III-13 : Variations saisonnières du rapport C/N des particules le long du gradient salé.....	82
Figure III-14 : Diagramme de mélange de SH « total dissous » pour les trois différentes périodes de l'année.....	83
Figure III-15 : Distribution des différentes fractions colloïdales des SH le long du gradient salé pour les mois de mai, juillet et novembre.....	84
Figure III-16 : Répartition des SH (en %) entre les fractions colloïdales de haut poids moléculaire (50 kDa-0,45 μm), les fractions colloïdales de bas poids moléculaire (5-50 kDa) et la fraction réellement dissoute (<5 kDa) en fonction de la salinité.....	86
Figure III-17 : Répartitions du COD (traits gras) et des SH (traits simples) en mg C L^{-1} dans les différentes fractions colloïdales le long du gradient salé.....	87
Figure III-18 : Variation du rapport SH/COD (fraction totale dissoute) le long du gradient salé.....	88
Figure III-19 : Diagramme de mélange de fer total dissous - salinité pour les différentes périodes de l'année.....	89
Figure III-20 : Concentrations en fer dans les différentes fractions colloïdales le long du gradient salé pour les quatre mois étudiés.....	90
Tableau III-1 : Concentrations en éléments nutritifs (μM) dans différentes rivières.....	75

Chapitre IV : The removal of colloidal Pb during estuarine mixing: seasonal variations and importance of iron oxides and humic substances

Figure IV-1: Study area and approximate position of the sampled salinity gradient (for more details on sampling stations positions, see figure IV-2).....	98
Figure IV-2: Variations of the water discharge of the Penzé estuary over the year 2009 (Penhoat field station, “Agence de l'eau Loire-Bretagne”). Black squares indicate dates of sampling (see also Table IV-1). Crosses indicate the position of each sampling stations along the salinity gradient.....	100
Figure IV-3: Distribution of Pb (white background), Fe (light grey background) and HS (grey background) in the various colloidal fractions. Pb was analysed in the seven fractions under 0.45 μm (filtrates), Fe was analysed in the five fractions between 0.22 μm and 5 kDa (retentates) and HS were analysed in the six fractions under 0.22 μm (filtrates).....	106
Figure IV-4: Pb, Fe and HS concentrations at salinity 0 as a function of freshwater discharge.....	108
Figure IV-5: Metal-salinity distributions over the year 2009 for PPb, TDPb and the various fractions under 0.45 μm	110
Figure IV-6: Total dissolved Pb-, Fe- and HS-salinity distributions in May, July and November.....	111
Figure IV-7 : Répartition du plomb (en %) entre les fractions colloïdales de haut poids moléculaire (50 kDa-0,45 μm), les fractions colloïdales de bas poids moléculaire (5-50 kDa) et la fraction réellement dissoute (<5 kDa) en fonction de la salinité.....	115
Figure IV-8 : Part de Fe dissous associée aux colloïdes de haut poids moléculaire en fonction de la part de Pb dissous associée à cette même fraction. Pour le fer, les concentrations ne sont connues que dans les fractions comprises entre 5 kDa et 0,22 μm ; les grands colloïdes (GC) correspondent donc à la gamme de taille 50 kDa-0,22 μm . Dans le cas du plomb, les grands colloïdes correspondent à la gamme 50 kDa-0,45 μm	116
Figure IV-9 : Flux de plomb à l’entrée (flux bruts) et à la sortie (flux nets) de l’estuaire de la Penzé. RD : fraction <5 kDa; PC : fraction colloïdale comprise entre 5 et 50 kDa; GC : fraction colloïdale comprise entre 50 kDa et 0,45 μm ; P : fraction >0,45 μm	119
Figure IV-10 : Bilan absolu et relatif des flux de plomb dans l’estuaire de la Penzé. RD : fraction <5 kDa; PC : fraction colloïdale comprise entre 5 et 50 kDa; GC : fraction colloïdale comprise entre 50 kDa et 0,45 μm ; P : fraction >0,45 μm	120
 Table IV-1: Sampling dates and conditions; number in bracket for water discharge indicates the variation of this parameter during the 3 days before sampling.....	 99
Table IV-2 : Testing of the reproducibility of the whole procedure for Pb content (nM) in the various colloidal fractions (n = 3, Seawater sample collected in the Bay of Brest).....	102
Tableau IV-3 : Estimation des concentrations fluviales moyennes et des flux bruts de plomb dissous (avec leur intervalle de confiance à 95%). Le débit moyen utilisé est de 3,035 $\text{m}^3 \text{s}^{-1}$	117
Tableau IV-4 : Estimation des concentrations théoriques à salinité 0 et des flux nets de plomb dissous (avec leur intervalle de confiance à 95%). Le débit moyen utilisé est de 3,035 $\text{m}^3 \text{s}^{-1}$	118

Chapitre V : Variations saisonnières et comportement du cadmium colloïdal

Figure V-1 : Variations saisonnières du cadmium particulaire ($\mu\text{g g}^{-1}$) dans l'estuaire.....	125
Figure V-2 : Variations saisonnières du cadmium dissous le long de l'estuaire.....	126
Figure V-3 : Relation entre le cadmium total dissous et le rapport chl <i>a</i> / phaeopigments. Chaque valeur correspond à une moyenne effectuée sur l'ensemble du gradient salé pour une campagne de prélèvement donnée.....	127
Figure V-4 : Concentration en cadmium (nM) dans les différentes fractions $<0,45\mu\text{m}$ en fonction de la salinité.....	129
Figure V-5 : Répartition du cadmium (en %) entre les fractions colloïdales de haut poids moléculaire (50 kDa-0,45 μm), les fractions colloïdales de bas poids moléculaire (5-50 kDa) et la fraction réellement dissoute (<5 kDa) en fonction de la salinité.....	130
Figure V-6 : Variations de la contribution du cadmium réellement dissous (RDCd) au cadmium total dissous (TDCd) lors de l'année 2009 dans l'estuaire de la Penzé. Ces variations sont comparées à celles du rapport cadmium labile (LabCd / TDCd) lors de l'année 2001 (Waeles <i>et al.</i> 2005). Chaque rapport est moyenné sur l'ensemble de l'estuaire.....	131
Figure V-7 : Part de substances humiques colloïdales dans la fraction $<0,45\mu\text{m}$ en fonction de la part de cadmium colloïdal dans la fraction $<0,45\mu\text{m}$. Les données concernent la gamme de salinité 0-25.....	135
Figure V-8 : Comportement des différentes fractions du cadmium le long du gradient salé.....	137
Figure V-9 : Flux de cadmium à l'entrée (flux bruts) et à la sortie (flux nets) de l'estuaire de la Penzé. RD : fraction <5 kDa; PC : fraction colloïdale comprise entre 5 et 50 kDa; GC : fraction colloïdale comprise entre 50 kDa et $0,45\mu\text{m}$; P : fraction $>0,45\mu\text{m}$	142
Figure V-10 : Bilan absolu et relatif des flux de cadmium dans l'estuaire de la Penzé. RD : fraction <5 kDa; PC : fraction colloïdale comprise entre 5 et 50 kDa; GC : fraction colloïdale comprise entre 50 kDa et $0,45\mu\text{m}$; P : fraction $>0,45\mu\text{m}$	142
Tableau V-1 : Part de cadmium colloïdal dans la fraction totale dissoute dans différents systèmes estuariens.....	133
Tableau V-2 : Caractéristiques physiques des prélèvements conduits lors de l'année 2009 dans l'estuaire de la Penzé (Temps de résidence estimés d'après les travaux de Tessier (2002)) ; la valeur entre parenthèses pour le débit correspond à une variation du débit entre le jour de prélèvement et trois jours avant, (+) signifie une augmentation du débit et (-) une diminution du débit.....	140
Tableau V-3 : Estimation des concentrations fluviales moyennes et des flux bruts de cadmium dissous (avec leur intervalle de confiance à 95%). Le débit moyen utilisé est de $3,03\text{ m}^3\text{ s}^{-1}$	141
Tableau V-4 : Estimation des concentrations théoriques à salinité 0 et des flux nets de cadmium dissous (avec leur intervalle de confiance à 95%). Le débit moyen utilisé est de $3,03\text{ m}^3\text{ s}^{-1}$	141

Chapitre VI : Variations saisonnières et comportement du cuivre colloïdal

Figure VI-1 : Variations saisonnières du cuivre particulaire ($\mu\text{g g}^{-1}$) le long du gradient salé. Les erreurs de mesures du cuivre particulaire étant relativement importantes à salinité 34, seul le gradient de salinité 0-25 est représenté.....	149
Figure VI-2 : Variations saisonnières du cuivre total dissous (nM) le long du gradient salé.....	150
Figure VI-3 : Concentrations en nitrate et en phosphate en fonction de celles en cuivre total dissous dans les eaux "fluviales" ($0 < S < 3$) de la Penzé.....	151
Figure VI-4 : Concentrations en cuivre total dissous (TDCu) en fonction a) de l'intensité des précipitations lors des 3 jours précédents le prélèvement et b) du modèle $\text{TDCu} = f(P_{3j}/Q^{1/2})$	152
Figure VI-5 : Concentrations en cuivre (nM) dans les différentes fractions $< 0,45 \mu\text{m}$ en fonction de la salinité.....	153
Figure VI-6 : Répartition du cuivre (en %) entre les fractions colloïdales de haut poids moléculaire (50 kDa- $0,45 \mu\text{m}$), les fractions colloïdales de bas poids moléculaire (5-50 kDa) et la fraction réellement dissoute ($< 5 \text{ kDa}$) en fonction de la salinité.....	156
Figure VI-7 : Concentrations en cuivre normalisées à 1 nm dans la gamme de taille colloïdale. Système Ekhangen (Ingri <i>et al.</i> , 2004). Nos données dans la gamme de salinité 0-3 ont également été ajoutées.....	159
Figure VI-8 : Concentrations en cuivre et en substances humiques normalisées à 1 nm sur l'ensemble du spectre de taille colloïdal. a) concentrations sur une échelle logarithmique; b) concentrations sur une échelle non-logarithmique.....	165
Figure VI-9 : Variations saisonnières de la contribution des substances humiques au carbone organique dissous (données 2008 : Jegaden, 2010) et de la part de cuivre liée à la fraction de taille 5-50 kDa.....	166
Figure VI-10 : Variations saisonnières de la fraction hydrophobe non polaire du cuivre dissous (données 2001 : Waeles <i>et al.</i> , 2005) et de la part de cuivre liée à la fraction de taille 5-50 kDa.....	167
Figure VI-11 : Comportement des différentes fractions du cuivre dissous le long du gradient salé.....	169
Figure VI-12 : Flux de cuivre à l'entrée (flux bruts) et à la sortie (flux nets) de l'estuaire de la Penzé. RD : fraction $< 5 \text{ kDa}$; PC : fraction colloïdale comprise entre 5 et 50 kDa; GC : fraction colloïdale comprise entre 50 kDa et $0,45 \mu\text{m}$; P : fraction $> 0,45 \mu\text{m}$	173
Figure VI-13 : Bilan absolu et relatif des flux de cadmium dans l'estuaire de la Penzé. RD : fraction $< 5 \text{ kDa}$; PC : fraction colloïdale comprise entre 5 et 50 kDa; GC : fraction colloïdale comprise entre 50 kDa et $0,45 \mu\text{m}$; P : fraction $> 0,45 \mu\text{m}$	173
Tableau VI-1 : Pourcentage de cuivre colloïdal dans la fraction totale dissoute dans différents systèmes estuariens.....	157
Tableau VI-2 : Concentrations en cuivre (nM) mesurées dans différentes fractions colloïdales par Ingri <i>et al.</i> (2004). Nos données dans la gamme de salinité 0-3 ont également été ajoutées.....	158
Tableau VI-3 : Estimation des concentrations fluviales moyennes et des flux bruts de cuivre dissous (avec leur intervalle de confiance à 95%). Le débit moyen utilisé est de $3,03 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$	172
Tableau VI-4 : Estimation des concentrations théoriques à salinité 0 et des flux nets de cuivre dissous (avec leur intervalle de confiance à 95%). Le débit moyen utilisé est de $3,03 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$	172

Publications et communications

Publications

Tanguy V., Waeles M., Gigault J., Cabon J-Y, Quentel F. and Riso R. D., **2011**. The removal of colloidal Pb during estuarine mixing: seasonal variations and importance of iron oxides and humic substances. *Marine and Freshwater Research*, **62(4)**, 329-341.

Tanguy V., Waeles M., Vandenhecke J. and Riso R. D., **2010**. Determination of ultra-trace Sb(III) in seawater by stripping chronopotentiometry (SCP) with a mercury film electrode in the presence of copper. *Talanta*, **81 (1-2)**, 614-620.

Waeles, M., **Tanguy, V.**, Lespes, G. and Riso, R. D., **2008**. Behaviour of colloidal trace metals (Cu, Pb and Cd) in estuarine waters: An approach using frontal ultrafiltration (UF) and stripping chronopotentiometric methods (SCP). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **80(4)**, 538-544.

Communications posters

Virginie Tanguy, Matthieu Waeles and Ricardo D. Riso. XII International Symposium on Oceanography of the Bay of Biscay à Plouzané (France), 3-6 Mai **2010**. *Colloidal Cd and Pb behaviours in the Penzé estuary (NW France)*.

Virginie Tanguy. Doctoriales de Bretagne 2009 à Saint-Malo (France), du 29 Novembre au 2 Décembre **2009**. Vulgarisation auprès d'autres doctorants (pluridisciplinarité). *Au cœur des colloïdes – Interactions avec les métaux en milieu estuarien*.

Communications orales

Virginie Tanguy. Forum des doctorants organisé par l'association Merscidoc à Plouzané (France), le 7 Avril **2010**. (Merscidoc : association des doctorants de l'Ecole Doctorale des Sciences de la Mer) ; vulgarisation de la recherche auprès des lycéens. *Immersion dans l'infiniment petit d'un estuaire : Métaux – Colloïdes*.

Virginie Tanguy. Séminaire Merscidoc (public visé : pluridisciplinarité présente à l'IUEM et Ifremer) à Plouzané, le 1er Mars **2010**. *Distribution colloïdale du plomb en milieu estuarien*.

Virginie Tanguy. Journée des doctorants du Lemar (journée interne au laboratoire) à Plouzané, le 29 janvier **2010**. *Distribution colloïdale du plomb en milieu estuarien*.

Virginie Tanguy. Doctoriales de Bretagne 2009 à Saint-Malo (France), du 29 Novembre au 4 Décembre **2009**. Vulgarisation auprès d'autres doctorants (pluridisciplinarité). *Au cœur des colloïdes – Interactions avec les métaux en milieu estuarien*.

Virginie Tanguy, Jennifer Vandenhecke, Matthieu Waeles et Ricardo D. Riso. Journées de l'électrochimie à Sinaia (Roumanie), du 06 au 10 Juillet **2009**. *Analyse de l'antimoine inorganique dans l'eau de mer par stripping chronopotentiométrie sur électrode à film de mercure.*

Virginie Tanguy. Forum des doctorants organisé par l'association Merscidoc à Plouzané, le 1er Avril **2009**. Vulgarisation de la recherche auprès des lycéens. *Détermination des métaux dans l'eau de mer : des prélèvements sur le terrain aux traitements des échantillons en laboratoire.*

Virginie Tanguy. Journée des doctorants du Lemar (journée interne au laboratoire) à Plouzané, le 20 janvier **2009**. *Étude de la distribution colloïdale du Cuivre et du Cadmium en milieu estuarien.*

Virginie Tanguy, Matthieu Waeles, Gaëtane Lespes et Ricardo D. Riso. Congrès des Sciences Analytiques (CSA) à Casablanca (Maroc), du 29 au 31 octobre **2008**. *Etude de la distribution du cuivre colloïdal en milieu estuarien.*

The removal of colloidal lead during estuarine mixing: seasonal variations and importance of iron oxides and humic substances

Virginie Tanguy^{A,B}, Matthieu Waeles^{A,B,E}, Julien Gigault^D,
Jean-Yves Cabon^{A,C}, François Quentel^{A,C} and Ricardo D. Riso^{A,B}

^AUniversité Européenne de Bretagne, Brest, France.

^BUniversité de Bretagne Occidentale, IUEM, LEMAR, UMR–CNRS 6539, Equipe Chimie Marine, Place N. Copernic, 29280 Plouzané, France.

^CUniversité de Bretagne Occidentale, UMR–CNRS 6521, 6 Avenue V. Le Gorgeu, CS 93837, 29238 Brest Cedex 3, France.

^DLaboratoire de Chimie Analytique, LCABIE, UMR–CNRS 5034, Université de Pau et des Pays de l'Adour, Avenue de l'Université, BP 1155, 64013 Pau, France.

^ECorresponding author. Email: waeles@univ-brest.fr

Abstract. In the present study, seven colloidal fractions of lead (Pb) were analysed along the mixing zone of the Penzé estuary over the Year 2009, with the aim to provide some insight into the mechanism that removes the metal from the <0.45- μm fraction. According to our results, Pb was generally found as large colloids (>300 kDa) and was removed in the salinity range 0–10 from all of the size fractions where it was significantly found. Because the colloidal fractionation of Pb was strongly linked to that of iron (Fe) and humic substances (HS), the removal of Pb in the mixing area must occur under flocculation of organomineral complexes. A key period corresponding to the first strong autumnal precipitations was also revealed in the present work. At this time of the year, the mobilisation of Pb (and Fe) from catchment soils is enhanced by the mobilisation of HS and the metal is associated with smaller colloids (30–300 kDa).

Additional keywords: colloids, estuarine waters, Fe, humic substances, Pb, seasonal variations.

Introduction

The removal of total dissolved Pb during estuarine mixing, although not systematic, has been observed in most of the estuaries (Danielsson *et al.* 1983; Windom *et al.* 1985, 1988; Chiffoleau *et al.* 1999; Monbet 2006; Waeles *et al.* 2007, 2008a). The role of Fe oxides as an efficient scavenger for Pb has been relatively well identified (Spencer *et al.* 1980; Windom *et al.* 1988; Dehairs *et al.* 1989; Baeyens 1997; Jiann *et al.* 2005; Wen *et al.* 2008). However, different statements have been given about the exact mechanism involved. Some authors have indicated an adsorption of dissolved Pb onto particles (Windom *et al.* 1985; Chiffoleau *et al.* 1999; Monbet 2006). According to the study of Elbaz-Poulichet *et al.* (1984), incorporation of Pb in the particulate phase in the Gironde estuary may ensue from the following two processes: in the tidal estuary, Pb is adsorbed onto particles because of the increase in turbidity and in the specific surface area, whereas in the lower estuary, organic Pb associated with Fe–Mn hydrous oxides is coagulated. In their study of the Bang Pakong estuary, Windom *et al.* (1988) suggested that incorporation of Pb in the particulate phase occurs via the oxidation of Fe(II) to Fe(OH)₃ and/or the decrease of solubility of Fe(OH)₃. Thus,

and contrarily to the statements of Boyle *et al.* (1977) and Sholkovitz *et al.* (1978), Windom *et al.* (1988) did not consider the flocculation of colloids to be the mechanism that removes Fe in their system.

Only a few reports exist on the colloidal distribution of Pb in estuaries. Some of them have focussed on its variations along the salinity gradient (e.g. Benoit *et al.* 1994; Dai and Martin 1995; Martin *et al.* 1995) and have identified removal of Pb from either the colloidal fraction of the truly dissolved phase according to the estuary of concern. Others have dealt with the nature and properties of Pb organic complexes (e.g. Muller 1996; Kozelka *et al.* 1997; Wells *et al.* 1998). Wells *et al.* (1998) identified two classes of organic ligands in the Narragansett Bay. The stronger Pb-binding ligands resided in the colloidal phase, whereas the weaker class of ligands occurred predominantly in the soluble phase (<1 kDa). On the contrary, Kozelka *et al.* (1997) observed the stronger class of organic ligands in the soluble phase (<8 kDa). The importance of the organic Pb complexation was underlined in these two latter studies because excess amounts of unbound strong ligands were found. However, in their study of various rivers and estuaries of the boreal Russia, Pokrovsky and Schott (2002) indicated that Pb-bearing colloids

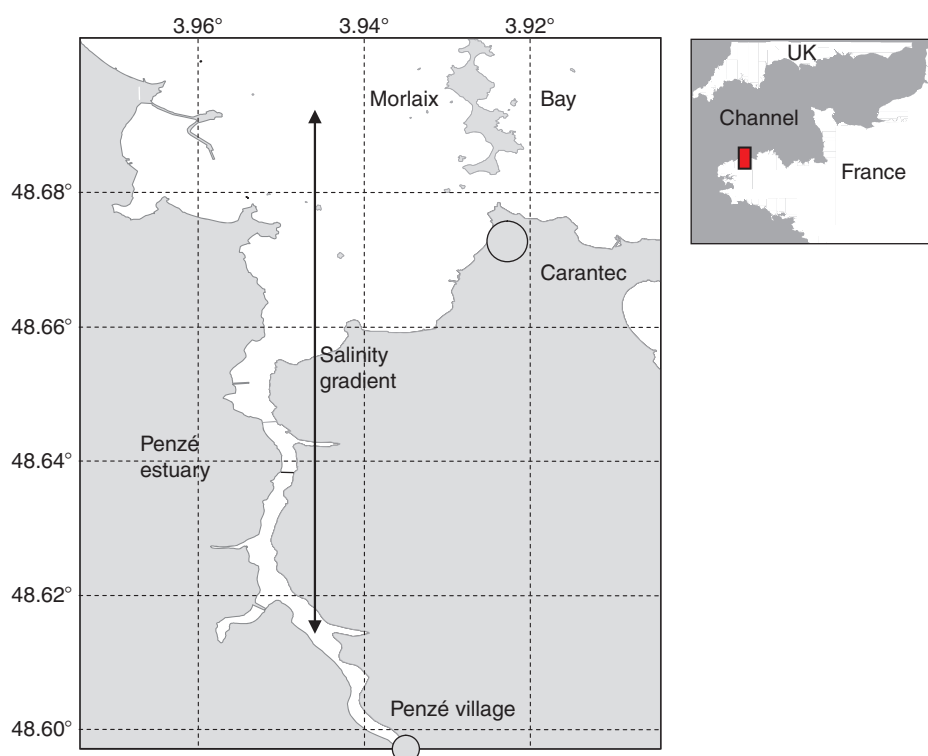


Fig. 1. Study area and approximate position of the sampled salinity gradient (for more details on sampling-stations positions, see Fig. 2).

consisted mainly of Fe oxy(hydr)oxides instead of organic complexes.

In the present study, we investigate the variations of colloidal Pb in the Penzé estuary. The originality of the work resides on the examination of seven colloidal fractions at seven different times of the year, whereas previous studies on estuaries have generally considered two or three fractions and have been focussed on a unique survey. The objective was to examine the colloidal distribution of Pb and its changes along the whole salinity gradient and over the seasonal cycle. Three interrelated questions, with respect to (1) the control of Pb inputs by fluvial waters, (2) the nature of the colloids that form complexes with Pb in estuaries and (3) the mechanism of Pb removal during estuarine mixing, guided our investigations.

Material and methods

Study area

The Penzé River (North Brittany, France) is 28 km long and has a drainage area of 141 km². This system collects the waters from a very poorly industrialised catchment where extensive agricultural activities (pig farming and vegetable cultivation) were developed for decades. Soil occupancy is mainly agricultural, with arable and permanently cultivated areas representing ~36% and heterogeneous agricultural areas accounting for ~33% of the area. The remaining non-urbanised areas comprise meadows (7%), moors and peat bogs (3%), and forests (0.7%). The water discharge at the village of Penzé generally fluctuates from 0.5 to 14 m³ s⁻¹. The estuary is situated between the village of Penzé and the Morlaix Bay, covering a distance of ~10 km

Table 1. Sampling dates and conditions

Numbers in parentheses for water discharge indicate the variation of this parameter during the 3 days before sampling. SPM, suspended particulate matter

Sampling date	Water discharge (m ³ s ⁻¹)	Tidal range (m)	Temperature range (°C)	SPM range (mg L ⁻¹)
6 Feb	8.6 (+1.3)	4.2	7.1–7.3	12–260
23 Mar	2.3 (–0.1)	4.7	8.5–10.3	2.5–160
4 May	2.0 (–0.6)	4.7	10.6–12.6	5.9–340
2 June	1.0 (–0.1)	4.6	15.0–17.6	2.3–150
17 July	0.7 (+0.0)	3.8	14.8–16.6	2.4–400
15 Sep	0.4 (+0.0)	4.4	14.4–16.2	1.7–720
13 Nov	6.4 (+4.6)	5.5	12.2–12.9	7.6–1400

(Fig. 1). It is subjected to a macrotidal regime because the tidal range fluctuates between 1.8 and 9.2 m. The residence time of water within the estuary, which is highly dependant on the tide and the river flow, varies between 2 days at spring tide and 13 days at neap tide and low discharge.

Sampling

Seven cruises were conducted along the salinity gradient of the Penzé estuary during 2009. The sampling conditions (date, water discharge, tidal range, water temperature and suspended particulate matter (SPM) concentrations) are summarised in Table 1. Sampling was conducted at neap tide, between the stand of tide and the first flood. Water samples were collected at

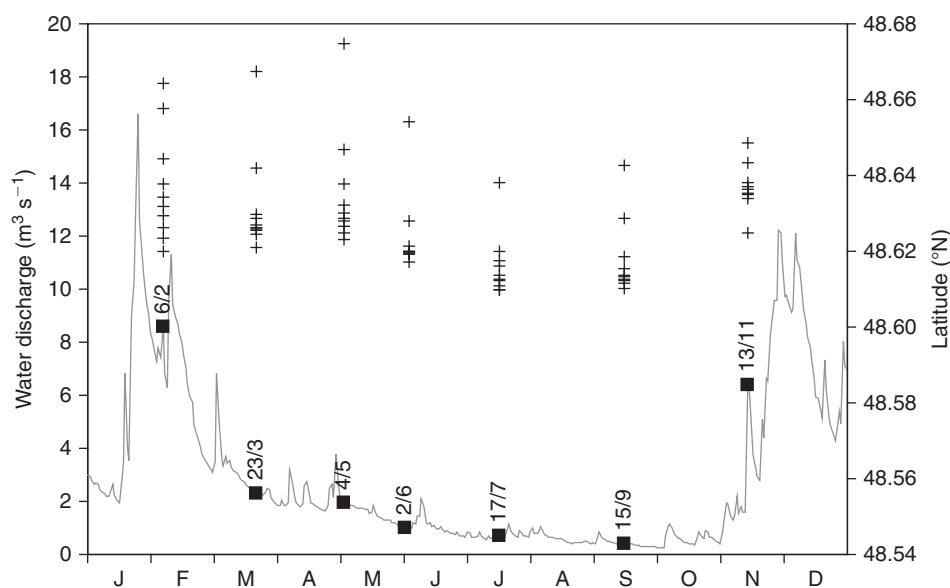


Fig. 2. Variations of the water discharge of the Penzé estuary over the Year 2009 (Penhoat field station, 'Agence de l'eau Loire-Bretagne'). Black squares indicate dates of sampling (see also Table 1). Crosses indicate the position of each sampling station along the salinity gradient.

11 field stations ($S_0, S_1, S_2, S_4, S_6, S_8, S_{10}, S_{14}, S_{20}, S_{26}, S_{34}$), with the aim of covering the whole freshwater–seawater mixing zone (approximate salinity at S_i was i ; see Fig. 2 for more details on sampling positions). Samples dedicated to analysis of total dissolved ($<0.45\text{-}\mu\text{m}$) Pb were collected at all stations, whereas samples dedicated to the analysis of particles and of the various colloidal fractions were collected at $S_0, S_2, S_6, S_{10}, S_{20}$ and S_{34} . Sampling was performed from a Zodiac inflatable boat with 500-mL and 1-L-HDPE-Nalgene® (VWR, Fontenay-sous-Bois, France) bottles. Water was sampled by hand at ~ 0.5 m below the surface, with the arm fully covered with a plastic glove (92 cm, Polysem®, Companimo, L'Union, France).

Filtration

In the laboratory, the water samples were sequentially passed through $0.45\text{-}\mu\text{m}$ and $0.22\text{-}\mu\text{m}$ filters (HATF, Millipore, VWR). After each filtration, an aliquot of 50 mL was acidified at pH 2 (HCl Suprapur, Merck, VWR) and stored until further analysis of the $<0.45\text{-}$ and $<0.22\text{-}\mu\text{m}$ fractions. The remaining aliquot of the $0.22\text{-}\mu\text{m}$ filtration (~ 350 mL) was stored in the dark at 6°C , until application of the ultrafiltration method within 3 days (Filella and Buffle 1993; Chen and Buffle 1996). To check the accuracy of this storage, the reproducibility of the ultrafiltration method was tested over a 72-h period on a typical coastal seawater sample ('reproducibility and recovery' section). Membranes from the $0.45\text{-}\mu\text{m}$ filtration were introduced inside Teflon vials for further mineralisation and determination of total particulate Pb (PPb) and Fe (PFe).

Ultrafiltration

Method principle

Isolation of colloidal matter by ultrafiltration can be conducted either by using cross-flow or frontal filtration (Buffle and Leppard 1995). Since cross-flow necessitates large-volume

samples (10–1000 L; Guéguen *et al.* 2002), we selected frontal filtration for its easy handling. Frontal filtration was carried out in a cascade (sequential) way, as recommended by Lead *et al.* (1997) and Buffle and van Leeuwen (1992), because this method, contrarily to parallel mode, minimises aggregation of colloids at the surface. We also used the concentration mode rather than the diafiltration mode (Buffle and Chalmers 1988; Wen *et al.* 1996). By using the concentration mode, a pressure is applied to push the sample to be filtered through the membrane. To minimise artefacts caused by coagulation of colloids at the membrane surface (Perret *et al.* 1994), small flow rates ($1.5\text{--}4.5\text{ mL min}^{-1}$) and small concentration factors (3–13) were used in the study. As illustrated in Table 2, concentration factors were kept as constant as possible for each nominal cut-off. In addition, a stirring over the membrane was also applied to reduce concentration-polarisation effect resulting from the densification of macromolecules at the membrane surface (Burba *et al.* 1998).

Sequential ultrafiltration processing

Sequential ultrafiltration from the $<0.22\text{-}\mu\text{m}$ fraction was conducted using a 8200-Amicon®-stirred cell (Milan, Ferney Voltaire, France) with five types of membrane. Nominal sizes of the membranes were 300, 50, 30, 10 (polyether sulfone, Biomax PB, Millipore) and 5 kDa (regenerated cellulose, Ultracel PL, Millipore). Samples were pushed through membranes by using N_2 at a pressure varying from 40 to 100 kPa, according to the nominal size of the filter and sample salinity. Pb and HS were analysed from each permeate acidified to pH 2 with HCl. Fe was analysed on each retentate (pH 2, HCl). Concentrations in the various size fractions were obtained by difference from analyses of the various permeates and by applying concentration factors. The concentration factors were calculated from each filtration by dividing the total volume processed by the retentate volume.

Table 2. Concentration factor (CF) applied during the study for each nominal cut-off ($CF = (V_{\text{permeate}} + V_{\text{retentate}})/V_{\text{retentate}}$)

Nominal cut-off	300 kDa	50 kDa	30 kDa	10 kDa	5 kDa
CF applied (mean $\pm$ s.d., $n = 42$)	12.2 $\pm$ 0.8	10.9 $\pm$ 0.9	9.2 $\pm$ 0.7	7.8 $\pm$ 2.9	5.0 $\pm$ 0.7

Table 3. Testing of the reproducibility of the whole procedure for lead (Pb) concentration in the various colloidal fractions ($n = 3$; seawater sample collected in the Bay of Brest)

	<0.45 μm	0.22 μm	0.22–0.45 μm	300 kDa–0.22 μm	50–300 kDa	30–50 kDa	10–30 kDa	5–10 kDa	<5 kDa
Pb concentration (mean $\pm$ s.d., nM)	0.130 $\pm$ 0.008	0.116 $\pm$ 0.017	0.014 $\pm$ 0.008	0.068 $\pm$ 0.009	0.007 $\pm$ 0.007	0.004 $\pm$ 0.004	0.018 $\pm$ 0.006	0.017 $\pm$ 0.010	0.011 $\pm$ 0.009

It is worth noting that only three permeates contained Pb at concentrations lower than 2 pM, which is the limit of quantification of the analytical method.

Prior to use, all the membranes were washed and left to soak in Milli-Q RG[®] water for 24 h, then in diluted nitric acid (pH 1, HNO₃, Suprapur[®], Merck) for 24 h, and finally rinsed several times and soaked in Milli-Q water during the last 72 h. After being used, they were immersed in 0.1 M NaOH (Traceselect, Fluka) for 30 min, then washed and left soaking in Milli-Q water for 24 h, before their storage at 6°C in a mixture of ethanol and water (10 : 90). Before processing of the sample set, the Amicon cell was abundantly washed with Milli-Q water, soaked in Milli-Q water for 2 days and in diluted nitric acid (pH 3) for 24 h. Then, it was rinsed and left to soak in Milli-Q water for 3 days. All sample manipulations and analysis were performed under a Class 100 laminar-flow hood.

Reproducibility and recovery

The reproducibility of the whole filtration–ultrafiltration procedure ($n = 3$) was tested on Pb content in the various fractions, with a seawater sample collected in the Bay of Brest. The 0.45- μm and 0.22- μm filtrations were carried out within 2 h after sampling, whereas ultrafiltration protocol was carried out after 24 h, 48 h and 72 h. Table 3 summarises the results obtained following the analyses of Pb. The recovery of each procedure was determined by comparing the sum of the concentrations in the various fractions under 0.22 μm to the concentration measured in the <0.22- μm fraction. For 24, 48 and 72 h, recovery was 101, 102 and 108%, respectively. For the whole sample set ($n = 42$), recovery was 101 $\pm$ 3%.

Pb, Fe and HS analyses in the colloidal fractions

Lead measurements in the various isolated fractions were determined by using stripping chronopotentiometric (SCP) technique, i.e. constant-current stripping analysis (CCSA), at a mercury film electrode (Riso *et al.* 1997). This method was selected for its low detection thresholds and because it is particularly well suited for saline and organic-rich waters. Moreover, the reagent requirement is minimal, thus preventing contamination of the sample. Details about the experimental electrochemical conditions together with precisions, reproducibility and results from certified reference-material analyses are given in Waeles *et al.* (2008b). Briefly, Pb was concentrated at the mercury film electrode by applying a potential of –1200 mV (v. Ag/AgCl, KCl 3 M) under stirring conditions (69 Hz). Stripping consisted of the application of a 0.5- μA current. Analyses were carried out by spiking each sample three times with standards. The detection limit was 2 pM after 25 min. deposition time and the reproducibility of the method is 5% at 0.19 nM (Waeles *et al.* 2008b).

Iron analysis was performed with an ICPMS 7500ce from Agilent Technologies (Tokyo, Japan), equipped with on-line octopole collision and reaction cell. Recommended gases are helium and hydrogen of 99.995% purity (Linde, Paris, France). The sample introduction system consisted of a concentric nebuliser (Meinhard Associates, Golden, CO, USA) and a Scott double-pass spray chamber cooled to 2°C. Sampler and skimmer cones used were made of nickel. The operating conditions were

optimised using a solution of $1 \mu\text{g L}^{-1}$ of gallium, yttrium, thallium and cerium, with typical settings being as follows: plasma power 1500 W, cooling-gas flow 15 L min^{-1} , carrier gas 1.05 L min^{-1} . ^{56}Fe isotope was monitored on five replicates, using an integration time of 0.05 s and three points per peak. Uncertainties of the measurements were under 6% for 90% of the samples and detection limit of the method was $0.16 \mu\text{g L}^{-1}$. Only four samples had Fe concentrations under the $0.53 \mu\text{g L}^{-1}$ limit of quantification.

Humic substances were analysed by square-wave voltammetry at a static mercury-drop electrode (Quentel *et al.* 1986; Chanudet *et al.* 2006). Briefly, after adding a small amount of Mo(VI) ($10 \mu\text{g L}^{-1}$) to the acidified (0.01 M HCl) sample to ensure the formation of the adsorbed complex, the sample was de-aerated with nitrogen for 3 min, and deposition at -300 mV (v. Ag/AgCl, KCl 3 M) was performed with stirring. After the deposition (100–240 s), the stirring was stopped and, following a 20-s rest period, the scan was initiated to the negative direction. The operational parameter values were 50-Hz frequency, 1-mV step potential and 50-mV amplitude. Concentrations were determined by standard additions of Suwannee River fulvic acid (IHSS, R 1S101F), with the uncertainty lower than 5% and the detection limit of $6 \mu\text{g C L}^{-1}$.

Analyses of PPb and PFe

To determine the PPb and PFe concentrations, 7 mL of HNO_3 :HF (5:2) mixture was added to each filter. Then, the Teflon vials were placed on a Stuart block heater at 100°C , until the acid mixture was evaporated to dryness. After repeating the procedure three times, 5 mL of 20% HNO_3 was added and each sample was heated at 100°C for 2 h. The solution was then diluted with water to 100 mL before metal analysis by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS).

The metal concentrations in the digested solutions were determined by electrothermal atomic absorption spectrometry. A Perkin-Elmer SIMAA 6100 (Courtaboeuf, France) working in the single element monochromator mode was used for all atomic absorption measurements. End-capped pyrolytic coated graphite tubes equipped with integrated platforms were used. The inert gas was argon. Samples were delivered to the furnace with a Perkin-Elmer AS-800 auto-sampler and stored in acid-washed polypropylene cups before injection. The light sources were, respectively, Perkin-Elmer hollow cathode lamp for Fe and electrodeless discharge lamp for Pb. Calibration curves were drawn up and, when necessary, solutions were diluted before measurements. Dilutions were carried out with calibrated Gilson Pipetman pneumatic syringes. For the determination of Fe, a 2100°C atomisation temperature was used, whereas, for Pb, this temperature was set to 1800°C . No pre-treatment step was used for the determination of metals in these different solutions. A quantity of $10 \mu\text{g}$ of Pd, introduced as $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, was used as a chemical modifier for Pb measurements.

Salinity, temperature and suspended particulate matter measurements

Salinity (S) and temperature (T) were measured *in situ* by a WTW ProfiLine LF 197 (VWR) with a conductivity cell TetraCon 325 (± 0.1 and 0.1°C , precisions). SPM concentrations

were determined by gravimetry (Banse *et al.* 1963) on the $0.45\text{-}\mu\text{m}$ filter, with the uncertainty $<5\%$.

Results

According to previous studies (e.g. Dai *et al.* 1995), we refer to different size fractions as follows. ‘Total dissolved (TD) metal’ indicates the fraction that passes through the $0.45\text{-}\mu\text{m}$ (or the $0.22\text{-}\mu\text{m}$) membrane, ‘colloidal metal’ corresponds to the 5-kDa – $0.45\text{-}\mu\text{m}$ (or 5-kDa – $0.22\text{-}\mu\text{m}$) fraction whereas ‘truly dissolved metal’ refers to the $<5\text{-kDa}$ fraction.

Figure 3 displays the Pb concentrations in its distribution in the various fractions under $0.45 \mu\text{m}$. Total dissolved Pb ($<0.45 \mu\text{m}$) fluctuated between 0.04 and 0.52 nM over the period of study. These concentrations were closed to the ones observed in 2001, with values in the range 0.04 – 0.62 nM (Waeles *et al.* 2007). Concentrations were always decreasing along the salinity gradient. They were generally $>0.20 \text{ nM}$ at salinity 0, whereas concentrations at salinity 34 were $<0.07 \text{ nM}$. Along the seasonal cycle, the highest concentrations were observed in February and November, corresponding to the period of higher discharge.

According to our results, Pb occurred mainly in the colloidal fractions and, thus, truly dissolved concentrations were very low (i.e. in the range 2 – 16 pM). Colloidal forms of Pb represented $94 \pm 4\%$ ($n = 42$) of the $<0.45\text{-}\mu\text{m}$ pool, whereas truly dissolved Pb contributed only $6 \pm 5\%$ ($n = 42$). Interestingly, the contribution of the truly dissolved fraction increased from $3 \pm 2\%$ ($n = 14$) at low salinities ($0 < S < 3$) to $11 \pm 5\%$ ($n = 7$) at salinities >33 .

A further examination of the metal distribution showed that Pb was mainly associated with large colloids. The 300-kDa – $0.22\text{-}\mu\text{m}$ fraction generally dominated the Pb speciation, with a third of the $<0.45\text{-}\mu\text{m}$ pool being found in this fraction and a fifth in the 0.22 – $0.45\text{-}\mu\text{m}$ fraction. However, the metal distribution in colloids was different in November. At this time, Pb occurred as smaller colloids and was principally observed in the range of 30 – 300 kDa .

Concentrations of Fe varied similarly to that of Pb (Fig. 3). In February and May, Fe concentrations in the total dissolved fraction were in the range of 200 – 1500 nM and concentrations decreased seaward. In July, concentrations were low, generally $<400 \text{ nM}$ for total dissolved metal, whereas in November, they were at their highest, with values close to 2000 nM at low salinities. Fe–Pb covariations are also illustrated by the very strong correlations found between the two particulate fractions of both metals and between their total dissolved fractions (Fig. 4, Table 4). Fe colloidal distribution in the Penzé estuary also followed that of Pb, as shown by the correlations found between the two metals in the various size fractions (Fig. 4, Table 4). Fe was mainly found (approximately a half) in the 300-kDa – $0.22\text{-}\mu\text{m}$ fraction in February and May. As for Pb, Fe was observed in smaller fractions in July and November, but some differences could be noted; Fe was also significantly present in smaller colloids.

Concentrations of HS in the total dissolved fraction varied within the range 0.09 – 4.8 mg C L^{-1} (Fig. 3). They were relatively low in May and July ($<2 \text{ mg C L}^{-1}$), whereas much higher concentrations were detected in November. At this time, HS concentrations were $>4 \text{ mg C L}^{-1}$ in the upstream part of the

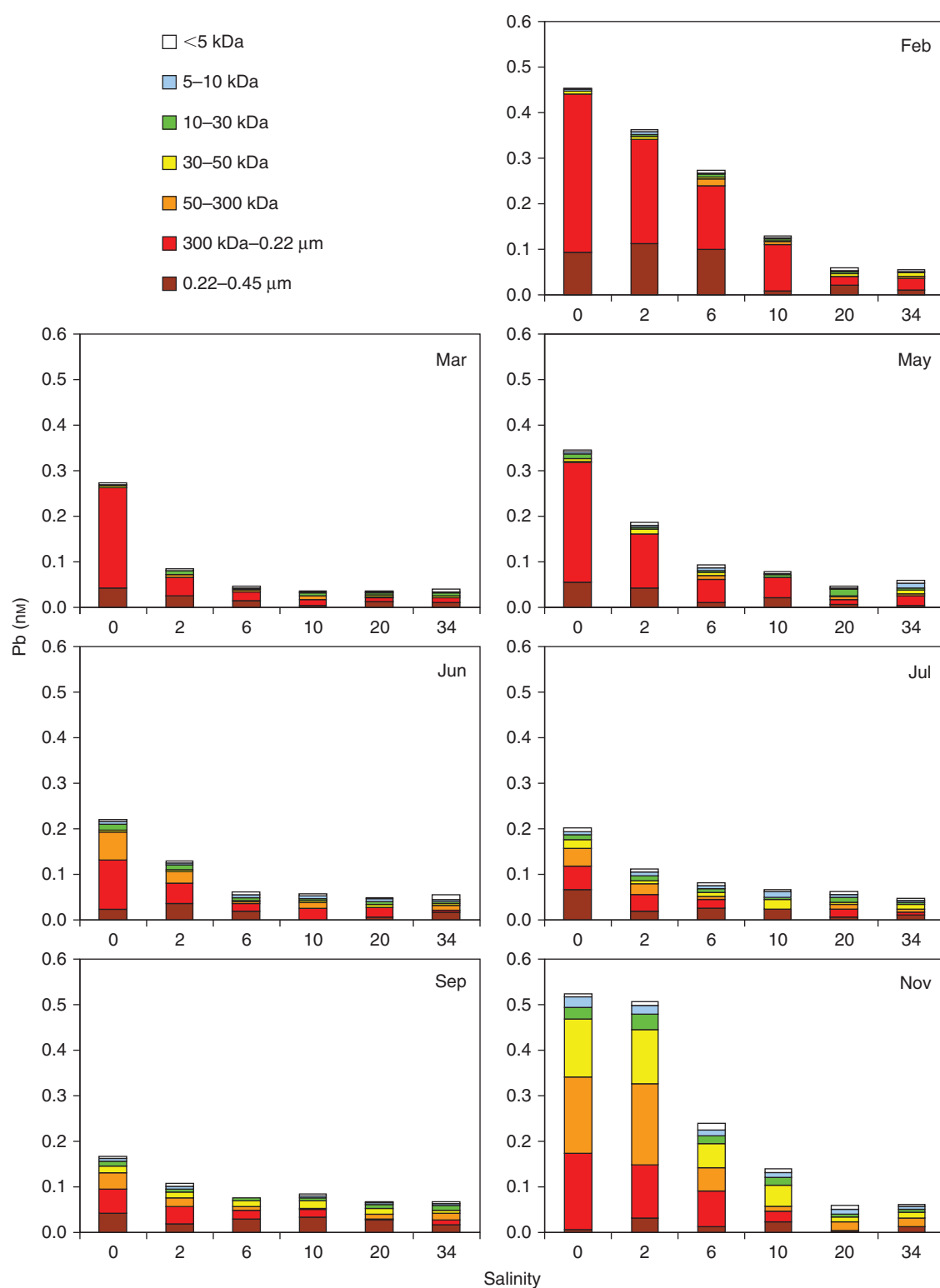


Fig. 3. Distribution of lead (Pb, white background), iron (Fe, light-grey background) and humic substances (HS, grey background) in the various colloidal fractions. Pb was analysed in the seven fractions under 0.45 μm (filtrates), Fe was analysed in the five fractions between 0.22 μm and 5 kDa (retentates) and HS were analysed in the six fractions under 0.22 μm (filtrates).

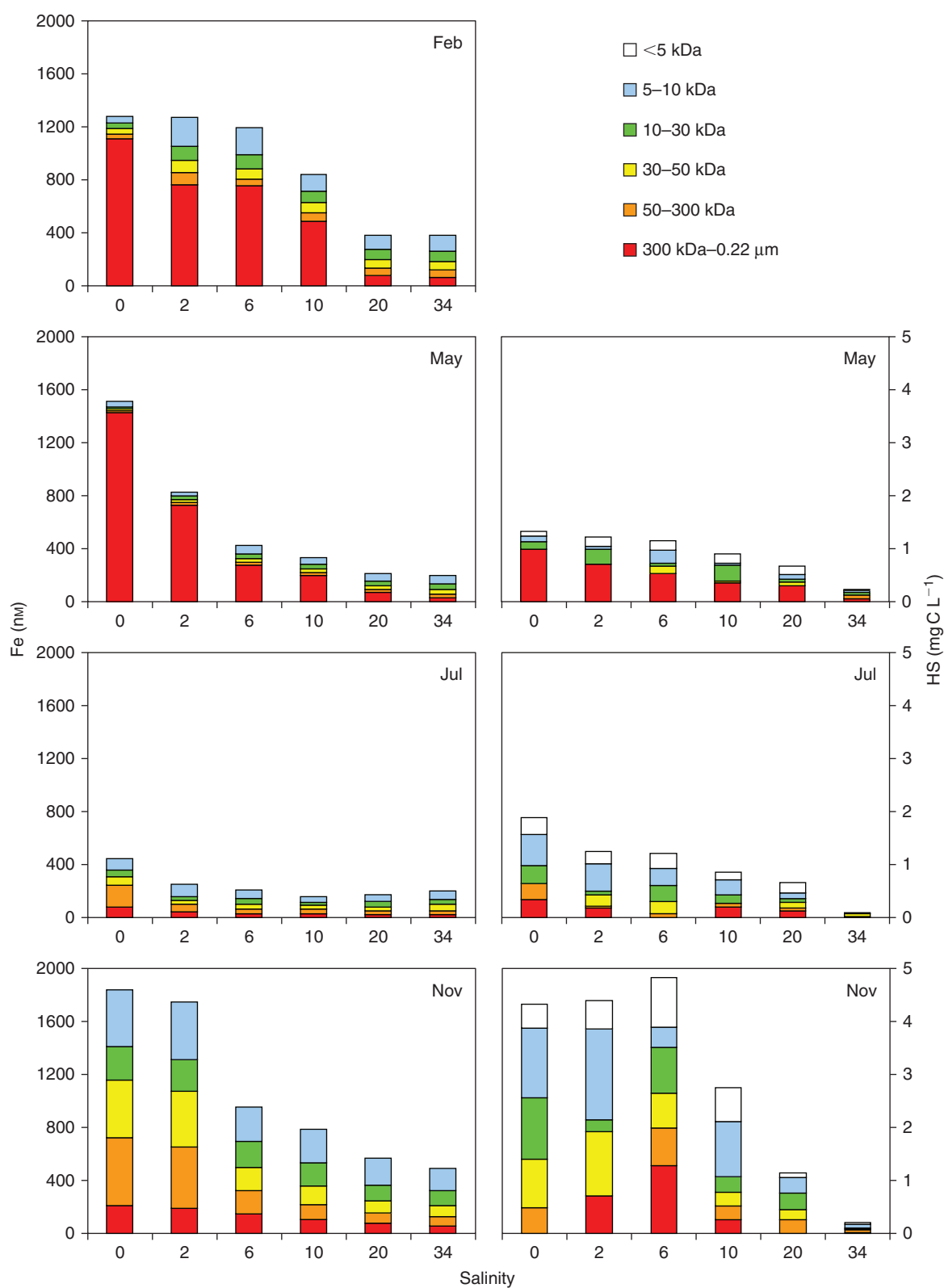


Fig. 3. (Continued)

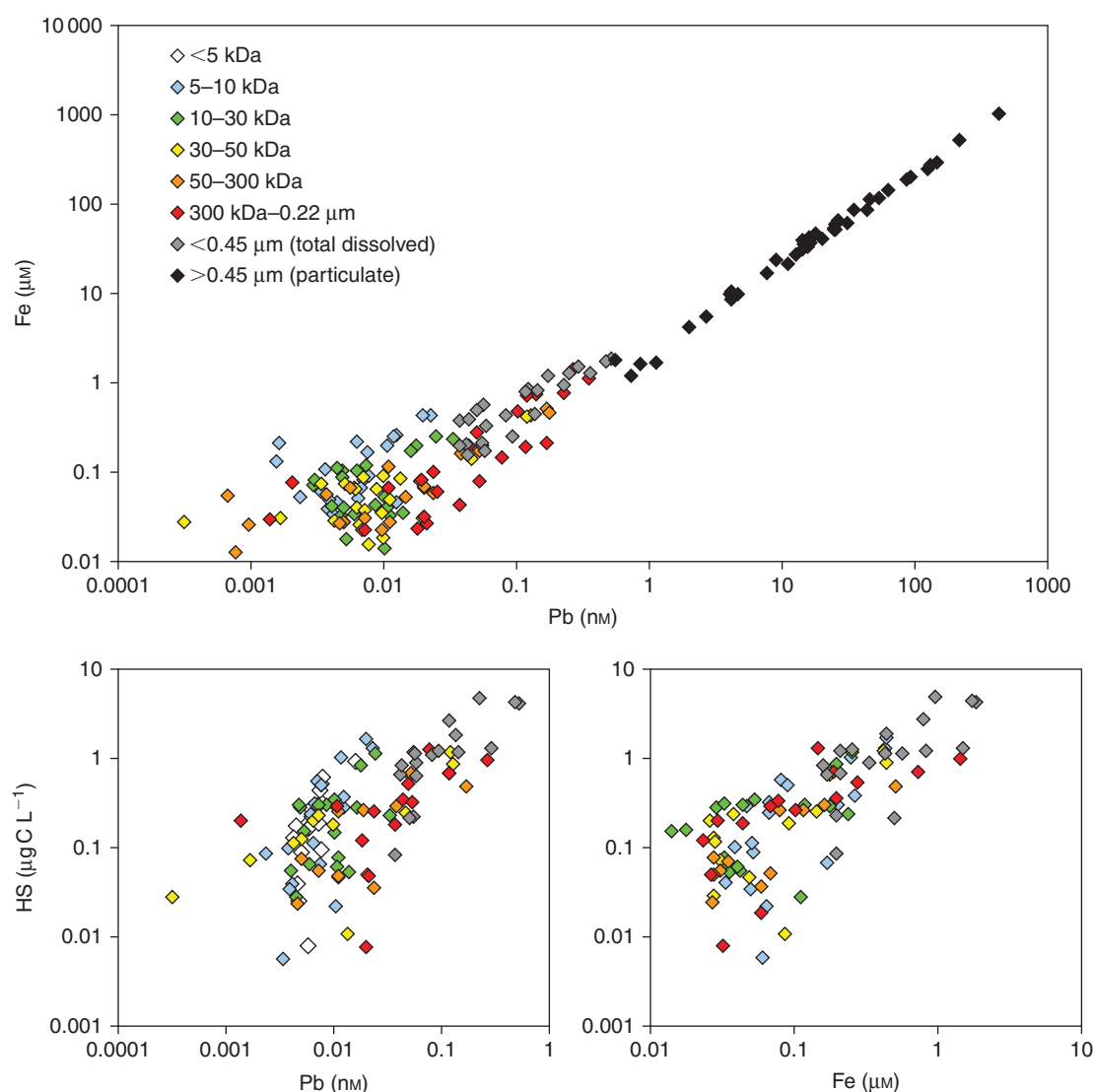


Fig. 4. Plots of iron (Fe) as a function of lead (Pb), humic substances (HS) as a function of Pb and HS as a function of Fe for the various size fractions. Results from regression analysis of the various plots are given in Table 4.

Table 4. Linear regression analysis between lead (Pb) and iron (Fe), Pb and humic substances (HS) and Fe and HS in the various size fractions (values under the detection limit were not used)

Parameter	Fe (μM)/Pb (nM)			HS (μg C L ⁻¹)/Pb (nM)			HS (μg C L ⁻¹)/Fe (μM)		
	r^2	Linear reg.	n	r^2	Linear reg.	n	r^2	Linear reg.	n
<0.45 μm (total dissolved)	0.87	$\text{Fe} = 3.5\text{Pb} + 0.2$	24	0.66	$\text{HS} = 8.2\text{Pb} + 0.4$	18	0.58	$\text{HS} = 2.0\text{Fe} + 0.2$	18
<5 kDa				0.72	$\text{HS} = 79\text{Pb} - 0.3$	18			
5–10 kDa	0.57	$\text{Fe} = 16\text{Pb} + 0.01$	23	0.70	$\text{HS} = 74\text{Pb} - 0.3$	18	0.76	$\text{HS} = 3.3\text{Fe} + 0.0$	18
10–30 kDa	0.54	$\text{Fe} = 6.8\text{Pb} + 0.02$	23	0.24	$\text{HS} = 19\text{Pb} + 0.1$	17	0.47	$\text{HS} = 2.6\text{Fe} + 0.1$	17
30–50 kDa	0.95	$\text{Fe} = 3.2\text{Pb} + 0.02$	24	0.88	$\text{HS} = 7.9\text{Pb} + 0.1$	13	0.87	$\text{HS} = 2.3\text{Fe} + 0.1$	13
50–300 kDa	0.96	$\text{Fe} = 2.7\text{Pb} + 0.02$	20	0.39	$\text{HS} = 3.0\text{Pb} + 0.1$	11	0.48	$\text{HS} = 1.1\text{Fe} + 0.1$	12
300 kDa–0.22 μm	0.79	$\text{Fe} = 3.8\text{Pb} - 0.02$	23	0.51	$\text{HS} = 3.9\text{Pb} + 0.2$	14	0.35	$\text{HS} = 0.6\text{Fe} + 0.2$	15
>0.45 μm (particulate)	0.99	$\text{Fe} = 2.3\text{Pb} - 4.2$	42						

estuary ($S < 6$). The colloidal distribution of HS was also variable. HS were rather found as large colloids in May and were observed in the whole size spectrum in July and November. Their occurrence in the truly dissolved fraction was $17 \pm 7\%$ ($n = 18$) for the three studied situations.

Discussion

Colloidal distribution of Pb: comparison with literature data

The comparison of colloidal distribution of Pb in estuaries with data from literature is limited because the few studies that have been conducted in such systems generally consider only one colloidal fraction (Benoit *et al.* 1994; Martin *et al.* 1995; Kozelka *et al.* 1997; Jiann *et al.* 2005). To our knowledge, the study of Wen *et al.* (1999) in the Galveston Bay is the only study that has dealt with two different colloidal fractions. Another difficulty in comparing the data is due to the nominal cut-off selected by the authors (1, 5 or 10 kDa) for distinguishing colloidal matter from truly dissolved compounds.

The strong association of Pb with colloids (as opposed to its low truly dissolved fraction) appears to be a general finding in estuarine waters. As an example, in the Venice Lagoon, colloidal Pb accounted for most (up to 94%) of the total dissolved metal (Martin *et al.* 1995). In the Danshuei estuary, Jiann *et al.* (2005) also observed a high fraction of large colloidal Pb. In their study, Pb under $0.45 \mu\text{m}$ was mainly associated with colloids $> 0.1 \mu\text{m}$. In the Galveston Bay, Benoit *et al.* (1994) observed that the concentration of colloidal Pb was almost the same as the concentration of Pb in the total dissolved pool. In the same system, Wen *et al.* (1999) also observed a high colloidal fraction for Pb ($\sim 65\%$ of the $0.45\text{-}\mu\text{m}$ filter passing pool). Wen *et al.* (1999) found that colloids $> 10 \text{ kDa}$ dominated the speciation of Pb at very low salinities ($S < 5$). However, and contrarily to our results, Pb in the remaining part of the estuary was more associated with small colloids (i.e. in the range 1–10 kDa). In the same way, Kozelka *et al.* (1997) observed in the South San Francisco Bay that Pb was preferentially associated with organic ligands of small molecular weight ($< 10 \text{ kDa}$).

Seasonal variations of Pb concentrations and colloidal distribution

Both concentrations and speciation of dissolved Pb in the estuary are highly dependent on their input via fluvial waters. Our data indicated that concentrations of Pb in waters entering the estuary are first controlled by the meteorological conditions. The periods with higher dissolved Pb concentrations (February and November) corresponded to relatively high water discharges (Fig. 2, Table 1). As described in a previous paper (Waeles *et al.* 2007), elevation in the concentration of dissolved Pb in the river should be linked to the mobilisation of the metal from erosion and leaching of catchments soils. Because Fe oxides are known to act as the principal adsorbent or carrier phase for Pb (Luoma and Davis 1983; Luoma 1989; Tessier 1992; Wen *et al.* 2008), it is not surprising that mobilisation of Fe also occurs preferentially at the same time as that of Pb, as displayed in Fig. 5.

The fact that the mobilisation of Fe and Pb and their occurrence in the total dissolved phase ($< 0.45 \mu\text{m}$) were at their highest in November can be explained by two complementary

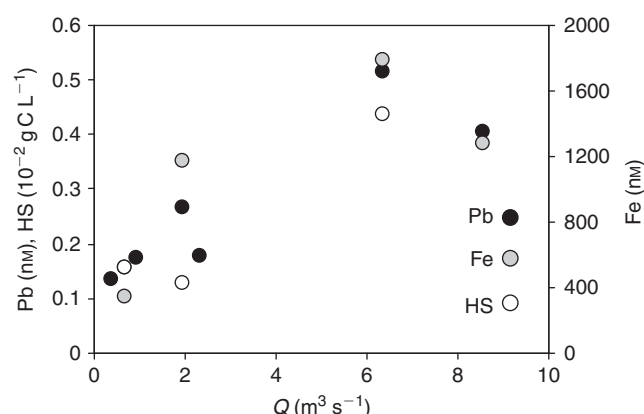


Fig. 5. Concentrations of total dissolved lead (Pb), iron (Fe) and humic substances (HS) at salinity 0, as a function of freshwater discharge.

phenomena. First, precipitations were particularly important the day and the day before our sampling campaign of the 13 November (22 and 21 mm, respectively, which represent the maximum amounts recorded in the summer–autumn period of 2009), resulting in a strong elevation of the water discharge (Fig. 2), passing in 24 h from 1.58 to $6.36 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, and also in a hard weathering of the soils. Second, the leached soils were probably enriched in plant debris at this time of year. This debris, which consists mainly on HS (fulvic acids and humic acids), has been accumulated for several weeks before the above-mentioned precipitations, which were the most important of the autumn. The weathering of the soils in autumn is thus of the reason for the high concentrations of dissolved HS in the riverine waters. Many studies have shown that HS from soils and fluvial waters form organomineral complexes of high resiliency with various mineral surfaces, including Fe oxides (e.g. Tipping 1981; Myneni *et al.* 1999). Their role in the mobility of Fe and Pb is probably of high importance. Our results also showed that HS can determine to a great extent the colloidal distribution of both metals entering the estuarine system. As displayed in Fig. 3, the distribution of Pb, and particularly Fe, in the various size fractions is closely related to that of HS. This is also demonstrated by the strong correlations obtained in the various size fractions between HS and each metal (Fig. 4, Table 4).

Behaviour of Pb and its various size fractions along the salinity gradient

Figure 6 displays the behaviour of the various size fractions of Pb along the salinity gradient. PPb ($> 0.45 \mu\text{m}$) concentrations were high at very low salinities (in the range $45\text{--}430 \text{ nm}$ at salinity 0), mainly because of the presence of a maximum turbidity zone (MTZ), which is a common feature of temperate, well mixed, tidal estuaries (Herman and Heip 1999). Concentrations of PPb normalised to SPM poorly varied along the salinity gradient and across the year ($70 \pm 10 \mu\text{g g}^{-1}$; $n = 42$). Thus, a strong correlation was observed between PPb and SPM concentrations ($\text{SPM} = 3.25 \text{ PPb (nm)} - 5.82$, $r^2 = 0.994$, $n = 42$). From the MTZ, PPb concentrations rapidly decreased in waters with lower particle charge.

Total dissolved Pb ($< 0.45 \mu\text{m}$) had, in all cases, a non-conservative behaviour, with strong negative deviations from

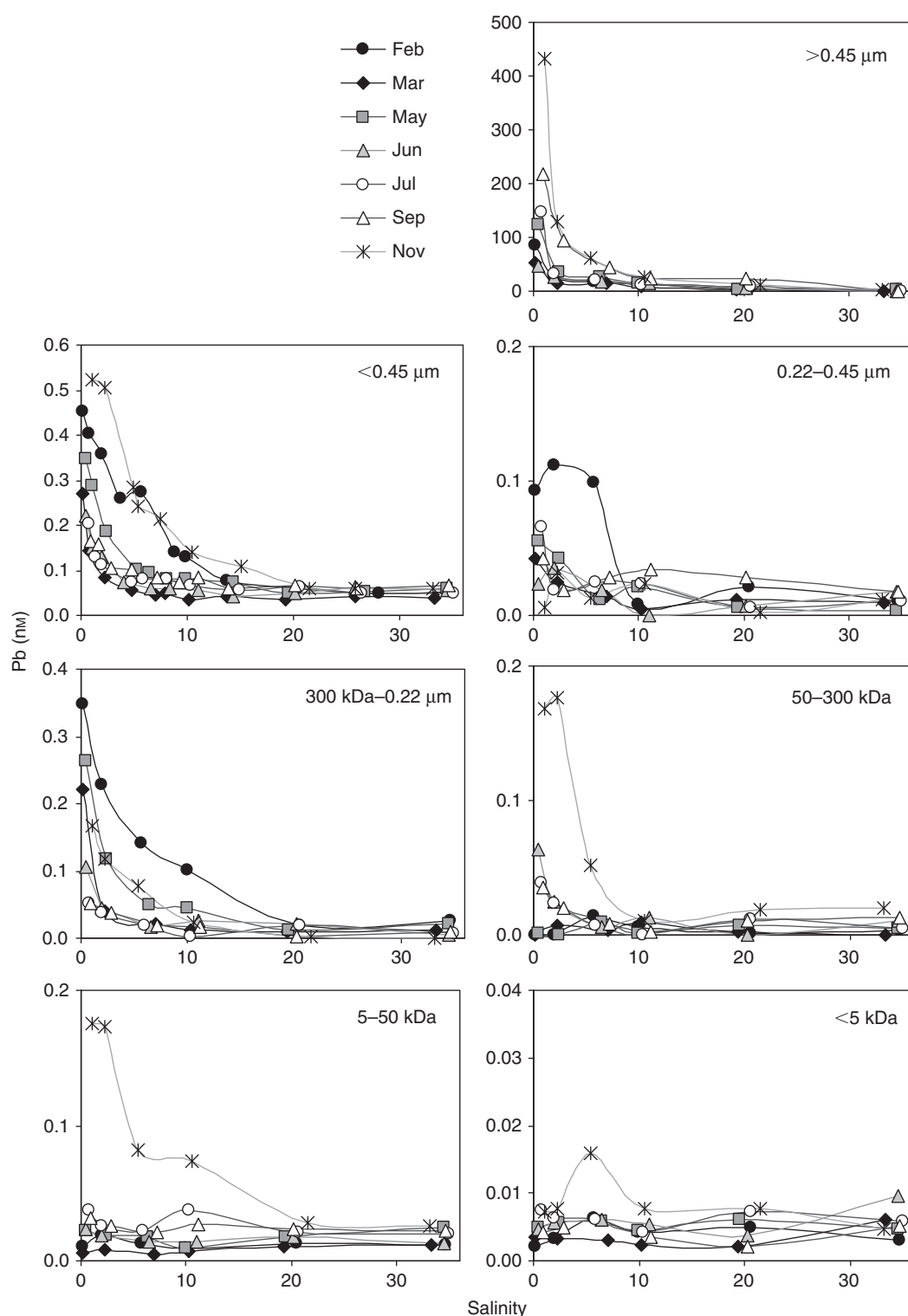


Fig. 6. Metal-salinity distributions over the Year 2009 for particulate lead (PPb), total dissolved lead (TDPb) and the various fractions under 0.45 μm .

linearity. Such deviations have been observed for several elements in estuaries, including Fe (Coonley *et al.* 1971), boron (B) (Liss and Pointon 1973), aluminium (Al) (Hosokawa *et al.* 1970) and Pb (Danielsson *et al.* 1983). They are indicative of a removal

of the elements of concern from the dissolved fraction. These elements, which are generally particle reactivities, are redistributed to the particulate phase (Church *et al.* 1986). In our case, the removal of Pb from the <0.45- μm fraction is particularly

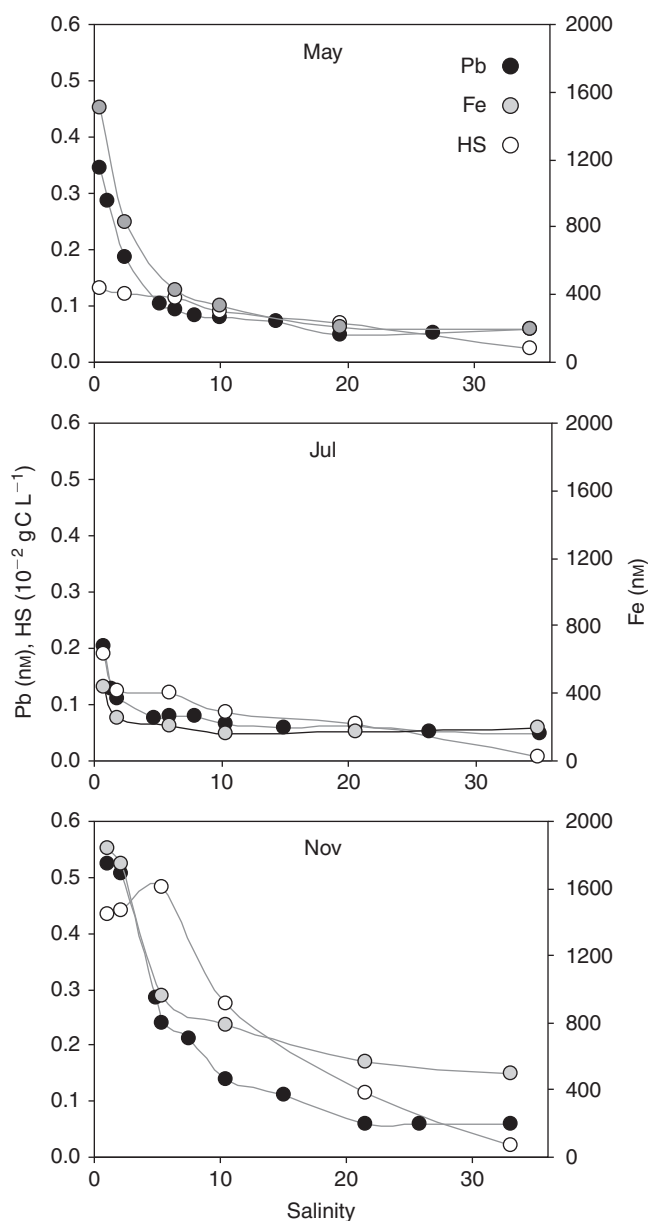


Fig. 7. Total dissolved lead (Pb)-, iron (Fe)- and humic substances (HS)-salinity distributions in May, July and November.

obvious in the salinity range 0–10. At salinity 10, an estimation of the removal factor as described in Escoubé *et al.* (2009) for Fe gave a value of $68 \pm 13\%$ ($n = 7$). Examination of the behaviour of the colloidal fractions under $0.45 \mu\text{m}$ clearly indicated that Pb is removed from its dominant fraction (300 kDa – $0.22 \mu\text{m}$), with the removal factor for this fraction being $79 \pm 15\%$ ($n = 7$). In the lower fractions, Pb is removed only when it is found at significant concentrations (i.e. at concentrations above 50 pM). In the 50 – 300 kDa fraction, the removal of the metal is obvious for 4 months (June, July, September and November), whereas it is observed only in November in the case of the 5 – 50 -kDa fraction. In the truly dissolved fraction, the behaviour of Pb is not clear because of its very low concentrations. It is worth noting that behaviour of Pb in the range 0.22 – $0.45 \mu\text{m}$ differs

from other fractions; the metal is occasionally added to or removed from this size fraction. In March, May and July, some redistributions were observed in the salinity range 0–10, with removal factors in the range of ~ 50 – 80% . In November and February, additions occurred at very low salinities ($S < 5$) and seemed to be shortly followed by removals.

The total dissolved Fe ($< 0.22 \mu\text{m}$) and total dissolved HS ($< 0.22 \mu\text{m}$) behaviours along the salinity gradient are displayed in Fig. 7. Fe exhibited negative deviations indicative of a removal. This removal was well correlated with that of total dissolved Pb and its intensity was linked, as it was for Pb, to the initial concentration at salinity 0. The behaviour of total dissolved HS was more variable. In May and July, concentrations of HS were more conservative than were those of Pb and Fe. In November, although an addition occurred at low salinity, dissolved HS were removed over the remaining part of the estuary.

The behaviour of Fe in estuaries has been resolved since by the work by Boyle, Sholkovitz and co-workers (Boyle *et al.* 1977; Sholkovitz *et al.* 1978). These authors showed that the removal of dissolved Fe in estuaries occurs because the seawater cations neutralise the negatively charged Fe-bearing colloids, allowing flocculation. This was also confirmed by experiments of Wen *et al.* (1997), which indicated that Fe is removed through colloidal pumping rather than by direct uptake from solution. It has been suggested by some authors that Pb is removed from the dissolved fraction by the same mechanism (Dai and Martin 1995). Our data, which showed a very close link between Fe and Pb concentrations on one hand, and between Pb and Fe colloidal distribution on the other hand, strongly confirm the co-removal of Pb with Fe oxides.

Our results also indicated that almost all Pb colloidal fractions (from 5 kDa to $0.22 \mu\text{m}$) are concerned by this removal. However, Pb seems not to be removed from the truly dissolved fraction. About the 0.22 – $0.45 \mu\text{m}$ fraction, two competitive phenomena could explain why concentrations in this fraction not always display negative deviation from linearity. Pb could be probably removed from this fraction through colloidal pumping and can also be added by coagulation of the smaller-sized fractions.

In the Ob and Yenisey estuary, Dai and Martin (1995) observed a removal of colloidal Pb, but not of the truly dissolved metal, which is in agreement with our finding. Conversely, in the Venice Lagoon estuary, Martin *et al.* (1995) found a Pb removal only of the truly dissolved forms, despite the importance of the colloidal fraction (58%). According to these authors, the non-flocculation of colloids in this system ensues from the fact that organic matter is produced in the estuary itself rather than being derived from terrestrial sources.

A question remains about the behaviour of dissolved HS that did not strictly follow that of dissolved Pb and Fe. HS are roughly composed of two types of refractory organic acids, namely humic acids (HA) and fulvic acids (FA). HA represent a small proportion of HS in fluvial and estuarine waters; however, this fraction is the one that flocculates during estuarine mixing (Sholkovitz *et al.* 1978; Hunter and Liss 1979; Pempkowiak and Kupryszewski 1980; Mantoura and Woodward 1983; Fox 1984; Ertel *et al.* 1986). According to Sholkovitz *et al.* (1978), the flocculation process removes ~ 60 – 80% of the dissolved humic-acid compounds. FA represent $\sim 90\%$ of the HS pool in

fluvial waters (Thurman 1985; Aiken 1986; Nagao *et al.* 2003) and are probably dominant in estuarine waters. FA compounds should be less subject to flocculation and also be less associated with Fe and Pb than are HA.

Conclusion

Over the present study, the colloidal fractionation of Pb has highlighted several points regarding the input and behaviour of this metal in the Penzé estuary. First, dissolved-Pb inputs by fluvial waters occurred preferentially in periods of high precipitation. A key period that corresponds to the first strong autumnal precipitation was revealed. At this time, the mobilisation of Pb is enhanced by the mobilisation of HS that have been accumulated in the soils. Our data also showed that Pb is generally found as large colloids of size >300 kDa. However, association of the metal with smaller colloids (30–300 kDa) was observed in autumn. In the mixing zone, the redistribution of dissolved Pb was systematic and occurred in the salinity range 0–10. Because of the strong association of Pb with organo-mineral complexes (probably Fe oxides coated with HS), the removal of the metal occurs under flocculation of these complexes.

References

- Aiken, G. R. (1986). Isolation and concentration techniques for aquatic humic substances. In 'Humic substances in soil, sediment and water: geochemistry, isolation and characterization'. (Eds G. R. Aiken, D. M. McKnight, R. L. Wershaw and P. MacCarthy.) pp. 363–385. (Wiley-Interscience: New York.)
- Baeyens, W. (1997). Evolution of trace metal concentrations in the Scheldt estuary (1978–1995). A comparison with estuarine and ocean levels. *Hydrobiologia* **366**, 157–167. doi:10.1023/A:1003136613574
- Banase, K., Falls, C. P., and Hobson, L. A. (1963). A gravimetric method for determining suspended matter in sea water using millipore filters. *Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts* **10**, 639–642. doi:10.1016/0011-7471(63)90005-6
- Benoit, G., Oktay-Marshall, S. D., Cantu, A., Hood, E. M., Coleman, C. H., *et al.* (1994). Partitioning of Cu, Pb, Ag, Zn, Fe, Al, and Mn between filter-retained particles, colloids, and solution in six Texas estuaries. *Marine Chemistry* **45**, 307–336. doi:10.1016/0304-4203(94)90076-0
- Boyle, E. A., Edmond, J. M., and Sholkovitz, E. R. (1977). The mechanism of iron removal in estuaries. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **41**, 1313–1324. doi:10.1016/0016-7037(77)90075-8
- Buffle, J., and Chalmers, R. A. (1988). 'Complexation Reactions in Aquatic Systems.' (John Wiley and Sons Inc.: New York.)
- Buffle, J., and Leppard, G. G. (1995). Characterization of aquatic colloids and macromolecules. 1. Structure and behavior of colloidal material. *Environmental Science & Technology* **29**, 2169–2175. doi:10.1021/ES00009A004
- Buffle, J., and van Leeuwen, H. P. (1992). 'Environmental particles. Vol. 1.' (IUPAC Series on Environmental Analytical and Physical Chemistry; Lewis Publishers: Chelsea, MI.)
- Burba, P., Aster, B., Nifant'eva, T., Shkinev, V., and Spivakov, B. Y. (1998). Membrane filtration studies of aquatic humic substances and their metal species: a concise overview: part 1. Analytical fractionation by means of sequential-stage ultrafiltration. *Talanta* **45**, 977–988. doi:10.1016/S0039-9140(97)00204-X
- Chanudet, V., Filella, M., and Quentel, F. (2006). Application of a simple voltammetric method to the determination of refractory organic substances in freshwaters. *Analytica Chimica Acta* **569**, 244–249. doi:10.1016/J.ACA.2006.03.097
- Chen, Y., and Buffle, J. (1996). Physicochemical and microbial preservation of colloid characteristics of natural water samples. I: experimental conditions. *Water Research* **30**, 2178–2184. doi:10.1016/0043-1354(96)00095-4
- Chiffolleau, J., Auger, D., and Chartier, E. (1999). Fluxes of selected trace metals from the Seine estuary to the eastern English Channel during the period August 1994 to July 1995. *Continental Shelf Research* **19**, 2063–2082. doi:10.1016/S0278-4343(99)00053-9
- Church, T. M., Tramontano, J. M., and Murray, S. (1986). Trace metal fluxes through the Delaware Bay estuary *Rapports et Proces-Verbaux des Reunions – Conseil International pour L'Exploration de la Mer* **186**, 271–276.
- Coonley, L. S., Baker, E. B., and Holland, H. D. (1971). Iron in the Mullica River and Great Bay, New Jersey. *Chemical Geology* **7**, 51–63. doi:10.1016/0009-2541(71)90032-5
- Dai, M., and Martin, J. (1995). First data on trace metal level and behaviour in two major Arctic river-estuarine systems (Ob and Yenisey) and in the adjacent Kara Sea, Russia. *Earth and Planetary Science Letters* **131**, 127–141. doi:10.1016/0012-821X(95)00021-4
- Dai, M.-H., Martin, J.-M., and Cauwet, G. (1995). The significant role of colloids in the transport and transformation of organic carbon and associated trace metals (Cd, Cu and Ni) in the Rhone delta (France) *Marine Chemistry* **51**, 159–175. doi:10.1016/0304-4203(95)00051-R
- Danielsson, L., Magnusson, B., Westerlund, S., and Zhang, K. (1983). Trace metals in the Göta river estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **17**, 73–85. doi:10.1016/0272-7714(83)90046-X
- Dehairs, F., Baeyens, W., and Van Gansbeke, D. (1989). Tight coupling between enrichment of iron and manganese in North Sea suspended matter and sedimentary redox processes: evidence for seasonal variability. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **29**, 457–471. doi:10.1016/0272-7714(89)90080-2
- Elbaz-Poulichet, F., Holliger, P., Wen Huang, W., and Martin, J. (1984). Lead cycling in estuaries, illustrated by the Gironde estuary, France. *Nature* **308**, 409–414. doi:10.1038/308409A0
- Ertel, J. R., Hedges, J. I., Richey, J. E., and Ribeiro, M. N. G. (1986). Dissolved humic substances of the Amazon River system. *Limnology and Oceanography* **31**, 739–754. doi:10.4319/LO.1986.31.4.0739
- Escoubé, R., Rouxel, O. J., Sholkovitz, E., and Donard, O. F. X. (2009). Iron isotope systematics in estuaries: the case of North River, Massachusetts (USA). *Geochimica et Cosmochimica Acta* **73**, 4045–4059. doi:10.1016/J.GCA.2009.04.026
- Filella, M., and Buffle, J. (1993). Factors controlling the stability of submicron colloids in natural waters. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **73**, 255–273. doi:10.1016/0927-7757(93)80020-F
- Fox, L. E. (1984). The relationship between dissolved humic acids and soluble iron in estuaries. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **48**, 879–884. doi:10.1016/0016-7037(84)90109-1
- Guéguen, C., Belin, C., and Dominik, J. (2002). Organic colloid separation in contrasting aquatic environments with tangential flow filtration. *Water Research* **36**, 1677–1684. doi:10.1016/S0043-1354(01)00374-8
- Herman, P. M. J., and Heip, C. H. R. (1999). Biogeochemistry of the MAXimum TURbidity Zone of Estuaries (MATURE): some conclusions. *Journal of Marine Systems* **22**, 89–104. doi:10.1016/S0924-7963(99)00034-2
- Hosokawa, I., Ohshima, F., and Kondo, N. (1970). On the concentrations of the dissolved chemical elements in the estuary of the Chikugogawa River. *Journal of the Oceanographical Society of Japan* **26**, 1–5. doi:10.1007/BF02764549
- Hunter, K. A., and Liss, P. S. (1979). The surface charge of suspended particles in estuarine and coastal waters. *Nature* **282**, 823–825. doi:10.1038/282823A0
- Giann, K., Wen, L., and Santschi, P. H. (2005). Trace metal (Cd, Cu, Ni and Pb) partitioning, affinities and removal in the Danshuei River estuary, a

- macro-tidal, temporally anoxic estuary in Taiwan. *Marine Chemistry* **96**, 293–313. doi:10.1016/J.MARCHEM.2005.03.001
- Kozelka, P. B., Sañudo-Wilhelmy, S., Flegal, A. R., and Bruland, K. W. (1997). Physico-chemical speciation of lead in south San Francisco Bay. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **44**, 649–658. doi:10.1006/ECSS.1996.0129
- Lead, J., Davison, W., Hamilton-Taylor, J., and Buffle, J. (1997). Characterizing colloidal material in natural waters. *Aquatic Geochemistry* **3**, 213–232. doi:10.1023/A:1009695928585
- Liss, P. S., and Pointon, M. J. (1973). Removal of dissolved boron and silicon during estuarine mixing of sea and river waters. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **37**, 1493–1498. doi:10.1016/0016-7037(73)90085-9
- Luoma, S. N. (1989). Can we determine the biological availability of sediment-bound trace elements? *Hydrobiologia* **176–177**, 379–396. doi:10.1007/BF00026572
- Luoma, S. N., and Davis, J. A. (1983). Requirements for modeling trace metal partitioning in oxidized estuarine sediments. *Marine Chemistry* **12**, 159–181. doi:10.1016/0304-4203(83)90078-6
- Mantoura, R. F. C., and Woodward, E. M. S. (1983). Conservative behaviour of riverine dissolved organic carbon in the Severn Estuary: chemical and geochemical implications. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **47**, 1293–1309. doi:10.1016/0016-7037(83)90069-8
- Martin, J., Dai, M., and Cauwet, G. (1995). Significance of colloids in the biogeochemical cycling of organic carbon and trace metals in the Venice Lagoon (Italy). *Limnology and Oceanography* **40**, 119–131. doi:10.4319/LO.1995.40.1.0119
- Monbet, P. (2006). Mass balance of lead through a small macrotidal estuary: the Morlaix River estuary (Brittany, France). *Marine Chemistry* **98**, 59–80. doi:10.1016/J.MARCHEM.2005.08.003
- Muller, F. L. L. (1996). Interactions of copper, lead and cadmium with the dissolved, colloidal and particulate components of estuarine and coastal waters. *Marine Chemistry* **52**, 245–268. doi:10.1016/0304-4203(95)00097-6
- Myneni, S. C. B., Brown, J. T., Martinez, G. A., and Meyer-Ilse, W. (1999). Imaging of humic substance macromolecular structures in water and soils. *Science* **286**, 1335–1337. doi:10.1126/SCIENCE.286.5443.1335
- Nagao, S., Matsunaga, T., Suzuki, Y., Ueno, T., and Amano, H. (2003). Characteristics of humic substances in the Kuji River waters as determined by high-performance size exclusion chromatography with fluorescence detection. *Water Research* **37**, 4159–4170. doi:10.1016/S0043-1354(03)00377-4
- Pempkowiak, J., and Kupryszewski, G. (1980). The input of organic matter to the Baltic from the Vistula River. *Oceanologia* **12**, 79–98.
- Perret, D., Newman, M. E., Nègre, J., Chen, Y., and Buffle, J. (1994). Submicron particles in the Rhine River – I. Physico-chemical characterization. *Water Research* **28**, 91–106. doi:10.1016/0043-1354(94)90123-6
- Pokrovsky, O. S., and Schott, J. (2002). Iron colloids/organic matter associated transport of major and trace elements in small boreal rivers and their estuaries (NW Russia). *Chemical Geology* **190**, 141–179. doi:10.1016/S0009-2541(02)00115-8
- Quentel, F., Madec, C., Le Bihan, A., and Courtot-Coupez, J. (1986). Détermination des substances humiques en milieu marin par redissolution cathodique à l'électrode à goutte pendante de mercure. *Analytical Letters* **19**, 325–344.
- Riso, R. D., Le Corre, P., and Chaumery, C. J. (1997). Rapid and simultaneous analysis of trace metals (Cu, Pb and Cd) in seawater by potentiometric stripping analysis. *Analytica Chimica Acta* **351**, 83–89. doi:10.1016/S0003-2670(97)00352-8
- Sholkovitz, E., Boyle, E., and Price, N. (1978). The removal of dissolved humic acids and iron during estuarine mixing. *Earth and Planetary Science Letters* **40**, 130–136. doi:10.1016/0012-821X(78)90082-1
- Spencer, D. W., Bacon, M. P., and Brewer, P. G. (1980). The distribution of ^{210}Pb and ^{210}Po in the North Sea. *Thalassia Jugoslavica* **16**, 125–154.
- Tessier, A. (1992). Sorption of trace elements on natural particles in oxic environments. In 'Environmental particles'. (Eds J. Buffle and H. P. van Leeuwen.) pp. 425–453. (Lewis Publishers: Chelsea, MI.)
- Thurman, E. M. (1985). 'Organic Geochemistry of Natural Waters.' (Kluwer Academic Publishers Group: Dordrecht, The Netherlands.)
- Tipping, E. (1981). The adsorption of aquatic humic substances by iron oxides. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **45**, 191–199. doi:10.1016/0016-7037(81)90162-9
- Waeles, M., Riso, R. D., and Le Corre, P. (2007). Distribution and seasonal changes of lead in an estuarine system affected by agricultural practices: the Penzé estuary, NW France. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **74**, 570–578. doi:10.1016/J.ECSS.2007.05.002
- Waeles, M., Riso, R. D., Maguer, J.-F., Guillaud, J.-F., and Le Corre, P. (2008a). On the distribution of dissolved lead in the Loire estuary and the North Biscay continental shelf, France. *Journal of Marine Systems* **72**, 358–365. doi:10.1016/J.JMARSYS.2007.01.012
- Waeles, M., Tanguy, V., Lespes, G., and Riso, R. D. (2008b). Behaviour of colloidal trace metals (Cu, Pb and Cd) in estuarine waters: an approach using frontal ultrafiltration (UF) and stripping chronopotentiometric methods (SCP). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **80**, 538–544. doi:10.1016/J.ECSS.2008.09.010
- Wells, M. L., Kozelka, P. B., and Bruland, K. W. (1998). The complexation of 'dissolved' Cu, Zn, Cd and Pb by soluble and colloidal organic matter in Narragansett Bay, RI. *Marine Chemistry* **62**, 203–217. doi:10.1016/S0304-4203(98)00041-3
- Wen, L., Stordal, M. C., Tang, D., Gill, G. A., and Santschi, P. H. (1996). An ultraclean cross-flow ultrafiltration technique for the study of trace metal phase speciation in seawater. *Marine Chemistry* **55**, 129–152. doi:10.1016/S0304-4203(96)00052-7
- Wen, L.-S., Santschi, P., and Tang, D. (1997). Interactions between radioactively labelled colloids and natural particles: evidence for colloidal pumping. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **61**, 2867–2878. doi:10.1016/S0016-7037(97)00139-7
- Wen, L., Santschi, P., Gill, G., and Paternostro, C. (1999). Estuarine trace metal distributions in Galveston Bay: importance of colloidal forms in the speciation of the dissolved phase. *Marine Chemistry* **63**, 185–212. doi:10.1016/S0304-4203(98)00062-0
- Wen, L.-S., Warnken, K. W., and Santschi, P. H. (2008). The role of organic carbon, iron, and aluminium oxyhydroxides as trace metal carriers: cComparison between the Trinity River and the Trinity River Estuary (Galveston Bay, Texas). *Marine Chemistry* **112**, 20–37. doi:10.1016/J.MARCHEM.2008.06.003
- Windom, H. L., Smith, R. G., and Maeda, M. (1985). The geochemistry of lead in rivers, estuaries and the continental shelf of the southeastern United States. *Marine Chemistry* **17**, 43–56. doi:10.1016/0304-4203(85)90035-0
- Windom, H., Smith, R., Jr, Rawlinson, C., Hungspreugs, M., Dharmvanij, S., and Wattayakorn, G. (1988). Trace metal transport in a tropical estuary. *Marine Chemistry* **24**, 293–305. doi:10.1016/0304-4203(88)90037-0

Manuscript received 17 August 2010, accepted 24 November 2010



Determination of ultra-trace Sb(III) in seawater by stripping chronopotentiometry (SCP) with a mercury film electrode in the presence of copper

V. Tanguy^{a,b}, M. Waeles^{a,b}, J. Vandenhecke^{a,b}, R.D. Riso^{a,b,*}

^a Université Européenne de Bretagne, Brest, France

^b Université de Bretagne Occidentale, IUEM, LEMAR UMR 6539, Equipe Chimie Marine, place N. Copernic, 29280 Plouzané, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 21 September 2009

Received in revised form

18 December 2009

Accepted 24 December 2009

Available online 11 January 2010

Keywords:

Stripping chronopotentiometry

Antimony

Inorganic species

Seawater

Estuary

ABSTRACT

This work reports the determination of ultra-trace of Sb(III) in seawater by using a stripping chronopotentiometric (SCP) method with a mercury film electrode. A sensitivity and detection limit of $360 \text{ ms L } \mu\text{g}^{-1}$ and 8 ng L^{-1} (70 pM), respectively, were accomplished for a 15-min electrolysis time. Compared to the only two chronopotentiometric methods reported for Sb(III) determination in seawater, our method is more sensitive and does not need to use a medium exchange procedure before the stripping step. Moreover, the use of a double electrolysis potential (−450 mV and −250 mV) allows the analysis of Sb(III) independently from the Cu level in the sample. The method was successfully used to study the behaviour of dissolved Sb(III) in the Penzé estuary, NW France.

© 2010 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Non-biodegradable and potentially toxic elements are permanently supplied to seawater. Antimony and its compounds are one of the priority contaminants listed by the Environmental Protection Agency of the United States [1] and the Council of the European Communities [2]. Natural sources of Sb to seawater consist of rock weathering, soil runoff and atmospheric deposition. Anthropogenic sources are linked to glass, ceramic and painting manufacturing [3,4]. Sb compounds are also used in flame retardant mixtures for textiles, plastics or paper. Because of their uses in brake linings and tires [5], road traffic is also a major source of Sb to the environment.

Total dissolved antimony concentrations in coastal and oceanic waters varied between 1.5 and 8 nM [3,6–9]. As for most trace metals and metalloids, the potential toxicity of Sb highly depends on its chemical forms in solution. In seawater, inorganic Sb(V) is the major species whereas Sb(III), although in minor amounts, is considered to be the most toxic fraction [9]. The toxicity of Sb in seawater is not certain but some recent studies have shown oxidative DNA damage in workers exposed to Sb_2O_3 and SbCl_3 [10,11].

* Corresponding author at: Université de Bretagne Occidentale, IUEM, Laboratoire de Chimie Marine, LEMAR UMR 6539, équipe Chimie Marine, IUEM, place N. Copernic, 29280 Plouzané, France. Tel.: +33 2 98 49 87 52; fax: +33 2 98 49 86 98.
E-mail address: riso@univ-brest.fr (R.D. Riso).

The most used techniques for analysis of Sb species are based on hydride generation coupled with different spectrometric techniques, i.e. atomic absorption spectrometry (AAS), atomic emission spectrometry (AES), atomic fluorescence spectrometry (AFS) or mass spectrometry (MS) [12–18]. Because of their low-cost and compactness, electrochemical stripping analysis represents an interesting alternative to them. Moreover, the seawater matrix, which causes severe difficulties with spectrometric techniques, is a good electrolyte. Voltammetric methods, i.e. differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV) and differential pulse adsorptive stripping voltammetry (DPAdSV), are the most developed and have been associated with several different electrodes [7,19–25]. Another analytical possibility consists of stripping chronopotentiometry (SCP) [26–29]. In these techniques, the pre-concentration step is like the one used in voltammetric procedures, whereas stripping is performed through the application of a low constant current (constant current stripping chronopotentiometry) or by chemical oxidation instead of potential sweeping. SCP gave rise to low-detection methods for metals and metalloids determination in seawater [30–35]. These methods are poorly affected by organic matter and are relatively easy to implement. In the case of antimony, there are only two reported SCP methods for seawater analyses [26,36]. The method by Adeloju and Young [26] has a detection limit (7.5 nM) that is not sufficient for determining typical Sb concentrations in seawater. Despite a relatively good detection limit (0.3 nM for 10-min deposition time), the method by Huiliang

et al. [36], which uses a gold fibre electrode, is inconvenient in some respects: it is necessary to change the media before the stripping step and the stripping media are highly acidic (4 M HCl). These constraints can prevent the routine use of this procedure.

In this study, we evaluate the possibility of using a mercury film electrode in conjunction with constant current stripping chronopotentiometry for determining Sb(III) in seawater, keeping in mind that copper is the main problem to solve on a mercury electrode because its potential overlaps from the Sb stripping peak [7,19,36]. The objective is to develop a simple, sensitive and reliable method. Our aim was also to use the developed method to assess the distribution of Sb(III) species along the salinity gradient of the Penzé estuary (Morlaix Bay, NW France).

2. Experiments

2.1. Chemicals

All solutions were prepared with ultrapure water (>18 M Ω) from a Milli-Q Element system (Millipore®, Billerica, MA, USA) and the HCl stock solution used was a 30% Suprapur from Merck. The 1000 ppm Sb(III) solution was made up by dissolving an appropriate amount of SbCl₃ in 20% HCl. From this stock solution, diluting standards (2.5 ppm and 50 ppb) were prepared in 20% HCl. All these Sb(III) solutions were stable for at least 3 weeks. The 0.5 M NaCl solution was created with SigmaUltra NaCl(s) from Sigma and then acidified to pH ~2. In order to stabilise the Sb(III) form and avoid its oxidation to Sb(V), a 2 M stock solution of hydrazine was daily made up by using N₂H₄·2HCl (s) from Fluka (puriss. p.a.). The Hg²⁺ solution used to perform mercury film plating was prepared by dissolving hexadistilled mercury in concentrated HNO₃ (Suprapur, Fluka) and was adjusted to a concentration of 0.01 M. All sample manipulations and reagent preparations were carried out in a class-100 laminar flow hood-equipped laboratory to avoid any risk of pollution.

2.2. Instrumentation

The chronopotentiograms were obtained with a TraceLab PSU 22 potentiometric stripping unit (Radiometer, Copenhagen, Denmark) interfaced with a personal computer and controlled by the TAP2 Trace Talk program (Radiometer). The system operates on a three-electrode basis. The working electrode was a rotating glassy carbon electrode (EDI101T, 2.5 mm in diameter) coated with a thin mercury film and connected to a CTV101 unit that provides a constant rotation rate. A lab-made Ag/AgCl (KCl 3 M, Suprapur) electrode and a platinum electrode were used as the reference and the auxiliary electrodes, respectively. The Pt auxiliary electrode was isolated from the sample with a 0.5 M KNO₃ solution-filled saline bridge. This prevents chlorine formation at the auxiliary electrode when working in a chloride-rich matrix. Indeed, the existence of chlorine near the working electrode can induce the oxidation of Sb(III) into electroinactive Sb(V), causing speciation changes and signal loss.

2.3. Mercury film electrode

Because exchange of electrons occurs at the surface of the working electrode, physical conditioning of the glassy carbon is critically important for obtaining a high-quality mercury film electrode. Before the beginning of the experiments the electrode was polished with diamond paste of gradually decreasing grain size (6, 3, 1, and 0.25 μ m) until a mirror-like surface was obtained. Ethanol wash and an ultrasonic cleaning were then conducted to remove residual particles. Such an electrode can be used for several years without additional polishing. The mercury film was plated by applying a

–1200 mV potential for 10 min from Hg²⁺ ions added at a concentration of 50 μ M in a 0.5 M NaCl solution acidified to pH ~2 with HCl. The film thus prepared is stable for approximately 6 h. Before any adsorption-stripping cycle the electrode was conditioned for 20 s at a potential of –50 mV vs Ag/AgCl (KCl 3 M). During the plating of the mercury film, the electrode conditioning and the pre-concentration step, the angular velocity of the rotating working electrode was kept constant at 3000 rpm. It was set to the lowest possible value (9 rpm) throughout the stripping step.

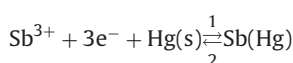
2.4. Sampling

Twelve samples were collected along the Penzé estuary (Brittany, NW France) in December 2008. The sampling locations were selected with the aim to cover the whole freshwater–seawater mixing area. Sampling was performed from a Zodiac inflatable boat with HDPE-Nalgene® bottles. Water was sampled by hand at ca. 0.5 m below the surface with the arm fully covered with a plastic glove (92 cm, Polysem®). 125-mL aliquots, intended for Sb(III) analysis, were immediately filtered on 0.45- μ m membrane filters (Millex-HA, Millipore®), spiked with 0.1 M of hydrazine dihydrochloride to avoid the oxidation of Sb(III) into Sb(V) species [26,27], acidified to pH ~2 and stored at 4 °C until analysis. Salinity (S) was measured with a WTW (Weilheim, Germany) ProfiLine LF197 probe (precision $\pm$ 0.1).

Other aliquots were dedicated to the measurement of total dissolved organic carbon (DOC) and refractory organic matter (often referred to as humic substances). DOC was analysed by the dry oxidation method [37]. Precision on quantification was ca. 10% and blanks filters concentrations were lower than 1 ngC L^{–1}. Humic substances were determined by adsorptive cathodic voltammetry [38], using a μ Autolab potentiostat (Ecochemie, Netherlands) connected to a hanging mercury drop electrode (HMDE, Metrohm model 663VA), with a 2.5 μ gC L^{–1} precision.

2.5. Method principle

Constant current stripping chronopotentiometry consists of 2 steps: electrolysis and stripping. During electrolysis, Sb(III) – the only electroactive species of antimony at the mercury film electrode – is reduced to Sb(0) as an amalgam with Hg (way 1). This first step is carried out by applying under mixing a sufficient reducing potential. After a short rest period without mixing, Sb is stripped through the application of an oxidative constant current (way 2).



The amount of Sb(III) is measured from the signal corresponding to the oxidation of Sb(0) to Sb(III) by recording the variation of the potential (E) of the working electrode as a function of time (t), at the maximum rate of 90 kHz. From this chronopotentiogram, data analysis establishes a derivative curve (i.e. dt/dE vs E) and the amount of stripped material can be determined from the peak size or peak area. The metal concentrations were evaluated by repeating the analysis three times, with each replicate being spiked with increasing amount of standard antimony.

3. Results and discussion

Chemical and electrochemical parameters have been optimized by studying their influence on the method sensitivity. The various tests were performed on a coastal seawater sample collected in the Bay of Brest, filtered on a 0.45- μ m filter (Millipore®-HA 47 mm), spiked with a low amount of Sb(III) and degassed with nitrogen for 10 min.

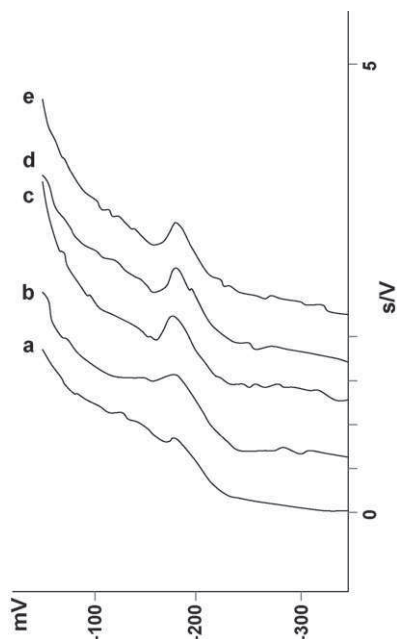


Fig. 1. Influence of N_2H_4 concentration on Sb(III) stripping signal. Seawater sample with $[\text{HCl}] = 0.15 \text{ M}$, $[\text{Hg}^{2+}] = 50 \mu\text{M}$, $[\text{Sb}^{3+}] = 85 \text{ ng L}^{-1}$, $E_e = -450 \text{ mV}$, $t_e = 600 \text{ s}$, $i_s = 3.5 \mu\text{A}$, $[\text{N}_2\text{H}_4] =$ (a) 0.02 M, (b) 0.04 M, (c) 0.06 M, (d) 0.08 M and (e) 0.1 M.

3.1. Chemical parameters

Preliminary experiments have been carried out for testing the stability of Sb(III). In an acidified seawater sample (0.5 M HCl) spiked with 0.5 ppb, a rapid signal loss is observed ($\sim 30\%$ after 10 min and $\sim 80\%$ after 1 h). In order to avoid oxidation of Sb(III) to Sb(V), the stabilisation of Sb(III) is thus required when sampling seawater. The most common used agents are ascorbic acid [7] and hydrazine [26,27]. Because a lack of linearity was always observed during preliminary tests with ascorbic acid, hydrazine was selected as the stabilising agent. The influence of hydrazine concentration on Sb(III) signal was thus explored (Fig. 1). From 0.02 to 0.06 M, the sensitivity increased (from 175 to $250 \text{ ms L } \mu\text{g}^{-1}$), then remained relatively constant at concentrations higher than 0.06 M. Consequently, a N_2H_4 concentration of 0.1 M was chosen for subsequent experiments. This concentration was sufficient to prevent the ill-defined signal on the anodic side as shown in Fig. 1a and b. As reported by Waller and Pickering [39], hydrazine at 0.1 M does not promote chemical reduction of Sb(V) to Sb(III); hydrazine probably acting as a depolarising agent, rather than a chemical reductant.

The choice of the electrolytic solution is essential, not only for obtaining well-defined signals, but also to control the Sb speciation. Acidic electrolytes are employed in order to avoid the hydrolysis of Sb(III) and Sb(V) into $\text{Sb}(\text{OH})_3$ and $\text{Sb}(\text{OH})_6^-$. Because chloride ions stabilise Sb via formation of chlorocomplexes, hydrochloric acid is usually preferred [26,40]. Moreover, Quentel and Fillela [7], using a DPASV technique and a mercury drop electrode, have shown that it is possible to determine either Sb(III) or total inorganic Sb(III + V) by adjusting the HCl concentration.

Examination of HCl concentration on our Sb stripping signal has been investigated (Fig. 2). As expected, HCl concentration has an important influence. An increase of the signal is observed from 0.01 to 0.2 M. At concentrations higher than 0.2 M, the sensitivity declined and the signals were no longer resolved for HCl concentrations over 1 M. A HCl concentration of 0.15 M was, therefore, selected for subsequent experiments. The look of the obtained curve was similar to the one reported by Adeloju and Young [26]. These authors also used a mercury film electrode and a chronopo-

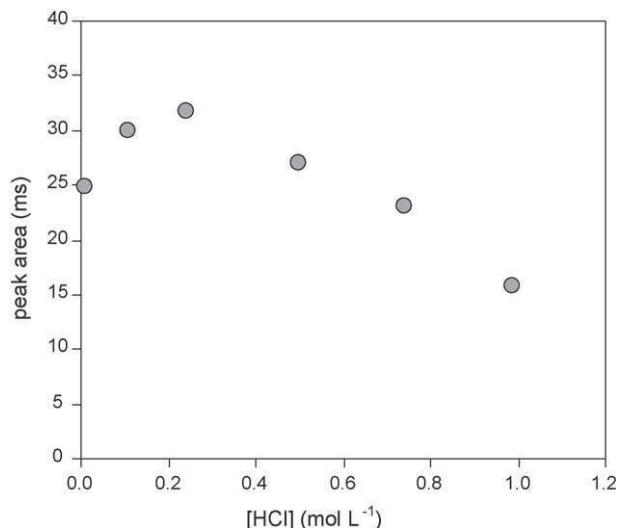


Fig. 2. Influence of HCl concentration on Sb(III) stripping signal. Seawater sample with $[\text{N}_2\text{H}_4] = 0.1 \text{ M}$, $[\text{Hg}^{2+}] = 50 \mu\text{M}$, $[\text{Sb}^{3+}] = 175 \text{ ng L}^{-1}$, $E_e = -450 \text{ mV}$, $t_e = 300 \text{ s}$, $i_s = 3.5 \mu\text{A}$.

tentiometric technique that consisted of a chemical oxidation. However, their optimal HCl concentration was 1 M. This difference in optimal HCl concentration can be related to the way of plating the mercury film. Adeloju and Young used a concentrated Hg^{2+} solution ($4 \times 10^{-3} \text{ M}$) and a short electrolysis time (1 min). In our study, the Hg plating was realised by using a diluted Hg^{2+} concentration ($\sim 5 \times 10^{-5} \text{ M}$) and a long electrolysis time (10 min). According with previously experiments on film electrodes [30,31,41], this latter approach gives a better analytical efficiency. In the case of antimony, our way of plating probably prevents the use of highly acidic media whereas the former approach allows the use of HCl concentrations until 5 M [26,27].

3.2. Electrochemical parameters

At a mercury electrode and under the chemical conditions retained (HCl 0.15 M), the Sb(III) peak is located at approximately -150 mV vs Ag/AgCl (KCl, 3 M) (Fig. 6). Thus, the electrolysis potential (E_e) should be sufficiently cathodic from -150 mV to reduce Sb(III) at the working electrode. As illustrated in Fig. 3, the peak area increased as the electrolysis potential was varied from -300 mV to -450 mV . At lower potentials the signal slowly decreased. Taking this evolution into account, an electrolysis potential of -450 mV was chosen for subsequent analysis.

The stripping current (i_s) is one of the most influent parameter on the method sensitivity. As described by Eq. (1), the stripping signal (t_s) that corresponds to the time needed to strip Sb from the electrode, should inversely vary with the stripping current.

$$t_s = k \frac{[\text{Sb(III)}]}{i_s - i_0} \quad (1)$$

where k is a constant that incorporates D (the diffusion coefficient of the element, $\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$), δ_e (the thickness of the diffusion layer, cm), i_s the magnitude of the applied current and i_0 the amount of this current lost through side reactions due to the diffusion of oxidable species to the electrode and reactions at the electrode substrate surface. Assuming that the condition $i_s \gg i_0$ is fulfilled, small variations in the diffusion layer will not noticeably affect t_s in this respect [42].

For this study, the influence of i_s was examined between 6 and $2 \mu\text{A}$ (0.17 and $0.50 \mu\text{A}^{-1}$). As described in Fig. 4, the linear relationship between i_s^{-1} and the stripping signal was verified. Although

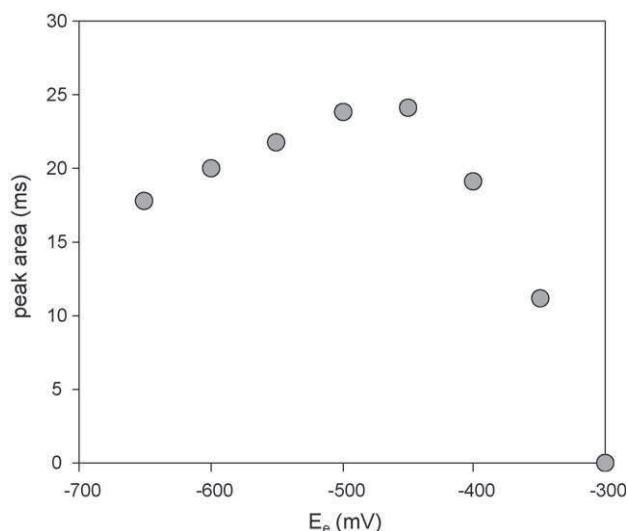


Fig. 3. Influence of electrolysis potential on Sb(III) stripping signal. Seawater sample with $[N_2H_4] = 0.1$ M, $[HCl] = 0.15$ M, $[Hg^{2+}] = 50$ μ M, $[Sb^{3+}] = 175$ ng L $^{-1}$, $t_e = 300$ s, $i_s = 3.5$ μ A.

the response was most prominent for stripping currents of less than 2.5 μ A (0.40 μ A $^{-1}$), high residual currents rendered the analytical signal noisy and irreproducible. An oxidation current of 3.5 μ A was therefore selected for Sb(III) quantification.

The influence of electrolysis time (or deposition time) on the signal area was also studied. In accordance with theory, Fig. 5 shows a linear between 30 s and 20 min. The electrolysis time to be chosen would, therefore, be a function of the quantity of antimony present in the sample.

3.3. Validation of the method

Validation of the method was carried out under the optimum conditions retained: $[HCl] = 0.15$ M; $[N_2H_4] = 0.1$ M; $E_e = -450$ mV and $i_s = +3.5$ μ A. Reproducibility was tested through five repetitive analysis of a coastal seawater sample. This sample was filtered on a 0.45- μ m filter and spiked with Sb(III) at 170 ng L $^{-1}$. The obtained mean $\pm$ s.d. value was 176 ± 18 ng L $^{-1}$ (1.4 ± 0.2 nM) that gives a 6% reproducibility. Repeatability, estimated over six repeated

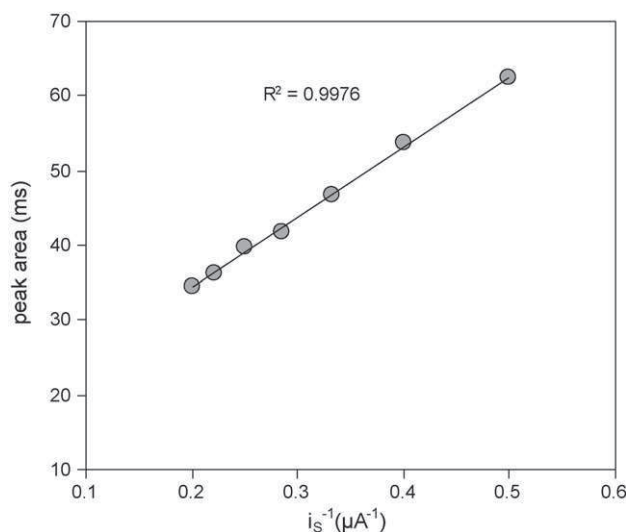


Fig. 4. Influence of stripping current on Sb(III) stripping signal. Seawater sample with $[N_2H_4] = 0.1$ M, $[HCl] = 0.15$ M, $[Hg^{2+}] = 50$ μ M, $[Sb^{3+}] = 175$ ng L $^{-1}$, $E_e = -450$ mV, $t_e = 300$ s.

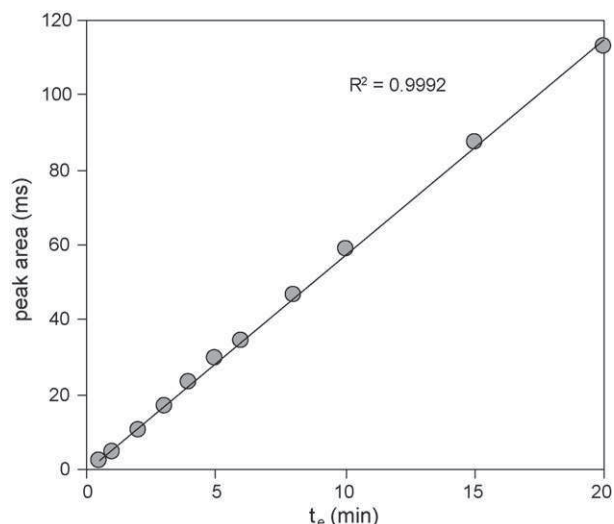


Fig. 5. Influence of electrolysis time on Sb(III) stripping signal. Seawater sample with $[N_2H_4] = 0.1$ M, $[HCl] = 0.15$ M, $[Hg^{2+}] = 50$ μ M, $[Sb^{3+}] = 175$ ng L $^{-1}$, $E_e = -450$ mV, $i_s = 3.5$ μ A.

electrolysis-stripping cycles conducted on the same sample, was 8%. The method sensitivity was given by the slope of the standard addition calibration plot. It was evaluated on a coastal sweater sample containing approximately 17 ng L $^{-1}$ Sb(III). The obtained sensitivity was 360 ms L μ g $^{-1}$ using an electrolysis time of 15 min (Fig. 6). Assessment of the detection limit at the 3σ level was conducted from six consecutive electrolysis-stripping cycles [43], for a seawater sample containing about 17 ng L $^{-1}$. Using the method sensitivity (360 ms L μ g $^{-1}$), the achieved detection limit was 8 ng L $^{-1}$ (70 pM) for a 15-min electrolysis time.

3.4. Analysis in the presence of copper

A problem in determining antimony with mercury electrodes is the potential overlap from the copper stripping peak [19,36]. This interference is particularly serious for coastal seawater samples because copper levels are 20- to 50-fold higher than that of Sb. In order to solve this problem, a double electrolysis potential (-450 mV and -250 mV) has been tested. It consists of several 21-s cycles so that Sb and Cu are both concentrated at the working electrode during electrolysis at -450 mV (20-s duration), then, at -250 mV (1-s duration) Sb is still concentrated whereas Cu is oxidised and leaves the mercury film electrode. According to our experience on double electrolysis potentials [31], a frequent removal (short cycles) of the interferent is necessary. Otherwise, a rapid saturation of the electrodes would occur. For a 15-min deposition step, 43 cycles of 21 s are programmed. Fig. 7 illustrates the analysis of an estuarine sample with (i) the application of a classic single electrolysis potential and (ii) the use of a double electrolysis potential. Under the second option, the copper signal is clearly removed and the antimony signal is better defined. This solution allows determining antimony independently from the Cu level in the sample.

3.5. A comparative study with other electrochemical methods for Sb measurement in seawater

Table 1 summarizes the characteristics and performances of the electrochemical methods for Sb(III) determination in seawater. Five voltammetric techniques and one chronopotentiometric technique have been previously reported. In some of them (e.g. [19,25]), detection limits are too high to measure with precision the concen-

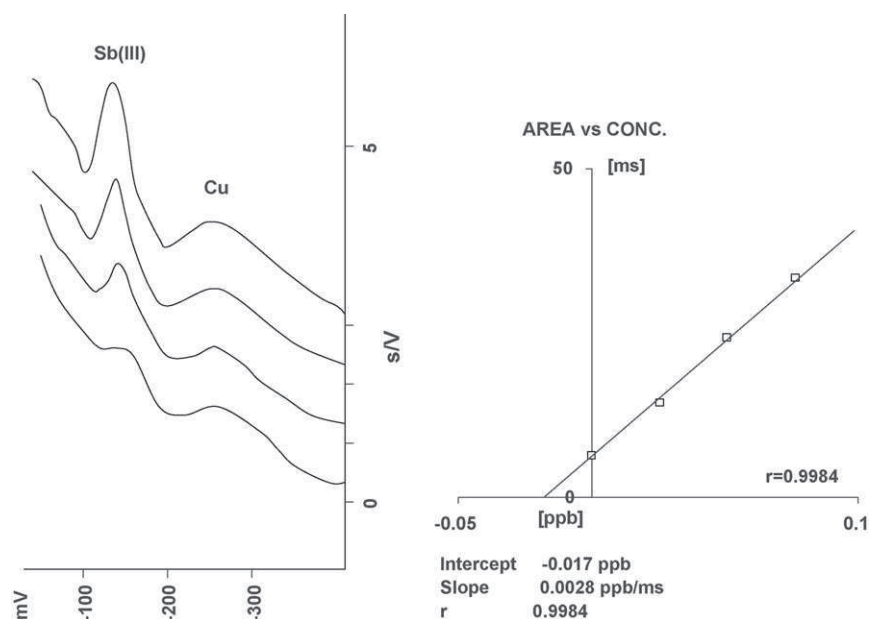


Fig. 6. Sb(III) measurement in a coastal seawater sample ($[N_2H_4] = 0.1$ M, $[HCl] = 0.15$ M, $[Hg^{2+}] = 50$ μ M, $t_e = 15$ min, $E_e = -450$ mV, $i_s = 3.5$ μ A).

Table 1

Data on electrochemical stripping-based methods that provide Sb(III) measurements in seawater.

Reference	Stripping technique/working electrode	Chemical media	Electrolysis time (s)	Detection Limit (nM)
Gilbert and Hume [44]	DPASV/MFE	4 M HCl	600	0.1
Gillain et al. [19]	DPASV/HMDE	0.1 M HCl, 2 M NaCl	900	0.4
Capodoglio et al. [20]	AdCSV/HMDE	2 mM catechol, pH 6	180	0.2
Quentel and Fillela [7]	DPASV/HMDE	0.5 M HCl, 0.5 M NaCl	600	0.09
Dominguez et al. [25]	DPASV/SPMFE	3 M HCl	720	12
Zong and Nagaosa [45]	SWCSV/BFE	0.1 M HCl, 10 g L ⁻¹ KCl	30	0.02
Adeloju and Young [26]	SCP/MFE	1 M HCl	600	7.5
Huilang et al. [36]	SCP/GFE	Electrolysis: 0.1 M HCl, 0.01 M Fe(II), stripping: 4 M HCl	600	0.3
This study	SCP/MFE	0.15 M HCl, 0.1 M N ₂ H ₄	900	0.07

DPASV: differential pulse anodic stripping voltammetry, AdCSV: adsorptive cathodic stripping voltammetry, SWCSV: square wave cathodic stripping voltammetry, SCP: stripping chronopotentiometry, MFE: mercury film electrode, HMDE: hanging mercury drop electrode, BFE: bismuth film electrode, GFE: gold film electrode, SPMFE: screen printed mercury film electrode.

trations encountered in marine ecosystems whereas in others (e.g. [44]), the HCl concentration used is particularly high which can prevent the routine use of these techniques. The most performing voltammetric methods are the ones developed by Capodoglio et al. [20] and Quentel and Fillela [7]. Recently, Zong and Nagaosa [45] developed a very sensitive method with a bismuth film electrode. This latter method is of particular interest in the context of the problematic use of mercury.

By comparison with Adeloju and Young [26] and Huilang et al. [36] procedures, which are the only chronopotentiometric methods reported for Sb determination in seawater, our method is preferable in some respects: it is more sensitive and does not need to use a medium exchange procedure before the stripping step.

3.6. Application study

The developed method was applied in order to study the distribution of Sb(III) in the Penzé estuary (Morlaix Bay, NW France). Sb(III) varied from 0.07 to 0.99 nM in the salinity range 13–35 and was not detected at lower salinities (Table 2). Thus, Sb(III) exhibits a non-conservative behaviour with a strong positive deviation from linearity indicative of an important enrichment that occurred in the downstream part of the estuary.

Sb(III) levels in the Penzé estuary are close to those previously found for various marine systems. As examples, Sb(III) was measured at values in the range 0.04–0.32 nM for the North Sea [46], 0.03–0.18 nM for the Atlantic Ocean [47] and 0.8–1.6 nM for the Kua Bay [48]. By comparison with the pristine Ochlockonee estuary [49,50], which is, to our knowledge, the only estuarine system

Table 2

Sb(III), DOC and refractory organic carbon concentrations in the Penzé estuary.

Salinity	Sb(III) (nM)	DOC (mg L ⁻¹)	Refractory organic carbon (mg L ⁻¹)
0.0	nd	2.4	2.07
1.1	nd		1.03
2.3	nd	2.4	1.24
2.9	nd		1.14
5.3	nd	1.7	0.95
7.5	nd		1.05
10.5	nd	1.6	1.61
12.9	0.65		0.81
17.6	0.70	1.4	0.84
20.5	0.77		0.67
27.0	0.99	1.3	0.43
34.6	0.07	0.9	0.17

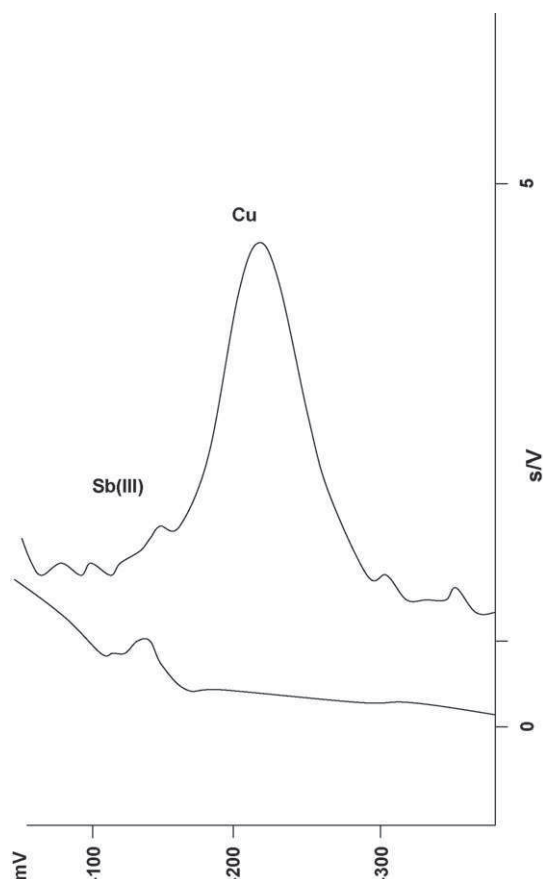


Fig. 7. Sb(III) measurement under application of (i) a single electrolysis potential (-450 mV) and (ii) a double electrolysis potential (-450 mV and -250 mV). Other parameters are the same as for Fig. 6.

where Sb(III) was previously measured (concentrations in the range 0.02 – 0.09 nM and a conservative behaviour), our system exhibited higher values.

Apart from the Andreae study [50] on the Ochlockonee estuary, the few studies that have dealt with Sb behaviour in estuaries [21,51–54] only reported total dissolved Sb concentrations. Sb behaviours in these estuaries were either conservative (e.g. St. Mary's and Satilla systems [53]) or non-conservative with Sb inputs to the water column. In the Tejo [51] and Tama [53] estuaries, anthropogenic inputs were at the origin of the positive deviation observed. In others systems (e.g. Geum, Savannah [53], Bravona [54]), inputs from sediment were responsible for Sb deviations. Because mineralisation of Sb in sediments can lead to a large release of Sb(III) in interstitial waters [50,55], this process and the remobilisation of this species to the water column should explain the Sb(III) deviation in the Penzé estuary.

The non-detection of Sb(III) in low-salinity estuarine samples should ensue from the complexation of Sb with organics. Organics could be present at levels sufficiently high to complex all Sb(III). The shape of the curves obtained in the standard addition of Sb(III) in these samples (e.g. at $S = 7$, Fig. 8) could support this hypothesis. These organic compounds could correspond to species that are not affected by acidification at pH 1 (i.e. fulvic substances). As a matter of fact, refractory organic carbon in these samples was above 1.0 mgCL $^{-1}$ and represented more than 50% of the DOC (Table 2). Sb-organic complexes are assumed to be present in natural waters but have never been detected before because of the lack of sensitivity of the current techniques [9].

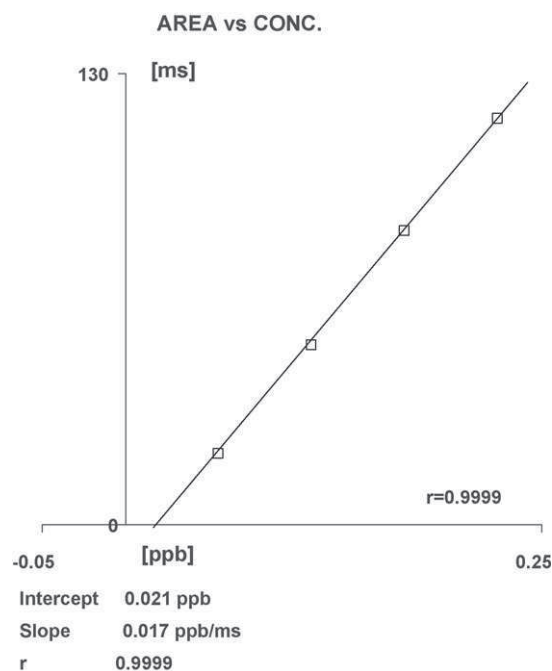


Fig. 8. Sb(III) standard additions in a sample from the Penzé estuary (Salinity = 7, $[N_2H_4] = 0.1$ M, $[HCl] = 0.15$ M, $[Hg^{2+}] = 50$ μ M, $t_e = 20$ min, $E_e = -450$ mV and -250 mV, $i_s = 3.5$ μ A).

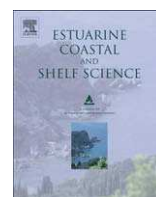
4. Conclusion

We have established a stripping chronopotentiometric (SCP) method with a rotating mercury film electrode for the determination of antimony(III) in seawater. The accomplished detection limit is 0.07 nM (8 ngL $^{-1}$) for a 15-min deposition time. These characteristics are better than those obtained with the other chronopotentiometric methods available for natural waters; they are similar to those obtained by the most sensitive voltammetric methods. Moreover, the described procedure involves a supporting electrolyte less rich/acidic than most of the electrochemical methods reported for Sb measurement in seawater. By using a double electrolysis potential, low amounts of Sb(III) can be determined independently from sample Cu levels. This method had been successfully applied to the study of dissolved Sb(III) in an macrotidal estuary.

References

- [1] United States Environmental Protection Agency, Water Related Fate of the 129 Priority Pollutants, vol. 1, USEPA, Washington, DC, USA, EP-440/4-79-029A, 1979.
- [2] Council of the European Union, Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption, Off. J. L330, 321 (1998) 32.
- [3] M. Fillela, N. Belzile, Y.-W. Chen, Earth-Sci. Rev. 59 (2002) 265.
- [4] O. Dominguez-Renedo, M.J. Gomez Gonzalez, M.J. Arcos Martinez, Sensors 9 (2009) 219.
- [5] D.S.T. Hjortenkran, B.G. Bergbäck, A.V. Häggerud, Environ. Sci. Technol. 41 (2007) 5224.
- [6] M.J. Ellwood, W.A. Maher, Deep Sea Res. I: Oceanogr. Res. Pap. 49 (2002) 1971.
- [7] F. Quentel, M. Fillela, Anal. Chim. Acta 452 (2002) 237.
- [8] F.-Y. Zheng, S.-H. Qian, S.-X. Li, X.-Q. Huang, L.-X. Lin, Anal. Sci. 22 (2006) 1319.
- [9] M. Fillela, P.A. Williams, N. Belzile, Environ. Chem. 6 (2009) 95.
- [10] H. Huang, S.C. Shu, J.H. Shih, C.J. Kuo, I.D. Chiu, Toxicology 129 (1998) 113.
- [11] D. Cavallo, I. Iavicoli, A. Setini, A. Marinaccio, B. Perniconi, G. Carelli, S. Iavicoli, Environ. Mol. Mutagen. 40 (2002) 184.
- [12] M.J. Nash, J.E. Maskall, S.J. Hill, J. Environ. Monit. 2 (2000) 97.
- [13] T.-L. Deng, Y.-W. Chen, N. Belzile, Anal. Chim. Acta 432 (2001) 293.
- [14] L. Abranko, Z. Stefanka, P. Fodor, Anal. Chim. Acta 493 (2003) 13.
- [15] J.-Y. Cabon, C.L. Madec, Anal. Chim. Acta 504 (2004) 209.
- [16] T. Zoltan, Z. Benzo, M.M.E. Marcano, C. Gomez, J. Salas, M. Quintal, Anal. Bioanal. Chem. 382 (2005) 1419.

- [17] Z. Fan, *Microchim. Acta* 152 (2005) 29.
- [18] A. Erdem, A.-E. Eroglu, *Talanta* 68 (2005) 86.
- [19] G. Gillain, G. Duyckaerts, A. Disteché, *Anal. Chim. Acta* 106 (1979) 23.
- [20] G. Capodoglio, C.M.G. van den Berg, G. Scarponi, *J. Electroanal. Chem.* 235 (1987) 275.
- [21] C.M.G. van den Berg, S.H. Khan, P.J. Day, J.P. Riley, D.R. Turner, *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 33 (1991) 309.
- [22] A.M. Bond, S. Kratsis, O. Michael, G. Newman, *Anal. Chim. Acta* 372 (1998) 307.
- [23] H. Guo, Y. Li, X. Chen, L. Nie, N. He, *Sensors* 5 (2005) 284.
- [24] O. Domínguez Renedo, M.J. Arcos Martínez, *Anal. Chim. Acta* 589 (2007) 255.
- [25] O. Domínguez Renedo, M.J. Gomez Gonzalez, M.J. Arcos Martínez, *Sensors* 9 (2009) 219.
- [26] S.B. Adeloju, T.M. Young, *Anal. Chim. Acta* 302 (1995) 225.
- [27] S.B. Adeloju, T.M. Young, D. Jagner, G.E. Batley, *Analyst* 123 (1998) 1971.
- [28] N. Serrano, J.M. Díaz Cruz, C. Ariño, M. Esteban, *Electroanalysis* 19 (2007) 2039.
- [29] V. Silva Santos, W. Rodrigues Santos, L.T. Kubota, C.R. Teixeira Tarley, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 50 (2009) 151.
- [30] R.D. Riso, M. Waeles, S. Garbarino, P. Le Corre, *Anal. Bioanal. Chem.* 379 (2004) 1113.
- [31] R.D. Riso, M. Waeles, B. Pernet-Coudrier, P. Le Corre, *Anal. Bioanal. Chem.* 385 (2006) 76.
- [32] J. Vandenhecke, M. Waeles, R.D. Riso, P. Le Corre, *Anal. Bioanal. Chem.* 388 (2007) 929.
- [33] H. Eskinsson, C. Haraldsson, D. Jagner, *Anal. Chim. Acta* 175 (1985) 79.
- [34] P. Salaun, B. Planer-Friedrich, C.M.G. van den Berg, *Anal. Chim. Acta* 585 (2007) 312.
- [35] J. Wang, N. Foster, S. Armalis, D. Larson, A. Zirino, K. Olsen, *Anal. Chim. Acta* 310 (1995) 223.
- [36] H. Huiliang, D. Jagner, L. Renman, *Anal. Chim. Acta* 202 (1987) 123.
- [37] M.D. MacKinnon, *Mar. Chem.* 7 (1978) 17.
- [38] F. Quentel, C. Madec, A. Lebihan, J. Courtot-Coupez, *Anal. Lett.* 19 (1986) 325.
- [39] P.A. Waller, W.F. Pickering, *Talanta* 42 (1995) 197.
- [40] M.M. Ghoneim, A.M. Hassaneim, E. Hammam, A.M. Beltagi, *Fresenius J. Anal. Chem.* 367 (2000) 378.
- [41] R.D. Riso, M. Waeles, P. Monbet, C.J. Chaumery, *Anal. Chim. Acta* 410 (2000) 97.
- [42] C. Hua, D. Jagner, L. Renman, *Anal. Chim. Acta* 197 (1987) 257.
- [43] L. Anderson, D. Jagner, M. Josefson, *Anal. Chem.* 54 (1982) 1371.
- [44] T.R. Gilbert, D.N. Hume, *Anal. Chim. Acta* 65 (1973) 451.
- [45] P. Zong, Y. Nagaosa, *Microchim. Acta* 166 (2009) 139.
- [46] G. Gillain, C. Brihay, A routine speciation method for a pollution survey of coastal sea water, *Oceanol. Acta* 8 (1985) 231–235.
- [47] J.J. Middelburg, D. Hoede, H.A. Van Der Sloot, C.H. Van Der Weijden, J. Wijkstra, Arsenic, antimony and vanadium in the North Atlantic Ocean, *Geochim. Cosmochim. Acta* 52 (1988) 2871–2878.
- [48] C.H. Van der Weijden, G.J. de Lange, J.J. Middelburg, H.A. van der Sloot, D. Hoede, S. Shofiyah, Geochemical characteristics of Kau Bay water, *Neth. J. Sea Res.* 24 (1989) 583–589.
- [49] M.O. Andreae, J.F. Asmode, P. Foster, L. Van't dack, *Anal. Chem.* 53 (1981) 1766.
- [50] M.O. Andreae, in: C.S. Wong, E. Boyle, K.W. Bruland, J.D. Burton, E.D. Goldberg (Eds.), *Trace Metals in Sea Water*, Plenum, New York, 1983, pp. 1–19.
- [51] M.O. Andreae, J.T. Byrd, P.N. Froehlich Jr., *Environ. Sci. Technol.* 17 (1983) 731.
- [52] H.A. van der Sloot, D. Hoede, J. Wijkstra, J.C. Duinker, R.F. Nolting, *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 21 (1985) 633.
- [53] J.T. Byrd, *Sci. Total Environ.* 97 (1990) 301.
- [54] C. Migon, C. Mori, *Hydrobiology* 392 (1999) 81.
- [55] K.K. Bertine, D.S. Lee, in: C.S. Wong, E. Boyle, K.W. Bruland, J.D. Burton, E.D. Goldberg (Eds.), *Trace Metals in Sea Water*, Plenum, New York, 1983, pp. 21–38.



Behaviour of colloidal trace metals (Cu, Pb and Cd) in estuarine waters: An approach using frontal ultrafiltration (UF) and stripping chronopotentiometric methods (SCP)

Matthieu Waeles^{a,*}, Virginie Tanguy^a, Gaëtane Lespes^b, Ricardo D. Riso^a

^a Laboratoire de Chimie Marine, UBO-IUEM, UPMC, Univ Paris 06, UMR CNRS 7144 Roscoff, Place Nicolas Copernic, Technopôle Brest-Iroise, 29280 Plouzané, France

^b Laboratoire de Chimie Analytique, LCABIE, UMR CNRS 5034, Université de Pau et des Pays de l'Adour, Avenue de l'Université, BP 1155, 64013 Pau, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 16 July 2008

Accepted 6 September 2008

Available online 27 September 2008

Keywords:

trace metals

colloids

estuarine waters

frontal ultrafiltration

stripping chronopotentiometry

ABSTRACT

The frontal cascade ultrafiltration (UF) technique in conjunction with stripping chronopotentiometry (SCP) has been evaluated for determining the colloidal distribution of Cu, Pb and Cd in estuarine waters. Metallic concentrations in seven size fractions (0.45 μm –0.22 μm ; 0.22 μm –300 kDa; 300–50 kDa; 50–30 kDa; 30–10 kDa; 10–5 kDa; <5 kDa) were determined with the aim to investigate their changes along the salinity gradient of the Penzé system (NW France). These data, completed by analysis of the total dissolved metals at 10 stations over the whole freshwater–seawater mixing zone, provided some insights in the removal and addition processes that affect Cu, Pb and Cd in estuaries.

© 2008 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Estuaries are transition zones between freshwaters and seawater where large amounts of trace metals are discharged. Because these areas are characterized by strong hydrodynamic and physico-chemical gradients, metal distributions and fluxes to the marine environment are strongly affected. For example, it has been shown that many elements such as Pb, Fe or Mn are particle reactive (Turner et al., 1992) whereas some others such as Cd undergo desorption from particles (Comans and van Dijk, 1988).

Most of the studies that were conducted in estuarine systems usually dealt with the particulate-dissolved fractionation (0.45 or 0.2 μm) and thus, did not take into account the colloidal fraction. This fraction which is conventionally defined as having, at least, one dimension in the size range 1 nm–1 μm , consists of small particles that are not subject to gravitational forces (Everett, 1988; Buffle and van Leeuwen, 1992). Colloids can be classified in two groups (Filella, 2007): inorganic colloids are composed of clays, metal oxides, metal hydroxides and metal carbonates whereas organic colloids consist of detrital matter (e.g. fulvic and humic acids) and living organisms (algae, bacteria, viruses). Because of their large specific area which exposes a high number of reactive functional groups, colloids can adsorb considerable amounts of trace metals

(Gustafsson and Gschwend, 1997; Lead et al., 1997; Vignati and Dominik, 2003). Thus, they are thought to play a very important role in controlling the speciation and the cycling of many elements in natural waters (Salomons and Forstner, 1984; Buffle and van Leeuwen, 1992). In particular, they may be responsible for the chemical fractionation which occurs during estuarine mixing and for the downward transport of trace metal in coastal waters (Sanudo-Wilhelmy et al., 1996). Colloids in natural waters can be isolated by a broad range of physico-chemical techniques including ultrafiltration (Tanizaki et al., 1992; Moran and Buesseler, 1993), dialysis (Borg and Andersson, 1984; Holm et al., 1995), gel techniques (Davison and Zhang, 1994), centrifugation (Perret et al., 1994), field flow fractionation (Giddings, 1993) and capillary electrophoresis (Rigol et al., 1994). Among them, ultrafiltration (UF), conducted by frontal or tangential modes, has been widely performed for studying trace metals in freshwaters (Benoit and Rozan, 1999; Dupré et al., 1999), seawater (Sempéré et al., 1994; Ingri et al., 2004; Wen et al., 2006) and estuarine waters (Swarzenski et al., 1995; Muller, 1996). Despite suffering potential artefacts during concentration procedure (Suzumura et al., 1998) that can be reduced by using appropriate filters and filtration conditions (Lead et al., 1997), this low-cost technique is easy to implement and is one of the few separation methods functioning without auxiliary reagents (Burba et al., 1998).

In this study, we report the distributions of colloidal Cu, Pb and Cd in the mixing zone of the Penzé estuary (NW France). This

* Corresponding author.

E-mail address: waeles@univ-brest.fr (M. Waeles).

estuary was selected because it is a low-contaminated system that can be considered as a classical “natural” temperate macrotidal estuary and also considering our knowledge on trace metal behaviours in this system (Waeles et al., 2005a, 2005b; Waeles et al., 2007). An originality of this work resides on examining seven colloidal/dissolved fractions whereas previous studies on estuaries generally considered two or three fractions. The first objective was to evaluate the possibility of using the frontal cascade ultrafiltration technique in conjunction with stripping chronopotentiometry (SCP) for isolating and measuring trace metals in a large number of colloidal fractions. Our aim was also to investigate the changes of the colloidal metal distribution along the salinity gradient.

2. Material and methods

2.1. Sampling

The sampling cruise was conducted along the Penzé estuary at neap tide between the stand of tide and the first flood. The tidal range and the water discharge at the date of sampling (March 3, 2008) were 2.6 m and $2.7 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, respectively. The water samples were collected from a Zodiac inflatable boat at 10 stations between the village of Penzé and a marine station in Morlaix Bay (Fig. 1). The sampling locations were selected with the aim of covering the whole freshwater–seawater mixing zone. Salinity (S) was measured with a WTW ProfiLine LF 197 probe. Sampling was performed at ~0.5 m below the water surface by hand covered with plastic gloves (92 cm, Polysem®) and 500-ml-HDPE-Nalgene® bottles. Within 1 h of sampling, the water samples were brought back to the laboratory and immediately processed by pre-filtration and ultrafiltration.

2.2. Pre-filtration

The water samples were sequentially passed through 0.45- μm Millex-HA (Millipore) and 0.22- μm Nalgene-SFACE syringe filters. After each filtration, an aliquot of 50 ml was acidified at pH 2 (HCl Suprapur, Merck) and stored till further analysis of the <0.45 and

<0.22 μm fractions. The remaining aliquot of the 0.22- μm filtration (~350 ml) was stored in the dark at 6 °C till application of the ultrafiltration method within 3 days (Filella and Buffle, 1993; Chen and Buffle, 1996).

2.3. Ultrafiltration

2.3.1. Method principle

Isolation of colloidal matter by ultrafiltration can be conducted either using cross-flow or frontal filtration (Buffle and Leppard, 1995). Since cross-flow requires large-volume samples (10–1000 L, Guéguen et al., 2002), we selected frontal filtration for its easy handling. Frontal filtration was carried out in cascade (sequential) way as recommended by Lead et al. (1997) and Buffle and van Leeuwen (1992) because this method, contrarily to the parallel one, minimizes aggregation of colloids at the membrane surface. We also used the concentration mode rather than the diafiltration mode (Buffle, 1988). According to Wen et al. (1996), the washing process required in diafiltration for maintaining a constant volume in the filtration cell can cause losses for many trace elements and DOC, which are associated with macromolecules of molecular weights equal to or smaller than the nominal molecular weight cut-off of the membrane. By using the concentration mode, a pressure is applied to push the sample to be filtered through the membrane. In order to minimize artefacts caused by coagulation of colloids at the membrane surface (Perret et al., 1994), small concentration factors (3–13), and flow rates ($1.5\text{--}4.5 \text{ ml min}^{-1}$) were used for this study. In addition, a stirring over the membrane was also applied for reducing concentration polarization effect due to the densification of macromolecules at the membrane surface (Burba et al., 1998).

2.3.2. Sequential ultrafiltration processing

Sequential ultrafiltration from the <0.22- μm fraction was conducted using a 8200-Amicon®-stirred cell with 5 types of membrane. Nominal sizes of the membranes were 300, 50, 30, 10 (polyether sulphone, Biomax PB, Millipore) and 5 kDa (regenerated cellulose, Ultracel PL, Millipore). Samples were pushed through

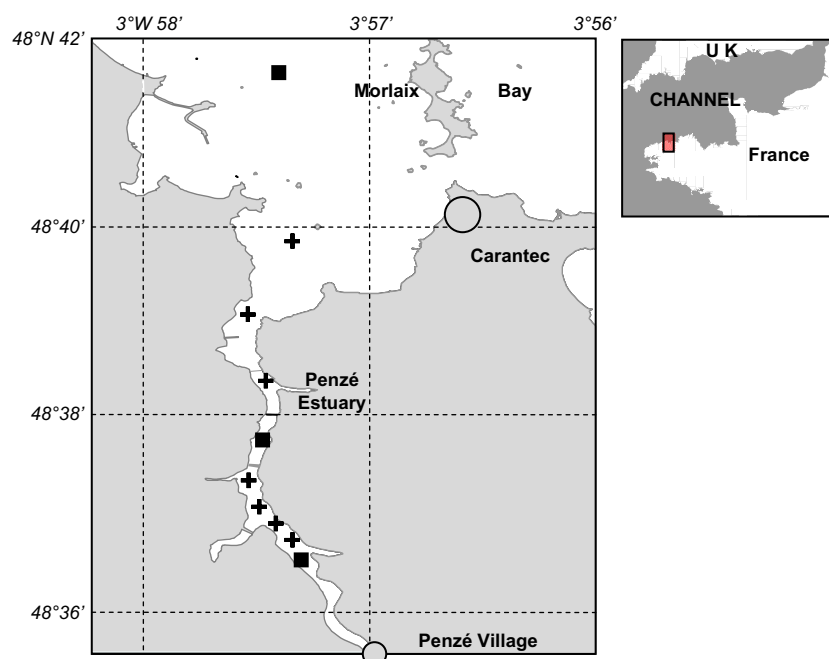


Fig. 1. Study area and location of the sampling stations. Squares indicate stations where analyses of the various colloidal fractions were carried out. Crosses correspond to stations where only total dissolved metals were measured.

membranes using N₂ at a pressure varying from 0.4 to 1.8 bar according to filter nominal size and sample salinity. From each permeate acidified at pH 2 with HCl, trace metals were analysed by electrochemical methods. Fig. 2 summarizes the whole filtration/ultrafiltration protocol. Metal concentrations in the various size fractions were obtained by difference from analyses of the various permeates and by applying concentration factors. The concentration factors were calculated from each filtration by dividing the total volume processed by the retentate volume. It is worth noting that few permeates contained metal at levels lower than the detection limits of the analytical methods.

Prior to use all the membranes were washed and stood in Milli-Q RG® water for 24 h, then in diluted nitric acid (pH 1, HNO₃ Suprapur®, Merck) for 24 h, and finally rinsed several times and soaked in Milli-Q water during the last 72 h. After being used, they were immersed in 0.1 M NaOH (Traceselect, Fluka) for 30 min, then washed and stood in Milli-Q water for 24 h before their storage at 6 °C in ethanol/water (10:90) mixtures. Before sample set processing, the Amicon cell was abundantly washed with Milli-Q water, soaked in Milli-Q water for 2 days and in diluted nitric acid (pH 3) for 24 h. Then it was rinsed and stood in Milli-Q water for

3 days. All sample manipulations and analyses were performed under a class 100 laminar flow hood.

2.4. Trace metal analyses

The various isolated fractions were determined for their content in trace metals by means of a stripping chronopotentiometric (SCP) technique, i.e. constant current stripping analysis (CCSA). This method was selected for its low detection thresholds and because it is particularly well-suited for saline and organic-rich waters (Waeles et al., 2005b). Moreover, the reagent requirement is minimal thus preventing contamination of the sample. Cd and Pb were analysed by means of a mercury film electrode (Riso et al., 1997b) whereas Cu was assessed by using a gold disk electrode (Riso et al., 1997a). Analyses were made by spiking each sample three times with standards. Table 1 summarizes the experimental electrochemical conditions together with precisions, reproducibilities and detection limits. Results from certified reference material analyses are also shown in the table.

3. Results and discussion

According to previous studies (e.g. Dai et al., 1995), we refer to different size fractions as follows. “Total dissolved (TD) metal” indicates the fraction that passes through the 0.45-μm membrane, “colloidal metal” corresponds to the 5 kDa–0.45 μm fraction whereas “truly dissolved metal” refers to the <5 kDa fraction. Before examining the results, the method recovery was tested by comparing the sum of concentrations of all fractions under 0.22 μm to the concentration determined in the <0.22-μm fraction. The recoveries obtained from the measurements at salinity 0, 10 and 34 were satisfactory with values of 112 ± 5% (n = 3), 100 ± 10% (n = 3) and 101 ± 15% (n = 3) for Cu, Pb and Cd respectively.

3.1. Importance of the colloidal fraction

3.1.1. Copper

A preliminary examination of the results was carried out by comparing the contributions of both the colloidal fractions and the truly dissolved to that of total dissolved metal. Concentrations of copper associated with colloids were in the range 2.14–2.86 nM whereas truly dissolved metal levels varied from 0.13 to 0.27 nM. Dissolved copper was thus mainly found in the Penzé estuary as colloidal forms which represented 94 ± 1% of TDCu. A further analysis of the metal repartition (Fig. 3) shows that the 0.22 μm–300 kDa fraction dominated the speciation of copper. This fraction corresponded to 55 ± 23% of the total dissolved metal. One should note that the 0.45–0.22 μm and the low-molecular-weight fractions

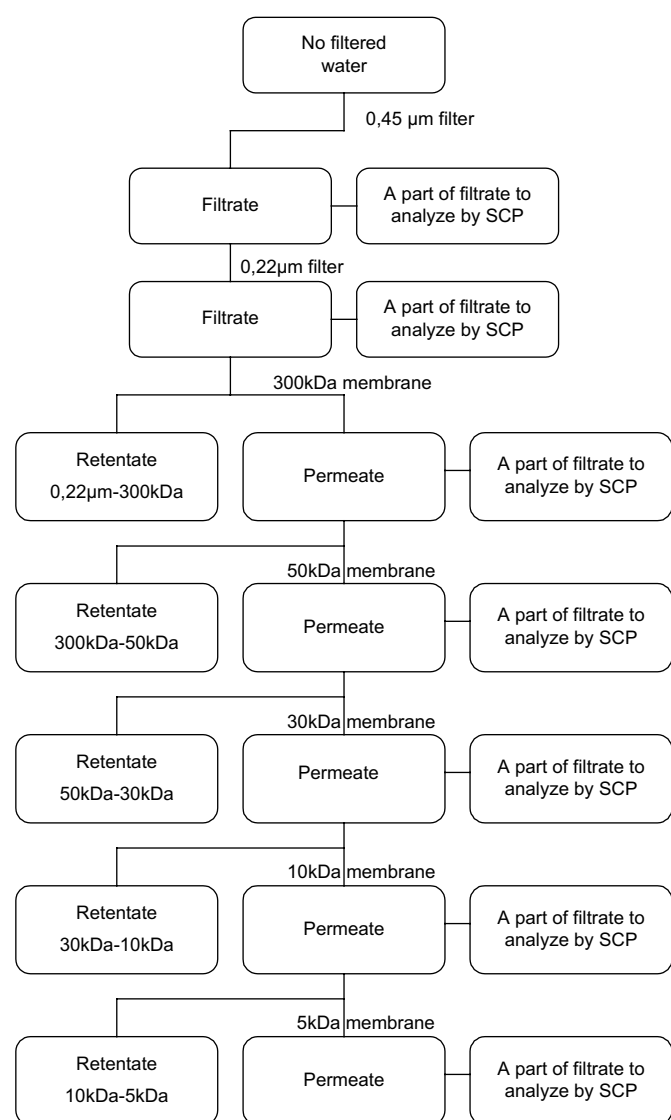


Fig. 2. Filtration and ultrafiltration protocol.

Table 1
Electrochemical conditions of SCP measurements

	Pb	Cd	Cu
Working electrode	Mercury film (5 mm)	Mercury film (5 mm)	Gold disc (5 mm)
Deposition potential vs. Ag/AgCl	–1200 mV	–1200 mV	–400 mV
Angular velocity	4130 rpm	4130 rpm	4130 rpm
Deposition time	10–25 min ^a	10–25 min ^a	15 min
Stripping current	0.5 μA	0.5 μA	3 μA
Reproducibility (n = 9)	5% (at 0.19 nM)	4% (at 0.12 nM)	2% (at 3.1 nM)
NASS 4 analysis (μg L ^{–1})	13 ± 2	19 ± 1	223 ± 10
NASS 4 certified value (μg L ^{–1})	13 ± 5	16 ± 3	228 ± 11
Detection limits	2 pM (25 min)	9 pM (25 min)	0.05 nM (15 min)

^a According to sample concentration.

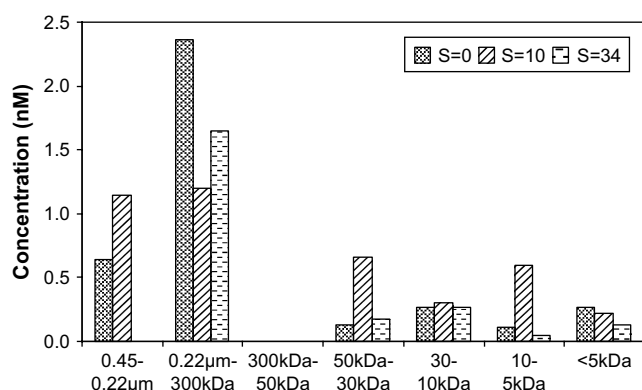


Fig. 3. Cu distribution in the various size fractions at salinity 0, 10 and 34.

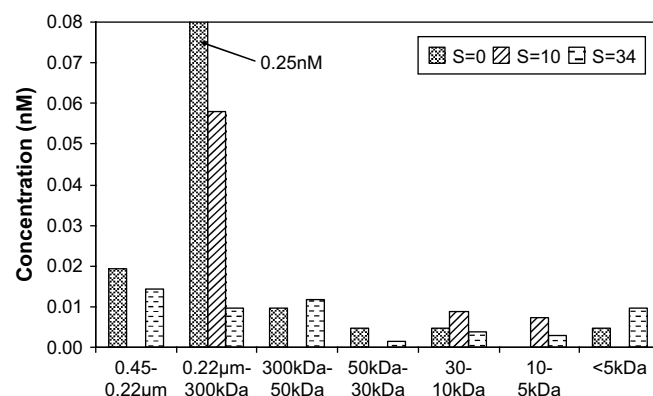


Fig. 4. Pb distribution in the various size fractions at salinity 0, 10 and 34.

(<50 kDa) were not negligible within the system of concern but dissolved copper in the 300–50 kDa fraction was not detected.

Copper is known to be mainly associated with organic ligands in estuarine waters (Donat et al., 1994; Baeyens et al., 1998; Shank et al., 2004) and its size distribution should thus result from the competition between high- and low-molecular-weight ligands (Dai and Martin, 1995). On one hand, the studies by Wells et al. (1998) in the Narangasset bay and Muller (1996) in estuarine and coastal waters of central southern England have shown that most of the Cu complexation ligands are present in the low-molecular-weight range of organic matter. On the other hand, the study by Tang et al. (2001) in the Galveston Bay evidenced a much stronger Cu complexation with organic colloidal macromolecules compared to the one with ultrapermeate complexes. When considering the importance of colloidal copper in various estuarine systems, disparate results were also obtained. In the Danube estuary (Guieu et al., 1998), the colloidal fraction (>10 kDa) accounted for only 10–40% of the total dissolved metal. In the Ob estuary (Dai and Martin, 1995), Cu occurred mainly as colloids (>10 kDa) with concentrations in this fraction (20–25 nM) twice higher than in the truly dissolved one (9–11 nM). These differences should thus be related to the nature of organic matter within the systems of concern. In the Penzé estuary, our results indicate that Cu was much more associated with colloidal macromolecules. The macromolecular ligands in the size range 0.22 µm–300 kDa could be refractory humic aggregates or newly released high-molecular-weight intracellular biomolecules such as proteins and peptidoglycans, or extracellular polysaccharides (Kaplan et al., 1987; Lee et al., 1996; Hung et al., 2001; Lead and Wilkinson, 2006). Colloidal organic ligands in the <50 kDa fraction could correspond to humic/fulvic compounds or newly realised peptides (e.g. phytochelatin) (Kawakami et al., 2006; Lead and Wilkinson, 2006).

3.1.2. Lead

Colloidal concentrations of lead showed values in the range 0.03–0.27 nM; these values being higher than the ones encountered in the truly dissolved fraction. As for copper, lead was mainly found as colloidal compounds ($91 \pm 14\%$) and the 0.22 µm–300 kDa fraction dominated its distribution in the total dissolved pool (Fig. 4). This latter observation is particularly evident at zero salinity where Pb was measured at 0.25 nM in the fraction of concern.

The strong association of Pb with colloids in estuaries (as opposed to its low truly dissolved fraction) was also observed in previous studies. As examples, colloidal Pb accounted for most (up to 94%) of the total dissolved metal in the Venice Lagoon (Martin et al., 1995) and the colloidal concentration of Pb in the Galveston bay was almost the same as the Pb content in the total dissolved

pool (Benoit et al., 1994). Because Fe and Pb are generally well correlated in estuarine systems it has been suggested that colloidal/SPM iron oxides (or sulphides) act as the principal adsorbent/carrier phase for Pb (Luoma and Davis, 1983; Luoma, 1989; Tessier, 1992). Our data in the Penzé estuary are consistent with this interpretation since Pb appeared in the high molecular weight fraction where Fe hydroxides are generally observed (Wen et al., 1999). Moreover, a strong correlation between TDPb and TDFe ($\text{TDFe} = 701\text{TDPb} + 71$, $R^2 = 0.33$, $p < 0.01$, $n = 72$) has been previously observed by Waeles et al. (2007) in the Penzé, confirming the close relationship between these two metals.

3.1.3. Cadmium

Cadmium concentrations in the colloidal fraction varied from 0.07 to 0.30 nM whereas truly dissolved metal were in the range 0.01–0.07 nM. As for Cu and Pb, dissolved Cd was mainly associated with colloids despite a lower contribution of the colloidal fraction ($82 \pm 9\%$). The Cd distribution in the various fractions (Fig. 5) diverged from Cu and Pb ones. This metal was more associated with low-molecular-weight colloids (i.e. <300 kDa).

When comparing our Cd data to that of other estuarine systems, lower colloidal Cd contributions were generally observed elsewhere. In the Ochlockonne estuary, Powell et al. (1996) reported a Cd colloidal fraction which accounted for fewer than 50% of the total dissolved metal. In the Venice Lagoon, a 34% ratio was found by Martin et al. (1995). One of the lowest colloidal Cd contribution was detected in the Seine estuary (Chiffolleau et al., 2001) with a 5–10% ratio along the whole salinity gradient. Such low ratios can be explained by the speciation of Cd which is generally dominated in estuaries by stable and soluble chlorocomplexes (Comans and van

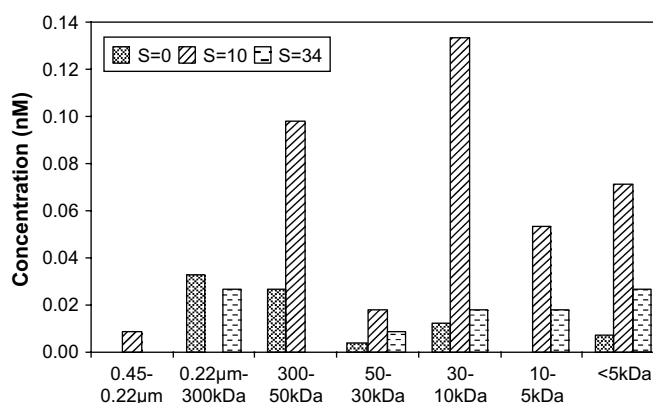


Fig. 5. Cd distribution in the various size fractions at salinity 0, 10 and 34.

Dijk, 1988; Dai et al., 1995). However, in certain systems, it has been pointed out that organic metal complexing ligands can exert a significant control of the Cd speciation as illustrated by the Narragansett bay example (Kozelka and Bruland, 1998; Wells et al., 1998) where organic complexes constituted roughly 70–80% of the total dissolved Cd. In the Penzé estuary, the study by Waeles et al. (2005a), also reported a high contribution of the organic–Cd complexes, this contribution being particularly important in winter which corresponds to our period of sampling (early March). Although being unknown, these binding colloidal ligands can have a significant impact on the Cd size distribution according to their nature, source and concentration that may vary substantially among different coastal waters (Muller, 1996). As an example, these organic molecules resided predominantly in the soluble phase in the Narragansett Bay (Wells et al., 1998). On the contrary, our results indicated that they consist of low-molecular-weight colloids in the Penzé estuary.

3.2. Size distribution variations along the salinity gradient

3.2.1. Copper

Before examining the distribution variations of the various fractions, it is instructive to analyse the total dissolved metal behaviour over the whole salinity gradient. Fig. 6a indicates that TDCu had a clear non-conservative behaviour, although deviations from linearity are not very important. At first, a negative deviation is observed, with a decrease in concentrations from 4.5 to 3.3 nM in the salinity range 0–3, which highlights a removal of TDCu. Then, it is followed by a positive deviation, with a rise in concentrations (of approximately 1 nM) until $S = 10$, which is indicative of a dissolved metal addition.

When considering the variations of the Cu size fractionation over the salinity gradient (Fig. 3), the dominant (300 kDa–0.22 μm) fraction appears to be the one affected by the dissolved metal removal. The decrease in concentrations observed between salinity 0 and 10 for this colloidal fraction is 1.2 nM and corresponds to the one detected for the total dissolved pool. The removal of TDCu may originate from coagulation/flocculation of these large colloids. As a matter of fact, it has been reported that the concentration of strong Cu-binding ligands decreased with increasing salinity in several estuaries (van den Berg et al., 1987; Apte et al., 1990; Tang et al., 2001); this decrease being the result of the macromolecular organic matter removal in the low salinity region where coagulation/flocculation processes are most important (Dai et al., 1995; Powell et al., 1996; Guo and Santschi, 1997; Tang et al., 2001). According to Xue and Sigg (1999) and Shank et al. (2004), these organic ligands are terrestrially derived compounds and could correspond to humic substances.

Two fractions of lower molecular weight (5–10 kDa; 30–50 kDa) and the 0.45–0.22 μm fraction are, on the contrary, enriched from salinity 0 to 10. The enrichment of 0.5 nM for each fraction corresponds approximately to the addition observed for the total dissolved metal. This addition of copper could ensue from different processes: metal desorption from suspended particles (Baeyens et al., 1998) or direct porewater infusion from sediment (Petersen et al., 1995). The study by Skrabal et al. (1997) has suggested that addition of Cu-complexing ligands from the sediment may also result in a metal addition. According to these authors, such benthic fluxes could supply 10–50% of the standing stock of ligands in the water column. Their results using competitive ligand equilibration have also shown that some of these ligands are very strong (with $K' \sim 10^{15}$) and thus can affect the speciation of Cu in the overlying water column. Interestingly, an addition of dissolved Cu with a sedimentary origin has been observed in the San Simon Inlet mixing zone (Santos-Echeandia et al., 2008) which is a Galician system that presents similar characteristics (water flow,

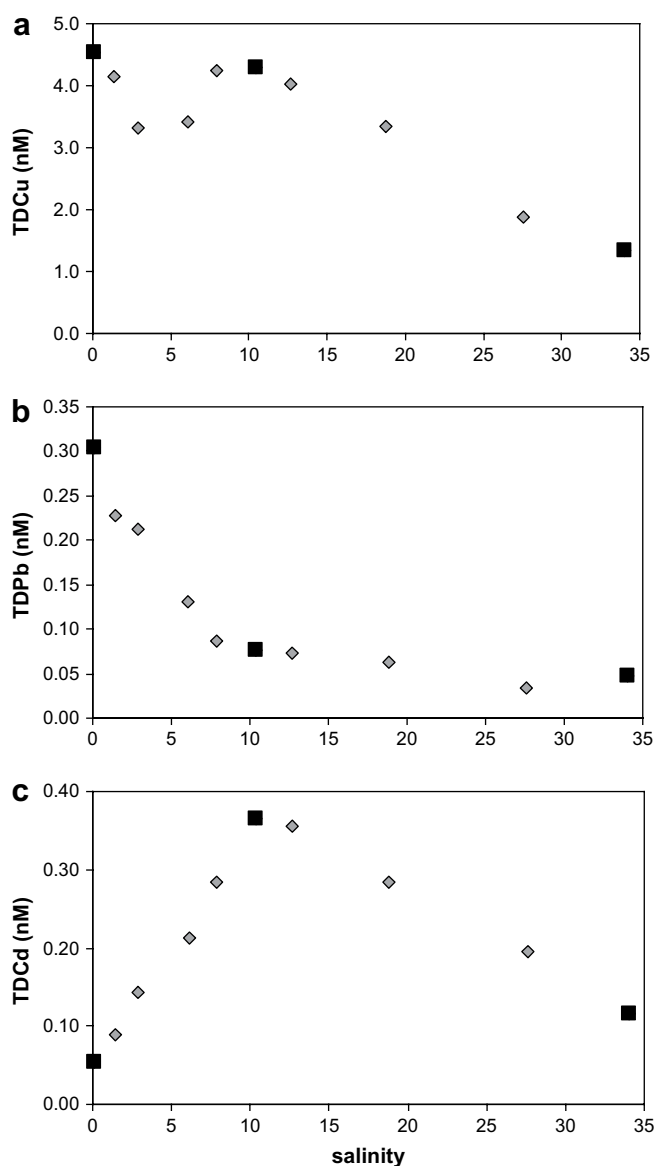


Fig. 6. Total dissolved metal-salinity distribution of (a) Cu, (b) Pb and (c) Cd.

dimensions) to the Penzé estuary. The release of Cu in this system was found as strongly complexed forms.

3.3. Lead

The total dissolved lead-salinity distribution in the Penzé estuary, illustrated in the Fig. 6b, exhibits a non-conservative behaviour for TDPb. A strong negative deviation from linearity is observed with levels of total dissolved metal decreasing from 0.30 to 0.08 nM for salinity between 0 and 10. This anomaly indicates that Pb is intensely removed from the dissolved fraction in the first part of the mixing zone. Our results show that this removal occurred in the colloidal pool and, more particularly, in the 0.22 μm –300 kDa size fraction (Fig. 4). These results are in accordance with the observations of Dai and Martin (1995) who found a decreasing of the colloidal Pb proportion along the salinity gradient of the Ob and Yenisey estuaries. The fact that Pb is mainly associated with iron oxides in our system indicates, as suggested by Benoit et al. (1994) and Wen et al. (1999), that lead behaviour is

controlled to a significant extent, by flocculation of Fe during river–sea mixing.

3.4. Cadmium

Fig. 6c describes the variations of total dissolved Cd along the salinity gradient. TDCd has a non-conservative behaviour with a very strong positive deviation from the theoretical dilution line. The associated rise in concentration is particularly important (from 0.05 to 0.36 nM) and occurred in the salinity range 0–10.

Examination of the Cd-size-fractionation variations with salinity (Fig. 5), indicates that various fractions were enriched during river–sea mixing. The truly dissolved Cd levels increased from 0.01 to 0.08 nM; the low-molecular-colloidal Cd fractions (<300 kDa) were also significantly enhanced.

The addition of dissolved Cd has been observed in most of the estuaries that have been studied and have been attributed to the formation of stable and soluble chlorocomplexes from particle-desorbed cadmium (Comans and van Dijk, 1988). In the Penzé estuary, this process was confirmed in a previous study from measurements of the electrochemical labile metal (Waeles et al., 2005a) and likely occurs here as illustrated by the increase of the truly dissolved fraction. However, these data, according to our previous work on Cd speciation, indicates that low-molecular-Cd-organic complexes can also be formed. These complexes can originate from suspended particle desorption or can be introduced in the system following degradation of particulate organic matter within the benthic compartment (Gobeil et al., 1987; Gerringa et al., 1996).

4. Conclusion

Over this study, frontal cascade ultrafiltration and stripping chronopotentiometry have proved their efficiency to separate and analyse the various colloidal fractions of trace metals in estuarine waters. Our results on the Penzé system have shown that dissolved Cu and Pb were mainly associated with high-molecular-weight colloids in the size range 0.22 μm –300 kDa whereas Cd appeared in the low-molecular-weight fractions (<300 kDa). Examination of the size-fractionation variations along the salinity gradient provided some insights in the processes that affect trace metals during their transport from river to seawater in this system: (a) the removal of dissolved Cu in the first part of the mixing zone originates from coagulation/flocculation of large organic colloids whereas the addition of this metal at higher salinities is a result of its association with low molecular weight and probably strong organic ligands; (b) the removal of dissolved Pb is controlled by flocculation of Fe hydroxides which act as the principal carrier phase for this metal; and (c) the strong addition of Cd ensues not only from the formation of chlorocomplexes but also to the binding of Cd with low-molecular-weight organic ligands.

References

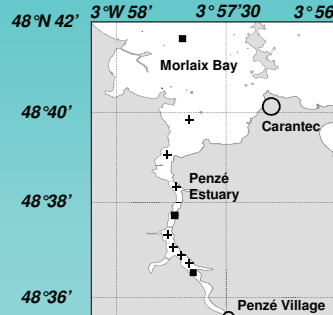
- Apte, S.C., Gardner, M.J., Ravenscroft, J.E., 1990. An investigation of copper complexation in the severn estuary using differential pulse cathodic stripping voltammetry. *Marine Chemistry* 29, 63–75.
- Baeyens, W., Goeyens, L., Monteny, F., Elskens, M., 1998. Effect of organic complexation on the behaviour of dissolved Cd, Cu and Zn in the Scheldt estuary. *Hydrobiologia* 366, 81–90.
- Benoit, G., Rozan, T.F., 1999. The influence of size distribution on the particle concentration effect and trace metal partitioning in rivers. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 63, 113–127.
- Benoit, G., Oktay-Marshall, S.D., Cantu, A., Hood, E.M., Coleman, C.H., Corapcioglu, M.O., Santschi, P.H., 1994. Partitioning of Cu, Pb, Ag, Zn, Fe, Al, and Mn between filter-retained particles, colloids, and solution in six Texas estuaries. *Marine Chemistry* 45, 307–336.
- Borg, H., Andersson, P., 1984. Fractionation of Trace Metals in Acidified Fresh Waters by in situ Dialysis. *Verhandlung Internationale Vereinigung Limnologie* 22, 725–729.
- Buffle, J., 1988. Complexation Reactions in Aquatic Systems. Wiley, Chichester.
- Buffle, J., Leppard, G.G., 1995. Characterization of aquatic colloids and macromolecules. 2. Key role of physical structures on analytical results. *Environmental Science & Technology* 29, 2176–2184.
- Buffle, J., van Leeuwen, H.P., 1992. *Environmental Particles*. Lewis.
- Burba, P., Aster, B., Nifant'eva, T., Shkinev, V., Spivakov, B. Ya., 1998. Membrane filtration studies of aquatic humic substances and their metal species: a concise overview: Part 1. Analytical fractionation by means of sequential-stage ultrafiltration. *Talanta* 45, 977–988.
- Chen, Y.-W., Buffle, J., 1996. Physicochemical and microbial preservation of colloid characteristics of natural water samples. II: Physicochemical and microbial evolution. *Water Research* 30, 2185–2192.
- Chiffolleau, J.-F., Auger, D., Chartier, E., Michel, P., Truquet, I., Ficht, A., Gonzalez, J.-L., Romana, L.-A., 2001. Spatiotemporal changes in cadmium contamination in the Seine estuary (France). *Estuaries and Coasts* 24, 1029–1040.
- Comans, R.N.J., van Dijk, C.P.J., 1988. Role of complexation processes in cadmium mobilization during estuarine mixing. *Nature* 336, 151–154.
- Dai, M.-H., Martin, J.-M., 1995. First data on trace metal level and behaviour in two major Arctic river-estuarine systems (Ob and Yenisey) and in the adjacent Kara Sea, Russia. *Earth and Planetary Science Letters* 131, 127–141.
- Dai, M.-H., Martin, J.-M., Cauwet, G., 1995. The significant role of colloids in the transport and transformation of organic carbon and associated trace metals (Cd, Cu and Ni) in the Rhone delta (France). *Marine Chemistry* 51, 159–175.
- Davison, W., Zhang, H., 1994. In situ speciation measurements of trace components in natural waters using thin-film gels. *Nature* 367, 546–548.
- Donat, J.R., Lao, K.A., Bruland, K.W., 1994. Speciation of dissolved copper and nickel in South San Francisco Bay: a multi-method approach. *Analytica Chimica Acta* 284, 547–571.
- Dupré, B., Viers, J., Dandurand, J.-L., Polve, M., Bénézech, P., Vervier, P., Braun, J.-J., 1999. Major and trace elements associated with colloids in organic-rich river waters: ultrafiltration of natural and spiked solutions. *Chemical Geology* 160, 63–80.
- Everett, D.H., 1988. *Basic Principles of Colloid Science*. Royal Society of Chemistry London.
- Fiella, M., 2007. Colloidal properties of submicron particles in natural waters. In: Wilkinson, K.J., Lead, J.R. (Eds.), *Environmental Colloids and Particles. Behaviour, Separation and Characterisation*, Vol. 10. Wiley, pp. 17–93.
- Fiella, M., Buffle, J., 1993. Factors controlling the stability of submicron colloids in natural waters. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 73, 255–273.
- Gerringa, L.J.A., Poortvliet, T.C.W., Hummel, H., 1996. Comparison of chemical speciation of copper in the Oosterschelde and Westerschelde Estuaries, The Netherlands. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 42, 629–643.
- Giddings, J.C., 1993. Field-flow fractionation: analysis of macromolecular, colloidal, and particulate materials. *Science* 260, 1456–1465.
- Gobeil, C., Silverberg, N., Sundby, B., Cossa, D., 1987. Cadmium diagenesis in Laurentian Trough sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 51, 589–596.
- Guéguen, C., Belin, C., Dominik, J., 2002. Organic colloid separation in contrasting aquatic environments with tangential flow filtration. *Water Research* 36, 1677–1684.
- Guieu, C., Martin, J.-M., Tankere, S.P.C., Mousty, F., Trincherini, P., Bazot, M., Dai, M.H., 1998. On trace metal geochemistry in the Danube River and western Black Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 47, 471–485.
- Guo, L., Santschi, P.H., 1997. Isotopic and elemental characterization of colloidal organic matter from the Chesapeake Bay and Galveston Bay. *Marine Chemistry* 59, 1–15.
- Gustafsson, Ö., Gschwend, P.M., 1997. Aquatic colloids: concepts, definitions, and current challenges. *Limnology Oceanography* 42, 519–528.
- Holm, P.E., Andersen, S., Christensen, T.H., 1995. Speciation of dissolved cadmium: Interpretation of dialysis, ion exchange and computer (GEOCHEM) methods. *Water Research* 29, 803–809.
- Hung, C.-C., Tang, D., Warnken, K.W., Santschi, P.H., 2001. Distributions of carbohydrates, including uronic acids, in estuarine waters of Galveston Bay. *Marine Chemistry* 73, 305–318.
- Ingri, J., Nordling, S., Larsson, J., Ronnegard, J., Nilsson, N., Rodushkin, I., Dahlqvist, R., Andersson, P., Gustafsson, O., 2004. Size distribution of colloidal trace metals and organic carbon during a coastal bloom in the Baltic Sea. *Marine Chemistry* 91, 117–130.
- Kaplan, D., Christiaen, D., Arad(Malis), S., 1987. Chelating properties of extracellular polysaccharides from *Chlorella* spp. *Applied and Environmental Microbiology* 53, 2953–2956.
- Kawakami, S.K., Gledhill, M., Achterberg, E.P., 2006. Production of phytochelatin and glutathione by marine phytoplankton in response to metal stress. *Journal of Phycology* 42, 975–989.
- Kozelka, P.B., Bruland, K.W., 1998. Chemical speciation of dissolved Cu, Zn, Cd, Pb in Narragansett Bay, Rhode Island. *Marine Chemistry* 60, 267–282.
- Lead, J.R., Wilkinson, K.J., 2006. Aquatic colloids and nanoparticles: current knowledge and future trends. *Environmental Chemistry* 3, 159–171.
- Lead, J.R., Davison, W., Hamilton-Taylor, J., Buffle, J., 1997. Characterizing colloidal material in natural waters. *Aquatic Geochemistry* 3, 213–232.
- Lee, J.G., Ahner, B.A., Morel, F.M.M., 1996. Export of cadmium and phytochelatin by the marine diatom *Thalassiosira weissflogii*. *Environmental Science & Technology* 30, 1814–1821.

- Luoma, S.N., 1989. Can we determine the biological availability of sediment-bound trace elements? *Hydrobiologia* 176/177, 379–396.
- Luoma, S.N., Davis, J.A., 1983. Requirements for modeling trace metal partitioning in oxidized estuarine sediments. *Marine Chemistry* 12, 159–181.
- Martin, J.-M., Dai, M.-H., Cauwet, G., 1995. Significance of colloids in biogeochemical cycling of organic carbon and trace metals in the Venice Lagoon (Italy). *Limnology and Oceanography* 40, 119–131.
- Moran, S.B., Buesseler, K.O., 1993. Size-fractionated ^{234}Th in continental shelf waters off New England: Implications for the role of colloids in oceanic trace metal scavenging. *Journal of Marine Research* 51, 893–922.
- Muller, F.L.L., 1996. Interactions of copper, lead and cadmium with the dissolved, colloidal and particulate components of estuarine and coastal waters. *Marine Chemistry* 52, 245–268.
- Perret, D., Newman, M.E., Negre, J.-C., Chen, Y., Buffle, J., 1994. Submicron particles in the rhine river-I. Physico-chemical characterization. *Water Research* 28, 91–106.
- Petersen, W., Wallman, K., Pinglin, L., Schroeder, F., Knauth, H.D., 1995. Exchange of trace elements at the sediment-water interface during early diagenesis processes. *Marine & Freshwater Research* 46, 19–26.
- Powell, R.T., Landing, W.M., Bauer, J.E., 1996. Colloidal trace metals, organic carbon and nitrogen in a southeastern U.S. estuary. *Marine Chemistry* 55, 165–176.
- Rigol, A., Lopez-Sanchez, J.F., Rauret, G., 1994. Capillary zone electrophoresis of humic acids. *Journal of Chromatography A* 664, 301–305.
- Riso, R.D., Monbet, P., Le Corre, P., 1997a. Measurement of copper in sea-water by constant current stripping analysis (CCSA) with a rotating gold disk electrode. *The Analyst* 122, 1593–1596.
- Riso, R.D., Le Corre, P., Chaumery, C.J., 1997b. Rapid and simultaneous analysis of trace metals (Cu, Pb and Cd) in seawater by potentiometric stripping analysis. *Analytica Chimica Acta* 351, 83–89.
- Salomons, W., Forstner, U., 1984. *Metals in the Hydrocycle*. Springer, Berlin Heidelberg New York.
- Santos-Echeandia, J., Laglera, L.M., Prego, R., van den Berg, C.M.G., 2008. Dissolved copper speciation behaviour during estuarine mixing in the San Simon Inlet (wet season, Galicia). Influence of particulate matter. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 76, 447–453.
- Sanudo-Wilhelmy, S.A., Rivera-Duarte, I., Russell Flegal, A., 1996. Distribution of colloidal trace metals in the San Francisco Bay estuary. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 60, 4933–4944.
- Sempéré, R., Cauwet, G., Randon, J., 1994. Ultrafiltration of seawater with a zirconium and aluminum oxide tubular membrane: application to the study of colloidal organic carbon distribution in an estuarine bottom nepheloid layer. *Marine Chemistry* 46, 49–60.
- Shank, G.C., Skrabal, S.A., Whitehead, R.F., Kieber, R.J., 2004. Strong copper complexation in an organic-rich estuary: the importance of allochthonous dissolved organic matter. *Marine Chemistry* 88, 21–39.
- Skrabal, S.A., Donat, J.R., Burdige, D.J., 1997. Fluxes of copper-complexing ligands from estuarine sediments. *Limnology and Oceanography* 42, 992–996.
- Suzumura, M., Ishikawa, K., Ogawa, H., 1998. Characterization of dissolved organic phosphorus in coastal seawater using ultrafiltration and phosphohydrolytic enzymes. *Limnology and Oceanography* 43, 1553–1564.
- Swarzenski, P.W., McKee, B.A., Booth, J.G., 1995. Uranium geochemistry on the Amazon shelf: Chemical phase partitioning and cycling across a salinity gradient. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 59, 7–18.
- Tang, D., Warnken, K.W., Santschi, P.H., 2001. Organic complexation of copper in surface waters of Galveston Bay. *Limnology Oceanography* 46, 321–330.
- Tanizaki, Y., Shimokawa, T., Yamazaki, M., 1992. Physico-chemical speciation of trace elements in urban streams by size fractionation. *Water Research* 26, 55–63.
- Tessier, A., 1992. Sorption of trace elements on natural particles in oxic environments. In: Buffle, J., van Leeuwen, H.P. (Eds.), *Environmental Particles*, Vol. 1. Lewis, pp. 425–453.
- Turner, A., Millward, G.E., Schuchardt, B., Schirmer, M., Prange, A., 1992. Trace metal distribution coefficients in the Weser Estuary (Germany). *Continental Shelf Research* 12, 1277–1292.
- van den Berg, C.M.G., Merks, A.G.A., Duursma, E.K., 1987. Organic complexation and its control of the dissolved concentrations of copper and zinc in the Scheldt estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 24, 785–797.
- Vignati, D., Dominik, J., 2003. The role of coarse colloids as a carrier phase for trace metals in riverine systems. *Aquatic Sciences Research Across Boundaries* 65, 129–142.
- Waeles, M., Riso, R.D., Le Corre, P., 2005a. Seasonal variations of cadmium speciation in the Penzé estuary, NW France. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 65, 143–152.
- Waeles, M., Riso, R.D., Le Corre, P., 2005b. Seasonal variations of dissolved and particulate copper species in estuarine waters. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 62, 313–323.
- Waeles, M., Riso, R.D., Le Corre, P., 2007. Distribution and seasonal changes of lead in an estuarine system affected by agricultural practices: The Penzé estuary, NW France. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 74, 570–578.
- Wells, M.L., Kozelka, P.B., Bruland, K.W., 1998. The complexation of “dissolved” Cu, Zn, Cd and Pb by soluble and colloidal organic matter in Narragansett Bay, RI. *Marine Chemistry* 62, 203–217.
- Wen, L.-S., Stordal, M.C., Tang, D., Gill, G.A., Santschi, P.H., 1996. An ultraclean cross-flox ultrafiltration technique for the study of trace metal phase speciation in seawater. *Marine Chemistry* 55, 129–152.
- Wen, L.-S., Santschi, P.H., Gill, G., Paternostro, C., 1999. Estuarine trace metal distributions in Galveston Bay: importance of colloidal forms in the speciation of the dissolved phase. *Marine Chemistry* 63, 185–212.
- Wen, L.-S., Jiann, K.-T., Santschi, P.H., 2006. Physicochemical speciation of bioactive trace metals (Cd, Cu, Fe, Ni) in the oligotrophic South China Sea. *Marine Chemistry* 101, 104–129.
- Xue, H., Sigg, L., 1999. Comparison of the Complexation of Cu and Cd by Humic or Fulvic Acids and by Ligands Observed in Lake Waters. *Aquatic Geochemistry* 5, 313–335.

INTRODUCTION

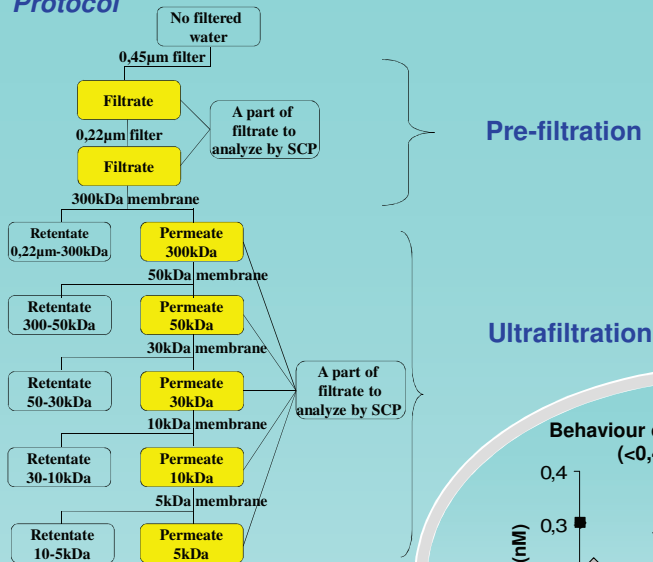
Estuaries play a key role in the transfer of trace metals to the coastal area. Most of the studies that were conducted in these systems usually dealt with the particulate-dissolved fractionation (0.45 or 0.22 μm) and thus, did not take into account the colloidal fraction. This fraction is composed by small particles which have at least one dimension in the size range 1 nm - 1 μm . Because of their large specific area which exposes a high number of reactive functional groups, colloids play an important role in the chemical fractionation which occurs during estuarine mixing. The objective of this work was to evaluate the possibility of using the frontal cascade ultrafiltration technique in conjunction with stripping chronopotentiometry (SCP) for isolating and measuring trace metals in 7 colloidal fractions. Our aim was also to investigate the changes of the colloidal metal distribution along the salinity gradient.

Study area : sampling stations in the Penzé estuary

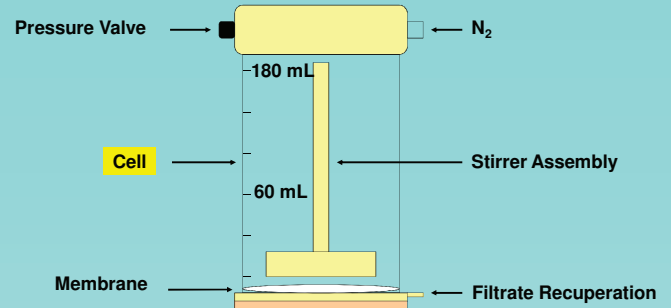


- + Analysis of Cd and Pb in the total dissolved fraction (TD).
- Analysis of Cd and Pb in the various colloidal fractions

Protocol



Ultrafiltration cell 8200 Amicon® –stirred cell



✓ Stirring over the membrane was applied for reducing concentration polarization effect.

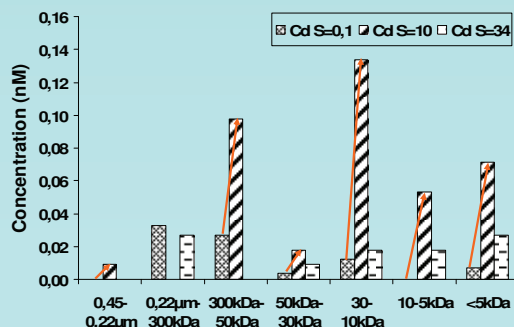
✓ In order to minimize artefacts caused by coagulation of colloids at the membrane surface, small concentration factors (3 – 13) and flow rates (1.5 to 4.5 mL min^{-1}) were used.

Cadmium

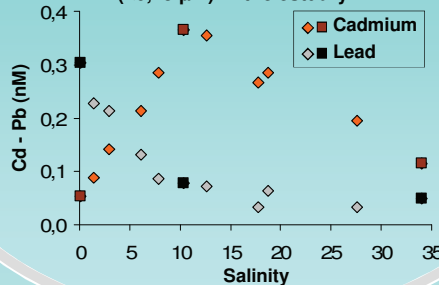
TDCd exhibited a non-conservative behaviour of with **very strong positive deviation** from the theoretical dilution line indicative of **metal addition**.

Various colloidal fractions were enriched during river-sea mixing: the **low-molecular-colloidal fractions** (<300kDa) and the **truly dissolved one**.

The addition of dissolved Cd ensues not only from the formation of chlorocomplexes (truly dissolved fraction) but also to the binding of Cd with low-molecular-weight organic ligands.



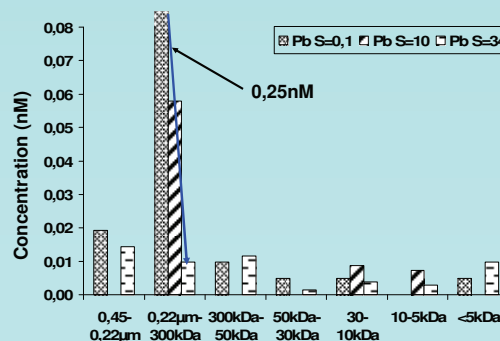
Behaviour of total dissolved Pb and Cd (<0.45 μm) in the estuary



Lead

TDPb had a non-conservative behaviour with a **very strong negative deviation** from the theoretical dilution line indicative of a **metal removal**.

The important removal of dissolved lead during river-sea mixing occurred in the colloidal pool and more particularly, in the 0.22 μm – 300 kDa size fraction.



Removal of dissolved Pb is controlled to a significant extent by flocculation of Fe during river-sea mixing.

CONCLUSION

Frontal cascade ultrafiltration and stripping chronopotentiometry have proved their efficiency to separate and analyse the various colloidal fractions of lead and cadmium in estuarine and coastal waters. Our results have shown that dissolved lead was mainly associated with high-molecular-weight colloids in the size range (0.22 μm -300kDa) whereas cadmium appeared in the low-molecular-weight fractions (<300kDa). Examination of the size-fractionation variations along the salinity gradient provide some insights in the processes that affected the two trace metals during their transport from river to seawater. (i) The removal of dissolved lead is controlled by flocculation of Fe hydroxides. (ii) The addition of cadmium ensues from the formation of chlorocomplexes and also from the binding of cadmium with low-molecular-weight organic ligands.

ANALYSE DE L'ANTIMOINE INORGANIQUE DANS L'EAU DE MER PAR STRIPPING CHRONOPOTENTIOMETRIE SUR ELECTRODE A FILM DE MERCURE

Virginie TANGUY^{1,2}, Jennifer VANDENHECKE^{1,2}, Matthieu WAELES^{1,2} et Ricardo D. RISO^{1,2}

¹ *Université Européenne de Bretagne, Brest, France.*

² *Université de Brest ; CNRS ; IRD ; UMR 6539 Laboratoire de Sciences de l'Environnement Marin (LEMAR), Equipe Chimie Marine, place Nicolas Copernic, 29280 Plouzané, France, e-mail : vtanguy@univ-brest.fr*

L'antimoine est présent dans les eaux marines à des concentrations proches de 1,5 nM. Comme pour la plupart des métaux traces et métalloïdes, la toxicité de cet élément est fortement conditionnée par les espèces chimiques présentes en solution. Dans l'eau de mer, l'antimoine (V) constitue l'espèce majoritaire. L'antimoine (III), bien que minoritaire, représente la fraction la plus toxique.

Parmi les différentes méthodes susceptibles d'accéder aux différentes formes chimiques de l'antimoine dans l'eau de mer, les méthodes électrochimiques par redissolution représentent une alternative intéressante. Les plus couramment utilisées sont les méthodes voltammétriques (DPASV et AdCSV). Une autre possibilité analytique consiste en l'utilisation de méthodes chronopotentiométriques par redissolution (SCP). Si l'étape de pré-concentration est identique à celle des méthodes voltammétriques, l'étape de redissolution est effectuée par l'application d'un courant de faible intensité et non par un balayage de potentiel. L'utilisation de ces techniques dans l'eau de mer, a permis le développement de méthodes d'une mise en œuvre aisée et qui sont, en particulier, moins affectées par la présence de la matière organique [1, 2, 3]. Dans le cas de l'antimoine, les travaux de Huiliang et al. (1987) [4], ont montré la possibilité d'associer cette technique à une électrode à fibre d'or. Cependant, un milieu chimique très riche ($\text{HCl} > 2\text{M}$) et un changement de milieu lors de l'étape de redissolution sont nécessaires. Ces contraintes peuvent constituer un frein pour l'utilisation en routine de cette technique.

Lors de ce travail, une méthode chronopotentiométrique par redissolution sur électrode à film de mercure, simple et sensible, a été mise au point pour la spéciation inorganique de l'antimoine dans l'eau de mer. Dans le cas de l'antimoine (III), seule espèce électroactive et minoritaire dans l'eau de mer, la limite de détection est de 8 ng L^{-1} (0,07 nM) pour un temps de dépôt de 15 min. La reproductibilité de la méthode est de 6% pour une concentration de 15 ng.L^{-1} (0,12 nM). L'analyse s'effectue à une concentration en HCl de 0,15 M et l'hydrazine (0,1 M) est nécessaire pour stabiliser l'antimoine (III). Pour effectuer l'analyse de l'antimoine total dissous une réduction chimique de Sb(V) en Sb(III) est nécessaire. La concentration en Sb(V), espèce majoritaire, est déterminée par différence entre l'antimoine total et le Sb(III).

Références :

- [1] Riso RD, Waeles M, Garbarino S, Le Corre P. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 379(7) (2004) 1113-1119.
- [2] Riso R, Waeles M, Pemet-Coudrier B, Le Corre P. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385(1) (2006) 76-82.
- [3] Vandenhecke J, Waeles M, Riso R, Le Corre P. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 388(4) (2007) 929-937.
- [4] Huiliang H, Jagner D, Renman L. *Analytica Chimica Acta*. 202 (1987) 123-129.

O-24

ETUDE DE LA DISTRIBUTION DU CUIVRE COLLOÏDAL EN MILIEU ESTUARIEN

Virginie Tanguy^{a*}, Matthieu Waeles^a, Gaëtane Lespes^b and Ricardo D. Riso^a

^aChimie Marine, UBO-IUEM, UMR CNRS 7144 (Roscoff), 29280 Plouzané, France

^bLaboratoire de Chimie Analytique, LCABIE, UMR CNRS 5034, Université de Pau et des Pays de l'Adour, Avenue de l'Université, BP 1155, 64013 Pau, France

* e-mail :vtanguy@univ-brest.fr

Les estuaires sont des zones de transitions entre les eaux de rivières et marines. Le mélange des eaux de nature différente est à l'origine des fortes variations des paramètres physico-chimiques. Les métaux transitant dans les estuaires subissent des modifications importantes. Notamment, la distribution entre la phase particulaire et la phase dissoute ainsi que les formes chimiques sont affectées. Les colloïdes (1 μm -1 nm), de part leur grande surface spécifique sur laquelle peut s'adsorber de nombreux éléments, sont susceptibles de jouer un rôle important dans la spéciation, le transport et la biodisponibilité des métaux traces¹. Cependant peu d'études menées en milieu estuarien ont pris en compte les espèces colloïdales. L'objectif de ce travail est d'étudier les variations des métaux dans les différentes fractions colloïdales sur l'ensemble d'un gradient salé estuarien (Estuaire de la Penzé, Bretagne, France). Le cuivre sera présenté ici à titre d'exemple.

Lors de cette étude, l'ultrafiltration frontale séquentielle a été retenue. Le protocole permet la séparation des colloïdes en 7 classes de taille (0,45-0,22 μm ; 0,22 μm -300 kDa; 300-50 kDa; 50-30 kDa; 30-10kDa; 10-5 kDa; <5 kDa). Le cuivre dans les différentes fractions est ensuite dosé par une méthode chronopotentiométrique par redissolution² adaptée aux eaux côtières et estuariennes riches en matière organique.

Les premiers résultats montrent que le cuivre « dissous » (<0,45 μm) se trouve principalement associé à des colloïdes organiques de grande taille (>300 kDa) ; la fraction réellement dissoute (<5 kDa) ne représentant que 6% du métal « dissous ». Le long du gradient salé, des variations significatives de la distribution colloïdale du cuivre sont observées. Elles sont liées, d'une part à la floculation des macromolécules colloïdales aux faibles salinités ($S < 5$) et d'autre part à un apport en cuivre associé à des colloïdes de faible poids moléculaire à des salinités plus élevées ($5 < S < 10$).

Références

¹ Buffle, J., Van Leeuwen, H.P., 1992. Environmental particles. Lewis.

² Riso, R.D., Monbet, P., Le Corre, P., 1997a. Measurement of Copper in Sea-water by Constant Current Stripping Analysis (CCSA) With a Rotating Gold Disk Electrode. The Analyst 122, 1593-1596.

La spéciation colloïdale des éléments traces métalliques (Cu, Pb et Cd) a été étudiée dans l'estuaire de la Penzé (Manche Occidentale, Bretagne) lors du cycle saisonnier. Cette étude a été réalisée afin de mieux comprendre les mécanismes responsables du transfert des métaux entre les différentes fractions (particulaire, colloïdale et réellement dissoute) lors du mélange des eaux. Deux techniques ont été utilisées : (i) l'ultrafiltration permettant le fractionnement en 7 fractions de taille différente et (ii) la chronopotentiométrie pour la détermination de la teneur en métal dans les différentes fractions. L'ultrafiltration a été choisie car c'est une méthode non destructive et de mise en œuvre simple et peu coûteuse. Les limites de détection de la chronopotentiométrie ont été améliorées de façon à pouvoir doser les métaux dans les différentes fractions.

Nos résultats ont montré une présence particulièrement importante des métaux (Cu, Pb, Cd) dans la fraction colloïdale. Si le Cd est trouvé dans la partie plutôt basse du spectre de taille colloïdal (<50 kDa), le Pb est par contre préférentiellement associé à des composés de haut poids moléculaire (>300 kDa). Quant au Cu, il présente une distribution intermédiaire. Lors du cycle saisonnier, deux phénomènes majeurs ont été identifiés : (i) une forte mobilisation des substances humiques depuis les sols du bassin versant à l'automne et (ii) la dégradation du matériel organique particulaire dans le compartiment benthique au printemps. Ces processus affectent non seulement la répartition colloïdale des éléments étudiés mais jouent également un rôle important dans les quantités et les formes transférées vers la zone côtière.

Mots clés : métaux traces, colloïdes, estuaire, cuivre, cadmium, plomb, fer, substances humiques, ultrafiltration, chronopotentiométrie, cycle saisonnier, flux.

The colloidal speciation of some trace metal elements (Cu, Pb and Cd) was studied in the Penzé estuary (Western Channel, Brittany) over a seasonal cycle. This study was performed in order to understand the metal transfer mechanisms between the different fractions (particulate, colloidal and truly-dissolved). Two methods were used: (i) frontal ultrafiltration (FU) allowing the partition in 7 size fractions and (ii) stripping chronopotentiometry (SCP) allowing the determination of metal concentrations in the various fractions. FU was chosen for its easy implementation and because it is a non-destructive technique. The detection limits of SCP were improved in order to measure the low-metal concentrations.

Ours results have shown an important occurrence of Cu, Pb and Cd in the colloidal phase. If Cd is rather found in the lower part of the colloidal size-spectrum (<50 kDa), Pb is mainly associated with high molecular weight compounds (>300 kDa); Cu having an intermediate distribution. Over the seasonal cycle, two major phenomena were identified: (i) a strong mobilisation of humic substances from soils during autumn and (ii) the degradation of particulate organic matter in the benthic compartment during spring. These processes affect not only the colloidal distribution of the studied elements but also play an important role in the quantities and the forms exported toward the coastal zone.

Keywords: trace metals, colloids, estuary, copper, cadmium, lead, iron, humic substances, ultrafiltration, stripping chronopotentiometry, seasonal cycle, fluxes.