MÉTHODE ANALYTIQUE DE MESURE DE L'ION MÉTALLIQUE LIBRE (Cd^{2+}, Zn^{2+}) PAR ÉCHANGE IONIQUE

Mémoire

présenté

comme exigence partielle

du grade Maître ès Sciences (M. Sc.)

par

Claude Fortin, B.Eng.

Institut national de la recherche scientifique, INRS-Eau

2800, rue Einstein, Case postale 7500, SAINTE-FOY (Québec), G1V 4C7

octobre 1996

À la mémoire de Stéphane Fortier.

« Le commencement de toutes les sciences, c'est l'étonnement de ce que les choses sont ce qu'elles sont. »

- Aristote

© Claude Fortin 1996

REMERCIEMENTS

La réalisation de cet ouvrage a nécessité la collaboration d'une multitude de personnes que je désire remercier.

Tout d'abord, je dois souligner la qualité de l'encadrement qu'a su démontrer M. Peter G.C. Campbell en tant que directeur de recherche. Sa disponibilité et sa compétence ont été déterminantes dans le cheminement de mes travaux. Je remercie également ses collègues, MM. André Tessier et Richard R. DeVitre, pour les discussions et commentaires constructifs.

Merci à MM. Joël Gauthier et François Caron pour la confiance qu'ils ont placés dans mes travaux et qui ont permis d'utiliser la méthode à des fins concrètes. L'expérience acquise lors de ces occasions fut des plus enrichissantes.

Les conseils quotidiens promulgués par les techniciennes et techniciens du laboratoire de l'INRS-Eau, tout spécialement Michelle G. Bordeleau, Sylvie St-Pierre et Bernard Veilleux ont été grandement appréciés. J'ai pu, heureusement, compter sur une horde d'amis qui ont rendu la vie estudiantine des plus agréables, plus particulièrement Sophie Duchesne, Bernard Vigneault, Joël Gauthier et Olivier Errécalde, pour ne nommer que ceux-là.

Je tiens à remercier mes parents pour leur soutien inconditionnel, et ce au niveau moral et financier, tout au long de mon cheminement universitaire. La réussite de ces études n'aurait pu se réaliser sans leur apport.

Enfin, cette recherche a été rendue possible grâce au support financier du Réseau Canadien des Centres de Toxicologie (RCCT).

RÉSUMÉ

Afin de déterminer l'influence de la spéciation des métaux sur leur biodisponibilité, il est important de pouvoir mesurer directement la concentration de l'ion métallique libre en solution. Les méthodes existantes pouvant être utilisées pour doser le zinc et le cadmium libres ne sont pas suffisamment sensibles pour mesurer de façon précise des concentrations d'intérêt biologique, ou encore présentent des problèmes en présence de matière organique naturelle. En milieu inorganique artificiel, la spéciation peut être évaluée par des calculs d'équilibres thermodynamiques. Cependant, lorsque les métaux entrent en contact avec des ligands organiques naturels, dont les constantes de formation sont mal connues, la mesure expérimentale devient essentielle.

Une méthode faisant appel à une résine échangeuse d'ions a été mise au point afin de mesurer de façon précise de faibles concentrations de Cd^{2+} et de Zn^{2+}. La méthode implique l'atteinte d'un état stationnaire entre la résine et une solution de force ionique élevée ($NaNO_3$ 0,20 M). Elle a été calibrée afin de déterminer les concentrations de cadmium et de zinc libres à des pH de 4,5 à 7,0 et à une force ionique de 0,20 M. La technique d'échange ionique a été testée à l'aide de ligands modèles tels que l'acide éthylènediaminetétraacétique et le citrate, dont les constantes d'équilibres thermodynamiques sont bien connues. Dans les deux cas, il y a eu une très bonne concordance entre les valeurs calculées et les valeurs déterminées expérimentalement.

La résine échangeuse d'ions est sélective à l'aquo-ion lorsque celle-ci est exposée à des complexes cationiques $CdCl^+$ et $CdAla^+$ (Ala: Alanine). Par contre, une interférence a été remarquée en présence d'acides aminés (cystéine et lysine) qui forment des complexes cationiques divalents. Ces complexes créent une interférence lorsque le pH de la solution est égal ou inférieur au pH du point isoélectrique de l'acide aminé en question. À ces pH, le groupement amine devient protoné ($-NH_3^+$) et se lie probablement au groupement fonctionnel de la résine ($-SO_3^-$).

Plusieurs techniques analytiques éprouvent des problèmes lorsqu'elles sont confrontées à des solutions contenant de la matière organique naturelle; ceci ne semble pas être le cas avec la technique d'échange ionique. L'absence d'adsorption de matière organique dissoute sur la résine a été confirmée à l'aide de comparaisons de la distribution des métaux lorsque la résine était prétraitée ou non à l'acide fulvique. De même, aucune adsorption n'a été observée lors de suivi d'absorbance par spectrophotométrie lorsque la résine était exposée à de l'acide humique ou fulvique. À la suite de ces vérifications, la spéciation du cadmium et du zinc a été examinée en présence de 10 $mg \cdot l^{-1}$ d'acide fulvique afin de permettre le design rationnel de bioessais en laboratoire. Finalement, la technique a été miniaturisée afin de diminuer le volume nécessaire au dosage et d'augmenter la productivité de seize échantillons par semaine à douze par jour.

Cette méthode permet de mesurer des concentrations de Cd^{2+} (aussi faible que 64 pM) et de Zn^{2+} (jusqu'à 260 pM); ce qui en fait une méthode relativement sensible. L'ajout nécessaire d'un électrolyte, qui modifie l'activité des ions en solution, est le seul désavantage d'importance de la technique d'échange ionique. Cet inconvénient est grandement contrebalancé par des atouts indéniables: rapidité, fiabilité et sélectivité.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS iii
RÉSUMÉ v
TABLE DES MATIÈRES vii
LISTE DES TABLEAUX x
LISTE DES FIGURES xi
LISTE DES ABRÉVIATIONS xvii
1. INTRODUCTION 1
1.1 Problématique: rôle de l'ion libre 1
1.2 Approche méthodologique 3
1.2.1 Critères de sélection d'une méthode de spéciation des métaux 3
1.2.2 Choix de la méthode 3
1.3 Théorie 5
1.3.1 Principes d'équilibres chimiques 5
1.3.2 Échange ionique 6
1.3.2.1 Principes théoriques 6
1.3.2.2 Hypothèses de départ 8
1.4 Revue de littérature 9
1.4.1 Travaux antécédents 9
1.4.2 Caractéristiques physico-chimiques du système résine-solution 11
1.4.2.1 Type de résine échangeuse 11
1.4.2.2 Dimensions des particules de résine 12
1.4.2.3 Degré de réticulation 12
1.4.2.4 Choix du contre-ion 13
1.4.2.5 Force ionique 14
1.4.3 Interactions métaux-MOD naturelle 15
1.5 Objectifs 16
2. MATÉRIEL ET MÉTHODES 19
2.1 Produits, réactifs et eau ultra-pure 19
2.2 Prétraitement et conversion de la résine 20
2.3 Purification de la solution d'électrolyte ($NaNO_3$) 21
2.4 Calculs théoriques 22
2.4.1 Modèle MINEQL+ 23
2.4.2 Modèle WHAM 23
2.4.3 Choix des constantes thermodynamiques d'équilibres 23
2.5 Procédure de dosage de l'ion libre 24
2.5.1 Technique en mode manuel 24
2.5.1.1 Optimisation des paramètres 24
2.5.1.2 Méthodologie 25
2.5.2 Technique en mode semi-automatique 26
2.5.2.1 Optimisation des paramètres 28
2.5.2.2 Construction de la colonne 28

2.5.2.3 Méthodologie....29
2.6 Détermination du coefficient de distribution métal-résine....30
2.7 Tests de fiabilité de la méthode avec des ligands modèles....31
2.7.1 EDTA....31
2.7.2 Citrate....31
2.8 Sélectivité de la résine à l'ion libre....32
2.8.1 Chlorure de sodium....32
2.8.2 Alanine....32
2.8.3 Cystéine....33
2.8.4 Lysine....34
2.9 Effet de prétraitement de la résine par la matière organique dissoute....34
2.9.1 Comparaison de coefficients de distribution....34
2.9.2 Suivi par absorbance à 400 nm....35
2.10 Études de spéciation....36
2.10.1 Acide fulvique....36
3. RÉSULTATS....39
3.1 Purification de la solution électrolyte $NaNO_3$....39
3.2 État stationnaire et élution....40
3.2.1 Technique en mode manuel....40
3.2.2 Technique en mode semi-automatique....41
3.3 Détermination des coefficients de distribution métal-résine....43
3.3.1 TÉI en mode manuel....43
3.3.2 TÉI en mode semi-automatique....44
3.4 Tests de fiabilité avec des ligands modèles....44
3.4.1 EDTA....44
3.4.2 Citrate....46
3.5 Sélectivité de la résine pour l'ion libre....48
3.5.1 Chlorure de sodium....48
3.5.2 Alanine....49
3.5.3 Cystéine....50
3.5.4 Lysine....51
3.6 Effet du prétraitement de la résine par la matière organique dissoute....52
3.6.1 Comparaison des coefficients de distribution....52
3.6.2 Suivi par absorbance à 400 nm....53
3.7 Études de spéciation métaux-acide fulvique....55
4. DISCUSSION....59
4.1 Détermination des coefficients de distribution métal-résine....59
4.1.1 Comparaison des coefficients de distribution avec ceux de la littérature....61
4.2 Reproductibilité et limite de détection....62
4.3 Tests de fiabilité de la méthode avec des ligands modèles....65
4.3.1 EDTA....65
4.3.2 Citrate....66
4.4 Sélectivité de la résine à l'ion libre....67
4.4.1 Chlorure de sodium....67
4.4.2 Alanine....68
4.4.3 Cystéine....68
4.4.4 Lysine....70
4.4.5 Cas d'interférences dans la littérature....72
4.5 Effet de prétraitement de la résine par la MOD....73

4.5.1 Comparaison des coefficients de distribution 73
4.5.2 Suivi par absorbance à 400 nm 74
4.6 Études de spéciation métaux-acide fulvique 75
4.6.1 Acide fulvique et Cd 75
4.6.2 Acide fulvique et Zn 76
4.6.3 Concentrations relatives de métaux et d'acide fulvique 77
4.6.4 Effet de la force ionique sur la spéciation des métaux 78

5. CONCLUSION 83
5.1 Fiabilité 83
5.2 Sélectivité 84
5.3 Flexibilité 84
5.4 Sensibilité 85
5.5 Recommandations et perspectives 85

6. BIBLIOGRAPHIE 87

7. ANNEXES 93
7.1 Paramètres de dosage par AA 93
7.2 Constantes d'équilibres chimiques utilisées dans MINEQL+ 95
7.3 Résultats bruts 97
7.3.1 Calibration 97
7.3.2 Expérience Cd-Zn-EDTA 101
7.3.3 Expérience Cd-Zn-citrate 101
7.3.4 Expérience Cd-chlorure 102
7.3.5 Expérience Zn-cystéine 102
7.3.6 Expérience Zn-lysine 103
7.3.7 Expériences sur le colmatage par la MOD 103
7.3.8 Expériences Cd-Zn-acide fulvique 105
7.3.9 Expériences Cd-acide fulvique dans le cadre de bioessais 106

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1: Comparaison des limites de détection (LD) des principales méthodes pour le dosage du Cd et du Zn 4
Tableau 1.2: Limite d'exclusion du poids moléculaire d'après le degré de réticulation. 13
Tableau 1.3: Sélectivité relative des contre-ions pour une résine de type sulfonique [Bio-Rad 1996] 14
Tableau 2.1: Concentrations de tampons maximales admissibles sans interférence 30
Tableau 3.1: Concentrations de Cd et de Zn dans une solution $NaNO_3$ 0,20 M 39
Tableau 3.2: Coefficients de distribution du Cd et du Zn évalués avec la TÉI en mode manuel 43
Tableau 3.3: Coefficients de distribution du Cd et du Zn évalués avec la TÉI en mode semi-automatique 44
Tableau 3.4: Concentrations de Cd^{2+} et Zn^{2+} en présence de citrate à pH 5,5 46
Tableau 3.5: Absorbance moyenne (n=3) mesurée après l'exposition de résine Dowex dans des solutions d'acide fulvique de 10 $mg \cdot l^{-1}$ 54
Tableau 3.6: Absorbance moyenne (n=3) mesurée après l'exposition de résine Dowex dans des solutions d'acide humique de 16 $mg \cdot l^{-1}$ 54
Tableau 3.7: Absorbance moyenne (n=3) mesurée après l'exposition de résine Dowex dans des solutions d'eau ultra-pure sans MOD 54
Tableau 4.1: Comparaison de la capacité d'échange (CÉ) de Dowex 50W-X8 59
Tableau 4.2: Comparaison des rapports de coefficients de distribution 61
Tableau 4.3: Limite de détection du Cd^{2+} selon le pH et la méthodologie utilisée 64
Tableau 4.4: Limite de détection du Zn^{2+} selon le pH et la méthodologie utilisée 65
Tableau 4.5: Comparaison de l'absorbance corrigée 75
Tableau 4.6: Degré d'occupation des sites de l'acide fulvique 78
Tableau 7.1: Paramètres du four pour le dosage du Cd à l'aide de l'appareil Varian SpectrAA-20 93
Tableau 7.2: Paramètres du four pour le dosage du Cd à l'aide de l'appareil Varian SpectrAA-300 94

Tableau 7.3: Paramètres du four pour le dosage du Zn à l'aide de l'appareil Varian SpectrAA-20 94
Tableau 7.4: Paramètres du four pour le dosage du Zn à l'aide de l'appareil Varian SpectrAA-300 94
Tableau 7.5: Constantes de formation utilisées dans MINEQL+ 95
Tableau 7.6: Calibration à pH 4,5 en mode manuel 97
Tableau 7.7: Calibration à pH 5,5 en mode manuel 98
Tableau 7.8: Calibration en semi-automatique pour le cadmium 99
Tableau 7.9: Calibration en semi-automatique pour le zinc 100
Tableau 7.10: Expérience Cd-Zn-EDTA avec 89 nM Cd et 760 nM Zn à pH 5,5 101
Tableau 7.11: Expérience Cd-Zn-citrate avec 89 nM Cd et 153 nM Zn à pH 5,5 (S1A et S1B: sans ajout de métaux) 101
Tableau 7.12: Expérience Cd-NaCl avec 89 nM Cd 102
Tableau 7.13: Expérience avec du zinc et 50 mM de cystéine à pH 4,5 102
Tableau 7.14: Expérience avec du zinc et de la lysine à pH 7,0 103
Tableau 7.15: Comparaison des résultats de calibration avec (N) et sans (Q) prétraitement à l'acide fulvique (10 $mg \cdot l^{-1}$) à pH 5,5 103
Tableau 7.16: Courbe d'étalonnage par absorbance à 400 nm de l'acide fulvique 104
Tableau 7.17: Absorbance après avoir exposé la résine à une solution de 10 $mg \cdot l^{-1}$ d'AF pendant huit heures 104
Tableau 7.18: Absorbance après avoir exposé la résine à une solution de 16 $mg \cdot l^{-1}$ d'AH pendant sept heures 104
Tableau 7.19: Expérience AF (10 $mg \cdot l^{-1}$) et cadmium à pH 5,5 105
Tableau 7.20: Expérience AF (10 $mg \cdot l^{-1}$) et zinc à pH 5,5 105
Tableau 7.21: Expérience Cd-Zn-acide fulvique (10 $mg \cdot l^{-1}$) à pH 7,0 106
Tableau 7.22: Dosage Cd^{2+} en présence d'AF (10 $mg \cdot l^{-1}$) à pH 5,5 pour un bioessai avec le saumon Atlantique 106
Tableau 7.23: Dosage Cd^{2+} en présence d'AF (10 $mg \cdot l^{-1}$) à pH 5,5 pour un bioessai avec la truite arc-en-ciel 107
Tableau 7.24: Dosage Cd^{2+} en présence d'AF (10 $mg \cdot l^{-1}$) à pH 7,0 pour un bioessai avec la truite arc-en-ciel 107

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1: Représentation du rôle central de l'aquo-ion dans la spéciation des métaux 2
Figure 1.2: Structures moléculaires des résines Chelex et Dowex 12
Figure 1.3: Structure moléculaire de l'acide humique proposée par Schulten et Schnitzer (1993) 16
Figure 2.1: Schéma de la méthode d'échange ionique miniaturisée 27
Figure 2.2: Schéma de la colonne pour la TÉI semi-automatisée 29
Figure 3.1: Profils d'atteinte d'un état stationnaire entre le Zn et la résine en mode manuel en fonction du volume et de la concentration d'électrolyte 40
Figure 3.2: Profils d'élution du Zn avec la TÉI en mode manuel en fonction du volume et de la concentration d'acide nitrique 41
Figure 3.3: Profils d'atteinte d'un état stationnaire entre le Cd et la résine en mode semi-automatique en fonction du volume, de la force ionique et du débit 42
Figure 3.4: Profils d'atteinte d'un état stationnaire entre le Zn et la résine en mode semi-automatique en fonction du volume, de la force ionique et du débit 42
Figure 3.5: Comparaison de la distribution des espèces de Cd (89 nM) mesurée (TÉI) et calculée (MINEQL+) en fonction de la concentration d'EDTA à pH 5,5 45
Figure 3.6: Comparaison de la distribution des espèces de Zn (765 nM) mesurée (TÉI) et calculée (MINEQL+) en fonction de la concentration d'EDTA à pH 5,5 45
Figure 3.7: Comparaison de la distribution des espèces de Cd (89 nM) mesurée (TÉI) et calculée (MINEQL+) en fonction de la concentration de citrate à pH 5,5 47
Figure 3.8: Comparaison de la distribution des espèces de Zn (150 nM) mesurée (TÉI) et calculée (MINEQL+) en fonction de la concentration de citrate à pH 5,5 47

Figure 3.9: Comparaison de la distribution des espèces de Cd (89 nM) mesurée (TÉI) et calculée (MINEQL+) en fonction de la concentration de NaCl à pH 5,5 48
Figure 3.10: Comparaison de la distribution des espèces de Cd (180 nM) mesurée (TÉI) et calculée (MINEQL+) en fonction de la concentration d'EDTA à pH 7,4 (adaptée de: [Fortin and Caron 1995]) 49
Figure 3.11: Comparaison de la distribution des espèces de Zn mesurée (TÉI) et calculée (MINEQL+) en fonction de la concentration totale de Zn en présence de 50 mM de cystéine à pH 4,5 50
Figure 3.12: Comparaison de la distribution des espèces de Zn mesurée (TÉI) et calculée (MINEQL+) en fonction de la concentration de lysine à pH 7,0 51
Figure 3.13: Comparaison des coefficients de distribution du Cd et du Zn avec et sans traitement préalable de la résine à l'acide fulvique à pH 5,5 52
Figure 3.14: Courbe d'étalonnage de l'absorbance à 400 nm en fonction de la concentration d'acide fulvique 53
Figure 3.15: Concentrations de Cd^{2+} mesurées (TÉI) et calculées (WHAM) en fonction de la concentration totale de Cd en présence d'AF (10 $mg \cdot l^{-1}$) à pH 5,5 55
Figure 3.16: Concentrations de Cd^{2+} mesurées (TÉI) et calculées (WHAM) en fonction de la concentration totale de Cd en présence d'AF (10 $mg \cdot l^{-1}$) à pH 7,0. 56
Figure 3.17: Concentrations de Zn^{2+} mesurées (TÉI) et calculées (WHAM) en fonction de la concentration totale de Zn en présence d'AF (10 $mg \cdot l^{-1}$) à pH 5,5 57
Figure 3.18: Concentrations de Zn^{2+} mesurées (TÉI) et calculées (WHAM) en fonction de la concentration totale de Zn en présence d'AF (10 $mg \cdot l^{-1}$) à pH 7,0 57
Figure 4.1: Comparaison de la distribution des espèces de Cd (89 nM) mesurée (TÉI) et calculée (MINEQL+; avec deux constantes $K_{Cd\text{-}EDTA}$ différentes) en fonction de la concentration d'EDTA à pH 5,5 66
Figure 4.2: Structure moléculaire du complexe $CdAla^+$ 68
Figure 4.3: Structure moléculaire du complexe $ZnHCys^+$ 69

Figure 4.4: Structure moléculaire du complexe $ZnH_2Cys_2^0$ 70
Figure 4.5: Structure moléculaire du complexe $ZnHLys^{2+}$ 70
Figure 4.6: Structure moléculaire du complexe $ZnH_2Lys_2^{2+}$ 71
Figure 4.7: Structures moléculaires des complexes $CuSal^0$ et $CuPhta^0$ 73
Figure 4.8: Effet du $NaNO_3$ sur la concentration du complexe Cd-AF tel que prédit par WHAM dans les solutions de bioessais à pH 5,5 80
Figure 4.9: Effet du $NaNO_3$ sur la concentration de l'ion Cd^{2+} tel que prédit par WHAM dans les milieux de bioessais à pH 5,5 80

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ΔH_r^o:	Différence d'enthalpie
γ:	Coefficient d'activité ionique
λ_o:	Coefficient de distribution
θ:	Coefficient d'occupation des sites de complexation
AA:	Absorption atomique
AF:	Acide fulvique
AH:	Acide humique
Ala:	Alanine
CÉ:	Capacité d'échange
Cit:	Citrate
COD:	Carbone organique dissous
C_S:	Concentration totale des sites de complexation
Cys:	Cystéine
DVB:	Divinylbenzène
EDTA:	Acide éthylènediamine-tétraacétique
Gly:	Glycine
HDPE:	Polyéthylène à haute densité
HPLC:	Chromatographie liquide à haute performance
I:	Force ionique
K:	Constante d'équilibre chimique
L:	Ligand
LD:	Limite de détection
Lys:	Lysine
$M_{éluat}$:	Métal présent dans l'éluat
m_r:	Masse de résine
M^{z+}:	Ion métallique libre
MIL:	Modèle de l'ion libre
MOD:	Matière organique dissoute
NIST:	*National institute of standards and technology*
NTA:	Acide nitrilotriacétique
Phta:	Phtalate
PPCO:	Polypropylène copolymère
R:	Résine échangeuse d'ions
Sal:	Salicylate
TÉI:	Technique d'échange ionique
TFE:	Tétrafluoroéthylène
TRIS:	Tris(hydroxymethyl)aminométhane
V:	Volume
WHAM:	Windermere humic aqueous model

1. INTRODUCTION

1.1 Problématique: rôle de l'ion libre

La présence de métaux toxiques, comme le cadmium, le cuivre ou le zinc, peut compromettre la qualité de l'habitat aquatique. Pour un organisme aquatique donné, les effets biologiques d'un métal particulier dépendront de divers facteurs environnementaux dont la concentration du métal, le pH et la quantité de ligands, tel la matière organique dissoute (MOD) [Pagenkopf 1983; Tessier *et al.* 1994]. En effet, ces facteurs peuvent agir directement sur l'organisme, en influant sur sa physiologie, et indirectement, en influant sur la spéciation du métal dans le milieu aquatique. On définit la spéciation comme étant: « la distinction entre les différentes formes de liaisons possibles (espèces) d'un élément » [Sigg *et al.* 1992].

D'après Morel (1983), l'ion métallique libre, ou aquo-ion ($M^{z+}(H_2O)_n$), a une importance universelle dans la détermination de la prise en charge, de la nutrition et de la toxicité de tous les métaux traces présents sous la forme cationique. Plusieurs expériences en laboratoire appuient cet énoncé [Campbell 1995], lequel s'exprime habituellement sous forme du « Modèle de l'Ion Libre » (MIL). Selon ce modèle, la réponse biologique d'un organisme à un métal serait proportionnelle à sa concentration sous la forme libre (M^{z+}). Ainsi, le degré de toxicité et/ou la bioaccumulation qu'exercera un métal envers un organisme n'est que rarement proportionnel à la concentration totale de ce métal dans l'eau [Tessier *et al.* 1994].

Pour que le métal s'accumule dans un organisme et qu'il provoque une réponse biologique, il doit forcément entrer en contact avec la membrane cellulaire. Cette réaction peut impliquer l'aquo-ion M^{z+} ou encore une forme réactive ML_n^{z+} [Campbell 1995]:

$$M^{z+} + X - \text{cellule} \xleftrightarrow{K_1} M^{z+} - X - \text{cellule} \qquad (1)$$

$$ML_n^{z+} + X - \text{cellule} \xleftrightarrow{K_2} M^{z+} - X - \text{cellule} + nL \qquad (2)$$

La réponse biologique est proportionnelle à la concentration des complexes [M^{z+}-X-cellule], où X-cellule représente un ligand présent à la surface cellulaire.

Quelle que soit la réaction impliquée dans les phénomènes de toxicité (à l'exception de la méthylation), l'aquo-ion joue un rôle central dans l'équilibre de toutes les espèces en solution (figure 1.1).

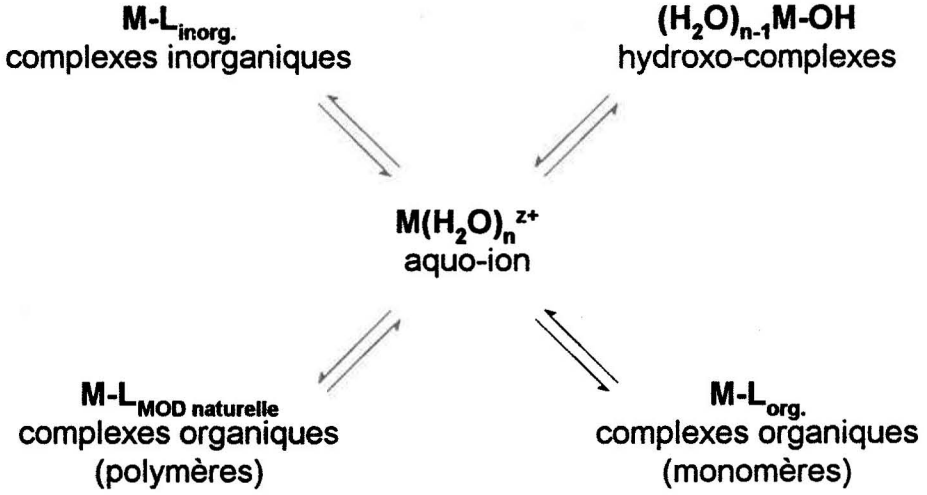


Figure 1.1: Représentation du rôle central de l'aquo-ion dans la spéciation des métaux

L'importance relative des différentes formes chimiques d'un métal (à l'exception du degré de méthylation) dépend des caractéristiques physico-chimiques du milieu: pH, température, concentrations de ligands organiques, de cations et d'anions inorganiques. Ces paramètres peuvent varier au cours des saisons. Un processus majeur qui affecte ces paramètres se produit à chaque printemps, au moment de la crue, lorsque les cours d'eau sortent de leur lit et envahissent des marais avoisinants, riches en acides humiques (AH) et fulviques (AF). Ces acides organiques, emportés par le courant, contribuent à modifier la spéciation des métaux en solution par complexation mais aussi, par une baisse de pH, causent une dissociation des métaux avec les ligands organiques et inorganiques déjà présents. La désorption de métaux à partir de phases sorbantes (oxyhydroxides de fer) représente également un effet de la baisse du pH [Tessier *et al.* 1989].

Étant donné le rôle clé que joue l'ion libre dans les eaux naturelles, aussi bien au niveau géochimique (spéciation) que toxicologique, il importe de pouvoir quantifier la concentration de M^{z+} de façon précise à l'intérieur de matrices complexes.

1.2 Approche méthodologique

1.2.1 Critères de sélection d'une méthode de spéciation des métaux

Buffle et Staub (1984) ont identifié quatre critères importants que doit respecter une nouvelle technique de spéciation des métaux. En premier lieu, la méthode doit être basée sur des principes théoriques solides afin d'éviter les incertitudes d'effets secondaires mal contrôlés. En deuxième lieu, elle doit minimiser la perturbation de l'équilibre du système et éviter les étapes de séparation. La technique doit également pouvoir s'appliquer à un grand nombre d'éléments. Finalement, la sensibilité doit être suffisamment grande pour permettre l'étude de spéciation des métaux aux basses concentrations rencontrées dans la nature.

1.2.2 Choix de la méthode

Présentement, de nombreuses méthodes existent pour déterminer les différentes espèces chimiques d'un métal en solution, dont l'ion libre. Les principes de ces méthodes sont basés sur des propriétés physiques (dialyse, ultrafiltration), chimiques (échange ionique, extraction par solvant), électrochimiques (voltamétrie, polarographie, potentiométrie) ou même thermodynamiques (modélisation informatique).

Ces méthodes ont des avantages et des inconvénients qui nous permettent de choisir la méthode appropriée selon les caractéristiques spécifiques du milieu à étudier. Dans le cadre de ce projet, il est possible d'identifier clairement les besoins et les contraintes et de déterminer une approche convenable. Cette méthode doit donc être; i) sensible (< 10^{-8} M), ii) sélective (à l'ion Cd^{2+} et Zn^{2+}) et iii) robuste (sans effet secondaire dû à la présence de MOD naturelle).

Tableau 1.1: Comparaison des limites de détection (LD) des principales méthodes pour le dosage du Cd et du Zn

Méthode analytique	Espèces mesurées	LD du Cd (-log [Cd])	LD du Zn (-log [Zn])	Références
Polarographie à impulsions différentielles	$[M]_{labile}$	8	8	Davison and Whitfield 1975; Lund 1986
Voltamétrie à impulsions différentielles	$[M]_{labile}$	10,9	9,5	Nürnberg 1982; van den Berg 1991
Électrode sélective	$[M^{z+}]$	7	7	Lund 1986; Orion 1996
Échange ionique	$[M^{z+}]$	9,8 - 10,2	9,3 - 9,7	Résultats de la présente étude

Il est possible d'éliminer plusieurs de ces méthodes *a priori*, selon les critères établis. D'abord, les électrodes sélectives et la polarographie ont des limites de détection nettement insuffisantes pour mesurer le Zn^{2+} et le Cd^{2+} (tableau 1.1). La voltamétrie et la polarographie ne déterminent pas seulement la concentration d'ion métallique libre, mais aussi les complexes labiles ou facilement dissociables. Ces méthodes ne permettent donc pas de quantifier précisément M^{z+}. Dans des solutions contenant de la MOD, les électrodes sélectives souffrent du problème de l'adsorption de la matière organique à la surface de l'électrode tout comme les méthodes polarographiques et voltamétriques sur la goutte ou le film de Hg. D'autres méthodes peuvent modifier l'équilibre chimique d'un système; c'est le cas de l'ultrafiltration et de l'extraction par solvant.

L'échange ionique, à l'aide d'une résine échangeuse de cations, permet de mesurer la concentration de M^{z+} [Cantwell *et al.* 1982]; en revanche cette technique nécessite l'ajout d'un sel qui pourrait modifier l'équilibre chimique ainsi que l'activité des différents ions. Même si son efficacité en présence de matière organique dissoute, ainsi que sa sélectivité pour l'ion libre, restent à être démontrées [Sweileh *et al.* 1987], l'échange ionique semble offrir un bon potentiel à explorer pour les besoins identifiés dans le présent projet. C'est cette avenue que nous avons privilégiée. Le tableau 1.1 résume les limites de détection de la polarographie et voltamétrie par impulsions différentielles, des électrodes sélectives et de l'échange ionique.

Deux approches méthodologiques, par lots ou en colonnes, peuvent être utilisées pour l'échange ionique. La première consiste à introduire la résine directement dans une solution et à la retirer une fois l'état stationnaire atteint. Dans la seconde, on fait passer la solution à travers une colonne de résine jusqu'à ce qu'un état stationnaire soit atteint, c'est-à-dire jusqu'à ce que tout ajout de solution supplémentaire ne modifie plus ni la distribution des différents cations sur la résine ni la distribution des différentes espèces chimiques en solution. Cette dernière approche minimise la perturbation de l'équilibre chimique de la solution, et a donc servi de point de départ dans le cadre de cette étude.

1.3 Théorie

1.3.1 Principes d'équilibres chimiques

L'équilibre chimique signifie la tendance des réactions chimiques de passer des réactifs aux produits ou des produits aux réactifs selon les pressions exercées par le milieu. Ainsi, le principe de LeChâtelier dicte que tout changement d'un facteur qui affecte l'équilibre forcera celui-ci à se déplacer de façon à minimiser l'impact de ce changement. La thermodynamique peut être utilisée à titre d'indication de la direction d'un processus, en plus de permettre le calcul des concentrations des diverses espèces à l'équilibre. Si l'on considère la réaction d'un métal M^{z+} avec un ligand L^{y-}, on obtient le produit suivant:

$$aM^{z+} + bL^{y-} \xleftrightarrow{K_{ML}} M_aL_b^{(az-by)} \tag{3}$$

$$K_{ML} = \frac{\left\{M_aL_b^{(az-by)}\right\}}{\left\{M^{z+}\right\}^a\left\{L^{y-}\right\}^b} \tag{4}$$

La constante d'équilibre K_{ML} représente le rapport de l'activité des produits et des réactifs à l'équilibre selon l'équation (4) à température et pression données. Toutes les réactions partageant un même réactif et/ou produit deviennent donc liées et doivent être considérées pour estimer les concentrations à l'équilibre. Tout ajout ou perte d'un élément ou d'une molécule impliqués peut bouleverser l'équilibre du système qui, en conséquence, se déplace. Un système peut rapidement devenir très complexe, alors l'utilisation de modèles mathématiques informatisés pour résoudre ces équations facilite grandement le travail.

À l'intérieur d'un système fermé et bien défini, un équilibre entre les différentes espèces peut éventuellement être atteint et les concentrations à l'équilibre calculées. Dans les eaux naturelles toutefois, les échanges dynamiques avec le milieu (faune, flore, atmosphère) ne permettent pas toujours de réunir des conditions d'équilibre stables. De plus, l'hétérogénéité de la MOD naturelle et le manque de données sur les réactions MOD-métaux rendent risquée l'utilisation de la thermodynamique. Certains auteurs se sont penchés sur le problème; il en sera question dans une section ultérieure (1.4.3).

Il est important de noter que l'atteinte d'un état d'équilibre reste hypothétique sans l'utilisation de principes de cinétique chimique, la thermodynamique ne renseignant aucunement sur le temps impliqué dans le processus d'atteinte de l'état d'équilibre chimique.

1.3.2 Échange ionique

Pour comprendre les phénomènes d'échanges entre une solution et une résine, il est important de bien cerner tous les principes théoriques reliés à ces interactions. De même, certaines hypothèses doivent être considérées pour supporter ces principes.

1.3.2.1 Principes théoriques

Lorsque le métal M^{z+}, impliqué dans la réaction (3), est en présence d'une résine échangeuse d'ions (sous forme sodique: RNa) , une nouvelle réaction s'ajoute, pour laquelle on peut identifier une constante d'équilibre $K^{c}_{\acute{E}l}$. Cette constante est considérée comme conditionnelle à la force ionique et au pH auxquels elle est évaluée.

$$M^{z+} + zRNa \xleftrightarrow{K^{c}_{\acute{E}l}} R_zM + zNa^{+} \qquad (5)$$

$$K^{c}_{\acute{E}l} = \frac{[R_zM][Na^{+}]^{z}}{[M^{z+}][RNa]^{z}} \qquad (6)$$

En présence d'une forte concentration d'un électrolyte fort, tel que le $NaNO_3$, l'échange de l'ion M^{z+} n'influe pas sur la concentration de sodium en solution ou sur la résine de

façon significative. En fixant une force ionique (i) et un pH constants, on peut regrouper les éléments invariables de l'équation (6) et renommer la nouvelle constante $\lambda_{o,i,pH}$, laquelle s'exprime en $l \cdot g^{-1}$:

$$\lambda_{o,i,pH} = K_{\acute{E}l}^{c} \frac{[RNa]^z}{[Na^+]^z} = \frac{[R_zM]}{[M^{z+}]} \tag{7}$$

Cette constante représente le coefficient de distribution du métal M entre une résine R et la concentration d'ion métallique libre en solution. Pour déterminer la concentration de métal lié à la résine, $[R_zM]$, il suffit de récupérer la résine et de la lixivier avec un volume V d'une solution de force ionique plus élevée pour déloger tous les ions en place. L'éluat récupéré peut ensuite être analysé pour déterminer son contenu en métal, $[M_{éluat}]$. Si l'on connaît le poids exact de résine insérée dans la colonne, m_r, on peut calculer $[R_zM]$ avec l'expression suivante:

$$[R_zM] = \frac{[M_{éluat}] * V}{m_r} \tag{8}$$

En combinant les équations (7) et (8), on obtient une équation générale pour déterminer la concentration d'ion métallique libre à l'aide d'une résine échangeuse en colonne, et ce pour une gamme étendue de cations:

$$[M^{z+}] = \frac{[M_{éluat}] * V}{\lambda_{o,i,pH} * m_r} \tag{9}$$

Le coefficient de distribution peut être aisément déterminé en utilisant des solutions ne contenant aucun ligand, dont la concentration en métaux est connue. Si l'électrolyte en solution est non complexant, alors la concentration d'ion libre est égale à la concentration totale du métal, ce qui permet de déterminer précisément $\lambda_{o,i,pH}$ à partir de l'équation (9). Une fois le coefficient de distribution évalué, il est possible d'analyser un échantillon de concentration en ion libre inconnue dont le dosage de $[M_{éluat}]$ permet de calculer $[M^{z+}]$ à l'aide de la même équation.

1.3.2.2 Hypothèses de départ

Les principes énumérés ci-haut sont basés sur quelques hypothèses. Ces hypothèses définissent un cadre de limites à la méthode, mais peuvent être testées afin de connaître l'étendue de leurs validités.

D'abord, tel que mentionné précédemment, tous les échantillons sont noyés avec un électrolyte simple afin de fixer la force ionique. Ceci permet de conserver les concentrations de sodium constantes, en solution et sur la résine, tel que requis par l'équation (7). Cependant, une trop grande concentration de métal peut modifier la validité de cette équation. Il faut donc que la concentration de sodium sur la résine demeure dominante sur celle des autres cations afin de conserver une condition dite trace ($[RNa^+] >> [R_zM]$). Si les métaux en solution occupent moins de 1% de tous les sites, alors on peut considérer que les variations de concentration en sodium ne sont pas significatives.

La sélectivité de la résine à l'ion libre est hypothétique. Il est possible qu'une autre espèce (MX^{n+}), chargée positivement, soit liée à la résine (XMR) selon l'équation (10):

$$MX^{n+} + nRNa \longleftrightarrow XMR + nNa^+ \qquad (10)$$

Dans ce cas, l'équation (9) surestime $[M^{z+}]$ en traitant tout le métal lié à la résine comme libre. Également, l'état stationnaire entre les différents composés en solution et entre cette solution et la résine reste à être démontré. Ceci requiert des éléments de cinétique chimique.

Finalement, la MOD contenant des chaînes aromatiques ou non polaires peut s'adsorber et obstruer des sites à la surface de résines de styrène et de divinylbenzène copolymérisés [Bio-Rad 1988]. Ceci peut causer de l'interférence dans la mesure où la MOD adsorbée peut complexer plus ou moins de métal que les sites obstrués et ainsi surestimer ou sous-estimer la proportion de métal libre.

1.4 Revue de littérature

1.4.1 Travaux antécédents

Jusqu'à tout récemment, l'échange ionique était utilisé principalement comme une méthode de séparation des métaux selon la force des complexes [Batley 1989; Figura and McDuffie 1980]. Pourtant, le potentiel d'utilisation de l'échange ionique comme technique de dosage de l'ion métallique libre a été démontré dès 1948 [Schubert 1948]. L'utilisation d'une résine sulfonique s'étant révélée plus appropriée que d'autres types (iminodiacétique), seuls certains travaux concernant cette résine sont présentés.

Cantwell *et al.* (1982) ont utilisé une résine Dowex 50W-X8 (50-100 mesh; 149-289 µm) en colonne pour doser le Ni^{2+} dans des eaux usées afin d'en déterminer la capacité de complexation. La force ionique était fixée à 0,20 M en ajoutant du $NaNO_3$ aux solutions. Les auteurs ont démontré qu'il n'y avait pas d'interférence de la matière organique naturelle par colmatage. Sur trois colonnes, les volumes d'échantillons utilisés ont été augmentés graduellement, la deuxième ayant reçu le double de la première et la troisième le triple. Il n'y avait alors pas de tendance apparente dans la distribution du Ni avec l'augmentation du volume ajouté à la colonne.

Cette même méthode a, par la suite, été miniaturisée et semi-automatisée par Treit *et al.* (1983) et, cette fois, calibrée pour le dosage de l'ion cuprique Cu^{2+}. À la suite de cette étude, Sweileh *et al.* (1987) ont fait quelques expériences avec des ligands organiques (phtalate, glycine, citrate, salicylate et acide fulvique) et inorganique (chlorure) en utilisant, cette fois-ci, des particules de résine plus petites (100-200 mesh; 74-149 µm). Les résultats de ces expériences ont été comparés à ceux obtenus à l'aide d'une électrode sélective, particulièrement sensible à ce métal. Les concentrations de Cu^{2+} en présence de citrate et d'acide fulvique semblaient identiques à celles détectées par l'électrode sélective. Cependant, dans le cas des expériences avec le phtalate, la glycine et le salicylate, les concentrations de Cu^{2+} obtenues par échange ionique étaient significativement plus élevées, suggérant la l'adsorption de complexes neutres et/ou cationiques sur la résine. Les résultats de l'expérience avec le chlorure étaient en accord avec les valeurs théoriques calculées mais aucune mesure n'a été prise avec l'électrode sélective.

Ensuite, Ren et Kratochvil (1995a) ont modifié la technique afin de mesurer le calcium et le magnésium libres dans des échantillons d'urine. La résine utilisée était la Dowex 50W-X8 de 37 à 74 µm de diamètre (200-400 mesh). La particularité de l'approche consistait à contourner la nécessité de maintenir des conditions traces (lorsque l'élément recherché occupe moins de 1% des sites sur la résine). En présence de plusieurs cations dominants, ils ont établi une relation entre quatre couples, Ca/Na, Ca/K, Mg/Na et Mg/K par des équations d'équilibres chimiques. L'analyse de l'éluat pour ces différents cations permettait de déterminer, par régression multiple, les concentrations de Ca^{2+} et de Mg^{2+}. La méthode a été calibrée à l'aide d'étalons de différentes concentrations de ces cations et testée avec un ligand organique dont les constantes d'équilibres chimiques sont bien connues, le citrate.

Les mêmes auteurs sont ensuite revenus à l'utilisation de la méthode dans des conditions traces, en utilisant le potassium comme contre-ion [Ren and Kratochvil 1995b]. Les résultats de leurs travaux ont permis de déterminer une constante thermodynamique d'équilibre pour un complexe magnésium-acide malonique.

Avec une résine similaire (Dowex 50W-X4, 200-400 mesh, sous forme Ca^{2+}), Werner (1987) a calibré une méthode par lots pour mesurer le cadmium et le zinc libres. Ses résultats ont démontré une faible dépendance du coefficient de distribution vis-à-vis de la force ionique de la solution alors que la température n'avait pas d'effet sur celui-ci. De même, ce coefficient était constant pour une grande gamme de concentrations, de 1,2 nM à 2,7 µM pour le Cd et de 46 nM à 15 µM dans le cas du Zn. Des expériences avec l'acide nitrilotriacétique (NTA), notamment, semblaient démontrer une bonne corrélation avec des valeurs théoriques d'ions libres. Il est important de noter que cette étude utilisait un principe différent pour calculer la concentration d'ion libre en solution, similaire à celui de Ren et Kratochvil (1995a), dans des conditions non-traces. Dans cette approche, les concentrations de Mg sur la résine et en solution étaient employées pour corriger le coefficient de distribution effectif pour le métal trace d'intérêt.

D'autres auteurs se sont penchés sur le potentiel d'utilisation de résine sulfonique pour déterminer la concentration d'ion libre en lots plutôt qu'en colonne, dont Holm *et al.*

(1995) et Desnoyers (1995). Ces travaux ont démontré une très bonne sélectivité à l'ion libre Cd^{2+} en présence de chlorure et de sulfate.

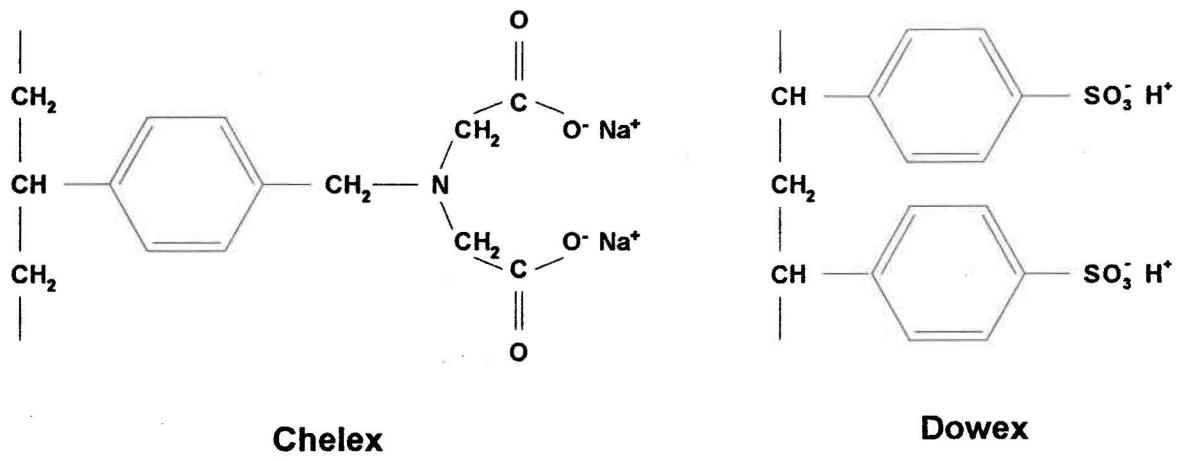
1.4.2 Caractéristiques physico-chimiques du système résine-solution

Lorsqu'une solution entre en contact avec un support solide tel une résine échangeuse d'ions, l'interaction entre les deux phases risque d'avoir un impact sur l'équilibre chimique de la solution. La perte d'ions métalliques de la solution vers la résine peut exercer une pression sur l'équilibre chimique de certaines réactions en solution tel que démontré dans l'équation (2). En revanche, il est possible de minimiser cet impact (ex.: en maximisant le rapport {volume de solution:quantité de résine}) pour ne pas compromettre le critère de perturbation minimale (section 1.2.1).

1.4.2.1 Type de résine échangeuse

Un paramètre important qui peut influer sur l'équilibre chimique est le type de résine utilisé ou, en d'autres mots, le groupement fonctionnel actif. Un groupement possède une affinité spécifique pour chaque ion, ce qui explique que certaines résines retiennent plus de métaux que d'autres. Ceci dépend de la nature de la liaison.

Une résine cationique du type Chelex possède un groupement fonctionnel iminodiacétate (figure 1.2) qui forme des liens de chélation avec des cations bivalents. Ces liens très stables peuvent forcer des complexes labiles en solution à se dissocier. Vu cette grande affinité, il serait difficile de s'assurer du maintien de conditions traces sur la résine (c.-à-d. $[RNa^+] >> [R_zM]$). L'utilisation d'une résine Chelex donne plutôt une indication des différentes formes chimiques présentes, labiles ou non labiles [Figura and McDuffie 1977; 1979; 1980]. Comparativement, une résine sulfonée du type Dowex (figure 1.2) forme des liens moins stables qui peuvent présenter une moins grande menace pour l'équilibre des complexes labiles en solution. Cette dernière possède un groupement fonctionnel sulfonique fortement acide (pK = 2), ce qui permet une utilisation sur une grande gamme de pH.



Chelex **Dowex**

Figure 1.2: Structures moléculaires des résines Chelex et Dowex

1.4.2.2 Dimensions des particules de résine

De façon générale, le débit en colonne croît avec le diamètre des particules de résine étant donné le plus grand espace disponible entre les billes. En revanche, la surface de contact par gramme de résine augmente avec une diminution du diamètre; la capacité d'échange d'une résine plus petite est donc bonifiée. Ainsi, un diamètre réduit permet un meilleur temps de diffusion de la solution vers les sites d'échange (moins de temps nécessaire pour atteindre le centre de la résine), ce qui diminue le temps requis pour atteindre un état stationnaire.

1.4.2.3 Degré de réticulation

La matrice de la plupart des résines échangeuses d'ions modernes consiste en un polymère de styrène entrecoupé à intervalles de divinylbenzène (DVB), sur lequel un groupement fonctionnel (ex. SO_3^-) peut être ajouté (figure 1.2). Le pourcentage de copolymérisation de DVB peut varier de 2 à 16%. Cet indice détermine le degré de réticulation du polymère. Plus l'indice augmente, plus la perméabilité diminue, ce qui fait baisser la limite d'exclusion du poids moléculaire en bloquant l'accessibilité aux plus grosses molécules tel que le démontre le tableau 1.2 [Bio-Rad 1988].

Le degré de réticulation aura donc un impact sur l'accessibilité de ces sites. Ceci implique un taux de diffusion ionique plus lent pour un degré de réticulation élevé, étant

donné la porosité plus faible de la résine. Le choix du taux de DVB représente un compromis entre rapidité et sélectivité. La résine à 2% de DVB est la plus poreuse donc la plus rapide à atteindre un équilibre avec son milieu mais la moins sélective en fonction du soluté. Celle à 16% de DVB est la plus lente à atteindre l'équilibre en raison de sa faible porosité et la plus sélective.

Tableau 1.2: Limite d'exclusion du poids moléculaire d'après le degré de réticulation.

% de DVB	Limite d'exclusion approximative (poids moléculaire)
2	2700
4	1400
8	1000
10	800
12	400

1.4.2.4 Choix du contre-ion

Les structures chimiques des résines Dowex et Chelex sont respectivement illustrées avec des contre-ions H^+ et Na^+ (figure 1.2). Pourtant, la forme ionique de la résine peut être convertie au besoin par une procédure appropriée. À mesure que des cations de l'échantillon à analyser viennent se lier à la résine, ces contre-ions sont largués en solution. L'impact de ce largage se répercute plus ou moins fortement sur la solution à analyser. Si la résine est utilisée sous la forme protonée (H^+), le pH de la solution sera sans doute affecté. Considérant que le pH a un effet direct sur la spéciation chimique, il est préférable de sélectionner un contre-ion qui aura moins d'effet sur le pH.

La résine ayant une affinité différente pour chaque cation, le choix du contre-ion aura un impact sur le degré de compétition entre ces derniers et les cations environnants. Le coefficient de distribution (λ_o) d'un cation donné est donc dépendant du choix du contre-ion. De plus, la sensibilité du coefficient à des fluctuations de pH peut aussi dépendre du choix du contre-ion. Elle sera accentuée lorsque le contre-ion a une affinité approchant celle de l'ion hydronium et atténuée lorsque le contre-ion possède une affinité supérieure. L'affinité relative des divers cations pour une résine sulfonée est présentée dans le tableau 1.3 [Bio-Rad 1996].

Tableau 1.3: Sélectivité relative des contre-ions pour une résine de type sulfonique [Bio-Rad 1996]

Contre-ion	Sélectivité relative
H^+	1,0
Na^+	1,5
NH_4^+	1,95
Mn^{2+}	2,35
K^+	2,5
Mg^{2+}	2,5
Fe^{2+}	2,55
Zn^{2+}	2,7
Co^{2+}	2,8
Cu^{2+}	2,9
Cd^{2+}	2,95
Ni^{2+}	3,0
Ca^{2+}	3,9
Hg^{2+}	7,2
Pb^{2+}	7,5

1.4.2.5 Force ionique

Une résine telle que la Dowex possède une excellente affinité pour les cations. Une fois accroché à la résine, un cation ne fait plus partie de la phase aqueuse du système, ce qui perturbe l'équilibre chimique. L'ajout d'un électrolyte est souhaitable pour deux raisons. D'abord, le coefficient de distribution λ_o est constant et connu. Également, cet ajout provoque une compétition pour les sites de la résine et permet d'atteindre plus rapidement un état stationnaire entre la résine et la solution, où l'équilibre chimique du système ne sera plus affecté.

Cependant, l'ajout d'un électrolyte est susceptible de perturber le système d'une autre façon. Les relations thermodynamiques entre les différents ions sont en effet dépendantes de leurs activités qui sont spécifiques à chaque ion, et cette activité variera en fonction de la force ionique. Cet impact est toutefois moins important comparé à la possibilité d'interférence par la complexation en solution qui peut se produire avec

l'anion de cet électrolyte, particulièrement si une concentration élevée est nécessaire. Le choix d'un anion dont le K_{eq} avec le métal d'intérêt est faible est souhaitable.

1.4.3 Interactions métaux-MOD naturelle

Pour une multitude de ligands organiques, il existe plusieurs sources d'informations sur les constantes d'équilibres chimiques [Smith and Martell 1974; 1975; 1976; 1977; 1982; Smith *et al.* 1993] qui permettent de calculer les concentrations des différentes espèces chimiques en solution à l'équilibre. Cependant, il est difficile de trouver des valeurs générales concernant les interactions entre les métaux et la MOD naturelle telle que les acides humiques et fulviques.

Ces acides organiques sont produits par la dégradation microbienne et chimique de résidus végétaux et animaux en milieu naturel [Senesi 1990]. La séparation entre acides fulvique et humique se fait après l'extraction des deux fractions en acidifiant l'extrait à pH 1; la fraction demeurant en solution représente l'acide fulvique et celle qui a précipité, l'acide humique [Senesi 1990]. Ces acides peuvent être d'origine terrestre ou aquatique. Peu importe leur origine, les acides humiques et fulviques sont de nature hétérogène au point de vue chimique et ne peuvent être définis par une seule structure ou un seul poids moléculaire. Pourtant, Schulten et Schnitzer (1993) ont proposé un concept de structure complexe des acides humiques (figure 1.3).

En général, les acides fulviques se caractérisent par un poids moléculaire plus faible, une proportion plus faible de carbone aromatique et total et un taux plus élevé de groupements fonctionnels contenant de l'oxygène que les acides humiques [Senesi 1990]. Selon Sigg *et al.* (1992), les principaux groupements fonctionnels des acides humiques et fulviques impliqués dans la complexation des métaux sont les groupes carboxyliques, les groupes OH phénoliques et de façon moins marquée, des groupements comportant du N et du S.

Plusieurs facteurs influencent la spéciation des métaux en présence des acides humiques et fulviques, entre autres le pH, la concentration de ces acides, la force ionique, la nature du métal et la compétition entre les différents métaux pour ces ligands

[Saar and Weber 1979; Perdue 1989]. Tipping (1994) a développé un modèle informatisé (WHAM) pour représenter la complexation des métaux par ces acides. Dans la présente étude nous avons scruté la spéciation du Cd et du Zn dans des solutions contenant l'acide fulvique; ces résultats expérimentaux seront confrontés aux prédictions du modèle WHAM.

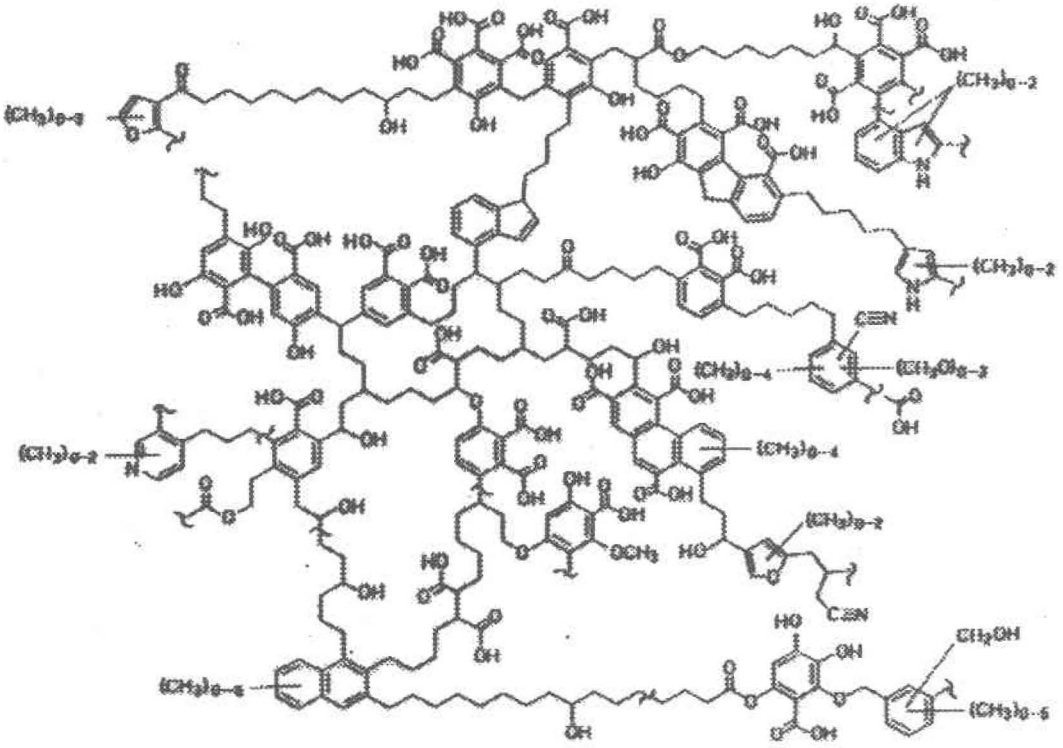


Figure 1.3: Structure moléculaire de l'acide humique proposée par Schulten et Schnitzer (1993)

1.5 Objectifs

Le projet s'intègre à un programme de recherche qui vise le développement d'un modèle général pour prédire les effets toxiques des métaux chez les poissons d'eau douce en présence de matière organique dissoute (MOD) naturelle. Selon le modèle de l'ion libre (MIL), l'influence de la MOD naturelle sur la toxicité des métaux se limite à la complexation du métal d'intérêt. Afin de tester adéquatement ce modèle dans des milieux contenant de la MOD, il était essentiel de disposer d'outils analytiques fiables pour déterminer la spéciation des métaux d'intérêt dans les milieux d'exposition.

L'objectif principal consistait donc à mettre au point une méthode, à l'aide d'une résine échangeuse d'ions, pour mesurer la concentration d'ion libre ($[M^{z+}]$) dans de telles matrices complexes.

Les deux éléments étudiés, le cadmium et le zinc, ont été choisis surtout à cause de leur sensibilité à l'acidification du milieu; leurs concentrations dans les eaux superficielles augmentent en réponse à l'acidification environnementale [Nelson and Campbell 1991]. De plus, l'absence de méthodes fiables pour mesurer de faibles concentrations de ces métaux sous la forme M^{z+} suscitait un intérêt supplémentaire.

Afin de s'assurer de la fiabilité de la méthode, plusieurs étapes ont été identifiées: (i) comparer les concentrations d'ions métalliques libres obtenues avec celles calculées pour des ligands modèles dont les constantes thermodynamiques sont bien connues; (ii) vérifier la sélectivité de la résine Dowex 50W-X8 pour l'ion métallique libre vs. des complexes métaux-ligands chargés positivement; (iii) vérifier la possibilité d'interférence de la MOD par adsorption; (iv) étudier la complexation du cadmium et du zinc en présence d'acide fulvique laurentien afin de permettre le design rationnel de milieux d'exposition de poissons qui serviront à tester la validité du MIL pour des poissons; et (v) miniaturiser la méthode afin d'en faciliter l'utilisation fréquente.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Produits, réactifs et eau ultra-pure

Tous les contenants utilisés pour la préparation et la conservation de solutions étaient de polyéthylène haute-densité (HDPE), polypropylène copolymère (PPCO) ou de tétrafluoroéthylène (TFE). Ces contenants, ainsi que tout autre équipement qui devait entrer en contact avec les solutions, étaient minutieusement rincés sept fois à l'eau ultra-pure après un trempage de 24 heures dans un bain d'acide nitrique (10-15%). L'eau ultra-pure était pourvue par un système commercial de purification pour usage analytique (résistivité ~18 Mohms·cm^{-1}). Le système comprenait des résines échangeuses d'ions, des colonnes d'adsorption au charbon et des membranes filtrantes à 0,2 µm. Une fois rincé, l'équipement était ensuite mis sous la hotte à flux laminaire pour le séchage afin d'éviter la contamination par la poussière. Lors des manipulations, le port de gants sans poudre (*Fisher*) a permis de minimiser le risque de contamination.

Les réactifs utilisés ont été sélectionnés pour leurs puretés, ainsi, l'acide nitrique (*JTBaker Trace metals grade*), l'hydroxyde de sodium (*BDH Aristar* ou *Alfa Ultrapure*) et le nitrate de sodium (*BDH AnalaR* ou *Alfa Ultrapure*) étaient de bonne qualité en terme de concentrations d'impuretés telles que les métaux lourds. Le poids nécessaire à la préparation de solutions à partir de cristaux était mesuré précisément à l'aide d'une balance *Sartorius* alors que les volumes étaient mesurés à l'aide de pipettes *Pipetman* ou *Finnpipette*.

Les mesures de pH se faisaient à l'aide d'un pH-mètre de marque *Fisher Accumet* 915 et d'une électrode combinée *AccupHast,* également de *Fisher.* Des tampons de pH 4,01 et 7,00 (*Fisher*) ont été utilisés pour la calibration du pH-mètre.

Des étalons étaient préparés à partir de solutions de 1000 ppm de cadmium et zinc dans une matrice de 5% HNO_3 provenant de *Fisher.* L'acide chlorhydrique ne pouvait être utilisé étant donné la grande affinité entre le cadmium et l'ion chlorure. Une fois les dilutions effectuées, les étalons étaient conservés au réfrigérateur. Les concentrations de métaux en solution ont été dosées à l'aide d'un spectrophotomètre à absorption

atomique au four au graphite ou à la flamme (*SpectrAA* 20 et 300), selon les concentrations. La calibration de l'appareil se faisait toujours avec des étalons dont la matrice était semblable à celle des échantillons à analyser. Les méthodes et paramètres utilisés ont été reproduits en annexe (section 7.1).

Les colonnes utilisées pour l'échange ionique provenaient de *Kontes* et étaient de silice de verre[1] avec des extrémités de polyéthylène de haute densité. Un support poreux de polyéthylène retenait la résine dans la colonne. Les colonnes utilisées pour la préparation de la résine avaient 50 cm de long et 2,5 cm de diamètre alors que celles employées pour le dosage de l'ion libre avaient 30 cm de long et 1 cm de diamètre. Des entonnoirs de HDPE facilitaient l'ajout de solution aux colonnes (*Kontes*).

2.2 Prétraitement et conversion de la résine

Afin de se débarrasser des impuretés organiques et inorganiques que l'on retrouve habituellement sur les résines provenant directement du manufacturier [Price *et al.* 1989], un prétraitement s'imposait.

D'abord, approximativement 25 g de résine, telle que reçu de *Sigma* (Dowex 50W-X8, 50-100 mesh), était immergée dans l'eau ultra-pure. Une fois la résine déposée au fond, les particules et poussières indésirables étaient évacuées par décantation. Ce processus devait être répété dix fois. La résine était alors transférée avec de l'eau ultra-pure dans une colonne où 200 ml d'une solution de HCl 4,0 M était immédiatement ajoutée. L'effluent devait être incolore à la fin de l'ajout. Une grande quantité d'eau ultra-pure (~2,5 litres) était nécessaire afin de rétablir le pH à son niveau originel (~5,7-6,3).

Pour convertir la résine à la forme Na^+, il suffisait d'ajouter 500 ml de NaOH 3,0 M, en vérifiant que le pH était stable pour les 200 derniers millilitres. Puis, le pH est rétabli entre 5,7 et 6,3 en rinçant la résine à l'aide de sept litres d'eau ultra-pure. Ensuite, pour nettoyer la résine des impuretés organiques, 250 ml de méthanol (grade HPLC de *Baxter*) et d'eau ultra-pure étaient versés successivement dans la colonne.

[1] Des essais en colonnes sans résine n'ont démontré aucune adsorption significative des métaux sur la paroi à pH 5,50.

La résine était finalement recueillie dans un contenant de HDPE et mise à l'étuve pour le séchage à 45°C pendant 48 heures. Une fois séchée, la résine était entreposée dans un contenant de polyéthylène bien fermé, placé à l'intérieur d'un dessiccateur afin d'éviter toute contamination par la poussière et/ou l'humidité.

2.3 Purification de la solution d'électrolyte ($NaNO_3$)

Une grande pureté de l'électrolyte était désirable afin de pouvoir maîtriser la technique d'échange ionique (TÉI) pour le dosage de l'ion libre où l'importance relative des impuretés a un impact déterminant sur la limite de détection de la technique. Étant donné la grande quantité de sel nécessaire pour fixer la force ionique des solutions, l'achat de sels ultra-purs était trop coûteux. Une solution stock de 2,0 M $NaNO_3$ a donc été purifiée avec une résine Chelex pour permettre son utilisation à de basses concentrations en métaux.

Plusieurs auteurs ont traité de la capacité de la résine Chelex, une résine chélatrice contenant des groupements iminodiacétate (figure 1.2), à lier les métaux traces en solution. A partir des travaux de Figura et McDuffie (1977), Pai *et al.* (1990) et Price *et al.* (1989), un protocole de préparation de résine Chelex ainsi qu'un protocole de purification de solutions ont été établis.

Price *et al.* (1989) évoquent la possibilité de contamination par des agents chélateurs qui seraient libérés par la résine Chelex et ont mis au point une méthode de purification qui permet d'éviter ce problème. Ce protocole a été repris sans modification. La résine Chelex (~40 g) était successivement: i) immergée de 3 à 4 heures dans le methanol (200 ml) puis rincée avec 750 ml d'eau ultra-pure; ii) transférée dans 200 ml de 1 M HCl pour la nuit et le lendemain rincée avec 1 l d'eau ultra-pure; iii) trempée dans une solution de 200 ml de 3 M NH_4OH pour une semaine puis rincée avec 1 l d'eau ultra-pure; iv) immergée pendant 10 minutes dans une solution 0,1 M HCl et rincée avec 2 l d'eau ultra-pure; v) transférée dans 1 l d'une solution de même matrice que celle qui doit être purifiée pour ensuite ajuster le pH à 7,5 (nécessite plusieurs heures). La résine était alors prête pour la purification des solutions d'électrolyte.

Le pH est un des paramètres importants qui contrôle la capacité de rétention de la résine Chelex. Figura et McDuffie (1977) ont observé, par des essais en colonnes, une efficacité maximale à un pH de 6,5 et plus pour une gamme de métaux (Cd, Co, Cu, Ni et Zn) à des concentrations respectives de 0,7, 3,4, 3,1, 3,4 et 0,6 µM. Dans ce cas, 2 g de résine (sous forme Ca^{2+}) suffisaient pour purifier 500 ml de solution contaminée. Pai *et al.* (1990) ont, quant à eux, évalué la performance de la résine Chelex sous forme Mg^{2+} à nettoyer des solutions contenant une plus grande gamme de métaux (Cd, Cu, Co, Cr(III), Cr(VI), Fe, Mn, Mo, Ni, Zn, Pb, V) à différentes concentrations. Ces expériences s'avèrent très intéressantes par leurs dimensions: 10 l de solution pour 20 g de résine à un débit de 20 $ml \cdot min^{-1}$. Ces conditions s'adaptent mieux au contexte présent de décontamination de solutions de nitrate de sodium.

L'efficacité de deux méthodes de prétraitement a été comparée. La première, d'après les travaux de Figura et McDuffie (1977), se déroulait en continu en faisant circuler deux fois quatre litres de solution à l'intérieur d'une colonne contenant 40 g de résine Chelex sous forme Na^+ à un débit de 20 $ml \cdot min^{-1}$. La seconde, d'après les travaux de Pai et al. (1990), se faisait en lots (*batch*) dans lesquels un litre de solution était traité à la fois avec la même quantité de résine. Après avoir agité pendant 48 heures le mélange solution/résine à pH 7,0, la solution finale était filtrée pour se débarrasser de particules indésirables laissées par la friction entre les billes de Chelex lors de l'agitation. Après dix utilisations, la résine était régénérée par élution avec 200 ml d'acide nitrique (1,5 M) suivi de deux litres d'eau ultra-pure. Chaque méthode impliquait une filtration comme étape préliminaire (filtre *Millipore*, type HA de 0,45 µm). Les solutions purifiées provenant de ces deux méthodes ont ensuite été dosées avec la TÉI en mode manuel sans ajout de métaux pour vérifier laquelle donnerait le plus faible signal dans l'éluat de la résine.

2.4 Calculs théoriques

Avec l'avènement de l'informatique, plusieurs logiciels informatiques ont été développés pour faciliter les calculs thermodynamiques d'équilibres chimiques. Il suffit d'introduire dans ces modèles les concentrations totales de cations et d'anions choisis, le pH, le potentiel rédox, la température, la pression partielle de CO_2 et les constantes de

formation appropriées pour les complexes susceptibles de se former (avec leurs différences d'enthalpie). L'ordinateur calcule ensuite, par itérations, les concentrations des différentes espèces à l'équilibre.

2.4.1 Modèle MINEQL+

Plusieurs modèles mathématiques informatisés permettent de faire ces calculs tel HYDRAQL, MINTEQ et MINEQL+. Ce dernier a été choisi en fonction de sa facilité d'utilisation et de son interface de traitement de données flexible (possibilité de titration, compatibilité avec d'autres logiciels, etc.). La version 3.01 [Schecher and McAvoy 1994] a été utilisée pour comparer les concentrations d'ions métalliques libres mesurées avec la technique d'échange ionique avec les concentrations des différentes espèces à l'équilibre calculées à l'aide du modèle. Les conditions d'opération ainsi que les constantes de formation et les différences d'enthalpie utilisées sont décrites en annexe (section 7.2).

2.4.2 Modèle WHAM

Ce modèle, développé récemment par Tipping (1994), permet aussi de calculer les concentrations à l'équilibre des différentes espèces en solution, mais ceci en présence d'acide fulvique (AF) et/ou humique (AH). Tipping (1994) a sélectionné des constantes de formation métaux-AF/AH disponible dans la littérature et les a incorporées à un modèle pour l'eau, les sédiments et les sols. Ce modèle est basé sur des interactions chimiques et électrostatiques spécifiques; contrairement à MINEQL+, ce modèle tient compte du caractère polyélectrolyte des acides humiques et fulviques. De plus, ce modèle prend en considération les concentrations de métaux (puisque le degré de complexation diminue avec la concentration de métaux) afin de déterminer la spéciation. Les valeurs mesurées de $[M^{z+}]$ à l'aide de la technique d'échange ionique en présence d'AF seront confrontées aux prédictions de ce modèle.

2.4.3 Choix des constantes thermodynamiques d'équilibres

Toutes les constantes utilisées dans les logiciels MINEQL+ et WHAM ont été vérifiées et modifiées, si nécessaire, en fonction des valeurs retrouvées dans une base de données

récente, publiée par le *National Institute of Standards and Technology* (NIST) contenant des valeurs compilées et mises à jour par Smith *et. al* (1993). Ces valeurs ont une importance critique puisqu'elles servent au calcul des concentrations des différentes espèces en solution. Ces résultats sont ensuite comparés avec ceux obtenus par la TÉI. Une comparaison de valeurs incluses dans les fichiers de MINEQL+, de celles publiées antérieurement par Smith et Martell (1974; 1975; 1976; 1977; 1982) et du NIST (*National Institute of Standards and Technology*) a démontré une grande divergence due à des erreurs qui s'étaient glissées dans la banque de données du logiciel MINEQL+ [Fortin et Gauthier 1995; EPA 1995; Serkiz *et al.* 1996]. En cas de divergence, les constantes dans MINEQL+ et WHAM ont été remplacées par celles données dans la base de données du NIST. Les constantes utilisées pour les calculs de spéciation ont été reproduites en annexe (section 7.2).

2.5 Procédure de dosage de l'ion libre

2.5.1 Technique en mode manuel

Il existe plusieurs paramètres qui conditionnent l'utilisation de résines échangeuses d'ions en colonne. Certains ont été fixés d'après les résultats obtenus dans les travaux antérieurs de Cantwell *et al.* (1982) tels que le type de résine (Dowex 50W-X8, 50-100 mesh), la quantité de résine (0,300 g), la forme ionique de la résine (Na^+) et le choix de l'électrolyte ($NaNO_3$).

2.5.1.1 Optimisation des paramètres

La quantité d'électrolyte ($NaNO_3$) à ajouter à l'échantillon pour accélérer l'atteinte d'un état stationnaire a été le premier paramètre à être optimisé. Pour ce faire, 0,300 g de résine sous forme Na^+ (voir section 2.2) préalablement insérée dans une colonne avec un peu d'eau ultra-pure a été exposée à une solution contenant du zinc (2,0 µM) et des concentrations désirées de $NaNO_3$ (0,10, 0,20 et 0,30 M). Une concentration de zinc élevée était nécessaire afin de permettre un dosage par absorption atomique à la flamme, une technique qui est relativement insensible aux effets de matrice causés par l'électrolyte. Pour un volume total d'un litre, chaque volume de 50 ml a été recueilli séparément à la sortie de la colonne dans des bouteilles HDPE 60 ml contenant déjà 50

µl de HNO_3 à 70% (0,1% v/v). Par la suite, la concentration en zinc de chaque échantillon à été déterminée par absorption atomique à la flamme. Ceci a permis de vérifier le volume de solution nécessaire pour atteindre l'état stationnaire entre la résine et le zinc en solution selon la concentration de $NaNO_3$. Lorsque l'état stationnaire est atteint, le taux d'adsorption du métal est égal au taux de désorption, et donc la résine n'affecte plus la concentration du métal dans la solution.

Une fois la concentration optimale de $NaNO_3$ déterminée, quatre expériences dans les mêmes conditions (poids de résine, concentrations de zinc et de nitrate de sodium) ont été effectuées pour obtenir un profil d'élution. Après le passage de 1 litre de la solution, 10 ml d'eau ultra-pure ont été ajoutés pour éliminer la solution retenue dans l'espace interstitiel, à la suite de quoi une légère pression d'air (air zéro, *Air Liquide*) a été appliquée afin de forcer le liquide à sortir. Quatre concentrations de HNO_3 ont été examinées dans l'étape d'élution: 0,50, 1,0, 1,5 et 2,0 M. Un volume de 100 ml a servi à obtenir un profil cinétique d'élution, où chaque 10 ml a été collecté individuellement et analysé par absorption atomique à la flamme. Le pH expérimental était de 6,0 et le débit entre 5 et 6 $ml \cdot min^{-1}$.

2.5.1.2 Méthodologie

Pour débuter, 300 mg de résine[2] convertie à la forme sodique était insérée dans la colonne avec une solution 0,20 M $NaNO_3$ au pH préalablement ajusté au niveau désiré, en s'assurant bien qu'il ne restait plus de résine dans le contenant. Suffisamment de solution électrolyte était ajoutée à un débit de 5,5 ± 0,5 $ml \cdot min^{-1}$ pour stabiliser le pH de la résine.

Une fois le pH de la résine devenu stable, 500 ml de solution 0,20 M $NaNO_3$ (toujours au même pH) contenant les concentrations désirées de M^{2+} et de ligand étaient graduellement introduits dans la colonne en maintenant le niveau de liquide dans la colonne le plus constant possible afin de conserver la même pression hydrostatique. Au cours de l'expérience, trois lectures de pH étaient prises. Une fois tout le liquide écoulé, le débit moyen était calculé.

[2] Il était important de prendre en note le poids exact de la résine pour déterminer la concentration d'ion libre à l'aide de l'équation (9).

À l'occasion, les derniers ~50 ml à passer à travers la résine étaient acidifiés à 0,1% (HNO_3 v/v) et conservés pour comparer avec la concentration de la solution originel, avant que la solution n'entre en contact avec la résine. Si $[M]_{init.} = [M]_{final}$, alors il y a un état stationnaire entre la résine et la solution. Bien sûr, cette affirmation n'était valide que dans des cas où l'ion libre était une espèce dominante. Dans des cas où le métal libre ne représentait qu'une faible fraction de la concentration totale, cette dernière ne pouvait être modifiée de façon significative, ce qui rendait la comparaison des concentrations initiale et finale inutile.

Ensuite, une fois toute la solution écoulée, 10 ml d'eau ultra-pure étaient ajoutés afin d'éliminer toute trace de solution dans les espaces interstitiels. Une pression d'air suffisante pour évacuer tout le liquide était alors appliquée.

Par la suite, la résine était lixiviée de tous ses métaux à l'aide de 50 ml de HNO_3 1,5 M. Encore une fois, une pression d'air suffisante pour évacuer complètement l'acide était appliquée. L'éluat était récupéré dans un contenant de 60 ml (HDPE), puis ultérieurement analysé par absorption atomique pour déterminer $[R_zM]$. La concentration d'ion libre (M^{z+}) était finalement calculée à l'aide de l'équation (9).

2.5.2 Technique en mode semi-automatique

La méthode analytique initiale, telle que décrite précédemment, s'est avérée inapplicable dans certains cas, principalement à cause des grands volumes d'échantillons nécessaires et, par conséquent, du temps requis au dosage de l'ion libre. C'est dans cette optique que la méthode a été miniaturisée (figure 2.1).

Le couplage décrit par Treit *et al.* (1983) qui ont connecté la colonne de résine directement sur un spectrophotomètre d'AA dédié ne semblait pas très efficace pour plusieurs raisons. Premièrement, la monopolisation d'un appareil aussi fréquemment utilisé qu'un spectrophotomètre d'absorption atomique à flamme semblait inacceptable. Deuxièmement, l'utilisation de ce type d'appareil posait des problèmes d'ordre analytique: limite de détection élevée, pas de possibilité de reprise sur le dosage sans

répéter l'expérience, calibration quotidienne complexe, variation temporelle du signal d'absorbance difficilement contrôlable. La miniaturisation a donc été modifiée afin de mieux répondre aux besoins spécifiques des éventuels utilisateurs. Les modifications apportées à l'automatisation par Ren et Kratochvil (1995a) sont similaires à celles décrites ci-dessous. Ces changements apportés ont été appris ultérieurement à la réalisation de ces travaux et se sont donc faits parallèlement.

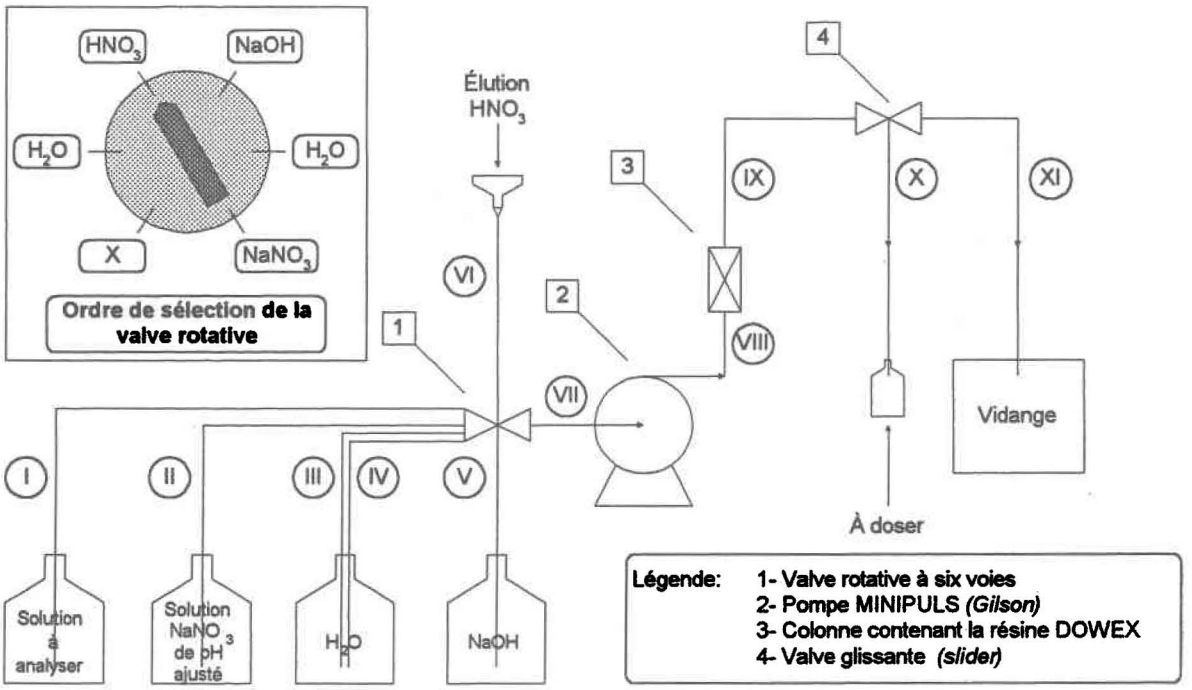


Figure 2.1: Schéma de la méthode d'échange ionique miniaturisée

L'équipement de base consistait en une pompe Minipuls (*Gilson*), une valve rotative à six voies (*Milton Roy*), une valve coulissante (*Milton Roy*), un entonnoir (*Varian*) et une colonne de résine Dowex 50W-X8. À l'exception des tuyaux *Tygon* (*Technicon* vert-vert) qui se rendaient à la pompe (VII, VIII et IX dans la figure 2.1), tous les tubes, valves et connexions étaient de TFE. Le montage a été assemblé selon la figure 2.1 et inséré dans une boîte d'acrylique (20 X 20 X 20 cm) afin d'éviter le dépôt de poussière.

2.5.2.1 Optimisation des paramètres

De la même façon que les paramètres ont été optimisés en mode manuel, le débit, la concentration d'acide, la force ionique et les volumes ont été examinés en mode semi-automatique.

D'abord, en considérant les résultats obtenus en mode manuel et en tenant compte du facteur de concentration désiré et du volume d'élution visé, la quantité de résine a été fixée entre 7 et 8 mg. La pompe a ensuite été calibrée pour connaître le débit exact du système. Pour le profil d'atteinte d'un état stationnaire entre la résine et la solution, un total de 50 ml d'échantillon a été utilisé où chaque volume de 5 ml était récolté à la sortie de la colonne, puis analysé. Trois combinaisons de force ionique et de débits ont été utilisées pour obtenir des profils et déterminer la meilleure option: 0,10 M et 2 $ml \cdot min^{-1}$, 0,20 M et 2 $ml \cdot min^{-1}$, et finalement 0,20 M et 5 $ml \cdot min^{-1}$. Ces profils ont été obtenus pour le cadmium (0,90 µM) et le zinc (1,5 µM) à un pH de 4,5. Les concentrations d'acide nitrique pour l'élution (1,5 à 3,0 M) et les débits d'élution (0,5 à 5,0 $ml \cdot min^{-1}$) ont également fait l'objet d'une étude préliminaire.

2.5.2.2 Construction de la colonne

La fabrication des colonnes était cruciale au bon fonctionnement de la TÉI semi-automatisée. La première colonne a été conçue selon les directives de Sweileh (1986). Les colonnes subséquentes ont été fabriquées selon une nouvelle méthode mise au point en laboratoire.

La résine ainsi que deux supports de verre poreux étaient insérés successivement à l'intérieur d'un tube de TFE sensible à la chaleur (*Cole-Parmer* 06851-10). Ce tube, une fois chauffée à 327°C, se rétracte, passant d'un diamètre interne de 1,93 à 1,25 cm, ceci permettait de retenir les supports dont le diamètre, la longueur et la porosité étaient respectivement de 1,5 mm, ~2 mm et 50 µm. La résine était insérée après avoir coincé le premier support en chauffant le tube avec un puissant radiateur soufflant. De la même manière, le deuxième support était fixé dans la colonne à 3 cm du premier, mais en prenant bien soin de ne pas chauffer la résine qui ne peut supporter des températures

de plus de 150°C [Bio-Rad 1996]. Pour protéger la résine, une section était recouverte de papier d'aluminium, cette méthode permettait de chauffer seulement l'endroit où le support se trouvait. Finalement, les extrémités de la colonne étaient chauffées afin de permettre un raccord étanche avec les tubes *Technicon* vert-vert. Chaque colonne contenait entre 7 et 8 mg de résine, pesée précisément avec une balance *Mettler* ME30. Les colonnes fabriquées avaient une longueur totale de 9 cm, tel qu'illustré dans la figure 2.2.

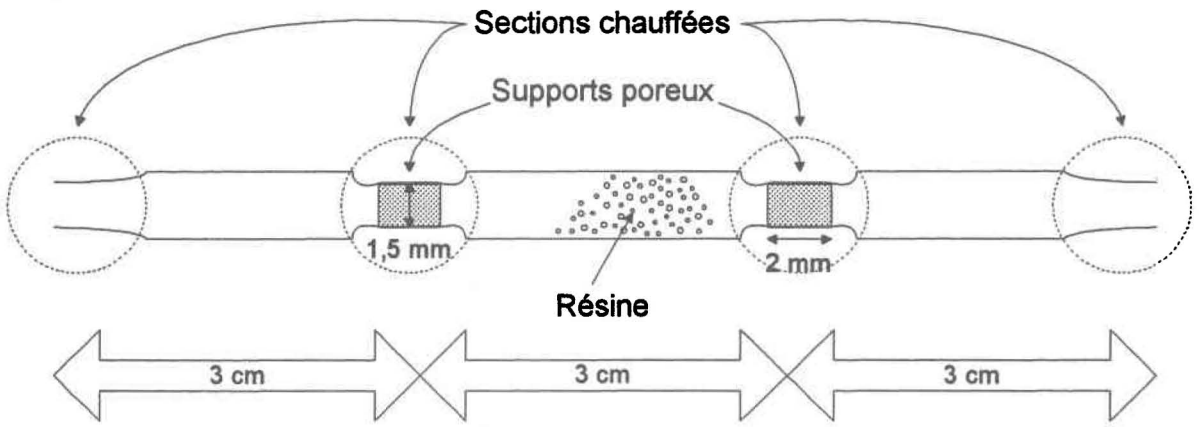


Figure 2.2: Schéma de la colonne pour la TÉI semi-automatisée

2.5.2.3 Méthodologie

La journée de travail sur l'appareil commençait toujours par une élution afin de s'assurer que la résine ne retenait pas de métaux. Une fois la pompe branchée et le tuyau *Technicon* installé sur la tête de celle-ci, 2,0 ml d'acide nitrique à 1,5 M était injectés dans l'entonnoir, immédiatement suivi, pendant quatre minutes, d'eau ultra-pure; le débit de la pompe demeurant constant à 5,0 ml·min^{-1}, soit 800 unités sur le cadran de la pompe. Cette élution par injection permettait de mieux contrôler le volume d'acide V servant à déterminer [M^{z+}] à l'aide de l'équation (9).

Le dosage de l'ion libre débutait par la conversion de la résine sous la forme Na^+ en l'exposant pendant deux minutes (toujours à 5,0 ml·min^{-1}) à une solution NaOH de 0,10 M ultra-pure, étape qui était suivie d'un lessivage de quatre minutes à l'eau ultra-pure. Avant le dosage de l'échantillon, une solution de $NaNO_3$ 0,20 M prépurifiée était injectée pour stabiliser le pH au niveau désiré (environ deux minutes). Ensuite, le sélecteur était

positionné sur la solution à analyser, dont on avait fixé la force ionique à 0,20 M avec du nitrate de sodium. Un volume de 20 ml était suffisant pour atteindre un état stationnaire avec la résine, soit quatre minutes à un débit de 5,0 ml·min^{-1}. Le tuyau était ensuite retiré afin d'évacuer les derniers millilitres pour ne pas contaminer l'échantillon suivant. Pendant cinq secondes, l'eau ultra-pure était sélectionnée pour enlever toute trace de solution interstitielle dont la concentration en métaux pouvait causer un biais dans la mesure. Le temps de contact de l'eau avec la résine était de seulement cinq secondes afin de minimiser la perturbation de changement de force ionique causé par l'eau ultra-pure [Cantwell 1993]. La résine était alors prête pour l'élution qui, pour un rendement optimal, se faisait à 0,50 ml·min^{-1}. Précisément deux millilitres de solution HNO_3 1,5 M étaient insérés dans l'entonnoir en TFE. L'éluat était récupéré dans un contenant HDPE 4 ml (*Fisher*) en positionnant la valve coulissante sur l'élution. Le contenant était préalablement et ultérieurement pesé afin de tenir compte des variations de la pipette utilisée. L'éluat était alors analysé par absorption atomique avec ou sans flamme, selon la concentration du métal.

Tableau 2.1: Concentrations de tampons maximales admissibles sans interférence.

pH	Tampon	Concentration
4,50	-	-
5,50	Hydrogénophtalate de potassium	100 µM
7,00	TRIS	500 µM

Selon le pH désiré dans la solution à doser, un ajout de tampon était souvent nécessaire afin de garder ce pH stable. Les concentrations de tampon ont été calculées afin de minimiser la complexation des métaux ([M-Tampon] < 1%) à l'aide du logiciel MINEQL+. Ces concentrations sont présentées dans le tableau 2.1.

2.6 Détermination du coefficient de distribution métal-résine

En exposant une quantité exacte de résine à des solutions de force ionique constante et de concentrations de métaux connues, et ce en l'absence de ligands autres que l'eau elle-même, il est possible de déterminer le coefficient de distribution à l'aide de l'équation

(9). Chaque pH était ajusté avec des solutions de NaOH ou de HNO_3 et rigoureusement contrôlé lors de la mise en équilibre de la résine. La concentration de métal libre était calculée à l'aide du programme MINEQL+.

En mode manuel, le coefficient de distribution λ_o a été évalué à des pH de 4,5 (n=16) et de 5,5 (n=28) alors qu'en mode semi-automatique, l'évaluation a été faite à ces deux pH, de même qu'au pH 7,0 (n=9 dans tous les cas). Une calibration pour une gamme de concentrations de métaux considérées réalistes d'un point de vue biologique a été effectuée, d'un minimum de 4,45 nM dans le cas du cadmium jusqu'à un maximum de 2,0 µM dans le cas du zinc.

2.7 Tests de fiabilité de la méthode avec des ligands modèles

Les réactions de complexation de plusieurs ligands synthétiques et naturels ont été largement étudiées au niveau thermodynamique. C'est le cas notamment du citrate et de l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA), dont les constantes de formation avec une multitude de métaux peuvent être considérées comme fiables. En comparant les concentrations théoriques d'ions libres à l'équilibre (calculées à l'aide d'un modèle informatique tel que MINEQL+) avec celles mesurées à l'aide de la technique d'échange ionique, il était donc possible d'évaluer la fiabilité de la méthode.

2.7.1 EDTA

Les concentrations de Zn et de Cd libres ont été mesurées, à pH 5,5, en mode manuel à quatre concentrations d'EDTA (*Fisher* #S311-500): 300, 420, 570 et 720 nM. Les concentrations de métaux étaient constantes à 89 nM et 0,76 µM pour le cadmium et le zinc respectivement.

2.7.2 Citrate

Les expériences avec le citrate (*BDH assured* #B30128) ont été réalisées en deux temps. Dans la première série d'expériences, des concentrations de citrate de 0,10, 0,50 et 1,0 mM ont été utilisées alors que dans la deuxième celles-ci étaient de 0,040, 0,30,

0,70 et 4,0 mM. Chaque expérience a été reproduite deux fois pour un total de quatorze essais en mode manuel. Les concentrations de cadmium et de zinc utilisées étaient respectivement de 89 et de 150 nM. Le pH et la température étaient les mêmes que lors de l'expérience avec l'EDTA.

2.8 Sélectivité de la résine à l'ion libre

Étant donné le caractère ionique de la résine ($R\text{-}SO_3^-$), il est justifié de mettre en doute la sélectivité de la résine pour l'ion libre M^{z+}. En effet, la formation de complexes chargés positivement peut créer de l'interférence et mener à une surestimation de la concentration d'ion libre mesurée avec la méthode. Afin de vérifier ces possibilités, plusieurs expériences ont été planifiées afin de circonscrire cette sélectivité.

2.8.1 Chlorure de sodium

Le chlorure et le cadmium forment divers complexes: $CdCl^+$, $CdCl_2$ et $CdCl_3^-$. Le complexe cationique ($CdCl^+$) est la forme qui peut être problématique. En ajustant la concentration de chlorure, on peut faire varier la proportion du complexe $CdCl^+$. La concentration de cadmium a été maintenue constante à 89 nM dans toutes les expériences. Afin de conserver la force ionique constante à 0,20 M, la quantité de nitrate de sodium ajoutée était ajustée en fonction inverse de celle du NaCl (*Merck suprapur* #6406).

Trois répétitions ont été effectuées pour chacune des concentrations de chlorure, 5, 40 et 200 mM. Les concentrations en Cd^{2+} à l'équilibre ont été calculées à l'aide de MINEQL+ afin de comparer les résultats avec celles mesurées avec la TÉI en mode manuel.

2.8.2 Alanine

L'alanine est un acide aminé dont les constantes thermodynamiques d'équilibres avec le cadmium sont bien connues [Smith *et al.* 1993]. Les composés majeurs résultant de la complexation du cadmium avec l'alanine sont le $CdAla^+$ et le $Cd(Ala)_2$. Cette expérience

permettait donc de vérifier la sélectivité de la résine pour l'ion libre face à des complexes cationique et neutre.

Les concentrations d'alanine (*SigmaUltra >99% TLC* #A-5824) étaient de 5, 10, 50 et 100 mM alors que la concentration de cadmium était constante à 0,18 µM dans chaque solution. Ces essais ont été réalisés à pH 7,5, ce qui a nécessité une nouvelle calibration de la TÉI (réalisée lors d'un stage chez Énergie Atomique du Canada Limitée; [Fortin and Caron 1995]). Pour chaque concentration d'alanine deux dosages ont été effectués avec la TÉI. Les résultats ont été comparés aux calculs de spéciation effectués avec MINEQL+.

2.8.3 Cystéine

Les groupements thiols ont une grande affinité pour les métaux « mous » et jouent un rôle important dans la complexation de ces métaux lorsqu'ils sont présents. La cystéine, un acide aminé, possède de tels groupements.

Les thiols s'oxydent facilement en présence d'air et à pH élevé [Fontana and Toniolo 1974], ce qui nécessite de travailler en milieu acide et en absence d'oxygène. Toutes les manipulations ont donc été faites sous atmosphère d'azote (dans une boîte à gants) et l'eau utilisée avait été désoxygénée avec de l'azote en bouteille (*O_2-free, Canox*) pendant 24 heures.

Les constantes thermodynamiques étant moins bien connues pour le cadmium, le zinc a été utilisé pour ce test afin d'être en mesure de comparer les résultats à des valeurs théoriques calculées à l'aide du logiciel MINEQL+. Cependant, l'affinité de la cystéine pour le zinc est très faible, spécialement à un pH bas (4,5). Il faut, en effet, beaucoup de cystéine pour modifier la spéciation du zinc, ce qui aurait nécessité une trop grande quantité de cystéine; il était alors préférable de modifier la concentration totale de zinc (0,23, 0,46 et 0,69 µM) et de conserver la concentration de cystéine (*Sigma >98% TLC* #C-7755) constante à 50 mM. Afin de minimiser la possibilité d'oxydation des solutions, les dosages ont été effectués une heure après l'ajout du zinc. Ces solutions ont été analysées par la TÉI en mode semi-automatique en trois répétitions.

2.8.4 Lysine

La lysine forme, avec certains métaux, des complexes cationiques bivalents qui auraient donc davantage d'affinité avec une résine cationique. Les constantes de formation de complexes entre le zinc et la lysine sont bien connues, ce qui permet de calculer les concentrations à l'équilibre à l'aide du logiciel MINEQL+. Une quantité constante de zinc, 0,76 µM, a été ajoutée à trois solutions de lysine (*Sigma free base >98%* #L-5501) de 10, 52 et 100 mM et ajustées à un pH de 7,0. Ces solutions ont été analysées par la TÉI en mode semi-automatique en trois répétitions.

2.9 Effet de prétraitement de la résine par la matière organique dissoute

L'objectif de ces expériences était de vérifier le potentiel de biais causé par la présence d'acide fulvique sur la résine Dowex. Un autre type de résine, XAD, possède une épine dorsale constituée de styrène et de divinylbenzène copolymérisés, tout comme la Dowex mais sans groupements fonctionnels. Comme la résine XAD est couramment utilisée pour l'extraction de MOD des eaux naturelles [Thurman 1985; Aiken 1988; Batley 1989], la possibilité d'adsorption de MOD sur la résine Dowex devait donc être examinée, au cas où cette adsorption influerait sur le coefficient de distribution (λ_o). On s'attendrait à ce que les phénomènes d'adsorption de MOD soient favorisés à des pH bas, là où la répulsion entre les groupements anioniques de la MOD et le groupement SO_3^- de la résine est minimale, à raison d'une protonation des groupements fonctionnels de la MOD.

2.9.1 Comparaison de coefficients de distribution

Huit expériences en colonnes en mode manuel ont permis de comparer les coefficients de distribution du Cd et du Zn entre une résine prétraitée ou non avec de l'acide fulvique. Chaque lit de résine de quatre des huit colonnes a donc été prétraité avec 500 ml d'une solution d'acide fulvique laurentien (*Eco-Linc*) de 10 $mg \cdot l^{-1}$ et de $NaNO_3$ 0,20 M à pH 5,5. Autant de solution sans acide fulvique a été introduite dans les quatre autres colonnes, qui servaient de groupe contrôle. Les huit colonnes ont ensuite reçu une

solution étalon de 38 et 22 nM de Zn et de Cd respectivement. Suite à l'analyse des éluats et à l'aide de l'équation (9), les coefficients de distribution ont été comparées entre les deux groupes de colonnes.

2.9.2 Suivi par absorbance à 400 nm

Dans des expériences par lots (erlenmeyer de 125 ml), différentes quantités de résine (0, 5, 10 et 20 $g \cdot l^{-1}$) ont été exposées à une solution de 100 ml d'acide fulvique laurentien de 10 $mg \cdot l^{-1}$ à un pH de 4,50 rigoureusement contrôlé. Après huit heures, la solution surnageante de chaque fiole a été successivement filtrée (*Millipore*, type HA de 0,45 µm) et analysée par spectrophotométrie UV visible à 400 nm (cellules de 5,5 ml, DMS 200 de *Varian*) [Schnitzer 1978]. L'absorbance mesurée a été comparée à celle obtenue d'une courbe d'étalons de 7,00 à 11,0 $mg \cdot l^{-1}$, également déterminée à pH 4,50. Trois répétitions pour chacune des concentrations de résine ont été effectuées ainsi que pour les deux expériences de contrôle suivantes. La première consistait de 20,0 $g \cdot l^{-1}$ de résine immergée dans 100 ml d'eau ultra-pure et la seconde d'une solution d'acide fulvique 10 $mg \cdot l^{-1}$ sans résine. La même procédure analytique a été utilisée pour toutes ces expériences. Trois lectures spectrophotométriques par solution ont été prises pour chaque répétition.

L'acide humique ayant un caractère encore plus hydrophobe que l'acide fulvique, une expérience similaire à la précédente a été réalisée, mais cette fois avec de l'acide humique laurentien (*Eco-Linc*). La solution d'acide humique (16 $mg \cdot l^{-1}$) a d'abord été dissoute dans une solution de NaOH 0,010 M afin de favoriser une mise en solution complète en la laissant agiter pendant 24 heures. Le pH de la solution a par la suite été ramené à 3,05 avant de filtrer la solution (*Millipore*, type HA de 0,45 µm) afin de retirer tout précipité ou autre matière en suspension de plus de 0,45 µm. De cette façon, une fois le pH relevé à 4,50, il était raisonnable de croire que toute MOD présente était sous forme dissoute. Une fois le pH rétabli à 4,50 (pH expérimental), la résine a été mise en contact avec la solution d'acide humique. Les mêmes conditions d'exposition et de mesure que pour l'expérience avec acide fulvique ont été respectées. Encore une fois, des expériences par lots ont été privilégiées mais, cette fois-ci, en utilisant une seule quantité de résine. Trois erlenmeyers de 100 ml contenant initialement 16 $mg \cdot l^{-1}$ d'acide

humique ainsi que 2,0 g de résine ont été comparés à un groupe contrôle ne contenant aucune résine en raison de leur absorbance à 400 nm.

2.10 Études de spéciation

Une fois la méthode caractérisée quant à sa fiabilité et sa sélectivité, des études de spéciation ont pu être entreprises pour déterminer soit une capacité de complexation ou une constante conditionnelle d'équilibre avec des ligands dont les réactions de complexation ne se prêtent pas à un traitement thermodynamique simple (ex.: acide fulvique), ou avec ceux pour lesquels les propriétés de complexation n'ont pas été déterminées.

2.10.1 Acide fulvique

Afin de prévoir le design rationnel de milieux d'exposition contenant de l'acide fulvique laurentien (*Eco-linc*) et ceci dans le cadre de bioessais avec le saumon Atlantique (*Salmo salar*) et la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), la spéciation du cadmium et du zinc a été examinée dans des solutions contenant ce ligand naturel.

La concentration d'acide fulvique utilisée a été choisie selon les concentrations observées dans les rivières de la Côte-Nord au moment de la crue du printemps, soit 10 $mg \cdot l^{-1}$ [Campbell *et al.* 1992]. Les concentrations de Cd ont été déterminées en fonction des objectifs des bioessais [Gauthier 1995; Gauthier *et al.* 1996]. Les résultats obtenus ont été comparés aux prédictions du modèle informatique WHAM [Tipping 1994].

D'abord, une titration en lots a été effectuée en ajoutant des concentrations de 4,4, 22, 44 et 89 nM de Cd ainsi que de 76, 150, 310 et 610 nM de Zn. Un litre de chaque solution a été préparé pour chaque concentration et 500 ml étaient nécessaires pour le dosage sur résine en mode manuel, ce qui a permis de faire deux répétitions à chaque concentration, pour un total de seize colonnes. Ces solutions ont été préparées une journée à l'avance pour laisser le temps à l'équilibre d'être atteint. Le pH a été fixé à 5,5 et vérifié avant le début de l'expérience.

Des expériences ont ensuite été réalisées à pH 7,0 mais cette fois en dosant l'ion libre en mode semi-automatique. Une titration en lots a été effectuée en ajoutant des concentrations de 89, 180 et 270 nM de Cd et de 150, 310 et 460 nM de Zn. Les contenus de ces flacons de 100 ml ont alors été analysés en triple répétitions.

3. RÉSULTATS

3.1 Purification de la solution électrolyte $NaNO_3$

La détermination directe du niveau de contamination de la solution d'électrolyte s'est avérée difficile par absorption atomique. En effet, la concentration élevée en sodium de la solution stock de $NaNO_3$ (2,0 M) cause des effets de matrice importants sur les signaux d'absorbance de l'appareil de spectrophotométrie par absorption atomique (AA). Afin de diminuer cet effet de matrice, il est possible de diluer; par contre, une trop grande dilution aurait été nécessaire, ce qui aurait réduit la limite de détection. L'utilisation de la TÉI (en mode manuel) pour doser le cadmium et le zinc dans les solutions de $NaNO_3$ 0,20 M épurées a permis d'obtenir une bonne limite de détection tout en simplifiant la matrice. L'éluat de la résine ne contenait que 20 mM de sodium, le composé principal étant l'acide nitrique (1,48 M), ce qui a rendu le dosage par absorption atomique plus facile.

Le tableau 3.1 indique les valeurs d'ions libres mesurées avec la TÉI, provenant de trois solutions 0,20 M $NaNO_3$: sans aucun traitement, avec filtration et traitement en colonnes avec 40 g de résine Chelex et finalement, avec filtration et traitement par lots avec la même quantité de résine.

Tableau 3.1: Concentrations de Cd et de Zn dans une solution $NaNO_3$ 0,20 M.

Sans traitement		Traitement en colonnes		Traitement en lots	
$[Cd^{2+}]$ (nM)	$[Zn^{2+}]$ (nM)	$[Cd^{2+}]$ (nM)	$[Zn^{2+}]$ (nM)	$[Cd^{2+}]$ (nM)	$[Zn^{2+}]$ (nM)
< 0,5	5	< 0,5	< 1	< 0,5	< 1
< 0,5	7	< 0,5	3	< 0,5	< 1
< 0,5	18	< 0,5	6	< 0,5	< 1
-	-	< 0,5	6	< 0,5	< 1

Les résultats indiquent que la méthode de traitement en lots, avec une étape de filtration avant et après, permet de se débarrasser du Zn en deçà des limites de détection de la spectrophotométrie par AA en injection simple. Cette méthode a donc été retenue pour les traitements subséquents. Notons que les concentrations de zinc peuvent être très

importantes (jusqu'à 18 nM) lorsque aucun prétraitement n'est utilisé, et il en est de même avec un traitement en colonnes. Lors de l'étape initiale de filtration, une quantité non négligeable de matière en suspension était retenue par le filtre, laissant un dépôt de couleur beige après seulement un litre de solution $NaNO_3$ 2,0 M. La filtration finale permettait de recueillir des débris provenant de la résine Chelex elle-même.

3.2 État stationnaire et élution

3.2.1 Technique en mode manuel

Afin de déterminer la force ionique nécessaire pour atteindre rapidement un état stationnaire entre la résine et la solution, trois concentrations de $NaNO_3$ ont été testées: 0,10, 0,20 et 0,30 M. Selon la figure 3.1, la concentration la plus faible s'est avérée insuffisante pour permettre d'atteindre rapidement un état stationnaire, et ce même après qu'un litre de solution soit passé à travers la colonne avec un débit moyen de 5,5 $ml \cdot min^{-1}$. Vraisemblablement, à cette concentration relativement faible de Na^+ la résine capte beaucoup de Zn, ce qui a pour effet de prolonger le temps nécessaire à atteindre l'état stationnaire et modifier le λ_o^{Zn} effectif (les conditions traces ne sont plus respectées). La concentration choisie était donc de 0,20 M pour fixer la force ionique.

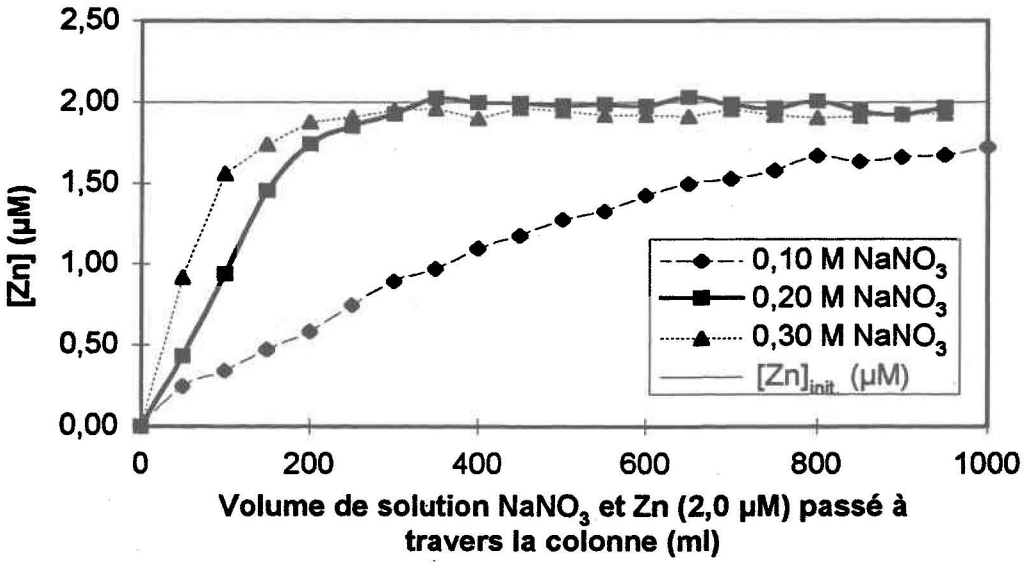


Figure 3.1: Profils d'atteinte d'un état stationnaire entre le Zn et la résine en mode manuel en fonction du volume et de la concentration d'électrolyte

Le profil d'élution indique que 50 ml de HNO_3 1,5 M est suffisant pour lixivier la résine complètement (figure 3.2). L'acide nitrique a été préféré aux autres acides puisqu'il fournit une matrice propice pour le dosage du Cd et du Zn par absorption atomique.

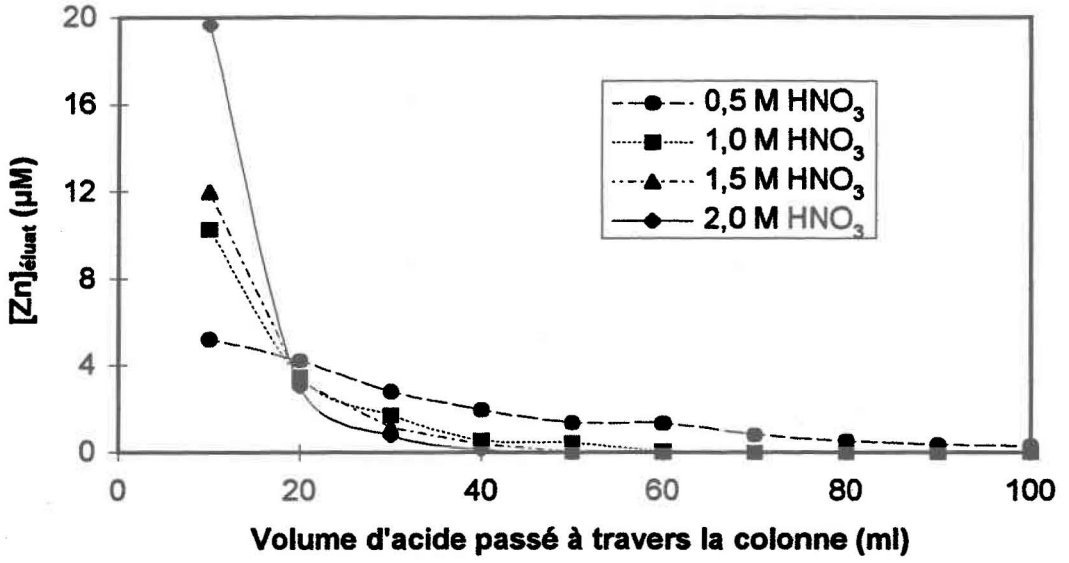


Figure 3.2: Profils d'élution du Zn avec la TÉI en mode manuel en fonction du volume et de la concentration d'acide nitrique

3.2.2 Technique en mode semi-automatique

Une fois la TÉI miniaturisée, un profil d'atteinte d'un état stationnaire a encore une fois été préparé. Selon les figures 3.3 et 3.4, une force ionique de 0,10 M semble insuffisante pour atteindre rapidement l'état stationnaire, et ce même avec un temps de contact plus élevé à cause d'un débit réduit à 2 ml·min^{-1}. Par contre, les deux autres options, utilisant une force ionique de 0,20 M, se sont révélées acceptables. Afin de minimiser le temps de dosage d'un échantillon, le débit a été fixé à 5 ml·min^{-1}. Les résultats pour le zinc et le cadmium étaient semblables à la différence que les mesures de cadmium semblaient plus affectées par l'effet de matrice du $NaNO_3$ sur l'AA (figure 3.3), ce qui expliquerait la différence de concentration entre le plateau atteint et la concentration initiale de 0,89 µM.

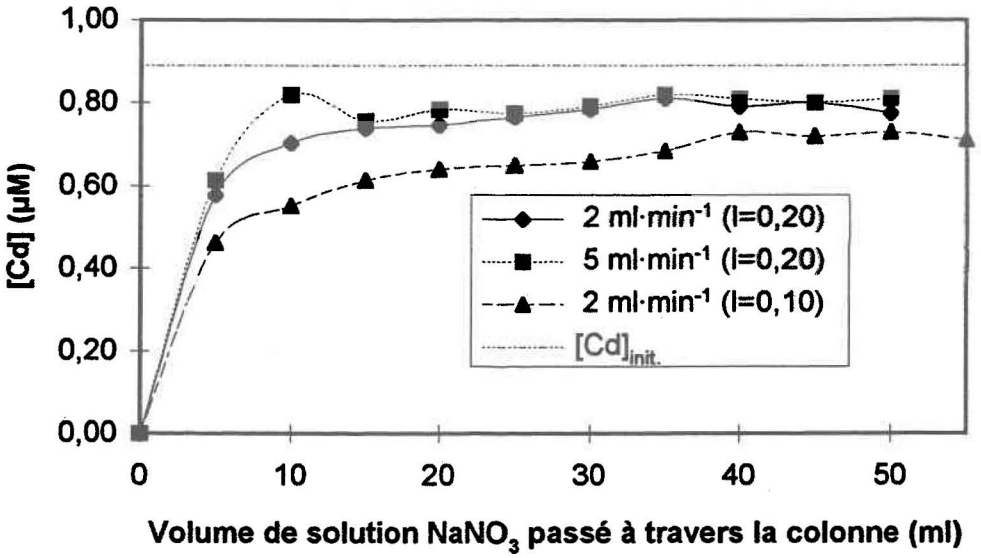


Figure 3.3: Profils d'atteinte d'un état stationnaire entre le Cd et la résine en mode semi-automatique en fonction du volume, de la force ionique et du débit

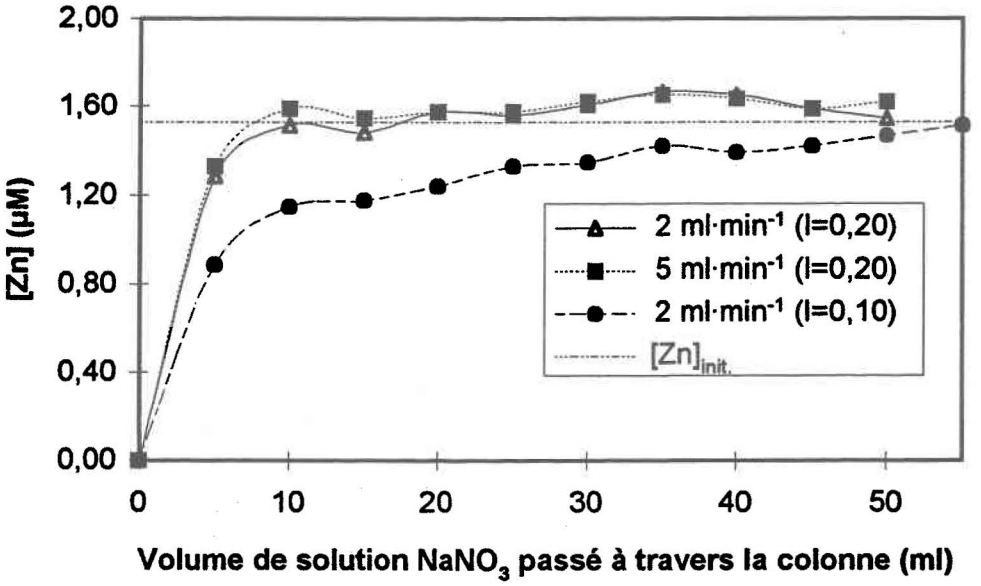


Figure 3.4: Profils d'atteinte d'un état stationnaire entre le Zn et la résine en mode semi-automatique en fonction du volume, de la force ionique et du débit

Dans le cas de l'élution, les concentrations de 3,0 et 1,5 M d'acide nitrique avaient une efficacité équivalente, permettant d'éluer les métaux avec 2,0 ml à un débit de 0,5 $ml \cdot min^{-1}$. À un débit de 5 $ml \cdot min^{-1}$ il était impossible de lixivier efficacement la résine avec un volume inférieur à 10 ml. Le volume et le débit d'élution ont donc été fixés respectivement à 2,0 ml et 0,5 $ml \cdot min^{-1}$. Lors des premières expériences de calibration, une deuxième élution (de 2,0 ml également) succédait à la première et a confirmé l'absence de métaux après 2,0 ml.

3.3 Détermination des coefficients de distribution métal-résine

Les résultats de calibration des deux méthodes ont été compilés et résumés dans les sections suivantes. Les valeurs ayant servi à calculer les moyennes ont été reproduites en annexe (section 7.3.1).

3.3.1 TÉI en mode manuel

En mode manuel, des coefficients de distribution ont été évalués à des pH de 4,5 (n=16) et 5,5 (n=28). La moyenne des valeurs mesurées et l'écart type pour les deux métaux sont présentés dans le tableau 3.2.

Tableau 3.2: Coefficients de distribution du Cd et du Zn évalués avec la TÉI en mode manuel

pH	λ_o^{Cd} $(l \cdot g^{-1})$	λ_o^{Zn} $(l \cdot g^{-1})$
4,5	0,50 ± 0,01	0,38 ± 0,04
5,5	0,52 ± 0,02	0,41 ± 0,03

Il est à noter que les coefficients de distribution sont plus élevés pour le Cd que pour le Zn comme on pouvait s'y attendre d'après l'affinité relative de la résine pour ces cations (tableau 1.3). Les coefficients ont également tendance à augmenter légèrement avec le pH.

3.3.2 TÉI en mode semi-automatique

En mode semi-automatique, des coefficients de distribution ont été évalués à des pH de 4,5, 5,5 et 7,0 (n=9). La moyenne des valeurs mesurées et l'écart type pour les deux métaux sont présentés dans le tableau 3.3.

Tableau 3.3: Coefficients de distribution du Cd et du Zn évalués avec la TÉI en mode semi-automatique

pH	λ_o^{Cd} ($l \cdot g^{-1}$)	λ_o^{Zn} ($l \cdot g^{-1}$)
4,5	$0,36 \pm 0,02$[a]	$0,32 \pm 0,03$
5,5	$0,44 \pm 0,02$	$0,39 \pm 0,02$
7,0	$0,70 \pm 0,06$	$0,63 \pm 0,07$

[a] Une valeur aberrante a été exclue

Les écarts entre les coefficients de distribution suivent la même tendance que celle remarquée en mode manuel. Cependant, les valeurs semblent plus sensibles aux changements de pH. On observe également une légère diminution des valeurs par rapport à celles mesurées en mode manuel aux mêmes pH.

3.4 Tests de fiabilité avec des ligands modèles

3.4.1 EDTA

Les résultats de dosage de Cd^{2+} et de Zn^{2+} sont respectivement présentés dans les figures 3.5 et 3.6. Les points représentent les mesures avec la TÉI (l'incertitude représente l'écart type du coefficient de distribution utilisé; voir tableau 3.2) alors que les lignes illustrent les résultats des calculs thermodynamiques effectués avec MINEQL+.

Les concentrations de Cd^{2+} mesurées à l'aide de la TÉI (figure 3.5) sont un peu plus élevées que celles prédites par MINEQL+; par contre, la tendance observée en fonction de la concentration en EDTA est nettement la même. Ainsi, les concentrations de Cd^{2+} mesurées étaient de 17, 29, 40 et 49 nM alors que celles calculées étaient

respectivement de 8,4, 18, 29 et 40 nM pour des concentrations croissantes d'EDTA de 300 à 720 nM.

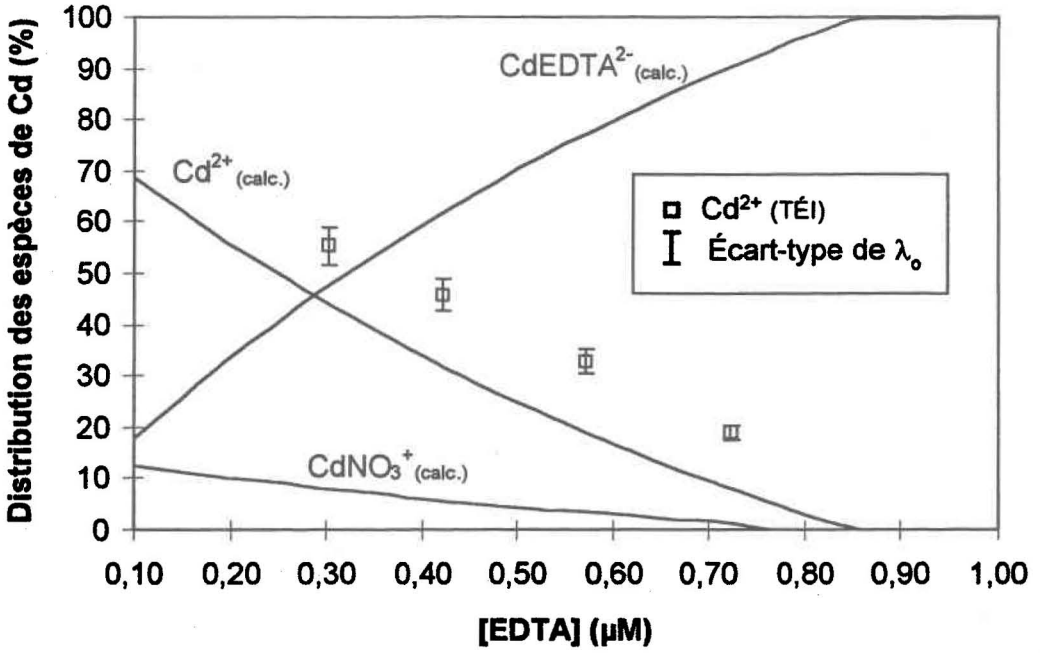


Figure 3.5: Comparaison de la distribution des espèces de Cd (89 nM) mesurée (TÉI) et calculée (MINEQL+) en fonction de la concentration d'EDTA à pH 5,5

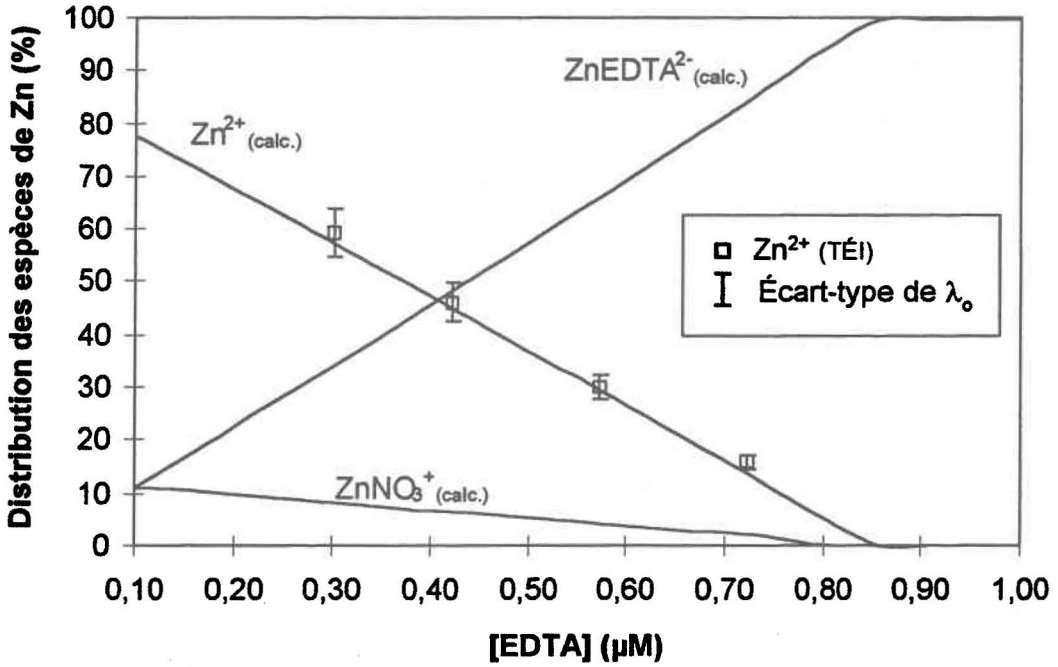


Figure 3.6: Comparaison de la distribution des espèces de Zn (765 nM) mesurée (TÉI) et calculée (MINEQL+) en fonction de la concentration d'EDTA à pH 5,5

Dans le cas du Zn (figure 3.6), les données expérimentales de la TÉI démontrent une excellente concordance avec les valeurs calculées. Les concentrations mesurées de Zn^{2+} étaient de 120, 230, 350 et 450 nM comparativement à 130, 250, 370 et 460 nM pour celles prédites à l'aide de MINEQL+, et ce aux mêmes concentrations d'EDTA que dans l'expérience précédente.

3.4.2 Citrate

Dans ces expériences, sept concentrations de citrate variant de 40 µM à 4,0 mM ont été utilisées en présence de concentrations constantes en Cd (89 nM) et en Zn (150 nM). Chaque essai a été répété deux fois et baptisé TÉI 1 et TÉI 2. Les concentrations de métaux libres mesurées et calculées sont reproduites dans le tableau 3.4, puis illustrées dans les figures 3.7 et 3.8.

Tableau 3.4: Concentrations de Cd^{2+} et Zn^{2+} en présence de citrate à pH 5,5

[Citrate]	[Cd^{2+}] (nM)			[Zn^{2+}] (nM)		
(mM)	TÉI 1	TÉI 2	MINEQL+	TÉI 1	TÉI 2	MINEQL+
0,040	73	71	73	81	75	96
0,10	67	69	70	49	48	68
0,30	59	59	62	22	21	34
0,51	52	52	56	14	14	23
0,69	46	46	52	11	12	17
1,0	39	39	45	7,1	7,3	12
4,0	16	16	21	1,1	0,57	3,4

Les tests avec le cadmium (figure 3.7) semblent démontrer une très bonne concordance avec les valeurs calculées, surtout aux faibles concentrations du ligand. D'autre part, alors que la concentration en citrate augmente, la différence entre la proportion de Cd^{2+} mesurée avec la TÉI (points avec incertitude calculée en fonction du λ_o; voir tableau 3.2) et celle calculée par équilibre chimique (ligne Cd^{2+}) s'accentue légèrement. La mesure expérimentale suit toutefois fidèlement la tendance annoncée par la courbe théorique.

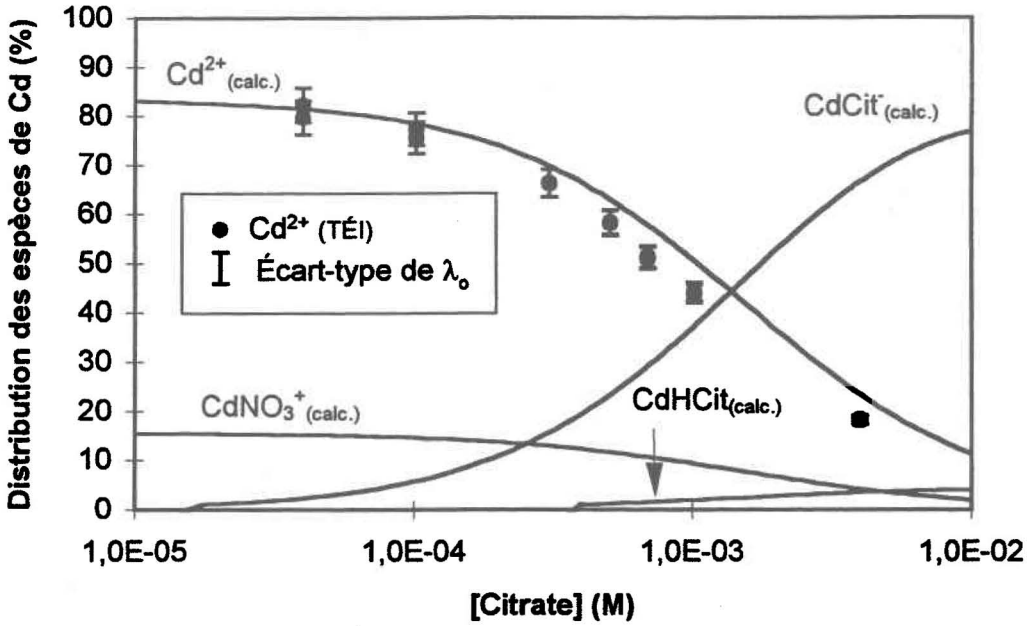


Figure 3.7: Comparaison de la distribution des espèces de Cd (89 nM) mesurée (TÉI) et calculée (MINEQL+) en fonction de la concentration de citrate à pH 5,5

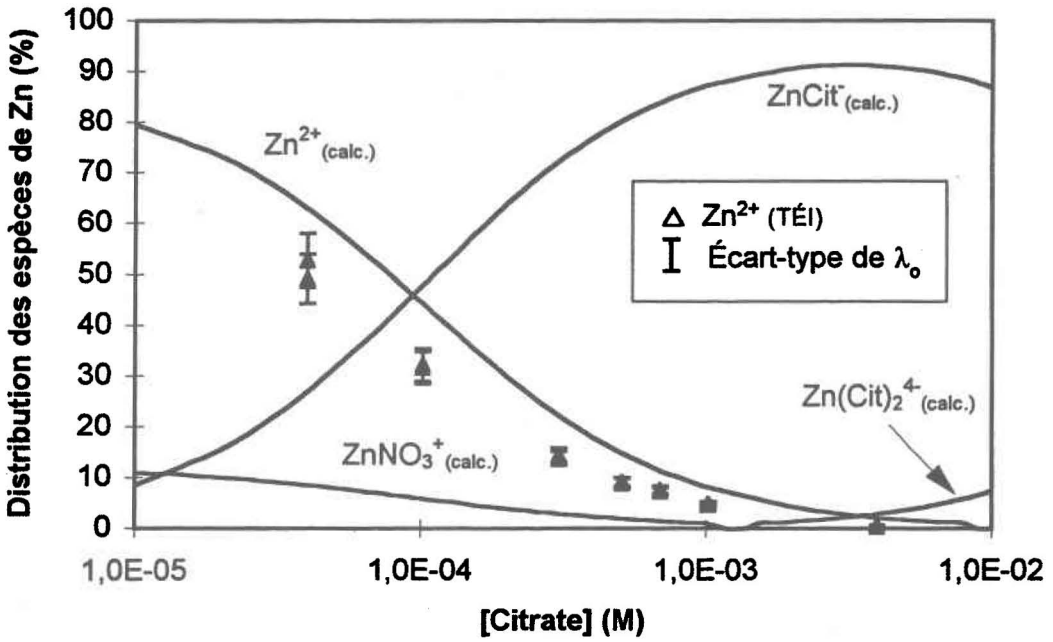


Figure 3.8: Comparaison de la distribution des espèces de Zn (150 nM) mesurée (TÉI) et calculée (MINEQL+) en fonction de la concentration de citrate à pH 5,5

Dans les expériences avec le zinc (figure 3.8), la TÉI apparaît sous-estimer légèrement les valeurs calculées à l'aide de MINEQL+. La similitude des courbes expérimentale et théorique pour le Zn^{2+} se maintient, mais cette fois-ci avec un écart constant. Une échelle logarithmique a été utilisée dans les figures 3.7 et 3.8 (axe des abscisses) étant donné que les concentrations de citrate utilisées varient sur trois ordres de grandeur.

3.5 Sélectivité de la résine pour l'ion libre

3.5.1 Chlorure de sodium

Cette expérience avec le chlorure à été conçue pour vérifier la sélectivité de la résine Dowex 50W-X8 pour l'ion libre, Cd^{2+}, lorsque la concentration d'un complexe cationique monovalent, $CdCl^+$, croît.

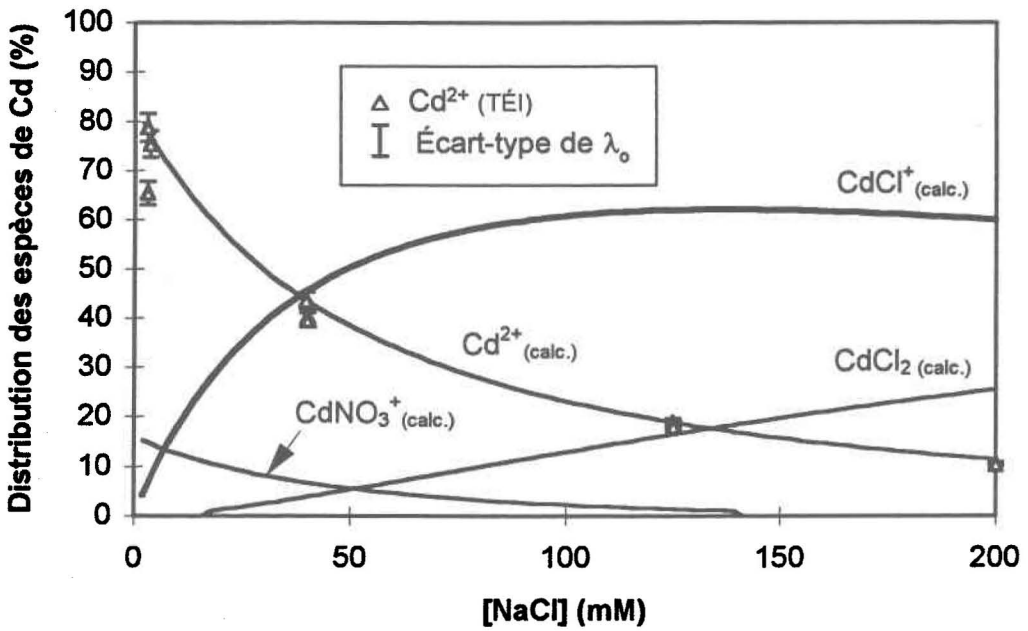


Figure 3.9: Comparaison de la distribution des espèces de Cd (89 nM) mesurée (TÉI) et calculée (MINEQL+) en fonction de la concentration de NaCl à pH 5,5

On peut constater à partir de la figure 3.9 que les valeurs de cadmium libre mesurées avec la TÉI (points avec incertitude calculée en fonction du λ_o; voir tableau 3.2) sont pratiquement identiques à celles calculées (ligne Cd^{2+}), et ce même si la concentration du complexe $CdCl^+$ augmente (ligne foncée). De même, la présence d'un complexe

neutre, $CdCl_2^0$, ne semble pas affecter la réponse de la TÉI. Trois répétitions de chaque concentration de Cl^- ont été effectuées et une seule lecture de la TÉI se distingue des prédictions (Cl^- = 2 mM).

3.5.2 Alanine

La distribution du Cd^{2+} dans ce système (figure 3.10), telle que mesurée avec la TÉI (points avec incertitude calculée en fonction du λ_o; λ_o^{Cd} = 0,58 ± 0,02 $l \cdot g^{-1}$ [Fortin and Caron 1995]), coïncide bien avec les valeurs théoriques (ligne Cd^{2+}). Le pH moyen mesuré au cours de l'expérience était de 7,4, pH auquel les calculs thermodynamiques ont été effectués.

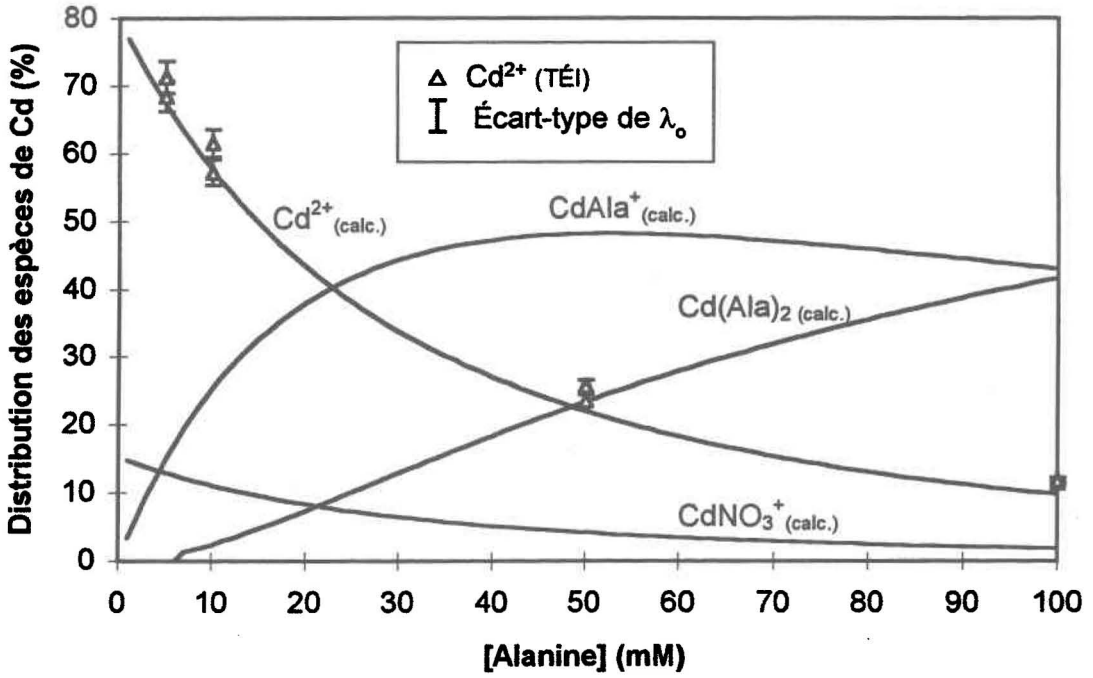


Figure 3.10: Comparaison de la distribution des espèces de Cd (180 nM) mesurée (TÉI) et calculée (MINEQL+) en fonction de la concentration d'EDTA à pH 7,4 (adaptée de: [Fortin and Caron 1995])

Comme le démontre la figure 3.10, avec une augmentation de la concentration de l'acide aminé alanine de 1,00 à 100 mM en présence de cadmium, deux espèces font leur apparition. La première, $CdAla^+$, est un complexe cationique susceptible d'être capté par la résine et la seconde, $Cd(Ala)_2^0$, est un complexe neutre. Pourtant, la comparaison

entre les valeurs calculées et mesurées indique qu'aucune interférence ne paraît affecter la mesure de la TÉI. Ces résultats sont donc conformes à ceux de l'expérience avec le chlorure.

3.5.3 Cystéine

Deux complexes de zinc se forment en présence d'une concentration élevée (50 mM) de cystéine: $ZnHCys^+$ et $ZnH_2Cys_2^0$. Contrairement à ce qui a été observé pour l'alanine et le chlorure, ces espèces semblent causer une interférence (figure 3.11). Les valeurs évaluées avec la TÉI (points avec incertitude selon le λ_o utilisé) se rapprochent beaucoup plus de la droite de pente unitaire (ligne pointillée) que de la concentration de zinc libre calculée (ligne Zn^{2+}). Dans ce système, la méthode donne donc l'impression de mesurer le zinc total en solution plutôt que le Zn^{2+}.

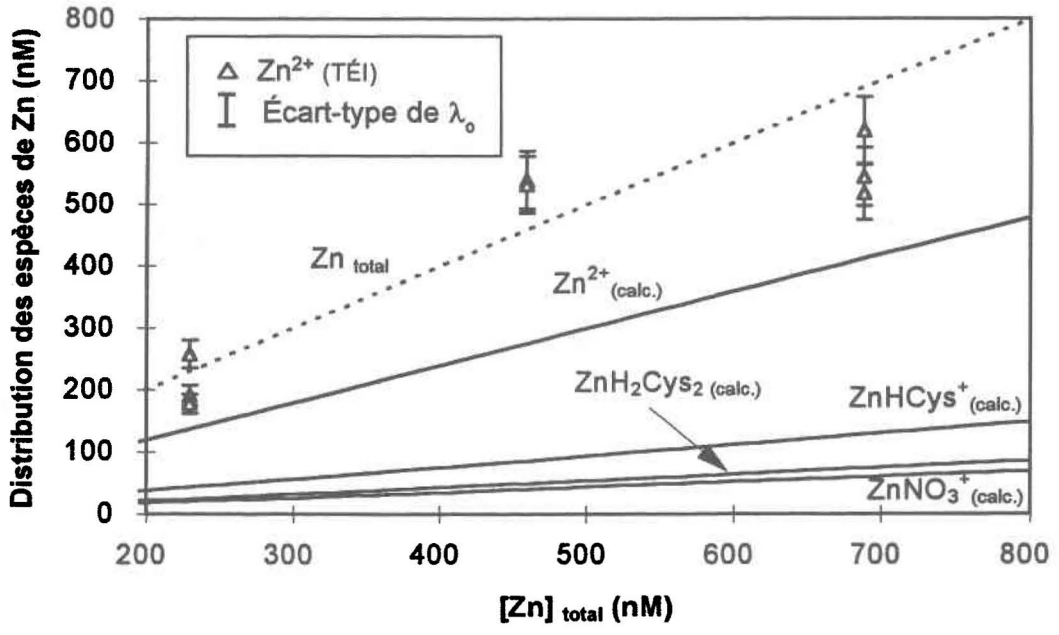


Figure 3.11: Comparaison de la distribution des espèces de Zn mesurée (TÉI) et calculée (MINEQL+) en fonction de la concentration totale de Zn en présence de 50 mM de cystéine à pH 4,5

Notons par ailleurs qu'à 450 nM de Zn, les valeurs mesurées avec la TÉI sont supérieures à la quantité totale de zinc qui a été ajoutée à la solution. Ceci n'avait pas encore été observé dans nos expériences.

3.5.4 Lysine

Alors que la sélectivité de la résine avait été testée précédemment en présence de complexes cationiques univalents ($CdCl^+$, $CdAla^+$, $ZnHCys^+$), la présente expérience s'est déroulée en soumettant la résine à des complexes cationiques portant une charge positive double. En effet, une particularité de la lysine est qu'elle forme des complexes cationiques ayant deux charges positives avec certains métaux dont Cd et Zn.

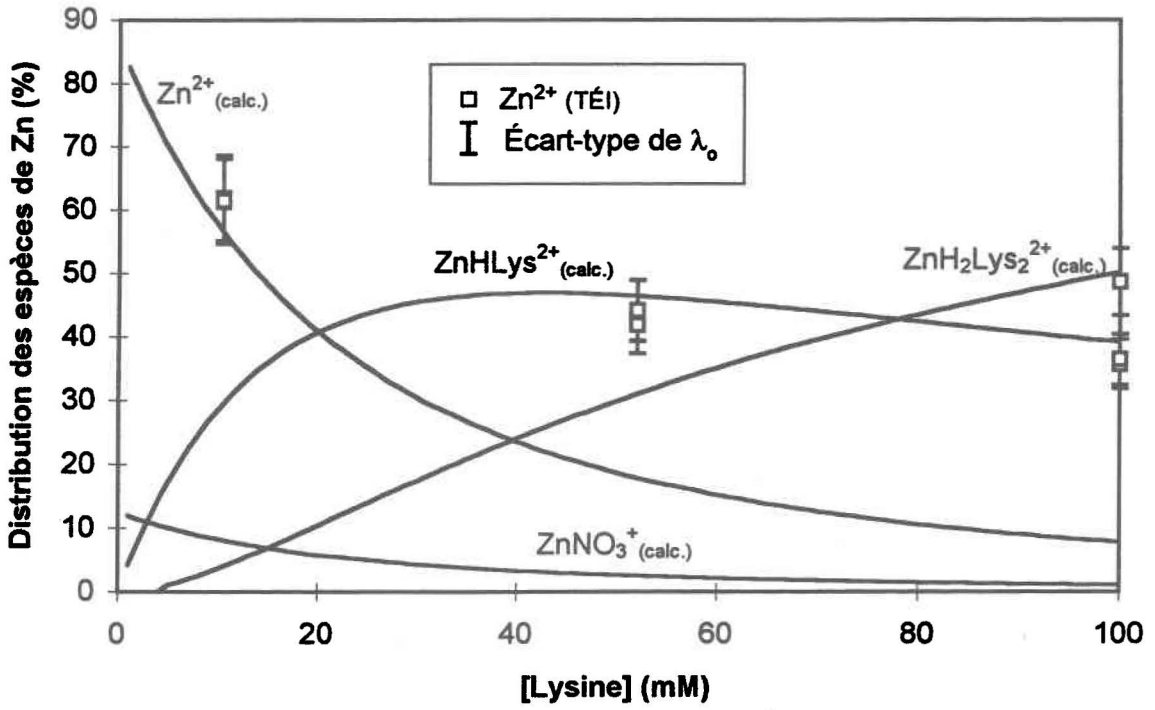


Figure 3.12: Comparaison de la distribution des espèces de Zn mesurée (TÉI) et calculée (MINEQL+) en fonction de la concentration de lysine à pH 7,0

Tel qu'illustré à la figure 3.12, les concentrations de zinc détectées (points avec incertitude selon le λ_o utilisé) avec une concentration croissante de lysine laissent paraître ici aussi, comme dans le cas de l'expérience précédente avec la cystéine, une interférence de la part des complexes positifs $ZnHLys^{2+}$ et $ZnH_2Lys_2^{2+}$. Si les trois

concentrations de zinc mesurées concordent bien avec celles de Zn^{2+} calculées à une concentration de 10,4 mM de lysine, il en est tout autrement à des concentrations de 52,0 et 100 mM. À ces concentrations, les espèces complexées deviennent prédominantes sur l'aquo-ion alors que les mesures de la TÉI indiquent des concentrations apparentes beaucoup plus élevées de Zn^{2+} que celles prévues par MINEQL+.

3.6 Effet du prétraitement de la résine par la matière organique dissoute

3.6.1 Comparaison des coefficients de distribution

Les coefficients de distribution déterminés à l'aide de la TÉI avec une résine prétraitée à l'acide fulvique (10 $mg \cdot l^{-1}$) ne semblent pas différents de ceux évalués avec de la résine qui n'a pas été pré-exposée à la matière organique. Dans la figure 3.13, on compare les coefficients de distribution du Cd et du Zn déterminés avec les deux résines.

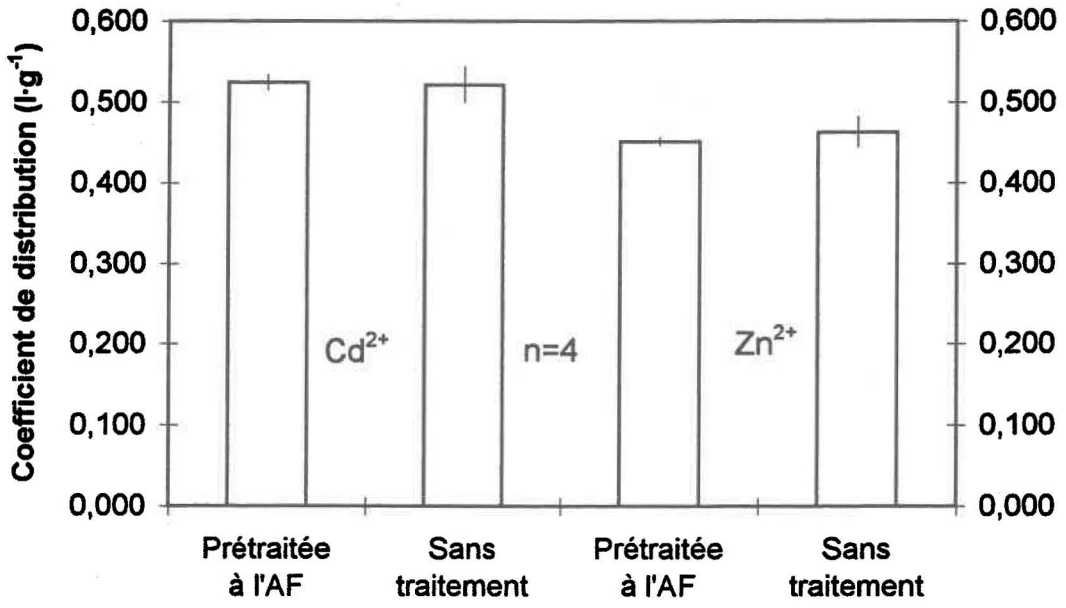


Figure 3.13: Comparaison des coefficients de distribution du Cd et du Zn avec et sans traitement préalable de la résine à l'acide fulvique à pH 5,5

Un test de Student à un seuil de probabilité de 95% a confirmé qu'il n'y avait pas de différence significative entre les coefficients de distribution déterminées par des résines prétraitées ou non (n=4), et ce pour les deux métaux. Les moyennes des λ_o^{Cd} et λ_o^{Zn} obtenues pour la résine prééquilibrée avec l'acide fulvique étaient de 0,52 ± 0,01 $l \cdot g^{-1}$ et 0,45 ± 0,01 $l \cdot g^{-1}$ alors qu'en utilisant une résine sans traitement à la MOD, les moyennes étaient respectivement de 0,52 ± 0,02 $l \cdot g^{-1}$ et 0,46 ± 0,02 $l \cdot g^{-1}$.

3.6.2 Suivi par absorbance à 400 nm

Une diminution de l'absorbance de lumière (400 nm) dans les fioles contenant de la résine aurait démontré une adsorption de matière organique alors qu'une lecture constante aurait indiqué qu'il n'y a aucun effet de ce type. La figure 3.14 représente la calibration de l'absorbance en fonction de la concentration de l'acide fulvique. En cas de baisse d'absorption en présence d'une résine, cette courbe permet d'estimer la concentration d'acide fulvique en solution, donc de calculer la concentration retenue par la résine.

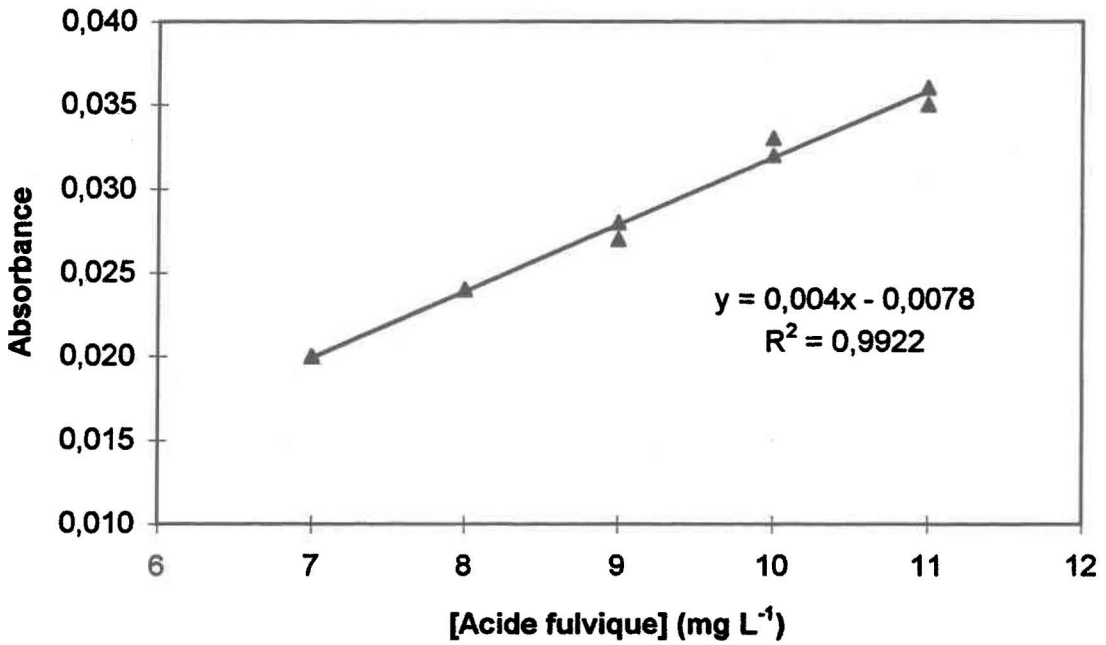


Figure 3.14: Courbe d'étalonnage de l'absorbance à 400 nm en fonction de la concentration d'acide fulvique

L'absorbance, contrairement à ce qui était prévu, a augmenté dans toutes les fioles contenant de la résine; les résultats sont présentés dans les tableaux 3.5 et 3.6 pour respectivement l'acide fulvique et humique. Les fioles qui ne contenaient pas de MOD ajoutée (tableau 3.7) ont révélé une absorbance à 400 nm alors qu'elles ne contenaient au départ que de l'eau et de la résine.

Tableau 3.5: Absorbance moyenne (n=3) mesurée après l'exposition de résine Dowex dans des solutions d'acide fulvique de 10 $mg \cdot l^{-1}$

Résine Dowex 50W-X8 ($g \cdot l^{-1}$)	Absorbance moyenne ($X\ 10^{-3}$)
0	$32,8 \pm 0,7$
5	$34,2 \pm 0,7$
10	$35,1 \pm 0,5$
20	$35,4 \pm 0,7$

Tableau 3.6: Absorbance moyenne (n=3) mesurée après l'exposition de résine Dowex dans des solutions d'acide humique de 16 $mg \cdot l^{-1}$

Résine Dowex 50W-X8 ($g \cdot l^{-1}$)	Absorbance moyenne ($X\ 10^{-3}$)
0	88 ± 2
20	$93,9 \pm 0,8$

Tableau 3.7: Absorbance moyenne (n=3) mesurée après l'exposition de résine Dowex dans des solutions d'eau ultra-pure sans MOD

Résine Dowex 50W-X8 ($g \cdot l^{-1}$)	Absorbance moyenne ($X\ 10^{-3}$)
20	$4,0 \pm 0,5$[a]

[a] Une valeur aberrante a été exclue

Après huit heures d'exposition, l'absorbance des solutions d'acide fulvique contenant 20 $g \cdot l^{-1}$ de résine avait augmenté de 0,003 unité par rapport aux fioles ne contenant aucune résine (tableau 3.5), soit à peu près l'équivalent de l'absorbance mesurée (0,004) dans l'expérience contrôle ne contenant pas de MOD mais avec 20 $g \cdot l^{-1}$ de Dowex, ce qui suggère une décoloration de la résine. Le même phénomène a été observé dans le cas

de l'expérience avec l'acide humique laurentien, où l'absorbance a augmenté d'environ six millièmes d'unité. Donc, encore une fois, il ne semble y avoir aucune adsorption de matière organique sur la résine.

3.7 Études de spéciation métaux-acide fulvique

Après avoir vérifié la capacité de la TÉI à doser l'aquo-ion en présence de MOD, des expériences ont été réalisées pour déterminer les concentrations de cadmium et de zinc libres dans une solution d'acide fulvique laurentien de 10 $mg \cdot l^{-1}$. Les figures 3.15 à 3.18 illustrent les résultats de ces expériences (ligne pleine: régression linéaire des différentes concentrations mesurées avec l'incertitude reliée au coefficient de distribution) ainsi que les concentrations prédites par le modèle WHAM (ligne pointillée).

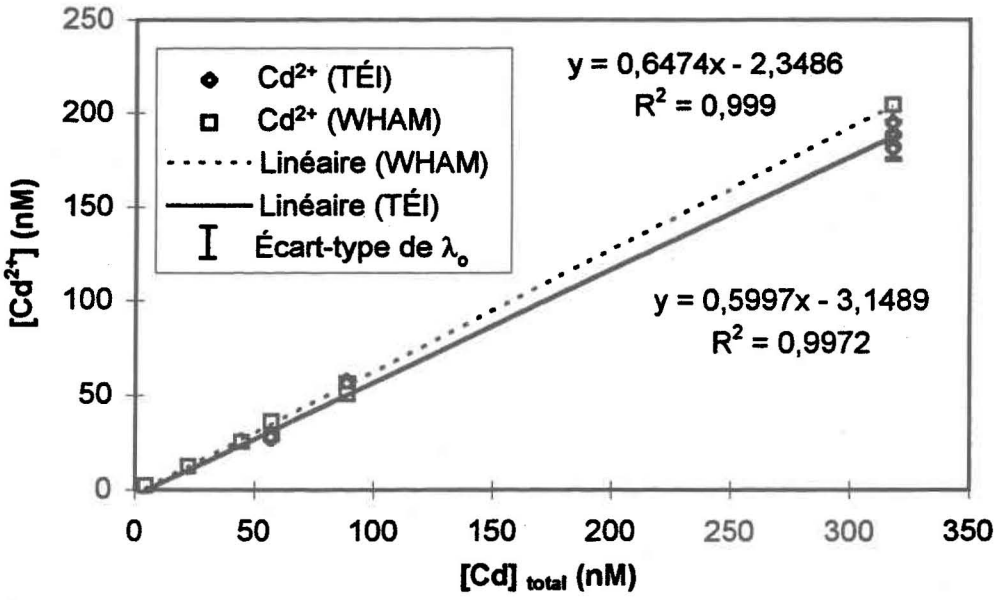


Figure 3.15: Concentrations de Cd^{2+} mesurées (TÉI) et calculées (WHAM) en fonction de la concentration totale de Cd en présence d'AF (10 $mg \cdot l^{-1}$) à pH 5,5

Les concentrations de Cd^{2+} évaluées par la TÉI et WHAM pour des concentrations de cadmium total entre 4 et 320 nM à un pH de 5,5 sont pratiquement identiques (figure 3.15). La différence de pente entre les deux droites de la figure 3.15 est faible, évoquant une bonne prédiction de la part du modèle WHAM à ce pH. Par contre, à un pH de 7,0 et

à des concentrations de cadmium plus élevées, les mesures de la TÉI et les calculs de WHAM (figure 3.16) divergent davantage. La régression linéaire des mesures de la TÉI démontre une pente de plus de deux fois inférieure à celle calculée à l'aide du modèle WHAM. De plus, l'équation de la régression indique qu'à une concentration totale nulle de cadmium, la concentration d'ion libre serait supérieure à zéro, ce qui est impossible. Des résultats supplémentaires ont été obtenus avec le cadmium dans le cadre de bioessais, et sont inclus dans les figures 3.15 et 3.16: d'abord avec le saumon Atlantique à pH 5,5 avec des concentrations de Cd (n=6) de 320 nM [Gauthier 1995], ensuite avec la truite arc-en-ciel à pH 5,5 ([Cd] = 57 nM, n=12) et 7,0 ([Cd] = 89 nM, n=6) [Gauthier *et al.* 1996]. Les résultats détaillés se trouvent en annexe (section 7.3.9)

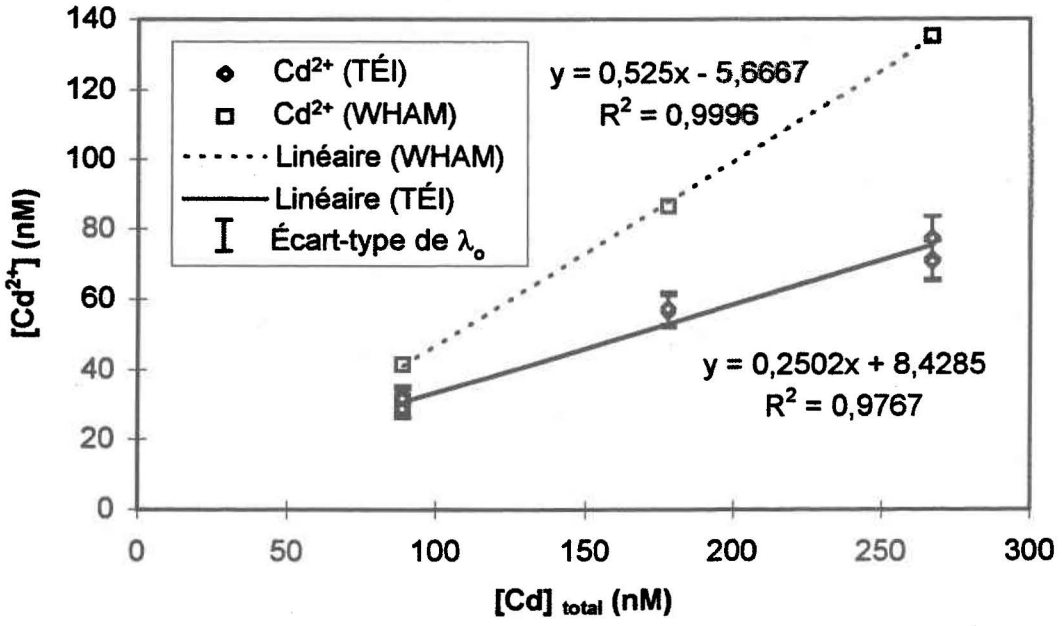


Figure 3.16: Concentrations de Cd^{2+} mesurées (TÉI) et calculées (WHAM) en fonction de la concentration totale de Cd en présence d'AF (10 $mg \cdot l^{-1}$) à pH 7,0.

Dans le cas du zinc à pH 5,5, on peut observer une différence marquée entre la pente des concentrations prédites par WHAM et celle des mesures de la TÉI (figure 3.17). Notons que les concentrations utilisées pour le zinc (76 à 612 nM) étaient beaucoup plus élevées que pour le cadmium. Comparativement, à un pH de 7,0 (figure 3.18), la régression des mesures de la TÉI et celle des calculs de WHAM semblent parallèles. La tendance observée dans la figure 3.18 pour la TÉI indique un déphasage anormal

puisque les valeurs de Zn^{2+} obtenues à 150 nM de Zn_{total} représentent entre 90 et 100% de la concentration totale en zinc pour ensuite se situer entre 50 et 55% lorsque la concentration totale atteint 460 nM.

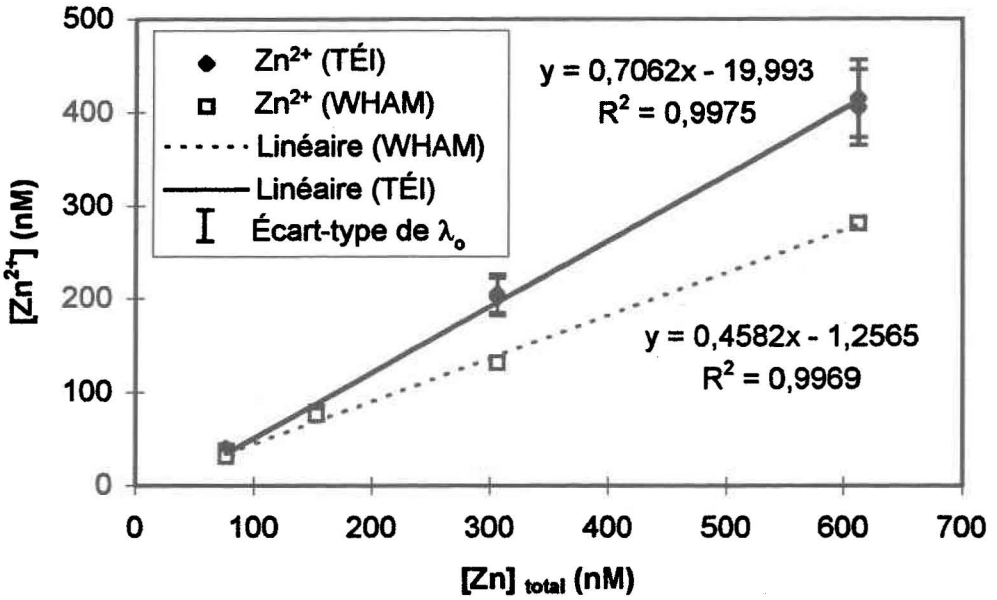


Figure 3.17: Concentrations de Zn^{2+} mesurées (TÉI) et calculées (WHAM) en fonction de la concentration totale de Zn en présence d'AF (10 $mg \cdot l^{-1}$) à pH 5,5

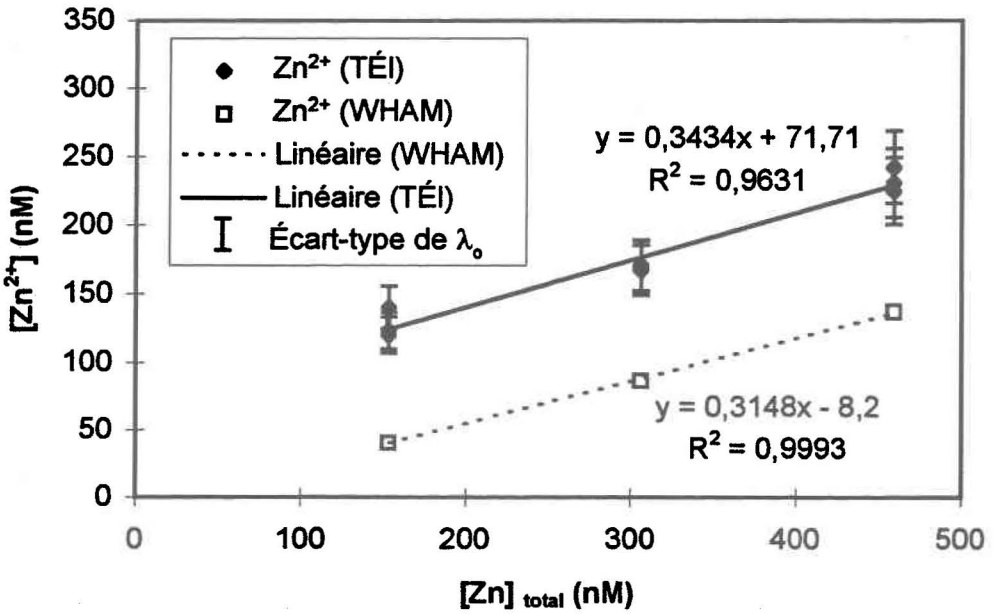


Figure 3.18: Concentrations de Zn^{2+} mesurées (TÉI) et calculées (WHAM) en fonction de la concentration totale de Zn en présence d'AF (10 $mg \cdot l^{-1}$) à pH 7,0

4. DISCUSSION

4.1 Détermination des coefficients de distribution métal-résine

De façon générale, les coefficients de distribution déterminés dans les deux modes étaient reproductibles. Les écarts types sur les moyennes des valeurs confèreraient à la TÉI une faible incertitude. Une seule valeur aberrante a été exclue, à pH 4,5, ce coefficient de distribution du cadmium étant à l'extérieur de l'intervalle de confiance à 99% des autres mesures réunies.

Selon les résultats de la calibration de la TÉI en mode manuel (tableau 3.2), les coefficients de distribution λ_o ont diminué légèrement avec le pH. Ceci n'a rien de surprenant puisque le proton H^+ agit comme compétiteur pour les sites disponibles sur la résine. En miniaturisant la technique, on s'attendait à obtenir une tendance similaire des coefficients. Toutefois, cette tendance s'est accentuée en mode semi-automatique (tableau 3.3). De plus, à l'exception du Zn à pH 5,5, les coefficients se sont avérés significativement différents ($P < 0,05$) entre les deux modes de dosage; les coefficients de distribution en mode miniaturisé étaient toujours inférieurs à ceux obtenus en mode manuel. Ainsi, la méthode miniaturisée indique une moins grande affinité de la résine pour les métaux. Toutefois, si le nombre de sites disponibles par poids sec de résine était exactement le même, alors la distribution d'un métal sur une même résine à un pH donné aurait dû être similaire. Ce ne fut pas le cas. Afin de vérifier le nombre de sites disponibles, les concentrations de sodium de divers échantillons d'éluat ont été mesurées. Ces résultats sont exprimés en $meq \cdot g^{-1}$, unité de mesure courante chez les fabricants de résines échangeuses, et comparés aux spécifications de *Sigma* dans le tableau 4.1.

Tableau 4.1: Comparaison de la capacité d'échange (CÉ) de Dowex 50W-X8

TÉI en mode manuel CÉ ($meq_{Na} \cdot g^{-1}$) n=5	TÉI en mode semi-automatique CÉ ($meq_{Na} \cdot g^{-1}$) n=7	Spécifications de *Sigma* CÉ ($meq_{total} \cdot g^{-1}$)
3,7 ± 0,3	4,4 ± 0,1	5,1

On constate que les CÉ moyennes obtenues selon les deux modes sont significativement différentes l'une de l'autre et inférieures à la spécification du fabricant. Si l'élution avec l'acide nitrique réussissait à éliminer tout le sodium initialement présent sur la résine, et si la capacité d'échange spécifiée par le fabricant était fiable, la résine serait convertie à 72 et 86% à la forme sodique en mode manuel et semi-automatique respectivement. Les différences entre cette valeur nominale et celles mesurées seraient causées par la présence de protons sur les sites. La conversion incomplète serait donc responsable de la différence entre les λ_o des deux méthodes, l'ion Na^+ étant plus difficile à déloger par les métaux que le proton (tableau 1.3). Le temps de contact qui semblait, à première vue, suffisant pour convertir totalement la résine sous forme sodique s'est avéré insuffisant. La concentration du contre-ion à l'intérieur même de la résine varie avec le rayon des particules selon le taux de diffusion de ce contre-ion [Helfferich 1983]. Comme les particules de résine ne possèdent pas un seul rayon mais plutôt une gamme de rayons de 75 à 145 µm, le taux de conversion est forcément hétérogène. L'utilisation d'une résine plus petite aurait permis d'obtenir un meilleur taux de conversion. L'effet important du contre-ion sur les coefficients de distribution et le temps nécessaire à la conversion à la forme sodique ont donc été sous-estimés. Toutefois, cette différence entre les deux méthodes ne remet pas en cause la validité des résultats tant et aussi longtemps que la préparation de la résine est faite de manière reproductible, et que le coefficient de distribution correspondant à la méthodologie est utilisé.

Une différence plus difficilement perceptible a été observée entre les deux méthodologies. Les coefficients sont non seulement différents entre les méthodes mais ont varié indépendamment. En comparant les rapports λ_o^{Zn} sur λ_o^{Cd} entre les deux méthodes, tout pH confondu, la relation des deux métaux avec la résine a changé différemment, passant de 0,78 en mode manuel jusqu'à 0,89 en mode semi-automatique (tableau 4.2). En comparant ces rapports avec des valeurs fournies par un manufacturier de ce type de résine [Bio-Rad 1996] présentées au tableau 1.3 (affinité relative du Zn pour la résine par rapport à H^+, divisée par celle du Cd), on obtient un point de comparaison, soit 0,93. Toutes ces valeurs sont comparées dans le tableau 4.2.

En résumé, les affinités relatives du Cd et du Zn pour la résine se rapprochent plus des valeurs spécifiées par le manufacturier en mode miniaturisé qu'en mode manuel. Cette

particularité est vraisemblablement reliée aux taux de conversion différents entre les deux méthodologies. Notons toutefois que les valeurs spécifiées par le manufacturier sont évaluées en fonction de la compétition des métaux et de l'ion H^+, alors que celles mesurées le sont par rapport à l'ion Na^+.

Tableau 4.2: Comparaison des rapports de coefficients de distribution

$\lambda_o^{Zn} / \lambda_o^{Cd}$ En mode manuel	$\lambda_o^{Zn} / \lambda_o^{Cd}$ En mode semi-automatique	Rapport des distributions théoriques de Cd et de Zn
0,78 ± 0,05	0,89 ± 0,06	0,93

4.1.1 Comparaison des coefficients de distribution avec ceux de la littérature

Il y a peu de valeurs de coefficients de distribution dans la littérature, obtenus à la même force ionique (0,2 M), qui peuvent être comparés avec les présents résultats de calibration. Cantwell *et al.* (1982) ont déterminé deux coefficients de distribution pour le nickel (en mode manuel), et ce à pH 7 et 8, ces valeurs étant respectivement 0,48 ± 0,01 $l \cdot g^{-1}$ (n=4) et 0,54 ± 0,03 $l \cdot g^{-1}$ (n=20),. Le nickel possède une affinité très proche de celle du cadmium pour la résine du type Dowex (tableau 1.3). La TÉI a également été utilisée par Chan (1996) qui a obtenu un coefficient de distribution de 0,68 ± 0,02 $l \cdot g^{-1}$ pour le cadmium (pH = 6). Finalement, on retrouve des coefficients de distribution de 0,43 ± 0,01 $l \cdot g^{-1}$ pour le Co et de 0,58 ± 0,02 $l \cdot g^{-1}$ Cd à un pH de 7,5 [Fortin and Caron 1995]. Ces valeurs se comparent donc bien avec les résultats obtenus dans le cadre de la présente étude.

Les expériences réalisées à une force ionique différente ont révélé des coefficients de distribution très différents: 0,076 $l \cdot g^{-1}$ à I = 0,70 M et pH = 8 [Zorkin *et al.* 1986], 41 $l \cdot g^{-1}$ à I = 0,10 M et pH = 6 [Sweileh *et al.* 1987] pour le cuivre et entre 5 et 8 $l \cdot g^{-1}$ pour une force ionique variant de 0,007 à 0,08 M à pH = 8 pour le nickel [Nielsen *et al.* 1984]. Notons que la force ionique à un impact appréciable sur la valeur des coefficients de distribution.

4.2 Reproductibilité et limite de détection

Les mesures des deux modes se sont avérées reproductibles pour déterminer la concentration d'ion libre en solution. Par ailleurs, la variabilité était à toute fin pratique semblable dans les deux cas. L'incertitude sur le coefficient de distribution du zinc était légèrement supérieure à celle du λ_o^{Cd}; ceci résulte probablement de l'omniprésence du zinc les laboratoires. En mode semi-automatique, la calibration effectuée à pH 7,0 indiquait une incertitude deux à trois fois plus élevée qu'aux pH inférieurs.

Les facteurs pouvant affecter la limite de détection de la TÉI sont: i) la quantité de résine; ii) le taux de conversion de la résine à la forme sodique; iii) le volume d'élution utilisé; iv) la stabilité du pH lors de l'expérience; v) le degré de contamination des divers réactifs; vi) la limite de détection de l'appareil d'AA; vii) l'incertitude sur le coefficient conditionnel de distribution. On discute ci-dessous comment ces facteurs influencent la limite de détection de la TÉI.

Dans l'optique où un échantillon n'est pas limité en volume (ex. eau d'un lac), une plus grande quantité de résine permettrait d'abaisser la limite de détection en amplifiant le signal dans l'éluat. En diminuant la quantité de résine le contraire se produit car le volume d'élution ne peut être réduit indéfiniment. De plus, il y a un risque d'obtenir des disparités entre les colonnes, la résine n'étant pas nécessairement un produit homogène et, qu'en petite quantité, il est possible d'avoir un échantillon non représentatif de la population. Également, la résine est pesée en poids sec avant d'être inséré en colonne. Or, une résine déshydratée peut absorber rapidement l'eau présente dans l'atmosphère. Si l'humidité absorbé par la résine est significatif (qui dépend du taux d'humidité ambiant et du temps requis pour peser la résine), alors le poids de résine est surestimé. Cet effet est amplifié dans le cas de la méthode miniaturisé car la manipulation de 7 à 8 mg de résine devient problématique et requiert une bonne dextérité manuelle.

Tel que décrit précédemment, le taux de conversion de la résine à la forme sodique a un effet sur le coefficient de distribution du métal. Le respect de la méthodologie devient donc impératif pour obtenir des résultats reproductibles.

L'incertitude sur le volume d'élution utilisé joue un rôle moins important puisqu'il peut être évalué de façon précise et est inclus dans l'équation (9) qui sert à déterminer $[M^{z+}]$. Plus ce volume sera petit, plus la possibilité d'erreur sera grande de par l'impact de la perte de solution sur les parois des tuyaux ou de la colonne.

Le pH de la solution au cours de l'expérience peut aussi affecter le résultat de deux façons: i) en changeant la spéciation de la solution à analyser; ii) en modifiant la distribution du métal entre la résine et la solution. Le premier effet dépend des caractéristiques thermodynamiques et cinétiques des réactions de complexation, selon les métaux et les ligands présents. Le deuxième effet peut être quantifié de façon générale. En interpolant entre les coefficients de distribution mesurés, (en mode semi-automatique, pour le cadmium à pH 5,5 et 7,0) on découvre que chaque dixième d'unité de pH fait varier le coefficient de distribution d'environ 0,02 $l \cdot g^{-1}$. La difficulté de conserver le pH constant pendant les expériences à pH élevés est reliée à la concentration maximale de tampon pouvant être ajoutée sans modifier la spéciation des métaux en solution (tableau 2.1). Le coefficient de distribution étant sensible aux changements de pH, une augmentation de la variabilité du pH au cours d'une expérience influerait directement sur la variabilité des valeurs mesurées.

La contamination des réactifs, $NaNO_3$ et HNO_3, et de la matière première, l'eau, peut également affecter les résultats. La contamination du nitrate de sodium (*AnalaR* ou *Ultrapur*) est beaucoup plus importante que celle de l'acide nitrique (*JTBaker - Trace Metal Grade*), qui est d'une grande pureté et peu coûteux. Le traitement du $NaNO_3$ s'est avéré efficace lors de son évaluation (section 3.1), par contre le degré de contamination varie selon le lot duquel provient le sel. Il est possible que la purification soit insuffisante dans certain cas. Même avec les cristaux de grade ultra-pur, les concentrations en métaux dans les solutions de travail sont parfois au-delà des concentrations traces que l'on désire examiner. Si, par exemple, on désire mesurer la concentration de Cd^{2+} dans un échantillon d'eau naturelle, alors il faut ajouter l'électrolyte sous forme solide afin de minimiser les changements de volume ou l'effet de dilution. Or le sel ne peut être purifié aussi efficacement sous forme solide qu'en solution.

La limite de détection de l'appareil d'AA au four au graphite qui sert à doser le métal présent dans l'éluat est cruciale. Ces limites de détection ont été déterminées en dosant un même échantillon, de faible concentration, dix fois et multipliant l'écart type de ces mesures par trois. Pour le cadmium et le zinc, les limites de détection sont respectivement de 0,18 nM et 0,50 nM. La matrice complexe de l'échantillon est également un facteur limitant. Dans cet ouvrage, seul une méthode d'injection unique a été employée pour minimiser les effets de matrices. Une méthode d'injection multiple permettrait de doser des concentrations plus faibles mais amplifierait les problèmes de matrice. Il faudrait consacrer un certain temps à raffiner une telle méthode. Également, on pourrait envisager la chélation/extraction couplée à l'AA ou l'utilisation d'autres méthodes de mesure (électrochimie).

L'écart type sur les coefficients de distribution mesurés pour chaque pH, métal et type d'approche (manuel ou semi-automatique) est le résultat de toutes ces erreurs réunies. La plupart des sources d'erreurs mentionnées et leur impact sur la mesure finale sont difficilement quantifiables (à l'exception du pH et de l'AA). Pour quantifier de façon plus précise la limite de détection globale de la méthode, l'écart type propre à chaque coefficient de distribution a été utilisé afin de tenir compte de la spécificité de chaque λ_o. En utilisant l'équation (9), où $[M_{éluat}]$ est substitué par la limite de détection de l'AA au four au graphite (concentration minimale mesurable), et en tenant compte de la variabilité inhérente de λ_o (en multipliant par trois son écart-type; voir tableaux 3.2 et 3.3), on obtient une limite de détection (LD) spécifique selon la reproductibilité des résultats obtenus lors de la calibration pour chaque mode et chaque pH. Les limites de détection pour le cadmium sont données dans le tableau 4.3 alors que celles pour le zinc sont incluses dans le tableau 4.4. Elles se comparent avantageusement avec celles mentionnées dans le tableau 1.1 pour d'autres méthodes analytiques.

Tableau 4.3: Limite de détection du Cd^{2+} selon le pH et la méthodologie utilisée

Méthodologie	pH	LD (pM)	LD ($ng \cdot l^{-1}$)
Manuel	4,5	64	7,2
	5,5	65	7,3
Semi-Automatique	4,5	160	18
	5,5	120	14
	7,0	90	10

Tableau 4.4: Limite de détection du Zn^{2+} selon le pH et la méthodologie utilisée

Méthodologie	pH	LD (pM)	LD ($ng \cdot l^{-1}$)
Manuel	4,5	320	21
	5,5	260	17
Semi-Automatique	4,5	570	17
	5,5	400	26
	7,0	310	20

4.3 Tests de fiabilité de la méthode avec des ligands modèles

4.3.1 EDTA

La comparaison entre les résultats obtenus avec la TÉI et les calculs thermodynamiques a montré une excellente concordance dans le cas du zinc. Par contre, les concentrations de cadmium mesurées avec la TÉI sont décalées par rapport à celles calculées avec MINEQL+.Cette expérience ayant été réalisée en combinant les deux métaux (Cd et Zn), l'accord noté pour le Zn, entre valeurs calculées et mesurées, laisse entendre que les manipulations ont été réalisées sans erreur volumétrique appréciable. La différence entre $[Cd^{2+}]_{calculée}$ et $[Cd^{2+}]_{mesurée}$ est toutefois petite si l'on tient compte de l'incertitude des valeurs utilisées pour les calculs thermodynamiques. La constante de formation du complexe $CdEDTA^{2-}$ utilisé pour les calculs est de $10^{18,26}$ [Smith *et al.* 1993]. Pour obtenir la même courbe que les données de la TÉI, il ne faudrait modifier cette valeur que de peu; l'emploi d'un log K de 17,9, donne une concordance parfaite (figure 4.1).

Étant donné la très grande affinité du Cd pour l'EDTA, une petite différence dans la constante de formation peut changer de façon radicale le résultat des calculs thermodynamiques. Ceci permet de constater que, malgré la différence observée d'environ 10% entre les valeurs théoriques et expérimentales de concentrations de Cd^{2+}, on peut considérer qu'elles concordent de façon satisfaisante. Cependant, puisqu'une seule répétition est disponible par concentration d'EDTA, ces résultats sont insuffisants pour mettre en doute la validité de la valeur de la constante de formation publiée par

Smith *et al.* (1993). Notons que cette constante était de $10^{18,12}$ dans une version antérieure des éditeurs de la base du NIST [Smith and Martell 1977].

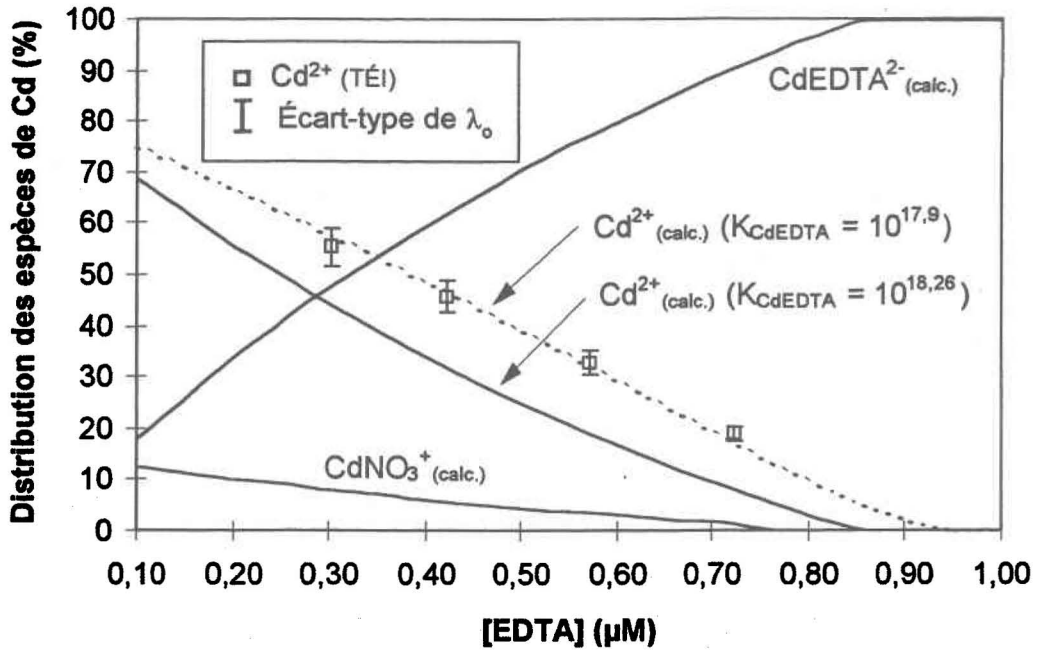


Figure 4.1: Comparaison de la distribution des espèces de Cd (89 nM) mesurée (TÉI) et calculée (MINEQL+; avec deux constantes $K_{Cd\text{-}EDTA}$ différentes) en fonction de la concentration d'EDTA à pH 5,5

4.3.2 Citrate

Les tests avec le cadmium (figure 3.7) semblent démontrer que la résine réagit très bien pour mesurer l'ion Cd^{2+} libre en présence de citrate. Les complexes qui se forment sont soit négatifs soit neutres, ce qui n'interfère pas avec la résine cationique. Sweileh *et al.* (1987) ont obtenu des résultats similaires pour ce ligand avec le cuivre.

Comme dans le cas du Cd avec l'EDTA, les concentrations de Zn^{2+} obtenues en présence de citrate avec la TÉI et celles calculées sont déphasées (figure 3.8). Les constantes de formation utilisées pour les calculs thermodynamiques des réactions entre le zinc et le citrate provenaient de Morel et Hering (1993). Cette source a été préférée à Smith *et al.* (1993) parce qu'elle contenait une liste plus complète de complexes [Fortin et Gauthier 1995]. Le complexe qui possède le plus grand impact sur la spéciation dans

les conditions expérimentales utilisées est le $ZnCit^-$. Les constantes d'équilibre (log K) de ce complexe sont de 6,1 et 6,18 respectivement pour Morel et Hering (1993) et Smith *et al.* (1993). Ces derniers ont spécifié que la gamme de valeurs dites fiables était comprise entre 4,83 et 4,93 à une force ionique de 0,1 M. Une fois corrigée pour une force ionique s'approchant de zéro, à l'aide de l'équation de Davies [Fortin et Gauthier 1995], la constante de formation du complexe $ZnCit^-$ se situerait entre 6,15 et 6,25. En optimisant la corrélation en fonction des résultats de la TÉI, on obtient une constante (log K) de 6,36. En utilisant la valeur maximale de 6,25 dans les calculs thermodynamiques, il n'y a plus de différence significative entre les résultats théoriques et pratiques. De plus, toutes les expériences (7 avec 2 répétitions) réalisées dans cette étude suivent nettement la même tendance (figure 3.18), ce qui diminue l'incertitude expérimentale.

4.4 Sélectivité de la résine à l'ion libre

4.4.1 Chlorure de sodium

Les concentrations de Cd^{2+} déterminées avec la TÉI sont conformes aux prédictions (figure 3.9). Cette étude s'ajoute donc à d'autres qui démontrent une sélectivité à l'ion libre en présence de complexes cationiques $M\text{-}Cl^+$ [Sweileh *et al.* 1987; Holm *et al.* 1995; Desnoyers 1995].

Il est légitime de se demander pourquoi un tel complexe cationique ($CdCl^+$) ne se lierait pas à une résine échangeuse de cation. En fait, les résultats montrent que ce complexe n'est pas capté par la résine. Par contre, il y a certainement une affinité entre la résine et le complexe, mais si petite qu'elle n'est pas détectable.

De façon générale, lorsqu'un métal divalent réagit avec un ligand monoatomique tel que le chlorure, sa charge ionique est réduite de moitié. De plus, le rayon ionique effectif est agrandi par le partage d'un électron avec le chlorure. Donc, le rapport charge : rayon cationique est grandement réduit, ce qui pourrait expliquer la faible tendance de ces complexes à réagir avec les sites fonctionnels de la résine.

4.4.2 Alanine

Aucune interférence n'est observée lorsque le cadmium réagit avec l'acide aminé alanine, formant un complexe neutre ($Cd(Ala)_2$) et cationique ($CdAla^+$). Les valeurs expérimentales sont effectivement en très bon accord avec les résultats des calculs thermodynamiques (figure 3.10) indiquant que seul l'ion Cd^{2+} est capté par la résine. Afin de mieux comprendre pourquoi le complexe cationique $CdAla^+$ n'interfère pas dans la mesure de Cd^{2+} avec la TÉI, il faut considérer la structure moléculaire du complexe (figure 4.2).

Tout comme le complexe $CdCl^+$, le $CdAla^+$ possède une charge positive résiduelle faible, limitant son affinité avec la résine Dowex. Mais de plus, la charge positive est partagée entre le groupement amine et le cadmium, liés par une liaison coordonnée. En se liant, le Cd et le groupement NH_2 complètent un cycle de cinq atomes; de tels chélates (n=5) sont reconnus pour leur grande stabilité.

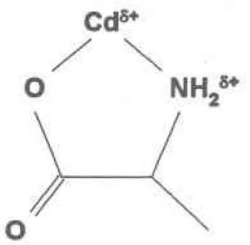


Figure 4.2: Structure moléculaire du complexe $CdAla^+$

4.4.3 Cystéine

L'expérience Zn-Cystéine a été le premier exemple d'interférence que nous avons observé entre des complexes cationiques et la résine Dowex. On a cru, au départ, à une oxydation de la cystéine en cystine malgré les précautions expérimentales. Ce dernier ligand complexe peu les métaux. Son oxydation provoque une liaison entre les groupements thiols pour former un pont de sulfure RS-SR très stable. Même si l'hypothèse était plausible théoriquement par la réduction des nitrates en nitrites (selon les valeurs de potentiel rédox), un test colorimétrique qualitatif au nitroprussate de sodium [Fontana and Toniolo 1974] a démontré la présence de groupements thiols (-SH)

en solution. De plus, aucun nitrite n'a été décelé lors d'analyses (*Dionex*). D'ailleurs, la cystine est peu soluble dans l'eau, de 23 à 47 mM à 25^{0}C respectivement pour la D- et la L-cystine [Windholz *et al.* 1983], et forme des cristaux blancs lors de la précipitation, alors qu'aucune formation de cristaux n'a été observée. L'hypothèse d'oxydation de la cystéine a donc été écartée.

Comparativement aux complexes examinés dans les sections précédentes, un des complexes que forment le Zn et la cystéine, $ZnHCys^+$, ne possède pas de charge résiduelle sur le métal, mais aurait plutôt un groupement amine protoné (figure 4.3).

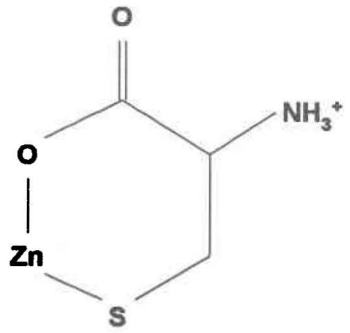


Figure 4.3: Structure moléculaire du complexe $ZnHCys^+$

Un autre complexe, $ZnH_2Cys_2^0$, possède une charge nette nulle. Par contre, en observant de plus près la configuration moléculaire (figure 4.4), on s'aperçoit que cette molécule contient deux charges négatives, partagées entre l'oxygène et le soufre et deux positives sur les groupements aminés. L'interférence n'est pas simplement due au complexe cationique, mais aussi au complexe « neutre ». Ceci expliquerait pourquoi les concentrations mesurées avec la TÉI se rapprochent plus de la concentration totale que de la concentration de Zn^{2+} calculée. Le groupement $R\text{-}NH_3^+$ se lie facilement à la résine si l'on se fie au tableau 1.3 qui spécifie une affinité relative au proton de 1,95 pour l'ion NH_4^+.

En se liant à la résine, les groupements $-NH_3^+$ de la cystéine non complexée, peuvent également avoir déstabilisé les conditions traces. En effet, la concentration de cystéine était de 50 mM, quantité suffisante pour déloger une portion significative d'ions sodium,

ce qui rendrait l'équation (7) invalide. De plus, la présence de fortes concentrations de cystéine augmenterait la force ionique de la solution et affecterait l'activité des différents ions.

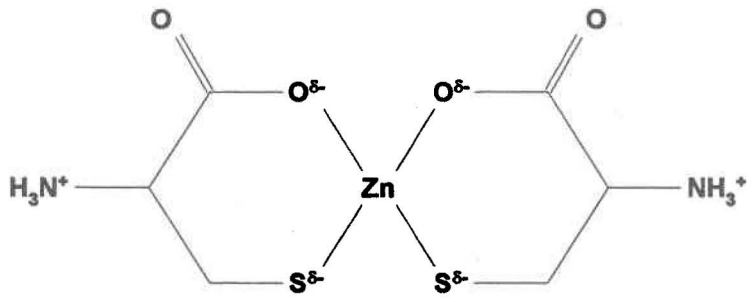


Figure 4.4: Structure moléculaire du complexe $ZnH_2Cys_2^0$

La protonation du groupement amine est due au caractère amphotère des acides aminés. Une molécule amphotère a la capacité d'agir comme une base ou un acide selon le pH de la solution. Le point isoélectrique de l'acide aminé détermine si la molécule agira comme une base, un acide ou encore comme un ion hybride. À un pH inférieur au pH du point isoélectrique, l'acide aminé peut accepter un proton ($R\text{-}NH_3^+$) alors qu'à un pH supérieur, il peut perdre ce proton ($R\text{-}NH_2$). Ainsi la cystéine, sous forme hybride (dipolaire), a formé des complexes avec le zinc, à un pH expérimental (4,5) près du pH du point isoélectrique (5,0; [McMurry, 1986]).

4.4.4 Lysine

Cette expérience est venue confirmer l'interférence causée par les acides aminés protonés. Les complexes $ZnHLys^{2+}$ et $ZnH_2Lys_2^{2+}$ sont respectivement illustrés dans les figures 4.5 et 4.6.

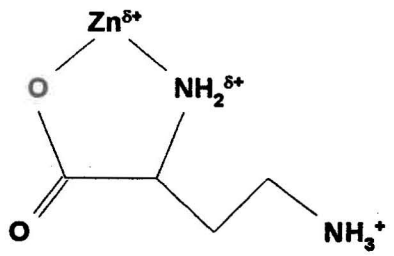


Figure 4.5: Structure moléculaire du complexe $ZnHLys^{2+}$

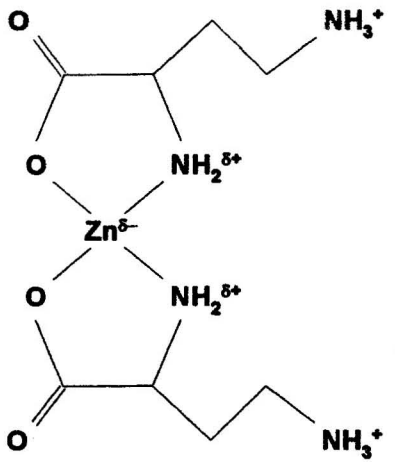


Figure 4.6: Structure moléculaire du complexe $ZnH_2Lys_2^{2+}$

Comme on peut le constater, ces deux molécules possèdent des groupements $R\text{-}NH_3^+$ qui peuvent se lier à la résine. Le pH du point isoélectrique de la lysine est de 9,7 [McMurry 1986], bien au-delà du pH expérimental de 7,0.

Les mesures de Zn^{2+} de la TÉI indiquent tout de même une certaine réponse à diminution de Zn^{2+} puisque la tendance est à la baisse. Avec une augmentation de la concentration de lysine, la concentration de Zn^{2+} diminue, alors que celles des complexes $ZnHLys^{2+}$ et $ZnH_2Lys_2^{2+}$ augmentent. À partir de 40 mM de lysine, les calculs thermodynamiques indiquent une légère diminution de la proportion de $ZnHLys^{2+}$ alors que le $ZnH_2Lys_2^{2+}$ continue d'augmenter de façon constante (figure 3.12). Comme les valeurs de Zn mesurées avec la TÉI n'augmentent pas et même semblent diminuer légèrement, la tendance paraît suivre celle de la concentration de $ZnHLys^{2+}$, plutôt que celle du complexe $ZnH_2Lys_2^{2+}$. Il est donc possible que le complexe $ZnH_2Lys_2^{2+}$ ne soit pas retenu par la résine en raison de sa structure encombrante (figure 4.6) et seul $ZnHLys^{2+}$ cause une interférence. En effet, la résine Dowex 50W-X8 possède, comme l'indique le tableau 1.2, une limite d'exclusion de poids moléculaire approximative de 1000. Bien que le poids moléculaire du complexe en question soit près de trois fois inférieur à cette limite, il ne fait aucun doute que sa diffusion à l'intérieur des pores de la résine est ralentie par sa structure moléculaire.

Il serait tentant d'additionner les courbes de concentrations du Zn^{2+} et du $ZnHLys^{2+}$ ou du $ZnH_2Lys_2^{2+}$ et comparer avec les résultats de la TÉI (figure 3.12) pour identifier quel complexe est responsable de l'interférence. Cependant, en ce faisant, on ne tiendrait pas compte des principes théoriques de la TÉI, basés sur la distribution de l'aquo-ion entre la solution et la résine dans des conditions traces. L'équation (9) n'est valide que si l'espèce libre est la seule à être captée. Il n'existe aucune indication sur le coefficient de distribution d'une molécule $X\text{-}NH_3^+$ sur la résine. À partir du moment où il y a interférence, les valeurs n'ont plus de signification quantitative précise puisque l'hypothèse de départ sur la distribution du métal n'est plus respectée. En résumé, la méthode n'a pas été calibrée pour mesurer une espèce autre que l'ion M^{z+}.

4.4.5 Cas d'interférences dans la littérature

Relativement peu d'études ont été effectuées pour vérifier la sélectivité des résines sulfoniques vis-à-vis de complexes cationiques ou neutres. Dans les cas des complexes inorganiques, la résine semble bien discriminer l'ion libre, M^{z+}, des complexes $M\text{-}SO_4$ et $M\text{-}Cl^+$ [Sweileh *et al.* 1987; Holm *et al.* 1995; Desnoyers 1995; la présente étude]. D'autre part, pour les complexes organiques la situation est moins claire.

Sweileh et al. (1987) ont comparé les résultats de dosage du Cu^{2+} à l'aide de la TÉI (I = 0,1 et pH = 6) et d'une électrode sélective. Les concentrations mesurées concordaient lorsque le citrate et l'acide fulvique étaient utilisés comme ligands. Toutefois, les mesures de $[Cu^{2+}]$ avec la TÉI étaient supérieures à celles de l'électrode sélective dans le cas de la glycine, du phtalate et du salicylate. Les auteurs concluaient que les complexes cationiques ou neutres interféraient avec les mesures de $[Cu^{2+}]$ de la TÉI. Pour ce qui est des deux autres ligands, le salicylate et le phtalate, les complexes litigieux seraient le $CuSal^0$ et le $CuPhta^0$. Ces ligands forment des chélates avec le Cu, constituant ainsi un deuxième anneau, très stable (figure 4.7). Ces composés aromatiques sont peu polarisés et possèdent donc un caractère hydrophobe qui pourrait expliquer l'interférence par une adsorption à la surface de la résine.

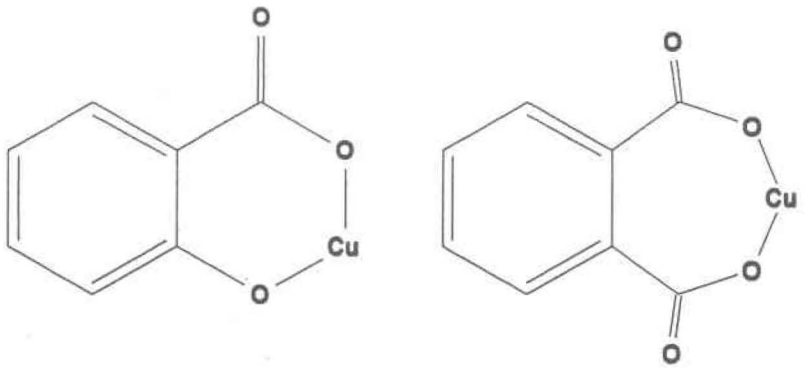


Figure 4.7: Structures moléculaires des complexes $CuSal^0$ et $CuPhta^0$

Zorkin *et al.* (1986) ont utilisé la TÉI pour mesurer les concentrations de Cu^{2+} en présence de ligands dans l'eau de mer (I = 0,7 et pH = 8) et ont comparé ces résultats avec ceux de calculs thermodynamiques. Les ligands utilisés étaient l'EDTA, le NTA, l'acide glutamique et l'histidine. Les auteurs ont observé une réponse anormale lorsque l'histidine était utilisée comme ligand (100 à 500 nM), et concluaient que le complexe formé devait être chargé positivement. Encore une fois, le pH expérimental peut nous éclairer sur les causes de cette interférence. Dans le cas de l'acide glutamique, où aucune interférence n'a été remarquée, le pH du point isoélectrique est de 3,2, soit inférieur au pH expérimental, alors que celui de l'histidine est de 7,6, presque égal au pH expérimental. À la lumière de nos résultats, l'interférence proviendrait donc vraisemblablement du groupement $\equiv NH^+$ plutôt que de la charge positive résiduelle sur le Cu, tel que l'affirment les auteurs.

4.5 Effet de prétraitement de la résine par la MOD

4.5.1 Comparaison des coefficients de distribution

Les mesures de Cd^{2+} et de Zn^{2+} provenant des colonnes dont la résine avait été prétraitée n'étaient pas significativement différentes des mesures faites dans les conditions habituelles sans traitement (figure 3.13). Ces résultats démontrent donc que la MOD ne modifie pas les propriétés échangeuses de la résine. La présence d'un électrolyte fort tel que le $NaNO_3$ peut avoir contribué à diminuer l'impact de la MOD sur la

résine. C'est en partie pour cette raison que de nouvelles expériences avec la MOD ont été réalisées mais avec une approche différente.

4.5.2 Suivi par absorbance à 400 nm

Les résultats discutés dans la section précédente (avec acide fulvique) ont déjà indiqué l'absence d'adsorption sur la résine. Par contre, seulement 300 mg de résine était exposée à une solution de 500 ml d'acide fulvique et ce dans un laps de temps très court, représentatif de la méthodologie utilisée.

Si une adsorption de MOD devait exister, il était important de la vérifier dans des conditions optimales, en choisissant les paramètres d'exposition dans le but de favoriser l'adsorption. Les quantités de résine ont été augmentées de 0,60 $g \cdot l^{-1}$ à 20 $g \cdot l^{-1}$, ce qui augmente considérablement la surface disponible à l'adsorption. Le pH a été établi à 4,50, soit le pH le plus bas dans la gamme étudiée afin d'augmenter le caractère hydrophobe de la MOD, et, finalement, le temps d'exposition a été fixé à huit heures.

L'absorbance a en fait augmenté dans toutes les fioles contenant de la résine, y compris celles qui ne contenaient pas de MOD (eau ultra-pure seulement), ce qui suggère un lessivage de matière absorbante de la résine (tableaux 3.5, 3.6 et 3.7). En soustrayant l'absorbance mesurée dans la fiole ne contenant pas de MOD (tableau 3.7) aux valeurs d'absorbance mesurées avec des quantités égales de résine mais en présence d'acide fulvique (tableau 3.5) et d'acide humique (tableau 3.6), on obtient des valeurs similaires. Cette comparaison permet d'éliminer l'influence des pertes provenant de la résine. Les valeurs indiquées dans le tableau 4.5 ne sont pas différentes significativement à un niveau de signification de 5%. Donc, la MOD ne semble pas s'adsorber à la surface de la résine Dowex.

Des analyses de carbone organique dissous (COD) ont été effectuées afin de déterminer si les concentrations de COD étaient différentes entre les fioles qui contenaient de la résine et de l'acide humique et celles contenant seulement de l'acide humique. Ces analyses (n=1) ont révélé une concentration de COD presque trois fois plus élevée dans une des fioles qui contenait de la résine (0,68 mM) que dans une autre

ne contenant pas de résine (0,24 mM). Si les composés chimiques mis en solution peuvent complexer les métaux, cette observation soulève des doutes sur la possibilité d'utiliser une résine dans des expériences par lots. Également, ces pertes peuvent limiter la longévité de la résine.

Tableau 4.5: Comparaison de l'absorbance corrigée

Type de MOD	Absorbance sans résine	Absorbance corrigée avec 20 $g \cdot l^{-1}$
Acide fulvique 10 $mg \cdot l^{-1}$	$32,8 \pm 0,7$	$31,4 \pm 0,9$
Acide humique 16 $mg \cdot l^{-1}$	88 ± 2	90 ± 2

4.6 Études de spéciation métaux-acide fulvique

Les comparaisons des résultats expérimentaux avec les calculs du logiciel WHAM ont été réalisées afin de tester ce modèle. Il est particulièrement intéressant de vérifier la capacité du logiciel de prédire des réactions avec un ligand aussi hétérogène et polyfonctionnel que l'acide fulvique. Les données recueillies par Tipping (1994) provenaient de plusieurs auteurs qui ont utilisé des acides humiques et fulviques de différentes origines. Rien n'indique *a priori* que tous les acides organiques réagiront de la même façon avec les métaux. Il s'agit donc ici de vérifier si le modèle WHAM prédit des concentrations de cadmium et de zinc libres similaires à celles mesurées en présence d'acide fulvique de type laurentien. L'origine des paramètres utilisés dans ce modèle est diverse: « Sets of parameter values have been published for different humic materials [Tipping and Hurley 1992; Tipping 1993a; Tipping 1993b] and sets of "best-average" default values have been arrived at for fulvic and humic acids ». Il faut donc accepter les résultats de ces calculs avec une certaine perspective.

4.6.1 Acide fulvique et Cd

Des deux figures, 3.15 et 3.16, la première retient plus particulièrement l'attention puisque les régressions des prédictions de WHAM et des résultats obtenus avec la TÉI à pH 5,5 se chevauchent. Par contre, à pH de 7,0, les pentes se distinguent l'une de l'autre. La pente de la régression linéaire des concentrations mesurées avec la TÉI est

plus de deux fois inférieure à celle provenant du modèle WHAM. Par contre, cette différence est peut-être amplifiée par des résultats un peu bas à 270 nM de Cd_{total} qui diminueraient la pente.

Si les résultats de la TÉI représentent la réalité, alors le modèle WHAM sous-estime la complexation du Cd^{2+} par l'acide fulvique à pH 7,0. En effet, la complexation observée est beaucoup plus forte à pH 7,0 que ce que prédit le modèle WHAM. En fait, le modèle prévoit très peu de changement dans la spéciation du cadmium lorsque le pH augmente, les pentes des prédictions de $[Cd^{2+}]$ du modèle étant pratiquement les mêmes aux figures 3.11 et 3.12, passant de 0,57 à pH 5,5 à seulement 0,53 à pH 7,0. Il est possible que le modèle ne tienne pas compte du déploiement de la molécule d'acide fulvique, à mesure que ses sites s'ionisent et se repoussent mutuellement, ce qui rendrait plus accessibles certains sites à un pH plus élevé [Schnitzer 1978].

4.6.2 Acide fulvique et Zn

D'abord, il est important de spécifier que les éluats des expériences à pH 7,0 ont été dosés pour le zinc près de quatre mois après l'expérience, dû à une erreur humaine; ceci pourrait expliquer le déphasage des valeurs de la TÉI. Puisque le zinc est omniprésent dans l'air (poussières), les risques de contamination augmentent avec le temps. La contamination représente l'hypothèse la plus plausible étant donnée que les valeurs mesurées excèdent presque la concentration totale en zinc. La comparaison avec les concentrations calculées devient difficile. Par contre il est intéressant de noter que les pentes des régressions linéaires sont presque identiques: 0,35 pour les valeurs expérimentales et 0,31 pour les valeurs théoriques (figure 3.18).

Notons que les prédictions du modèle WHAM indiquent une complexation plus élevée du zinc par rapport au Cd par l'acide fulvique. C'est-à-dire que pour des concentrations égales de cadmium et de zinc, plus de zinc est lié à l'acide fulvique. Ceci s'expliquerait par la domination des groupements carboxyliques dont l'affinité pour le zinc est supérieure à celle pour le cadmium. Pourtant, les concentrations de Zn^{2+} obtenues par la TÉI à pH 5,5 indiquent, comparativement à celles calculées par WHAM, une pente plus élevée que pour le cadmium, donc une plus grande proportion d'ions libres. Par ailleurs,

les concentrations de Zn^{2+} mesurées à pH 5,5 sont nettement supérieures à celles calculées à l'aide du logiciel WHAM (figure 3.17).

4.6.3 Concentrations relatives de métaux et d'acide fulvique

Contrairement aux ligands organiques monomères, les ligands polymères complexes tels les AF et AH ne possèdent pas de points d'équivalence bien défini. L'équilibre chimique entre ces acides et les métaux ne peut donc être exprimé par une seule constante mais plutôt par une fonction de stabilité continuelle [Perdue and Lytle 1983]. Étant donné l'existence d'une multitude de sites d'affinités différentes pour le Cd et le Zn, on s'attend à ce que les sites « privilégiés » (c'est-à-dire ceux ayant la plus grande affinité pour le métal) soient occupés avant les sites « moins attrayants ». À mesure que ces sites sont comblés par la présence de métaux, l'affinité générale de la molécule organique diminue jusqu'à ce qu'il ne reste plus que les sites les moins intéressants.

Afin de situer les résultats obtenus avec la TÉI (excès de métaux vs. excès de ligands), il faut estimer la concentration relative du Zn et du Cd par rapport à la concentration d'AF utilisée. Buffle *et al.* (1990) ont suggéré l'emploi d'un coefficient de degré d'occupation des sites (θ). Lorsque le rapport $[M]_{complexé}$ sur la concentration totale de sites de complexation de l'AF (C_S) est inférieur à 0,1, la constante de formation varie sur plusieurs ordres de grandeur puisque les sites minoritaires, plus attractifs, contrôlent la complexation des métaux [Buffle *et al.* 1990]. La concentration la plus faible de Cd ou de Zn complexés est de 2 nM (expérience Cd-AF à pH 5,5) et la plus forte de 400 nM (expérience Cd-Zn-AF à pH 7,0); ceci constitue donc la fenêtre des concentrations qui ont été étudiées. Pour déterminer la concentration totale de sites disponibles sur une molécule d'acide fulvique en moles par litre, il faut connaître le poids moléculaire, ou encore la densité de charge. Cette dernière a déjà fait l'objet d'une étude, dans laquelle on avait évalué la densité de charge de l'acide fulvique laurentien provenant du même fournisseur (*Ecolinc inc.*) entre 5,8 et 11 $meq \cdot g^{-1}$ pour un pH variant entre 5 et 10 et une force ionique de 0,20 M [Glaus *et al.* 1995]. En utilisant la valeur la plus faible (5,8 $meq \cdot g^{-1}$) et en multipliant par la concentration d'AF utilisée (10 $mg \cdot l^{-1}$), on obtient une concentration de 0,058 $meq \cdot l^{-1}$. À partir de ce nombre et en transformant en $meq \cdot l^{-1}$ la concentration de métal complexé par l'AF (en assumant un rapport 1:1), on peut calculer

le coefficient θ (tableau 4.6). La valeur de C_S déterminée dans ce tableau correspond sensiblement à ce qui aurait été obtenu à l'aide d'une autre étude: une densité de charge moyenne de 10,7 µeq·(mg C)$^{-1}$ [Oliver *et al.* 1983] multipliée par la concentration de COD mesurée dans les échantillons (3,4 mg C·l^{-1}) donne un C_S de 36 µeq·l^{-1}, ce qui ne changerait pas de façon significative la gamme des coefficients de degré d'occupation des sites.

Tableau 4.6: Degré d'occupation des sites de l'acide fulvique

$[M]_{complexé}$ (neq·l^{-1})	C_S (µeq·l^{-1})	θ
2	58	0,000034
400	58	0,0069

On peut constater que le rapport θ est inférieur à la valeur limite de 0,1 ci-haut mentionné. Ceci permet donc de déduire que le ligand, l'acide fulvique, est présent en excès par rapport aux concentrations de métaux utilisées, et que la constante de formation devrait donc être sensible aux variations de $[M^{z+}]$ pendant le titrage.

Les régressions effectuées sur les valeurs de M^{z+} mesurées indiquaient que la concentration d'ions métalliques libres croissait de façon linéaire avec la concentration totale du métal. À la lumière de ces calculs, on pourrait plutôt déduire qu'il s'agit là de courbe pseudo-linéaire. Il y aurait apparence de linéarité de par l'étroite gamme de concentrations étudiée.

L'indice d'un excès de ligand par rapport aux concentrations de métaux se confirme par l'observation d'une plus grande affinité de l'AF pour le Cd que pour le Zn (section 4.6.2). Ceci indiquerait donc que les sites minoritaires, tels les groupements thiols dont l'affinité pour le cadmium est grande, contrôlent la complexation des métaux aux concentrations étudiées, ce que le modèle WHAM n'a pu considérer.

4.6.4 Effet de la force ionique sur la spéciation des métaux

En ajoutant un sel électrolyte tel que le nitrate de sodium pour fixer la force ionique, le milieu originel perd son intégrité. Le sel peut affecter les équilibres chimiques en solution

de deux façons; d'abord par complexation des métaux par l'anion ajouté mais aussi par le changement de l'activité ionique. Lorsque la force ionique tend vers zéro, la solution approche un comportement idéal. À force ionique élevée, les interactions entre les ions (attraction ou répulsion) causent une déviation par rapport à l'idéalité, qui diminue la concentration effective des ions.

En milieu défini, on peut facilement évaluer l'impact de la force ionique sur un système donné. En revanche, dans un milieu moins bien caractérisé, l'impact d'une augmentation de la force ionique devient plus difficile à évaluer. C'est le cas des dosages de l'ion Cd^{2+} dans les milieux d'expositions contenant de l'acide fulvique. Il est important de s'assurer que la concentration de l'ion libre mesurée après l'ajout de nitrate de sodium est représentative de la concentration dans le milieu avant cet ajout.

Le logiciel WHAM a été utilisé pour évaluer l'impact de la force ionique sur la spéciation du cadmium. Les concentrations des différents ions utilisées pour ces simulations sont celles des milieux d'exposition des bioessais réalisés avec le saumon Atlantique [Gauthier 1995]. Dans une première série de simulations, le milieu est laissé tel quel, alors que dans les séries suivantes, une concentration de $NaNO_3$ 0,20 M est ajoutée, en considérant ou non le complexe $CdNO_3$. Les concentrations respectives du complexe Cd-AF sont d'abord comparées (figure 4.8), suivies de celles de l'ion Cd^{2+} (figure 4.9).

L'impact de l'électrolyte sur la complexation du Cd par l'AF semble énorme si l'on se fie aux calculs effectués à l'aide du logiciel WHAM (figure 4.8). Même lorsque le complexe $CdNO_3^+$ est ignoré, la concentration du complexe Cd-AF est affectée, ce qui indique un impact réel de la force ionique sur la complexation du cadmium par l'acide fulvique, plutôt qu'un effet de compétition entre ce dernier et le nitrate. Ces résultats semblent donc indiquer une complexation moindre à force ionique élevée, ce qui est en accord avec ceux de Glauss *et al.* (1995), qui ont remarqué une diminution moyenne de 0,5 unité dans le log K du complexe Co-AF lorsque la force ionique passait de 0,02 à 0,2 M, mais en contradiction avec ceux de Fukushima *et al.* (1994). Ces derniers concluent que la présence accrue d'ions provoquerait un changement de conformation de la molécule organique et une dissociation des groupements fonctionnels qui favoriserait légèrement la complexation du cuivre.

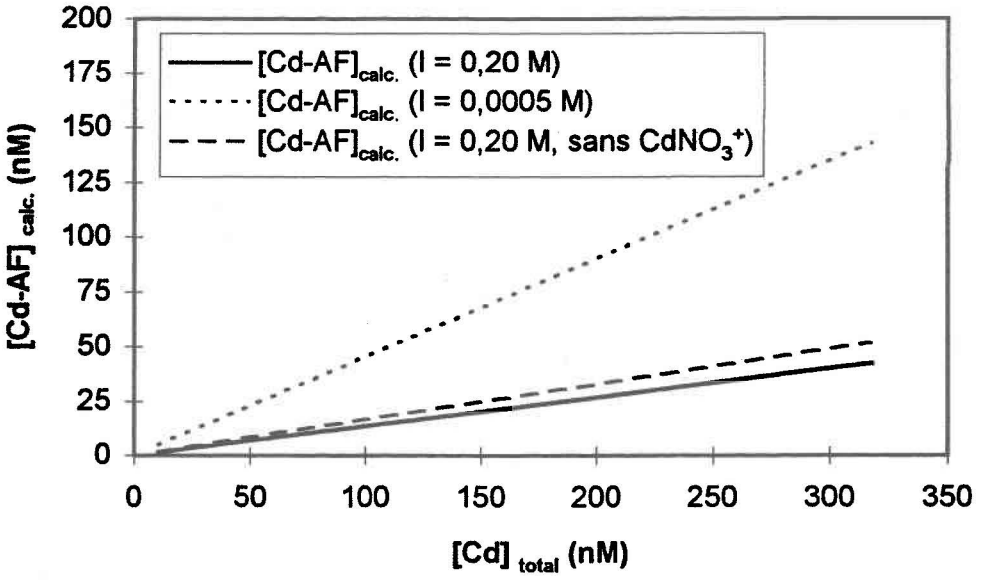


Figure 4.8: Effet du $NaNO_3$ sur la concentration du complexe Cd-AF tel que prédit par WHAM dans les solutions de bioessais à pH 5,5

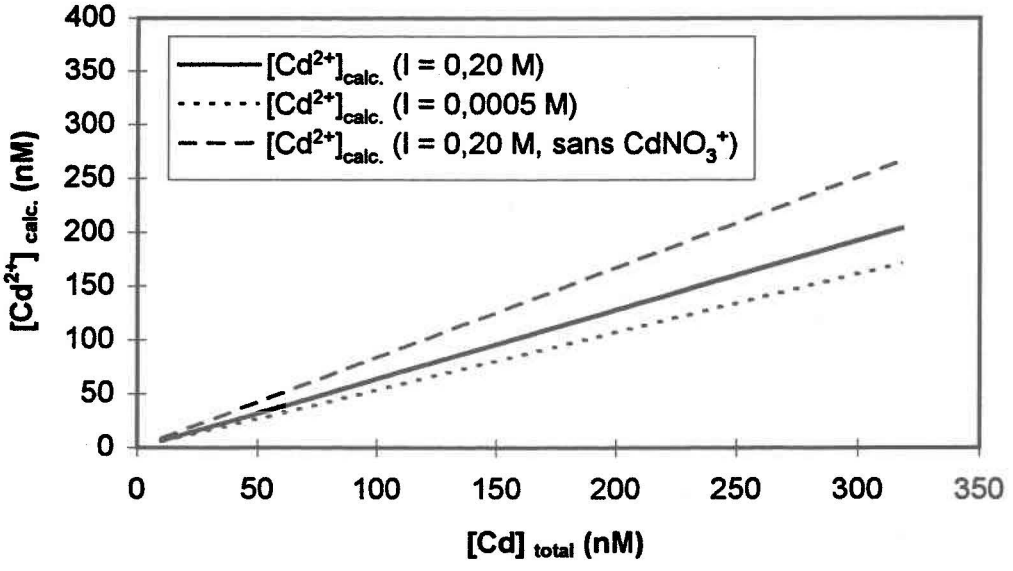


Figure 4.9: Effet du $NaNO_3$ sur la concentration de l'ion Cd^{2+} tel que prédit par WHAM dans les milieux de bioessais à pH 5,5

En revanche, si l'on regarde les concentrations de Cd^{2+} prédites par les mêmes simulations, la différence entre les deux forces ionique est faible (figure 4.9). En d'autres termes, l'ajout d'un excès de $NaNO_3$ mène à une complexation du Cd^{2+} par le nitrate dans une proportion à peu près équivalente à la diminution causé par la force ionique élevée, tel que prédit par WHAM (figure 4.8).

Cependant, les calculs de WHAM sont basés sur des principes théoriques qui n'ont pas été testés et ne sont pas nécessairement représentatifs de la réalité. Il ne fait aucun doute que la force ionique a un impact réel, si faible soit-il, sur la spéciation des métaux en présence d'acide fulvique, mais il est difficile d'en évaluer quantitativement l'impact avec les résultats présentés dans cette étude. Idéalement, l'effet de la force ionique sur la complexation des métaux par l'AF devrait être mesuré directement. Si l'étude de Fukushima *et al.* (1994) est applicable aux interactions Cd-AF et Zn-AF, alors cet impact peut être considéré comme minime.

5. CONCLUSION

Une méthode analytique de mesure de l'ion métallique libre a été calibrée et testée. Cette technique utilise une résine échangeuse d'ions sous forme sodique pour capter une quantité de métal qui est proportionnelle à la concentration de l'ion libre, M^{z+}, en solution. Une fois l'état stationnaire atteint entre la résine et la solution, les métaux retenus par la résine sont récupérés en la lixiviant à l'aide d'acide nitrique. En privilégiant l'approche par état stationnaire en colonnes plutôt qu'en lots, l'impact de la résine sur la spéciation des métaux en solution est minimisé. Cette méthode est spécifique à la force ionique (ainsi qu'au cation de l'électrolyte) et au pH de la solution. Une force ionique de 0,20 M et une gamme de pH correspondant à ce qui est observé dans les eaux de surface du bouclier Canadien, de 4,5 à 7,0, ont été étudiées pour la calibration. Deux approches ont été utilisées; une approche manuelle qui nécessite un volume d'échantillon de 500 mL et 300 mg de résine, ou une approche miniaturisée, plus rapide, qui requiert seulement 20 mL de solution et de 7 à 8 mg de résine.

Le but ultime de cette recherche était d'être en mesure de doser l'ion métallique libre dans une matrice complexe, contenant des acides organiques polyfonctionels tel l'acide fulvique. Les critères à vérifier étaient: la fiabilité, la sélectivité, la flexibilité et la sensibilité.

5.1 Fiabilité

La fiabilité de la technique d'échange ionique a été vérifiée en utilisant des ligands organiques (EDTA et citrate) dont les constantes d'équilibre thermodynamique sont bien connues. Les mesures des ions de cadmium et de zinc libres concordaient avec les valeurs théoriques calculées à l'aide du logiciel MINEQL+ (figures 3.5 à 3.8). Une très bonne reproductibilité a également été observée.

5.2 Sélectivité

La sélectivité de la méthode pour l'ion métallique libre a été vérifiée en modifiant la concentration de ligands qui forment, avec le cadmium ou le zinc, des complexes cationiques. Les résultats ont démontré que la technique est sélective à l'ion Cd^{2+} lorsque des complexes tel le $CdCl^+$ et le $CdAla^+$ sont majoritaires (figures 3.9 et 3.10). En revanche, des expériences avec deux acides aminés, la cystéine et la lysine, ont démontré une interférence provenant de complexes cationiques (figures 3.11 et 3.12). Cette interférence serait causée non pas par la charge résiduelle sur l'atome de Cd ou de Zn mais plutôt par le groupement amine protoné lorsque le pH expérimental est égal ou inférieur au pH du point isoélectrique de l'acide aminé.

Puisque le type de résine utilisée (50W) possède une épine dorsale semblable à celle servant à l'extraction de matière organique (XAD), l'éventualité d'une adsorption de matière organique dissoute hydrophobe a fait l'objet de quelques expériences. Il s'avère que la résine a un comportement identique même lorsque celle-ci a été prétraitée avec une solution d'acide fulvique (figure 3.13).En suivant l'absorbance à 400 nm des solutions, on a pu également démontrer que ni l'acide fulvique ni l'acide humique ne s'adsorbait sur la résine Dowex (tableaux 3.5 et 3.6). Cette conclusion s'applique même dans des conditions extrêmes (pH 4,5; excès de résine) conçues pour maximiser les possibilités de pertes de la solution par adsorption.

5.3 Flexibilité

Puisqu'il a été démontré que la MOD naturelle ne modifie pas la distribution des métaux sur la résine, la spéciation du cadmium et du zinc en présence de d'acide fulvique a été étudiée à différents pH (5,5 et 7,0). La concentration d'acide fulvique choisie (10 $mg \cdot L^{-1}$) correspond à ce qui est observé dans les rivières de la Côte-Nord. Une telle concentration avait été retenue pour les milieux d'exposition du saumon Atlantique et de la truite arc-en-ciel [Gauthier 1995; Gauthier *et al.* 1996]. La concentration de métal a été étudiée dans une gamme susceptible d'être utile aux bioessais. La technique d'échange ionique a donc été mise à contribution lors de ces expériences d'exposition.

5.4 Sensibilité

Les limites de détection du Cd^{2+} et Zn^{2+} de la technique d'échange ionique se comparent avantageusement aux méthodes existantes (tableau 1.1). De façon générale, les limites de détection, étant associées à l'incertitude sur le coefficient de distribution, sont plus faibles pour le Cd que pour le Zn (élément ubiquiste) et diminuent avec la quantité de résine utilisée. L'étape limitante étant le dosage par AA, le pouvoir de concentration de la résine à pH plus élevée permet d'obtenir de meilleures limites à pH 7,0 qu'à pH 4,5. La gamme de limites de détection pour le Cd^{2+} varie de 64 pM, à pH 4,5 en mode manuel, jusqu'à 160 pM à pH 4,5 en mode semi-automatique et pour le Zn^{2+} de 260 pM à pH 5,5 en mode manuel, à 570 pM à pH 4,5 en mode semi-automatique. Cette sensibilité permettrait de mesurer des concentrations d'ions métalliques libres en milieu naturel dans les lacs contaminés de Rouyn Noranda, dont les concentrations en Cd^{2+} et Zn^{2+} (calculées) sont respectivement de 0,1 à 2,2 nM et de 15 à 245 nM [Couillard *et al.* 1993].

5.5 Recommandations et perspectives

Le choix de la résine (Dowex 50W-X8), qui a été basé sur des travaux antérieurs, n'était pas nécessairement optimal. Le type de résine (50W) n'est pas remis en question, mais plutôt sa grosseur (50-100 mesh), son homogénéité et son degré de réticulation (X8). Avec un rayon des particules de résine plus petit, le temps que prend un ion pour se rendre au centre de la sphère est plus faible. Une résine plus petite pourrait permettre un meilleur taux de conversion et une atteinte de l'état stationnaire plus rapide, et par conséquent pourrait permettre d'utiliser une plus petite quantité de solution pour atteindre l'état stationnaire et pour l'élution. Un degré de réticulation plus faible signifie une plus grande porosité de la résine, donc un temps d'atteinte de l'état stationnaire écourté, mais aussi une limite d'exclusion du poids moléculaire plus élevée. Finalement, la grosseur d'une résine de grade Dowex est moins homogène que celle d'un grade analytique, ce qui peut contribuer à des différences de population de résine entre les colonnes, particulièrement lorsque la quantité de résine est très faible comme dans le cas de la méthode miniaturisée.

Cette méthode peut servir à plusieurs desseins; la vérification de la spéciation des métaux en milieu expérimental d'exposition; la détermination de la capacité de complexation ou de constantes conditionnelles d'équilibre chimique. La technique pourrait être utilisée en milieu naturel, où les concentrations de métaux sont suffisamment élevées. Cependant, l'impact de l'ajout d'un électrolyte fort tel que le $NaNO_3$ sur la spéciation demeure incertain. La technique pourrait dévier de la réalité si cet impact devait être significatif.

6. BIBLIOGRAPHIE

1. Aiken, G. R. (1988). A critical evaluation of the use of macroporous resins for the isolation of aquatic humic substances. Dans: F. H. Frimmel & R. F. Christman (éds), *Humic Substances and their Role in the Environment* . New York: Wiley (pp. 15-28).

2. Batley, G. E. (1989). Physicochemical separation methods for trace element speciation in aquatic samples. Dans: G. E. Batley (éd.), *Trace Element Speciation: Analytical Methods and Problems*. Boca Raton (FL): CRC Press, Inc., 350 p.

3. Bio-Rad Laboratories, Inc. (1988). *Guide to Ion Exchange*. Hercules (CA).

4. Bio-Rad Laboratories, Inc. (1996). *Life Science Research Products*. Hercules (CA).

5. Buffle, J., R. S. Altmann, M. Filella et A. Tessier. (1990). Complexation by natural heterogeneous compounds; site occupation distribution functions, a normalized description of metal complexation. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 54: 1535-1553.

6. Buffle, J. et C. Staub. (1984). Measurement of complexation properties of metal ions in natural conditions by ultrafiltration: measurement of equilibrium constants for complexation of zinc by synthetic and natural ligands. *Anal. Chem.*, 56: 2837-2842.

7. Campbell, P. G. C. (1995). Interactions between trace metals and aquatic organisms: a critique of the free-ion activity model. Dans: A. Tessier & D. R. Turner (éds), *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems* . New York: John Wiley & Sons Ltd (pp. 45-102).

8. Campbell, P. G. C., H. J. Hansen, B. Dubreuil et W. O. Nelson. (1992). Geochemistry of Quebec North Shore salmon rivers during snowmelt: organic acid pulse and aluminum mobilization. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 49: 1938-1952.

9. Cantwell, F. F. (1993). Communication personnelle à P.G.C. Campbell.

10. Cantwell, F. F., J. S. Nielsen et S. E. Hrudrey. (1982). Free nickel ion concentration in sewage by an ion exchange column-equilibration method. *Anal.Chem.*, 54: 1498-1503.

11. Chan, D. Y. (1996). Communication personnelle à C. Fortin.

12. Couillard, Y., P. G. C. Campbell et A. Tessier. (1993). Response of metallothionein concentrations in a freshwater bivalve (*Anadonta grandis*) along an environmental cadmium gradient. *Limnol. Oceanogr.*, 38: 299-313.

13. Davison, W. et M. Whitfield. (1975). Modulated polarographic and voltammetric techniques in the study of natural water chemistry. *J. Electroanal. Chem.*, 75: 763-789.

14. Desnoyers, C. (1995). Détermination d'une méthode de mesure de la concentration de cadmium libre (Cd^{2+}) dans l'eau interstitielle de sediments aquatiques. [Mémoire de maîtrise]: INRS-Eau, Université du Québec, t-185, 133 p.

15. EPA. (1995). Errors found in speciation model. *Environ. Sci. Technol.*, 29: 66a.

16. Figura, P. et B. McDuffie. (1977). Characterization of the calcium form of Chelex-100 for trace metal studies. *Anal. Chem.*, 49: 1950-1953.

17. Figura, P. et B. McDuffie. (1979). Use of Chelex resin for determination of labile trace metal fractions in aqueous ligand media and comparison of the method with anodic stripping voltammetry. *Anal. Chem.*, 51: 120-125.

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

19. Fontana, A., & Toniolo, C. (1974). Detection and determination of thiols. Dans: S. Patai (éd.), *The Chemistry of the Thiol Group* (Vol. 1). New York: Wiley (pp. 271-321).

20. Fortin, C. et F. Caron. (1995). Analysis of the complexing capacity of low-level radioactive waste leachates using an ion-exhange technique. Atomic Energy Canada Limited, SSDO. (Rapport No. TR-687). 27 p.

21. Fortin, C. et J. Gauthier. (1995). Constantes de formation et différences d'enthalpie pour divers complexes métalliques: comparaison de différentes bases de données. INRS-Eau, Université du Québec. (Rapport No. RI-136). 13 p.

22. Fukushima, M., S. Tanaka et M. Taga. (1994). Effect of ionic strength on complexing equilibrium between copper(II) and humic acid. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 56: 229-237.

23. Gauthier, J. (1995). Toxicité et bioaccumulation du cadmium chez le saumon Atlantique juvénile (*Salmo salar*) en présence de matière organique dissoute (MOD) sythétique ou naturelle. [Mémoire de maîtrise]: INRS-Eau, Université du Québec, t-194, 101 p.

24. Gauthier, J., C. Fortin et P. G. C. Campbell. (1996). Effect of natural organic matter (fulvic acid) on bioaccumulation of cadmium in fish: testing the free-ion model. *CNTC symposium,* Toronto, 29 avril au 1er mai.

25. Glaus, M. A., W. Hummel et L. R. Vanloon. (1995). Equilibrium dialysis-ligand exchange: Adaptation of the method for determination of conditional stability constants of radionuclide fulvic acid complexes. *Anal. Chim. Acta*, 303: 321-331.

26. Helfferich, F. G. (1983). Ion exchange kinetics - evolution of a theory. Dans: L. Liberti & F. G. Helfferich (éds), *Mass Transfer and Kinetics of Ion Exchange* . The Hague (NL): M. Nijhoff Publishers (pp. 157-179).

27. Holm, P. E., T. H. Christensen, J. C. Tjell et S. P. McGrath. (1995). Speciation of cadmium and zinc with application to soil solutions. *J. Environ. Quality*, 24: 183-190.

28. Lund, W. (1986). Electrochemical methods and their limitations for the determination of metal species in natural waters. Dans: *The Importance of Chemical Speciation in Environmental Processes,* Heidelberg, Berlin: Springer-Verlag (pp. 533-561).

29. McMurry, J. (1986). *Fundamentals of Organic Chemistry*. Cornell (CA): Brooks/Cole Publishing Co., 493 p.

30. Morel, F. M. M. (1983). *Principles of Aquatic Chemistry*. Toronto: Wiley International, 446 p.

31. Morel, F. M. M. et J. G. Hering. (1993). *Principles and Applications of Aquatic Chemistry*. New York: Wiley, 588 p.

32. Nelson, W. O. et P. G. C. Campbell. (1991). Effects of acidification on the geochemistry of Al, Cd, Pb and Hg in freshwater environments: a literature review. *Environ. Pollut.*, 71: 91-130.

33. Nielsen, J. S., S. E. Hrudrey et F. F. Cantwell. (1984). Role of the free metal ion species in soluble nickel removal by activated sludge. *Environ. Sci. Technol.*, 18: 883-886.

34. Nürnberg, H. W. (1982). Voltammetric trace analysis in ecological chemistry of toxic metals. *Pure & Applied Chem.*, 54: 853-878.

35. Oliver, B. G., E. M. Thurman et R. L. Malcolm. (1983). The contribution of humic substances to the acidity of colored natural waters. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 47: 2031-2035.

36. ORION (1996). *Laboratory Products and Field Analysis Catalog*. Boston, MA.

37. Pagenkopf, G. K. (1983). Gill surface interaction model for trace-metal toxicity to fishes: role of complexation, pH and water hardness. *Environ. Sci. Technol.*, 17: 342-347.

38. Pai, S. C., S. D. Huang et C. C. Hung. (1990). Preparation of a heavy metal-removed seawater. *J. Chinese Chem. Soc.*, 37: 535-540.

39. Perdue, E. M. (1989). Effects of humic substances on metal speciation. Dans: *Advances in Chemistry Series: Vol. 219. Aquatic Humic Substances: Influence on Fate and Treatment of Pollutants,* Denver, 1987. Washington: American Chemical Society (pp. 281-295).

40. Perdue, E. M. et C. R. Lytle. (1983). Distribution model for binding of protons and metal ions by humic substances. *Environ. Sci. Technol.*, 17: 654-660.

41. Price, N. M., G. I. Harrison, J. G. Hering, R. J. Hudson, P. M. Nirel, B. Palenik et F. M. M. Morel. (1989). Preparation and chemistry of the artificial algal culture medium Aquil. *Biological Oceanography*, 6: 443-461.

42. Ren, H. et B. Kratochvil. (1995a). Determination of free calcium and magnesium concentrations in urine samples by an ion exchange-inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy method. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 60: 303-312.

43. Ren, R. J. et B. Kratochvil. (1995b). Determination of the thermodynamic stability constant of the magnesium complex of malonic acid by using an ion-exchange inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy method. *J. Chem. Eng. Data*, 40: 1091-1093.

44. Saar, R. A. et J. H. Weber. (1979). Complexation of cadmium(II) with water- and soil-derived fulvic acids: effect of pH and fulvic acid concentration. *Can.J.Chem.*, 57: 1263-1268.

45. Schecher, W. D. et D. McAvoy. (1994). *MINEQL+: A Chemical Equilibrium Program for Personal Computers* (Version 3.01) Hallowell, Maine: Environmental Research Software, 107 p.

46. Schnitzer, M. (1978). Humic substance: chemistry and reactions. Dans: M. Schnitzer & S. U. Khan *Soil Organic Matter*. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Co. (pp. 1-64).

47. Schubert, J. (1948). The use of ion exchangers for the determination of physical-chemical properties of substances, particularly radiotracers, in solution, part I. *J. Phys. Colloid Chem.*, 52: 340-351.

48. Schulten, H. R. et M. Schnitzer. (1993). A state of the art structural concept for humic substances. *Naturwissenschaften*, 80: 29-30.

49. Senesi, N. (1990). Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals - part I: the electron spin resonance approach. *Anal. Chim. Acta*, 232: 51-75.

50. Serkiz, S. M., J. D. Allison, E. M. Perdue, H. E. Allen et D. S. Brown. (1996). Correcting errors in the thermodynamic database for the equilibrium speciation model MINTEQA2. *Wat. Res.*, 30: 1930-1933.

51. Sigg, L., Stumm, W., & Behra, P. (1992). Métaux en solution aqueuse. Dans: *Chimie des milieux aquatiques*. Paris: Masson (pp. 181-206).

52. Smith, R. M. et A. E. Martell. (1974). *Critical Stability Constants.* Vol. 1: Amino Acids. New York: Plenum, 469 p.

53. Smith, R. M. et A. E. Martell. (1975). *Critical Stability Constants.* Vol. 2: Amines. New York: Plenum, 415 p.

54. Smith, R. M. et A. E. Martell. (1976). *Critical Stability Constants.* Vol. 4: Inorganic Complexes. New York: Plenum, 257 p.

55. Smith, R. M. et A. E. Martell. (1977). *Critical Stability Constants.* Vol. 3: Other Organic Ligands. New York: Plenum, 495 p.

56. Smith, R. M. et A. E. Martell. (1982). *Critical Stability Constants.* Vol. 5: First Supplement. New York: Plenum, 604 p.

57. Smith, R. M., A. E. Martell et R. J. Motekaitis. (1993). *NIST Critical Stability Constants of Metal Complexes Database* (Version 1.0) [NIST Standard Reference Database 46]. Gaithersburg (MD): U.S. Department of Commerce, 33 p.

58. Sweileh, J. (1986). Solvent Extraction-Flow Injection Analysis and Copper Ion Speciation by Ion Exchange. [Ph.D. Thesis]. Edmonton: University of Alberta, 243 p.

59. Sweileh, J. A., D. Lucyk, B. Kratochvil et F. F. Cantwell. (1987). Specificity of the ion exchange/atomic absorption method for free copper(II) determination in natural waters. *Anal. Chem.*, 59: 586-592.

60. Tessier, A., J. Buffle et P. G. C. Campbell. (1994). Uptake of trace metals by aquatic organisms. Dans: J. Buffle & R. R. DeVitre (éds), *Chemical and Biological Regulation of Aquatic Systems*. Boca Raton (FL): Lewis, 385 p.

61. Tessier, A., P. G. C. Campbell et R. Carignan. (1989). Influence du pH sur la spéciation et la biodisponibilité des métaux. *Le Chimiste*, 5-9.

62. Thurman, E. M. (1985). *Organic Geochemistry of Natural Waters.* Boston: Martinus Nijhoff/Dr W. Junk Publishers, 497 p.

63. Tipping, E. (1993a). Modeling the competition between alkaline earth cations and trace metal species for binding by humic substances. *Environ. Sci. Technol.*, 27: 520-529.

64. Tipping, E. (1993b). Modelling ion-binding by humic acids. *Coll. Surf.*, 73: 117-131.

65. Tipping, E. (1994). WHAM - A chemical equilibrium model and computer code for waters, sediments, and soils incorporating a discrete site electrostatic model of ion-binding by humic substances. *Computers & Geosciences*, 20: 973-1023.

66. Tipping, E. et M. A. Hurley. (1992). A unifying model of cation binding by humic substances. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 56: 3627-3641.

67. Treit, J., J. S. Nielsen, B. Kratochvil et F. F. Cantwell. (1983). Semiautomated ion exchange/atomic absorption system for free metal ion determinations. *Anal. Chem.*, 55: 1650-1653.

68. van den Berg, C. M. G. (1991). Monitoring of labile copper and zinc in estuarine waters using cathodic stripping chronopotentiometry. *Marine Chemistry*, 34: 211-223.

69. Werner, J. (1987). Speciation and determination of low concentrations of Cd^{2+} and Zn^{2+} in humus-rich waters by an ion-exchange method. *Sci. Tot. Environ.*, 62: 281-290.

70. Windholz, M., S. Budavari, R. F. Blumetti et E. S. Otterbein. (1983). *The Merck Index* (10e éd.). New Jersey: Merck & Co., Inc., 2175 p.

71. Zorkin, N. G., E. V. Grill et A. G. Lewis. (1986). An ion-exchange procedure for quantifying biologically active copper in sea water. *Anal. Chim. Acta*, 183: 163-177.183: 163-177.

7. ANNEXES

7.1 Paramètres de dosage par AA

Lorsque les concentrations étaient suffisamment élevées, la spectrophotométrie d'absorption atomique (AA) à la flamme était utilisée. L'absorbance était mesurée par intégration de la surface sous le pic à la suite d'une calibration de l'appareil. Cette calibration était mise à l'épreuve à l'aide d'échantillons certifiés.

Les paramètres utilisés pour doser les métaux dans l'éluat par AA par four au graphite étaient différents selon le métal et l'appareil utilisé. Ces paramètres principaux sont indiqués dans les tableaux 7.1 à 7.4. Toutes les concentrations ont été mesurées par la hauteur des pics d'absorbance. Deux mesures étaient successivement effectuées et une moyenne des deux valeurs était calculée. La courbe de calibration était préparée en utilisant des solutions étalons préparées dans la même matrice que les éluats et vérifiée à l'aide d'échantillons certifiés.

Tableau 7.1: Paramètres du four pour le dosage du Cd à l'aide de l'appareil Varian SpectrAA-20

Étape #	Température (°C)	Temps (s)
1	75	5
2	95	40
3	120	10
4	250	1
5	250	2
6	1800	1
7	1800	2
8	2000	2

Tableau 7.2: Paramètres du four pour le dosage du Cd à l'aide de l'appareil Varian SpectrAA-300

Étape #	Température (°C)	Temps (s)
1	75	5
2	95	40
3	120	10
4	500	1
5	500	2
6	1800	1
7	1800	2
8	2000	2

Tableau 7.3: Paramètres du four pour le dosage du Zn à l'aide de l'appareil Varian SpectrAA-20

Étape #	Température (°C)	Temps (s)
1	90	5
2	110	45
3	350	5
4	350	1
5	350	2
6	1500	0,9
7	1500	2
8	2100	2

Tableau 7.4: Paramètres du four pour le dosage du Zn à l'aide de l'appareil Varian SpectrAA-300

Étape #	Température (°C)	Temps (s)
1	90	5
2	110	45
3	400	5
4	400	1
5	400	2
6	1600	0,9
7	1600	2
8	2200	2

7.2 Constantes d'équilibres chimiques utilisées dans MINEQL+

Tous les calculs effectués à l'aide de MINEQL+ v.3.01 [Schecher and McAvoy 1994] ont été faits avec les constantes indiquées dans le tableau 7.5. Les autres paramètres étaient la température (22°C), la force ionique (ajustement automatique) et la pression partielle en CO_2 (log K = 21.66).

Tableau 7.5: Constantes de formation utilisées dans MINEQL+

Complexe Nom	Charge (+/-)	Mineql+ Log K	$DH°_r$	Complexe Nom	Charge (+/-)	Mineql+ Log K	$DH°_r$
$Cd(NO_3)_2$	0	0,2	0	CdCit	-1	4,97	0
$CdNO_3$	+1	0,5	-5,2	$Cd(Cit)_2$	-4	5,44	0
$NaNO_3$	0	-0,55	0	CdH_2Cit	+1	12,7	0
$Zn(NO_3)_2$	0	-0,3	0	CdHCit	0	9,47	0
$ZnNO_3$	+1	0,4	0	H_2Cit	-1	11,157	0,25
				H_3Cit	0	14,285	-0,73
$Cd(CO_3)_2$	-2	7,25	0	HCit	-2	6,396	0,78
$CdCO_3$	0	4,38	0	NaCit	-2	1,37	0,4
$CdHCO_3$	+1	13,23	0	ZnCit	-1	6.1	0
H_2CO_3	0	16,681	-5,69	$Zn(Cit)_2$	-4	6.8	0
HCO_3	-1	10,329	-3,5	ZnH_2Cit	+1	13.3	0
$NaCO_3$	-1	1,27	0	ZnHCit	0	10.3	0
$NaHCO_3$	0	10,08	0				
$Zn(CO3)_2$	-2	9,63	0	CdEDTA	-2	18,26	-9,1
$ZnCO_3$	0	5,30	0	CdH_2EDTA	0	23,48	0
$ZnHCO_3$	+1	12,40	0	CdHEDTA	-1	21,6	-9,5
				EDTAH	-3	11,014	-5,6
$Cd(Ala)_2$	0	7,96	0	$EDTAH_2$	-2	17,33	-9,8
$Cd(Ala)_3$	-1	10,06	0	$EDTAH_3$	-1	20,46	-8,5
CdAla	+1	4,44	0	$EDTAH_4$	0	22,68	-8,2
H_2Ala	+1	12,212	-11.52	$EDTAH_5$	+1	24,18	-7,7
HAla	0	9,868	-10.81	NaEDTA	-3	3,29	-1,4
				ZnEDTA	-2	18,0	-4,6
HCyst	-1	10,74	-8,4	ZnHEDTA	-1	21,44	-6,8

H_2Cyst	0	19,10	-16,9
H_3Cyst	+1	20,8	-17,4
$Zn(Cyst)_2$	-2	19,00	0
$Zn_3H(Cyst)_4$	-1	52,08	0
ZnCyst	0	9,99	0
$ZnH(Cyst)_2$	-1	25,84	0
$ZnH_2(Cyst)_2$	0	31,56	0
ZnHCyst	+1	15,78	0
HLys	0	10,89	-12,9
H_2Lys	+1	20,04	-24,1
H_3Lys	+2	21,97	-24,4
ZnLys	+1	6,77	0
ZnHLys	+2	14,95	0
$ZnHLys_2$	+1	20,35	0
$Zn(HLys)_2$	+2	29,31	0

ZnH_2EDTA	0	22,92	0
CdCl	+1	1,98	0,3
$CdCl_2$	0	2,6	0,9
$CdCl_3$	-1	2,4	2,4
CdOHCl	0	4,355	0
NaCl	0	-0,5	-2
HTRIS	+1	8,074	-11,36
ZnTRIS	+2	2,27	0
CdTRIS	+2	1,88	0
HPhta	-1	5,408	0,52
H_2Phta	0	8,358	1,16
KPhta	-1	0,7	0,9
NaPhta	-1	0,8	1,0
ZnPhta	0	2,91	3,2
$Zn(Phta)_2$	-2	4,2	0
CdPhta	0	3,38	0

7.3 Résultats bruts

Toutes les expériences en mode manuel ont été faites avec un volume d'élution de 50 ml. Les expériences en mode semi-automatique ont été faites avec la même colonne contenant 7,669 mg de résine.

7.3.1 Calibration

Tableau 7.6: Calibration à pH 4,5 en mode manuel

Exp. #	pH	m résine (g)	$[Zn^{2+}]_{nom.}$ (µM)	$[R\text{-}Zn]_{mes.}$ (µM)	λ^{Zn} ($l \cdot g^{-1}$)	$[Cd^{2+}]_{nom.}$ (µM)	$[R\text{-}Cd]_{mes.}$ (µM)	λ^{Cd} ($l \cdot g^{-1}$)
T1A	4,51	0,30202	0,00666	0,0159	0,40	0,00368	0,0108	0,48
T1B	4,49	0,29977	0,00666	0,0156	0,39	0,00368	0,0107	0,48
T1C	4,51	0,30125	0,00666	0,0154	0,38	0,00368	0,0112	0,51
T1D	4,51	0,29916	0,00666	0,0177	0,44	0,00368	0,0112	0,51
T2A	4,51	0,30000	0,0333	0,0872	0,44	0,0184	0,0562	0,51
T2B	4,51	0,30310	0,0333	0,0872	0,43	0,0184	0,0557	0,50
T2C	4,52	0,30079	0,0333	0,0811	0,40	0,0184	0,0550	0,50
T2D	4,51	0,30006	0,0333	0,0942	0,47	0,0184	0,0553	0,50
U1A	4,49	0,30204	0,333	0,688	0,34	0,184	0,543	0,49
U1B	4,49	0,30159	0,333	0,673	0,34	0,184	0,543	0,49
U1C	4,51	0,30108	0,333	0,673	0,34	0,184	0,534	0,48
U1D	4,51	0,30130	0,333	0,673	0,34	0,184	0,552	0,50
U2A	4,51	0,30205	0,666	1,45	0,36	0,368	1,11	0,50
U2B	4,49	0,29997	0,666	1,44	0,36	0,368	1,09	0,49
U2C	4,51	0,30011	0,666	1,45	0,36	0,368	1,13	0,51
U2D	4,51	0,30198	0,666	1,44	0,36	0,368	1,11	0,50

Tableau 7.7: Calibration à pH 5,5 en mode manuel

Exp. #	pH	m résine (g)	$[Zn^{2+}]_{nom.}$ (µM)	$[R\text{-}Zn]_{mes.}$ (µM)	λ^{Zn} ($l \cdot g^{-1}$)	$[Cd^{2+}]_{nom.}$ (µM)	$[R\text{-}Cd]_{mes.}$ (µM)	λ^{Cd} ($l \cdot g^{-1}$)
A1	5,46	0,30050	1,75	4,03	0,38	1,49	4,81	0,54
A2	5,46	0,30117	1,75	4,08	0,39	1,49	4,89	0,55
A3	5,46	0,30035	1,75	4,13	0,39	1,49	4,80	0,54
A4	5,50	0,30022	1,75	4,09	0,39	1,49	4,79	0,54
A5	5,50	0,30029	1,75	4,11	0,39	1,49	4,85	0,54
B1	5,43	0,29988	1,13	2,83	0,42	0,368	1,16	0,53
B2	5,46	0,29968	1,13	2,83	0,42	0,368	1,17	0,53
B3	5,45	0,29988	1,13	2,87	0,42	0,368	1,17	0,53
B4	5,43	0,30050	1,13	2,83	0,42	0,368	1,16	0,53
B5	5,46	0,30010	1,13	2,84	0,42	0,368	1,17	0,53
C1	5,45	0,30007	0,666	1,72	0,43	0,0736	0,231	0,52
C2	5,45	0,30030	0,666	1,71	0,43	0,0736	0,244	0,55
C3	5,45	0,30025	0,666	1,73	0,43	0,0736	0,217	0,49
C4	5,45	0,30068	0,666	1,72	0,43	0,0736	0,225	0,51
C5	5,46	0,30030	0,666	1,72	0,43	0,0736	0,225	0,51
D1	5,45	0,30051	0,133	0,358	0,45	0,00368	0,0114	0,52
D2	5,47	0,29992	0,133	0,277	0,35	0,00368	0,0112	0,51
D3	5,47	0,30020	0,133	0,275	0,34	0,00368	0,0112	0,51
D4	5,47	0,30146	0,133	0,278	0,35	0,00368	0,0113	0,51
D5	5,38	0,29968	0,133	0,295	0,37	0,00368	0,0109	0,49
O1A	5,42	0,29796	0,00666	0,0171	0,43	0,00368	0,0111	0,51
O1B	5,45	0,30499	0,00666	0,0179	0,44	0,00368	0,0111	0,50
O2A	5,42	0,30320	0,0333	0,0808	0,40	0,0184	0,0578	0,52
O2B	5,44	0,30441	0,0333	0,0872	0,43	0,0184	0,0576	0,52
O3A	5,44	0,29921	0,0666	0,164	0,41	0,0368	0,122	0,55
O3B	5,44	0,30274	0,0666	0,165	0,41	0,0368	0,120	0,54
O4A	5,42	0,30126	0,133	0,332	0,41	0,0736	0,219	0,49
O4B	5,44	0,30730	0,133	0,324	0,40	0,0736	0,222	0,49

Tableau 7.8: Calibration en semi-automatique pour le cadmium

Exp. #	pH	$[Cd^{2+}]_{nom.}$ (nM)	Élution (g)	Élution (ml)	$[R\text{-}Cd]_{mes.}$ (nM)	λ^{Cd} ($l \cdot g^{-1}$)
AI-1	4,58	7,36	2,08	1,98	14,3	0,50[a]
AI-2	4,63	7,36	2,15	2,05	10,9	0,39
AI-3	4,48	7,36	2,18	2,07	9,79	0,36
AF-1	4,44	73,6	2,19	2,08	99,3	0,37
AF-2	4,42	73,6	2,17	2,07	99,3	0,36
AF-3	4,42	73,6	2,17	2,06	99,6	0,36
AE-1	4,51	368	2,02	1,92	509	0,35
AE-2	4,43	368	2,08	1,98	486	0,34
AE-3	4,41	368	2,15	2,04	482	0,35
AJ-1	5,46	7,36	2,16	2,06	11,3	0,41
AJ-2	5,44	7,36	2,15	2,04	11,9	0,43
AJ-3	5,42	7,36	2,11	2,01	12,2	0,43
AG-1	5,50	73,6	2,08	1,98	128	0,45
AG-2	5,31	73,6	2,15	2,04	126	0,46
AG-3	5,21	73,6	2,14	2,04	125	0,45
AH-1	5,53	368	2,14	2,04	608	0,44
AH-2	5,48	368	2,19	2,09	598	0,44
AH-3	5,44	368	2,18	2,08	632	0,47
AK-1	7,00	7,23	2,14	2,04	16,8	0,62
AK-2	6,86	7,23	2,16	2,06	16,5	0,61
AK-3	6,83	7,23	2,15	2,04	18,9	0,70
AL-1	6,98	72,3	2,15	2,04	193	0,71
AL-2	6,95	72,3	2,15	2,05	197	0,73
AL-3	6,88	72,3	2,15	2,05	202	0,75
AM-1	6,93	362	2,13	2,03	982	0,72
AM-2	6,88	362	2,15	2,05	948	0,70
AM-3	6,86	362	2,15	2,05	1064	0,79

[a] Valeur aberrante rejetée

Tableau 7.9: Calibration en semi-automatique pour le zinc

Exp. #	pH	$[Zn^{2+}]_{nom.}$ (nM)	Élution (g)	Élution (ml)	$[R\text{-}Zn]_{mes.}$ (nM)	λ^{Zn} ($l \cdot g^{-1}$)
AF-1	4,44	133	2,19	2,08	139	0,28
AF-2	4,42	133	2,17	2,07	144	0,29
AF-3	4,42	133	2,17	2,06	142	0,29
AT-1	4,45	266	2,17	2,07	318	0,32
AT-2	4,39	266	2,15	2,05	364	0,37
AT-3	4,41	266	2,15	2,04	338	0,34
AE-1	4,51	666	2,02	1,92	841	0,32
AE-2	4,43	666	2,08	1,98	811	0,31
AE-3	4,41	666	2,15	2,04	857	0,34
AG-1	5,50	133	2,08	1,98	184	0,36
AG-2	5,31	133	2,15	2,04	206	0,41
AG-3	5,21	133	2,14	2,04	198	0,39
AO-1	5,42	266	2,14	2,04	399	0,40
AO-2	5,43	266	2,14	2,04	388	0,39
AO-3	5,40	266	2,15	2,04	379	0,38
AH-1	5,53	666	2,14	2,04	979	0,39
AH-2	5,48	666	2,19	2,09	964	0,39
AH-3	5,44	666	2,18	2,08	1009	0,41
AL-1	6,98	132	2,15	2,04	356	0,72
AL-2	6,95	132	2,15	2,05	356	0,72
AL-3	6,88	132	2,15	2,05	338	0,68
AP-1	6,91	264	2,14	2,04	603	0,61
AP-2	6,86	264	2,18	2,08	616	0,63
AP-3	6,79	264	2,14	2,04	564	0,57
AM-1	6,93	660	2,13	2,03	1652	0,66
AM-2	6,88	660	2,15	2,05	1484	0,60
AM-3	6,86	660	2,15	2,05	1281	0,52

7.3.2 Expérience Cd-Zn-EDTA

Tableau 7.10: Expérience Cd-Zn-EDTA avec 89 nM Cd et 760 nM Zn à pH 5,5

Exp. #	pH	m résine (g)	$[EDTA]_{nom.}$ (nM)	$[R\text{-}Zn]_{mes.}$ (µM)	$[Zn^{2+}]_{mes.}$ (nM)	$[R\text{-}Cd]_{mes.}$ (nM)	$[Cd^{2+}]_{mes.}$ (nM)
E1	5,40	0,29939	151	-	-	-	-
E2	5,49	0,29946	301	1,10	451	153	49,0
E3	5,45	0,30185	422	0,861	351	127	40,4
E4	5,11	0,30057	572	0,560	229	91,1	29,1
E5	5,47	0,30020	723	0,294	120	52,5	16,8

7.3.3 Expérience Cd-Zn-citrate

Tableau 7.11: Expérience Cd-Zn-citrate avec 89 nM Cd et 153 nM Zn à pH 5,5 (S1A et S1B: sans ajout de métaux)

Exp. #	pH	m résine (g)	$[Cit]_{nom.}$ (mM)	$[R\text{-}Zn]_{mes.}$ (nM)	$[Zn^{2+}]_{mes}$ (nM)	$[R\text{-}Cd]_{mes.}$ (nM)	$[Cd^{2+}]_{mes.}$ (nM)
S1A[a]	5,52	0,29884	1,02E-03	0	0	0	0
S1B[a]	5,53	0,30149	1,02E-03	0	0	0	0
S2A	5,52	0,30148	1,02E-04	119	48,4	211	67,3
S2B	5,52	0,30241	1,02E-04	121	49,2	217	68,9
S3A	5,52	0,30005	5,08E-04	34,0	13,9	162	51,9
S3B	5,52	0,30255	5,08E-04	33,5	13,6	163	51,8
S4A	5,52	0,30064	1,02E-03	17,3	7,1	123	39,3
S4B	5,53	0,30139	1,02E-03	17,9	7,3	122	38,9
V1A	5,52	0,30116	4,00E-03	2,60	1,1	51,1	16,3
V1B	5,52	0,29961	4,00E-03	1,38	0,6	50,0	16,0
V2A	5,49	0,29941	6,90E-04	27,1	11,1	142	45,6
V2B	5,49	0,30053	6,90E-04	28,1	11,5	142	45,5
V3A	5,47	0,30397	3,05E-04	54,1	21,9	187	59,0
V3B	5,47	0,30288	3,05E-04	51,7	21,0	187	59,2
V4A	5,47	0,30344	4,00E-05	199	80,7	231	73,2
V4B	5,47	0,30087	4,00E-05	184	75,1	222	70,9

[a] Aucun ajout de métaux pour ces expériences

7.3.4 Expérience Cd-chlorure

Tableau 7.12: Expérience Cd-NaCl avec 89 nM Cd

Exp. #	pH	m résine (g)	$[NaCl]_{nom.}$ (mM)	$[NaNO_3]_{nom.}$ (mM)	$[R\text{-}Cd]_{mes.}$ (nM)	$[Cd^{2+}]_{mes.}$ (nM)
I5	5,41	0,30064	3,49	197	209	66,7
I6	5,44	0,30070	39,8	160	121	38,6
I7	5,43	0,30279	125	75	52,8	16,7
I8	5,44	0,30246	200	0	29,4	9,3
J1	5,43	0,30253	3,49	197	182	57,9
J2	5,46	0,29980	39,8	160	111	35,5
J3	5,41	0,29996	125	75	51,1	16,3
J4	5,43	0,29858	200	0	28,6	9,2
J5	5,39	0,29997	3,49	197	218	69,7
J6	5,43	0,30013	39,8	160	109	35,0
J7	5,36	0,30295	125	75	50,7	16,1
J8	5,41	0,29947	200	0	28,8	9,2

7.3.5 Expérience Zn-cystéine

Tableau 7.13: Expérience avec du zinc et 50 mM de cystéine à pH 4,5

Exp. #	pH	Élution (g)	Élution (ml)	$[Zn]_{tot.}$ (nM)	$[R\text{-}Zn]_{mes.}$ (nM)	$[Zn^{2+}]_{mes.}$ (nM)
AQ-2	4,59	2,15791	2,05	229	228	192
AQ-3	4,59	2,13560	2,03	229	214	179
AR-1	4,52	2,15924	2,06	459	644	543
AR-2	4,50	2,15797	2,05	459	636	536
AR-3	4,50	2,14684	2,04	459	639	536
AS-1	4,49	2,11316	2,01	688	664	548
AS-2	4,48	2,14332	2,04	688	624	522
AS-3	4,47	2,14027	2,04	688	746	624

7.3.6 Expérience Zn-lysine

Tableau 7.14: Expérience avec du zinc et de la lysine à pH 7,0

Exp. #	pH	$[Lys]_{nom.}$ (mM)	$[Zn]_{tot.}$ (nM)	Élution (g)	Élution (ml)	$[R\text{-}Zn]_{mes.}$ (nM)	$[Zn^{2+}]_{mes.}$ (nM)
AU-1	7,00	100	765	2,16	2,06	875	373
AU-2	7,00	100	765	2,13	2,03	649	273
AU-3	7,00	100	765	2,18	2,07	649	278
AV-1	7,00	52,0	765	2,17	2,06	789	337
AV-2	7,01	52,0	765	2,15	2,05	798	338
AV-3	7,02	52,0	765	2,11	2,01	771	320
AW-1	6,91	10,4	765	2,19	2,09	1086	469
AW-2	6,95	10,4	765	2,14	2,03	1126	474
AW-3	6,90	10,4	765	2,17	2,07	1098	470

7.3.7 Expériences sur le colmatage par la MOD

Tableau 7.15: Comparaison des résultats de calibration avec (N) et sans (Q) prétraitement à l'acide fulvique (10 $mg \cdot l^{-1}$) à pH 5,5

Exp. #	pH	m résine (g)	$[Zn^{2+}]_{nom.}$ (nM)	$[R\text{-}Zn]_{mes.}$ (nM)	λ^{Zn} ($l \cdot g^{-1}$)	$[Cd^{2+}]_{nom.}$ (nM)	$[R\text{-}Cd]_{mes.}$ (nM)	λ^{Cd} ($l \cdot g^{-1}$)
N1A	5,49	0,29896	33,3	89,3	0,45	18,4	57,1	0,52
N1B	5,47	0,29953	33,3	90,2	0,45	18,4	59,2	0,54
N1C	5,47	0,30004	33,3	88,7	0,44	18,4	56,8	0,51
N1D	5,47	0,30008	33,3	91,5	0,46	18,4	58,0	0,52
Q3A	5,44	0,29984	33,3	90,9	0,46	18,4	59,8	0,54
Q3B	5,45	0,30011	33,3	93,3	0,47	18,4	58,5	0,53
O2A	5,45	0,30320	33,3	89,3	0,44	18,4	58,4	0,52
O2B	5,45	0,30441	33,3	98,8	0,49	18,4	54,8	0,49

Tableau 7.16: Courbe d'étalonnage par absorbance à 400 nm de l'acide fulvique

[AF] ($mg \cdot l^{-1}$)	Abs 1	Abs 2	Abs 3
7	0,020	0,020	0,020
8	0,024	0,024	0,024
9	0,028	0,027	0,027
10	0,033	0,032	0,032
11	0,035	0,036	0,036

Tableau 7.17: Absorbance après avoir exposé la résine à une solution de 10 $mg \cdot l^{-1}$ d'AF pendant huit heures

Résine ($g \cdot l^{-1}$)	Abs 1	Abs 2	Abs 3
0	0,034	0,033	0,033
0	0,032	0,032	0,032
0	0,033	0,033	0,033
5	0,034	0,034	0,034
5	0,035	0,035	0,035
5	0,033	0,034	0,034
10	0,036	0,036	0,035
10	0,034	0,034	0,036
10	0,035	0,035	0,035
20	0,036	0,036	0,036
20	0,035	0,035	0,034
20	0,036	0,035	0,036

Tableau 7.18: Absorbance après avoir exposé la résine à une solution de 16 $mg \cdot l^{-1}$ d'AH pendant sept heures

Résine ($g \cdot l^{-1}$)	Abs 1	Abs 2	Abs 3
0	0,087	0,087	0,087
0	0,089	0,088	0,088
0	0,090	0,090	0,090
20	0,094	0,095	0,094
20	0,094	0,095	0,094
20	0,093	0,093	0,093

7.3.8 Expériences Cd-Zn-acide fulvique

Tableau 7.19: Expérience AF (10 mg·l^{-1}) et cadmium à pH 5,5

Exp. #	pH	m résine (g)	$[Cd]_{tot.}$ (nM)	$[R\text{-}Cd]_{mes.}$ (nM)	$[Cd^{2+}]_{mes.}$ (nM)
L1A	5,45	0,30042	4,45	6,32	2,02
L1B	5,42	0,29982	4,45	6,41	2,05
L2A	5,44	0,30006	22,2	38,3	12,2
L2B	5,42	0,30037	22,2	38,6	12,3
L3A	5,45	0,30348	44,5	82,1	26,0
L3B	5,44	0,30146	44,5	81,8	26,0
L4A	5,45	0,30118	89,0	181	57,5
L4B	5,44	0,30180	89,0	178	56,6

Tableau 7.20: Expérience AF (10 mg·l^{-1}) et zinc à pH 5,5

Exp. #	pH	m résine (g)	$[Zn]_{tot.}$ (nM)	$[R\text{-}Zn]_{mes.}$ (nM)	$[Zn^{2+}]_{mes.}$ (nM)
R1A	5,44	0,30029	76,5	86,6	35,5
R1B	5,44	0,29919	76,5	97,3	40,0
R2A	5,46	0,30750	153	195	78,1
R2B	5,46	0,30380	153	191	77,5
R3A	5,46	0,30029	306	489	201
R3B	5,44	0,30317	306	505	205
R4A	5,46	0,30128	612	1009	413
R4B	5,46	0,30341	612	994	404

Tableau 7.21: Expérience Cd-Zn-acide fulvique (10 $mg \cdot l^{-1}$) à pH 7,0

Exp. #	pH	Élution (g)	Élution (ml)	$[Cd]_{tot.}$ (nM)	$[R\text{-}Cd]_{mes.}$ (nM)	$[Cd^{2+}]_{mes.}$ (nM)	$[Zn]_{tot.}$ (nM)	$[R\text{-}Zn]_{mes.}$ (nM)	$[Zn^{2+}]_{mes.}$ (nM)
BC-1	7,00	2,179	2,07	89,0	77,0	29,7	153	329	140
BC-2	6,93	2,170	2,07	89,0	74,2	28,5	153	291	123
BC-3	6,97	2,162	2,06	89,0	77,8	29,7	153	284	120
BD-1	6,93	2,148	2,05	178	149	56,6	306	407	171
BD-2	6,88	2,139	2,04	178	151	57,2	306	407	170
BD-3	6,78	2,136	2,03	178	152	57,5	306	401	167
BE-1	6,93	2,157	2,05	267	203	77,4	459	575	243
BE-2	6,81	2,136	2,03	267	189	71,2	459	554	231
BE-3	-	2,138	2,04	267	187	70,8	459	538	225

7.3.9 Expériences Cd-acide fulvique dans le cadre de bioessais

Tableau 7.22: Dosage Cd^{2+} en présence d'AF (10 $mg \cdot l^{-1}$) à pH 5,5 pour un bioessai avec le saumon Atlantique

Exp. #	m résine (g)	$[Cd]_{tot.}$ (nM)	$[R\text{-}Cd]_{mes.}$ (nM)	$[Cd^{2+}]_{mes.}$ (nM)
P1A	0,30068	318	569	183
P1B	0,30071	318	565	181
P1C	0,29972	318	587	189
P2A	0,30121	318	587	188
P2B	0,29987	318	605	195
P2C	0,30156	318	587	188

Tableau 7.23: Dosage Cd^{2+} en présence d'AF (10 $mg \cdot l^{-1}$) à pH 5,5 pour un bioessai avec la truite arc-en-ciel

Exp #	Élution (g)	Élution (ml)	$[Cd]_{tot.}$ (nM)	$[R\text{-}Cd]_{mes.}$ (nM)	$[Cd^{2+}]_{mes.}$ (nM)
AX-1	2,373	2,26	57	49	32,6
AX-2	2,236	2,13	57	46	29,1
AX-3	2,118	2,02	57	49	29,1
AY-1	2,141	2,04	57	47	28,4
AY-2	2,159	2,06	57	48	29,0
AY-3	2,146	2,04	57	46	28,1
C-B1-A	2,154	2,05	57	47	28,7
C-B1-B	2,158	2,05	57	47	28,4
C-B1-C	2,166	2,06	57	45	27,5
C-B2-A	2,147	2,04	57	45	27,2
C-B2-B	2,153	2,05	57	48	29,0
C-B2-C	2,150	2,05	57	47	28,3

Tableau 7.24: Dosage Cd^{2+} en présence d'AF (10 $mg \cdot l^{-1}$) à pH 7,0 pour un bioessai avec la truite arc-en-ciel

Exp #	Élution (g)	Élution (ml)	$[Cd]_{tot.}$ (nM)	$[R\text{-}Cd]_{mes.}$ (nM)	$[Cd^{2+}]_{mes.}$ (nM)
BF1	2,147	2,04	89,0	86,1	32,8
BF2	2,151	2,05	89,0	79,5	30,3
BF3	2,144	2,04	89,0	79,0	30,0
BG1	2,141	2,04	89,0	83,6	31,8
BG2	2,117	2,02	89,0	75,4	28,3
BG3	2,161	2,06	89,0	75,3	28,8