Record Number: 24650
Author, Monographic: Hare, L.//Tessier, A.//Campbell, P. G. C.
Author Role:
Title, Monographic: Prédiction des concentrations en métaux traces chez les invertébrés aquatiques
Translated Title:
Reprint Status:
Edition:
Author, Subsidiary:
Author Role:
Place of Publication: Québec
Publisher Name: INRS-Eau
Date of Publication: 1996
Original Publication Date: 16 octobre 1996
Volume Identification:
Extent of Work: xi, 110
Packaging Method: pages incluant un annexe
Series Editor:
Series Editor Role:
Series Title: INRS-Eau, rapport de recherche
Series Volume ID: 484
Location/URL:
ISBN: 2-89146-414-1
Notes: Rapport annuel 1996-1997
Abstract: 16,50$
Call Number: R000484
Keywords: rapport / ok/ dl

PRÉDICTION DES CONCENTRATIONS EN MÉTAUX TRACES CHEZ LES INVERTÉBRÉS AQUATIQUES

Rapport final

Projet de recherche exploratoire en environnement
Ministère de l'Environnement et de la Faune du Québec
(projet no. 3336.13.92.08)

Partenaire:
Conseil de Recherches en Sciences naturelles et en Génie du Canada

PRÉDICTION DES CONCENTRATIONS EN MÉTAUX TRACES CHEZ LES INVERTÉBRÉS AQUATIQUES

Landis Hare, André Tessier et Peter G.C. Campbell

Institut national de la recherche scientifique - Eau (INRS-Eau)
C.P. 7500, Sainte-Foy, Québec, G1V 4C7

16 octobre 1996

Rapport de l'INRS-Eau, R484

© INRS-Eau
ISBN-2-89246-414-1

RÉSUMÉ

Les métaux traces sont des polluants importants des milieux aquatiques, particulièrement en régions minières. Les gestionnaires responsables des milieux contaminés ont besoin de modèles prédictifs qui leur permettront d'évaluer la disponibilité des métaux pour les êtres vivants qui y habitent. Dans le présent projet, nous avons évalué la possibilité d'utiliser des insectes aquatiques comme bioindicateurs du niveau de contamination des lacs en métaux. Pour établir les relations entre les concentrations de métaux dans les insectes et celles dans leur environnement, nous nous sommes appuyés sur des concepts théoriques. Nous avons vérifié que le modèle théorique résultant permet de bien prédire les concentrations de métaux dans les animaux aquatiques *in situ* pour un grand nombre de lacs.

Dans le développement d'un modèle théorique pour prédire la concentration de métaux traces chez des insectes aquatiques, nous avons supposé que:

- la réponse biologique aux métaux traces est fonction de la concentration du métal libre. Cette hypothèse est à la base du modèle dit de "l'ion libre" développé dans les années 70 et utilisé abondamment depuis pour expliquer les interactions métaux - organismes biologiques en laboratoire.
- qu'il y a compétition, pour des sites de transport, entre le métal trace étudié et d'autres cations incluant H^+.

Ces hypothèses ont été traduites en réactions d'équilibre pour décrire les interactions des cations au niveau des sites de transport biologiques et nous ont permis d'exprimer la concentration de métal chez un insecte en fonction de variables environnementales comme la concentration du métal libre et celles d'autres cations, incluant le proton. Ce modèle a été testé avec succès en nature pour un grand nombre de lacs de différents niveaux de contamination en métaux et de géochimie variée répartis dans une grande aire géographique (50 000 km^2) au Québec et en Ontario. Ces travaux représentent une des premières démonstrations de l'utilité du modèle de l'ion libre à l'extérieur du laboratoire.

REMERCIEMENTS

Nous voudrions remercier toutes les personnes du Ministère de l'Environnement et de la Faune qui nous ont encouragés dans le déroulement du projet de recherche: Nancy Bernier, Martine Lafond, Francine Marcotte, et Louis Martel. Nous voudrions également remercier tous les gens de l'INRS-Eau qui ont participé au projet: Michelle Bordeleau, Suzie Cloutier, Marie-Renée Doyon, Langis Gagnon, Céline Gauthier, Jean-François Houle, Carl Mathieu, Catherine Munger, Brigitte Patry, Lise Rancourt, René Rodrigue et Gaétan Roy. Le financement complémentaire du projet à été fourni par Développement des Ressources Humaines Canada, FCAR, ainsi que l'EPA des E.-U.

TABLE DES MATIÈRES

1. PROBLÉMATIQUE 1

2. NOTRE APPROCHE SCIENTIFIQUE 2

3. OBJECTIFS ET MÉTHODOLOGIES GÉNÉRAUX 3
- 3.1 Vérifier et tenir compte dans un modèle de prédiction de l'effet atténuateur de $[H^+]$ sur [M(org)] observé pour des lacs acides 3
- 3.2. Améliorer la prédiction de $[M^{z+}]$ à partir des variables sédimentaires dans le sous-modèle géochimique 4
- 3.3. Mesurer la variabilité en [M(org)] à un site donné 5
- 3.4. Étudier en laboratoire l'influence de $[M^{z+}]$ et du pH sur la bioaccumulation 6
- 3.5. Déterminer la provenance du Cd bioaccumulé - l'eau versus la nourriture 6
- 3.6. Déterminer l'influence du comportement sur l'accumulation chez *Chironomus* 7

4. MÉTHODOLOGIE 8
- 4.1. Méthodologie: vérification de l'effet atténuateur de H^+ 8
- 4.2. Méthodologie: prédiction de $[M^{z+}]$ à partir des variables sédimentaires 9
- 4.3. Méthodologie: variabilité de [M(org)] à un site donné 11
- 4.4. Méthodologie: influence de $[M^{z+}]$ et du pH sur la bioaccumulation en laboratoire 12
- 4.5. Méthodologie: provenance du Cd accumulé - l'eau versus la nourriture 13
- 4.6. Méthodologie: influence du comportement sur l'accumulation chez *Chironomus* 15

5. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS 17
- 5.1. Résultats: vérification de l'effet atténuateur de H^+ 17
  - 5.1.1. *Chaoborus* 17
  - 5.1.2. *Chironomus* 21
- 5.2. Résultats: prédiction de $[M^{z+}]$ à partir des variables sédimentaires 33
- 5.3. Résultats: variabilité en [M(org)] à un site donné 45
- 5.4. Résultats: influence de $[M^{z+}]$ et du pH sur la bioaccumulation en laboratoire 63
- 5.5. Résultats: provenance de cadmium accumulé - l'eau versus la nourriture 71
- 5.6. Résultats: influence du comportement sur l'accumulation chez *Chironomus* 75

6. CONCLUSIONS ET RETOMBÉES DU PROJET 77

7. DIFFUSION DES RÉSULTATS 83
- 7.1. Articles 83
- 7.2. Conférences 83

8. RÉFÉRENCES 85

ANNEXE: Publications 88

LISTE DES FIGURES

Figure 4.5.1. Organigramme expérimental. Les boîtes rectangles représentent l'eau d'exposition additionnée ou non de Cd. Les boîtes ovales représentent les niveaux trophiques contaminés en Cd.

Figure 5.1.1. Le stade larvaire de deux genres clé dans notre étude, les insectes *Chaoborus* (prédateur) et *Chironomus* (consommateur de sédiments).

Figure 5.1.2. Concentrations de Cd chez l'insecte *Chaoborus punctipennis* (quatrième stade larvaire, µg/g poids sec) prélevés de plusieurs lacs au printemps comparées aux **concentrations totales sédimentaires (a) ou dissoutes (b) de Cd** dans ces lacs.

Figure 5.1.3. Concentrations de Cd chez *Chaoborus punctipennis* (quatrième stade larvaire, µg/g poids sec) prélevés de plusieurs lacs comparées à: **(a) $[Cd^{2+}]^*$** (concentration de Cd^{2+} estimée avec le logiciel HYDRAQL; ou **(b) $[Cd^{2+}]$** (concentration de Cd^{2+} estimée avec le logiciel WHAM).

Figure 5.1.4. Prise en compte de la compétition H^+-Cd^{2+} avec l'équation 3.1.6. Concentrations de Cd chez *Chaoborus punctipennis* (quatrième stade larvaire, µg/g poids sec) prélevés de plusieurs lacs comparées à: **(a) $[Cd^{2+}]^*$ / $[H^+]+K_a$**; ou **(b) $[Cd^{2+}]$ / $[H^+]+K_a$**. $[Cd^{2+}]^*$ et $[Cd^{2+}]$ sont les concentrations de $[Cd^{2+}]$ estimées respectivement avec les logiciels HYDRAQL et WHAM. Les traits pointillés représentent l'intervalle de confiance de 95%.

Figure 5.1.5. Concentrations de Cd chez les larves de **trois espèces de *Chaoborus*** (toutes espèces regroupées) en fonction de l'ion libre de: (a) $[Cd^{2+}]$; ou (b) $[Cd^{2+}]$ / $([H^+]+K_a)$. $[Cd^{2+}]$ est la concentration de Cd^{2+} estimée avec le logiciel WHAM. Les traits pointillés représentent l'intervalle de confiance de 95%.

Figure 5.1.6. Concentrations de **cuivre** et de **zinc** chez *Chaoborus punctipennis* (quatrième stade larvaire, µg/g poids sec) prélevés d'une série de lacs au printemps comparées à la concentration des ions libres du Cu et de Zn dans ces lacs.

Figure 5.1.7. Concentrations de Cd chez l'insecte *Chironomus* spp. (quatrième stade larvaire, µg/g poids sec) prélevés de plusieurs lacs au printemps comparées aux **concentrations totales sédimentaires (a) ou dissoutes (b) de Cd** dans ces lacs.

Figure 5.1.8. Concentrations de Cd chez *Chironomus* spp. (quatrième stade larvaire, µg/g poids sec) prélevés d'une série de lacs au printemps comparées à la concentration de: **(a) le Cd libre** ($[Cd^{2+}]$); ou **(b) le Cd libre normalisé pour la compétition entre Cd^{2+} et H^+** ($[Cd^{2+}]$ / $([H^+]+K_a)$).

Figure 5.1.9. Concentrations de Zn chez *Chironomus* spp. (quatrième stade larvaire, µg/g poids sec) prélevés d'une série de lacs au printemps comparées à la concentration de: **(a) le Zn libre** ($[Zn^{2+}]$); ou **(b) le Zn dissous normalisé pour la compétition entre Zn^{2+} et H^+** ($[Zn^{2+}]$ / $([H^+]+K_a)$).

Figure 5.1.10. Concentrations de Cu chez *Chironomus* spp. (quatrième stade larvaire, µg/g poids sec) prélevés d'une série de lacs au printemps comparées à la concentration de **Cu libre** ($[Cu^{2+}]$).

Figure 5.2.1. Constantes d'équilibre conditionnelles mesurées *in situ* pour l'adsorption de Cd sur les oxyhydroxydes de Fe (A; symboles circulaires vides; K_{Fe-M}) et de manganèse (A; symboles circulaires pleins; K_{Mn-M}) diagénétiques ainsi que sur la matière organique (B). Chacun des points représente un lac différent. Les équations de régression sont: log K_{Fe-Cd} = 0.79 pH - 0.67 (r^2=0.77), log K_{Mn-Cd} = 0.37 pH + 3.55 (r^2=0.11) et log K_{OM-Cd} = 0.91 pH - 1.78 (r^2=0.77).

Figure 5.2.2. Corrélations entre les constantes conditionnelles mesurées *in situ* K_{Fe-M} (A) ou K_{Mn-M} (B) et les constantes d'hydrolyse des métaux K_{MOH}. Les symboles circulaires et carrés représentent respectivement les lacs Clearwater (pH 4.8) et McFarlane (pH 7.4). Les équations de régression sont: log K_{Fe-M} = 1.28 log K_{MOH} - 0.08 (r^2=0.93; McFarlane), log K_{Fe-M} = 0.52 log K_{MOH} + 0.82 (r^2=0.87; Clearwater), et log K_{Mn-M} = 1.25 log K_{MOH} + 0.34 (r^2=0.94; McFarlane).

Figure 5.2.3. Corrélations entre les constantes conditionnelles mesurées *in situ* K_{Fe-M} (A) ou K_{Mn-M} (B) et les constantes intrinsèques d'adsorption (K_{Fe-M}^{int} ou K_{Mn-M}^{int}) de ces métaux sur des oxyhydroxydes de Fe et Mn synthétiques. Les symboles circulaires et carrés représentent respectivement les lacs Clearwater (pH 4.8) et McFarlane (pH 7.4). Les équations de régression sont: log K_{Fe-M} = 0.94 log K_{Fe-M}^{int} - 4.26 (r^2=0.87; McFarlane), log K_{Fe-M} = 0.49 log K_{Fe-M}^{int} + 2.55 (r^2=0.99; Clearwater), et log K_{Mn-M} = 0.88 log K_{Mn-M}^{int} + 7.5 (r^2=0.88; McFarlane).

Figure 5.2.4. Comparaison entre les valeurs de la constante conditionnelle K_{Fe-Cd} obtenues de mesures *in situ* (axe vertical) avec celles prédites à partir des constantes intrinsèques d'adsorption déterminées en laboratoire (Dzombak et Morel 1990) pour les conditions géochimiques des lacs (axe horizontal). Les symboles circulaires pleins sont pour les lacs de pH 7 et les symboles circulaires vides sont pour les lacs de pH<7.

Figure 5.3.1. Profils verticaux (**1993**) d'oxygène (axe horizontal inférieur, -+-), de température (axe horizontal supérieur, -o-), et du pH (← indique la profondeur à laquelle le pH a été mesuré) effectués au lac St-Joseph.

Figure 5.3.2. Profils verticaux (**1994**) d'oxygène (axe horizontal inférieur, -+-), de température (axe horizontal supérieur, -o-), et du pH (← indique la profondeur à laquelle le pH a été mesuré) effectués au lac St-Joseph.

Figure 5.3.3. La larve, la pupe, et l'adulte (mâle) de *Chaoborus punctipennis*.

Figure 5.3.4. Relation entre les stades de vie de *C. punctipennis* du lac St-Joseph et leur **poids**.

Figure 5.3.5. Relations entre les **quantités** de Cd, Cu et Zn dans *C. punctipennis* du lac St-Joseph et leur cycle de vie.

Figure 5.3.6. Relations entre les **concentrations** de Cd, Cu et Zn dans *C. punctipennis* du lac St-Joseph et leur cycle de vie.

Figure 5.3.7. Variations temporelles du poids des **1e et 2e stades** larvaires de *C. punctipennis*, de leurs contenus et de leurs concentrations en **Cu**, de la [Cu] du zooplancton, ainsi que de la [Cu] dissous dans l'eau du lac St-Joseph.

Figure 5.3.8. Variations temporelles du poids du **3^{e} stade** larvaire de *C. punctipennis*, de son contenu et de sa concentration en **Cu**, de la [Cu] du zooplancton, ainsi que de la [Cu] dissous dans l'eau du lac St-Joseph.

Figure 5.3.9. Variations temporelles du poids du **4^{e} stade** larvaire de *C. punctipennis*, de son contenu et de sa concentration en **Cu**, de la [Cu] du zooplancton, ainsi que de la [Cu] dissous dans l'eau du lac St-Joseph.

Figure 5.3.10. Variations temporelles du poids des **1^{e} et 2^{e} stades** larvaires de *C. punctipennis*, de leurs contenus et de leurs concentrations en **Zn**, de la [Zn] du zooplancton, ainsi que de la [Zn] dissous dans l'eau du lac St-Joseph.

Figure 5.3.11. Variations temporelles du poids du **3^{e} stade** larvaire de *C. punctipennis*, de son contenu et de sa concentration en **Zn**, de la [Zn] du zooplancton, ainsi que de la [Zn] dissous dans l'eau du lac St-Joseph.

Figure 5.3.12. Variations temporelles du poids du **4^{e} stade** larvaire de *C. punctipennis*, de son contenu et de sa concentration en **Zn**, de la [Zn] du zooplancton, ainsi que de la [Zn] dissous dans l'eau du lac St-Joseph.

Figure 5.3.13. Variations temporelles du poids des **1^{e} et 2^{e} stades** larvaires de *C. punctipennis*, de leurs contenus et de leurs concentrations en **Cd**, de la [Cd] du zooplancton, ainsi que de la [Cd] dissous dans l'eau du lac St-Joseph.

Figure 5.3.14. Variations temporelles du poids du **3^{e} stade** larvaire de *C. punctipennis*, de son contenu et de sa concentration en **Cd**, de la [Cd] du zooplancton, ainsi que de la [Cd] dissous dans l'eau du lac St-Joseph.

Figure 5.3.15. Variations temporelles du poids du **4e stade** larvaire de *C. punctipennis*, de son contenu et de sa concentration en **Cd**, de la [Cd] du zooplancton, ainsi que de la [Cd] dissous dans l'eau du lac St-Joseph.

Figure 5.4.1. Cinétique d'accumulation de Cd chez les larves de quatrième stade de *Chaoborus punctipennis* exposée a 10^{-7} M Cd^{2+}.

Figure 5.4.2. Accumulation de Cd chez *Chaoborus punctipennis* (4ième stade larvaire, X±SD) en fonction du pH de l'eau. La concentration d'exposition de Cd^{+2} a été maintenue à 1 x 10^{-8} M. Les résultats pour un premier essai sont indiqués en haut et ceux d'un deuxième essai sont présentés en bas.

Figure 5.4.3. Accumulation de Cd chez *Chaoborus punctipennis* (4ième stade larvaire) en fonction de la concentration de Cd^{+2}: résultat de la première (à gauche) et de la deuxième (à droite) expériences. En présence de ligand, la concentration totale de Cd dissous était constante (1x10^{-7} M) et [Cd^{2+}] était variée en ajoutant NTA ou EDTA.

Figure 5.4.4. Accumulation du Cd chez la larve de *Chaoborus punctipennis* (4ième stade larvaire) en fonction du Cd^{2+}. Le calcul de $[Cd^{2+}]$ tenait compte de la concentration de Zn mesurée dans les microcosmes.

Figure 5.4.5. Concentration, en fonction du temps de dépuration, du traceur (^{46}Sc) retrouvé chez la larve de *Chaoborus punctipennis* (4ième stade larvaire). Les larves avaient été exposées péalablement à ^{46}Sc pendant 48 heures.

Figure 5.4.6. Accumulation du Cd chez la larve de *Chaoborus punctipennis* (4ième stade larvaire) en fonction du Cd^{2+} avec et sans dépuration.

Figure 5.4.7. Accumulation du Cd chez la larve dépurée de *Chaoborus punctipennis* (4ième stade larvaire) en fonction du Cd^{2+}. Le calcul de $[Cd^{2+}]$ tenait compte de la concentration de la [Zn] mesurée dans les microcosmes.

Figure 5.5.1. Accumulation du Cd par *Chaoborus punctipennis* exposé à Cd présent à la fois dans l'eau et la nourriture ou dans la nourriture seulement. La nourriture était le crustacé *Ceriodaphnia dubia* qui était élevé en présence de Cd à la fois dans l'eau et dans des algues contaminées. Les pentes des deux courbes sont non-significativement différentes (p>0,05).

Figure 5.5.2. Distribution de Cd entre l'exosquelette et les phases polaire (sucres, acides nucléiques, protéines, etc.) et non-polaire (lipides) chez *Ceriodaphnia dubia* exposé à Cd pour des périodes de temps variables.

Figure 5.5.3. Photographie au microscope photonique du site majeur d'accumulation du Cd chez *Ceriodaphnia dubia* (une proie de *Chaoborus*) exposé (a) depuis 24 heures, ou (b) toute leur vie au ^{109}Cd. Les caeca hépatiques (CH) du tractus intestinal sont très fortement marqués.

Figure 5.6.1. Variations temporelles de la concentration de Cd dans les larves de dux espèces de Chironomus provenant d'une profondeur de 8 m au lac St-Joseph, Québec.

LISTE DES SYMBOLES UTILISÉS

[ ]: concentration dans la phase liquide (ex.: mole/L).

{ }: concentration dans la phase particulaire (ex.: mole/g).

C_{org}: concentration de carbone organique.

F: constante de proportionnalité entre la concentration d'un métal dans un organisme et celle des variables dans son environnement (ex.: $[M^{z+}]$, $[H^+]$).

Fe-ox: oxyhydroxydes de fer sédimentaires.

Fe-M: métal associé aux oxyhydroxydes de fer sédimentaires.

K: constante d'équilibre. C'est le rapport des concentrations des produit(s) d'une réaction chimique divisées par celles des réactifs, ex.: $K_{Fe\text{-}M}$ est la constante d'équilibre pour la réaction d'un métal avec les oxyhydroxydes de fer.

K_a: constante d'acidité pour les sites de prise en charge.

M: métal (ex.: cadmium (Cd), cuivre (Cu), plomb (Pb), zinc (Zn)).

[M(org)]: concentration de métal dans un organisme biologique (ex.: un bivalve, un insecte etc.).

M^{z+}: ion libre d'un métal (il correspond au métal dissous non complexé).

Mn-M: métal associé aux oxyhydroxydes de manganèse sédimentaires.

Mn-ox: oxyhydroxydes de manganèse sédimentaires.

OM-M: métal associé à la matière organique sédimentaire.

N_{Fe}, N_{Mn}, N_{OM}: les concentrations de sites (mole de sites / mole de substrat) sur, respectivement, les oxyhydroxydes de fer et de manganèse ainsi que la matière organique qui peuvent potentiellement réagir avec un métal.

$Q(M_{org})_{Total}$: quantité totale de métal accumulée par un organisme aquatique. La quantité totale peut être vue comme l'addition de la quantité accumulée directement à partir de l'eau $Q(M_{org})_{Eau}$ et de celle accumulée à partir de sa nourriture $Q(M_{org})_{Nourriture}$.

X_T: concentration totale des sites de prise en charge d'un métal chez un organisme. Les sites peuvent être: soit libres, ≡X, soit occupés par un proton, ≡XH, soit occupés par un métal, ≡XM.

1. PROBLÉMATIQUE

L'industrialisation a eu comme conséquence d'augmenter la concentration de plusieurs métaux toxiques dans l'environnement (Förstner & Wittmann 1981). La pollution de l'environnement aquatique par ces métaux est importante au Québec. On y rencontre, en effet, plusieurs industries d'extraction et de raffinage des métaux (ex. Cd, Cu, Pb et Zn dans la région de Rouyn-Noranda; Cu dans la région de Chibougamau). À ces sources, s'ajoutent d'autres apports plus diffus dus au transport atmosphérique et à l'altération des minéraux des bassins versants par les précipitations acides. Une partie importante de ces métaux, une fois introduits dans le milieu aquatique, se retrouve associée aux sédiments. Leur toxicité pour les organismes aquatiques a conduit à un intérêt accru pour cette question de la part des spécialistes de l'environnement et des autorités gouvernementales.

En principe, des actions correctives telles que la réduction des rejets, les traitements chimiques *in situ*, le recouvrement ou le dragage peuvent être entreprises (IJC 1988). Ces actions, qui peuvent impliquer des coûts importants de plusieurs natures (monétaires, sociaux), doivent s'appuyer sur une connaissance des processus qui contrôlent l'accumulation des métaux dans les organismes aquatiques, ainsi que sur une évaluation objective des effets de ces métaux sur l'écosystème aquatique. Plus précisément, les gestionnaires responsables de la restauration des milieux contaminés ont besoin de **modèles prédictifs** qui leur permettront d'évaluer la biodisponibilité des métaux dans l'environnement afin de prendre des décisions éclairées quant aux options de restauration (ex.: intervenir directement *in situ* pour décontaminer les sédiments; diminuer les rejets et laisser agir les processus naturels de décontamination; draguer). Plus les modèles seront déterministes, (c.-à.-d. meilleure sera leur base théorique et leur compréhension des processus géochimiques et biologiques impliqués), meilleures seront leurs prédictions pour des milieux autres que ceux qui ont servi à les calibrer.

2. NOTRE APPROCHE SCIENTIFIQUE

Un modèle de type déterministe a été développé par notre équipe pour prédire la concentration de métaux dans les organismes benthiques. Basé sur les concepts de l'interaction ion libre - organismes biologiques et de la complexation de surface, ce modèle permet de relier la concentration du métal M, dans les organismes, [M(org)], aux concentrations celles dans l'eau ou dans les sédiments oxyques superficiels (Tessier *et al.* 1993). Ce modèle a été vérifié avec succès *in situ* dans le cas de l'accumulation de Cd dans des bivalves d'eau douce récoltés dans des lacs dont le pH varie entre 6 et 7.5, couvrant une aire géographique d'environ 350 000 km^2. D'un point de vue pratique, cette approche a généré des équations de prédiction des concentrations de Cd dans les bivalves qui ne requièrent que des variables géochimiques (prédictives) mesurées assez facilement dans l'eau (pH) et dans les sédiments (concentration totale de Cd, concentrations de matière organique et d'oxyhydroxydes de fer).

Cependant, des résultats préliminaires obtenus pour d'autres organismes comme des larves d'insectes (ex. *Chaoborus*), qui peuvent être trouvées dans des lacs de faible pH (aussi faible que pH 4), ont suggéré que, dans les lacs acides, les valeurs mesurées de [M(org)] peuvent être plus faibles que celles attendues du modèle. Ces résultats peuvent être interprétés comme une compétition entre H^+ et M dissous pour les sites biologiques de prise en charge qui, étant donnée la valeur de la constante d'acidité des sites de prise en charge, ne devient appréciable qu'à de faibles valeurs de pH. Dans le présent projet, nous avons réalisé des études pour tester cette hypothèse. Nous abordons aussi la question de la provenance des métaux traces chez les invertébrés aquatiques en répondant à la question suivante; est-ce que la relation obtenue entre [M(org)] et la concentration du métal dissous dans l'eau (plus précisément l'ion libre) reflète une prise en charge directe du métal de l'eau ou une entrée indirecte via la nourriture. De telles informations seront importantes dans le raffinement du modèle pour prédire la concentration de métaux dans les organismes benthiques.

3. OBJECTIFS ET MÉTHODOLOGIES GÉNÉRAUX

L'**objectif général** de nos activités était de développer des modèles déterministes qui permettent une bonne prédiction de [M(org)] en fonction de variables environnementales relativement faciles à mesurer. Ces modèles doivent être d'application générale, c.-à-d., utilisables dans plusieurs milieux aquatiques. Le projet générera des équations de prédiction de concentrations de métaux dans les animaux aquatiques.

Les principaux **objectifs spécifiques** du présent projet sont de:

3.1. Vérifier et tenir compte dans un modèle de prédiction de l'effet atténuateur de [H^+] sur [M(org)] observé pour des lacs acides

L'effet atténuateur de [H^+] peut être expliqué par l'hypothèse suivante: l'ion H^+ exerce une compétition avec le métal M pour les sites de prise en charge et cette compétition devient importante aux bas pH (Campbell & Stokes 1985). On peut en effet imaginer les réactions suivantes entre les sites de prise en charge des organismes (≡X) et les ions M^{z+} et H^+:

$$M^{z+} + \equiv X = \equiv XM \; ; \qquad K = [\equiv XM] \,/\, [M^{z+}]\,[\equiv X] \tag{3.1.1}$$

$$\equiv XH = \equiv X + H^+ \; ; \qquad K_a = [\equiv X]\,[H^+] \,/\, [\equiv XH] \tag{3.1.2}$$

$$X_T = [\equiv XH] + [\equiv X] + [\equiv XM] \tag{3.1.3}$$

En combinant les équations (1) à (3), et en supposant que [≡X] + [≡XH] >> [≡XM], on obtient:

$$[\equiv XM] = \frac{KK_aX_T}{K_a + [H^+]}[M^{z+}] \tag{3.1.4}$$

où X_T, [≡X], [≡XH] et [≡XM] sont respectivement les concentrations de sites de transport totaux, libres, protonés et occupés par M.

L'accumulation de M par un organisme, [M(org)], est supposée proportionnelle à la concentration de M associé aux sites de transport, [≡XM] (modèle de l'ion libre; Morel 1983)

$$[M(org)] = k\ [\equiv XM] \qquad (3.1.5)$$

et en substituant (4) dans (5):

$$M(org)] = F\frac{[M^{z+}]}{[H^+]+K_a} \qquad (3.1.6)$$

où $F = k \cdot K \cdot K_a \cdot X_T$ est une constante qui devrait prendre des valeurs qui sont spécifiques aux organismes. En mesurant [M(org)] et en déterminant $[M^{z+}]$ pour une série de lacs de conditions physico-chimiques différentes (notamment pH et contamination en M), on peut **tester notre hypothèse et estimer F et K_a** dans l'équation (3.1.6) avec un logiciel d'ajustement de paramètres. Les valeurs de $[M^{z+}]$ peuvent être estimées de deux façons:

- en mesurant la concentration totale de M dissous ([M]) ainsi que le pH, et les concentrations de certaines espèces chimiques dissoutes ([Ca], [Mg], [K], [Na], [SO_4], [Cl], [carbone inorganique], [carbone organique]) et en calculant la spéciation de M.

- à l'aide d'un sous-modèle géochimique qui relie $[M^{z+}]$ au pH et à des paramètres sédimentaires (concentrations de matière organique, d'oxyhydroxydes de fer et de manganèse).

L'emploi d'animaux comme "sentinelles" serait grandement facilité si on pouvait démontrer que différentes espèces d'un même genre accumulent les métaux de la même façon puisque plus le niveau d'identification des insectes sera fin, plus élevés seront les coûts qui y sont associés. Cependant, une identification trop grossière risquerait d'être moins efficace pour la prédiction. Nous avons donc testé le **niveau d'identification nécessaire** pour utiliser un insecte comme indicateur biologique.

3.2. Améliorer la prédiction de $[M^{z+}]$ à partir des variables sédimentaires dans le sous-modèle géochimique

La prédiction de [M(org)] à partir des mesures sédimentaires dépend de notre aptitude à relier correctement la concentration de l'ion libre d'un métal ([M^{z+}]) dans l'eau ambiante aux variables sédimentaires. Nous avons donc réalisé une série de mesures qui avaient pour objet de raffiner les aspects géochimiques du présent modèle déterministe. En effet, le sous-modèle géochimique utilisé avant la présente étude (Tessier *et al.* 1993) était assez grossier:

i) puisqu'il supposait que les oxyhydroxydes de fer et la matière organique étaient les seuls substrats sédimentaires responsables de la sorption des métaux traces;

ii) puisque la détermination des constantes géochimiques était basée sur un nombre réduit de mesures *in situ.*

Notre but était de corriger ces lacunes, notamment en effectuant de façon systématique la visite de lacs pour y collecter le matériel diagénétique avec des collecteurs de Teflon. En effet, nous avons séparé les oxyhydroxydes de Fe et Mn sur ces collecteurs et nous avons mesuré les rapports M/Fe et M/Mn. Connaissant les concentrations sédimentaires d'oxyhydroxydes de Fe et de Mn, ainsi que la concentration de matière organique, les rapports M/Fe et M/Mn ont permis de déterminer la contribution de chaque substrat à l'adsorption du métal. En plus d'augmenter le nombre de mesures *in situ* (et ainsi améliorer nos connaissances des constantes géochimiques), nous avons évalué la possibilité que les oxyhydroxydes de Mn soient également impliqués dans la sorption des métaux pour les lacs de pH > 5.5 - 6.0 où les oxyhydroxydes de Mn peuvent être thermodynamiquement stables.

3.3. Mesurer la variabilité en [M(org)] à un site donné

La comparaison des concentrations de métaux dans les animaux échantillonnés à divers sites devrait idéalement être basée sur des individus de même âge (ou **taille), sexe,** et **espèce** récoltés à la même **saison** de l'année. En pratique, il peut être difficile d'obtenir une telle série uniforme d'animaux et à un grand nombre de sites. Pour évaluer l'importance de ces variables biologiques, nous avons mesuré de manière intensive la variabilité en [M(org)] à un site donné.

Pour évaluer si nous devions limiter le dosage des métaux à des individus de même **taille** et de stade identique, nous avons mesuré la variation dans les concentrations métalliques chez des individus de différents stades larvaires d'une espèce d'insecte. Ces mesures intensives ont été réalisées sur une de nos espèces cibles, la mouche fantôme *Chaoborus punctipennis*. Les concentrations métalliques ont aussi été mesurées pour les stades post-larvaires, c'est-à-dire pupe et adulte, afin d'estimer les pertes ou gains de métaux durant la métamorphose vers l'adulte, ainsi que le potentiel de transfert des métaux du milieu aquatique vers le milieu terrestre. Aussi, afin de nous informer sur la nécessité de toujours échantillonner les organismes au même temps de l'année, nous avons mesuré l'influence des **saisons** sur [M(org)] pour les larves de *C. punctipennis*. Étant donné l'absence de développement d'organes sexuels durant les stades larvaires des diptères comme *Chaoborus*, on peut ignorer l'influence du **sexe** sur [M(org)]. Cette simplification, contrairement à d'autres groupes d'animaux comme les crustacés ou les mollusques (Cain & Luoma 1986), représente un avantage pour l'utilisation des larves d'insectes comme bioindicateurs.

3.4. Étudier en laboratoire l'influence de [M^{z+}] et du pH sur la bioaccumulation

Des expériences en laboratoire ont eu pour objet d'approfondir, dans des conditions contrôlées, des facteurs influençant la bioaccumulation de métaux. Nous avons tenté de confirmer les relations entre le pH, [Cd^{2+}], et [Cd(org)] observées sur le terrain pour *Chaoborus punctipennis*.

3.5. Déterminer la provenance du Cd bioaccumulé - l'eau versus la nourriture

Les animaux aquatiques sont exposés aux métaux à la fois dans l'eau et dans leur nourriture. La relation qu'on voit entre [M(org)] et [M^{z+}] reflète-t-elle une prise en charge directe du métal de l'eau ou une entrée indirecte via la nourriture? Si la prise en charge d'un métal se fait seulement à partir de l'eau, on peut ignorer l'influence des variables trophiques (type, quantité et qualité de nourriture) sur la bioaccumulation des métaux. Dans un tel cas, on peut aussi ignorer le potentiel pour le transfert de métaux le long des chaînes trophiques. Ceci simplifierait les modèles de bioaccumulation. Pour mesurer la

provenance des métaux accumulés, nous avons entrepris des expériences en laboratoire pour déterminer, chez une espèce d'insecte (*Chaoborus punctipennis*), la proportion du métal (Cd) qui provient directement de l'eau et celle qui provient de sa nourriture.

3.6. Déterminer l'influence du comportement sur l'accumulation chez *Chironomus*

Nous avons observé que des espèces du même genre d'insecte, vivant dans le même habitat, peuvent présenter des concentrations en métaux traces très différentes. De telles différences inter-espèces deviennent importantes et compliquent la réponse que l'on obtiendrait d'une étude de bioindicateurs se référant à un groupe taxinomique plus "grand" que celui de l'espèce. Nous avons essayé de déterminer la cause des différences inter-espèces en étudiant le comportement nutritionnel des larves de deux espèces de *Chironomus*.

4. MÉTHODOLOGIE

4.1 Méthodologie: vérification de l'effet atténuateur de H^+

La vérification de l'effet atténuateur de H^+ a nécessité une campagne d'échantillonnage au printemps de chaque année. A chacun des sites d'échantillonnage, on a récolté des animaux benthiques et des échantillons d'eau interstitielle et surnageante.

Les **invertébrés benthiques** ont été prélevés à l'aide d'un filet benthique manipulé par un plongeur. Les animaux récoltés ont été gardés dans l'eau du lac et expédiés par avion aux laboratoires de INRS-Eau. Ils y ont été triés immédiatement au niveau taxinomique et mis à dépurer (élimination du contenu intestinal) dans l'eau du lac durant au moins 24 h (Hare *et al.* 1989). Les individus "propres" d'un même taxon ont été placés en groupes de 2 à 20 sur de petites pièces de Teflon pour être par la suite séchés et pesés. Lorsqu'un nombre suffisant d'individus et une biomasse suffisante étaient récoltés, ces invertébrés benthiques d'un même taxon étaient séparés en échantillons (jusqu'à quatre échantillons). Ces échantillons biologiques ont ensuite été digérés avec de l'acide nitrique "Aristar" dans un four micro-ondes et analysés par spectrophotométrie d'absorption atomique (AA) pour leur contenu en Cd, Cu, Pb et Zn.

Les échantillons d'**eau** interstitielle et surnageante (5 cm au-dessous et au-dessus de l'interface sédiment-eau) ont été obtenus par dialyse *in situ* (Carignan *et al.* 1985) en utilisant des dialyseurs de Plexiglas comprenant deux séries verticales de cellules (volume d'environ 4 mL) espacées verticalement de 1 cm. Trois dialyseurs ont été installés et placés à quelques mètres de distance l'un de l'autre et laissés 2 semaines à leur site afin d'obtenir un équilibre. Les dialyseurs ont été laissés sous atmosphère d'azote pour au moins 15 jours avant de remplir les cellules avec de l'eau déminéralisée et de les couvrir avec une membrane (Gelman; dimension des pores de 200 nm). Ils ont ensuite été gardés pour au moins 5 jours sous atmosphère d'azote (Carignan *et al.* 1994) avant de les installer dans le lac. Après la période d'équilibration, les échantillons destinés aux mesures de Ca, Mg, Na, K, Fe, Mn et des métaux traces (Cd, Cu, Pb, Zn) ont été prélevés de la première série verticale de cellules en utilisant une micropipette pour percer la membrane et transférer les échantillons dans des vials de Teflon ou de

HDPE pré-lavés et pré-acidifiés (30 µL de 1N HNO_3 Ultrex). Des échantillons ont été prélevés de la deuxième série verticale de cellules pour les mesures de pH (1 mL gardé dans des seringues de verre), de carbone organique et inorganique (1 mL injecté à travers un septum dans un tube de verre pré-évacué) et de sulfates et chlorures (1 mL dans des tubes de polypropylène). Les mesures de pH ont été effectuées sur le terrain dans les 30 minutes qui ont suivi le prélèvement avec une microélectrode (Microélectrodes, Modèle MI-710), tel que décrit dans Carignan (1984). Les concentrations de métaux ont éte mesurées par spectrophotométrie d'absorption atomique à la flamme lorsque possible (Fe, Mn, Ca, Mg, Na, K; Varian Techtron, Modèle 575ABQ ou Modèle Spectra AA-20) ou par AA sans flamme (Varian Techtron, Modèle 1275 ou Spectra AA-30; GTA-95 ou GTA-96). Les concentrations de sulfates et chlorures ont été déterminées par chromatographie ionique (Dionex Autoion, système 12). Les concentrations de carbone inorganique ont été mesurées par chromatographie en phase gazeuse (Carignan 1984) et celles de carbone organique, par oxydation avec persulfate en présence de lumière UV.

La **spéciation de métaux** (notamment le calcul de $[M^{z+}]$) a été calculée pour les échantillons d'eau avec deux programmes de calculs d'équilibres chimiques. L'un (HYDRAQL: Papelis *et al.* 1988) ne prend en compte que les ligands inorganiques présents dans les eaux naturelles dans le calcul de la spéciation. L'autre (WHAM; Tipping 1994) prend en compte la complexation par la matière organique naturelle en plus de celle par les ligands inorganiques.

4.2 Méthodologie: prédiction de $[M^{z+}]$ à partir des variables sédimentaires

Nous avons profité des campagnes d'échantillonnage décrites à la section 4.1 pour prélever à chacun des sites les échantillons (sédiments, matériel diagénétique) nécessaires à la réalisation de cette partie du projet.

Des carottes de **sédiments** ont été recueillies par des plongeurs avec des tubes de Plexiglas (diamètre de 9 cm). Les carottes ont été extrudées sur le rivage et seulement le premier 0.5 cm des sédiments superficiels ont été conservé. Ces échantillons ont été

placés dans des bouteilles à centrifugation de polyéthylène à demi remplies d'eau et gardées à 4°C durant le transport aux laboratoires où ils ont été congelés.

Des plaques de Teflon (7.5 x 15 cm; 0.2 cm d'épaisseur; 10 par site) ont été insérées verticalement dans les sédiments par des plongeurs lors des campagnes du printemps. Elles y ont été laissées en place pour 4 mois et recueillies à l'automne. Ces plaques de Teflon agissent comme collecteurs des **oxyhydroxydes de Fe et Mn** (et des métaux traces qui s'associent à ces oxyhydroxydes) qui sont produits par diagénèse dans les sédiments (Belzile *et al.* 1989). Les oxyhydroxydes de Fe obtenus de cette façon se présentent comme une couche mince brune-orange (typiquement 0.5 cm de largeur et 5-20 µm d'épaisseur). Les oxyhydroxydes de Mn se présentent comme une couche brunâtre plus diffuse, située au-dessus de celle des oxyhydroxydes de Fe. Une fois recueillis, les collecteurs de Teflon ont été rincés avec l'eau du lac pour enlever les macro-organismes et les particules de sédiments et ensuite placés dans des contenants de polyéthylène fermés.

Les échantillons de **sédiments** superficiels ont été décongelés et centrifugés (12,000 g; 30 min) pour enlever l'excès d'eau; Cd, Cu, Pb, Zn, Fe et Mn ont été séparés dans les fractions empiriques suivantes définies en extrayant séquentiellement un échantillon de sédiment avec: (1) $MgCl_2$; (2) un tampon acétate à pH 5; (3) une solution de $NH_2OH.HCl$ à température de la chambre; (4) une solution de $NH_2OH.HCl$ à 96°C; (5) une solution de H_2O_2; (6) un mélange d'acides nitrique, perchlorique et fluorhydrique. Les détails de ces procédures sont donnés dans Tessier et al. (1989). On appelle ici métaux "non détritiques" la somme des métaux dans les 5 premières fractions. Les concentrations de carbone organique dans les sédiments $\{C_{org}\}$ ont été déterminées avec un analyseur CNS (Carlo-Erba, Modèle NA1500) après acidification avec H_2SO_4 0.5 M (15 min; 100 mL/g sédiment sec) pour enlever le carbone inorganique.

Les surfaces contenant les **oxyhydroxydes de Fe et Mn** ont été enlevées des plaques de Teflon à l'aide de gouges. Les oxyhydroxydes de Fe et Mn ont été dissous séparément dans HCl 50% (0.2-0.6 mL; 48 h à température de la pièce); les solutions ont été diluées à 2-6 mL et filtrées à travers des filtres de Teflon (0.4 µm). Les concentrations de Fe, Mn, Ca, Mg, Na, K, Cd, Cu, Pb, Mn dans ces solutions ont été mesurées par spectrométrie d'émission de plasma (Jarrell-Ash, Atomscan 25) lorsque

possible ou autrement par spectrométrie d'absorption atomique sans flamme. Les concentrations de carbone organique (C_{org}) dans les solutions ont été déterminées par oxydation au persulfate en présence de lumière UV.

Les mesures effectuées dans les sédiments et le matériel diagénétique, couplées à celles effectuées dans l'eau surnageante (qui sont décrites dans la section 4.1) permettent de relier de façon semi-empirique [M^{z+}] au pH et à des paramètres sédimentaires en faisant intervenir des éléments de la théorie de complexation de surface (Tessier *et al.* 1993). Les paramètres sédimentaires impliqués sont: la concentration de carbone organique, {C_{org}}; la concentration d'oxyhydroxydes de fer, {Fe-ox}; la concentration d'oxyhydroxydes de manganèse, {Mn-ox}; les concentrations de métaux associés à ces différentes phases solides, soit respectivement {OM-M}, {Fe-M} et {Mn-M}.

4.3 Méthodologie: variabilité de [M(org)] à un site donné

Des mesures intensives de variations temporelles de [M(org)] ont été effectuées à un site donné (lac St-Joseph) afin de compléter nos mesures extensives de variation de [M(org)] entre différents lacs. Notre but était de relier le métal accumulé (quantité et concentration) par une espèce, *Chaoborus punctipennis*, à son cycle de vie. Pour expliquer les changements temporels de [M(org)], nous avons mesuré les concentrations de métaux dans les sources potentielles de métaux pour ce prédateur, c'est-à-dire dans l'eau et dans sa nourriture (zooplancton). La fréquence d'échantillonnage était plus grande en été qu'en hiver, pour tenir compte du taux de développement des larves de *C. punctipennis*; le lac St-Joseph a été visité à cette fin à 41 occasions entre 1993 et 1995.

La récolte de zooplancton et de larves de *C. punctipennis* a été réalisée à l'aide de filets planctoniques (respectivement de 64 µm et 125 µm), lors de sorties nocturnes, lorsque les larves quittent les sédiments pour s'alimenter dans la colonne d'eau. Les quatre stades larvaires ont été distingués selon la longueur de la tête des individus (LaRow & Marzolf 1970). La dépuration des larves et la mesure des concentrations de métaux traces dans le zooplancton et les larves de *C. punctipennis* ont été effectuées tel que décrit à la section 4.1. Les adultes de *C. punctipennis* ont été obtenus en élevant des

larves du 4ième stade récolté sur le terrain. La récolte d'eau pour y mesurer les métaux traces s'est fait par dialyse *in situ* (voir la section 4.1).

4.4 Méthodologie: influence de [M^{z+}] et du pH sur la bioaccumulation en laboratoire

Des expériences ont été menées en laboratoire pour déterminer si l'accumulation de Cd par la larve de *Chaoborus punctipennis* suivait le modèle de l'ion libre (dépendance de [Cd^{2+}]) et si l'on pouvait mettre en évidence l'effet atténuateur de H^+ observé *in situ* pour l'accumulation de Cd par cette larve. Cette espèce a été choisie à cause de sa grande disponibilité dans les lacs québécois et de la facilité avec laquelle on peut la garder en laboratoire durant de longues périodes en absence de sédiments et de nourriture. Pour ces expériences, nous avons utilisé une eau douce reconstituée dont la composition ressemble à celle du lac St-Joseph, lieu de récolte des larves. Les expériences ont été effectuées dans des microcosmes de HDPE (polyéthylène de haute densité) qui adsorbe peu le Cd, selon des expériences préliminaires. Ces microcosmes ont été placés à l'obscurité, dans une chambre à température contrôlée. Afin de nous permettre de respecter les faibles concentrations de Cd trouvées en nature, on a utilisé le radio-isotope ^{109}Cd. Pour vérifier si l'accumulation de Cd par *C. punctipennis* dépendait de [Cd^{2+}], nous avons fait varier la [Cd^{2+}] à laquelle les animaux étaient exposés dans les différents microcosmes à l'aide de ligands tels que EDTA et NTA. Pour mettre en évidence l'effet atténuateur de H^+, nous avons gardé [Cd^{2+}] constante dans les différents microcosmes et y avons fait varier [H^+].

En général, les expériences se sont déroulées de la façon suivante. Une grande nombre de larves ont été récoltées du lac St-Joseph. Elles ont été triées rapidement mais avec délicatesse et on ne conservait que les larves de stade 4 pour les acclimater (2-4 jours) dans l'eau reconstituée au pH requis pour l'expérience. Après ce temps d'acclimatation, elles ont été transférées dans les microcosmes (10-20 individus / microcosme). Le pH des microcosmes a été vérifié quotidiennement et ajusté au besoin. Les organismes morts ont été enlevés à la même occasion. Après 7 jours, les larves ont été récoltées, et mises à tremper dans une solution d'EDTA (10^{-4} M; 30 min.) pour enlever le Cd adsorbé sur l'exosquelette. Les larves ont ensuite été séchées, pesées et la concentration de Cd mesurée avec un compteur gamma. Le temps de contact (7 jours) de *C. punctipennis*

avec les solutions de Cd a été choisi en tenant compte d'expériences de cinétique de prise en charge de Cd que nous avions effectuées préalablement et du temps de survie des larves.

4.5 Méthodologie: provenance du Cd accumulé - l'eau versus la nourriture

La quantité totale de métal, $Q(M_{org})_{Total}$, accumulée par un organisme aquatique peut être vue comme résultant de l'addition de la quantité accumulée directement à partir de l'eau, $Q(M_{org})_{Eau}$, et de celle accumulée à partir de sa nourriture, $Q(M_{org})_{Nourriture}$, c'est-à-dire:

$$Q(M_{org})_{Total} = Q(M_{org})_{Eau} + Q(M_{org})_{Nourriture} \qquad (4.5.1)$$

Nous avons mené une expérience en microcosmes pour déterminer l'importance relative des termes de droite dans l'équation 4.5.1 pour l'accumulation de Cd par la larve d'insecte *Chaoborus punctipennis*. Dans cette expérience, ce prédateur était exposé dans des microcosmes de HDPE pour des périodes de temps variant de 0 à 15 jours à ^{109}Cd présent seulement dans sa nourriture (permettant d'obtenir le terme $Q(M_{org})_{Nourriture}$), ou présent à la fois dans l'eau (10^{-8} M Cd^{2+}) et sa nourriture (permettant d'obtenir la somme des termes $Q(M_{org})_{Eau} + Q(M_{org})_{Nourriture}$) (fig. 4.5.1). Une exposition au Cd dans l'eau seulement n'a pas été réalisée pour éviter d'altérer le comportement des larves en les privant de la nourriture. Le crustacé planctonique *Ceriodaphnia dubia*, marqué avec ^{109}Cd, a été utilisé comme proie pour *C. punctipennis*. Le marquage de *C. dubia* s'est effectué sur une période de 24 h en lui offrant comme proies l'algue *Selenastrum capricornutum*, elle-même marquée avec ^{109}Cd; l'eau ambiante contenait aussi 10^{-8} M de Cd dissous. Le temps de 24 h a été choisi après avoir effectué une expérience de cinétique de prise en charge de Cd par *C. dubia* qui montrait que la concentration de Cd dans cet organisme atteignait alors un état stationnaire. L'algue *C. capricornutum* qui servait de nourriture à *C. dubia* a été marquée dans des microcosmes (4L) opérés en état quasi-stationnaire; 3L de suspension d'algues étaient prélevés chaque jour et remplacés par un même volume de milieu de culture BBM contenant ^{109}Cd. La concentration de Cd dans le milieu de culture était maintenue à 10^{-8} M. On notera que la concentration de Cd dissous utilisée lors des marquages de *C. dubia* et *S. capricornutum* était semblable à la concentration de Cd dissous utilisée lors de l'exposition de *C.*

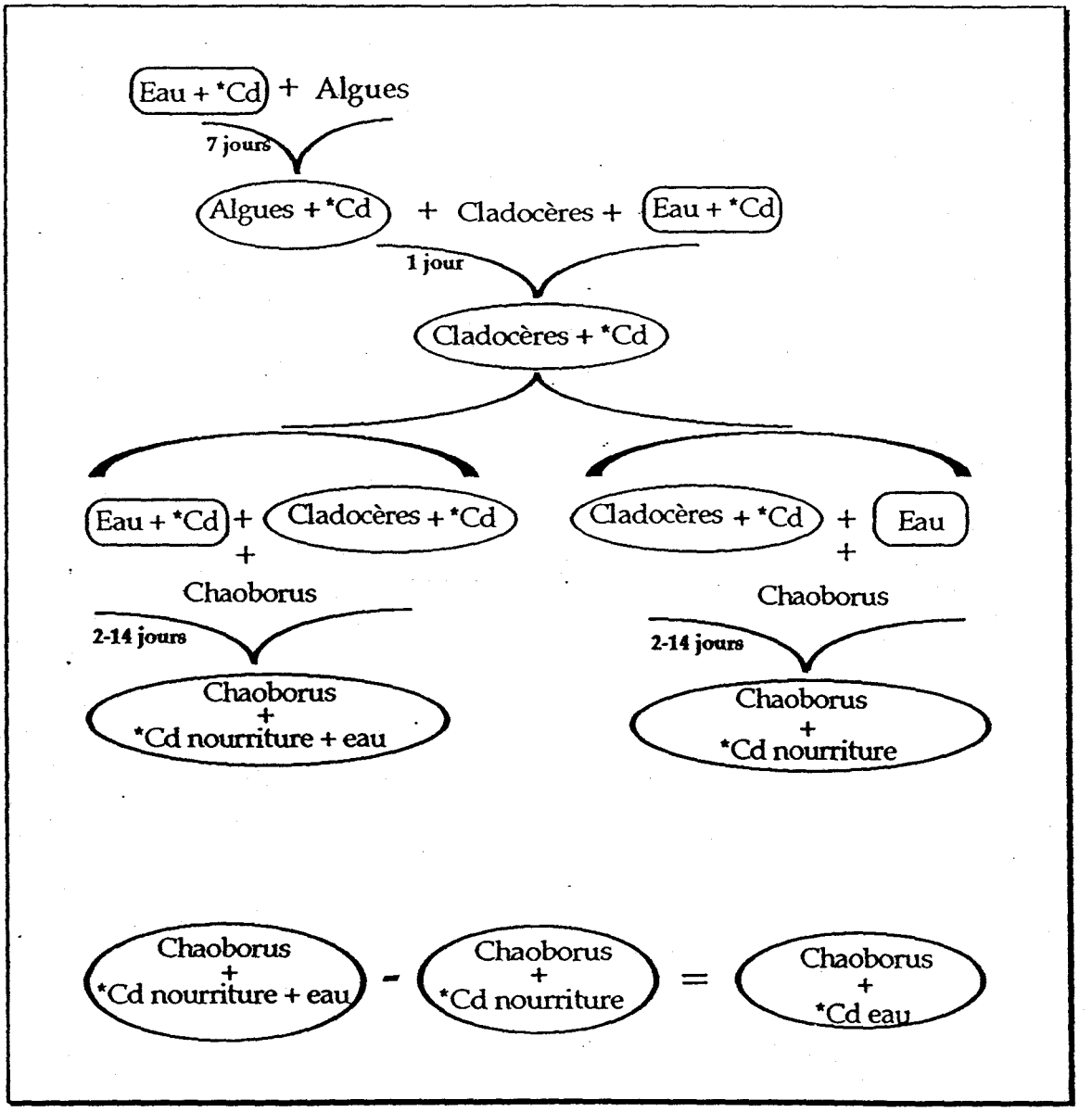


Figure 4.5.1. Organigramme expérimental. Les boîtes rectangles représentent l'eau d'exposition additionnée ou non de Cd. Les boîtes ovales représentent les niveaux trophiques contaminés en Cd.

punctipennis. C'est aussi une concentration de Cd dissous retrouvée en milieu lacustre dans les lacs pollués (Hare & Tessier 1996).

Pour vérifier que le court temps de marquage (24 h) de *C. dubia* n'introduit pas de biais dans l'expérience (par exemple en rendant le Cd dans cette proie plus disponible à *C. punctipennis* qu'en nature), nous avons procédé à deux expériences. Dans la première, la distribution de Cd entre l'exosquelette et les composés internes polaires et non polaires a été comparée pour *C. dubia* entre des individus marqués pendant 24 h et des individus marqués pendant plusieurs générations. Les spécimens de *C. dubia* des deux populations étaient soumis à une digestion en milieu basique (NaOH 0.2 N; 65°C; 1 heure) afin d'isoler les exosquelettes par filtration (filtres de polycarbonate 0.45 µm); le filtrat était ensuite extrait avec NaOH/chloroforme pour séparer les composées polaires et non polaires. La [^{109}Cd] dans les trois fractions a été mesurée à l'aide d'un compteur gamma. Dans une deuxième expérience, des individus des deux populations, marqués avec ^{109}Cd ont été examinés par autoradiographie. Après avoir été exposés au Cd, ils étaient mis à dépurer en leur donnant des algues non contaminées au Cd et plongés dans une solution d'EDTA (10^{-4} M; 30 min.). Ils étaient ensuite fixés avec du glutéraldéhyde, déshydratés jusqu'au toluène et enrobés dans de la paraffine. Des tranches (10 µm) obtenues avec un microtome étaient ensuite déposées sur une lame de microscope qui était ensuite trempée dans une émulsion photographique. Les lames étaient laissées à la noirceur pour 3 semaines et examinées avec un microscope photonique.

4.6. Méthodologie: influence du comportement sur l'accumulation chez *Chironomus*

Le comportement nutritionnel des larves de deux espèces de *Chironomus* (*staegeri* et *tigris*) a été étudié en laboratoire ainsi que sur le terrain pour tenter d'expliquer la différence inter-spécifique dans leur concentration en Cd. En examinant le contenu du tractus intestinal de larves prélevées sur le terrain, nous avons remarqué que l'une des espèces (*C. staegeri*) s'alimente plus de sédiments de couleur rouge-orange (sédiments oxyques de surface?) alors qu'une autre (*C. tigris*) se nourrit de sédiments plutôt grisâtres (sédiments anoxyques en profondeur?). Nous avons alors formulé l'hypothèse que les deux espèces consomment les sédiments provenant de différentes profondeurs.

Cette différence comportementale entre les espèces les exposerait donc à une variation verticale dans la [Cd] des sédiments.

Notre approche expérimentale a nécessité l'utilisation de traceurs inertes (particules fluorescentes en laboratoire et le carbure de molybdène, Mo_2C, sur le terrain) pour marquer les sédiments de surface afin de les distinguer des sédiments profonds. Les larves ont été placées en présence de sédiments marqués et non-marqués. La présence ou l'absence du traceur dans les contenus intestinaux des larves a été mesurée après une semaine en laboratoire (par observation microscopique) ou six mois sur le terrain (par digestion de contenus intestinaux et analyse du Mo). En laboratoire, les expériences ont été réalisées dans des microcosmes en plastique d'un volume de 2 L. Les larves, les sédiments, et l'eau utilisés dans ces expériences ont été récoltés au lac St-Joseph, près de Québec, où se sont également déroulées les expériences de terrain sur les *Chironomus* indigènes. Pour ces expériences de terrain, des enclos de plastique (4 enclos d'un diamètre de 1.5 m) ont été installés par les plongeurs à une profondeur de 7m dans le lac St-Joseph. Du carbure de molybdène a été saupoudré par les plongeurs dans ces enclos benthiques. Six mois plus tard, les spécimens de *Chironomus* contenus dans les enclos ont été recueillis et analysés pour la teneur en Mo de leur tractus. Des carottes de sédiments ont aussi été prélevées dans les enclos, extrudées et sectionnées en tranches de 1 cm d'épaisseur. Ces échantillons de sédiments ont été digérés et analysés pour leur contenu en Mo.

5. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

5.1. Résultats: vérification de l'effet atténuateur de H^+

Dans un premier temps, nous avons testé l'effet atténuateur de H^+ (et d'autres cations) de façon assez complète sur les larves de l'insecte *Chaoborus* (figure 5.1.1). Cet animal retient notre attention pour ses qualités de biosentinelle, i.e., qu'il est: i) répandu et commun dans des lacs couvrant une grande gamme de pH, matière organique et concentration de métaux, ii) un maillon important de la chaîne trophique des poissons, et iii) capable d'accumuler les métaux traces sans souffrir d'effet néfastes apparents. De plus, les larves peuvent être récoltées dans la colonne d'eau la nuit, évitant ainsi le tri laborieux des sédiments. On présente donc de façon détaillée les résultats pour cet organisme.

Par ailleurs, un autre diptère, *Chironomus* (fig. 5.1.1) s'annonce intéressant comme biomoniteur de Cd, Cu et Zn. Les concentrations de ces métaux dans ces organismes varient sur une grande gamme pour la série de lacs étudiés (voir ci-dessous, section 5.1.2). Nous avons commencé à examiner la compétition de H^+ et d'autres cations sur la prise en charge de Cd, Cu et Zn chez *Chironomus.* Des résultats partiels sont présentés pour cet organisme.

Finalement, nous sommes à mettre sous un format adéquat les autres couples organismes-métaux et à compléter les analyses statistiques et les interprétations.

5.1.1. *Chaoborus*

Concentrations totales dissoutes ou sédimentaires de Cd comme prédicteurs de Cd chez *Chaoborus punctipennis.* Les concentrations de Cd chez *Chaoborus punctipennis* ne sont pas reliées à la concentration du Cd dans les sédiments oxyques (fig. 5.1.2a) ni à la concentration totale de Cd dissous dans la zone oxyque des sédiments (figure 5.1.2b).

Concentration de Cd libre comme prédicteur de Cd chez *C. punctipennis.* Selon le modèle de l'ion libre (Eqn 3.1.5) et les résultats déjà obtenus pour le bivalve *Anodonta grandis* (Tessier *et al.* 1993), on s'attendrait à obtenir une bonne prédiction des concentrations de Cd dans les animaux avec la concentration de Cd libre dans l'eau, i.e., $[Cd^{2+}]$. Les concentrations de Cd^{2+} ne sont pas directement mesurables avec les moyens actuels étant donné les faibles concentrations de Cd dissous dans les eaux naturelles (10^{-11} à 10^{-8} M). Toutefois, on peut estimer ces concentrations avec des logiciels de spéciation chimique informatisés; les données d'entrée nécessaires sont les concentrations totales dissoutes des métaux, des ligands et des ions majeurs, ainsi que le pH. Nous avons utilisé deux de ces logiciels pour estimer les concentrations de Cd^{2+}.

1) Calculs avec le logiciel HYDRAQL (Papelis *et al.* 1988). Ce logiciel ne comprend pas de constantes de complexation des métaux traces avec la matière organique naturelle (e.g., acides humiques et fulviques). Il ne considère donc que la complexation des métaux traces avec les ligands inorganiques (Cl^-, SO_4^{2-}, CO_3^{2-}). La concentration de Cd^{2+} calculée de cette façon est appelée ci-dessous $[Cd^{2+}]^*$. Les calculs indiquent que $[Cd^{2+}]^*$ est très semblable à la concentration de cadmium total dissous pour les lacs étudiés. Ceci vient du fait que le Cd ne forme pas des complexes très forts avec les ligands inorganiques naturels et que les concentrations de ces ligands ne sont pas élevées dans les lacs étudiés.

2) Calculs avec le logiciel WHAM (Tipping 1994). Le logiciel WHAM (Windermere Humic Aqueous Model) développé récemment comprend des constantes de complexation des métaux traces avec les substances humiques (acides fulviques et humiques). Comme nous n'avions pas mesuré directement les substances humiques, nous avons dû faire un certain nombre d'hypothèses pour utiliser ce modèle:

a) la matière organique contient 50% de carbone (Buffle 1988);
b) tout le carbone organique dissous mesuré appartient à des substances humiques (Tipping 1994);
c) le rapport acide fulvique : acide humique est 9:1 (donc les valeurs calculées ainsi représentent un maximum).

La concentration de Cd^{2+} calculée de cette façon est appelée ci-dessous $[Cd^{2+}]$. Les calculs indiquent que la spéciation de Cd est parfois dominée par la complexation par les

substances humiques. Les complexes de Cd avec les substances humiques représentent entre 12 et 83 % du cadmium dissous total pour les lacs étudiés.

La figure 5.1.3 montre que les concentrations de Cd dans *C. punctipennis* ne sont pas vraiment reliées à $[Cd^{2+}]^*$ ni à $[Cd^{2+}]$. Cette figure indique clairement que les lacs acides présentent de faibles valeurs de [Cd(org)] même si les concentration de Cd^{2+} sont relativement élevées, ce qui suggère une compétition de H^+ avec Cd^{2+} pour les sites biologiques de transport.

Prise en compte de la compétition H^+-Cd^{2+} pour prédire Cd chez *C. punctipennis*. Si on tient compte de la compétition entre H^+ et Cd^{2+} pour des sites de transport cellulaires (Eqn 3.1.6), on améliore beaucoup la prédiction de la concentration de Cd dans *C. punctipennis* (figure 5.1.4). Les équations de régression linéaire obtenues sont:

$$[Cd_{(C.\ punctipennis)}] = (18100 \pm 2800)\frac{[Cd^{2+}]^*}{[H^+] + 5.3x10^{-6}} + (0.32 \pm 2.0) \qquad (r^2=0.66) \qquad (5.1.1)$$

et

$$[Cd_{(C.\ punctipennis)}] = (20500 \pm 1800)\frac{[Cd^{2+}]}{[H^+] + 1.9x10^{-6}} + (0.04 \pm 1.3) \qquad (r^2=0.86) \qquad (5.1.2)$$

Les valeurs de F et K_a sont obtenues avec un logiciel d'ajustement des données selon la méthode des moindres carrés. On notera que la valeur de K_a que nous obtenons ($1.9x10^{-6}$ mole/L) est semblable à celle obtenue en laboratoire dans une étude de la compétition H^+-Cd^{2+} pour les sites sur des branchies de poissons (K_a = $4x10^{-6}$ mole/L; Cusimano *et al.* 1986).

Prise en compte des compétition de Ca^{2+}, Zn^{2+} et H^+ avec Cd^{2+} pour prédire Cd chez *C. punctipennis*. En plus de la compétition entre H^+ et Cd^{2+}, nous avons également considéré explicitement celles de Ca^{2+} et Zn^{2+} avec Cd^{2+}. Considérées seules, les compétitions Ca^{2+}-Cd^{2+} et Zn^{2+}-Cd^{2+} ne permettent pas de bien prédire les concentrations de Cd dans *C. punctipennis* (r^2=0.42 pour Ca^{2+}-Cd^{2+} et r^2=0.48 pour Zn^{2+}-Cd^{2+}). Par contre, lorsqu'on considère que Ca^{2+} ou Zn^{2+} peuvent compétitionner à la fois avec H^+ et Cd^{2+} pour les sites de transport, on augmente la variabilité expliquée de la concentration

de Cd chez *C. punctipennis* de 2 à 4%. Ceci se fait cependant au prix de l'ajout de deux paramètres ajustables supplémentaires.

Prédiction de Cd chez le genre *Chaoborus*. Dans les lacs où elles étaient présentes, nous avons recueillies deux autres espèces de *Chaoborus* (*C. albatus* et *C. flavicans*). En regroupant toutes les espèces de *Chaoborus*, on observe le patron décrit ci-dessus pour *C. punctipennis.* Par exemple, la figure 5.1.5a montre que $[Cd^{2+}]$ n'est pas un bon prédicteur de Cd chez *Chaoborus* (r^2=0.02); les espèces *C. albatus* et *C. punctipennis* (l'espèce *C. flavicans* n'a pas été trouvée dans les lacs acides étudiés) montrent toutes les deux de faibles concentrations de Cd pour des concentrations de Cd^{2+} relativement élevées des lacs acides. Si on tient compte explicitement de la compétition H^+-Cd^{2+}, on obtient une meilleure prédiction de Cd chez *Chaoborus*, i.e., la valeur de r^2 passe de 0.02 à 0.86 (figure 5.1.5b). L'équation de régression linéaire obtenue est:

$$[Cd_{(Chaborus)}] = (18200 \pm 1600)\frac{[Cd^{2+}]}{[H^+] + 1.6x10^{-6}} + (0.05 \pm 1.3) \qquad (r^2=0.86) \qquad (5.1.3)$$

Signification pratique des résultats obtenus pour Cd. Ces résultats suggèrent que les concentrations de Cd chez *C. punctipennis* sont modulées à la fois par la complexation par la matière organique (relation équation 5.1.2 meilleure que 5.1.1) et par la compétition de H^+ avec Cd^{2+} (comparer les figures 5.1.4 et 5.1.3 et 5.1.5a et 5.1.5b). Ils supportent le modèle de l'ion libre, développé en laboratoire, en tant qu'outil efficace pour prédire les concentrations de métaux dans les organismes biologiques en nature. Une conséquence pratique de ces résultats est la démonstration que les larves de *Chaoborus* peuvent être utilisées comme sentinelles pour estimer les concentrations de Cd biologiquement pertinentes (i.e., $[Cd^{2+}]$) en milieu lacustre en utilisant les équations 5.1.2 ou 5.1.3.

On notera cependant que ces données obtenues pour le Cd n'indiquent pas nécessairement que les larves de *Chaoborus* obtiennent ce métal uniquement ou majoritairement de l'eau. Les résultats obtenus jusqu'à maintenant sur les sources de Cd indiquent que *C. punctipennis* obtient Cd en bonne partie de sa nourriture (voir la section 5.5). Il est fort possible que la compétition H^+-Cd^{2+} observée ici se produise en fait à des

niveaux plus bas dans la chaîne alimentaire menant à *Chaoborus*. Comme expliqué à la section 5.5, il est important de clarifier ces points pour améliorer la prédiction de Cd chez *Chaoborus* et en faire un meilleur bioindicateur.

Prédiction de Cu et Zn chez *C. punctipennis*. Si la larve de *C. punctipennis* s'annonce très intéressante comme biosentinelle pour Cd, ce n'est pas le cas pour Cu et Zn. La figure 5.1.6 montre que les concentrations de Cu et Zn varient très peu chez *C. punctipennis*, malgré des gammes de $[Cu^{2+}]$ de 10^5X et des gammes de $[Zn^{2+}]$ de 10^3X pour les lacs étudiés. Les autres espèces de *Chaoborus* montrent un comportement semblable. Il semble que Chaoborus ou ses proies contrôlent les concentrations internes de ces métaux.

5.1.2. *Chironomus*

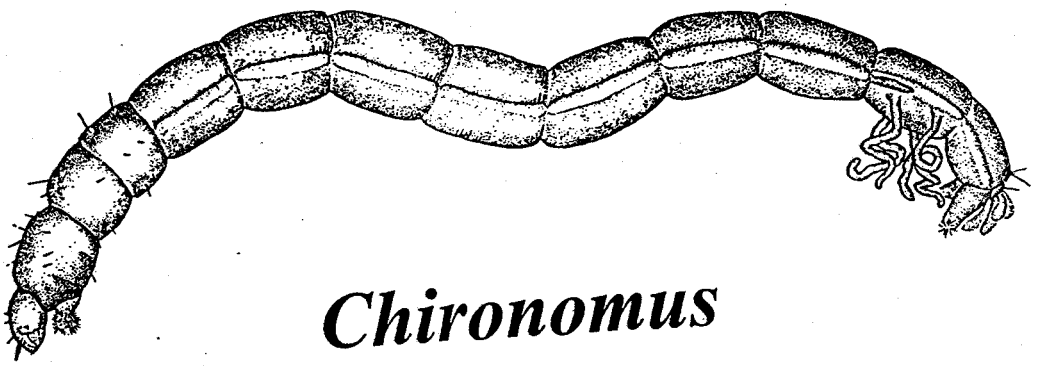
Prédiction de Cd chez *Chironomus*. Les concentrations de Cd chez le genre *Chironomus* varient entre 1 et 100 µg/g selon les lacs étudiés. Cette large gamme de concentrations de Cd dans l'organisme en font un bioindicateur potentiel intéressant. Les concentrations de Cd chez *Chironomus* ne sont pas reliées à la concentration de Cd dans les sédiments oxyques (figure 5.1.7a) ni à la concentration totale de Cd dissous dans la zone oxyque des sédiments (figure 5.1.7b). La figure 5.1.8a montre que les concentrations de Cd chez *Chironomus* sont faibles dans les lacs acides, malgré des concentrations de Cd^{2+} élevées. La prise en compte explicitement de la compétition H^+-Cd^{2+} améliore la prédiction de Cd chez ce genre (figure 5.1.8b). L'équation de régression linéaire obtenue pour ce dernier cas est:

$$[Cd_{(Chironomus)}] = (4500 \pm 1000)\frac{[Cd^{2+}]}{[H^+] - 8.2x10^{-9}} + (8.2 \pm 19.5) \qquad (r^2=0.51) \qquad (5.1.4)$$

L'analyse des résultats de Cd pour ce genre n'est pas complète. Entre autres, nous comptons vérifier les compétitions de Ca^{2+} et Zn^{2+} avec Cd^{2+}. Des indices nous suggèrent que la compétition Ca^{2+}-Cd^{2+} serait importante et qu'en tenir compte augmenterait le pouvoir de prédiction de Cd chez cet organisme.

Prédiction de Zn et Cu chez *Chironomus*. Pour les lacs étudiés, les concentrations de Zn chez *Chironomus* varient entre 50 et 500 µg/g et celles de Cu entre 10 et 700 µg/g. Pour le Zn, contrairement au Cu, on observe l'effet atténuateur de H^+ (figures 5.1.9 et 5.1.10). Pour ce genre, l'analyse des résultats pour Cu et Zn est incomplète au moment de la rédaction de ce rapport. Comme pour Cd, on compte vérifier les compétitions intermétalliques.

Mentionnons que nous travaillons aussi au développement de techniques biochimiques qui nous permettraient de distinguer entre les espèces de *Chironomus* (Glemet *et al.* 1995). En effet, des différences inter-espèces dans les concentrations métalliques (voir la section 5.6) contribuent probablement à la variabilité dans les relations prédictives.



Chironomus

Chaoborus

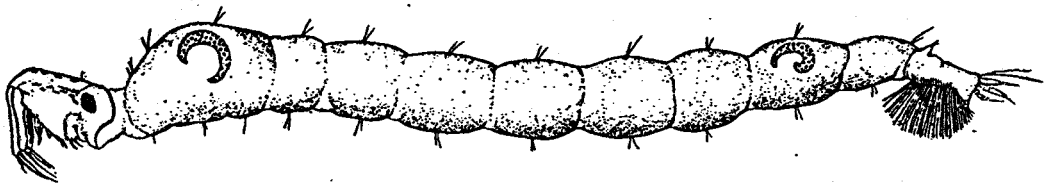


Figure 5.1.1. Le stade larvaire de deux genres clé dans notre étude, les insectes *Chaoborus* (prédateur) et *Chironomus* (consommateur de sédiments).

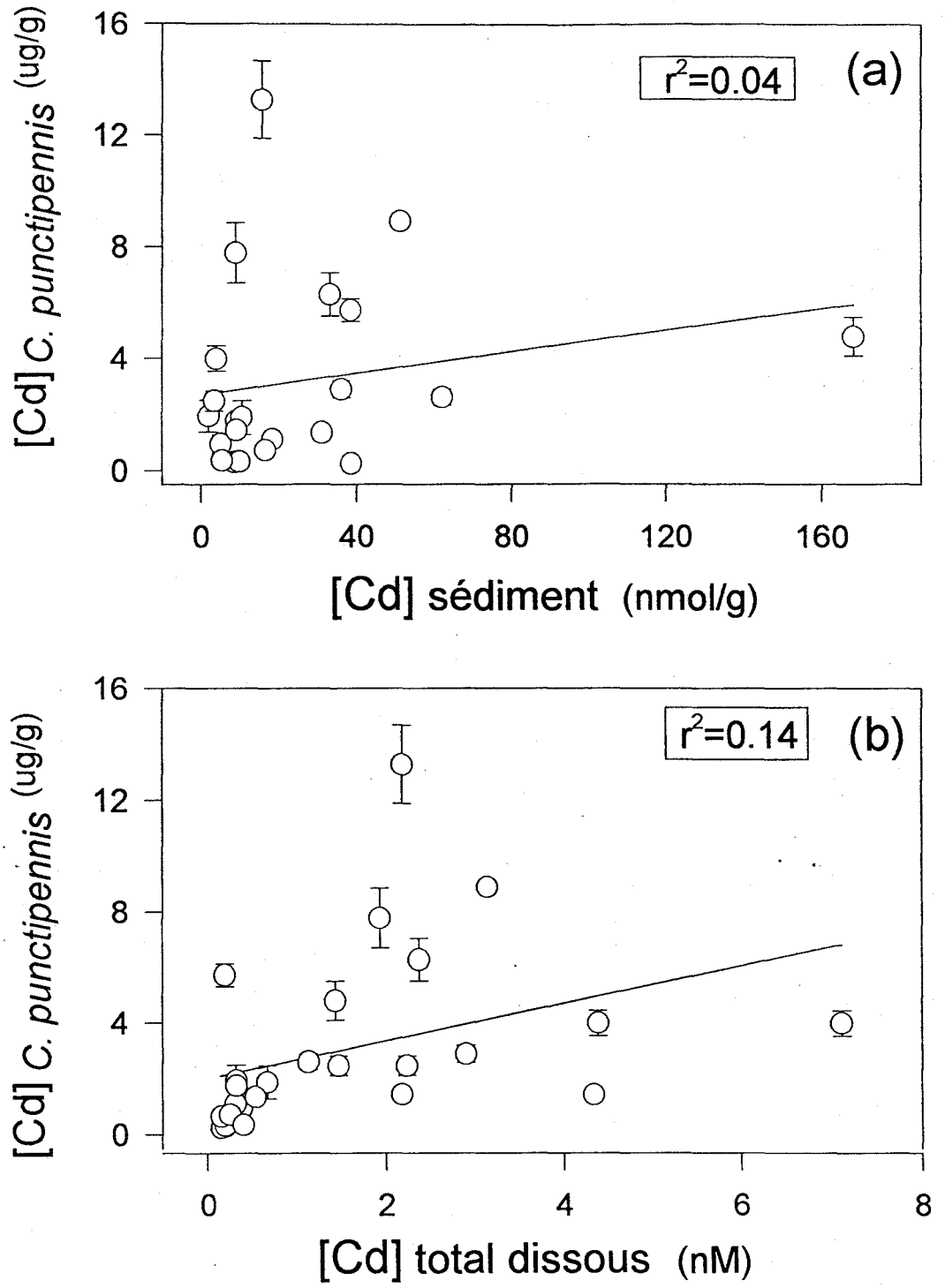


Figure 5.1.2. Concentrations de Cd chez l'insecte *Chaoborus punctipennis* (quatrième stade larvaire, µg/g poids sec) prélevés de plusieurs lacs au printemps comparées aux **concentrations totales sédimentaires (a) ou dissoutes (b) de Cd** dans ces lacs.

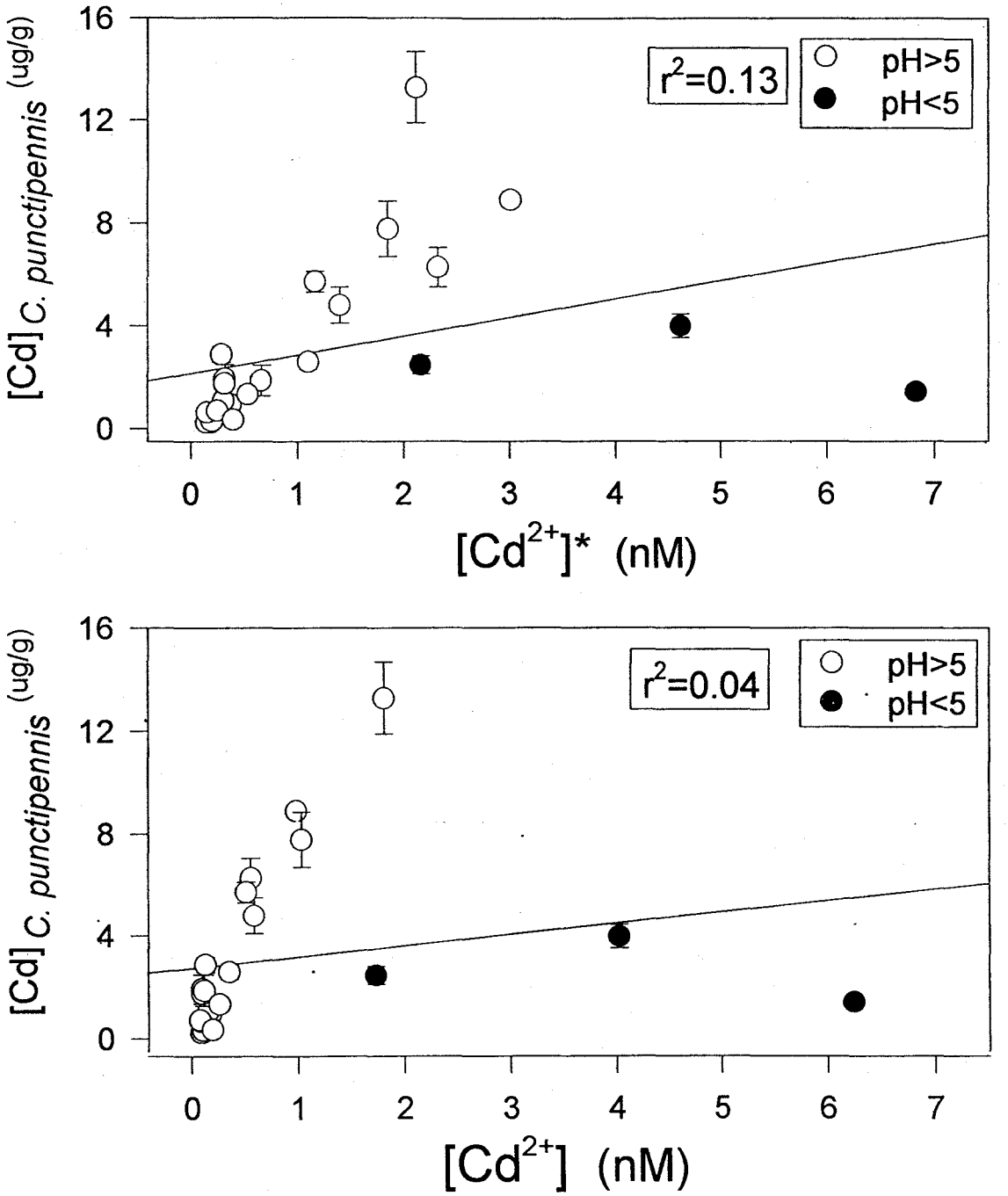


Figure 5.1.3. Concentrations de Cd chez *Chaoborus punctipennis* (quatrième stade larvaire, µg/g poids sec) prélevés de plusieurs lacs comparées à: **(a) $[Cd^{2+}]^*$** (concentration de Cd^{2+} estimée avec le logiciel HYDRAQL; ou **(b) $[Cd^{2+}]$** (concentration de Cd^{2+} estimée avec le logiciel WHAM).

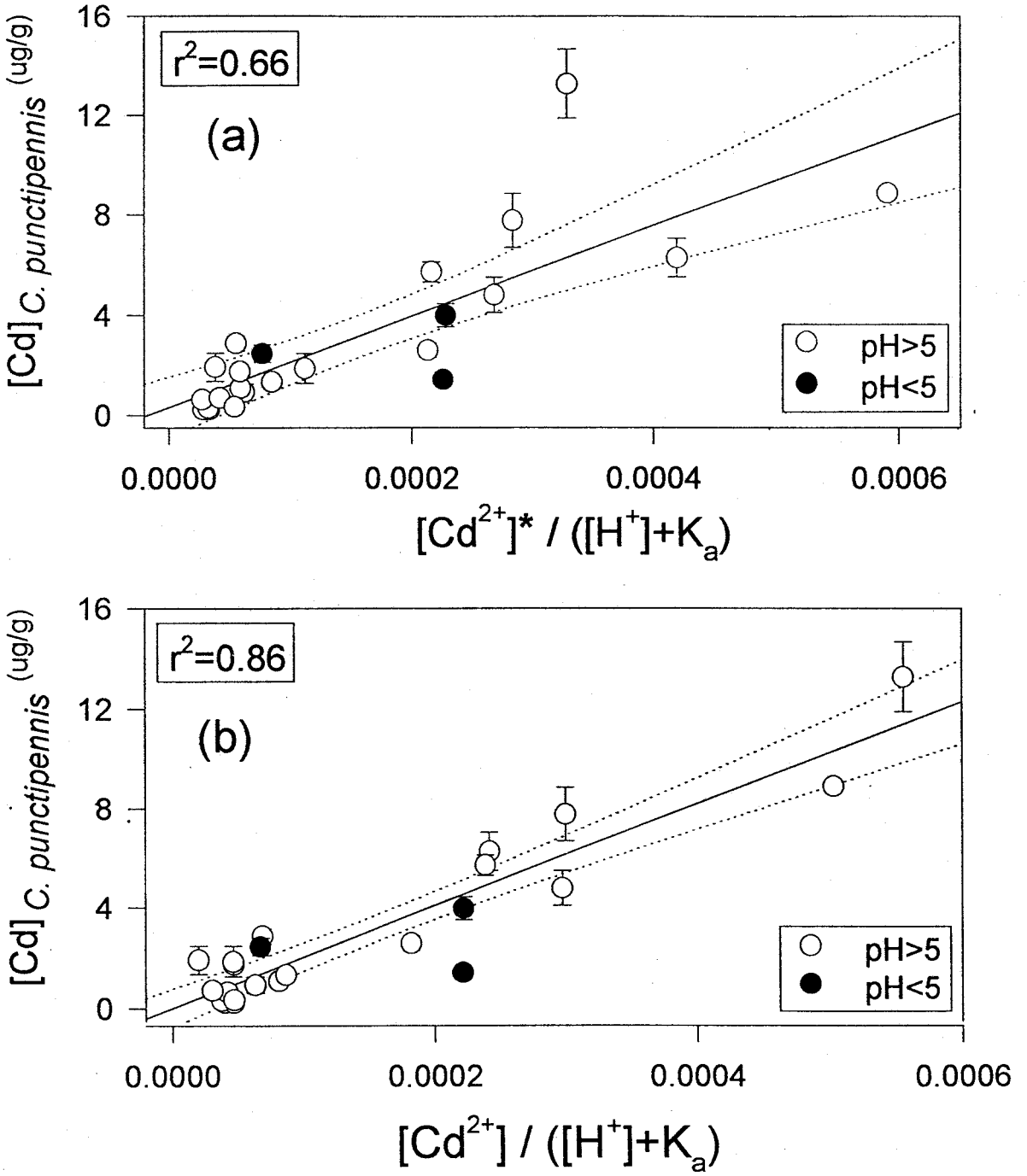


Figure 5.1.4. Prise en compte de la compétition H^+-Cd^{2+} avec l'équation 3.1.6. Concentrations de Cd chez *Chaoborus punctipennis* (quatrième stade larvaire, µg/g poids sec) prélevés de plusieurs lacs comparées à: **(a)** $[Cd^{2+}]^* / [H^+]+K_a$; ou **(b)** $[Cd^{2+}] / [H^+]+K_a$. $[Cd^{2+}]^*$ et $[Cd^{2+}]$ sont les concentrations de $[Cd^{2+}]$ estimées respectivement avec les logiciels HYDRAQL et WHAM. Les traits pointillés représentent l'intervalle de confiance de 95%.

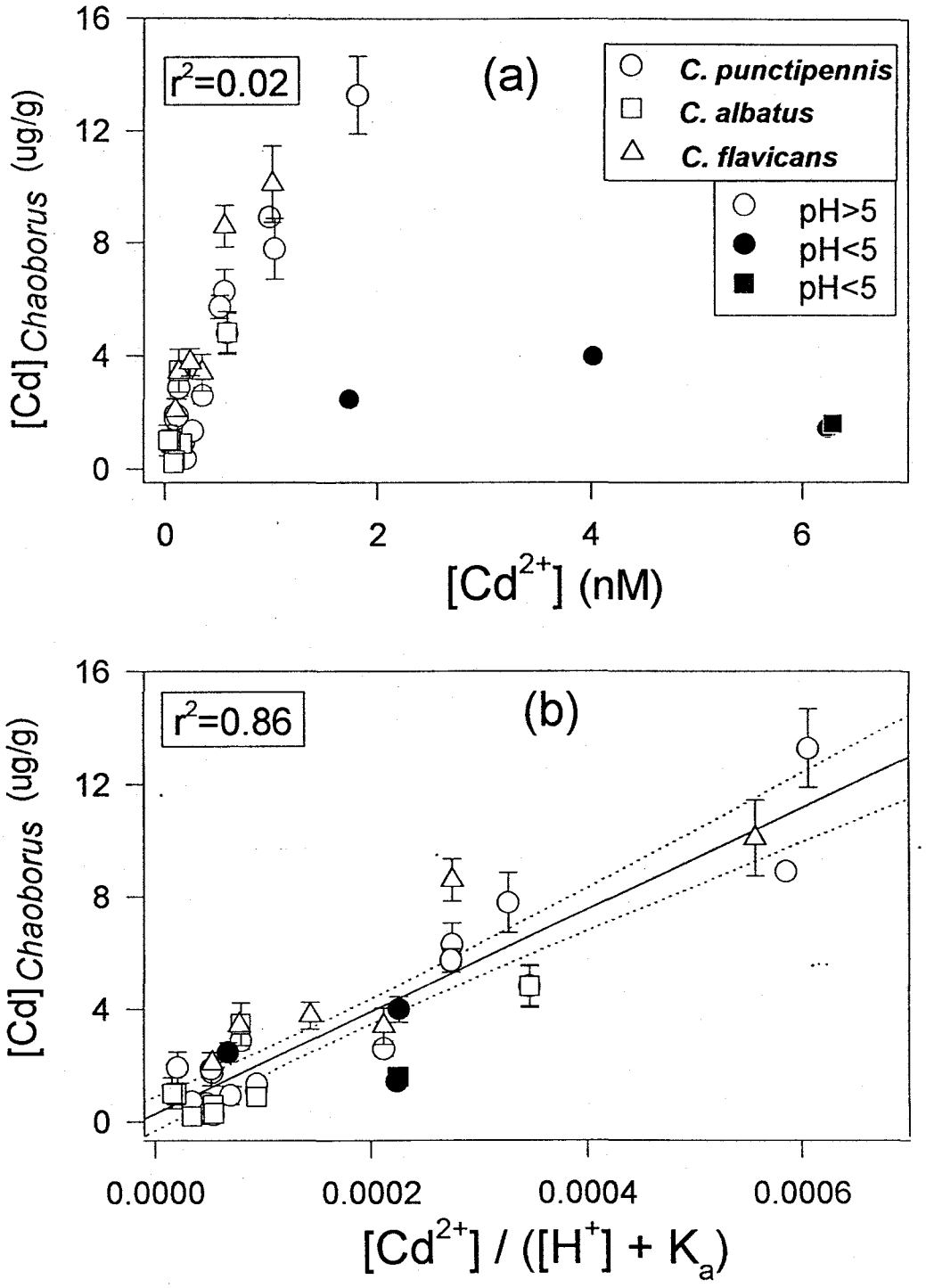


Figure 5.1.5. Concentrations de Cd chez les larves de **trois espèces de *Chaoborus*** (toutes espèces regroupées) en fonction de l'ion libre de: (a) $[Cd^{2+}]$; ou (b) $[Cd^{2+}] / ([H^+]+K_a)$. $[Cd^{2+}]$ est la concentration de Cd^{2+} estimée avec le logiciel WHAM. Les traits pointillés représentent l'intervalle de confiance de 95%.

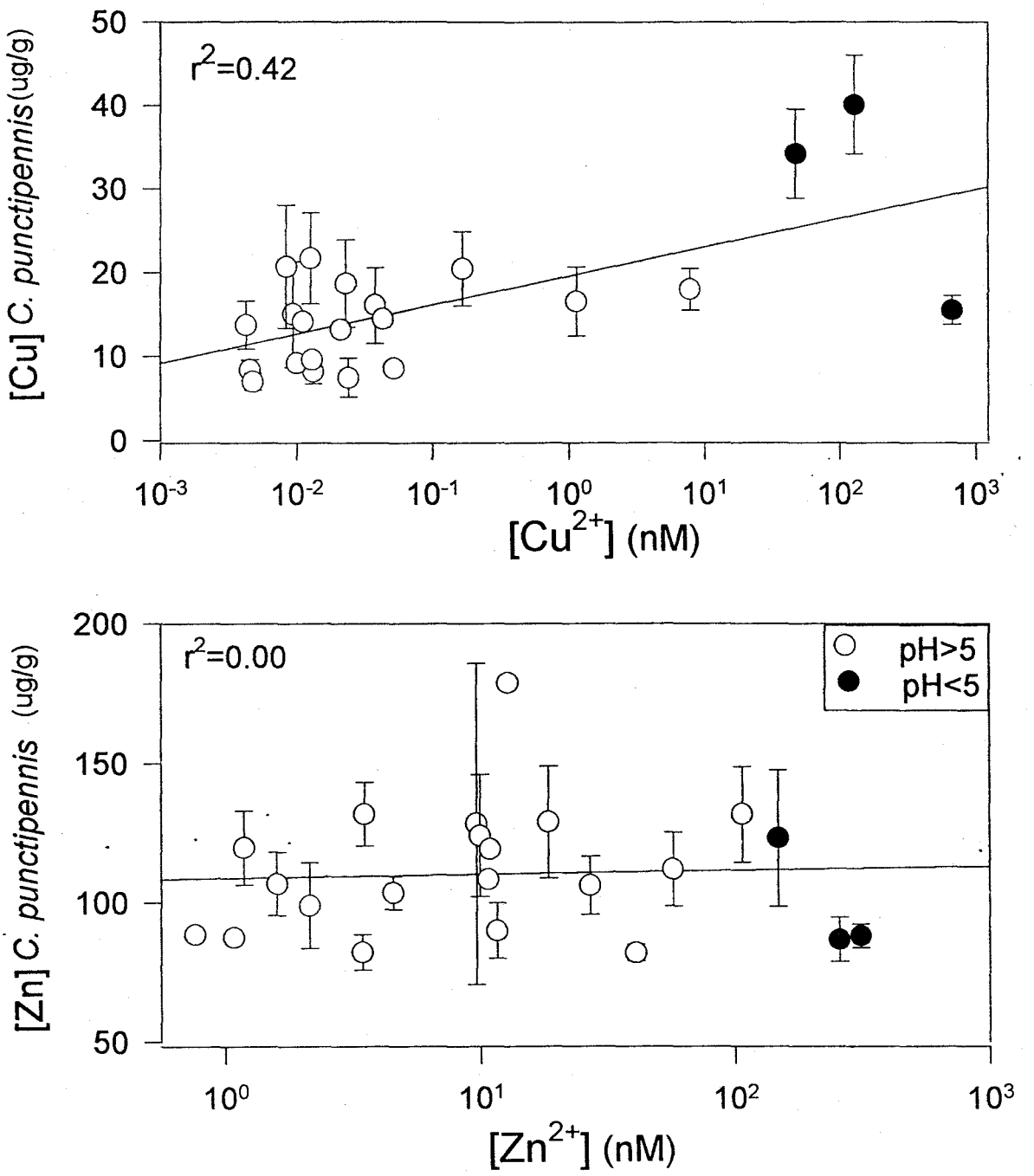


Figure 5.1.6. Concentrations de **cuivre** et de **zinc** chez *Chaoborus punctipennis* (quatrième stade larvaire, µg/g poids sec) prélevés d'une série de lacs au printemps comparées à la concentration des ions libres du Cu et de Zn dans ces lacs.

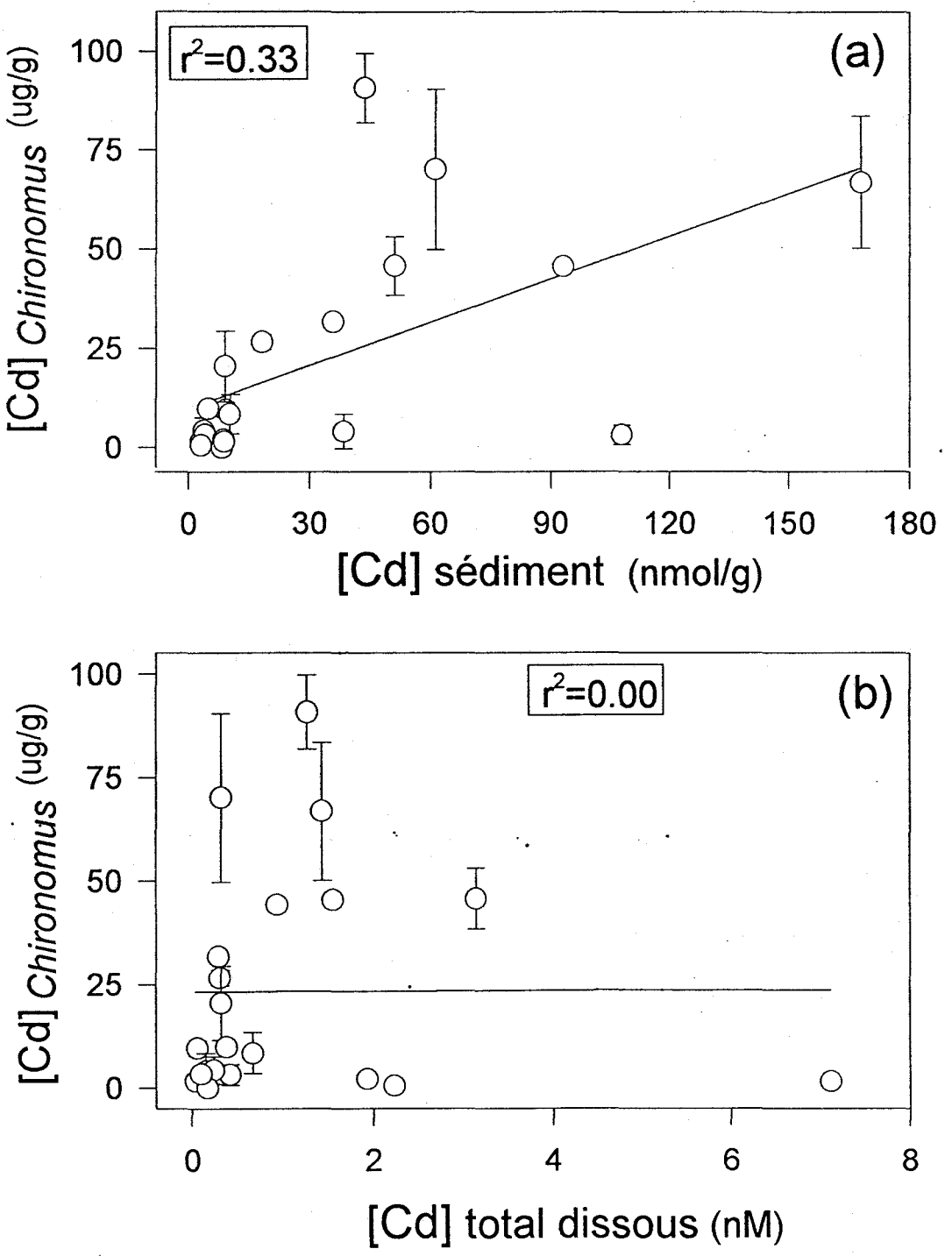


Figure 5.1.7. Concentrations de Cd chez l'insecte *Chironomus* spp. (quatrième stade larvaire, µg/g poids sec) prélevés de plusieurs lacs au printemps comparées aux **concentrations totales sédimentaires (a) ou dissoutes (b) de Cd** dans ces lacs.

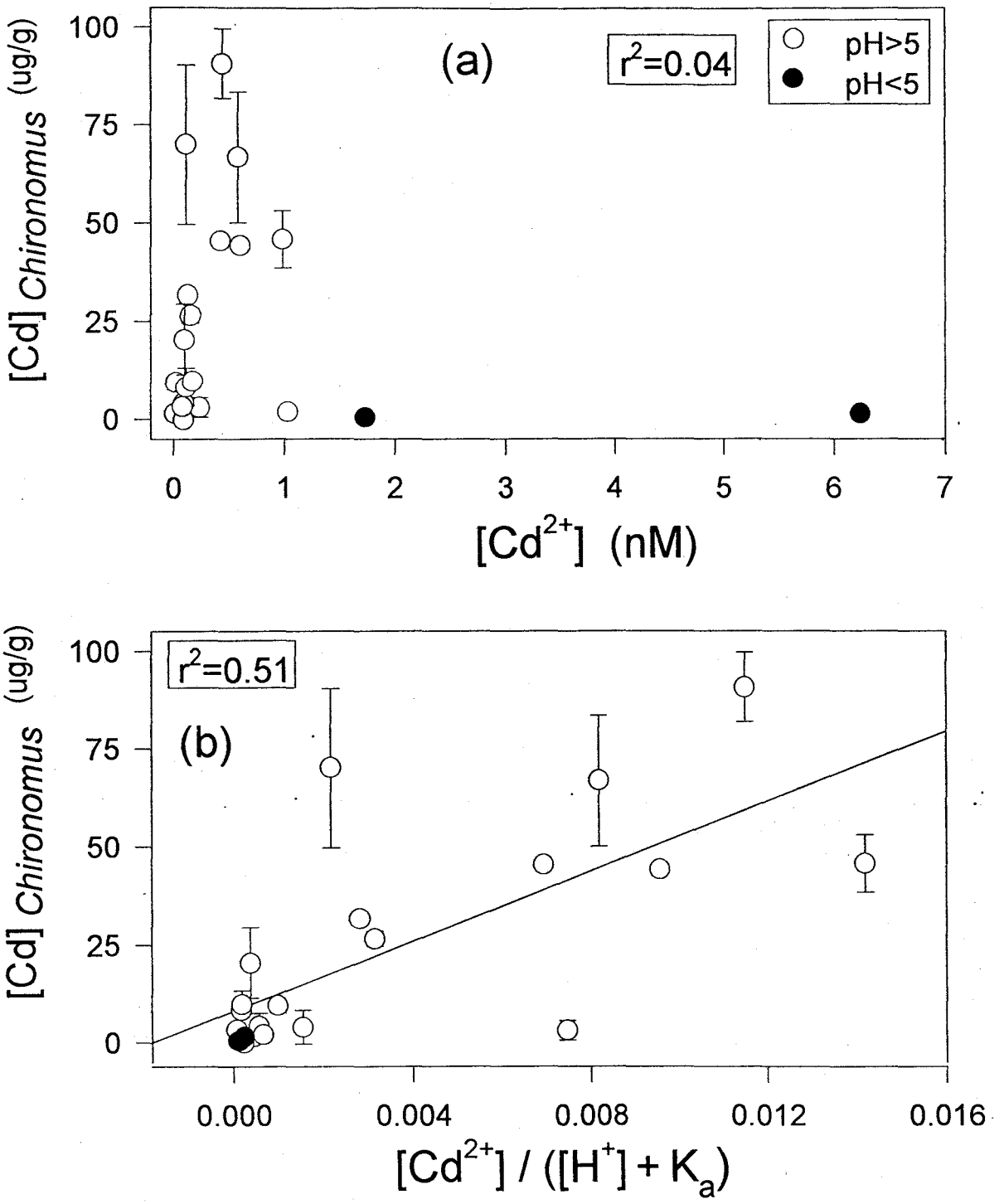


Figure 5.1.8. Concentrations de Cd chez *Chironomus* spp. (quatrième stade larvaire, µg/g poids sec) prélevés d'une série de lacs au printemps comparées à la concentration de: **(a) le Cd libre** ($[Cd^{2+}]$); ou **(b) le Cd libre normalisé pour la compétition entre Cd^{2+} et H^+** ($[Cd^{2+}] / ([H^+]+K_a)$).

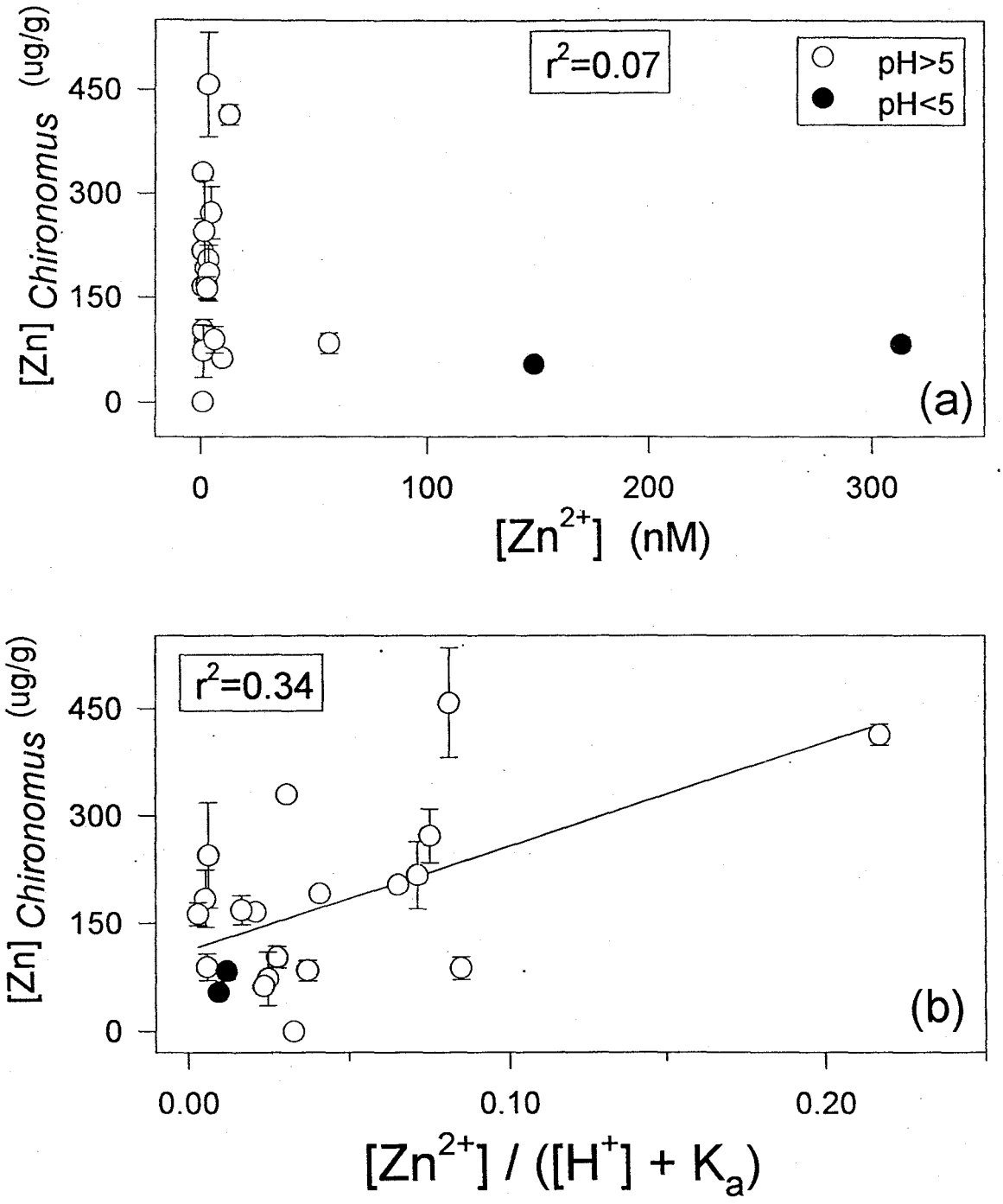


Figure 5.1.9. Concentrations de Zn chez *Chironomus* spp. (quatrième stade larvaire, µg/g poids sec) prélevés d'une série de lacs au printemps comparées à la concentration de: **(a) le Zn libre** ($[Zn^{2+}]$); ou **(b) le Zn dissous normalisé pour la compétition entre Zn^{2+} et H^+** ($[Zn^{2+}] / ([H^+]+K_a)$).

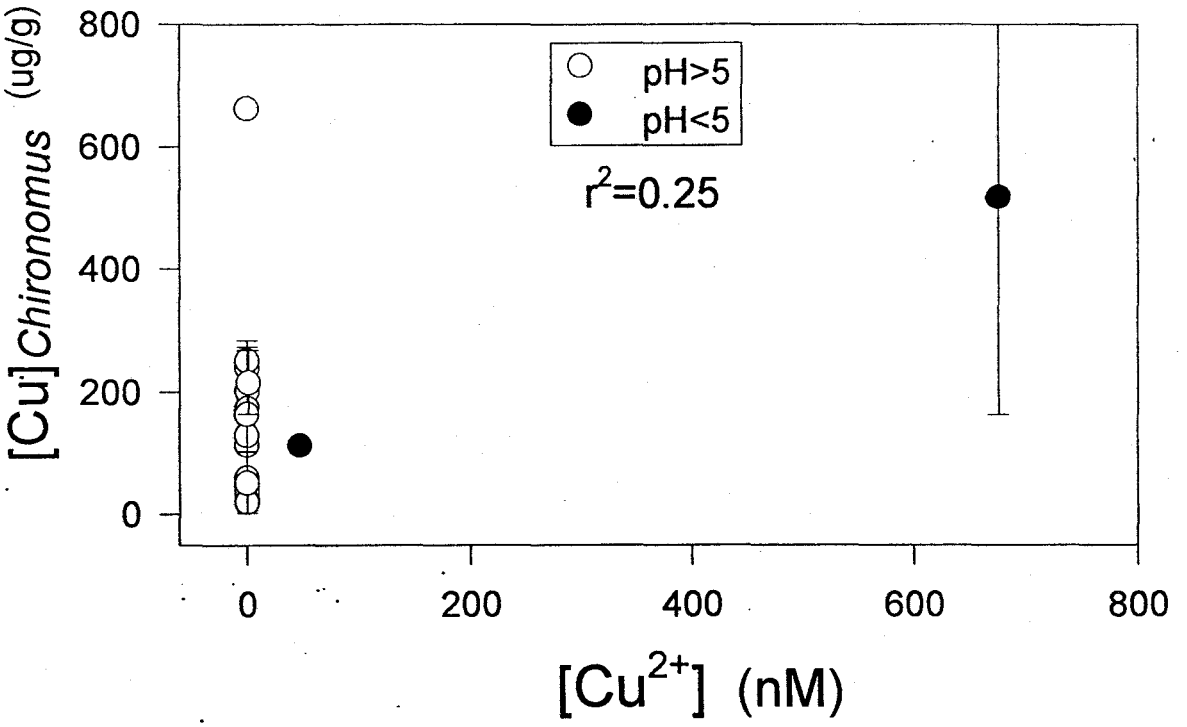


Figure 5.1.10. Concentrations de Cu chez *Chironomus* spp. (quatrième stade larvaire, µg/g poids sec) prélevés d'une série de lacs au printemps comparées à la concentration de **Cu libre** ($[Cu^{2+}]$).

5.2. Résultats: prédiction de $[M^{z+}]$ à partir de variables sédimentaires

Les mesures effectuées dans les sédiments et le matériel diagénétique (voir la section 4.2) couplées à celles effectuées dans l'eau surnageante (voir la section 4.1) permettent, en principe, de relier de façon semi-empirique $[M^{z+}]$ au pH et à des paramètres sédimentaires. L'approche que nous avons adoptée fait intervenir l'adsorption du métal sur trois substrats sédimentaires importants: les oxyhydroxydes de Fe, de Mn et la matière organique. Pour décrire l'adsorption, on se sert de la théorie de complexation de surface, ce qui a été décrit en détail dans quelques-unes de nos publications récentes (voir par exemple Tessier *et al.*, 1993, 1996). Par souci de simplicité, nous donnons ici l'essentiel des équations impliquées. Pour de plus amples détails, le lecteur se référera à ces publications. On discute ci-dessous les résultats obtenus dans le cadre de la subvention.

Résumé des équations. On a montré (Tessier *et al.* 1993, 1996) qu'on peut décrire l'adsorption d'un métal bivalent sur les oxyhydroxydes de Fe par la réaction globale:

$$\equiv \mathrm{Fe-OH_x} + \mathrm{M^{2+}} \xleftrightarrow{{}^*K_{Fe-M}} \equiv \mathrm{Fe-OM} + x\,\mathrm{H^+} \qquad (5.2.1)$$

à laquelle on peut associer, en posant certaines hypothèses, une constante globale conditionnelle, K_{Fe-M} :

$$K_{Fe-M} = \frac{N_{Fe}{}^*K_{Fe-M}}{[H^+]^x} = \frac{\{Fe-M\}}{\{Fe-ox\}[M^{2+}]} \qquad (5.2.2)$$

où K_{Fe-M} et ${}^*K_{Fe-M}$ sont des constantes d'adsorption globales conditionnelles pour l'adsorption de M sur les oxyhydroxydes de Fe; "≡" réfère à des sites d'adsorption; N_{Fe} est la concentration de sites d'adsorption sur les oxyhydroxydes de Fe; {Fe-ox} et {Fe-M} sont respectivement les concentrations d'oxyhydroxydes de Fe sédimentaires (ou diagénétiques) et de métal associé à ces oxyhydroxydes; *x* est le nombre moyen apparent d'ions H^+ libéré par les oxyhydroxydes de Fe par ion M adsorbé. L'équation 5.2.2 indique que, dans un lac donné, on peut obtenir une valeur de K_{Fe-M} en mesurant les valeurs des 3 variables du côté droit de cette équation. Si on répète ces mesures

dans plusieurs lacs de pH différents, on génère ainsi des séries de valeurs de K_{Fe-M} et de pH. On peut linéariser l'équation (5.2.2) de la façon suivante:

$$\log K_{Fe-M} = \log(N_{Fe}{}^{*}K_{Fe-M}) + x\,pH \qquad (5.2.3)$$

Par un raisonnement similaire, on peut obtenir, pour l'adsorption de M sur les oxyhydroxydes de Mn et sur la matière organique, des équations similaires à 5.2.2, c'est-à-dire:

$$K_{Mn-M} = \frac{N_{Mn}{}^{*}K_{Mn-M}}{[H^{+}]^{y}} = \frac{\{Mn-M\}}{\{Mn-ox\}[M^{2+}]} \qquad (5.2.4)$$

$$K_{OM-M} = \frac{N_{OM}{}^{*}K_{OM-M}}{[H^{+}]^{z}} = \frac{\{OM-M\}}{\{OM\}[M^{2+}]} \qquad (5.2.5)$$

où, par analogie avec l'équation 5.2.2, N_{Mn} et N_{OM} sont les concentrations de sites d'adsorption sur les oxyhydroxydes de Mn et la matière organique; K_{Mn-M} et ${}^{*}K_{Mn-M}$ sont des constantes d'adsorption globales conditionnelles pour l'adsorption de M sur les oxyhydroxydes de Mn; K_{OM-M} et ${}^{*}K_{OM-M}$ sont des constantes d'adsorption globales conditionnelles pour l'adsorption de M sur la matière organique; {Mn-ox} et {Mn-M} sont respectivement les concentrations d'oxyhydroxydes de Mn sédimentaires (ou diagénétiques) et de métal associé à ces oxyhydroxydes; {OM} et {OM-M} sont respectivement les concentrations de matière organique sédimentaires et de métal associé à cette matière organique; *y* est le nombre moyen apparent d'ions H^{+} libéré par les oxyhydroxydes de Mn par ion M adsorbé; *z* est le nombre moyen apparent d'ions H^{+} libéré par la matière organique par ion M adsorbé. La linéarisation des équations 5.2.4 et 5.2.5 mène à:

$$\log K_{Mn-M} = \log(N_{Mn}{}^{*}K_{Mn-M}) + y\,pH \qquad (5.2.6)$$

$$\log K_{OM-M} = \log(N_{OM}{}^{*}K_{OM-M}) + z\,pH \qquad (5.2.7)$$

On note que les équations 5.2.3, 5.2.6 et 5.2.7 représentent des droites de pentes respectives *x*, *y* ou *z* et d'ordonnées à l'origine respectives de log (N_{Fe} $^{*}K_{Fe\text{-}M}$), log (N_{Mn} $^{*}K_{Mn\text{-}M}$) et log (N_{OM} $^{*}K_{OM\text{-}M}$).

Obtention des constantes d'adsorption conditionnelles. On a estimé les constantes $K_{Fe\text{-}M}$, $K_{Mn\text{-}M}$ et $K_{OM\text{-}M}$ à chaque site à partir de la mesure des trois variables apparaissant dans la partie droite des équations 5.2.2, 5.2.4 et 5.2.5. Les valeurs de ces variables ont été obtenues de la façon suivante:

- $[M^{2+}]$ (mole/L) a été calculée avec le logiciel WHAM tel que décrit dans la section 5.1.

- le rapport {Fe-M}/{Fe-ox} a été obtenu en dissolvant les oxydes de fer diagénétiques déposés sur les collecteurs de Teflon et en mesurant les concentrations de M et Fe dans les extraits.

- le rapport {Mn-M}/{Mn-ox} a été obtenu en dissolvant les oxydes de manganèse diagénétiques déposés sur les collecteurs de Teflon et en mesurant les concentrations de M et Mn dans les extraits.

- {OM} (mole/g) est la concentration de carbone organique sédimentaire.

- {OM-M} (mole/g sédiment) a été estimée de façon indirecte. Le modèle d'adsorption à trois adsorbants suppose que la concentration de métal sédimentaire non détritique (voir la section 4.2), $\{M\}_{ND}$, est:

$$\{M\}_{ND} = \{Fe-M\} + \{Mn-M\} + \{OM-M\} \qquad (5.2.8)$$

$\{M\}_{ND}$ a été mesuré comme décrit à la section 4.2. {OM-M} était obtenue en soustrayant de $\{M\}_{ND}$ les valeurs de {Fe-M} et {Mn-M}. Ces deux dernières valeurs ont été estimées en multipliant les rapports {Fe-M}/{Fe-ox} et {Mn-M}/{Mn-ox} obtenus pour le matériel diagénétique (voir ci-dessus) par les concentrations sédimentaires d'oxyhydroxydes de Fe et Mn (i.e., {Fe-ox} et {Mn-ox} sédimentaires). On fait alors l'hypothèse que les

rapports {Fe-M}/{Fe-ox} et {Mn-M}/{Mn-ox} obtenus pour le matériel diagénétique s'appliquent pour l'ensemble des oxyhydroxydes de Fe et Mn sédimentaires.

La détermination des variables mentionnées ci-dessus est presque terminée; il ne reste à toute fin pratique que quelques mesures des concentrations de Cu et Pb dans les oxyhydroxydes de Fe et Mn diagénétiques. L'analyse des résultats, en terme de constantes d'adsorption pour différents lacs, quoique non complète, est plus avancée pour Cd. C'est pourquoi nous la présentons ici. La figure 5.2.1 montre que log $K_{Fe\text{-}Cd}$ et log $K_{OM\text{-}Cd}$ dépendent du pH, tel qu'attendu d'après les équations 5.2.3 et 5.2.7. La relation entre log $K_{Mn\text{-}Cd}$ et le pH est moins évidente. Ceci est dû à la faible gamme de pH des lacs où on a observé des oxyhydroxydes de Mn diagénétiques. Ces oxyhydroxydes ne se forment pas à des pH inférieurs à 5.5. Les équations de régression linéaire des données présentées à la figure 5.2.1 sont:

$$\log K_{Fe-Cd} = 0.79(\pm 0.07)pH - 0.67(\pm 0.39) \qquad (r^2=0.77;\ n=39) \qquad (5.2.9)$$

$$\log K_{Mn-Cd} = 0.37(\pm 0.19)pH + 3.55(\pm 0.51) \qquad (r^2=0.11;\ n=32) \qquad (5.2.10)$$

$$\log K_{OM-Cd} = 0.91(\pm 0.08)pH - 1.78(\pm 0.47) \qquad (r^2=0.77;\ n=38) \qquad (5.2.11)$$

Estimation de $[M^{2+}]$ à partir des variables sédimentaires. Les équations 5.2.2, 5.2.4, 5.2.5 et 5.2.8 nous permettent de relier de façon semi-empirique $[M^{2+}]$ aux variables sédimentaires de la façon suivante:

$$[M^{2+}] = \frac{\{Fe-M\}[H^+]^x}{N_{Fe} * K_{Fe-M}\{Fe-ox\}} \qquad (5.2.12)$$

$$[M^{2+}] = \frac{\{Mn-M\}[H^+]^y}{N_{MN} * K_{Mn-M}\{Mn-ox\}} \qquad (5.2.13)$$

$$[M^{2+}] = \frac{\{OM-M\}[H^+]^z}{N_{OM} * K_{OM-M}\{OM\}} \qquad (5.2.14)$$

et

$$[M^{2+}] = \frac{\{M\}_{ND}[H^+]^{x+y+z}}{A+B+C} \qquad (5.2.15)$$

où

$$A = N_{Fe} * K_{Fe-M}\{Fe-ox\}[H^+]^{y+z}$$

$$B = N_{Mn} * K_{Mn-M}\{Mn-ox\}[H^+]^{x+z}$$

$$C = N_{OM} * K_{OM-M}\{OM\}[H^+]^{x+y}$$

Pour Cd, métal pour lequel on a obtenu les valeurs de *x, y* et *z* ainsi que log $N_{Fe}{}^{*}K_{Fe\text{-}M}$, log $N_{Mn}{}^{*}K_{Mn\text{-}M}$ et log $N_{OM}{}^{*}K_{OM\text{-}M}$ (voir les régressions linéaires 5.2.9 à 5.2.11 et la figure 5.2.1), les équations 5.2.12 à 5.2.15 deviennent:

$$[Cd^{2+}] = \frac{\{Fe-Cd\}[H^+]^{0.79}}{10^{-0.67}\{Fe-ox\}} \qquad (5.2.16)$$

$$[Cd^{2+}] = \frac{\{Mn-Cd\}[H^+]^{0.37}}{10^{3.55}\{Mn-ox\}} \qquad (5.2.17)$$

$$[Cd^{2+}] = \frac{\{OM-Cd\}[H^+]^{0.91}}{10^{-1.78}\{OM\}} \qquad (5.2.18)$$

$$[Cd^{2+}] = \frac{\{Cd\}_{ND}[H^+]^{2.07}}{10^{-0.67}\{Fe-ox\}[H^+]^{1.28} + 10^{3.55}\{Mn-ox\}[H^+]^{1.70} + 10^{-1.78}\{OM\}[H^+]^{1.16}} \qquad (5.2.19)$$

Les équations 5.2.16 à 5.2.19 sont les meilleures que nous puissions fournir, étant donné l'état actuel de nos connaissances. L'estimation de $[Cd^{2+}]$ que l'on obtient, par exemple avec l'équation 5.2.19, ne diffère en général que de moins de 2x celle de $[Cd^{2+}]$ obtenue à partir des mesures de Cd dissous. Cependant, la différence peut être jusqu'à 5 fois plus grande pour certains lacs. Ces différences sont de toute évidence reliées à la variabilité observée, à un pH donné, dans les valeurs de log $K_{Fe\text{-}Cd}$, log $K_{Mn\text{-}Cd}$ et log $K_{OM\text{-}Cd}$ (fig. 5.2.2). Des explications pour cette variabilité sont données ci-dessous.

Relation entre l'adsorption mesurée *in situ* et celle prédite. Les constantes conditionnelles $K_{Fe\text{-}M}$, $K_{Mn\text{-}M}$ et $K_{OM\text{-}M}$ déterminées à partir de mesures *in situ* ont un certain pouvoir de prédiction de $[M^{2+}]$ (voir les équations 5.2.12 à 5.2.15). Cependant, ces constantes demeurent largement conditionnelles, i.e., rigoureusement, elles ne sont applicables que pour un pH et des conditions géochimiques environnementales donnés. De meilleures prédictions utilisables pour une grande gamme de milieux aquatiques seraient possibles si on pouvait faire le pont entre les constantes conditionnelles mesurées *in situ* et les constantes intrinsèques déterminées en laboratoire dans des conditions bien contrôlées. Ceci nous permettrait d'utiliser toute la puissance du modèle de complexation de surface en considérant l'ensemble des constantes d'adsorption (incluant celles du proton), les termes électrostatiques et les caractéristiques de surface (concentration de sites, surface spécifique) pour décrire l'adsorption, au lieu de ne considérer qu'une seule réaction globale (e.g., équation 5.2.1) sans termes électrostatiques ni caractéristiques de surface.

Nous avons donc essayé, dans un article récent (Tessier *et al.* 1996), de faire le lien entre les constantes conditionnelles mesurées *in situ* et les constantes déterminées en laboratoire. Ce travail portait sur des constantes conditionnelles mesurées pour l'adsorption de Cd, Cu, Ni, Pb, Zn, Ca et Mg sur les oxyhydroxydes de Fe et Mn dans deux lacs de pH différents: l'un acide (Clearwater; pH 4.8) et l'autre circumneutre (McFarlane; pH 7.4). Les résultats montrent des différences importantes pour les deux lacs. Les points principaux sont résumés ci-dessous. Pour plus de détails, le lecteur est référé à la publication originale.

On a d'abord montré que les constantes conditionnelles mesurées *in situ* ($K_{Fe\text{-}M}$ et $K_{Mn\text{-}M}$) sont corrélées (fig. 5.2.2) aux constantes d'hydrolyse $K_{M\text{-}OH}$ pour la réaction:

$$M^{2+} + (H-OH) \xleftrightarrow{{}^{*}K_{MOH}} MOH + H^{+} \qquad (5.2.20)$$

et aux constantes de complexation intrinsèques ($K_{Fe\text{-}M}^{int}$ et $K_{Mn\text{-}M}^{int}$) obtenues en laboratoire pour l'adsorption de M sur des oxyhydroxydes de Fe et Mn (fig. 5.2.3).

On trouve une pente près de 1 (voir la figure 5.2.3A) pour la régression linéaire entre les valeurs de log $K_{Fe\text{-}M}$ déterminées pour le lac McFarlane et les valeurs de log $K_{Fe\text{-}M}^{int}$ rapportées par Dzombak et Morel (1990) pour l'adsorption des même métaux sur un oxyhydroxyde de fer synthétique (la ferrihydrite). Une pente près de 1 est également observée (fig. 5.2.3B) pour la régression linéaire entre les valeurs de log $K_{Mn\text{-}M}$ déterminées pour le lac McFarlane et les valeurs de log $K_{Mn\text{-}M}^{int}$ rapportées par Smith et Jenne (1991). Les pentes entre log $K_{Fe\text{-}M}$ et log K_{MOH} (fig. 5.2.2A) et entre log $K_{Mn\text{-}M}$ et log K_{MOH} (fig. 5.2.2B) sont également très semblables, pour le lac McFarlane, à celles rapportées dans la littérature pour les régressions linéaires entre les constantes d'adsorption intrinsèques et les constantes d'hydrolyse. Ces observations, couplées avec d'autres indices discutés dans Tessier *et al.* (1996), suggèrent fortement que la réaction des métaux avec les oxyhydroxydes de Fe et Mn se fait directement avec les groupements hydroxyles des oxyhydroxydes pour un lac de pH relativement élevé comme McFarlane. Pour de tels lacs, on parvient à faire le pont entre les constantes intrinsèques mesurées en laboratoire et les constantes conditionnelles mesurées *in situ*. On peut donc espérer prédire raisonnablement bien, dans ces cas, l'adsorption *in situ* à partir de l'ensemble des constantes intrinsèques et des caractéristiques de surface mesurées en laboratoire en prenant en compte les corrections électrostatiques.

Par contre, pour le lac Clearwater, lac de pH plus bas (pH 4.8), les pentes des régressions entre log $K_{Fe\text{-}M}$ et K_{MOH} (fig. 5.2.2A) et entre log $K_{Fe\text{-}M}$ et log $K_{Fe\text{-}M}^{int}$ (fig. 5.2.3A) sont plus faible que 1. Ces observations, couplées à d'autres indices discutés dans Tessier *et al.* (1996), indiquent fortement que, dans ce lac de bas pH, les métaux ne réagissent pas directement avec les groupements OH des oxyhydroxydes de Fe; ils sont plutôt associés à la matière organique qui est elle-même adsorbée sur les oxyhydroxydes de Fe (c'est-à-dire qu'il y a formation de complexes ternaires oxyhydroxydes de Fe - matière organique - M). Pour ce type de lacs, ces observations rendent plus difficile à court terme, la prédiction de l'adsorption *in situ* à partir des constantes intrinsèques déterminées en laboratoire. En effet, on ne sait pas encore bien décrire: i) l'adsorption de la matière organique naturelle sur les particules minérales et ii) la réaction des métaux avec la matière organique naturelle particulaire.

Nous avons calculé, à partir des constantes intrinsèques de laboratoire données pour la ferrihydrite (Dzombak et Morel, 1990), quelles devraient être les valeurs de la constante

conditionnelle $K_{Fe\text{-}Cd}$ sous les conditions géochimiques (pH, concentrations de métaux traces, d'ions majeurs et de carbone organique dissous) des lacs que nous avons étudiés. La figure 5.2.4 compare les valeurs de $K_{Fe\text{-}Cd}$ mesurées *in situ* avec celles prédites à partir des mesures en laboratoire. On y voit en général une bonne concordance entre les valeur mesurées et calculées de $K_{Fe\text{-}Cd}$ pour les lacs de pH 7, c'est-à-dire qu'on observe pour ces lacs un comportement semblable à celui noté pour McFarlane. Par contre, la même figure montre que pour les lacs de pH plus bas que 7, les valeurs de $K_{Fe\text{-}Cd}$ mesurées *in situ* sont plus élevées que celles prédites, c'est-à-dire qu'on observe un comportement semblable à celui noté pour le lac Clearwater.

La variabilité de log $K_{Fe\text{-}Cd}$, log $K_{Mn\text{-}Cd}$ et log $K_{OM\text{-}Cd}$ (figure 5.2.1) observée à un pH donné peut être attribuée:

- à des variations de concentration (et de la nature?) de matière organique dans les lacs, ce qui conduit à des concentrations de matière organique adsorbée différentes et donc à des concentrations variables de métaux adsorbés aux oxyhydroxydes sous forme de complexes ternaires.
- à des niveaux de pollution en métaux variables d'un lac à l'autre. Plus le niveau de pollution est élevé, plus les valeurs des constantes conditionnelles sont faibles à un pH donné.
- à la présence de différents types d'oxyhydroxydes de Fe et Mn d'un lac à l'autre. Il existe plusieurs formes de cristallisation des oxyhydroxydes de Fe et Mn et on ne connaît pas encore très bien quelles formes sont présentes dans les sédiments.
- à la compétition entre les métaux pour les sites d'adsorption. On ne sait pas encore comment bien tenir compte de cette compétition, les expériences d'adsorption en laboratoire ayant été surtout menées en présence d'un seul métal.

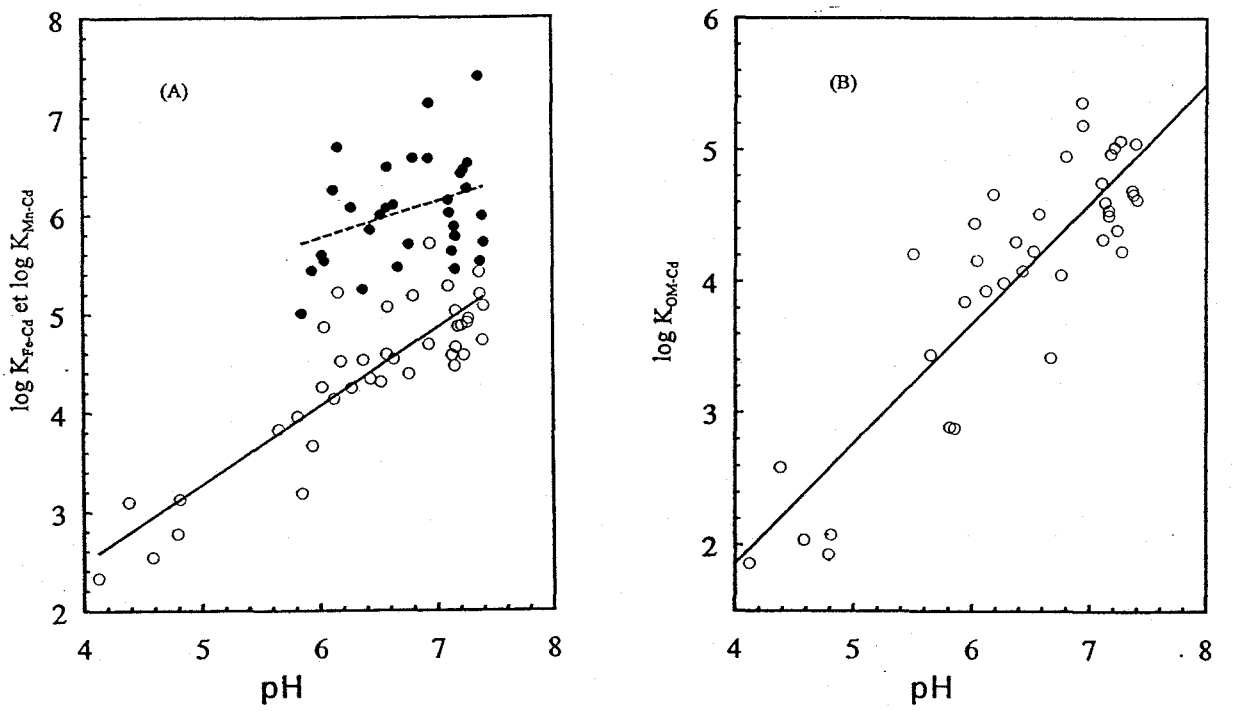


Figure 5.2.1. Constantes d'équilibre conditionnelles mesurées *in situ* pour l'adsorption de Cd sur les oxyhydroxydes de Fe (A; symboles circulaires vides; K_{Fe-M}) et de manganèse (A; symboles circulaires pleins; K_{Mn-M}) diagénétiques ainsi que sur la matière organique (B). Chacun des points représente un lac différent. Les équations de régression sont: log K_{Fe-Cd} = 0.79 pH - 0.67 (r^2=0.77), log K_{Mn-Cd} = 0.37 pH + 3.55 (r^2=0.11) et log K_{OM-Cd} = 0.91 pH - 1.78 (r^2=0.77).

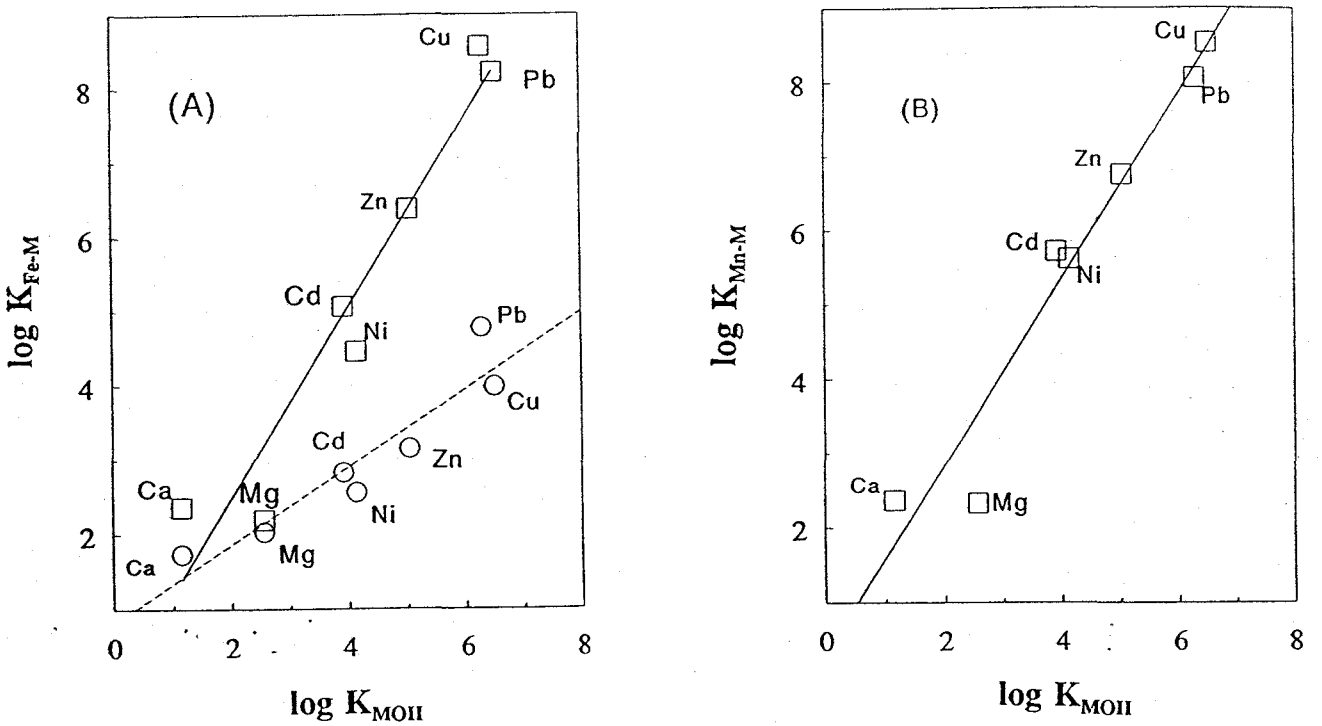


Figure 5.2.2. Corrélations entre les constantes conditionnelles mesurées *in situ* K_{Fe-M} (A) ou K_{Mn-M} (B) et les constantes d'hydrolyse des métaux K_{MOH}. Les symboles circulaires et carrés représentent respectivement les lacs Clearwater (pH 4.8) et McFarlane (pH 7.4). Les équations de régression sont: $\log K_{Fe-M} = 1.28 \log K_{MOH} - 0.08$ (r^2=0.93; McFarlane), $\log K_{Fe-M} = 0.52 \log K_{MOH} + 0.82$ (r^2=0.87; Clearwater), et $\log K_{Mn-M} = 1.25 \log K_{MOH} + 0.34$ (r^2=0.94; McFarlane).

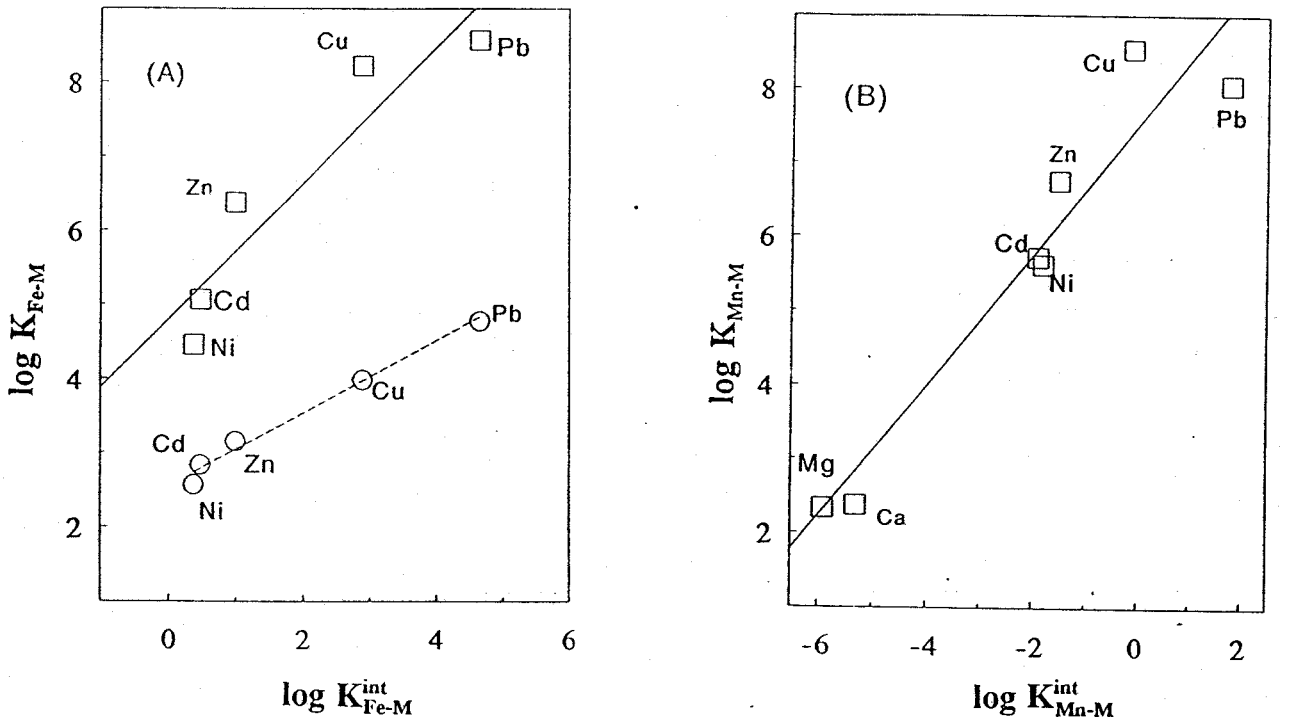


Figure 5.2.3. Corrélations entre les constantes conditionnelles mesurées *in situ* K_{Fe-M} (A) ou K_{Mn-M} (B) et les constantes intrinsèques d'adsorption (K_{Fe-M}^{int} ou K_{Mn-M}^{int}) de ces métaux sur des oxyhydroxydes de Fe et Mn synthétiques. Les symboles circulaires et carrés représentent respectivement les lacs Clearwater (pH 4.8) et McFarlane (pH 7.4). Les équations de régression sont: $\log K_{Fe-M} = 0.94 \log K_{Fe-M}^{int} - 4.26$ (r^2=0.87; McFarlane), $\log K_{Fe-M} = 0.49 \log K_{Fe-M}^{int} + 2.55$ (r^2=0.99; Clearwater), et $\log K_{Mn-M} = 0.88 \log K_{Mn-M}^{int} + 7.5$ (r^2=0.88; McFarlane).

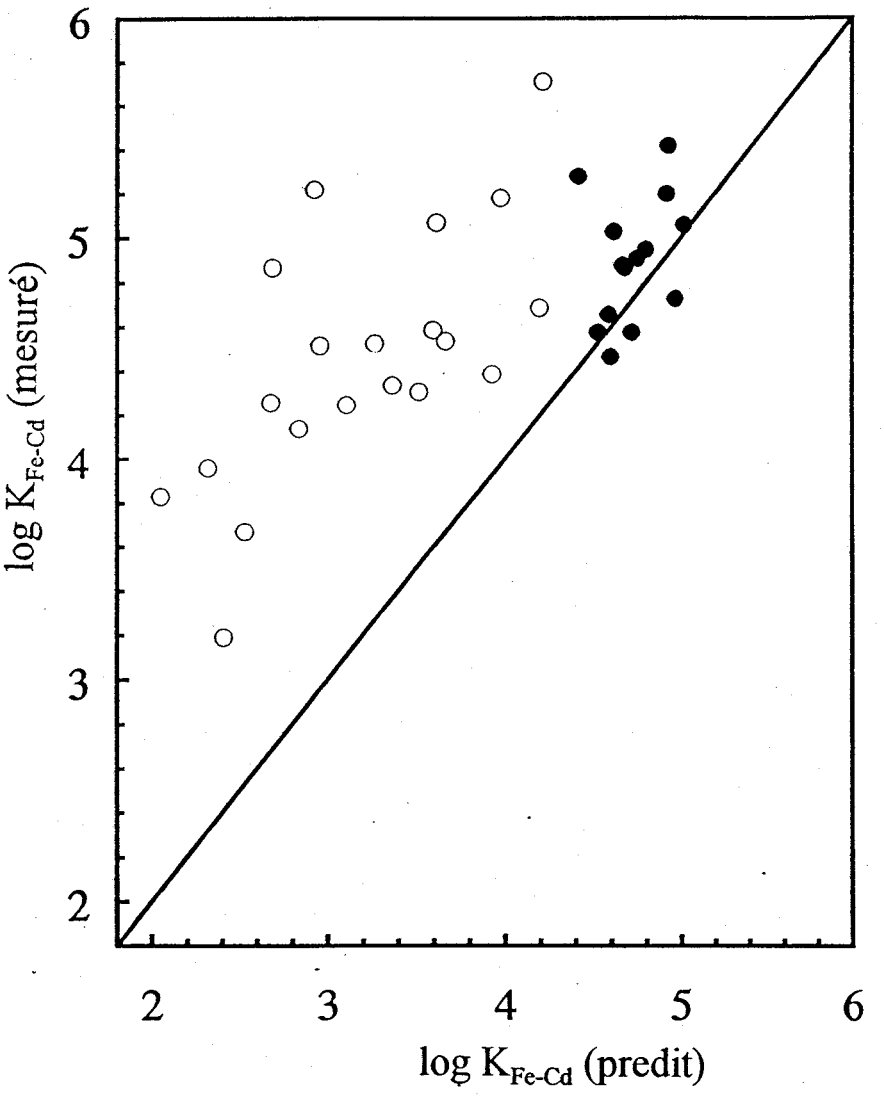


Figure 5.2.4. Comparaison entre les valeurs de la constante conditionnelle $K_{Fe\text{-}Cd}$ obtenues de mesures *in situ* (axe vertical) avec celles prédites à partir des constantes intrinsèques d'adsorption déterminées en laboratoire (Dzombak et Morel 1990) pour les conditions géochimiques des lacs (axe horizontal). Les symboles circulaires pleins sont pour les lacs de pH≥7 et les symboles circulaires vides sont pour les lacs de pH<7.

5.3. Résultats: variabilité en [M(org)] à un site donné

L'étude intensive de la variation des concentrations en métaux traces chez *Chaoborus punctipennis* a été réalisée au lac St-Joseph. La variation temporelle dans les paramètres physico-chimiques de ce lac est illustrée pour les années 1993 (figure 5.3.1) et 1994 (figure 5.3.2). On constate que la colonne d'eau a tendance à être stratifiée en été, contrairement à ce que l'on observe au printemps et à l'automne. Les changements radicaux occasionnels observés dans les valeurs d'oxygène à la fin des profils indiquent probablement que la sonde est entrée dans les sédiments.

Les stades majeurs de *Chaoborus punctipennis*, c'est à dire la larve, la pupe, et l'adulte, sont illustrés dans le figure 5.3.3. On peut résumer de la façon suivante le cycle de vie de *C. punctipennis* du lac St-Joseph ainsi que ses changements en Cd, Cu et Zn. Les oeufs éclosent en larves de premier stade durant les mois de juillet-août. Ces jeunes larves, à peine plus grosses que des crustacés planctoniques, se nourrissent de rotifères et d'algues flagellées comme *Peridinium* (Hare & Carter 1987, Moore 1988). Le **poids** de ces larves augmente à chaque stade et atteint un maximum à la fin du 4e, i.e., lorsqu'elles sont prépupes et alors prêtes à se changer en pupe (fig. 5.3.4). Par la suite, nous observons une perte de poids entre la prépupe, la pupe et l'adulte (fig. 5.3.4). Le poids du mâle de l'espèce est plus faible que celui de la femelle étant donné le poids supplémentaire de la masse d'oeufs portés par cette dernière. La taille de la tête d'un stade larvaire donné est fixe, mais son poids augmente avec le temps. Cette variation est surtout marquée chez les individus du 4e stade larvaire puisque leur poids augmente de 0.15 mg à l'âge de ≈2 mois pour atteindre un maximum de près de 0.6 mg juste avant l'émergence à l'âge de ≈12 mois (fig. 5.3.4).

Le **contenu** en Cd, en Cu et en Zn (ng/individu) augmente avec le poids de l'individu (fig. 5.3.5). Tout comme pour le poids, la quantité maximale de métal se retrouve chez les prépupes. Les femelles, pour leur part, en contiennent plus que les mâles (fig. 5.3.5). Si une comparaison inter-lacs est effectuée sur la base du contenu en métal des individus, il est évident que les animaux ayant le même poids devraient être utilisés.

Une manière simple de normaliser le contenu en métal d'un individu pour contrer sa dépendance sur le poids est d'exprimer M(org) en terme de **concentration**. Dans le cas de *C. punctipennis*, un tel ajustement n'élimine pas complètement cette dépendance du métal bioaccumulé puisque les concentrations en Cd, en Cu et en Zn tendent à diminuer du 1e au 4e stade larvaire (fig. 5.3.6). Même à l'intérieur d'un stade larvaire donné, les individus de petite taille ont des concentrations en métal plus fortes que ceux de grandes tailles. Ces résultats indiquent que la prise de poids chez les larves se fait plus rapidement que l'accumulation nette du métal, ce qui donne lieu à une dilution graduelle du métal bioaccumulé. Une relation inverse entre la taille et la concentration en métal a aussi été rapportée pour plusieurs autres espèces aquatiques (Boyden 1977). À partir de ces résultats, nous pouvons conclure que la comparaison de [M(org)] entre les populations de différents lacs serait plus juste si on utilisait des animaux de même stade larvaire et si possible de même poids. La standardisation de la taille des individus prendra de moins en moins d'importance à mesure que la gamme intersite en [M(org)] augmentera.

La dynamique entre les changements temporels du poids, du stade de vie, et du contenu en métal peut créer des **changements saisonniers** pour les métaux chez *C. punctipennis*. Cependant, pour les larves de **1e ou de 2e stade**, nous ne pouvons pas parler de changements saisonniers de [M(org)] étant donné la courte période durant laquelle ces jeunes larves sont présentes dans le milieu, i.e., l'été seulement (figs 5.3.7, 10 &13.). Chez les larves de **3e et de 4e stades**, les "patterns" de variations temporelles en **[Cu]** et en **[Zn]** ne sont pas constants entre les années (figs 5.3.8, 9, 11 & 12). Ceci peut être dû, en partie, au fait que les variations temporelles dans les concentrations de ces métaux essentiels dans les insectes sont en général de faibles amplitudes et que leurs concentrations sont fonction de phénomènes internes qui ne sont pas reliés directement aux saisons.

Pour le **Cd**, un métal non-essentiel à la vie, on constate un "pattern" de variations saisonnières qui semble se reproduire à chaque année. La [Cd] chez les larves de 3e et de 4e stades atteint un maximum à la fin de l'été, peu après l'émergence des adultes (figs 5.3.14 & 15). C'est également durant cette période que les individus de ces stades larvaires ont leurs plus faible poids. L'explication de ces tendances peut être en partie liée aux changements dans les concentrations de Cd dans le milieu où on trouve ces

larves, c'est-à-dire dans l'eau ainsi que dans leur nourriture, le zooplancton. Pour ces sources potentielles de Cd, on observe un pic dans la [Cd] au mois de juillet juste avant celui mesuré chez les larves (figs 5.3.14 & 15). La source de ce pic de Cd n'est présentement pas connue, mais il coïncide avec l'utilisation intensive du lac par les êtres humains. Il reste à déterminer si des sources anthropogéniques locales de Cd peuvent expliquer cette augmentation. Ces changements saisonniers peuvent apporter du "bruit" dans la comparaison de larves provenant de plusieurs sites récoltés à différents temps de l'année. On doit donc éviter de récolter des larves pendant l'été (après le 15 juillet) puisque c'est pendant cette période que les concentrations en métal chez *Chaoborus* varient le plus. Sinon, on doit s'assurer d'obtenir une quantité suffisante d'individus de même taille pour les analyses en métaux.

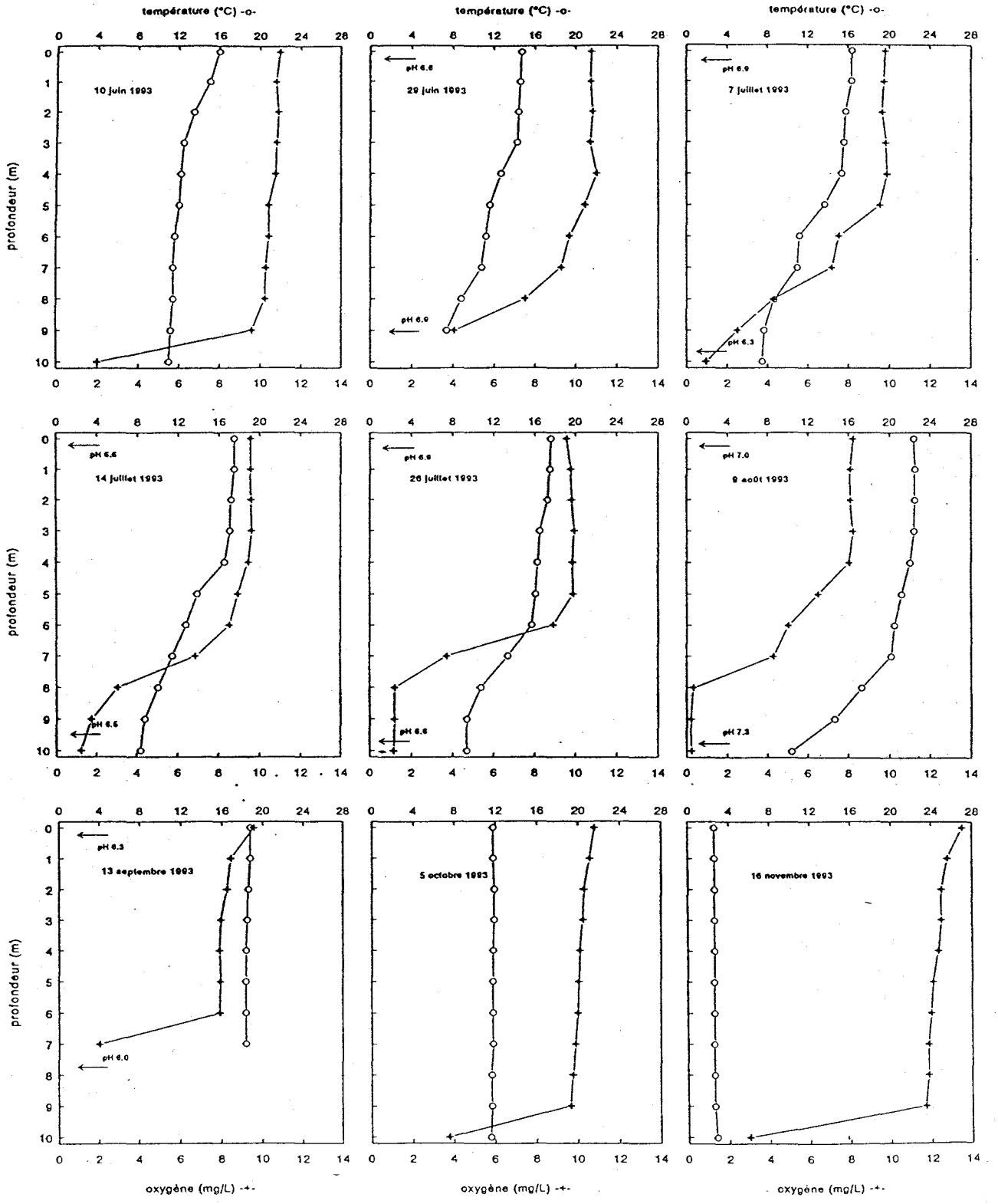


Figure 5.3.1. Profils verticaux (**1993**) d'oxygène (axe horizontal inférieur, -+-), de température (axe horizontal supérieur, -o-), et du pH (← indique la profondeur à laquelle le pH a été mesuré) effectués au lac St-Joseph.

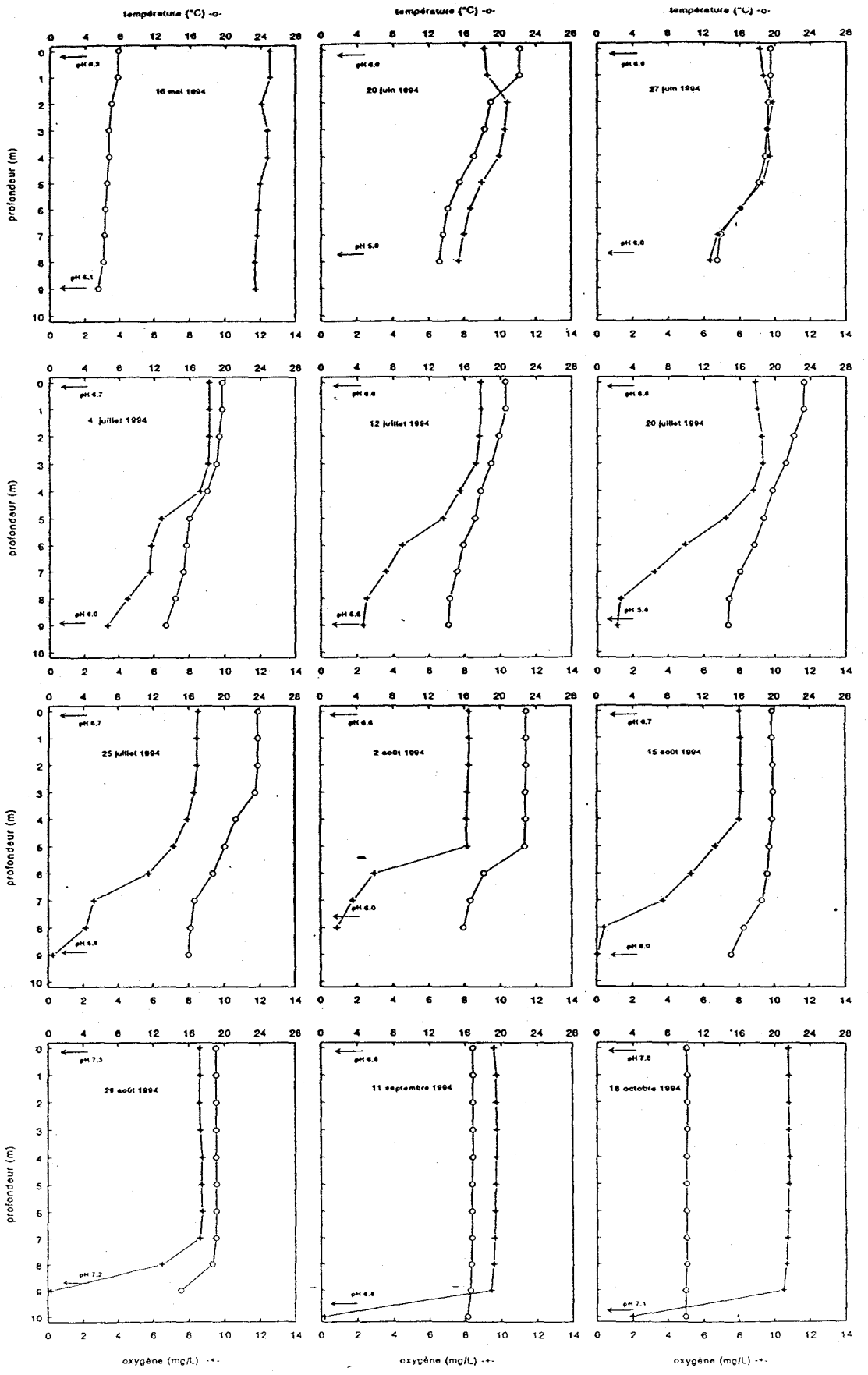


Figure 5.3.2. Profils verticaux (**1994**) d'oxygène (axe horizontal inférieur, -+-), de température (axe horizontal supérieur, -o-), et du pH (← indique la profondeur à laquelle le pH a été mesuré) effectués au lac St-Joseph.

Chaoborus

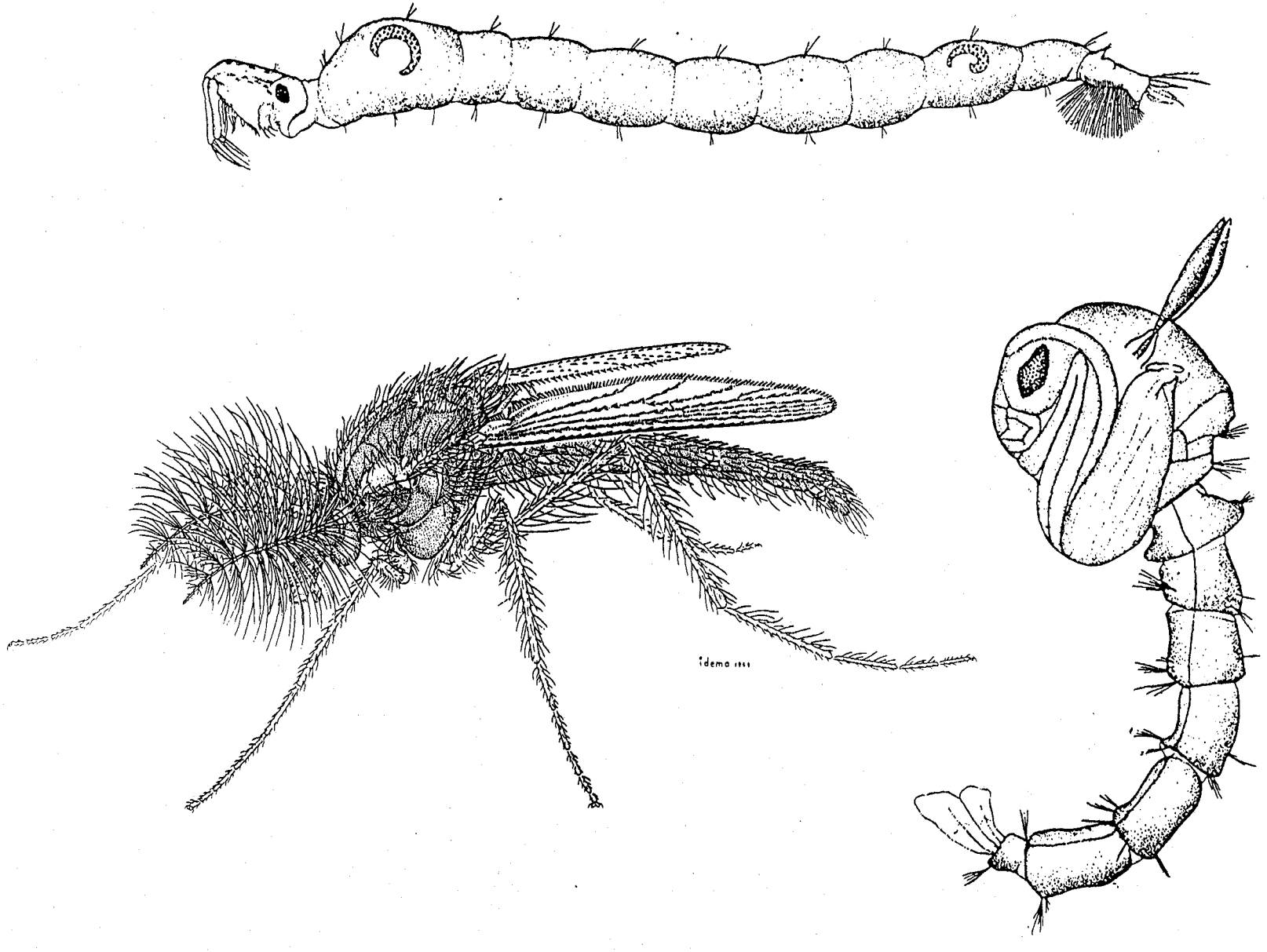


Figure 5.3.3. La larve, la pupe, et l'adulte (mâle) de *Chaoborus punctipennis*.

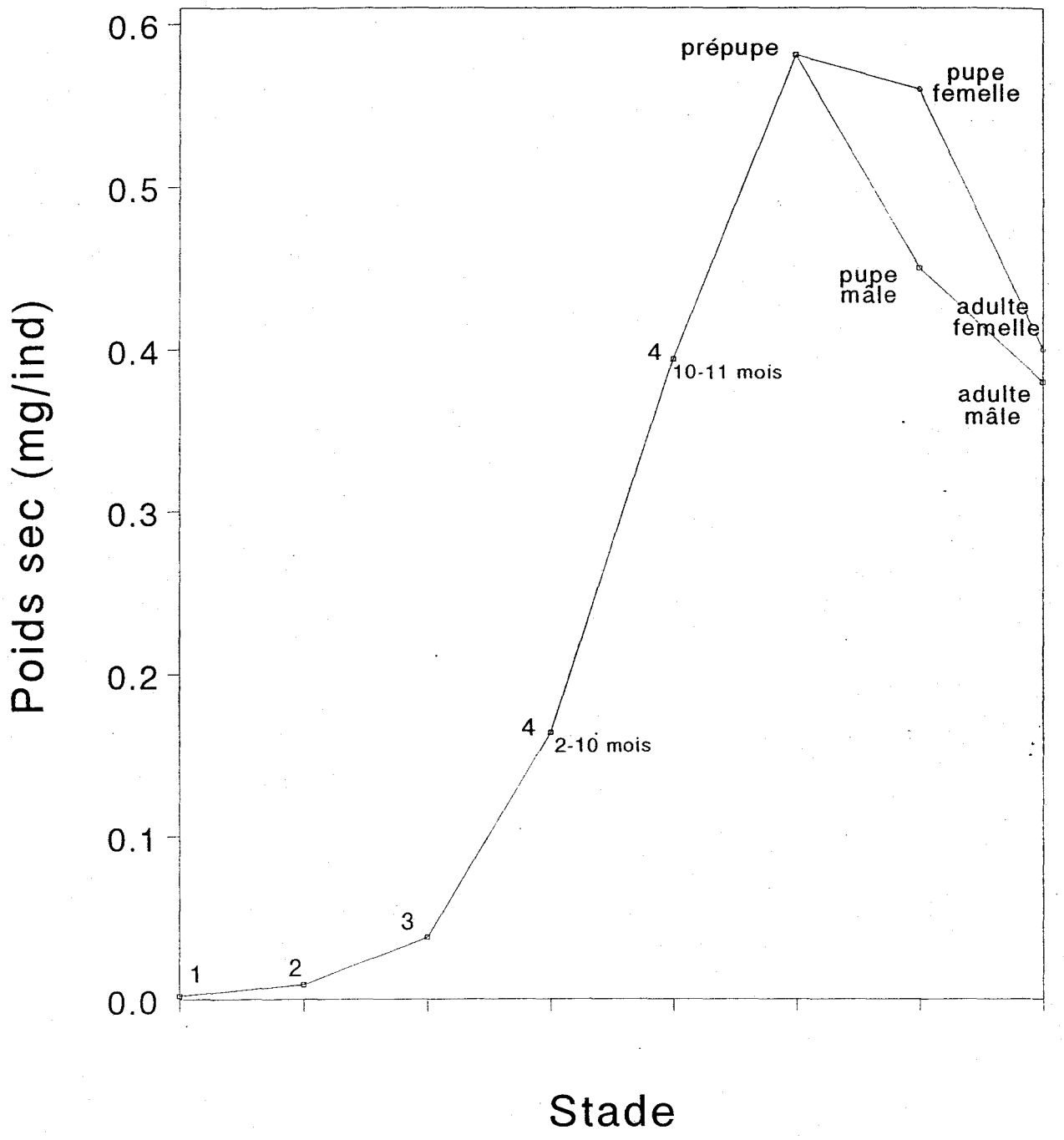


Figure 5.3.4. Relation entre les stades de vie de *C. punctipennis* du lac St-Joseph et leur poids.

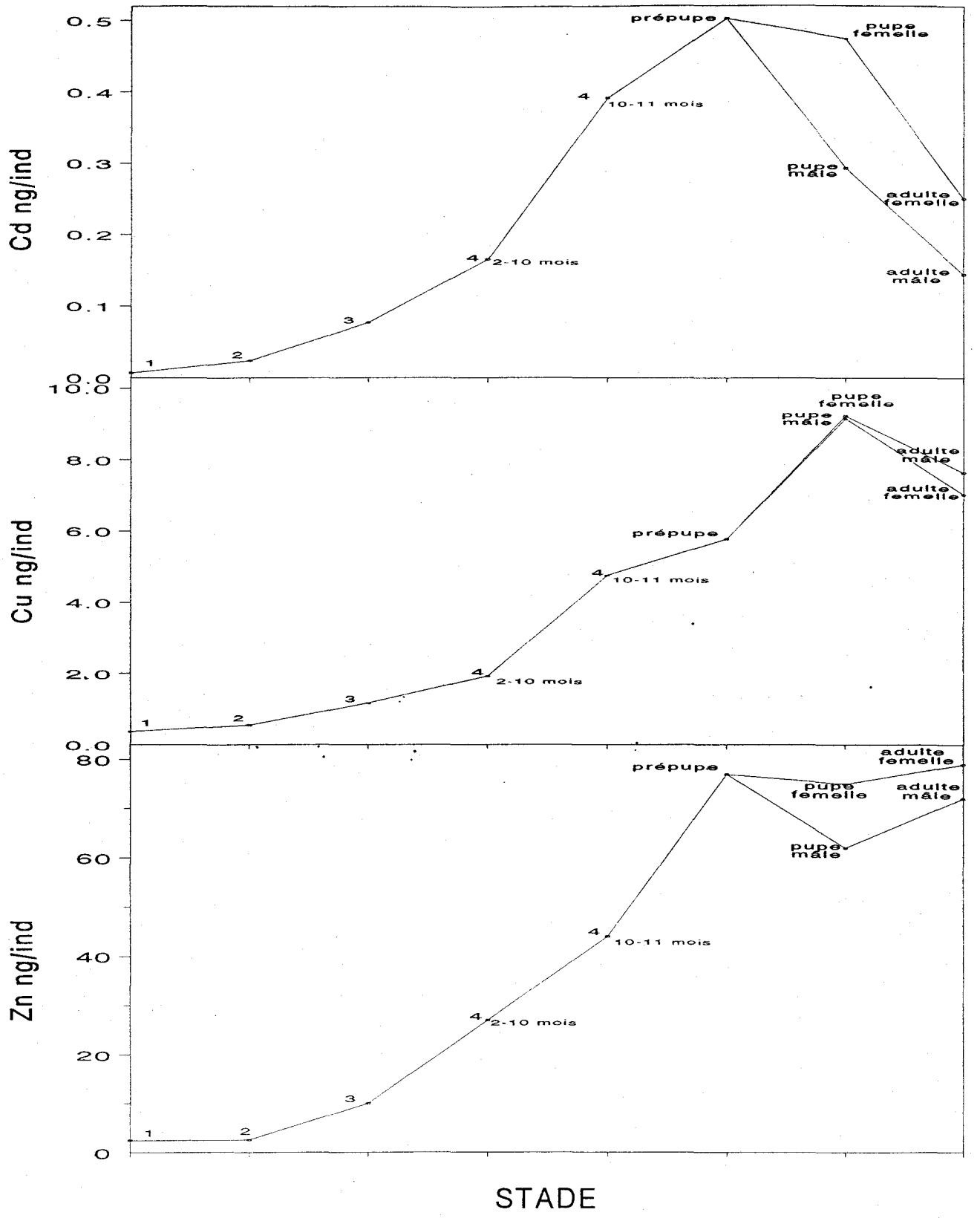


Figure 5.3.5. Relations entre les **quantités** de Cd, Cu et Zn dans *C. punctipennis* du lac St-Joseph et leur cycle de vie.

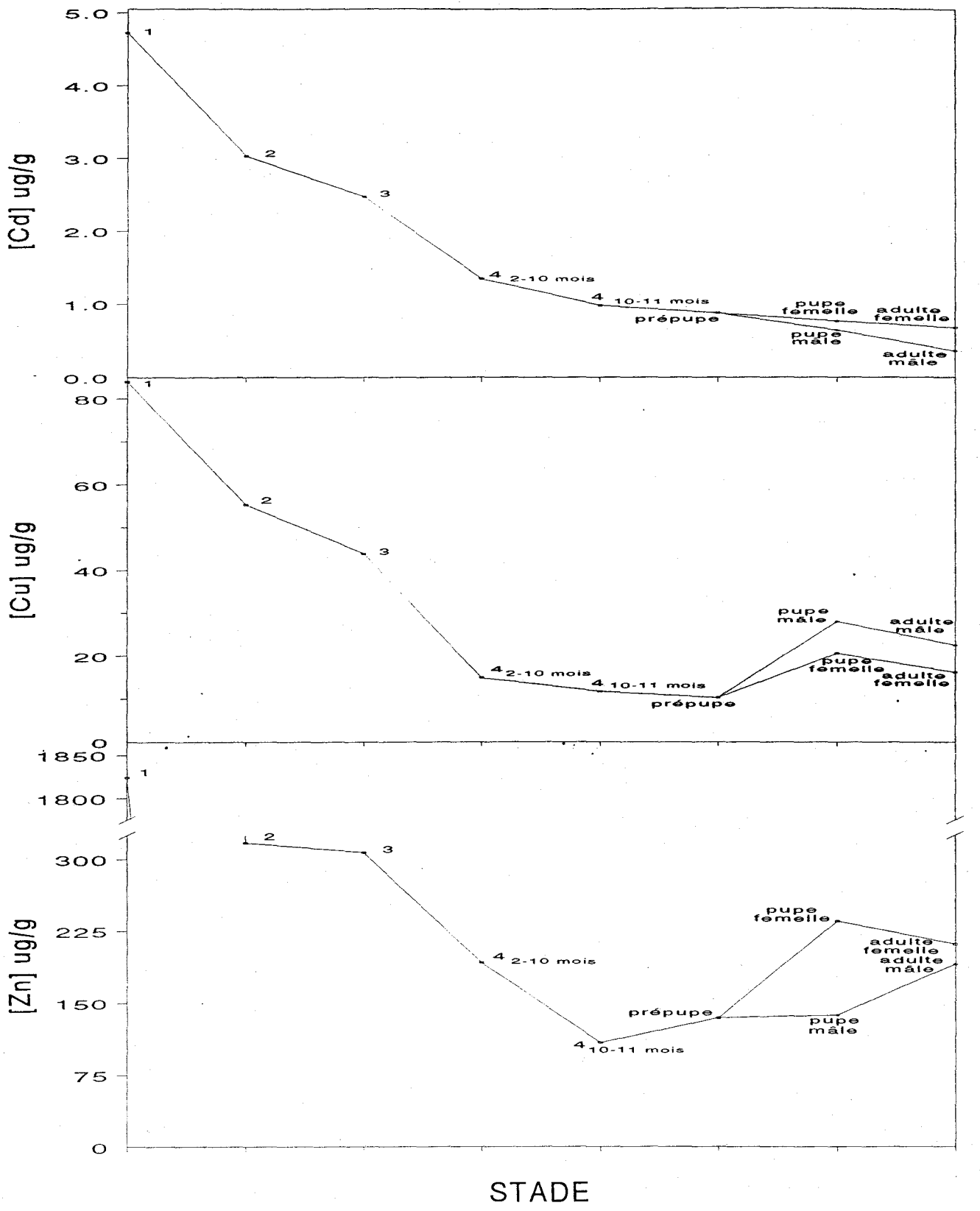


Figure 5.3.6. Relations entre les **concentration**s de Cd, Cu et Zn dans *C. punctipennis* du lac St-Joseph et leur cycle de vie.

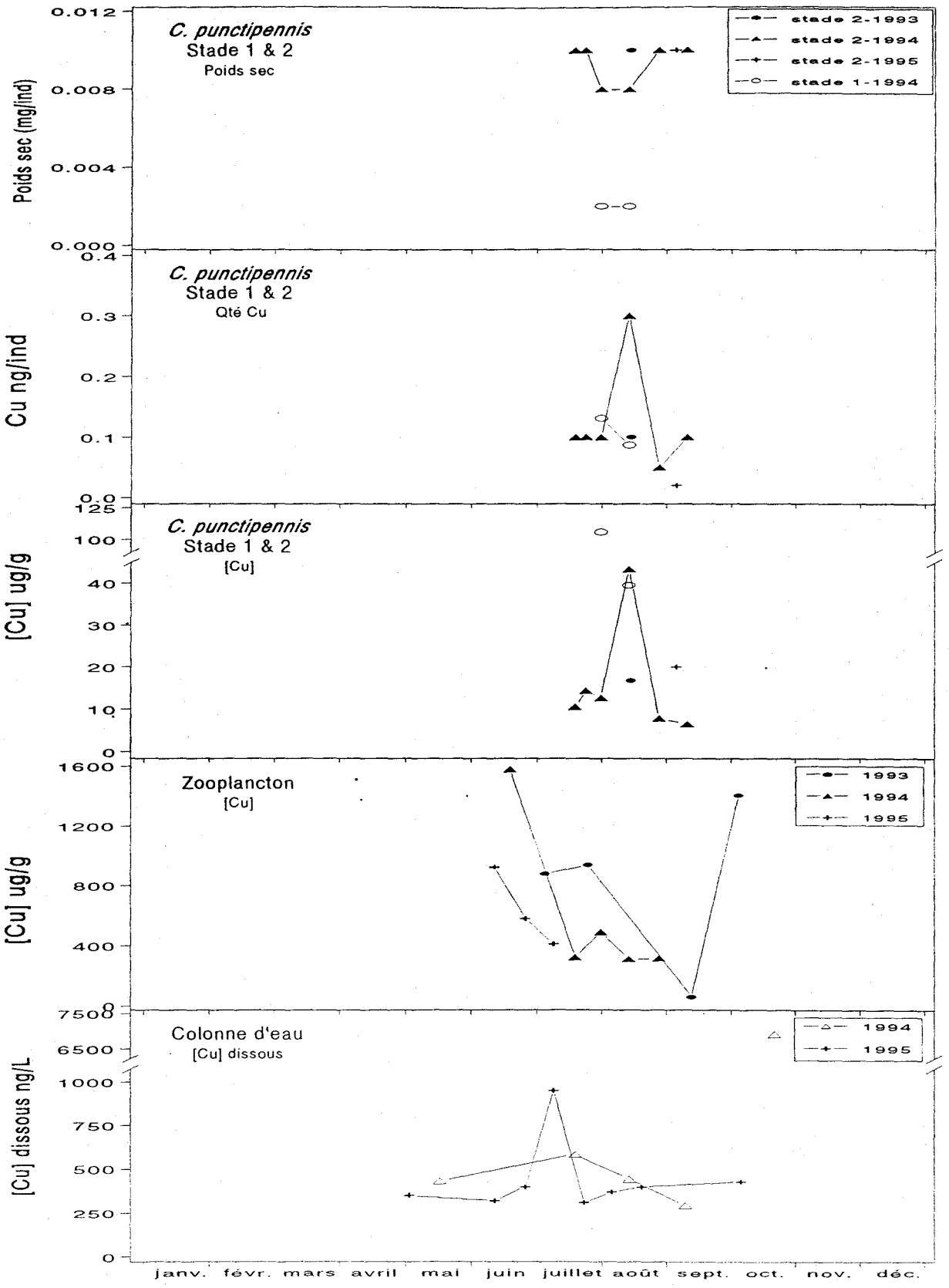


Figure 5.3.7. Variations temporelles du poids des **1e et 2e stades** larvaires de *C. punctipennis*, de leurs contenus et de leurs concentrations en **Cu**, de la [Cu] du zooplancton, ainsi que de la [Cu] dissous dans l'eau du lac St-Joseph.

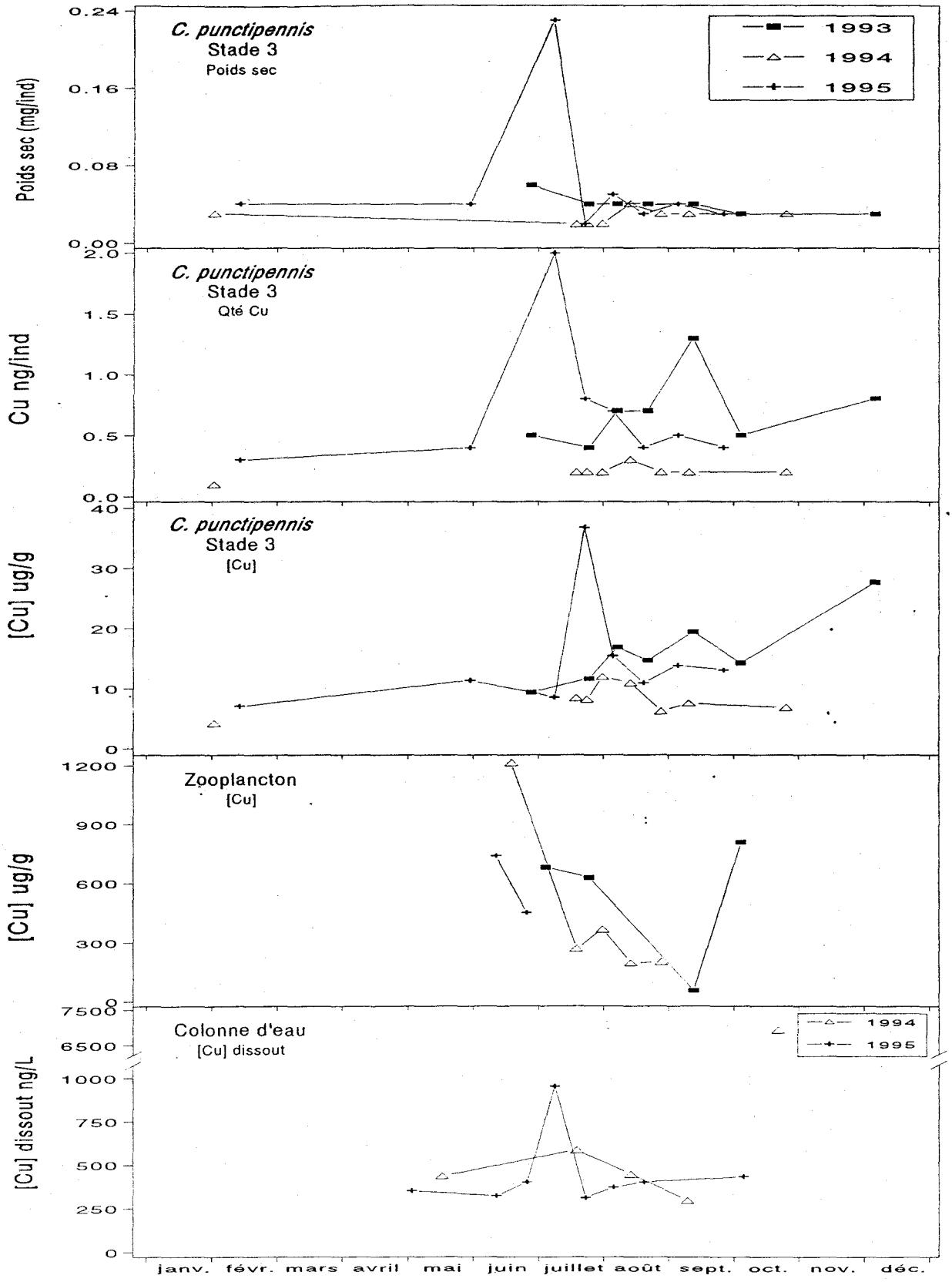


Figure 5.3.8. Variations temporelles du poids du **3^e^ stade** larvaire de *C. punctipennis*, de son contenu et de sa concentration en **Cu**, de la [Cu] du zooplancton, ainsi que de la [Cu] dissous dans l'eau du lac St-Joseph.

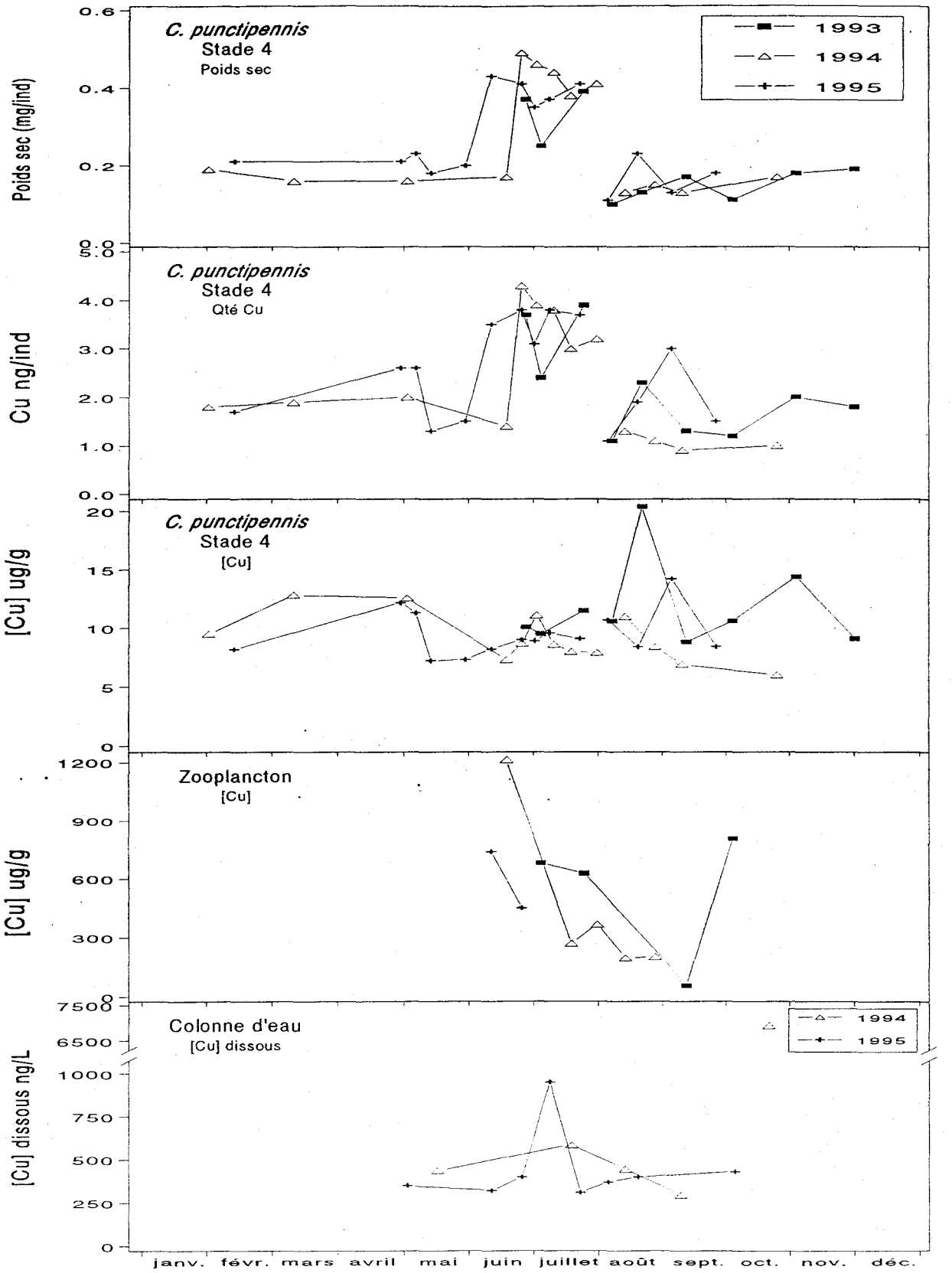


Figure 5.3.9. Variations temporelles du poids du **4^{e} stade** larvaire de *C. punctipennis*, de son contenu et de sa concentration en **Cu**, de la [Cu] du zooplancton, ainsi que de la [Cu] dissous dans l'eau du lac St-Joseph.

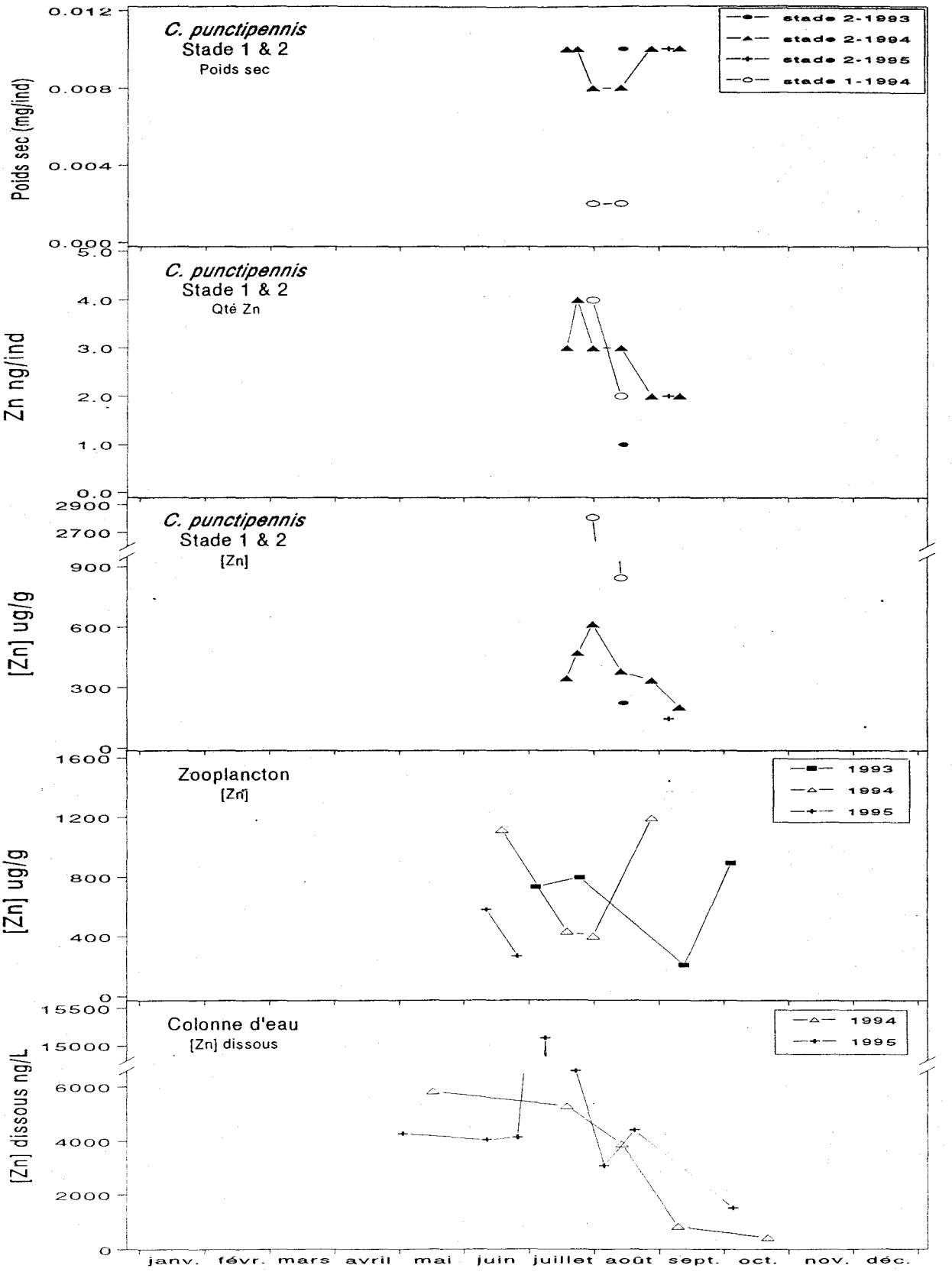


Figure 5.3.10. Variations temporelles du poids des **1^e^ et 2^e^ stades** larvaires de *C. punctipennis*, de leurs contenus et de leurs concentrations en **Zn**, de la [Zn] du zooplancton, ainsi que de la [Zn] dissous dans l'eau du lac St-Joseph.

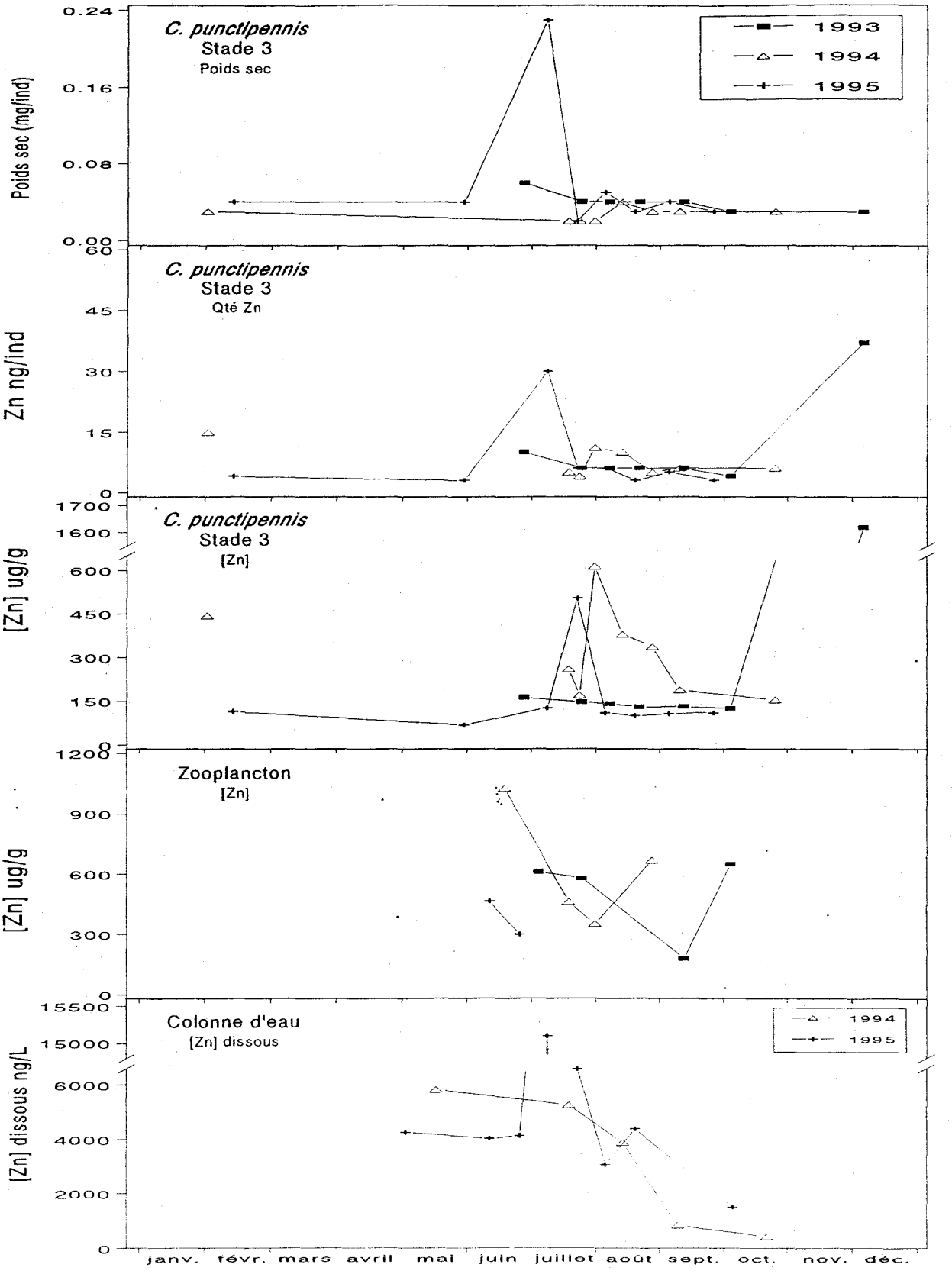


Figure 5.3.11. Variations temporelles du poids du **3e stade** larvaire de *C. punctipennis*, de son contenu et de sa concentration en **Zn**, de la [Zn] du zooplancton, ainsi que de la [Zn] dissous dans l'eau du lac St-Joseph.

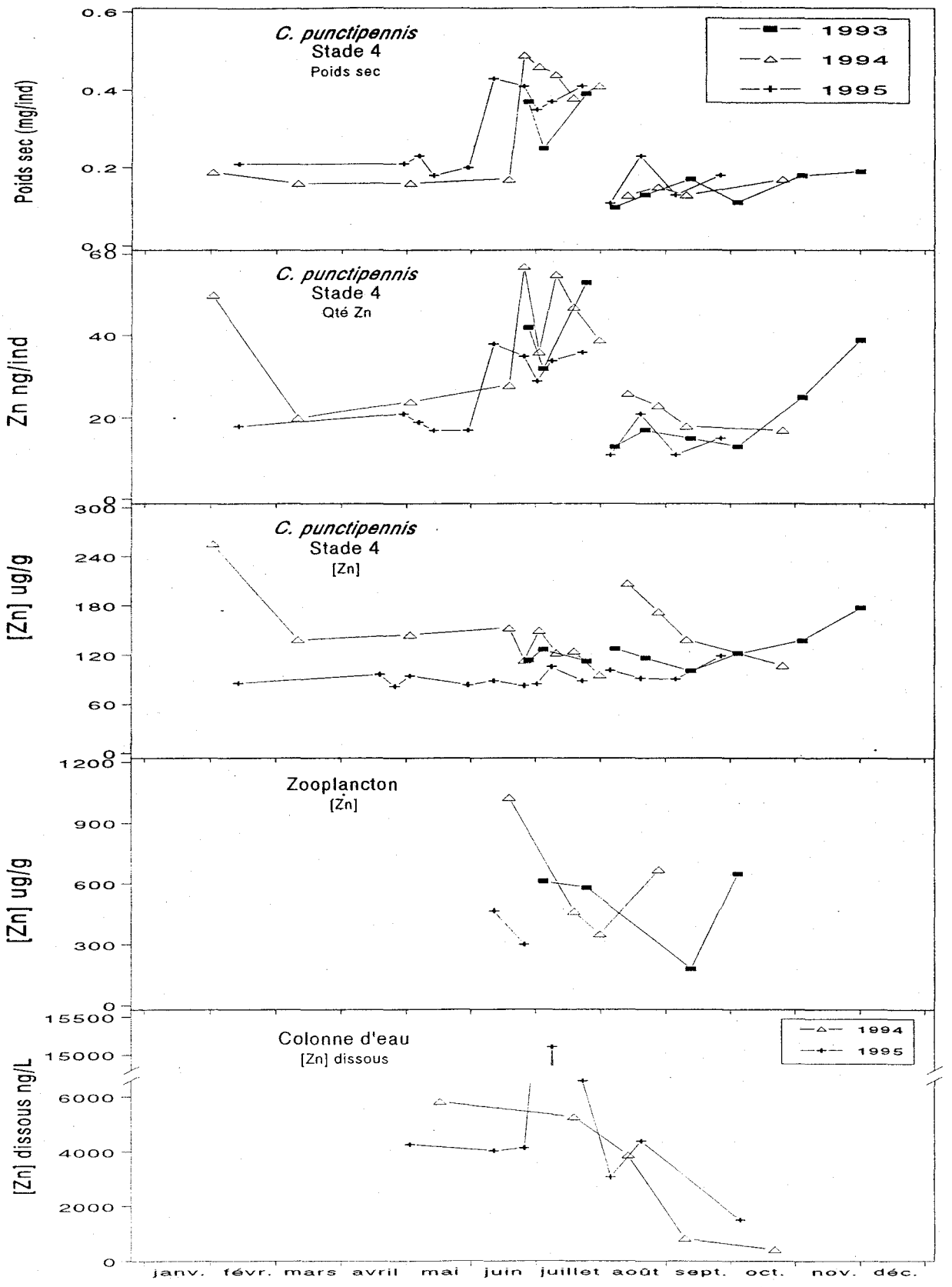


Figure 5.3.12. Variations temporelles du poids du **4e stade** larvaire de *C. punctipennis*, de son contenu et de sa concentration en **Zn**, de la [Zn] du zooplancton, ainsi que de la [Zn] dissous dans l'eau du lac St-Joseph.

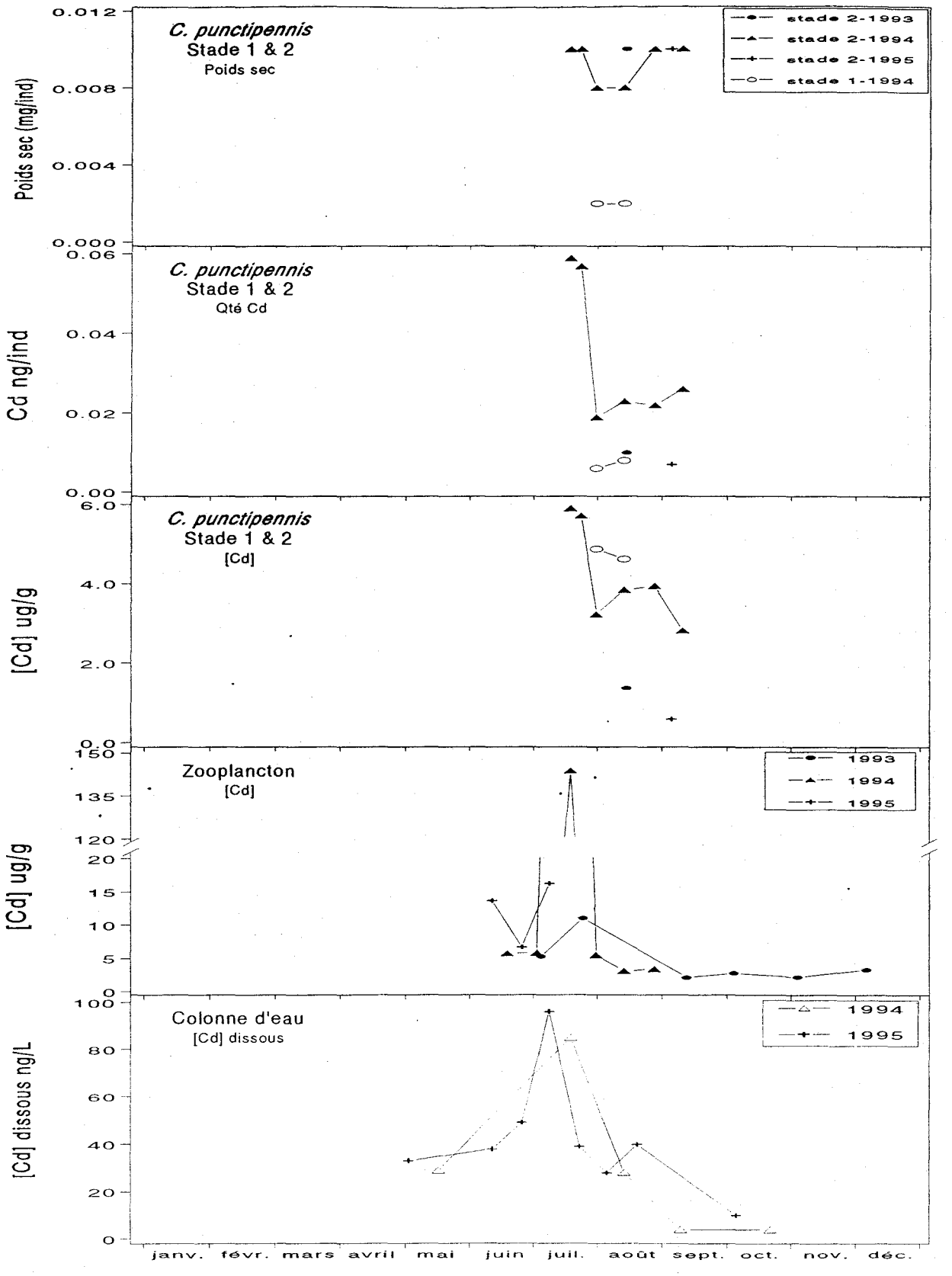


Figure 5.3.13. Variations temporelles du poids des **1e et 2e stades** larvaires de *C. punctipennis*, de leurs contenus et de leurs concentrations en **Cd**, de la [Cd] du zooplancton, ainsi que de la [Cd] dissous dans l'eau du lac St-Joseph.

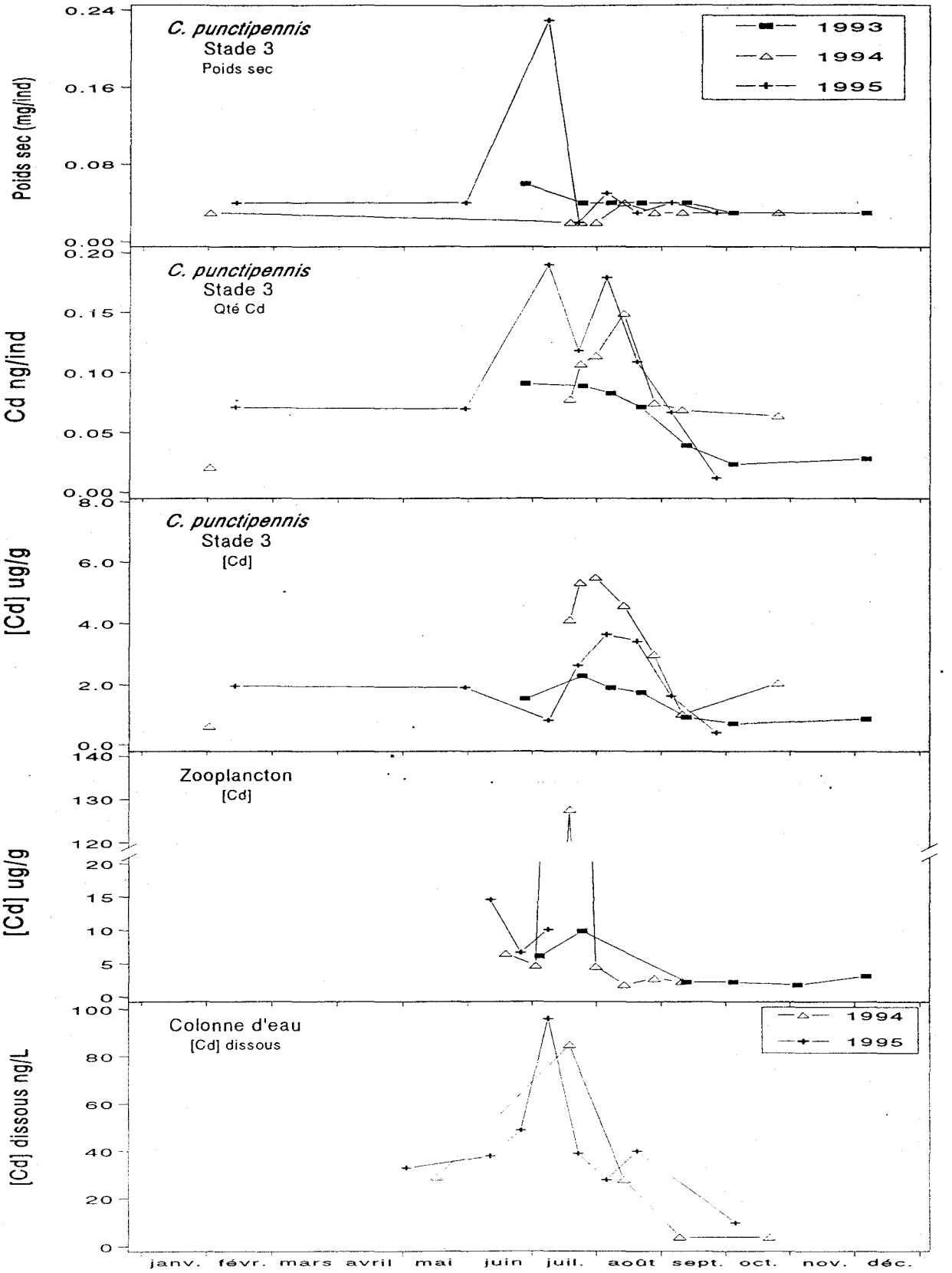


Figure 5.3.14. Variations temporelles du poids du **3^e^ stade** larvaire de *C. punctipennis*, de son contenu et de sa concentration en **Cd**, de la [Cd] du zooplancton, ainsi que de la [Cd] dissous dans l'eau du lac St-Joseph.

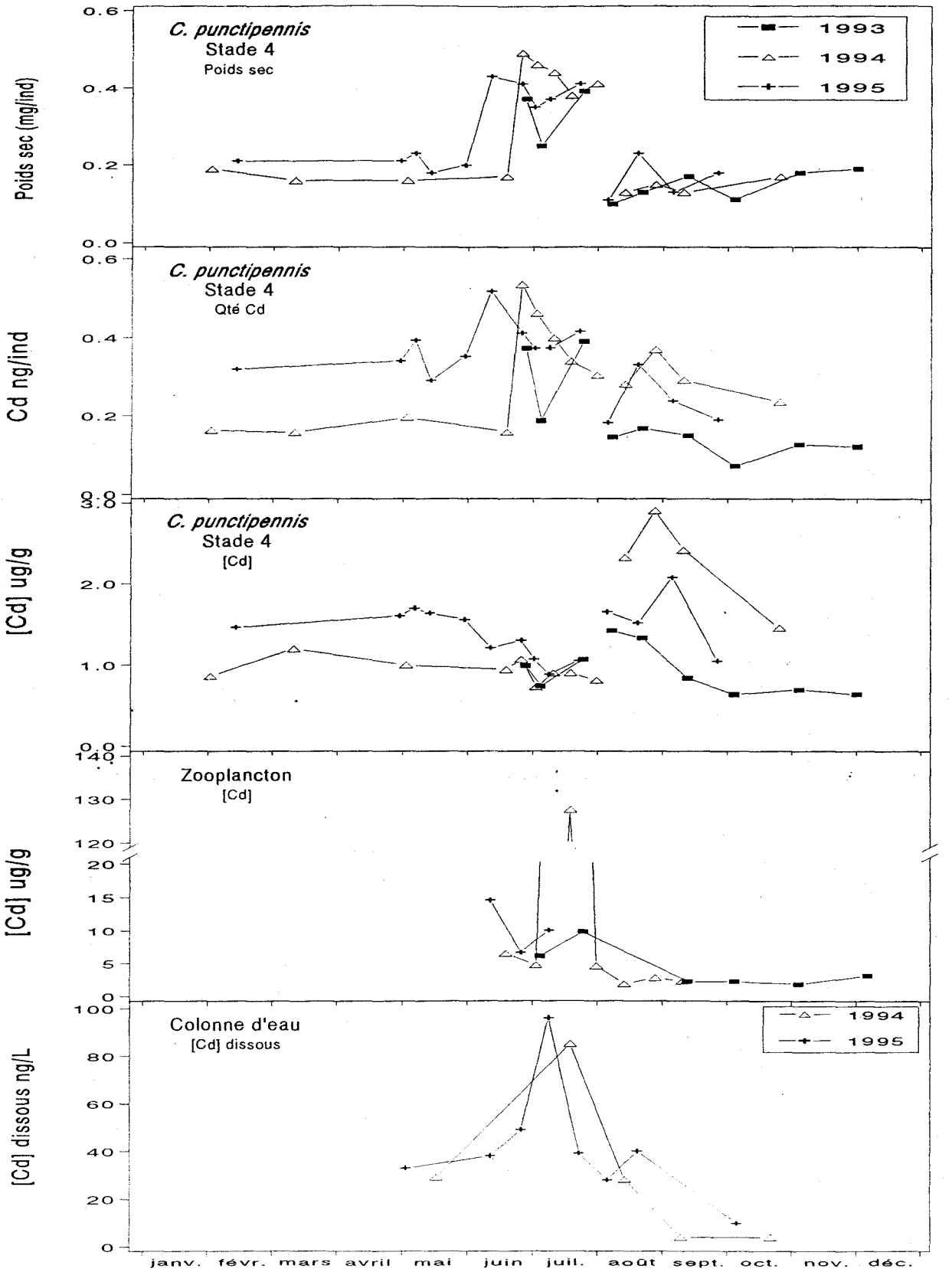


Figure 5.3.15. Variations temporelles du poids du **4e stade** larvaire de *C. punctipennis*, de son contenu et de sa concentration en **Cd**, de la [Cd] du zooplancton, ainsi que de la [Cd] dissous dans l'eau du lac St-Joseph.

5.4. Résultats: influence de [M^{z+}] et du pH sur la bioaccumulation en laboratoire

Avant d'entreprendre les expériences principales de bioaccumulation, nous avons effectué des mesures sur la **cinétique d'accumulation du Cd** chez *C. punctipennis*. Cette expérience avait pour objet de nous aider à établir un protocole expérimental adéquat. D'abord, nous voulions vérifier l'absence de toxicité aux concentrations de Cd utilisées dans les expériences subséquentes. On a observé que la concentration maximale de Cd^{2+} utilisée ($1x10^{-7}$ M) n'a pas affecté la survie des larves puisque le taux de mortalité des larves exposées au Cd était le même que celui des larves témoins qui n'y étaient pas exposées. Deuxièmement, nous voulions évaluer la survie des larves en état de jeûne pour ensuite fixer une durée appropriée pour les expériences principales. Nous avons alors observé que le taux de mortalité des larves qui jeûnaient est demeuré faible jusqu'à 8 j. Cependant, la totalité des larves ont été retrouvées mortes à 32 j. Finalement, nous pouvons montrer que la concentration de Cd accumulée par les larves varie linéairement avec le temps entre 0 et 12 h et qu'il y a baisse de la pente entre 12 h et 8 j (fig. 5.4.1). En se basant sur ces résultats, le temps de contact de *C. punctipennis* avec les solutions de Cd dans les expériences suivantes a été fixé à 7 j pour assurer une accumulation assez facilement mesurable tout en minimisant le risque de mortalité chez les larves.

Deux expériences ont été réalisées pour vérifier le **rôle atténuateur du pH** sur l'accumulation de Cd par *C. punctipennis*. Les résultats de ces deux expériences confirment l'effet atténuateur du pH observé *in situ* (fig. 5.4.2). On notera que les valeurs de [Cd(org)] présentées à la figure 5.4.2 sont faibles, si on les compare aux valeurs observées en laboratoire lorsque les larves ont accès à une nourriture contaminée (fig. 5.5.1) et aux valeurs observées *in situ* (fig. 5.1.3). Ces résultats confirment que l'accumulation de Cd par *C. punctipennis* se fait surtout par la nourriture et non par l'eau, ce qu'on ignorait lors de l'élaboration de ces expériences de laboratoire. Les valeurs de K_a (voir l'équation 3.1.6) obtenues avec un logiciel d'ajustement de paramètres (1.64×10^{-5} et 2.27×10^{-5} mol/L) diffèrent appréciablement de celles observées *in situ*, ce qui est probablement lié au fait que la voie d'entrée majeure de Cd chez *C. punctipennis* est la nourriture. La compétition avec H^+ qu'on mesure *in situ* pourrait avoir lieu dans la chaîne alimentaire qui mène à *C. punctipennis*.

La figure 5.4.3 (premier essai) montre que la concentration de Cd accumulée dans *C. punctipennis* à partir de l'eau est fonction de $[Cd^{2+}]$ et non de $[Cd]_{total}$ dissous ou de Cd complexé avec EDTA (acide éthylène-diamine tetraacétique) ou NTA (acide nitrilotriacétique). De façon générale, ces résultats sont conformes au modèle de l'ion libre, quoiqu'on note que la valeur de [Cd(org)] semble moins élevée en absence de ligand. Pour confirmer cette augmentation de [Cd(org)] en fonction de $[Cd^{2+}]$, nous avons réalisé une deuxième expérience de bioaccumulation comprenant plus de points expérimentaux que la précédente, ainsi que des réplicats. Les résultats (fig. 5.4.3, deuxième essai) montrent que l'accumulation de Cd par la larve observée en présence de ligand est nettement supérieure à celle observée en absence de ligand. Ces résultats nous ont fait soupçonner une contamination de l'eau des microcosmes, notamment par Zn. Les expériences ne se sont pas déroulées dans une salle ultra-propre et l'air du laboratoire a été barboté dans les microcosmes. Une contamination par Zn déplacerait Cd complexé avec EDTA ou NTA et mettrait ainsi les larves en présence de plus grandes concentrations de Cd^{2+} que prévu.

Pour vérifier si les résultats erratiques observés avec les ligands étaient dus ou non à une contamination par Zn, nous avons effectué une troisième expérience de bioaccumulation où des précautions supplémentaires (e.g., aération des microcosmes avec de l'air industriel au lieu de l'air de l'édifice) ont été prises. De plus, les concentrations de Zn ont été mesurées dans les microcosmes au début et à la fin des expériences, afin d'en tenir compte explicitement dans les calculs de spéciation de Cd. Les résultats (fig. 5.4.4) nous ont montré qu'on ne peut négliger la contamination par Zn. Cette contamination n'explique cependant pas complètement la surévaluation de [Cd(org)] observée en présence de ligand (surtout avec NTA). Ces résultats nous ont amenés à penser que les valeurs erratiques en présence de ligand pourraient être dues à la présence de Cd dans l'eau présente dans le tractus de la larve. Une expérience préliminaire a été effectuée, à l'aide du traceur Sc qui n'est pas assimilé en principe par les animaux, pour déterminer le temps requis afin de dépurer complètement les animaux et ainsi éliminer le Cd contenu dans le tractus. La figure 5.4.5 montre que 48 heures suffisent pour dépurer presque complètement les animaux. A partir de ce résultat, nous avons réalisé une quatrième expérience de bioaccumulation de Cd, en incluant, après la période de bioaccumulation, une période de 48h de dépuration. Pour cette expérience, nous avons remplacé le ligand

NTA par le ligand CDTA (trans-1,2-diamino cyclohexane tetracetata) et nous avons aussi ajouté le traceur ^{46}Sc pour nous permettre de corriger pour tout Cd résiduel qui aurait pu demeurer dans le tractus après la période de dépuration. La Figure 5.4.6 montre que la dépuration diminue environ de moitié la valeur mesurée de [Cd(org)]. La figure 5.4.7 montre qu'on surévalue toujours la bioaccumulation de Cd par *C. punctipennis* en présence de ligand.

En résumé, nos résultats obtenus en microcosmes ne nous ont pas permis de démontrer clairement que le modèle de l'ion libre s'applique pour la bioaccumulation de Cd dissous par *C. punctipennis*. Malgré tous nos efforts, les résultats montrent toujours une surévaluation de [Cd(org)] en présence de ligand. A notre avis, il ne resterait que deux explications à ces résultats:

1. les conditions chimiques dans le tractus de l'animal (e.g., pH bas, bactéries, enzymes) mènent à une dissociation des complexes ou à une dégradation du ligand, ce qui entraîne la libération de Cd et son accumulation par l'animal.

2. non-conformité avec le modèle de l'ion libre - par exemple, passage des complexes Cd-ligand à travers la membrane biologique.

Il serait surprenant que la deuxième explication soit la bonne puisque les complexes utilisés dans les expériences sont chargés et qu'il a été montré que EDTA ne traverse pas les membranes biologiques (Mason & Jenkins 1995). Après consultation avec mesdames Nancy Bernier et Martine Lafond, nous avons décidé de ne pas poursuivre ces travaux en laboratoire et de faire porter plutôt nos efforts sur les autres aspects du projet. Cette décision était motivée: i) par le fait qu'il semblait maintenant raisonnable de penser que la bioaccumulation de Cd par *C. punctipennis* se faisait majoritairement par la voie de la nourriture (voir la section 5.5); ii) par le fait que ces expériences mobilisaient beaucoup d'efforts; iii) qu'en absence de salle ultra-propre, ces expériences étaient difficiles à réaliser.

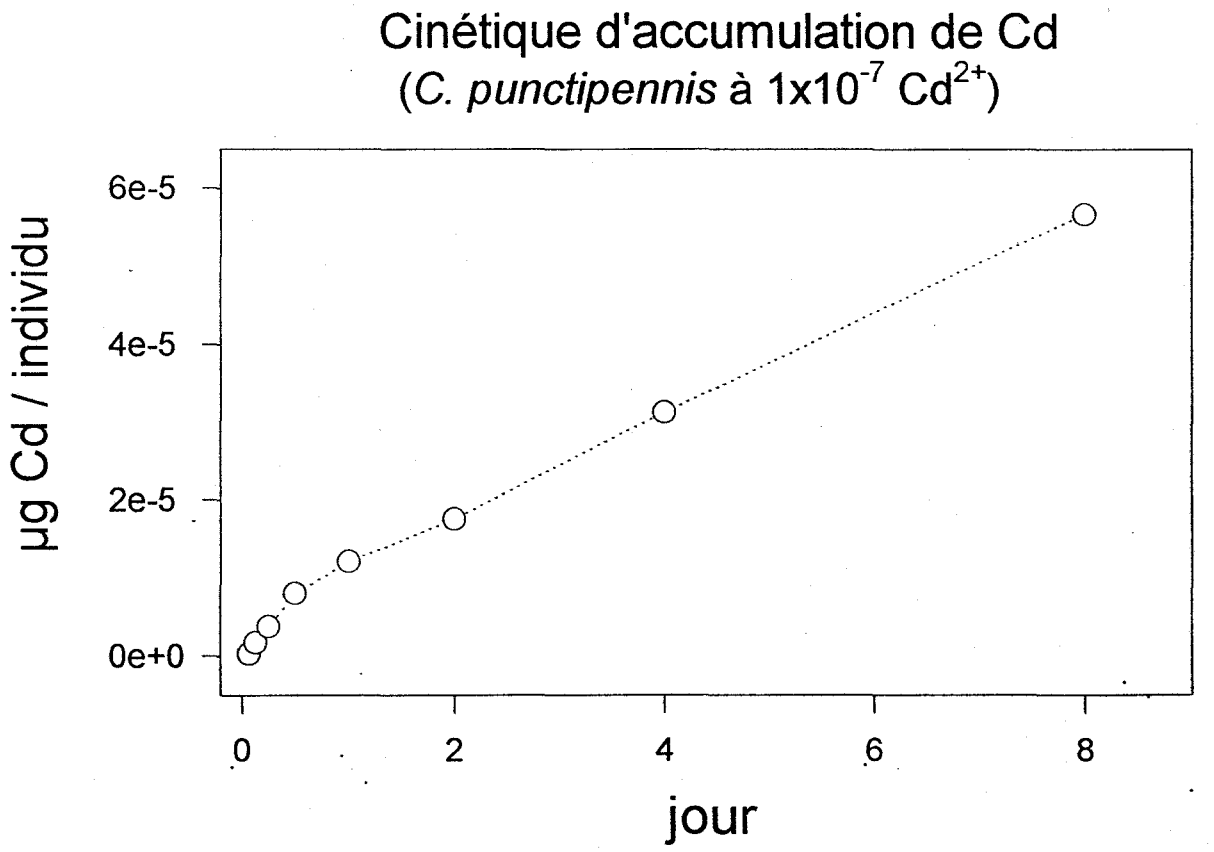
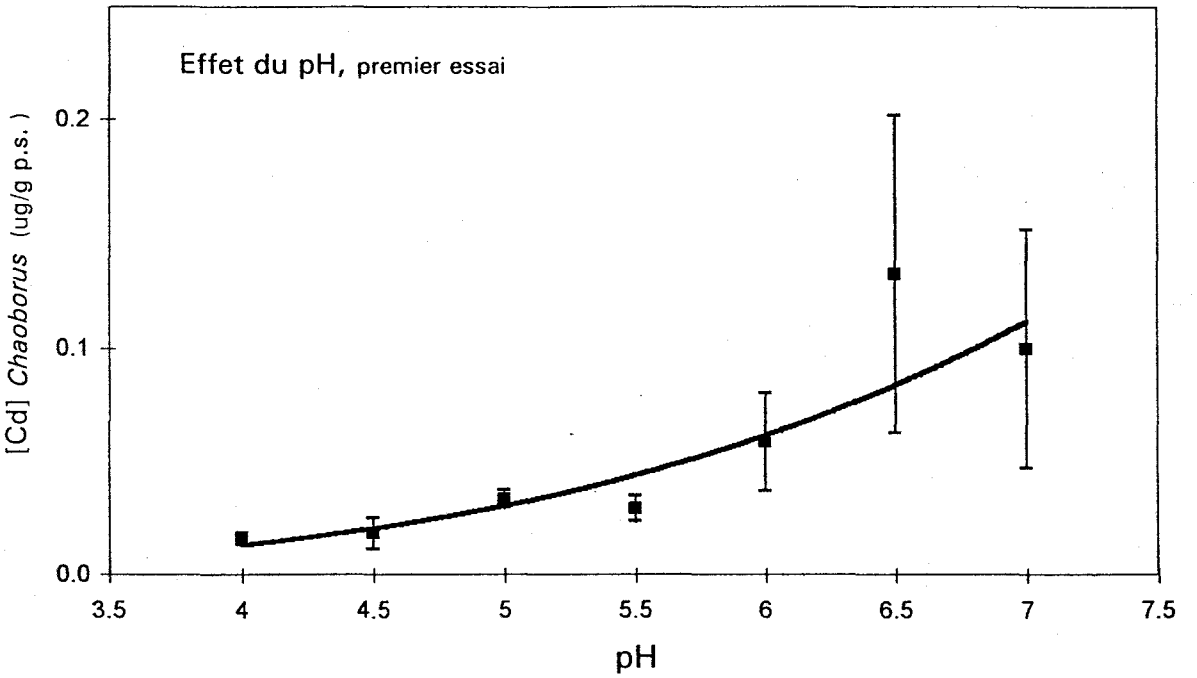


Figure 5.4.1. Cinétique d'accumulation de Cd chez les larves de quatrième stade de *Chaoborus punctipennis* exposée à 10^{-7} M Cd^{2+}.



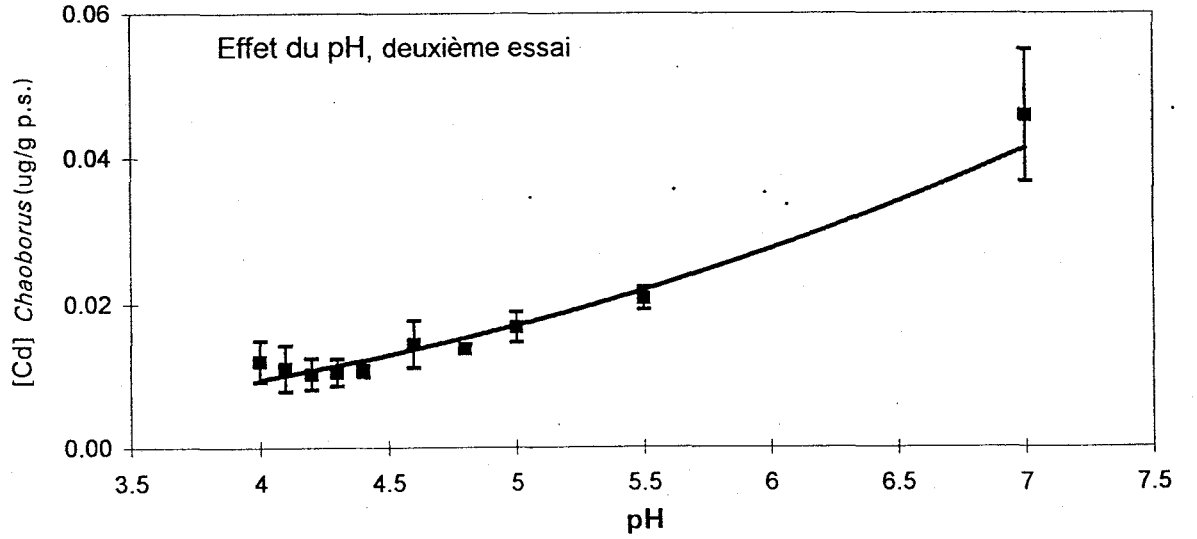


Figure 5.4.2. Accumulation de Cd chez *Chaoborus punctipennis* (4ième stade larvaire, X±SD) en fonction du pH de l'eau. La concentration d'exposition de Cd^{+2} a été maintenue à 1 x 10^{-8} M. Les résultats pour un premier essai sont indiqués en haut et ceux d'un deuxième essai sont présentés en bas.

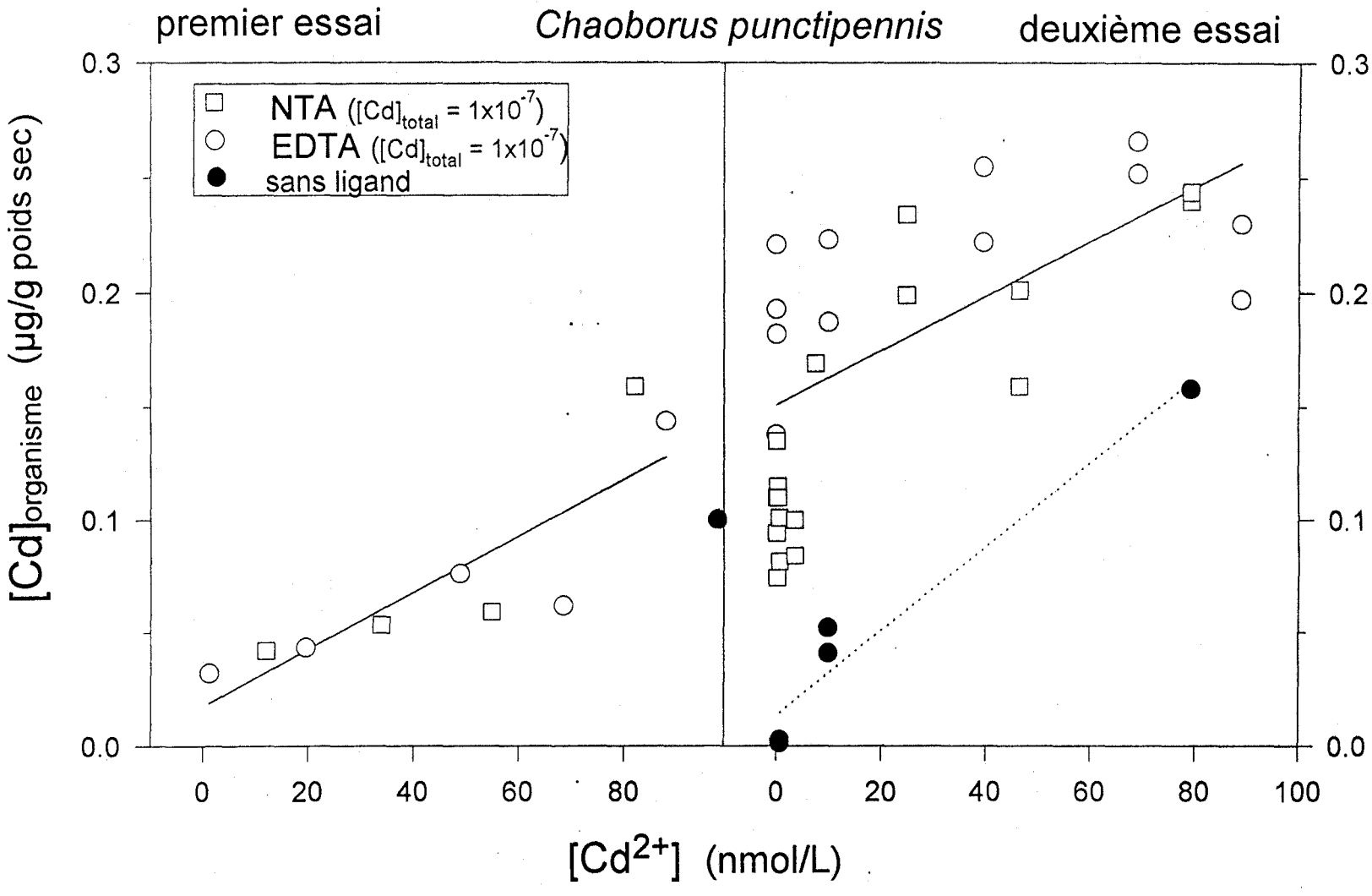


Figure 5.4.3. Accumulation de Cd chez *Chaoborus punctipennis* (4ième stade larvaire) en fonction de la concentration de Cd^{+2}: résultat de la première (à gauche) et de la deuxième (à droite) expériences. En présence de ligand, la concentration totale de Cd dissous était constante ($1x10^{-7}$ M) et $[Cd^{2+}]$ était variée en ajoutant NTA ou EDTA.

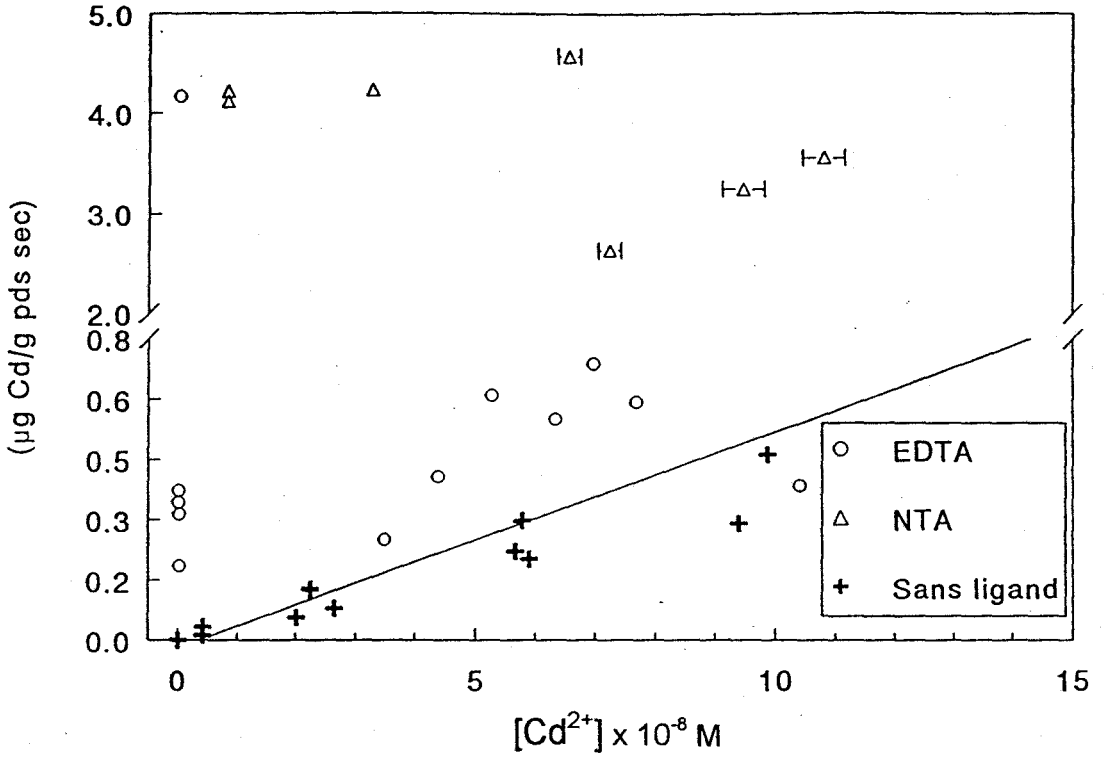


Figure 5.4.4. Accumulation du Cd chez la larve de *Chaoborus punctipennis* (4ième stade larvaire) en fonction du Cd^{2+}. Le calcul de $[Cd^{2+}]$ tenait compte de la concentration de Zn mesurée dans les microcosmes.

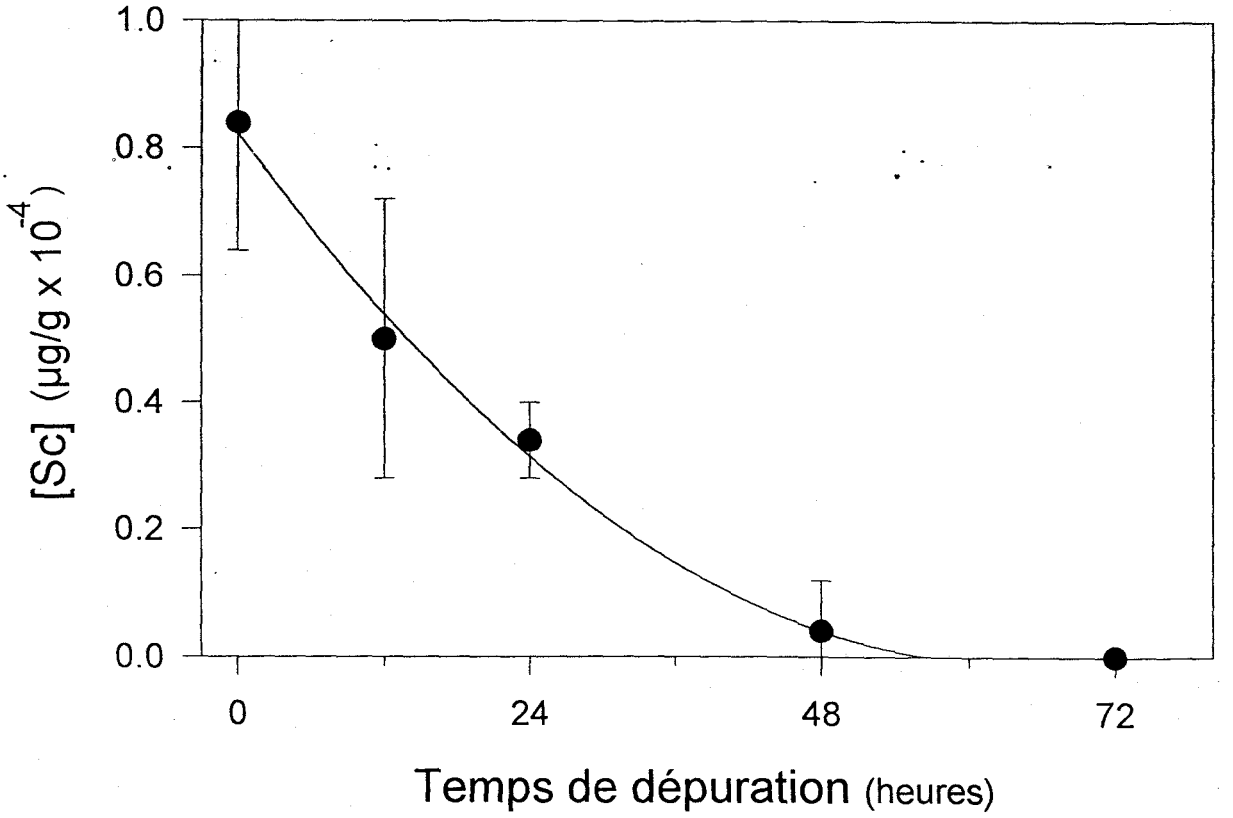


Figure 5.4.5. Concentration, en fonction du temps de dépuration, du traceur (^{46}Sc) retrouvé chez la larve de *Chaoborus punctipennis* (4ième stade larvaire). Les larves avaient été exposées péalablement à ^{46}Sc pendant 48 heures.

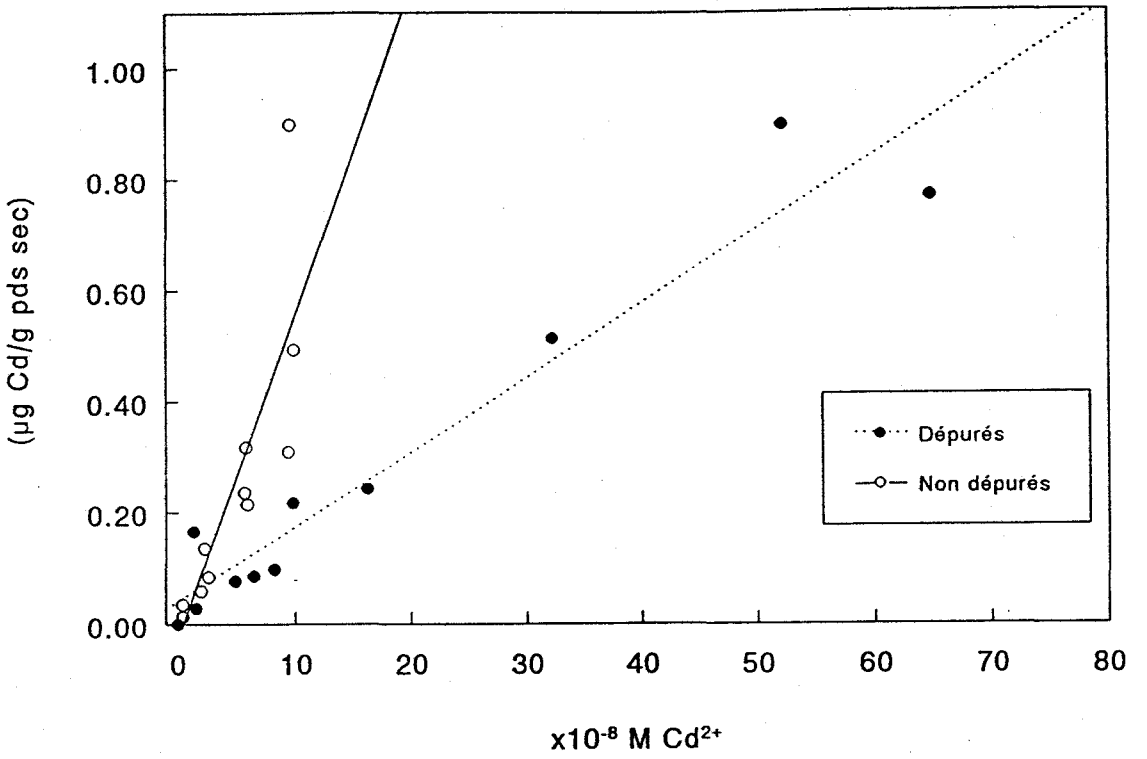


Figure 5.4.6. Accumulation du Cd chez la larve de *Chaoborus punctipennis* (4ième stade larvaire) en fonction du Cd^{2+} avec et sans dépuration.

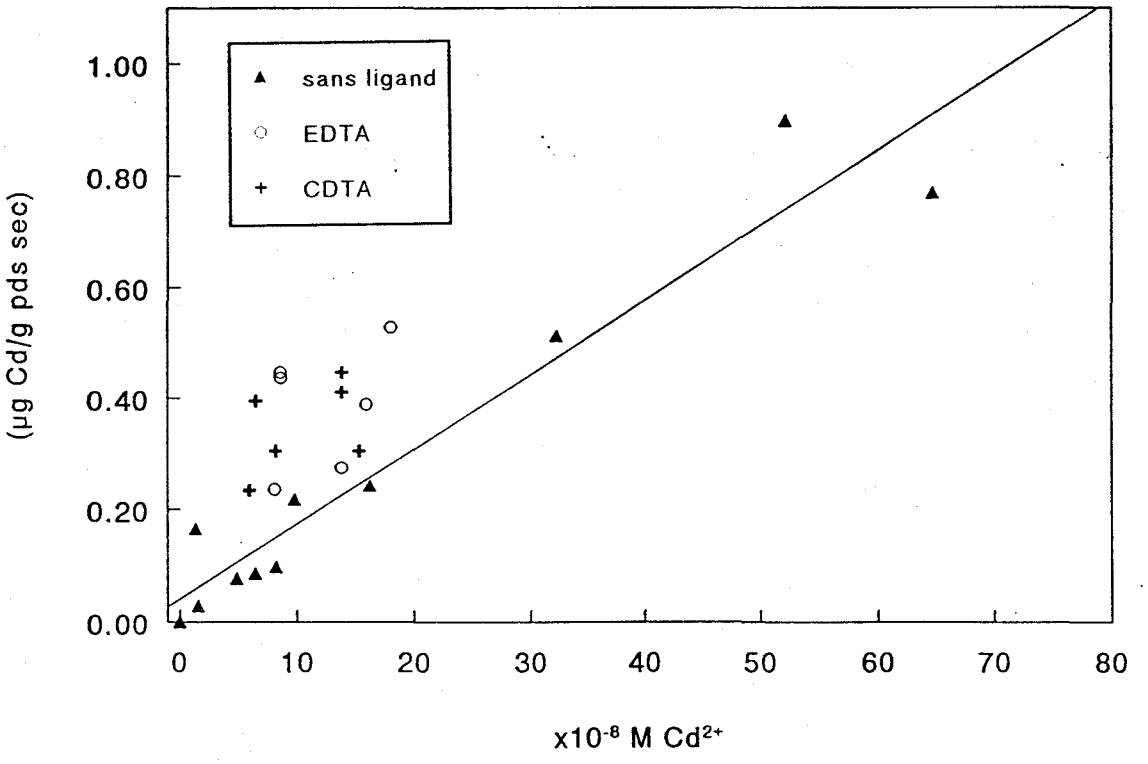


Figure 5.4.7. Accumulation du Cd chez la larve dépurée de *Chaoborus punctipennis* (4ième stade larvaire) en fonction du Cd^{2+} et corrigée pour le Zn (4e essai).

5.5. Résultats: provenance de cadmium accumulé - l'eau versus la nourriture

La comparaison entre l'accumulation de Cd par les larves de *Chaoborus punctipennis* exposées à la nourriture contaminée en Cd et celle par les larves exposées à la fois à la nourriture et à l'eau contaminés en Cd est présentée à la figure 5.5.1. Les résultats ne suggèrent aucune différence significative de [Cd(org)] (test de comparaison de pentes de régression linéaire, $p>0.05$), que le prédateur ait accumulé le Cd à partir de ses proies ou à partir de l'eau et de ses proies. Cette information nous suggère que le Cd accumulé par *C. punctipennis* dans ce système vient surtout de sa nourriture. C'est une information importante pour bien modéliser la dynamique et le destin des métaux dans les lacs.

La figure 5.5.2 montre que les pourcentages de Cd associé à l'exosquelette, à la phase polaire et à la phase non polaire sont semblables, que *Ceriodaphnia dubia* ait été exposé à Cd pendant seulement 24 h ou pour plusieurs générations. La figure 5.5.3 montre que les sites d'accumulation de Cd révélés par autoradiographie sont les caeca hépatiques (partie antérieure du mésentéron; 2ième partie de l'intestin), peu importe le temps de bioaccumulation de Cd par *C. dubia*. L'ensemble de ces résultats suggère que le court temps d'exposition (24 h) des cladocères au Cd n'influence pas la disponibilité de ce métal pour *C. punctipennis*. Ils indiquent que la conclusion obtenue quant à la prépondérance de la nourriture sur l'eau pour l'accumulation de Cd chez *C. punctipennis* serait la même si les proies (*D. dubia*) avaient été contaminées pendant plusieurs générations. Mentionnons que nous cherchons à vérifier cette conclusion sur le terrain en effectuant des expériences en mésocosmes. Ces mésocosmes, installés dans un lac contaminé en Cd (lac Crowley, près de Sudbury, Ontario), sont en Nylon dont la dimension des mailles est de 64 µm, ce qui est suffisant pour retenir les proies, tout en laissant passer l'eau. Des spécimens de *C. punctipennis* provenant d'un lac peu pollué en Cd y sont introduits et on leur donne différentes quantités de proies provenant du lac contaminé en Cd. Les résultats préliminaires confirment l'importance de la nourriture comme source de Cd pour *C. punctipennis*.

Le fait que le Cd soit accumulé par *C. punctipennis* surtout de la nourriture suggère deux commentaires. Le premier est qu'on ne peut probablement pas ignorer en nature le transfert trophique des métaux. C'est une information importante pour modéliser la

dynamique et le destin des métaux dans les lacs. Le deuxième est que la prise en compte spécifiquement du rôle de la nourriture dans le modèle de prédiction de [M(org)] (voir la section 5.1) pourrait améliorer le pouvoir de prédiction de ce modèle. Par exemple, on peut supposer que la concentration de métal accumulé par un prédateur comme *C. punctipennis* s'écrit:

$$[M]_{prédateur} = F_1 [M^{z+}]_{eau} + F_2 [M]_{proie} \qquad (5.5.1)$$

où F_1 est une constante de proportionnalité pour l'accumulation de M dissous; elle est spécifique au prédateur. Par ailleurs, F_2 est une constante de proportionnalité pour l'accumulation, par le prédateur, du M contenu dans les proies; cette constante sera spécifique à un couple prédateur-proie et on s'attend à ce qu'elle varie, pour un prédateur donné, en fonction du type de proie dont il se nourrit. Elle devrait être reliée à l'efficacité d'assimilation par le prédateur du métal contenu dans la proie. Si on fait l'hypothèse que le modèle de l'ion libre s'applique aussi aux proies, on peut écrire:

$$[M]_{proie} = F_3 [M^{z+}] \qquad (5.5.2)$$

où F_3 est une constante de proportionnalité pour l'accumulation de M dissous par un type de proies; cette constante est spécifique à un type de proies. En combinant les deux dernières équations, on obtient:

$$[M]_{prédateur} = (F_1+F_2F_3) [M^{z+}] = F'[M^{z+}] \qquad (5.5.3)$$

Ces équations suggèrent donc qu'on peut envisager d'améliorer le modèle de prédiction de [M(org)] décrit à la section 5.1 lorsqu'on connaîtra mieux les types de proies consommées par *C. punctipennis* et son efficacité d'assimilation de M contenu dans différentes proies. On pourra alors envisager de relier les constantes F_2, F_3 ou F' à des paramètres limnologiques facile à mesurer.

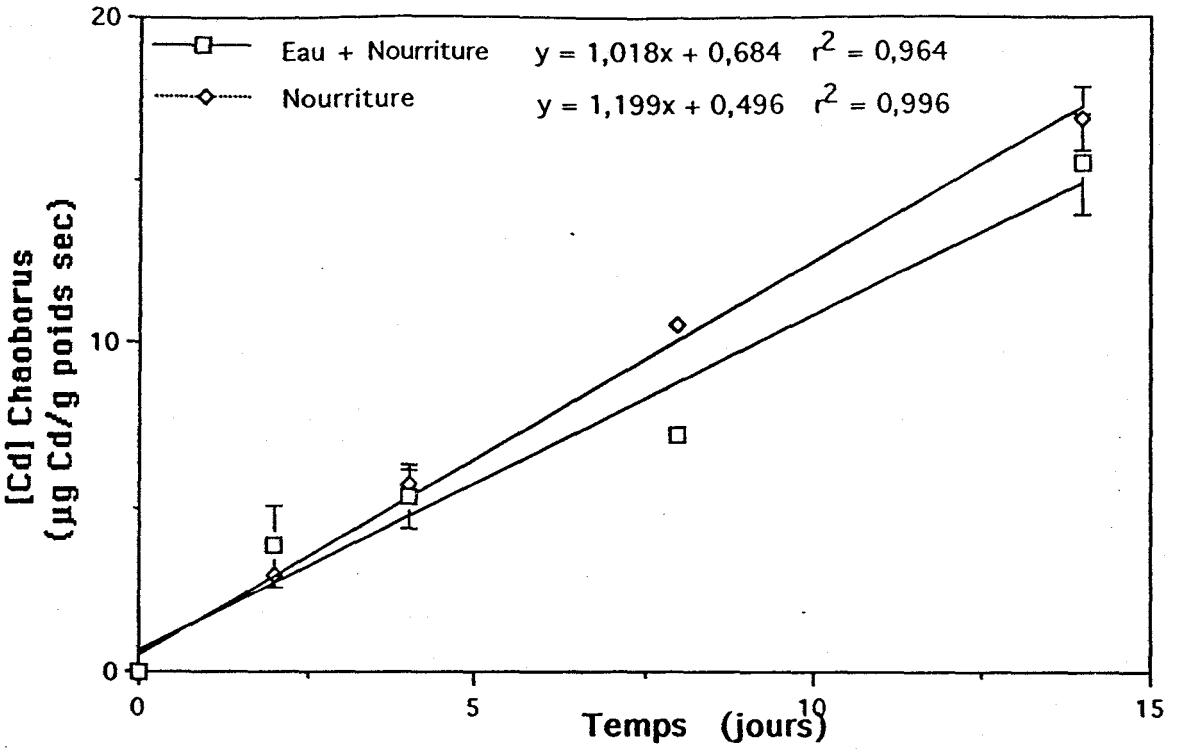


Figure 5.5.1. Accumulation du Cd par *Chaoborus punctipennis* exposé à Cd présent à la fois dans l'eau et la nourriture ou dans la nourriture seulement. La nourriture était le crustacé *Ceriodaphnia dubia* qui était élevé en présence de Cd à la fois dans l'eau et dans des algues contaminées. Les pentes des deux courbes sont non-significativement différentes (p>0,05).

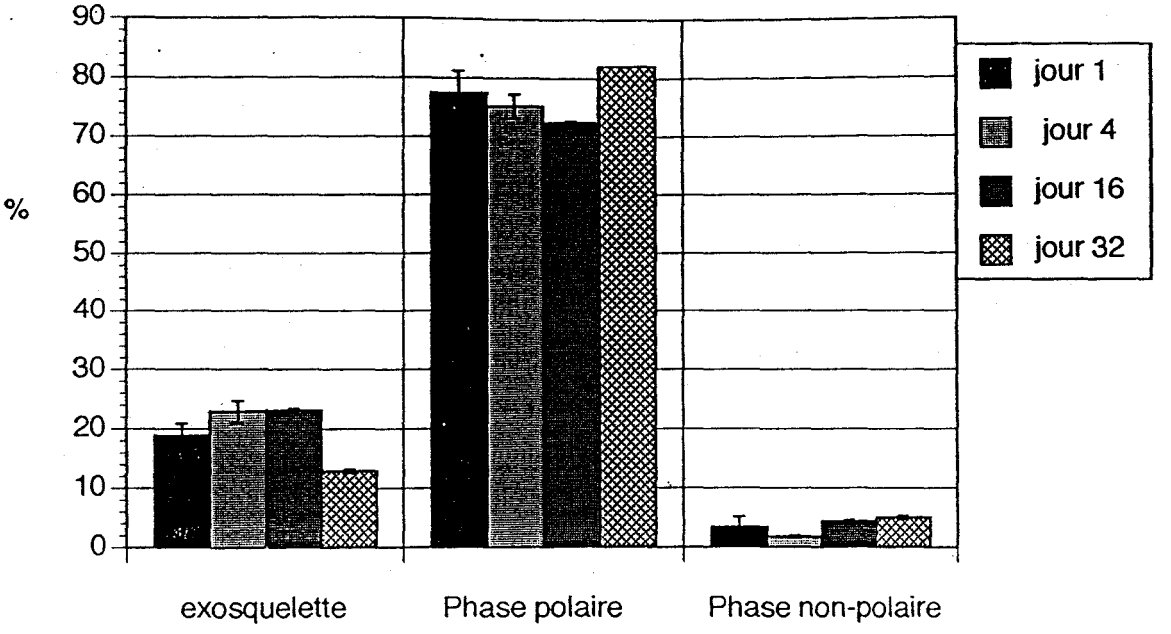


Figure 5.5.2. Distribution de Cd entre l'exosquelette et les phases polaire (sucres, acides nucléiques, protéines, etc.) et non-polaire (lipides) chez *Ceriodaphnia dubia* exposé à Cd pour des périodes de temps variables.

(a)

(b)

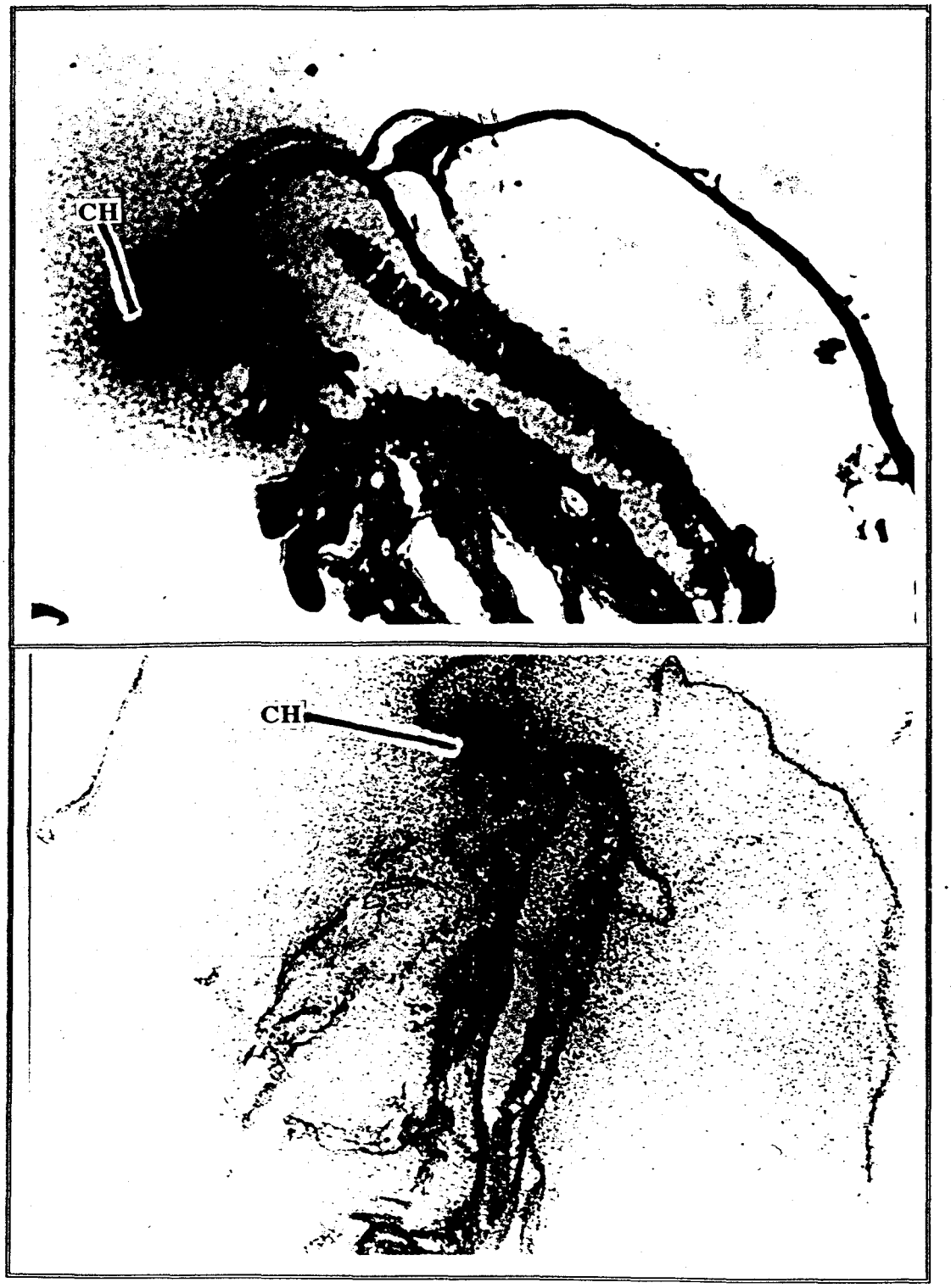


Figure 5.5.3. Photographie au microscope photonique du site majeur d'accumulation du Cd chez *Ceriodaphnia dubia* (une proie de *Chaoborus*) exposé (a) depuis 24 heures, ou (b) toute leur vie au ^{109}Cd. Les caeca hépatiques (CH) du tractus intestinal sont très fortement marqués.

5.6. Résultats: influence du comportement sur l'accumulation chez *Chironomus*

La figure 5.6.1 montre que les concentrations de Cd dans *Chironomus staegeri* sont, de façon consistante, beaucoup plus grande que celle dans *C. tigris* à différent temps de l'année. Les expériences de laboratoire, effectuées avec des particules fluorescentes saupoudrées à la surface des sédiments contenus dans des microcosmes (voir la section 4.6), n'ont pas montré de différences significatives de teneurs en traceurs dans les systèmes digestifs des deux espèces de *Chironomus*. Une explication à ces résultats serait que les sédiments de surface dans les microcosmes n'étaient plus enrichis en matière organique récemment sédimentée (p.e. algues), puisqu'ils avaient été mélangés, et que de ce fait, les larves ne se nourrissaient pas de la même manière que *in situ*.

En ce qui concerne l'expérience de terrain où les sédiments de surface étaient saupoudrés avec Mo_2C, nous n'avons pas obtenu les résultats escomptés. Suite à l'analyse des sédiments, le traceur a été retrouvé, pour une raison inconnue, sur presque toute la longueur de la carotte au lieu de se retrouver concentré en surface. Il nous a donc été impossible de relier les teneurs en Mo des contenus intestinaux des larves à celles des sédiments.

Nous prévoyons, par des expériences futures, comparer le comportement fouisseur des espèces de *Chironomus* en utilisant une autre approche. Cette approche impliquera l'utilisation de minces microcosmes en Plexiglas où nous mettrons des sédiments et de l'eau. Les larves de *Chironomus* seront ensuite introduites dans les sédiments et la forme de leurs terriers sera comparée à l'aide de photos rayons X. Ceci devrait nous indiquer les différences dans la profondeur et la forme des tubes dans lesquels les deux espèces habitent. Si on n'observe aucune différence au niveau comportemental entre les espèces, nous rejetterons notre hypothèse initiale et nous étudierons les côtés biochimique et physiologique des larves pour tenter d'expliquer la différence d'accumulation de Cd entre les espèces.

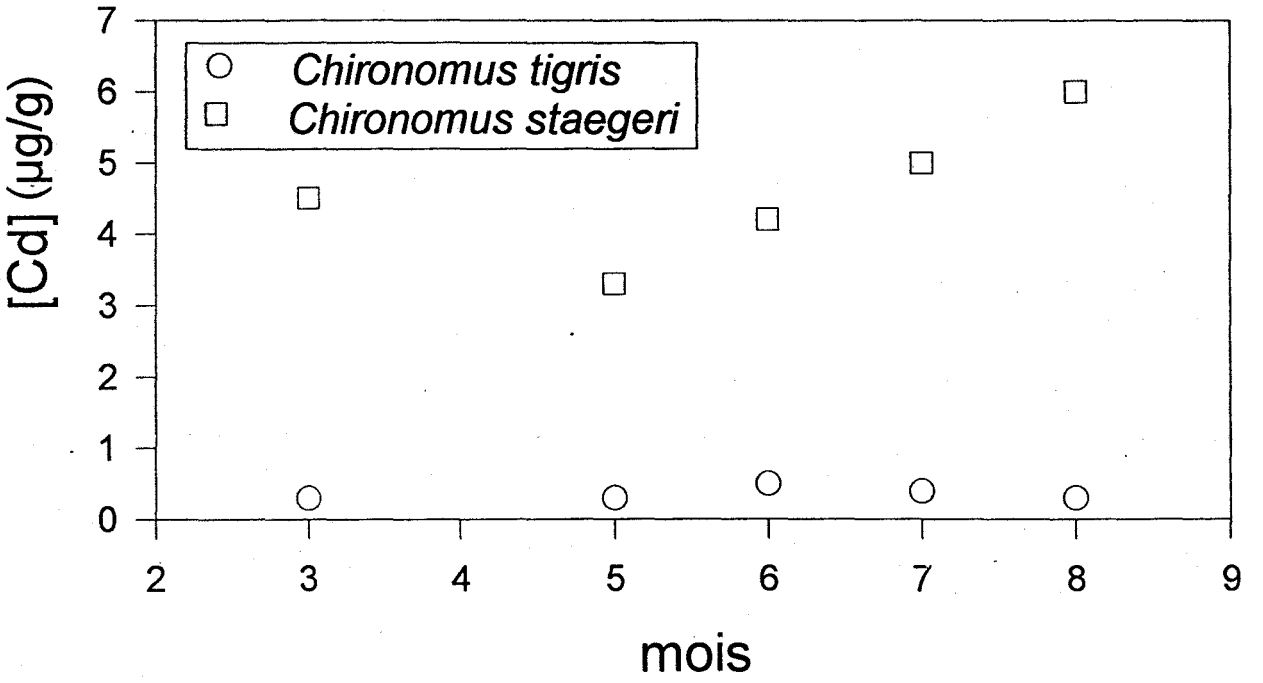


Figure 5.6.1. Variations temporelles de la concentration de Cd dans des larves de deux espèces de *Chironomus* provenant d'une profondeur de 8 m au lac St-Joseph, Québec.

6. CONCLUSIONS ET RETOMBÉES DU PROJET

Les métaux traces sont des polluants importants des milieux aquatiques, particulièrement en régions minières. Les gestionnaires responsables des milieux contaminés ont besoin de modèles prédictifs qui leur permettront d'évaluer la disponibilité des métaux pour les êtres vivants qui y habitent. Dans le présent projet, nous avons évalué la possibilité d'utiliser des insectes aquatiques comme bioindicateurs du niveau de contamination des lacs en métaux. Pour établir les relations entre les concentrations de métaux dans les insectes et celles dans leur environnement, nous nous sommes appuyés sur des concepts théoriques. Nous avons vérifié que le modèle théorique résultant permet de bien prédire les concentrations de métaux dans les animaux aquatiques *in situ* pour un grand nombre de lacs. Les modèles théoriques s'avèrent, en général, supérieurs aux modèles purement empiriques qui sont moins performants en dehors de l'ensemble de données qui ont servi à leur élaboration.

Dans le développement d'un modèle théorique pour prédire la concentration de métaux traces chez des insectes aquatiques, nous avons supposé que:

- la réponse biologique aux métaux traces est fonction de la concentration du métal libre. Cette hypothèse est à la base du modèle dit de "l'ion libre" développé dans les années 70 et utilisé abondamment depuis pour expliquer les interactions métaux - organismes biologiques en laboratoire.
- qu'il y a compétition, pour des sites de transport, entre le métal trace étudié et d'autres cations incluant H^+.

Ces hypothèses ont été traduites en réactions d'équilibre pour décrire les interactions des cations au niveau des sites de transport biologiques et nous ont permis d'exprimer la concentration de métal chez un insecte en fonction de variables environnementales comme la concentration du métal libre et celle d'autres cations, incluant le proton. Ce modèle a été testé avec succès en nature pour un grand nombre de lacs de différents niveaux de contamination en métaux et de géochimie variée répartis dans une grande aire géographique (50 000 km^2) au Québec et en Ontario. Ces travaux représentent une des premières démonstrations de l'utilité du modèle de l'ion libre à l'extérieur du laboratoire.

Parmi les insectes récoltés, le prédateur *Chaoborus* et le mangeur de sédiments *Chironomus* ont particulièrement retenu notre attention parce qu'ils présentent certaines qualités de bons bioindicateurs, notamment:

- ils sont présents dans des lacs couvrant une grande gamme de pH et de concentrations en matière organique et en métaux traces;
- ces taxa ont la capacité d'accumuler les métaux traces sans présenter d'effets néfastes apparents;
- on peut obtenir suffisamment de tissus de ces animaux pour y effectuer les analyses de métaux;
- ils sont une source importante de nourriture pour les poissons, avec une possibilité de transfert trophique des métaux.

Les résultats les plus complets ont été obtenus pour l'insecte *Chaoborus* et pour le métal cadmium.

Dans le cas du métal cadmium (Cd) et de l'insecte *Chaoborus*, on a mis en évidence une compétition H^+-Cd^{2+} pour des sites de prise en charge. L'équation 6.1, qui prend explicitement en compte cette compétition, explique 86% de la variabilité de Cd chez *Chaoborus punctipennis*.

$$[\mathrm{Cd}(\textit{Chaoborus})] = 20500 \frac{[\mathrm{Cd}^{2+}]}{[\mathrm{H}^+] + (1.9\mathrm{x}10^{-6})} \qquad (6.1)$$

Cette équation devrait permettre d'évaluer le niveau de contamination en Cd (nM) d'une série de lacs en mesurant le pH ($[H^+]$) et la concentration de Cd (µg/g) chez *Chaoborus* (larves du 4e stade) provenant de ces lacs. D'après nos résultats, la récolte de larves à l'été est à éviter le plus possible, parce que leurs concentrations de métaux sont variables dans le temps. De plus, les larves y sont moins abondantes durant cette période. La récolte de ces larves dans la colonne d'eau la nuit permet d'éviter le tri laborieux des

sédiments et présente donc un avantage pour ce taxon. D'après nos résultats, la séparation des individus du genre *Chaoborus* jusqu'au niveau de l'espèce n'est pas un pré-requis à une prédiction efficace du Cd car les espèces peuvent être regroupées sans perdre de pouvoir prédictif (voir l'équation 5.1.3).

Des expériences en laboratoire, avec une chaîne trophique expérimentale, nous ont montré que la prise en charge de Cd par les larves de *Chaoborus punctipennis* se fait surtout à partir de leur nourriture. Des expériences préliminaires de terrain en mésocosmes confirment l'importance de la nourriture comme source de Cd pour *C. punctipennis.* Ces observations suggèrent que les sites biologiques où s'exerce la compétition H^+-Cd^{2+} se retrouvent sur des unités plus bas dans la chaîne trophique menant à *Chaoborus*. Ces résultats suggèrent aussi que le mouvement du Cd le long des chaînes trophiques est important, et que les modèles conçus pour expliquer les dynamiques et le destin des contaminants métalliques en milieu aquatique devraient en tenir compte.

Les larves de *Chaoborus* ne s'avèrent cependant pas des bioindicateurs utiles de l'état de contamination des milieux en Cu ou en Zn parce que leurs concentrations en Cu et Zn varient peu malgré de fortes variations de ces métaux dans leur environnement. Il semble y avoir régulation des concentrations internes de ces métaux essentiels chez *Chaoborus* lui-même ou chez des organismes plus bas dans la chaîne alimentaire menant à cet insecte.

Nous avons aussi exploré l'utilisation des larves d'un consommateur de sédiment, *Chironomus*, comme indicateur de l'état de contamination des milieux aquatiques. La faible bioaccumulation de Cd dans les lacs acides observée pour *Chaoborus* se produit également chez *Chironomus*. Tout comme pour *Chaoborus*, la prédiction des concentrations en Cd est nettement améliorée si on tient compte explicitement de la compétition des ions métalliques avec les ions H^+ pour les sites d'entrée biologiques. Cependant, nous n'arrivons pas à expliquer avec autant de succès que pour *Chaoborus* la concentration en Cd chez *Chironomus*. Nous prévoyons mieux l'expliquer en considérant explicitement les compétitions avec d'autres cations que H^+. Il faut mentionner aussi que les larves de *Chironomus* sont difficile à identifier jusqu'à l'espèce. Le fait de regrouper les espèces peut expliquer une partie de la variabilité inter-sites de

Cd observée pour ce genre. Par exemple, dans certains lacs nous avons identifié deux sortes de *Chironomus* qui ont des concentrations en Cd qui diffèrent d'environ un ordre de grandeur. Nous travaillons sur des méthodes permettant d'identifier plus finement ces larves. Ainsi, on pense pouvoir arriver à identifier les larves à des niveaux taxinomiques inférieurs au genre à partir d'observations morphologiques plus détaillés ainsi qu'à l'aide de techniques biochimiques simples.

Les larves de *Chironomus* semblent plus prometteuses que celles de *Chaoborus* à titre d'indicateurs des niveaux de contamination en Zn et Cu. Les concentrations larvaires de ces métaux essentiels s'étendent en effet sur une grande gamme. Dans le cas du Zn, les concentrations sont faibles chez les larves provenant de lacs acides. La prise en compte explicitement de la compétition H^+-Zn^{2+} permet de mieux expliquer la variabilité inter-sites de la concentration de Zn chez cet insecte. Cependant, nous n'avons pas encore d'informations sur la source principale (eau vs nourriture) de Zn chez cet animal.

Nous continuons de travailler sur d'autres taxa d'invertébrés pour lesquels nous possédons des mesures provenant de plusieurs lacs. Les animaux prometteurs sont le prédateur *Sialis* (mégaloptère), et les détritivores *Hexagenia* (éphémère), *Procladius* et *Glyptotendipes* (diptères). Nous comptons continuer à informer les responsables au Ministère de nos progrès à cet égard. Ces travaux feront éventuellement l'objet de conférences à des congrès nationaux et internationaux ainsi que de publications scientifiques.

Les besoins supplémentaires en recherche qui faciliteraient l'application du modèle théorique pour des activités de surveillance environnementale sont présentés ci-dessous.

Nos résultats actuels suggèrent qu'il y aurait compétition entre les ions Cd^{2+} et H^+ pour les sites de transport biologique du Cd. Cette compétition serait importante dans les lacs très acides (pH<5), où, par définition, les concentrations d'ions H^+ sont élevées. Dans ces lacs, les concentrations de plusieurs métaux traces pourraient également être élevées. De ce fait, nous avons vérifié l'importance des ions Zn^{2+} comme compétiteurs avec les ions Cd^{2+} pour les sites de prise en charge chez *Chaoborus*. D'après nos simulations, le Zn n'est pas un compétiteur efficace pour les sites biologiques de prise en charge du Cd. Cependant, cette conclusion est basée sur seulement trois lacs acides de la même région

minière (Sudbury). Pour tous ces lacs acides, les concentrations des ions H^+ et Zn^{2+} sont très élevées comparées aux autres lacs que nous avons échantillonnés. De ce fait, il est difficile de démontrer hors de tout doute que la faible bioaccumulation du Cd des animaux des lacs acides est dû à la compétition avec l'ion H^+ et non à celle des ions d'autres métaux traces comme le Zn. Pour faire la preuve de la prédominance des ions H^+, on doit échantillonner des lacs acides de d'autres régions minières où les rapports entre le Cd et les compétiteurs potentiels ne seront pas les mêmes. On peut ainsi envisager de briser la corrélation entre les ions H^+ et les ions métalliques afin de déterminer lequel des ions expliquera le mieux la faible bioaccumulation du Cd dans les lacs très acides.

Un deuxième axe de recherche serait de déterminer si notre modèle peut être appliqué aux proies de *Chaoborus*, les crustacées planctoniques. De plus, il serait intéressant de voir si on peut améliorer notre modèle en tenant compte du type de proies prédominantes dans chaque lac. Ces possibilités découlent du fait que, d'après nos résultats, la nourriture de *Chaoborus* est la source principale du Cd pour ces larves. Pour réaliser un tel projet de recherche, les mesures de Cd dans la communauté zooplanctonique devrait être fait pour une série de lacs. D'après nos résultats actuels, on peut émettre l'hypothèse que les concentrations du Cd chez l'ensemble des espèces de proies d'un lac devraient être reliée aux concentrations du Cd dans le milieu, tout comme pour le prédateur. Pour améliorer le modèle, les mesures du Cd peuvent être fait non seulement sur toute la communauté mais aussi sur les différentes sortes d'animaux (e.g., copépodes versus cladocères) dans le plancton durant la période de croissance maximale des larves (le printemps pour les larves de quatrième stade). Ces informations peuvent être jumelées avec des mesures de la composition de la diète des larves dans différents lacs pour voir si on peut améliorer le modèle en tenant compte des concentrations du Cd dans la nourriture des larves. En laboratoire, on peut tenter de mesurer le taux d'assimilation du Cd de différents types de proies pour mieux modéliser le transfert trophique du Cd. Ces informations supplémentaires sur les proies du *Chaoborus* ne sont pas obligatoires pour faire fonctionner le modèle mais qui peuvent servir à le raffiner.

D'autres informations sur les concentrations du Cd chez *Chaoborus* peuvent aussi être utiles pour l'emploi du modèle. Par exemple, on peut tenter de connaître le nombre de larves nécessaires pour obtenir un échantillon ayant une moyenne représentative de la population. De cette façon, la variabilité individuelle rencontrée dans une population

donnée serait connue. Jusqu'à maintenant, toutes nos informations portent sur des échantillons composites, c'est-à-dire, composés de plusieurs larves. Nous ne connaissons pas la variabilité dans la concentration du Cd chez les individus d'un même site.

7. DIFFUSION DES RÉSULTATS

7.1. Articles

Charbonneau P., Hare L., & Carignan R. **1996**. Using X-ray images and a contrasting agent to study the behavior of animals in soft sediments. Limnol. Oceanogr. (en revue interne).

Hare L. & Tessier A. **1996**. Predicting animal cadmium concentrations in lakes. Nature 380: 430-432 (copie ci-jointe).

Munger C. & Hare L. **1996**. The relative importance of water and food as cadmium sources to larvae of a predatory aquatic insect. Environ. Sci. Technol. (sous revue).

Munger C., Hare L., & Charest P.M. **1996**. The distribution of cadmium in the cladoceran *Ceriodaphnia dubia*. Aquat. Toxicol. (en préparation).

Tessier A., Fortin D., Belzile N., De Vitre R.R., & Leppard G.G. **1996**. Metal sorption to diagenetic iron and manganese oxyhydroxides and associated organic matter: Narrowing the gap between field and laboratory measurements. Geochim. Cosmochim. Acta 60: 387-404 (copie ci-jointe).

Tessier A., Carignan R., & Belzile N. **1994a**. Processes occurring near the sediment-water interface: emphasis on trace elements. pp. 141-178 dans: *Chemical and Biological Regulation of Aquatic Processes*, J. Buffle [Ed.], Lewis Publishers, Inc., Chelsea, MI.

Tessier A., Carignan R., & Belzile N. **1994b**. Reactions of trace elements near the sediment-water interface in lakes. pp. 129-152 dans: Transport and Transformation of Contaminants near the Sediment-Water Interface, J.V. DePinto, W. Lick, J.F. Paul [Eds.], Lewis Publishers.

7.2. Conférences

Croteau M.-N., Tessier A., & Hare L. **1997**. Predicting animal cadmium concentrations in nature using the free-ion activity model. American Society of Limnology & Oceanography, Santa Fe, New Mexico.

Munger C., Hare L., & Tessier A. **1997**. Water versus food as sources of cadmium to larvae of the insect *Chaoborus*. American Society of Limnology & Oceanography, Santa Fe, New Mexico.

Charbonneau P., Hare L., & Carignan R. **1996**. Burrowing behavior of benthic insects as revealed by X-ray images. Société Canadienne de Limnologie, Montréal, Québec.

Hare L., Tessier A., & Croteau M.-N. **1996**. Using the free-ion activity model to predict animal cadmium concentrations in nature. Aquatic Toxicity Workshop, Calgary, Alberta.

Hare L. & Tessier A. **1996**. Predicting animal cadmium concentrations in nature with the free-ion activity model. Société Canadienne de Limnologie, Montréal, Québec.

Munger C., Hare L., & Tessier A. **1996**. Water versus food as cadmium sources to larvae of the insect *Chaoborus*. Society of Environmental Toxicology & Chemistry (SETAC), Washington, D.C.

Munger C. & Hare L. **1996**. Food as a cadmium source to *Chaoborus* larvae. Société Canadienne de Limnologie, Montréal, Québec.

Tessier A. **1995**. Reactions of trace metals in lake sediments. Third International Conference on Transport, Fate and Effects of Silver in the Environment, Washington, D.C.

Hare L & Tessier A. **1994**. Modeling cadmium concentrations in aquatic insects. SETAC, Denver, Colorado.

Munger C. & Hare L. **1994**. Contributions relatives des sources de métaux pour la larve prédatrice *Chaoborus punctipennis*: eau vs nourriture. 62e Congrès de l'ACFAS

Tessier A. **1994**. Modeling metal concentrations in sediments and benthic organisms. Workshop on Metals in Sediments, CSIRO, Sydney, Australie.

Munger C. & Hare L. **1993**. Relative importance of water and food as trace metal sources to larvae of the aquatic insect *Chaoborus* (Diptera). 20e Colloque annuel de Toxicologie Aquatique, Québec, Québec.

8. RÉFÉRENCES

Belzile N., DeVitre R. & Tessier A. **1989**. *In situ* collection of diagenetic iron and manganese oxyhydroxides from natural sediments. Nature 340: 376-377.

Boyden C.R. **1977**. Effect of size upon metal content of shellfish. J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 51: 845-863.

Buffle J. **1988.** *Complexation Reactions in Aquatic Systems. An Analytical Approach.* Ellis Horwood Ltd.

Cain D.J. **& Luoma** S.N. **1986**. Effect of seasonally changing tissue weight on trace metal concentrations in the bivalve *Macoma balthica* in San Francisco Bay. Mar. Ecol. - Progr. Ser. 60: 209-217.

Campbell P.G.C. **& Stokes** P.M. **1985**. Acidification and toxicity of metals to aquatic biota. Can. J. Fish. Aquatic Sci., 42: 2034-2049.

Campbell P.G.C. **& Tessier** A. **1995**. Ecotoxicology of metals in the aquatic environment - Geochemical aspects. pp. 11-57 dans: *Ecotoxicology: A hierarchical treatment*, M.C. Newman et C.H. Jagoe [Eds], Lewis Publishers, Inc., Chelsea.

Carignan R. **1984**. Interstitial water sampling by dialysis: Methodological notes. Limnol. Oceanogr. 29: 667-670.

Carignan R., Rapin F. & Tessier A. **1985**. Sediment porewater sampling for metal analysis: A comparison of techniques. Geochim. Cosmochim. Acta, 49: 2493-2497.

Carignan R., St-Pierre S, & Gächter R. **1994**. Use of diffusion samplers in oligotrophic lake sediments: effects of free oxygen in sampler material. Limnol. Oceanogr. 39: 468-474.

Cusimano R.F., Brakke D.F., & Chapman G.A. **1986**. Effect of pH on the toxicities of cadmium, copper, and zinc to steelhead trout (*Salmo gairdneri*). Can. J. Fish. Aquatic Sci., 43: 1497-1503.

Förstner U. **& Wittmann** G.T.W. **1981**. Metal Pollution in the Aquatic Environment, Springer.

Fortin D., Leppard G.G., & Tessier A. **1993**. Characteristics of lacustrine diagenetic iron oxyhydroxides. *Geochim. Cosmochim. Acta* 57: 4391-4404.

Glemet H.C., Bernatchez L., Hare L., & Blier P. **1995**. Utilisation de la génétique moléculaire pour l'identification des larves du genre Chironomus. Congrès de la Société canadienne de zoologie, Rimouski, Québec.

Hare L., Campbell P.G.C., Tessier A. & Belzile N. **1989**. Gut sediments in a burrowing mayfly (Ephemeroptera, *Hexagenia limbata*): their contribution to animal trace

element burdens, their removal, and the efficacy of a correction for their presence. Can. J. Fish. Aquatic Sci., 46: 451-456.

Hare L. **& Carter** J.C.H. **1987**. Zooplankton populations and the diets of three *Chaoborus* species (Diptera, Chaoboridae) in a tropical lake. Freshwater Biol. 17: 275-290.

Hare L. & **Tessier** A. **1996**. Predicting animal cadmium concentrations in lakes. Nature 380: 430-432.

IJC. 1988. Options for the Remediation of Contaminated Sediments in the Great Lakes. Sed. Sub-Committee, Water Program Com., Great Lakes Water Qual. Bd, Intern. Joint Commisson, 78 pp.

LaRow E.J. **& Marzolf** G.R. **1970**. Behavioural differences between 3rd and 4th instars of *Chaoborus punctipennis* Say. Amer. Midland Naturalist 84: 428-436.

Mason A.Z. **& Jenkins** K.D. **1995**. Metal detoxification in aquatic organisms. Dans: Metal Speciation and Bioavailability in aquatic systems (Tessier A. & Turner D.R., eds). Wiley.

Moore M.V. **1988**. Differential use of food resources by the instars of *Chaoborus punctipennis*. Freshwater Biol. 19: 249-268.

Morel F.M.M. **1983**. Principles of Aquatic Chemistry, Wiley.

Papelis C., Hayes K.F. & Leckie J.O. **1988**. HYDRAQL: A Program for the Computation of Chemical Equilibrium Composition of Aqueous Batch Systems Including Surface Complexation Modeling of Ion Adsorption at the Oxide/Solution Interface. Stanford University Dept. Civil Eng. Tech. Rep. 306.

Tessier A. **1995**. Reactions of trace metals in lake sediments. Conférence invitée à "Third International Conference on Transport, Fate and Effects of Silver in the Environment", Washington, D.C.

Tessier A., Carignan R., & Belzile N. **1994a**. Processes occurring near the sediment-water interface: emphasis on trace elements. pp. 141-178 dans: *Chemical and Biological Regulation of Aquatic Processes*, J. Buffle [Ed.], Lewis Publishers, Inc., Chelsea, MI.

Tessier A., Carignan R., & Belzile N. **1994b**. Reactions of trace elements near the sediment-water interface in lakes. pp. 129-152 dans: Transport and Transformation of Contaminants near the Sediment-Water Interface, J.V. DePinto, W. Lick, J.F. Paul [Eds.], Lewis Publishers.

Tessier A., Carignan R., Dubreuil B., & Rapin F. **1989**. Partitioning of zinc between the water column and the oxic sediments in lakes. Geochim. Cosmochim. Acta 53: 1511-1522.

Tessier A., Couillard Y., Campbell P.G.C., & Auclair J.C. **1993**. A model for the partitioning of Cd in oxic lake sediments and its bioaccumulation by the freshwater bivalve *Anodonta grandis*. Limnol. Oceanogr., 38: 1-17.

Tessier A., Fortin D., Belzile N., De Vitre R.R., & Leppard G.G. **1996**. Metal sorption to diagenetic Fe and Mn oxyhydroxides and associated organic matter: Narrowing the gap between field and laboratory measurements. Geochim. Cosmochim. Acta 60: 387-404.

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. Comp. Geosci. 20: 973-1023.

ANNEXE

Publications ci-jointes:

1. Hare L. & Tessier A. 1996. Predicting animal cadmium concentrations in lakes. Nature 380: 430-432.

2. Tessier A., Fortin D., Belzile N., De Vitre R.R., & Leppard G.G. 1996. Metal sorption to diagenetic iron and manganese oxyhydroxides and associated organic matter: Narrowing the gap between field and laboratory measurements. Geochim. Cosmochim. Acta 60: 387-404.

Predicting animal cadmium concentrations in lakes

Landis Hare & André Tessier

Reprinted from Nature, Vol. 380, April 4, 1996

Predicting animal cadmium concentrations in lakes

Landis Hare & André Tessier

INRS-Eau, Université du Québec, Sainte-Foy, Québec G1V 4C7, Canada

HUMAN activities have greatly increased the flux of many potentially toxic metals to aquatic ecosystems[1]. The development and implementation of effective remedial measures depend on our ability to predict the fate and effects of metals in these systems. Models based on sound physical-chemical and biological principles, such as the free-ion activity model[2-5], have shown great potential as predictive tools. This model has been effective in explaining the central role of the free-ion concentration (or activity) as a regulator of interactions (uptake, toxicity) between metals and aquatic organisms[2,3]. It postulates that the biological effects of metals are best predicted by the activity of the free metal ion, rather than by total metal concentration. Because this model was developed in the laboratory under unnatural experimental conditions, it must be validated in field situations before being generally used in nature[3]. We report here that Cd concentrations in an indigenous aquatic insect larva, *Chaoborus punctipennis*, are best described by the free-ion activity model, provided that competition for biological uptake sites between hydrogen ions and free cadmium ions, as well as cadmium complexation by natural organic matter, are explicitly taken into account. Our results suggest that the free-ion model would provide an effective theoretical framework for the use of animals as indicators of metal contamination in nature.

Water samples and larvae of *C. punctipennis* (Say), a widespread nocturnal predator of lake plankton[6], were collected from

23 lakes in the provinces of Ontario and Québec, Canada (Fig. 1 and Table 1). If Cd complexation with dissolved humic substances is ignored, chemical speciation computer programs predict that > 94% of the aqueous Cd in the study lakes would be present as the free Cd ion (complexation by inorganic ligands such as Cl^- and SO_4^{2-} is small in these lakes). These estimates of free Cd ion concentrations ($[Cd^{2+}]^*$) were not strongly related to Cd concentrations in *C. punctipennis* larvae ($[Cd]_{Chaob}$; Fig. 2*a*, $r^2 = 0.13$, $P > 0.1$). The most striking aspect of the weak relationship between $[Cd^{2+}]^*$ and $[Cd]_{Chaob}$ is the position of the three most acidic lakes (pH < 5.0; filled symbols in Fig. 2*a*), in which Cd concentrations in larvae are low despite relatively high $[Cd^{2+}]^*$.

Considering the tenets of the free-ion model, we considered that in the more acidic lakes hydrogen ions would effectively compete with cadmium ions at biological uptake sites. It has been shown in the laboratory that, for a given free metal ion concentration, hydrogen ions reduce both the toxicity of Cd to fish[7] and the uptake of Cu, Pb and Zn by algae[8] and bacteria[9]. A simple representation of Cd–proton competition for a biological uptake site (≡X) is:

$$Cd^{2+} + \equiv X = \equiv XCd; \quad K = [\equiv XCd]/[Cd^{2+}][\equiv X] \qquad (1)$$

$$\equiv XH = \equiv X + H^+; \quad K_a = [\equiv X][H^+]/[\equiv XH] \qquad (2)$$

where charges on the sites are omitted for simplicity and K and K_a are equilibrium constants. The total concentration of uptake sites is given by:

$$[X]_T = [\equiv XH] + [\equiv X] + [\equiv XCd] \qquad (3)$$

which, if combined with the expressions for the equilibrium constants in equations (1) and (2) and assuming that only a small fraction of the sites is occupied by Cd, gives

$$[\equiv XCd] = \frac{KK_a[X]_T}{[H^+] + K_a}[Cd^{2+}] \qquad (4)$$

If we assume that Cd accumulated by *C. punctipennis* is proportional to $[\equiv XCd]$, that is $[Cd]_{Chaob} = k[\equiv XCd]$, combining this relation with equation (4) gives

$$[Cd]_{Chaob} = F\frac{[Cd^{2+}]}{[H^+] + K_a} \qquad (5)$$

where $F(= kKK_a[X]_T)$ is a constant specific to *C. punctipennis*. As expected, prediction of Cd in larvae is substantially improved when H^+ competition with Cd^{2+} for biological uptake sites is taken into account (Fig. 2*b*; $r^2 = 0.66$, $P < 0.001$). The values of K_a and F, as defined in equation (5), were determined by least-squares optimization.

Although our predictive capacity is now much greater, 34% of the variability between Cd concentrations in the animals and in their environment remains unexplained. Some of this variability could be due to the influence of dissolved organic matter on Cd speciation, an interaction that has been very difficult to quantify and thus has tended to be ignored. We used the Windermere humic aqueous model (WHAM[10]) to address this problem. Concentrations of fulvic and humic acids required as input data to the WHAM 1.0 computer code were estimated from our measure-

TABLE 1 Concentrations of dissolved constituents and Cd in *Chaoborus*

Lake	Region	$[Cd]_{Chaob}$ ($\mu g\,g^{-1}$)	[Cd] (nM)	[Zn] (nM)	[Ca] (μM)	[Mg] (μM)	$[C_{org}]$ ($mg\,l^{-1}$ C)	pH
Adeline	R.-Noranda	2.88	0.29	9	197	94	5.57	7.26
Bird	Muskoka	0.24	0.19	44	107	35	5.70	6.37
Bousquet	R.-Noranda	6.27	2.37	117	106	50	14.6	6.38
Bigwind	Muskoka	0.94	0.38	–	94	40	6.50	6.04
Caron	R.-Noranda	8.89	3.14	228	245	100	13.3	7.11
Chub	Muskoka	1.94	0.32	104	47	24	7.42	5.50
Clearwater	Sudbury	3.99	4.90	346	137	57	3.40	4.79
Crooked	Sudbury	1.43	7.12	372	77	44	2.52	4.58
Crowley	Sudbury	13.3	2.18	152	69	38	1.29	5.86
Dufresnoy	R.-Noranda	1.11	0.31	10	233	107	5.50	7.24
Dufay	R.-Noranda	1.76	0.32	16	89	71	10.6	6.55
Heva	R.-Noranda	1.88	0.67	45	52	39	12.0	6.18
Hélène	R.-Noranda	0.24	0.15	8	500	239	6.01	7.18
Joannès	R.-Noranda	2.60	1.13	42	188	80	9.26	7.27
Marlon	R.-Noranda	4.80	1.43	57	49	300	9.06	7.10
Plastic	Muskoka	1.34	0.54	123	52	21	3.74	5.94
Ril	Muskoka	0.32	0.20	89	113	35	5.68	6.02
St. Joseph	Québec	0.65	0.15	46	97	19	2.94	6.63
Sunken	Muskoka	0.72	0.25	71	52	21	6.26	6.12
Tantaré	Québec	0.35	0.40	138	47	24	4.02	5.65
Tilton	Sudbury	7.77	1.93	168	97	46	6.17	5.81
Vaudray	R.-Noranda	5.72	1.19	69	89	52	6.31	6.58
Wavy	Sudbury	2.47	2.23	223	52	30	3.07	4.62

Mean concentrations of cadmium in larvae of *Chaoborus punctipennis*, $[Cd]_{Chaob}$, and dissolved in water from the 23 study lakes. Also indicated are total dissolved concentrations of the trace metal Zn, the major ions Ca and Mg, and organic carbon, $[C_{org}]$, as well as pH. *Chaoborus punctipennis* larvae were collected during the daytime from littoral lake sediments. Live final instar larvae were held in lake water to defecate their gut contents, then pooled into 3–5 replicate samples (most lakes) of 10–20 individuals each and treated for Cd analysis[17]. Water was collected in dialysis samplers[18], placed near the collection site for larvae, for the measurement of pH, inorganic and organic carbon, major ions (Ca, Mg, Na, K, Cl, SO_4), and trace metals (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn); values for each lake are generally the mean of 15 measurements, that is, five samples at 1-cm intervals above the sediment–water interface from each of three dialysis samplers. Cadmium in water and animal samples was measured by flameless atomic-absorption spectrophotometry.

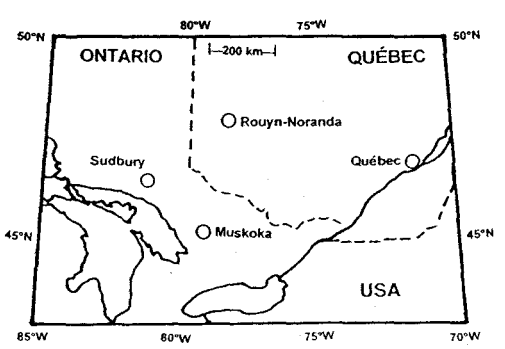


FIG. 1 Locations (○) of 23 eastern Canadian lakes in which measurements were made of cadmium in water and in larvae of the dipteran insect *Chaoborus punctipennis*. Lakes were chosen to encompass a wide range of chemical conditions (Table 1). Study lakes in the mining areas of Sudbury and Rouyn-Noranda are subject to relatively high atmospheric metal deposition from nearby smelters, whereas those in the Muskoka and Quebec City areas are far from mining activities. Insect larvae of the same developmental stage (~ 10 months old) were sampled from all lakes at the same time of year (springtime 1987–94) to minimize possible differences in the age and Cd-exposure history of larvae from the various lakes. The results of an intensive temporal study on [Cd] in *C. punctipennis* from one of our study lakes[19] suggest that $[Cd]_{Chaob}$ is fairly stable during the 6 months before our spring sampling time.

ments of dissolved organic carbon ($[C_{org}]$), by assuming that: humic substances contain 50% carbon[11]; the ratio of humic to fulvic acids is 1:9[12]; and all dissolved organic carbon is present as humic substances (such as humic and fulvic acids). The WHAM model predicts that Cd complexation is dominated by humic substances in our study lakes, and that the free Cd ion ($[Cd^{2+}]$) represents from 17 to 88% of the total dissolved Cd present. Support for the free-ion model comes from the fact that unexplained variability in $[Cd]_{Chaob}$ among lakes is reduced by more than half when Cd complexation by dissolved organic matter is taken into account, that is, using $[Cd^{2+}]$ ($r^2 = 0.86$, $P < 0.001$; Fig. 2*c*) rather than $[Cd^{2+}]^*$ ($r^2 = 0.66$, $P < 0.001$; Fig. 2*b*).

In the WHAM model calculations, we assumed that all dissolved organic carbon was present as humic substances. However, in some lakes humic substances represent from 60 to 80% of C_{org}[13-15]. If we assume a value of 60% humic substances, the percentage of the explained variance of the regression shown in Fig. 2*c* is not altered and the values of the constants F and K_a change only slightly. Note that the relationship between $[Cd^{2+}]$ and $[Cd]_{Chaob}$ is not statistically significant ($r^2 = 0.03$, $P > 0.4$, regression not shown) unless Cd–proton competition is taken into account. Mention should also be made that the data point for the lake with the highest $[Cd]_{Chaob}$ (Crowley Lake; Table 1) has a strong influence on the percentage of explained variability, that is, with this data point removed the r^2 values for the regressions in Fig. 2*b* and *c* change from 0.66 to 0.79 (Fig. 2*b*) and 0.86 to 0.80 (Fig. 2*c*). There is, however, no justification for ignoring the data point corresponding to this low dissolved organic carbon lake. The influence of calcium ions as potential competitors with H^+ and Cd^{2+} for uptake sites on *C. punctipennis*[16] was marginal (explained variability increased by only 2% with the inclusion of calcium terms in equation (5); modified equation not shown). A similar type of correction for possible competition between Cd^{2+}, H^+ and Zn^{2+} for Cd-uptake sites also provided only a small increase in predictive power (4%), at the cost of increased complexity (two additional adjustable parameters in equation (5)).

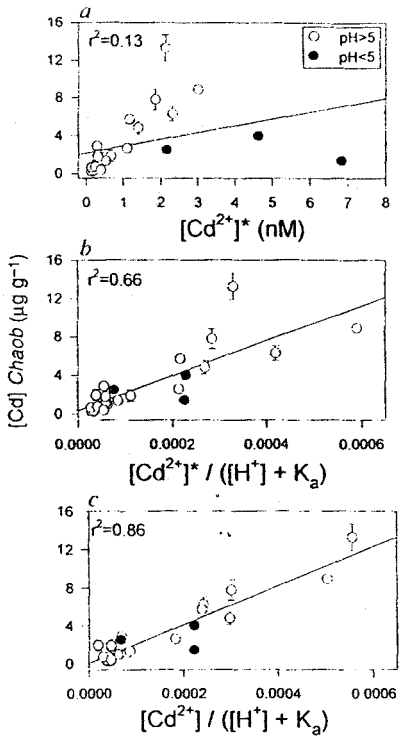


FIG. 2 Relationships between cadmium concentrations in water and in larvae of the insect *Chaoborus punctipennis* ($[Cd]_{Chaob}$) collected from 23 eastern Canadian lakes; closed symbols, pH < 5.0; open symbols, pH > 5.0. Values for $[Cd]_{Chaob}$ are means ±s.d. ($\mu g\,g^{-1}$ dry weight). *a*, Insect Cd versus computed free Cd ion concentrations if Cd complexation with humic substances is not taken into account ($[Cd^{2+}]^*$). *b*, Insect Cd versus $[Cd^{2+}]^*$, normalized for hypothesized competition between hydrogen and free Cd ions for biological uptake sites (see equations (1–5)). *c*, As in *b* except that complexation by dissolved organic substances was considered in the calculation of the free Cd ion ($[Cd^{2+}]$). The chemical speciation model WHAM 1.0, used to account for complexation with humic substances, has been validated using measurements from a range of different environments and investigators[20]; the database (equilibrium constants, diffuse layer parameters, molecular masses of fulvic and humic acids) was not changed for our calculations of $[Cd^{2+}]$. The values (±s.e.) of the slope (= F in equation (5)) and the y intercept of the regression in *c* are $20.500 \pm 1.800\,\mu g\,g^{-1}$ and $0.04 \pm 1.3\,\mu g\,g^{-1}$, respectively, whereas $K_a = 1.9 \times 10^{-6}\,mol\,l^{-1}$. Our estimate of K_a is close to the value ($4 \times 10^{-6}\,mol\,l^{-1}$) reported for fish gill binding sites in a laboratory study of H^+–Cd^{2+} competition[7].

The predictive power of the relationship between solution variables (such as $[Cd^{2+}]$, $[H^+]$) and $[Cd]_{Chaob}$ could probably be improved further if: the concentrations of fulvic and humic acids could be measured directly rather than assuming they make up certain fixed proportions of all of the organic carbon present; and the source of Cd for *C. punctipennis* could be determined. Knowledge of the Cd source could help to determine whether the hypothesized competition between H^+ and Cd^{2+} occurs for uptake sites on the predator or for sites on organisms at lower levels in the food chain leading to *C. punctipennis*. If Cd uptake from food is important, then differences in prey types among lakes could influence $[Cd]_{Chaob}$.

Our data suggest that cadmium concentrations in an aquatic insect are modulated by both Cd complexation with organic matter as well as by competition between free cadmium and hydrogen ions for biological uptake sites. These results support the laboratory-based free-ion model as an effective tool in predicting metal concentrations in aquatic organisms in nature. A practical consequence of our study is the demonstration that larvae of *C. punctipennis* could be used as a 'sentinel' for biologically relevant cadmium concentrations in lake water, such as $[Cd^{2+}]$. Use of this species and other congeners as biomonitors would be helped by the fact that the genus has a global distribution and is often common in lakes covering a wide range of pH, organic matter and metal concentrations (as in our study). The deterministic nature of the free-ion model suggests that it should be effective in predicting the concentrations of trace metals in both freshwater and marine organisms. □

Received 7 August 1995; accepted 2 February 1996.

1. Salomons, W. & Forstner, U. *Metals in the Hydrosphere* (Springer, Berlin, 1984).
2. Sunda, W. G. *Biol. Oceanogr.* **6**, 411–442 (1992).
3. Campbell, P. G. C. *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems* (eds Tessier, A. & Turner, D.) 45–102 (Wiley, New York, 1995).
4. Morel, F. M. M. & Hering, J. G. *Principles and Applications of Aquatic Chemistry* (Wiley, New York, 1993).
5. Sunda, W. G. & Huntsman, S. A. *Limnol. Oceanogr.* **28**, 924–934 (1983).
6. Yan, N. D., Nero, R. W., Keller, W. & Lasenby, D. C. *Holarctic Ecol.* **8**, 93–99 (1985).
7. Cusimano, R. F., Brakke, D. F. & Chapman, G. A. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **43**, 1497–1503 (1986).
8. Xue, H.-B. & Sigg, L. *Water Res.* **24**, 1129–1136 (1990).
9. Gonçalves, M. L. S., Sigg, L., Reutlinger, M. & Stumm, W. *Sci. Total Environ.* **60**, 105–119 (1987).
10. Tipping, E. *Comp. Geosci.* **20**, 973–1023 (1994).
11. Buffle, J. *Complexation Reactions in Aquatic Systems: An Analytical Approach* (Ellis-Norwood, Chichester, 1988).
12. Malcolm, R. L. *Humic Substances in Soil, Sediment, and Water: Geochemistry, Isolation, and Characterization* (eds Aiken, G. R. *et al.*) 181–209 (Wiley, New York, 1985).
13. Reuter, J. H. & Perdue, G. M. *Geochim. cosmochim. Acta* **41**, 325–334 (1977).
14. Malcolm, R. L. *Humic Substances in the Aquatic and Terrestrial Environment* (eds Boren, H. & Allard, B.) 369–391 (Wiley, New York, 1991).
15. Boerschke, R. C., Galle, E. A., Belzile, N., Gedge, R. N. & Morris, J. R. *Can. J. Chem.* (submitted).
16. Stephenson, M. & Mackie, G. L. *Aquat. Toxicol.* **15**, 53–62 (1989).
17. Hare, L., Carignan, R. & Huerta-Diaz, M. A. *Limnol. Oceanogr.* **39**, 1653–1668 (1994).
18. Carignan, R., Rapin, F. & Tessier, A. *Geochim. cosmochim. Acta* **49**, 2493–2497 (1985).
19. Hare, L. & Campbell, P. G. C. *Freshwater Biol.* **27**, 13–27 (1992).
20. Tipping, E. & Hurley, M. A. *Geochim. cosmochim. Acta* **56**, 3627–3641 (1992).

ACKNOWLEDGEMENTS. For their technical assistance, we thank M.-R. Doyon and R. Rodrigue, and for their comments on the manuscript, we thank J.-C. Auclair, P. G. C. Campbell, R. De Vitre, M. Twiss and L. A. Warren. Funding is acknowledged from Human Resources Canada, the National Science and Engineering Research Council of Canada, the Ministère de l'Environnement et de la Faune du Québec, and the US Environmental Protection Agency.

Pergamon

Geochimica et Cosmochimica Acta, Vol. 60, No. 3, pp. 387–404, 1996
Copyright © 1996 Elsevier Science Ltd
Printed in the USA. All rights reserved
0016-7037/96 $15.00 + .00

0016-7037(95)00413-0

Metal sorption to diagenetic iron and manganese oxyhydroxides and associated organic matter: Narrowing the gap between field and laboratory measurements

A. TESSIER,[1] D. FORTIN,[2] N. BELZILE,[3] R. R. DEVITRE,[1] and G. G. LEPPARD[4]

[1]INRS-Eau, Université du Québec, C.P. 7500, Sainte-Foy, Québec G1V 4C7, Canada
[2]Department of Microbiology C.B.S., University of Guelph, Guelph, Ontario N1G 2W1, Canada
[3]Department of Chemistry and Biochemistry, Laurentian University, Ramsey Lake Road, Sudbury, Ontario P3E 2C6, Canada
[4]National Water Research Institute, Aquatic Ecosystem Protection Branch, Burlington, Ontario L7R 4A6, Canada

(*Received July* 6, 1995; *accepted in revised form November* 11, 1995)

Abstract—Diagenetic Fe and Mn oxyhydroxides were isolated in situ by vertically inserting inert collectors into the sediments of two geochemically different lakes located near Sudbury, Ontario. X-ray diffraction and electron microscopic analyses indicated that the Fe-rich material collected was predominantly ferrihydrite and poorly crystallized lepidocrocite, while the Mn-rich material was a mixture of poorly crystallized Mn oxyhydroxides. Conditional adsorption constants ($K_{Fe\text{-}M}$ and $K_{Mn\text{-}M}$) were calculated using the concentrations of metals (Ca, Cd, Cu, Mg, Ni, Pb, Zn) associated with the Fe- and Mn-rich material and the measured dissolved concentrations of these metals. Comparison of these in situ derived $K_{Fe\text{-}M}$ and $K_{Mn\text{-}M}$ values were made with: (1) the hydrolysis constants of the metals; (2) laboratory-derived intrinsic surface complexation constants obtained for adsorption of these metals on well-characterized Fe and Mn oxyhydroxides, and (3) predicted $K_{Fe\text{-}M}$ and $K_{Mn\text{-}M}$ values determined using the surface complexation model under the geochemical conditions observed in the lakes. Complexation of these metals with adsorbed natural organic matter was also compared to metal complexation with dissolved natural organic matter. The results are consistent with the scenario that trace metals bind directly to the OH groups of the Fe and Mn oxyhydroxides in circumneutral McFarlane Lake and to the functional groups of organic matter adsorbed on Fe oxyhydroxides in the more acidic (pH = 4.8) Clearwater Lake. Alkaline earth metals Ca and Mg bind, presumably as outer-sphere complexes, to the organic coatings. Our results provide support for the argument that laboratory-derived adsorption datasets may be useful for predicting metal adsorption in the field.

1. INTRODUCTION

Recognition of the important role played by oxyhydroxides in trace metal sorption in natural aquatic systems has led to the development of several adsorption models. The most widely accepted of these models is the surface complexation model (SCM), an extension of the theory of complexation in solution to surface ligands (Schindler et al., 1976; Stumm et al., 1976). An advantage of the SCM over more empirical models is that it allows predictions to be made over a wide range of conditions based on fewer calibration datasets. Several studies have considered the possibility of using the adsorption database determined in laboratory studies with the SCM to predict trace element behavior in natural oxidized sediments (Dzombak and Morel, 1990; Luoma, 1986; Luoma and Davis, 1983; Smith and Jenne, 1991). Before this can be done, however, more direct evidence on the nature of the association of metals with the natural Fe and Mn oxyhydroxides (e.g., direct binding with the surface hydroxyl groups or formation of ternary complexes with natural organic matter bound to the oxyhydroxides) is required. Furthermore, the applicability of laboratory-determined binding constants to field situations must be evaluated before this approach can be used with some confidence in natural aquatic systems. In this paper, we refer to oxides and hydroxides collectively as oxyhydroxides.

Porewater concentration profiles of Fe and Mn generally indicate that Fe and Mn are highly mobile in sediments, due to depth fluctuations in sediment redox potential, and suggest that they often precipitate close to the sediment-water interface (Davison et al., 1991; Belzile and Tessier, 1990; Davison, 1993). In agreement with these observations, vertical profiles of total Fe and Mn concentrations in sediment cores often display maximum concentrations near the sediment-water interface, and show that diagenetically formed Fe and Mn oxyhydroxides constitute a significant proportion of the total Fe and Mn oxyhydroxides sedimentary pool (Carignan and Nriagu, 1985; Fortin et al., 1993). In the present study, we investigate the nature of trace (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn) and alkaline earth (Ca, Mg) metal binding to diagenetic Fe and Mn oxyhydroxides, using in situ techniques, and evaluate the capacity of laboratory-derived SCM intrinsic constants (and other surface characteristics) to predict the observed metal composition of the diagenetic material obtained in the field.

2. METHODOLOGY

2.1. Sampling

Samples were collected from acidic Clearwater (pH = 4.79; 46°22′N, 81°03′W) and circumneutral McFarlane (pH = 7.40; 46°25′N, 80°57′W) lakes, which both lie on the Precambrian Shield and are located about 15 km south of the mining (Ni, Cu) centre of Sudbury, Ontario. Inputs of trace metals to these lakes occur predominantly by atmospheric deposition from the nearby smelter. Samples were collected at littoral sites in both lakes (at depths of 5 and 7 m in Clearwater and McFarlane, respectively), where the thickness of the oxic sediment layers tends to be greater than in the profundal zone.

2.1.1. *Interstitial and overlying waters*

Overlying water and sediment porewater samples (5 cm above and below the sediment-water interface) were collected on two occasions

(August 1987 and September 1988) in both lakes using in situ diffusion samplers (peepers; 1 cm vertical resolution; 2 separate 4 mL chambers in each row; Hesslein, 1976; Carignan et al., 1985). The peepers were filled with demineralized water and held under a nitrogen atmosphere for at least 72 h in plexiglass cylinders filled with demineralized water prior to being inserted vertically in the lake sediments (3 peepers at each site). After a two-week equilibration period in situ, the peepers were individually retrieved by divers and sampled immediately. The samples for Ca, Mg, Na, K, Fe, and Mn and trace metals (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn) were collected from the first chamber of each row using a micropipette to pierce the membrane (Gelman HT-200; 0.2 μm nominal pore size) and transfer the samples directly into prewashed and pre-acidified (30 μL of 1 N Ultrex HNO_3, final pH < 2.5) Teflon^R vials. From the second chamber of each row, samples were collected for pH (1 mL kept in glass syringes), inorganic and organic carbon (1 mL injected through a septum into pre-evacuated glass tubes), and sulfate and chloride (1 mL in polypropylene tubes). On several occasions during the summer seasons, water samples were also collected by divers at the two sites with a clean polyethylene bottle a few cm above the sediment-water interface for pH measurement. The purpose of this measurement was to allow calculation of time-averaged pH values ($-\log_{10} \Sigma ([H^+]/n)$) for the summer period.

2.1.2. *Diagenetic Fe and Mn oxyhydroxides*

Teflon^R sheets (skived Teflon^R; 7.5 × 15 cm; 0.2 cm thick; 10 per site) were inserted vertically by divers to a depth of 10 cm in the sediments and left in place for 4 months in both lakes. These Teflon^R sheets act as collectors onto which Fe and Mn oxyhydroxides produced by diagenesis can deposit (Belzile et al., 1989). They have been shown to collect Fe oxyhydroxides of various morphologies and crystalline forms, depending on the lake, and do not change the morphology and X-ray diffraction pattern of the Fe particles collected (Fortin et al., 1993). Iron oxyhydroxide samples obtained by this in situ technique appear as a firmly fixed thin orange-brown band on each sheet (typically 0.5 cm wide and 5–20 μm thick for the littoral stations of the lakes studied), whereas Mn oxyhydroxides appear as a brownish, more diffuse layer located above the Fe deposit. The amount of material deposited is small (e.g., typically ≈ 500 μg of Fe oxyhydroxides per Teflon^R sheet), but oxyhydroxide samples collected this way have the advantage of being relatively free from contamination by the sediment matrix. The Teflon^R collectors were retrieved by divers, by gently pulling them from the sediments with no apparent smearing or loss of deposited material. The deposits were rinsed with lake water to remove any adhering macro-organisms and sediment particles and subsequently placed in closed polyethylene containers.

2.1.3. *Sediments*

Sediment cores were collected by divers, close to the peepers, using plexiglass tubes (9 cm diameter). The cores were extruded on shore and only the uppermost 0.5 cm, containing oxidized sediments, was retained. These samples were placed in 500 mL centrifugation polyethylene bottles half filled with lake water, and kept at 4°C during transport to the laboratory where they were kept frozen until analysis.

2.2. Analyses

2.2.1. *Porewater and overlying water*

The porewater samples were analysed for pH, Cd, Cu, Ni, Pb, Zn, Fe, Mn, Ca, Mg, Na, K, SO_4, and Cl and for organic and inorganic carbon. pH was measured in the field according to Carignan (1984). The metal concentrations were obtained by flame Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS) when possible (Fe, Mn, Ca, Mg, Na, K; Varian Techtron, Model 575ABQ or model Spectra AA-20) or, otherwise, by flameless AAS (Varian Techtron, Model 1275 or Spectra AA-30; GTA-95 or GTA-96). Sulfate and chloride concentrations were determined by ion chromatography (Dionex AutoIon, system 12); dissolved inorganic carbon was measured by gas chromatography (Carignan, 1984) and dissolved organic carbon by persulfate-ultraviolet oxidation, followed by conductometric determination of the CO_2 released.

2.2.2. *Electron microscopy and X-ray diffraction*

The samples for the various electron microscopic measurements were prepared as follows. A small piece of Teflon^R was cut from an area where Fe or Mn oxyhydroxide bands were observed. A few drops of the water soluble melamine resin "Nanoplast FB 101" (Bachuber and Frosch, 1983), prepared to obtain a medium hardness, was added to the Teflon^R piece so as to cover the oxyhydroxide deposit with a thin film of this resin. Hardening of the resin was carried out in two steps: 2 days at 40°C in the presence of a desiccant (Drierite, silica gel), and then 2 days at 60°C. This hydrophilic resin allows the impregnation of wet samples in a minimally perturbing manner (Perret et al., 1991). The "Nanoplast" film containing the Fe and Mn oxyhydroxides was detached from the Teflon surface by simply bending the sheet; it was then embedded either in a low-viscosity epoxy resin (Spurr, 1969), prepared to obtain a medium hardness and heated at 70°C for 7–9 h (Fe oxyhydroxide samples) or in Epon and heated for 9 h at 60°C (Mn oxyhydroxides samples). Ultrathin sections (70–110 nm thickness) were cut with a diamond knife mounted in an ultramicrotome (LKB Ultrotome III or Reichert-Jung Ultracut E), according to the approach outlined in Leppard et al. (1977). The section thickness was estimated by the interference color method of Peachey (1958). The sections were deposited on carbon-coated Cu or Ni grids having a support film (Formvar).

The morphological observations were performed in transmission mode on ultrathin sections with a JEOL (1200 Ex II TEMSCAN) or with a PHILIPS (EM 400T) electron microscope equipped with an X-ray detector. A field emission scanning transmission electron microscope (VG SEM HB5) was used for electron diffraction measurements on particles identified in the ultrathin sections; the convergent beam diffraction mode (CBD) was selected, with an electron beam size of 15–25 Å, an aperture of 20 μm, and a voltage of 100 kV. The camera constant length (L) was determined with an internal Au standard deposited on the samples (400–600 Å thickness). The diffraction patterns were recorded on a sensitive film (Kodak T-Max 400 ASA) with an exposure time of half a second.

The oxyhydroxide samples to be used for X-ray diffraction were air dried for a few hours at room temperature and then gently scraped off the Teflon^R collector with a stainless steel scalpel. X-ray diffraction (XRD) analyses were performed with a Rigaku diffractometer using Cu radiation (CuKα) for the Mn oxyhydroxides and a Gandolfi Camera using Fe radiation (FeKα) with a Mn filter (V = 40 kV and I = 16 mA) for the Fe oxyhydroxides. An exposure time of 3 h was necessary to detect the weak reflections from the material with the camera.

2.2.3. *Chemical analyses of the Fe-Mn deposits*

Areas containing either diagenetic Fe or Mn oxyhydroxides were cut from the Teflon^R sheets and the oxyhydroxides were dissolved separately in 50% HCl (0.2–0.6 mL; 48 h at room temperature), diluted to 2–6 mL and filtered through 0.4 μm Teflon^R filters. Iron, Mn, Ca, Mg, Na, K, and Zn concentrations in the extracts were measured by plasma emission spectrometry (Jarrell-Ash, Atomscan 25) when possible or otherwise by flameless AAS (Perkin-Elmer, SIMAA 6000; THGA), using the appropriate reagent matrices for standard preparation. The concentrations of trace metals Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn were also measured by flameless AAS. Organic carbon (C_{org}) concentrations in the extracts were determined by persulfate-ultraviolet oxidation, followed by conductometric determination on a Technicon autoanalyser of the CO_2 released.

2.2.4. *Sediments*

The surficial sediment samples were thawed and centrifuged (12,000 g; 30 min) to remove excess water; Cd, Cu, Ni, Pb, Zn, Fe, and Mn in the sediments were partitioned into the following empirical fractions defined by extracting sequentially a sediment sample with (1) $MgCl_2$, (2) an acetate buffer at pH 5, (3) a $NH_2OH \cdot HCl$ solution at room temperature, (4) a $NH_2OH \cdot HCl$ solution at 96°C, (5) a H_2O_2

solution, and (6) a mixture of hydrofluoric, nitric, and perchloric acids. Details of these procedures are given in an earlier publication (Tessier et al., 1989). We refer herein to the sum of metals in the five first fractions as "non-detrital" metals. Sediment organic carbon concentrations, $\{C_{org}\}$, were determined with a CNS analyzer (Carlo-Erba, model NA1500) after removal of inorganic carbon by acidification with H_2SO_4 0.5 M (15 min, 100 mL g^{-1} sediment dry wt).

3. RESULTS AND DISCUSSION

Porewater metal concentration profiles in the two study lakes have been discussed in previous papers (Carignan and Nriagu, 1985; Tessier et al., 1989; Huerta-Diaz et al., 1996). Mean concentrations of dissolved trace elements in water overlying the sediments, obtained from about thirty measurements (pooled data of three peepers per site; five compartments above the sediment-water interface; two dates) are shown in Table 1. For a given date, variabilities were somewhat lower than those indicated (pooled data for both dates), since trace metal concentrations in the lakes varied slightly between the two dates. These mean concentrations should be representative of those prevailing in the epilimnion of these lakes. As might have been anticipated, mean dissolved Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn concentrations in the overlying waters of acidic Clearwater Lake are higher than those observed in circumneutral McFarlane Lake (Table 1). In contrast, concentrations of these trace metals are higher in superficial sediments of McFarlane Lake than in those of Clearwater Lake (Table 1). In principle, the increased propensity of trace metals to associate with sediments as pH increases could reflect precipitation or sorption processes. Precipitation of pure solid phases is unlikely, however, since thermodynamic calculations indicate that the overlying waters of the two lakes are largely undersaturated with respect to carbonate or oxide phases of the trace metals. More likely, association of the trace metals with sediments can be described by adsorption processes, as discussed below.

3.1. Morphology, Crystallinity, and Chemical Composition of the Material Collected

The Fe-rich material collected on Teflon[R] sheets from McFarlane Lake essentially occurs as nodules (Fig. 1A), similar to particles found by Tipping et al. (1989), which have

Table 1. Mean concentrations (±SD) of total dissolved trace metal, major ions, alkalinity, organic C ($[C_{org}]$), and fulvic and humic acids in overlying waters, and concentrations of total M ({M}), non-detrital M† ($\{M\}_{nd}$), organic carbon ($\{C_{org}\}$) and Fe and Mn oxyhydroxides‡ ({Fe-ox}, {Mn-ox}) in the surficial sediments of Clearwater and McFarlane lakes.

	Clearwater	McFarlane
pH	4.79	7.40
major ions and dissolved organics		
[Ca] (μM)	137±19	410±39
[Mg] (μM)	57±5	214±8
[Na] (μM)	94±7	1430±60
[K] (μM)	15±4	33±8
[Mn] (μM)	4.5±0.5	0.07±0.02
[Alk] (μM)	0	660
$[SO_4]$ (μM)	175±10	227±14
[Cl] (μM)	267±7	1790±35
$[C_{org}]$ (mg C/L)	3.4±1.4	5.2±1.2
[FA] (mg/L)*	6.12	9.36
[HA] (mg/L)*	0.68	1.04
dissolved trace metals		
[Cd] (nM)	4.9±1.8	0.42±0.15
[Cu] (nM)	637±95	107±15
[Ni] (nM)	2550±320	897±236
[Pb] (nM)	9.9±2.7	1.0±0.3
[Zn] (nM)	346±58	12.5±5.3
total sedimentary trace metals		
{Cd} (nmol/g)	3.87	113
{Cu} (nmol/g)	11900	36700
{Ni} (nmol/g)	18800	102000
{Pb} (nmol/g)	580	1160
{Zn} (nmol/g)	1390	13600
oxyhydroxides and sedimentary carbon		
{Fe-ox} (μmol/g)	757	371
{Mn-ox} (μmol/g)	---	205
$\{C_{org}\}$ (μmol C/g)	5970	7880
non-detrital sedimentary trace metals		
$\{Cd\}_{nd}$ (nmol/g)	3.87	109
$\{Cu\}_{nd}$ (nmol/g)	5406	29860
$\{Ni\}_{nd}$ (nmol/g)	2580	74000
$\{Pb\}_{nd}$ (nmol/g)	410	778
$\{Zn\}_{nd}$ (nmol/g)	357	11860

†:sum of the metal concentrations extracted from the sediments in the empirical fractions 1 to 5.
‡:obtained by extracting sediments with $NH_2OH.HCl$.
*:[FA] and [HA] were estimated by assuming that: dissolved organic matter contain 50% C; all dissolved C_{org} is humic substances; the ratio [FA]:[HA] is 9:1 (Malcolm, 1985).

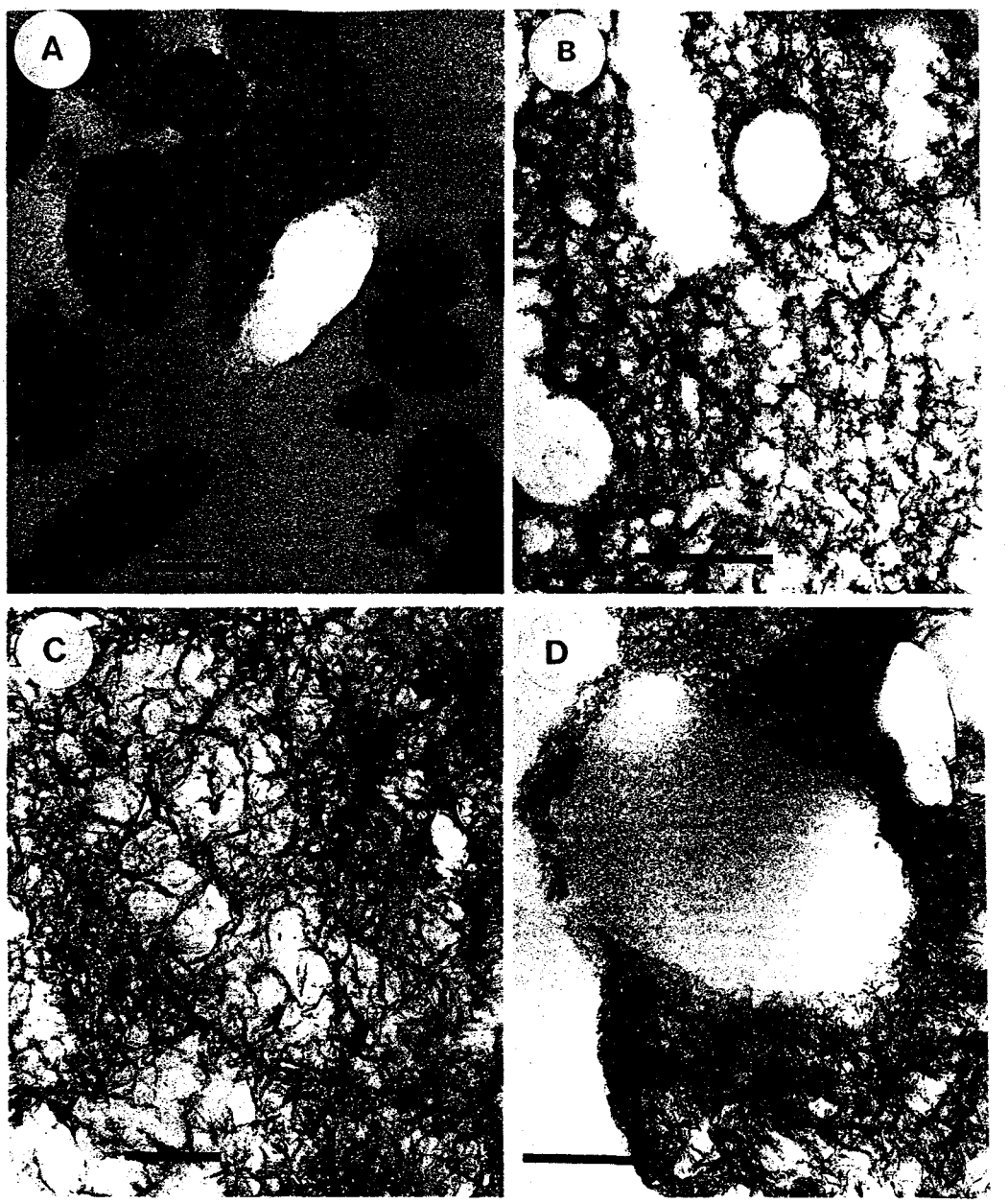


FIG. 1. Typical transmission electron micrographs of: (A) Fe oxyhydroxide deposits in McFarlane Lake that appear mainly as nodules identified as ferrihydrite (scale 200 nm); (B) Fe oxyhydroxides in Clearwater Lake which shows lath-type particles identified as lepidocrocite and holes identified as bacteria remains by staining (scale: 500 nm); (C) and (D) manganese oxyhydroxides in McFarlane Lake showing lath type particles (C) and bacterium remain (D) (scale: 200 nm).

been identified as ferrihydrite. Energy dispersive microscopic analyses showed that Fe and O were the main components of these nodules from McFarlane Lake, with P, Si, S, K, and Ca being present as minor elements. Electron diffraction and X-ray diffraction measurements on the Fe nodules from McFarlane Lake gave weak reflexions (indicating a poorly crystallized solid) that did not allow unambiguous identification of the crystalline form (Fortin et al., 1993). The Fe-rich deposits from Clearwater Lake included not only nodules, but also lath-type particles (Fig. 1B), which are probably poorly ordered lepidocrocite (Fortin et al., 1993), and Fe-rich material without any defined morphology, presumably, poorly ordered ferrihydrite. Energy dispersive analyses (EDS) of all types of particles present in the Fe-rich band from Clearwater

Table 2. Rank correlation coefficients (Kendall's τ) between metal concentrations and manganese and organic carbon ($\{C_{org}\}$) concentrations simultaneously extracted from the Mn-rich deposit from McFarlane Lake. Correlations different from zero at the 0.05 (*) and 0.01 (**) significance levels are indicated.

	Ca	Cd	Cu	Mg	Ni	Pb	Zn
Mn	0.50** (n=16)	0.59** (n=17)	0.41* (n=17)	0.15 (n=17)	0.46** (n=17)	-0.09 (n=17)	0.63** (n=17)
C_{org}	0.41* (n=16)	0.19 (n=17)	0.31 (n=17)	0.47** (n=17)	0.31 (n=17)	-0.01 (n=17)	0.32 (n=17)

Lake showed that Fe and O were the main components and Si, K, Ca, Al, Na, and S were occasional minor components. From an analysis of many electron microscope photographs, Fortin et al. (1993) established that the relative abundance of ferrihydrite, as a proportion of the total diagenetic Fe oxyhydroxides collected on Teflon[R] sheets, was 100% in McFarlane Lake and 75% in Clearwater Lake; the remaining 25% of diagenetic Fe oxyhydroxides in Clearwater Lake was lepidocrocite.

Transmission electron microscope examination of the diagenetic Mn-rich material collected from McFarlane Lake showed predominantly small lath-shaped crystals (length ≈ 50 nm; thickness ≈ 2 nm) and electron dense material without any defined morphology (Fig. 1C,D). EDS analysis could not be performed on individual lath particles since they were smaller than the beam diameter (200 nm). Measurements made on heaps of particles indicated that they consisted mainly of Mn with trace amounts of Al, Si, Ca, P, S, and Cl. Attempts to identify the lath-type particles by electron diffraction were unsuccessful. However, X-ray diffraction analysis of the Mn-rich solid indicated numerous weak reflections at 4.04, 3.10, 2.84, 2.74, 2.61, 2.46, 2.44, 2.41, 2.36, 2.19, 1.68, and 1.55 Å, which can be ascribed to various Mn oxyhydroxides. These results are indicative of a mixture of poorly ordered Mn oxyhydroxides. It should be noted that Mn oxyhydroxides do not form in Clearwater Lake, due to its low pH.

3.2. Metal Binding Phases in the Diagenetic Material Collected

The diagenetic Fe- and Mn-rich material contains relatively large amounts of organic carbon; the mean (±SD) C_{org}/Fe or C_{org}/Mn molar ratios are 1.3 ± 0.5 (Clearwater, n = 11; Fe-rich deposit), 2.3 ± 1.0 (McFarlane, n = 12; Fe-rich deposit), and 3.4 ± 1.5 (McFarlane, n = 17; Mn-rich deposit), respectively. Ratios of similar magnitude (1.2–2.5) have been reported for Fe-rich particles in lake water (Tipping et al., 1981). This organic matter probably includes humic (HA) and fulvic acids (FA) sorbed on the oxyhydroxides, and also

Table 3. Metal/iron (M/Fe), metal/manganese (M/Mn), humic substances/iron (HS/Fe) and humic substances/manganese (HS/Mn) ratios[‡] obtained upon dissolution of the Fe- or Mn-rich material deposited on the Teflon collectors. Those of humic substances were calculated from the Langmuir isotherm parameters given by Tipping (1981) for adsorption of HS on goethite or ferrihydrite (underlined data) and by Tipping and Heaton (1983) for the adsorption of HS on Mn_3O_4.

Lake	Mean ratio (±SD)								
	HS/Fe (X1000)	Ca/Fe (X1000)	Cd/Fe ($X10^6$)	Cu/Fe (X1000)	Mg/Fe (X1000)	Ni/Fe ($X10^4$)	Pb/Fe ($x10^4$)	Zn/Fe ($X10^4$)	ΣM/Fe* (x1000)
Clearwater	1.2 *13-21*[†]	6.9 (±1.5)	2.4 (±0.6)	1.4 (±0.4)	5.7 (±1.1)	8.0 (±2.6)	2.1 (±1.2)	3.7 (±2.0)	2.8
McFarlane	0.34 *3.8-6.0*	94 (±22)	34 (±11)	5.5 (±1.4)	33 (±7)	153 (±58)	5.0 (±1.5)	50 (±16)	26.3
	HS/Mn (X1000)	Ca/Mn (X1000)	Cd/Mn ($X10^6$)	Cu/Mn (X1000)	Mg/Mn (X1000)	Ni/Mn ($X10^4$)	Pb/Mn ($x10^4$)	Zn/Mn ($X10^4$)	ΣM/Mn* (x1000)
McFarlane	1.74[†]	100 (±28)	128 (±30)	11 (±3)	44 (±19)	1380 (±350)	2.8 (±1.7)	105 (±26)	160

‡: M/Fe and M/Mn are mole/mole ratios; HS/Fe is equivalent/mole ratio.
*: sum of the M/Fe or M/Mn ratios for trace metals.
†:values estimated by assuming that HS adsorption on ferrihydrite parallels that observed on goethite - see text for details.
†: estimatedd at pH 6.7.

Table 4. Concentrations of free metal ([M^{2+}]) and metal complexed with organic matter ([M-org]), and mean (±SD) values of the conditional global equilibrium constants† for the sorption of trace metals on Fe and Mn oxyhydroxides.

	Clearwater	McFarlane
[Ca^{2+}] (μM)	128	387
[Ca-org] (μM)	6.8	13
$K_{Fe\text{-}Ca}$ (M^{-1})	55(±11)	231(±48)
$K_{Mn\text{-}Ca}$ (M^{-1})	----	236(±70)
[Cd^{2+}] (nM)	3.6	0.24
[Cd-org] (nM)	0.5	0.15
$K_{Fe\text{-}Cd}$ (M^{-1})	604(±156)	$1.1(\pm0.3)\times10^{5}$
$K_{Mn\text{-}Cd}$ (M^{-1})	----	$5.3(\pm1.3)\times10^{5}$
[Cu^{2+}] (nM)	143	0.0304
[Cu-org] (nM)	489	104
$K_{Fe\text{-}Cu}$ (M^{-1})	$1.0(\pm0.3)\times10^{4}$	$1.7(\pm0.4)\times10^{8}$
$K_{Mn\text{-}Cu}$ (M^{-1})	----	$3.5(\pm1.1)\times10^{8}$
[Mg^{2+}] (μM)	53.2	203
[Mg-org] (μM)	2.85	6.87
$K_{Fe\text{-}Mg}$ (M^{-1})	109(±21)	154(±34)
$K_{Mn\text{-}Mg}$ (M^{-1})	----	212(±84)
[Ni^{2+}] (nM)	2100	325
[Ni-org] (nM)	395	500
$K_{Fe\text{-}Ni}$ (M^{-1})	388(±127)	$2.8(\pm1.1)\times10^{4}$
$K_{Mn\text{-}Ni}$ (M^{-1})	----	$4.2(\pm1.1)\times10^{5}$
[Pb^{2+}] (nM)	3.7	0.0013
[Pb-org] (nM)	5.8	0.97
$K_{Fe\text{-}Pb}$ (M^{-1})	$6.3(\pm3.4)\times10^{4}$	$3.8(\pm1.2)\times 10^{8}$
$K_{Mn\text{-}Pb}$ (M^{-1})	----	$1.8(\pm1.2)\times 10^{8}$
[Zn^{2+}] (nM)	267	1.8
[Zn-org] (nM)	70.9	10.5
$K_{Fe\text{-}Zn}$ (M^{-1})	$1.4(\pm0.7)\times10^{3}$	$2.4(\pm0.8)\times10^{6}$
$K_{Mn\text{-}Zn}$ (M^{-1})	----	$5.6(\pm1.4)\times10^{6}$

† :Calculated with Eqns (7) and (8). Mean values for the constants were generally obtained from analytical measurements on 13 Fe oxyhydroxide samples in Clearwater and 14 Fe oxyhydroxide and 17 Mn oxyhydroxide samples in McFarlane.

bacterial remains and exocellular polymers, as suggested by the holes apparent in Fig. 1 (see also Fortin et al., 1993).

As the deposits contain both oxyhydroxides and organic matter and since metals, organic carbon and Fe and Mn are simultaneously released in solution during the dissolution with HCl of the Fe- and Mn-rich deposits, an obvious question is: Were metals originally associated with the Fe and Mn oxyhydroxides or the organic matter in the diagenetic deposits? Because of the limited number of comparisons and unequal variances among metals and substrates, we explored this question using Kendall's nonparametric rank correlation procedure. In the Fe-rich material from both lakes, metal concentrations were significantly correlated with both Fe ($p < 0.01$ for Ca, Cd, Cu, Mg, Ni, and Zn and $p < 0.05$ for Pb in Clearwater; $p < 0.01$ for Ca and Pb and $p < 0.05$ for Cd, Mg, and Zn in McFarlane) and organic carbon concentrations ($p < 0.01$ for Ca, Cd, Ni, and Zn and $p < 0.05$ for Cu and Mg in Clearwater; $p < 0.01$ for Ca and Zn and $p < 0.05$ for Cd, Mg, and Ni in McFarlane). However, it was impossible to determine with which substrate metals were originally associated with, as Fe oxyhydroxides and organic carbon concentrations are themselves highly correlated ($\tau = 0.60$, $p < 0.01$ for Clearwater and $\tau = 0.56$, $p < 0.01$ for McFarlane).

In the Mn-rich deposit from McFarlane Lake, Ca, Cd, Cu, Ni, and Zn concentrations are significantly correlated with Mn concentrations, while Mg and Ca concentrations are significantly correlated with organic carbon concentrations (Table 2). This comparison of correlation coefficients suggests that Mn oxyhydroxides in McFarlane Lake are the binding substrates for the trace metals Cd, Cu, Ni, Zn, and perhaps the alkaline earth Ca, and that organic matter associated with the Mn-rich deposits binds Mg.

3.3. Possible Co-adsorption of Metal and Humic Substances on Fe Oxyhydroxides

Table 3 shows experimentally determined mean molar M:Fe and M:Mn ratios (M = Ca, Cd, Cu, Mg, Ni, Pb, Zn) and the estimated ratios of humic substances: Fe and humic substances: Mn (HS/Fe and HS/Mn, respectively) in the diagenetic Fe or Mn oxyhydroxides collected in both lakes.

For McFarlane (pH 7.4), we calculated the HS/Fe ratios directly from the Langmuir parameters reported by Tipping (1981) for the adsorption of humic substances on goethite for a range of pH values and on fresh and aged ferrihydrite at pH 7.2 and 7.3, respectively. The HS/Fe ratios estimated for aged and fresh ferrihydrite are tenfold and twentyfold greater, re-

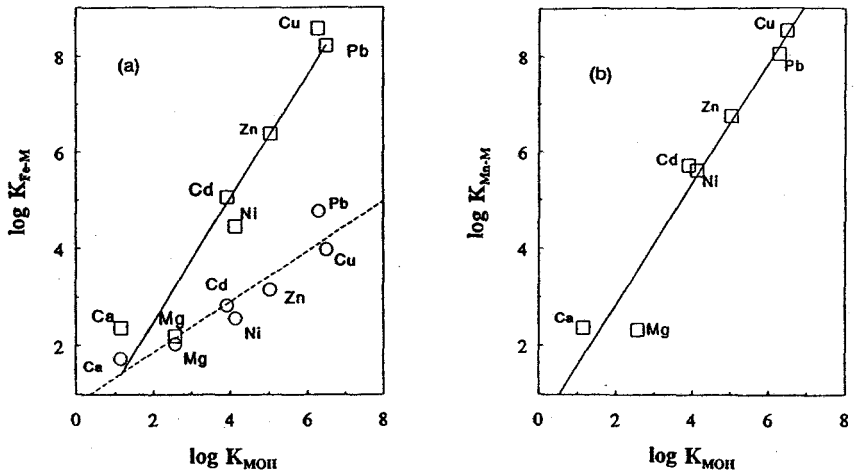


FIG. 2. Correlations between log $K_{Fe\text{-}M}$ (a) or log $K_{Mn\text{-}M}$ (b) and log K_{MOH} for Clearwater and McFarlane lakes. The constants K_{MOH}, $K_{Fe\text{-}M}$ and $K_{Mn\text{-}M}$ are the first hydrolysis constants for the metals, and the mean experimental values of the conditional overall equilibrium constants for the sorption of metals on Fe and Mn oxyhydroxides, respectively. (□; ——) and (○; – – –) are for McFarlane and Clearwater lakes, respectively. The regression equations are: log $K_{Fe\text{-}M}$ = 1.28 log K_{MOH} − 0.08 (r^2 = 0.93; McFarlane), log $K_{Fe\text{-}M}$ = 0.52 log K_{MOH} + 0.82 (r^2 = 0.87; Clearwater), and log $K_{Mn\text{-}M}$ = 1.25 log K_{MOH} + 0.34 (r^2 = 0.94; McFarlane).

spectively, than that estimated for goethite (Table 3). Tipping and Heaton (1983) have determined Langmuir parameters for the adsorption of Esthwaite Water HS on Mn_3O_4 at pH 6.7. Since this is the only available dataset for Mn oxyhydroxides, we have used these parameters to estimate the HS/Mn ratio given in Table 3.

For Clearwater (pH 4.8), the HS/Fe ratio was calculated for goethite directly from the Langmuir parameters given by Tipping (1981); however, for ferrihydrite, since there is no available data at this pH, we estimated the ratio by assuming that the Langmuir parameters for fresh and aged ferrihydrite were tenfold to twentyfold greater than those reported for goethite as was found to be the case at pH 7.2 and 7.3 (see above).

The above estimates of the HS/Fe and HS/Mn ratios were calculated using the [FA] and [HA] given in Table 1 and by assuming that the reactivities of fulvic and humic acids with Fe and Mn oxyhydroxides are similar and that their equivalent weights (weight per metal binding site) are 1,500 and 15,000, respectively (Tipping, 1994).

Comparison of HS/Fe with ΣM/Fe ratios of the trace metals for McFarlane indicates that the concentrations of HS binding sites are far too low to bind all trace metals present in the Fe-rich deposit even in the most favorable case where adsorption of HS is calculated for fresh ferrihydrite (Table 3). Similarly, ΣM/Mn ratio is greater than HS/Mn for McFarlane. On the basis of these observations, it is more likely that trace metals are bound directly to the hydroxyl groups of Fe or Mn oxyhydroxides and not to functional groups of adsorbed HS (e.g., as ternary complexes) in the Fe- and Mn-rich deposits from McFarlane. However, in Clearwater, the concentration of HS binding sites appears to be sufficient to bind all the trace metals if the ratio HS/Fe calculated for ferrihydrite is considered; thus, binding of trace metals to HS adsorbed on Fe oxyhydroxides cannot be discounted for this lake.

3.4. Conditional Adsorption Constants from In Situ Measurements

The framework provided by surface complexation theory can be used to further examine trace metal sorption on the diagenetic Fe and Mn oxyhydroxides deposited on the Teflon[R] collectors. Sorption of a divalent trace metal (M) on diagenetic Fe oxyhydroxides can be described by the general reaction:

$$\equiv\text{Fe–OH}_x + M^{2+} \overset{{}^*K_{Fe\text{-}M}}{\rightleftharpoons} \equiv\text{Fe–O}M + x\text{H}^+, \quad (1)$$

where charges on the solid species have been omitted for simplicity, ${}^*K_{Fe\text{-}M}$ is considered as an overall conditional equilibrium constant, x is the average apparent number of protons released per M ion adsorbed (Honeyman and Leckie, 1986), and "≡" refers to adsorption sites. Assuming a low proportion of sites occupied by M, and relating the concentration of free sites to that of Fe oxyhydroxides (i.e., {≡Fe–OH} = N_{Fe} {Fe-ox}) and the concentration of occupied sites to that of M associated with the Fe oxyhydroxides (i.e., {≡Fe–OM} = {Fe-M}) leads to (Tessier et al., 1989):

$$K_{Fe\text{-}M} = \frac{N_{Fe}\,{}^*K_{Fe\text{-}M}}{[\text{H}^+]^x} = \frac{\{\text{Fe-}M\}}{\{\text{Fe-ox}\}[M^{2+}]}, \quad (2)$$

where N_{Fe} is the number of moles of adsorption sites of the Fe oxyhydroxides per mole of Fe oxyhydroxides, $K_{Fe\text{-}M}$ is a global conditional equilibrium constant which is a function of pH, and {Fe-ox} and {Fe-M} are the analytical concentrations of Fe oxyhydroxides and of M associated with Fe oxyhydroxides, respectively. By similar reasoning, adsorption of M on Mn oxyhydroxides can be described by the reaction

$$\equiv\text{Mn}-\text{OH}_y + M^{2+} \overset{{}^*K_{\text{Mn-}M}}{\rightleftharpoons} \equiv\text{Mn}-\text{O}M + y\text{H}^+ \quad (3)$$

and the following expression can be derived:

$$K_{\text{Mn-}M} = \frac{N_{\text{Mn}}{}^*K_{\text{Mn-}M}}{[\text{H}^+]^y} = \frac{\{\text{Mn-}M\}}{\{\text{Mn-ox}\}[M^{2+}]}, \quad (4)$$

where, by analogy with Eqn. 2, N_{Mn} is the number of moles of sites of the Mn oxyhydroxides per mole of Mn oxyhydroxides, and $K_{\text{Mn-}M}$ and ${}^*K_{\text{Mn-}M}$ are global conditional equilibrium constants; y is the apparent number of protons released per M ion adsorbed on Mn oxyhydroxides, and {Mn-ox} and {Mn-M} are the analytical concentrations of Mn oxyhydroxides and of M associated with Mn oxyhydroxides, respectively.

We have estimated $K_{\text{Fe-}M}$ and $K_{\text{Mn-}M}$ for each lake from measurements of the three variables on the right-hand side of Eqns. 2 and 4. In general, the diagenetic Fe-ox and Mn-ox deposited on the Teflon^{R} collectors are not completely spatially resolved as is evident from their chemical analysis which shows minor contamination by each other. This cross-contamination could be due to vertical fluctuations of the redox boundary, which could cause some overlap during the deposition time of the diagenetic oxyhydroxides on the Teflon^{R} collectors and also, to imperfect manual separation of the two types of deposits during processing of the Teflon^{R} sheets. Thus, it appears that the diagenetic deposits scraped from the collectors are in reality Fe-rich and Mn-rich solids and the trace metal concentrations {M} obtained upon their dissolution can therefore be written as:

$$\{M\}_1 = \{\text{Fe-}M\}_1 + \{\text{Mn-}M\}_1; \quad (5)$$

$$\{M\}_2 = \{\text{Fe-}M\}_2 + \{\text{Mn-}M\}_2, \quad (6)$$

where the subscripts 1 and 2 refer to the Fe-rich and the Mn-rich solids respectively. Combining Eqns. 2, 4, 5, and 6, one obtains:

$$\{M\}_1 = K_{\text{Fe-}M}\{\text{Fe-ox}\}_1[M^{2+}] + K_{\text{Mn-}M}\{\text{Mn-ox}\}_1[M^{2+}]; \quad (7)$$

$$\{M\}_2 = K_{\text{Fe-}M}\{\text{Fe-ox}\}_2[M^{2+}] + K_{\text{Mn-}M}\{\text{Mn-ox}\}_2[M^{2+}]. \quad (8)$$

We have measured M, Fe, and Mn concentrations in the solutions resulting from the dissolution of the Fe-rich and the Mn-rich solids with HCl, which provided the values for {M}, {Fe-ox}, and {Mn-ox} required to solve Eqns. 7 and 8. As mentioned above, the deposits contain both oxyhydroxides and organic matter which are simultaneously dissolved with HCl; for this reason, a fraction of M could have been bound to the organic matter associated with the oxyhydroxides. The equilibrium model "Windermere Humic Aqueous Model" (WHAM) developed by Tipping (1994) was used to calculate chemical speciation in solution and thus to obtain $[M^{2+}]$ (Table 4). The computer code WHAM1.0 used for this calculation includes the Humic Ion-Binding Model V (Tipping and Hurley, 1992) and thus, in principle, takes complexation by inorganic ligands and humic and fulvic acids into account. The concentrations of FA and HA (g/L) needed as input for the computer code are given in Table 1.

Table 4 shows that calculation with this speciation modelling code predicts that Cu speciation in both lakes and Pb speciation in McFarlane Lake are dominated by complexes with FA and HA (i.e., M-org). It should be noted that the values of $[M^{2+}]$ obtained here are only rough estimates. Indeed, Model V incorporated in WHAM1.0 is semi-empirical in nature as the model parameters were determined by Tipping and Hurley (1992) by fitting laboratory titration data performed under conditions (ionic strength, metal:ligand ratios, etc.) which may differ greatly from those observed in natural systems. In particular, it is known that the ratio of metal:ligand has a strong influence on the value of the binding constant obtained (Buffle, 1988) and that these ratios tend to be higher in laboratory experiments than in nature. In addition, it is unlikely that all the dissolved organic matter in the lakes is HA or FA, as assumed here. Indeed, nonhumic organic C has been reported to represent between 20 and 60% of total dissolved organic C (Reuter and Perdue, 1977; Malcolm, 1991; Hamilton-Taylor et al., 1995; Boerschke et al., 1995).

Given the values of {M}, {Fe-ox}, and {Mn-ox} for the Fe- and Mn-rich deposits and the values of $[M^{2+}]$ given in Table 4, Eqns. 7 and 8 were solved for $K_{\text{Fe-}M}$ and $K_{\text{Mn-}M}$ (Table 4). No values of $K_{\text{Mn-}M}$ are given for Clearwater Lake since Mn oxyhydroxides do not form at the low pH observed in this lake. Comparison of the conditional constants indicates the following major features: (1) the $K_{\text{Fe-}M}$ values strongly increase with pH for the trace metals, but only slightly for Ca and Mg, (2) for the trace metals, except Pb, $K_{\text{Mn-}M}$ is greater than $K_{\text{Fe-}M}$, (3) the $K_{\text{Fe-}M}$ and $K_{\text{Mn-}M}$ values are higher for the trace metals than for the alkaline earth metals, (4) the sequence of $K_{\text{Fe-}M}$ for the trace metals in both lakes is Pb > Cu > Zn > Cd > Ni, i.e., the sequence of hydrolysis constants, and (5) the sequence of $K_{\text{Mn-}M}$ for the trace metals in McFarlane Lake is quite similar to that of $K_{\text{Fe-}M}$, i.e., Cu > Pb > Zn > Cd > Ni.

3.5. Correlation of Conditional Adsorption Constants with Hydrolysis and Intrinsic Surface Complexation Constants

Conditional constants $K_{\text{Fe-}M}$ and $K_{\text{Mn-}M}$ are highly correlated (Fig. 2) with the first hydrolysis constants of the metals, K_{MOH} for the reaction

$$M^{2+} + \text{OH}^- \rightleftharpoons M\text{OH}^+. \quad (9)$$

Good correlations between intrinsic surface complexation constants (K^{int}) and $K_{M\text{OH}}$ have been reported for goethite (Balistrieri et al., 1981), ferrihydrite (Dzombak and Morel, 1990), SiO_2 (Schindler, 1981), and γ-Al_2O_3 (Davis and Leckie, 1978). Figure 3 shows that the conditional constants $K_{\text{Fe-}M}$ and $K_{\text{Mn-}M}$ are also well correlated with the intrinsic surface complexation constants reported for ferrihydrite ($K^{\text{int}}_{\text{Fe-}M}$) by Dzombak and Morel (1990; Table 5) and for Mn oxyhydroxides ($K^{\text{int}}_{\text{Mn-}M}$) by Smith and Jenne (1991).

It should be noted that the slope of the linear regression between log $K_{\text{Fe-}M}$ and log $K_{M\text{OH}}$ for McFarlane Lake (1.28; Fig. 2a) is close to the values for strong sites (1.17) and weak sites (1.30) reported by Dzombak and Morel (1990) for the correlation between log $K^{\text{int}}_{\text{Fe-}M}$ and log $K_{M\text{OH}}$. We also find a slope of 0.94 (Fig. 3a), close to a value of 1 for the linear

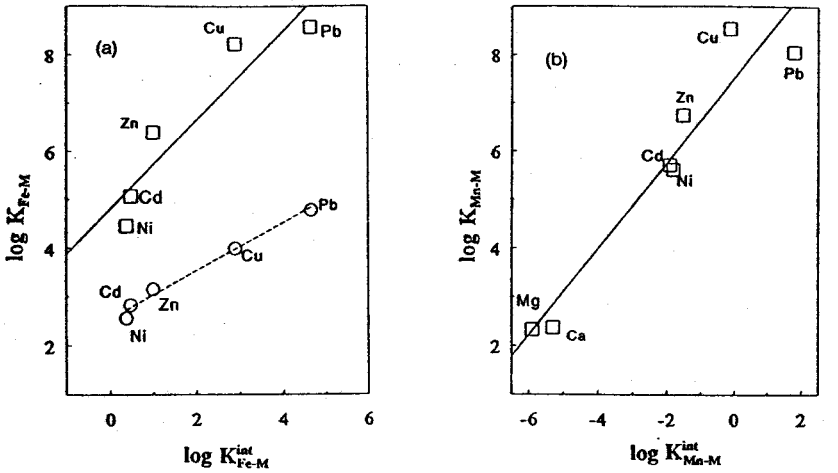


FIG. 3. Correlations between log $K_{Fe\text{-}M}$ and log $K^{int}_{Fe\text{-}M}$ (a) and between log $K_{Mn\text{-}M}$ and log $K^{int}_{Mn\text{-}M}$ (b). Values of the intrinsic surface complexation constants $K^{int}_{Fe\text{-}M}$ and $K^{int}_{Mn\text{-}M}$ are from Dzombak and Morel (1990) and Smith and Jenne (1991), respectively. (□; ——) and (○; – – –) are for McFarlane and Clearwater lakes, respectively. The regression equations are: log $K_{Fe\text{-}M}$ = 0.94 log $K^{int}_{Fe\text{-}M}$ − 4.26 (r^2 = 0.87; McFarlane), log $K_{Fe\text{-}M}$ = 0.49 log $K^{int}_{Fe\text{-}M}$ + 2.55 (r^2 = 0.99; Clearwater), and log $K_{Mn\text{-}M}$ = 0.88 log $K^{int}_{Mn\text{-}M}$ + 7.5 (r^2 = 0.88; McFarlane).

regression between log $K_{Fe\text{-}M}$ determined for McFarlane Lake in this study and the log $K^{int}_{Fe\text{-}M}$ values reported by Dzombak and Morel (1990) for strong sites. The same pattern (i.e., slope close to 1) is observed for Mn oxyhydroxides (Fig. 3b) in McFarlane Lake. Close correlations between equilibrium constants and slopes close to 1 are expected if the equilibrium constants refer to similar reactions of cations with similar functional groups. These observations, thus, provide more evidence that, in McFarlane Lake, metals are bound to hydroxyl groups of Fe and Mn oxyhydroxides and not to functional groups of associated organic matter coatings. Note also the very similar slopes in Fig. 2a (1.28 for adsorption on Fe oxyhydroxides) and b (1.25 for adsorption on Mn oxyhydroxides) for McFarlane Lake, but the higher y-intercept by about 0.4 log units for metal adsorption on Mn oxyhydroxides; this result indicates that diagenetic Mn oxyhydroxides adsorb cations more strongly than diagenetic Fe oxyhydroxides in McFarlane Lake.

However, for the more acid Clearwater Lake, both slopes in Figs. 2a and 3a are substantially less than 1 (0.52 and 0.45, respectively); the fact that slopes differ substantially from unity suggests that metal sorption on the iron-rich material in this lake does not occur predominantly with the hydroxyl groups of the Fe oxyhydroxides. Since the slopes are lower than 1, a more likely possibility is that metals bind to the functional groups of organic matter, e.g., humic substances adsorbed on Fe oxyhydroxides. This may be readily understood by noting that differences in the values of the binding constants amongst metals are smaller for reactions with humic substances than for those with hydroxyl groups. For example,

Table 5. Intrinsic surface complexation constants (Dzombak and Morel, 1990) used for the calculation of metal adsorption on diagenetic iron oxyhydroxides.

Reaction	log K^{int}	Site type[a]
$\equiv FeOH_2^+ \rightleftarrows \equiv FeOH + H^+$	-7.29	s,w
$\equiv FeOH \rightleftarrows \equiv FeO^- + H^+$	-8.93	s,w
$\equiv FeOH + Ca^{2+} \rightleftarrows \equiv FeOHCa^{2+}$	4.97	s
$\equiv FeOH + Ca^{2+} \rightleftarrows \equiv FeOCa^+ + H^+$	-5.85	w
$\equiv FeOH + Cd^{2+} \rightleftarrows \equiv FeOCd^+ + H^+$	0.47	s
$\equiv FeOH + Cd^{2+} \rightleftarrows \equiv FeOCd^+ + H^+$	-2.90	w
$\equiv FeOH + Cu^{2+} \rightleftarrows \equiv FeOCu^+ + H^+$	2.89	s
$\equiv FeOH + Ni^{2+} \rightleftarrows \equiv FeONi^+ + H^+$	0.37	s
$\equiv FeOH + Pb^{2+} \rightleftarrows \equiv FeOPb^+ + H^+$	4.65	s
$\equiv FeOH + Zn^{2+} \rightleftarrows \equiv FeOZn^+ + H^+$	0.99	s
$\equiv FeOH + Zn^{2+} \rightleftarrows \equiv FeOZn^+ + H^+$	-1.99	w

[a]: s, strong; w,weak

the K_{Cu}/K_{Cd} ratio is $10^{2.58}$ for adsorption on ferrihydrite (ratio of surface complexation constants for strong sites; Dzombak and Morel, 1990), $10^{2.42}$ for hydrolysis (Smith and Martell, 1977), $10^{0.7}$ for the reaction with dissolved fulvic acids (Tipping, 1994), and $10^{1.2}$ for the reaction with humic acids (Tipping, 1994). If equilibrium constants represented on the y-axis show a smaller range of values than those represented on the x-axis this will lead to slopes which are less than 1, as observed for Clearwater Lake in Figs. 2a and 3a.

3.6. Comparison Between Measured and Predicted $K_{Fe\text{-}M}$ Values

The constants $K_{Fe\text{-}M}$ determined from the in situ measurements provide predictive capacity for metal adsorption on Fe oxyhydroxides in field situations, but they remain largely conditional, i.e., rigorously, they are applicable only for a given environmental pH and a given set of geochemical conditions. More accurate predictions of adsorption in a large range of aquatic environments would result if we could use the detailed sets of adsorption reactions (including those of the proton), the electrostatic terms and the surface characteristics (concentrations of sites, specific surface area), generally included in surface complexation models, with confidence.

Reconciliation of field- and laboratory-derived binding constants is an important step toward this goal. It would also help to clarify the nature of metal binding on natural particles, i.e., do metals form complexes mainly with functional groups of organic matter (carboxylic, phenolic or others) sorbed on oxyhydroxide particles or are they complexed directly by oxyhydroxide hydroxyl groups? In an attempt to answer this question, we have used the two-layer version of the surface complexation model (DLM) developed by Dzombak and Morel (1990), together with the computer code HYDRAQL (Papelis et al., 1988) to compute $K_{Fe\text{-}M}$ under our lakes' geochemical conditions. We used the ambient concentrations of dissolved constituents given in Table 1 and made the assumption of adsorptive equilibrium of ferrihydrite with the free metal ion concentrations given in Table 4 to calculate the ratios {Fe-M}/{Fe-ox}; these ratios were then used together with $[M^{2+}]$ in Eqn. 2 to obtain predicted conditional constants $K_{Fe\text{-}M}$. Close agreement between the predicted and measured values of $K_{Fe\text{-}M}$ would provide evidence that the laboratory-derived intrinsic constants can be used with confidence to predict adsorption under some field situations, and that metals are complexed to the hydroxyl groups of the Fe oxyhydroxides. It should be noted that an implicit assumption in using SCM to compare the predicted and measured $K_{Fe\text{-}M}$ is that the electrostatic field of the organic matter associated with the Fe oxyhydroxide does not affect that of the oxyhydroxides.

We chose the DLM for two reasons: (1) it is the only SCM for which a self-consistent and extensive thermodynamic database for adsorption on Fe oxyhydroxides exists (Dzombak and Morel, 1990) and (2) the intrinsic equilibrium constants (K^{int}) have been compiled and validated for adsorption on poorly crystalline ferrihydrite, the dominant Fe oxyhydroxide found in diagenetic material in McFarlane Lake and a major Fe oxyhydroxide in Clearwater Lake (see above). The intrinsic surface complexation constants used in the calculation of $K_{Fe\text{-}M}$ are given in Table 5. A set of intrinsic surface complexation constants for Mg has not been determined; we assume here that the intrinsic surface complexation constants for Mg are similar to those of Ca.

The calculation of $K_{Fe\text{-}M}$ was performed for each metal individually, i.e., we assumed that there was no competition among the metals for the binding sites on ferrihydrite; such competition has indeed been shown to be minimal for Cd, Cu, Pb, and Zn adsorption on ferrihydrite in the laboratory (Benjamin and Leckie, 1981). Competition of Ca with Zn for adsorption on ferrihydrite has also been shown to be negligible (Dempsey and Singer, 1980), and that of Ca for Cd adsorption on ferrihydrite was observed to be noticeable only when Ca occupied more than 60% of the sorption sites (Cowan et al., 1991), which is far in excess of the occupied site density in our case. For the extraction of their intrinsic equilibrium constants, Dzombak and Morel (1990) assumed a molecular weight of 89 for ferrihydrite and the following values for its surface characteristics: 600 m^2/g for the specific surface area, 0.2 mol/mol of Fe oxyhydroxides for the concentration of weak sites, and 5×10^{-3} mol/mol of Fe oxyhydroxides for the concentration of strong sites. We have adopted the entire set of these values of surface characteristics for self-consistency.

Comparison between the measured and predicted $K_{Fe\text{-}M}$ values for Ca, Cd, Cu, Mn, Ni, Pb, and Zn is shown in Fig. 4 for Clearwater and McFarlane lakes. Since there is some doubt about the accuracy of the metal speciation calculations involving dissolved organic matter (DOM), Fig. 4 displays both the results obtained if DOM complexation is included in metal speciation calculation (solid symbols) or excluded from the calculation (open symbols). Predicted $K_{Fe\text{-}M}$ show a better fit with measured $K_{Fe\text{-}M}$ for McFarlane (Fig. 4a) than for Clearwater (Fig. 4b). In the latter lake, measured values appear to be consistently higher than those predicted. Differences between inclusion or exclusion of DOM complexation are largest for Pb and Cu, given the higher complexation with humic substances attributed to these metals in the computer code WHAM. It is noticeable that the predicted $K_{Fe\text{-}M}$ values for the trace metals Cd and Ni in McFarlane Lake are very close to those obtained from the in situ measurements (Fig. 4a). The predicted values for Cu and Zn in this lake also show very good agreement with the measured values when DOM is excluded from the speciation calculation, but they diverge somewhat if natural organic ligand complexation is taken into account. In contrast, agreement for lead improves when DOM complexation is taken into account.

In McFarlane Lake, where agreement is normally found, the predicted value for $K_{Fe\text{-}Pb}$ is greater than that measured when the average value of K^{int} for the formation of $\equiv$FeOPb$^+$ given in Table 5 ($10^{4.65}$) is used in the calculation. This average value has been derived by Dzombak and Morel (1990) from a limited number of experiments for which the individual values vary between $10^{4.38}$ and $10^{4.82}$. Furthermore, examination of the Linear Free Energy Relationship (LFER) shown in Dzombak and Morel (1990; their Fig. 10.1, p. 303) between K^{int} and the first hydrolysis constants for Ag, Cd, Co, Ni, Zn, Cu, Pb, and Hg clearly shows that Pb is an outlier. Figure 4a shows that the predicted and measured values of $K_{Fe\text{-}Pb}$ agree closely when the value of K^{int} ($10^{2.96}$) derived from the LFER given in Dzombak and Morel (1990) is used

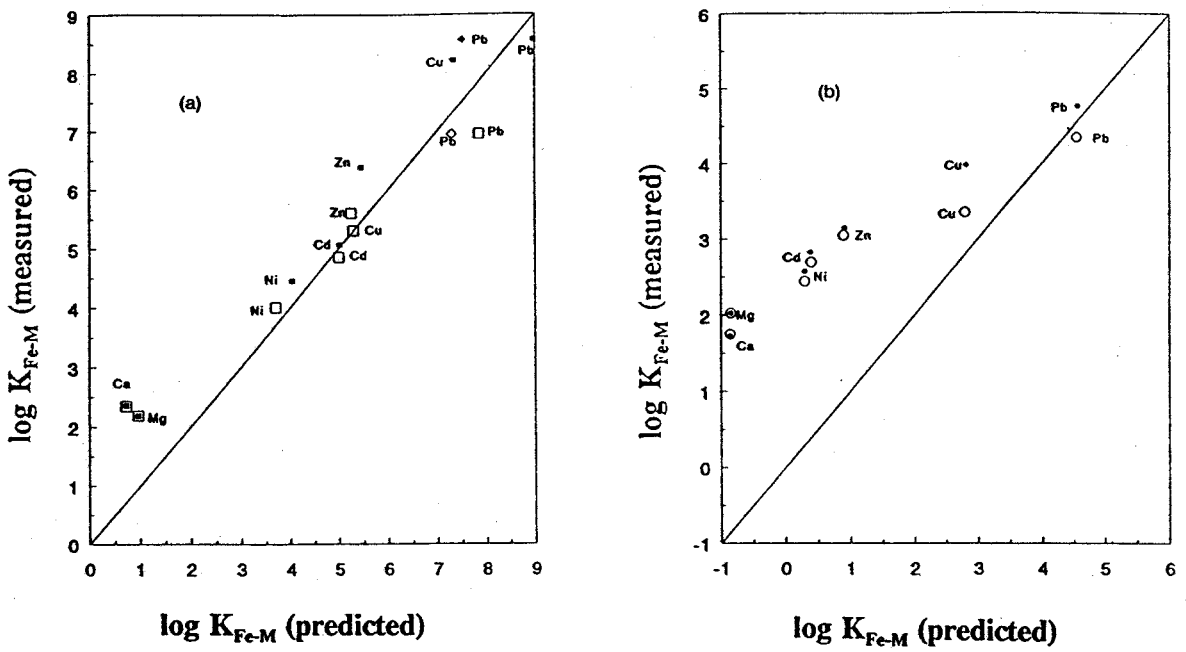


FIG. 4. Comparison, for McFarlane (a) and Clearwater (b) lakes, between values of the conditional equilibrium constants $K_{Fe\text{-}M}$ obtained from in situ measurements (vertical axis; obtained with Eqns. 7 and 8) with those predicted by the two-layer version of the surface complexation model of Dzombak and Morel (1990) and the geochemical conditions of the lakes (horizontal axis). Values obtained if DOM complexation is taken into account (dark symbols ●, ■, and ◆) or not (open symbols ○, □, and ◇); the symbols (◆ and ◇) refer to Pb data obtained by LFER. The 1:1 line is shown.

for the prediction and DOM complexation is not taken into account.

This relatively good agreement between predicted and measured $K_{Fe\text{-}M}$ values in McFarlane Lake indicates that self-consistent thermodynamic databases derived from laboratory experiments on adsorption on ferrihydrite, such as that published by Dzombak and Morel (1990), could be useful to predict adsorption of trace metals on diagenetic Fe oxyhydroxides in this lake. It also provides additional evidence that, for this system, trace metals bind predominantly to the hydroxyl groups of Fe oxyhydroxides rather than to the organic coating associated with these oxyhydroxides.

Contrary to the trace metals, the alkaline earth cations Ca and Mg show higher measured than predicted $K_{Fe\text{-}M}$ values in McFarlane (Fig. 4a). Laboratory adsorption experiments have shown that alkaline earth cations form outer-sphere complexes (i.e., no coordinate bonds) and that their adsorption is influenced by electrostatic forces at the surfaces (Dzombak and Morel, 1990; Davis and Kent, 1990). The higher measured than predicted $K_{Fe\text{-}M}$ values observed for Ca and Mg could thus reflect a higher negative surface charge due to the associated organic coatings, and consequently higher concentrations of outer-sphere Ca and Mg complexes.

The data for McFarlane are in marked contrast to those for Clearwater, where measured $K_{Fe\text{-}M}$ values are higher than those predicted with the DLM, even for the trace metals (Fig. 4b). This result would be consistent with complexation of the metals with organic matter adsorbed at the surface of the Fe oxyhydroxides. In Clearwater, the calculated concentration of binding sites of adsorbed humic substances on ferrihydrite would be sufficient to complex metals found in the Fe-rich material (Table 3, underlined values). It has been shown in the literature that the adsorption of humic substances on metal oxyhydroxides increases as pH decreases, provided [Ca] is low, i.e., lower than ca. 10^{-3} M (Tipping, 1981; Davis, 1982; Day et al., 1994; Gu et al., 1994; Schlautman and Morgan, 1994; Ochs et al., 1994). This sorption of organic matter can enhance metal binding to the oxyhydroxides at low pH (Davis, 1984); the formation of ternary complexes involving Al or Fe oxyhydroxides, HS and Cu have been reported by Davis (1984) and Tipping et al. (1981). This scenario of ternary complex formation due to HS sorption on the Fe oxyhydroxides is also consistent with the statistically significant correlation coefficients observed between metal concentrations and C_{org} concentrations in the Fe deposits of Clearwater.

3.7. Comparison Between Measured and Predicted $K_{Mn\text{-}M}$ Values

An effort was also made to reconcile field-derived constants $K_{Mn\text{-}M}$ with those predicted from consistent sets of laboratory-derived intrinsic adsorption constants. There is however no extensive, validated and self-consistent database available for adsorption of cations on Mn oxyhydroxides such as that derived for ferrihydrite by Dzombak and Morel (1990). Consistent datasets for use with the Triple Layer Model (TLM) have been obtained for the adsorption of Cu, Pb, and Zn (Catts and Langmuir, 1986) and Cd and Cu (Fu et al., 1991) on

poorly crystallized Mn oxyhydroxides displaying X-ray diffraction peaks at 2.35–2.45 and 1.4 Å (Catts and Langmuir, 1986) and 2.43 Å (Fu et al., 1991); this synthetic material was called δ-MnO_2.

In view of the poor crystallinity of Mn oxyhydroxides observed in the Mn-rich deposits and of those used in the laboratory adsorption experiments, we have used the consistent sets of data from Catts and Langmuir (1986) and Fu et al. (1991) presented in Table 6 for our calculation, with the TLM, of $K_{Mn\text{-}M}$ for Cd, Cu, Pb, and Zn adsorption on Mn oxyhydroxides under McFarlane Lake geochemical conditions. The intrinsic adsorption constants for the adsorption of Ca and Mg were obtained from Smith and Jenne (1991) who used predictive equations based on ion size and hydrolysis behavior to obtain these missing constants; those for the adsorption of Ni were estimated from the LFERs shown in Fig. 5 for the set of intrinsic surface complexation constants ($K^{int}_{Mn\text{-}M}$ and $K^{int}_{Mn\text{-}MOH}$) reported by Smith and Jenne (1991). It should be mentioned that Smith and Jenne (1991) do not provide the values of specific surface area (A), site density (N_S), capacitances (C_1 and C_2), and intrinsic acidity (K^{int}_{a2}) and adsorption of Na (K^{int}_{Na}) constants needed, together with their set of adsorption constants, for adsorption calculations with the TLM. Figure 5 shows that the $K^{int}_{Mn\text{-}M}$ calculated by Smith and Jenne (1991) and those determined experimentally by Catts and Langmuir (1986) for Cu, Pb, and Zn are well correlated with the hydrolysis constants. We have thus used as an approximation the A, N_S, C_1, C_2, K^{int}_{a2}, and K^{int}_{Na} given in Catts and Langmuir (1986) for our calculations of Ca, Mg, and Ni adsorption in McFarlane Lake (Table 6). We made the same assumption as above with Fe oxyhydroxides, that there was no competition among metals for adsorption sites. Zasoski and Burau (1988) found minimal competition between Cd and Zn for adsorption on δ-MnO_2. Dempsey and Singer (1980) reported an appreciable reduction of Zn adsorption on MnO_x in the presence of high concentrations of Ca, but this competition was not quantified.

Table 6. Intrinsic surface complexation constants and other surface characteristics† used for the calculation* with TLM of metal adsorption on diagenetic manganese oxyhydroxides.

Reaction	log K^{int}
Cu, Pb and Zn adsorption after Catts and Langmuir (1986)	
$\equiv MnOH \rightleftarrows \equiv MnO^- + H^+$	-6.20
$\equiv MnOH + Cu^{2+} \rightleftarrows \equiv MnOCu^+ + H^+$	-0.1
$\equiv MnOH + Cu^{2+} + H_2O \rightleftarrows \equiv MnOCuOH + 2H^+$	-7.5
$\equiv MnOH + Cu^{2+} + 2H_2O \rightleftarrows \equiv MnOCu(OH)_2^- + 3H^+$	-13.4
$\equiv MnOH + Na^+ \rightleftarrows \equiv MnONa + H^+$	-3.5
$\equiv MnOH + Pb^{2+} \rightleftarrows \equiv MnOPb^+ + H^+$	1.8
$\equiv MnOH + Pb^{2+} + H_2O \rightleftarrows \equiv MnOPbOH + 2H^+$	-6.5
$\equiv MnOH + Zn^{2+} \rightleftarrows \equiv MnOZn^+ + H^+$	-1.5
$\equiv MnOH + Zn^{2+} + H_2O \rightleftarrows \equiv MnOZnOH + 2H^+$	-8.8
$\equiv MnOH + Zn^{2+} + 2H_2O \rightleftarrows \equiv MnOZn(OH)_2^- + 3H^+$	-15.0
C_1 = 240 $\mu F/cm^2$; C_2 = 20 $\mu F/cm^2$; A = 290 m^2/g, N_s = 18 sites/nm^2	
Cd and Cu adsorption after Fu et al. (1991)	
$\equiv MnOH \rightleftarrows \equiv MnO^- + H^+$	-5.34
$\equiv MnOH + Cd^{2+} \rightleftarrows \equiv MnOCd^+ + H^+$	-0.81
$\equiv MnOH + Cd^{2+} + H_2O \rightleftarrows \equiv MnOCdOH + 2H^+$	-6.89
$\equiv MnOH + Cu^{2+} \rightleftarrows \equiv MnOCu^+ + H^+$	-1.66
$\equiv MnOH + Cu^{2+} + H_2O \rightleftarrows \equiv MnOCuOH + 2H^+$	-3.79
$\equiv MnOH + Na^+ \rightleftarrows \equiv MnONa + H^+$	-3.97
C_1 = 240 $\mu F/cm^2$; C_2 = 20 $\mu F/cm^2$; A = 296 m^2/g, N_s = 8.1 sites/nm^2	
Ca, Mg and Ni adsorption after Smith and Jenne (1991)	
$\equiv MnOH \rightleftarrows \equiv MnO^- + H^+$	-6.20
$\equiv MnOH + Ca^{2+} \rightleftarrows \equiv MnOCa^+ + H^+$	-5.3
$\equiv MnOH + Mg^{2+} \rightleftarrows \equiv MnOMg^+ + H^+$	-5.9
$\equiv MnOH + Na^+ \rightleftarrows \equiv MnONa + H^+$	-3.5
$\equiv MnOH + Ni^{2+} \rightleftarrows \equiv MnONi^+ + H^+$	-1.8
$\equiv MnOH + Ni^{2+} + H_2O \rightleftarrows \equiv MnONiOH + 2H^+$	-10.2
C_1 = 240 $\mu F/cm^2$; C_2 = 20 $\mu F/cm^2$; A = 290 m^2/g, N_s = 18 sites/nm^2	

†: C_1 and C_2 are inner and outer layer capacitances; A is the specific surface area; N_s is site density.
*:calculations for the different metals were done with consistent datasets.

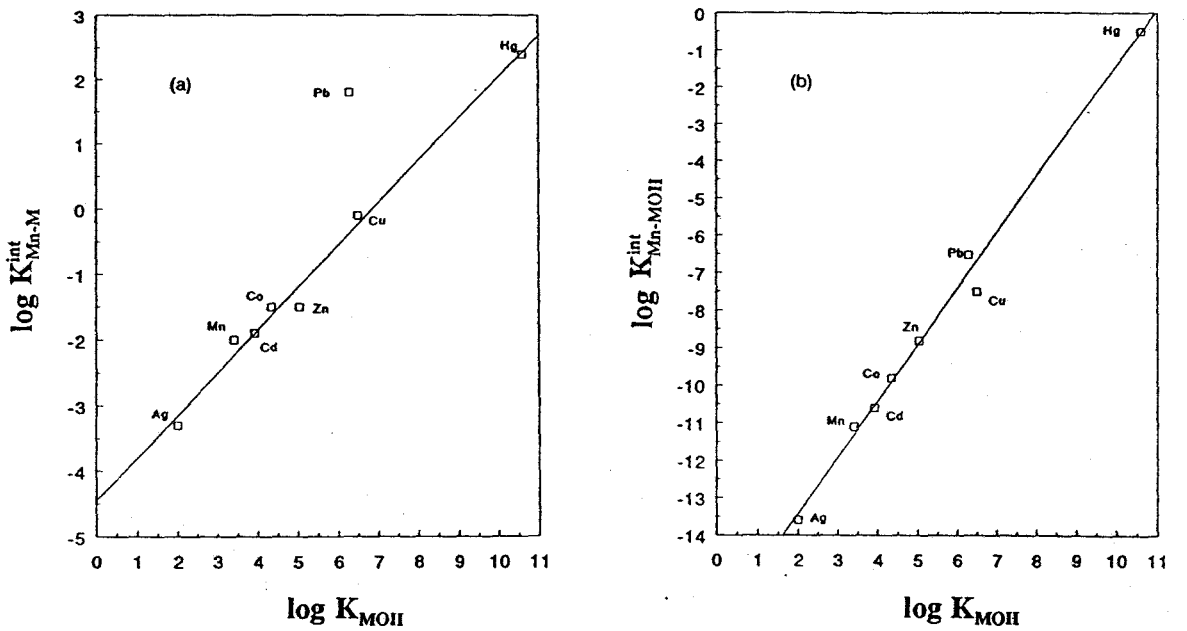


FIG. 5. Correlation between log K^{int}_{Mn-M} (a) or log K^{int}_{Mn-MOH} (b) and log K_{MOH}. The constants K_{MOH}, K^{int}_{Mn-M} and K^{int}_{Mn-MOH} are the first hydrolysis constants for the metals, and the intrinsic surface complexation constants for the adsorption of M and MOH on Mn oxyhydroxides. The values of the intrinsic surface complexation constants are from Smith and Jenne (1991; Ag, Cd, Co, Hg, Mn) and Catts and Langmuir (1986; Cu, Pb, Zn). The regression equations are log K^{int}_{Mn-M} = 0.649 log K_{MOH} − 4.45 and log K^{int}_{Mn-MOH} = 1.50 log K_{MOH} − 16.42.

Figure 6 displays the comparison between measured and predicted K_{Mn-M} obtained if DOM complexation is included or excluded from the metal speciation calculation. Good agreement is observed for all metals except Cd and Pb which show higher predicted than measured values of K_{Mn-M}. However, Fig. 5a shows that Pb is an outlier in the LFER. Agreement between predicted and measured K_{Mn-Pb} values improves if the K^{int}_{Mn-Pb} value predicted by the LFER is used (Fig. 6). The relatively good agreement between predicted and measured K_{Mn-M} values for Cu, Ni, and Zn (and perhaps Pb) suggests that these metals bind to the hydroxyl groups of the Mn oxyhydroxides. The overestimation of Cd adsorption could be due to not taking competition for binding sites into account in the calculations. Calculations can be very sensitive to competition effects, depending on the concentrations of the competing ions. For example, if Ca is assumed to compete fully for all the Cd adsorption sites, and if we assume that the intrinsic constant for the formation of $MnOCa^+$ determined by Smith and Jenne (1991) ($10^{-5.3}$; see Table 6) apply, predicted K_{Mn-Cd} drops from $10^{7.45}$ (without competition) to $10^{6.31}$, which is closer to the measured value ($10^{5.72}$).

3.8. Possible Association of Metals with Organic Coatings on the Diagenetic Fe Deposits in Clearwater Lake

The possibility that metals are not bound directly to the hydroxyl groups of diagenetic Fe and Mn oxyhydroxides, but rather to the organic matter associated with these oxyhydroxides (Neihof and Loeb, 1972) has been invoked above for Clearwater Lake. To test this hypothesis, we have calculated and compared the conditional constants for metal binding to dissolved natural organic matter (K^{sol}_{LM}; Eqn. 11) with those for metal binding to natural organic matter adsorbed on the Fe oxyhydroxides (K^{part}_{LM}; Eqn. 13). An overall (and simplified) reaction for metal binding to dissolved organic matter is:

$$M^{z+} + L^{y-} \overset{K^{sol}_{LM}}{\rightleftharpoons} ML^{z-y}; \qquad (10)$$

$$K^{sol}_{LM} = \frac{[ML^{z-y}]}{[M^{z+}][L^{y-}]}, \qquad (11)$$

where $[L^{y-}]$ is the concentration of noncomplexed organic matter, $[ML^{z-y}]$ is the concentration of complexed metal, and K^{sol}_{LM} is a conditional constant. In a similar manner, metal complexation to the organic matter adsorbed on Fe oxyhydroxides can be described by:

$$FeL + M^{z+} \overset{K^{part}_{LM}}{\rightleftharpoons} FeLM; \qquad (12)$$

$$K^{part}_{LM} = \frac{\{FeLM\}}{\{FeL\}\{M^{z+}\}}, \qquad (13)$$

where K^{part}_{LM} is a conditional constant and $\{FeL\}$ and $\{FeLM\}$ are the concentrations of organic matter adsorbed on the diagenetic Fe oxyhydroxides and of metal complexed with that organic matter, respectively. We assume here that organic matter coatings behave similarly to dissolved organic matter (Davis, 1984).

The values of K^{sol}_{LM} for Clearwater Lake (Eqn. 11) were obtained from the equilibrium model WHAM (Tipping, 1994) as follows. We used the concentrations of dissolved

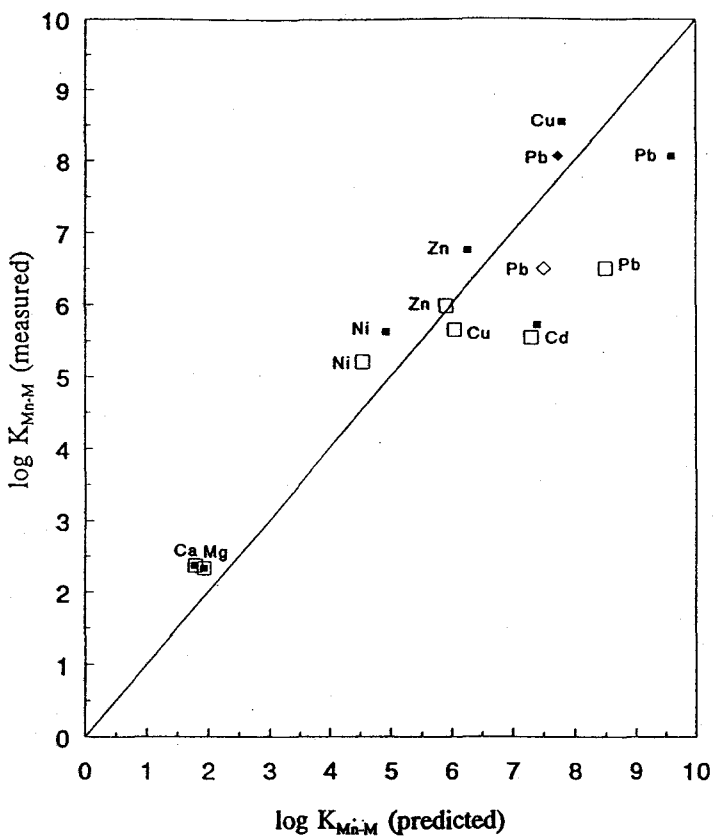


FIG. 6. Comparison between values of the conditional equilibrium constants K_{Mn-M} obtained from in situ measurements in McFarlane L. (vertical axis; obtained with Eqns. 7 and 8) with those predicted by the triple-layer version of the surface complexation model using the datasets given in Table 6 and the geochemical conditions of the lakes (horizontal axis). Values obtained if DOM complexation is taken into account (dark symbols ■ and ◆) or not (open symbols □ and ◇); the symbols (◆ and ◇) are for Pb data obtained by LFER. The 1:1 line is shown.

FA and HA given in Table 1 and assumed equivalent weights of 1,500 and 15,000 for FA and HA, respectively (Tipping, 1994) to obtain total concentration of L, $[L]_T$. The free L concentration, $[L^{y-}]$, was obtained by subtracting, from $[L]_T$, the concentrations of Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn bound to DOM, as given in the output of WHAM1.0. The concentrations of M^{z+} and ML^{z-y} were also obtained from the output of the computer code.

To calculate K_{LM}^{part} (Eqn. 13), it was necessary first to estimate the total concentration of natural organic matter bound to the Fe oxyhydroxides, $\{FeL\}_T$. We assumed that the HS/Fe ratio for diagenetic Fe oxyhydroxides would be tenfold that calculated for goethite at the pH of Clearwater Lake (Table 3); an increase of this magnitude was reported by Tipping (1981) for adsorption of HS on aged ferrihydrite compared to goethite at the pH of McFarlane Lake. The resulting value of HS, at a given Fe concentration, was taken as $\{FeL\}_T$. The $\{FeLM\}$ values were then obtained by the M/Fe ratios in Table 3 multiplied by the same Fe concentration. The value of $\{FeL\}$ was obtained by subtracting from $\{FeL\}_T$ the values of $\{FeLM\}$ for Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn.

The values of K_{LM}^{part} and K_{LM}^{sol} (Fig. 7) display great similarity for Cd, Cu, Ni, and Zn for Clearwater, despite the rough assumptions made in the calculations. The value of K_{LPb}^{part} is, however, greater by approximately one order of magnitude than that of K_{LPb}^{sol}. The close agreement between K_{LM}^{part} and K_{LM}^{sol} (Fig. 7) for Clearwater and the measured K_{Fe-M} consistently higher than the predicted K_{Fe-M} for this lake (Fig. 4) suggest that, in Clearwater Lake, these metals are bound to the functional groups of the organic matter (presumably humic substances) adsorbed at the surface of the Fe oxyhydroxides rather than to the hydroxyl groups of the Fe oxyhydroxides themselves. Davis (1984) has reached similar conclusions in a laboratory study of the simultaneous adsorption of natural organic matter and copper on an Al oxyhydroxide, γ-$Al_2O_3(s)$; he also found that K_{LCu}^{part} was very similar to K_{LCu}^{sol} (in fact only 0.5 log units greater) at all pH values examined from 4.5 to 8.0.

3.9. Predicted Metal Partitioning in the Oxic Lake Sediments

The conditional constants and the free ion concentrations given in Table 4, together with the concentrations of the sed-

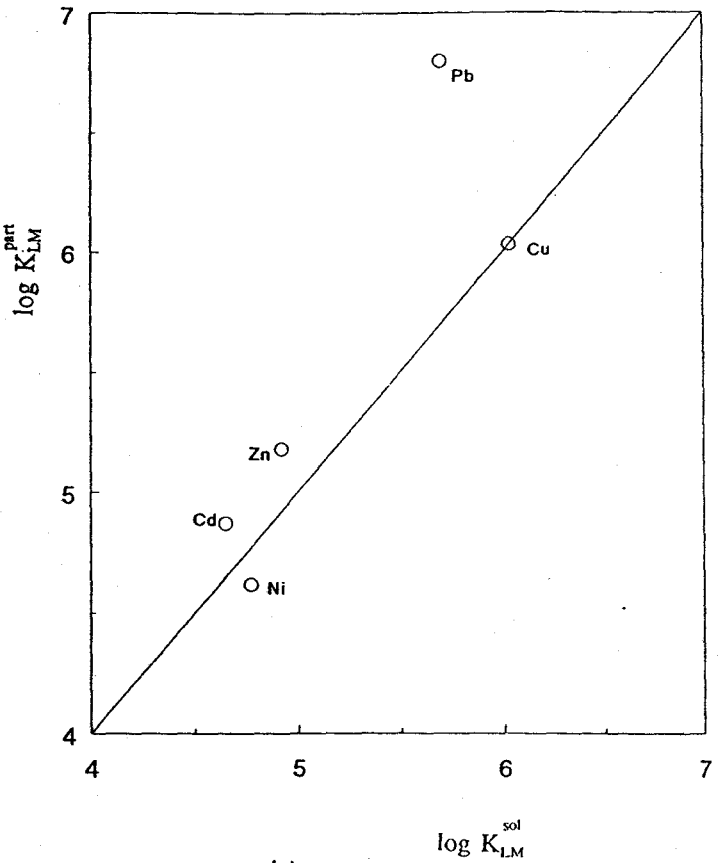


FIG. 7. Comparison of the conditional constants for binding of trace metals with dissolved (K_{LM}^{sol}) and adsorbed (K_{LM}^{part}) natural organic matter in Clearwater L. The 1:1 line is shown.

iment Fe and Mn oxyhydroxides given in Table 1, have been used to estimate, with Eqns. 2 and 4, metal binding to Fe and Mn oxyhydroxides present in the oxic sediments of the two lakes. In this calculation, it was assumed that the values of the conditional constant $K_{Fe\text{-}M}$ and $K_{Mn\text{-}M}$ obtained for diagenetic Fe and Mn oxyhydroxides (Table 4) apply to all the Fe and Mn oxyhydroxides extracted with the $NH_2OH \cdot HCL$ solutions from the oxic sediments of the two lakes. This reagent, under the experimental conditions used, dissolves synthetic ferrihydrite and lepidocrocite, but not goethite (Fortin et al., 1993). According to this calculation, sedimentary Fe and Mn oxyhydroxides are predicted to bind significant fractions of the "non-detrital" transition metals studied (Fig. 8) and they thus constitute important sedimentary pools for most of the trace metals studied, particularly in Clearwater Lake. The importance of the Fe oxyhydroxide pool is probably underestimated since the reagent used to extract Fe oxyhydroxides from sediments does not dissolve all of them. It should be recalled also that, according to our observations (see the above discussion), binding of metals to Fe and Mn oxyhydroxides should occur predominantly with the hydroxyl groups of the oxyhydroxides in McFarlane Lake, and with functional groups of organic matter adsorbed to the Fe oxyhydroxides in Clearwater lake.

The remaining proportion of the "non-detrital" trace metals not accounted for by adsorption to low crystallinity Fe and Mn oxyhydroxides could be incorporated into living organisms (e.g., phytoplankton) or their remains or simply bound to sedimentary organic matter adsorbed on particles other than Fe and Mn oxyhydroxides or to hydroxyl groups of more refractory Fe and Mn oxyhydroxides (e.g., goethite) or of Al-bearing minerals (e.g., clays, Al oxyhydroxides). Association of trace metals with HS coatings on various types of particles could conceivably dominate metal binding in the oxic sediments of Clearwater Lake. Indeed, if it is assumed that the conditional constants K_{LM}^{sol} determined for complexation with dissolved humic substances apply to the complexation of trace metals by humic substances adsorbed to all kinds of particles (as suggested by Fig. 7 for the coatings on Fe oxyhydroxide particles), then it would be necessary to assume that the following percentages (given in parentheses) of the sedimentary organic carbon given in Table 1 are present as HS coatings to explain the concentrations of all "non-detrital" Cd (28% of C_{org}), Cu (41%), Ni (24%), and Zn (18%) observed in Clearwater. In fact, a large proportion of sedimentary organic matter has been shown to be present as coatings on mineral particles (Keil et al., 1994; Mayer, 1994a,b). Organic complexation could not, however, explain "non-detrital" Pb in

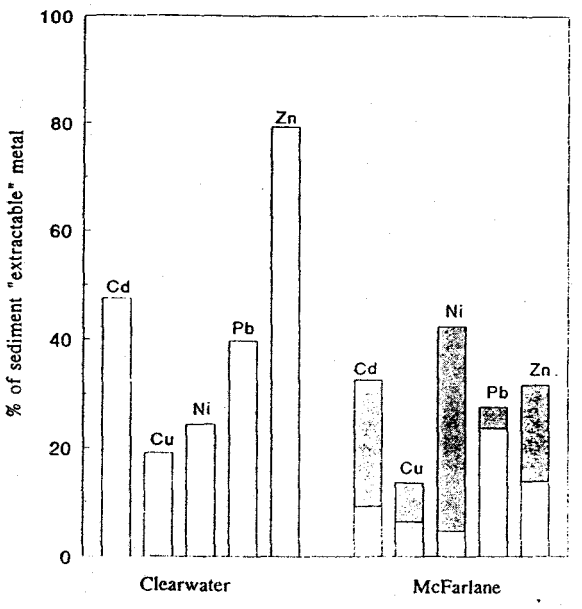


FIG. 8. Estimated percentage of sediment non-detrital trace metals bound to Fe (□) and Mn (▨) oxyhydroxides in Clearwater and McFarlane lakes.

this lake. In contrast to Clearwater Lake, organic complexation by humic substances, if we assume that all C_{org} is HS coatings, would explain only very small percentages (in parentheses) of extractable Cd (2%), Cu (4%), Ni (8%), Pb (1%), and Zn (1%) in McFarlane Lake. These results suggest that incorporation into organisms or sorption to mineral phases other than poorly crystalline Fe and Mn oxyhydroxides may play an important role in binding metals in the sediments of this lake.

4. CONCLUDING REMARKS

Our observations provide some insights into the nature of metal binding to diagenetic Fe and Mn oxyhydroxides in situ in natural lake sediments. They are consistent with laboratory based models, providing further support for the theoretical paradigm currently assumed. In the acidic Clearwater Lake, the most plausible scenario is that trace metals bind to the adsorbed organic matter on Fe oxyhydroxides. This conclusion is supported by: (1) the low slopes (~0.5) observed between log $K_{Fe\text{-}M}$ and log K_{MOH} or log $K^{int}_{Fe\text{-}M}$, (2) the greater measured than predicted $K_{Fe\text{-}M}$ values, ruling out hydroxyl groups as major binding sites, (3) a calculated HS/Fe ratio greater than ΣM/Fe, indicating that the number of organic binding sites associated with the Fe oxyhydroxides are sufficient to bind all the trace metals, (4) the close similarity between K^{sol}_{LM} and K^{part}_{LM} for trace metals, which suggests that humic substances adsorbed on Fe oxyhydroxides are responsible for binding these metals, and (5) the statistically significant correlation between {Fe-M} and {C_{org}} simultaneously released from the Fe-rich deposits. These results are not unexpected, since adsorption of natural organic matter on oxyhydroxides is known, from laboratory studies, to be favored at low [Ca], when pH decreases, and there is evidence from laboratory experiments that the presence of HS at the surface of Fe and Al oxyhydroxides enhances surface complexation of the metals at low pH (Davis, 1984).

In contrast to the results for acid Clearwater, in circumneutral McFarlane, all the data are consistent with a scenario of trace metals sorbing directly to the hydroxyl groups of both Fe and Mn oxyhydroxides. This conclusion is drawn from the following observations: (1) significant correlations between log $K_{Fe\text{-}M}$ or log $K_{Mn\text{-}M}$ with log K_{MOH} are observed; (2) significant correlations between log $K_{Fe\text{-}M}$ or log $K_{Mn\text{-}M}$ and the corresponding intrinsic surface complexation constants are also observed, showing slopes close to 1; (3) agreement between measured and predicted $K_{Fe\text{-}M}$ and $K_{Mn\text{-}M}$ values, which indicates that metal sorbed can be accounted for by the oxyhydroxides alone; (4) the estimated concentrations of organic binding sites covering the Fe and Mn oxyhydroxides are insufficient to bind the concentrations of trace metals present in the Fe- and Mn-rich deposits (i.e., calculated HS/Fe $\ll \Sigma M$/Fe and HS/Mn $\ll \Sigma M$/Mn), and (5) the statistically insignificant correlations between {Mn-M} and {C_{org}} from Mn-rich deposits. These results for McFarlane contradict the generally held view that the natural organic matter, which coats the surfaces of all particles in natural waters, masks the surface properties and reactivity of the underlying particles (Hunter, 1980; Balistrieri et al., 1981; Davis, 1984; Day et al., 1994). On the contrary, our results suggest that the organic coatings do not strongly alter the reactivity of the functional groups of the underlying Fe and Mn oxyhydroxides towards trace metals in this circumneutral system.

The alkaline earth cations Ca and Mg appear to bind more to the organic matter coatings than to the hydroxyl groups of Fe or Mn oxyhydroxides in McFarlane Lake. This conclusion is supported by: (1) greater measured than predicted $K_{Fe\text{-}M}$ values, ruling out Fe-OH groups as the major binding sites; (2) small variations in $K_{Fe\text{-}Ca}$ or $K_{Fe\text{-}Mg}$ between the two lakes and between $K_{Fe\text{-}Ca}$ and $K_{Mn\text{-}Ca}$ (or between $K_{Fe\text{-}Mg}$ and $K_{Mn\text{-}Mg}$) in McFarlane Lake, and (3) the statistically significant correlations between {Mn-M} (for M = Ca and Mg) and {C_{org}} from Mn-rich deposits. The explanation for contrasting behavior between the alkaline earth and trace metals in this lake probably reflects the different types of surface complexes that they are likely to form, i.e., outer-sphere for the alkaline earth (a function of surface charge) and inner-sphere for the trace metals. Since the surface charge of aquatic particles is dominated by organic coatings in natural waters (Hunter, 1980; Hunter and Liss, 1979; Neihof and Loeb, 1972), it would be expected that adsorbed Ca and Mg concentrations would be controlled predominantly by the organic coatings.

Our results strongly suggest that pH plays an important role in determining which types of particle surface binding sites are involved in the sorption of trace metals in lakewater. The picture which is suggested by our results—metal bound directly to hydroxyl groups of the oxyhydroxides in circumneutral waters and indirectly to these oxyhydroxides, via the organic coatings on oxyhydroxides, in low pH waters—should be verified for other aquatic systems with a range of pH values. This is a fundamental issue which needs to be resolved if aquatic systems are to be described accurately with surface complexation models.

The reasonable agreement between predicted and measured conditional binding constants found in most instances in this study is encouraging. These results suggest that laboratory-derived adsorption datasets could be useful for predicting metal adsorption in the field. Important questions to be addressed before reasonable predictions can be made include the extent of competition among trace metals themselves as well as between major ions and trace metals for binding sites at the surfaces of Fe and Mn oxyhydroxides, and the extent of adsorption of natural organic matter to Fe and Mn oxyhydroxides.

Acknowledgments—Financial support from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, the Québec Fonds pour la Formation de Chercheurs et l'Aide à la Recherche, and the US EPA is acknowledged. The able diving skills of R. Rodrigue and C. Mathieu and the technical assistance provided by M. Goeffroy-Bordeleau and P. Fournier are gratefully acknowledged. We thank J. Buffle, P. G. C. Campbell, W. Davison, L. Hare, E. Tipping, L. Warren, and an anonymous reviewer for their critical comments on the manuscript and J. C. Auclair for performing the statistical analyses.

Editorial handling: L. S. Balistrieri

REFERENCES

Bachuber K. and Frosch D. (1983) Melamine resins, a new class of water-soluble embedding media for electron microscopy. *J. Microsc.* **130**, 1–9.

Balistrieri L., Brewer P. G., and Murray J. W. (1981) Scavenging residence times of trace metals and surface chemistry of sinking particles in the deep ocean. *Deep-Sea Res.* **28A**, 101–121.

Belzile N. and Tessier A. (1990) Interactions between arsenic and iron oxyhydroxides in lacustrine sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta* **54**, 103–109.

Belzile N., De Vitre R. R., and Tessier A. (1989) In situ collection of diagenetic iron and manganese oxyhydroxides from natural sediments. *Nature* **340**, 376–377.

Benjamin M. M. and Leckie J. O. (1981) Competitive adsorption of Cd, Cu, Zn, and Pb on amorphous iron oxyhydroxide. *J. Colloid Interf. Sci.* **83**, 410–419.

Boerschke R. C., Gallie E. A., Belzile N., Gedye R. N., and Morris J. R. (1995) Quantitative elemental and structural analysis of dissolved organic carbon fractions from lake water. *Canadian J. Chem.* (submitted).

Buffle J. (1988) *Complexation Reactions in Aquatic Systems. An Analytical Approach.* Ellis Horwwod Ltd.

Carignan R. (1984) Interstitial water sampling by dialysis: Methodological notes. *Limnol. Oceanogr.* **29**, 667–670.

Carignan R. and Nriagu J. O. (1985) Trace metal deposition and mobility in the sediments of two lakes near Sudbury, Ontario. *Geochim. Cosmochim. Acta* **49**, 1753–1764.

Carignan R., Rapin F., and Tessier A. (1985) Sediment porewater sampling for metal analysis: A comparison of techniques. *Geochim. Cosmochim. Acta* **49**, 2493–2497.

Catts J. G. and Langmuir D. (1986) Adsorption of Cu, Pb and Zn by δ-MnO_2: Applicability of the site binding-surface complexation model. *Appl. Geochem.* **1**, 255–264.

Cowan C. E., Zachara J. M., and Resch C. T. (1991) Cadmium adsorption on iron oxides in the presence of alkaline-earth elements. *Environ. Sci. Technol.* **25**, 437–446.

Davis J. A. (1982) Adsorption of natural dissolved organic matter at the oxide/water interface. *Geochim. Cosmochim. Acta* **46**, 2381–2393.

Davis J. A. (1984) Complexation of trace metals by adsorbed natural organic matter. *Geochim. Cosmochim. Acta* **48**, 679–691.

Davis J. A. and Kent D. B. (1990) Surface complexation modeling in aqueous geochemistry. In *Mineral-Water Interface Geochemistry* (ed. M. F. Hochella Jr. and A. F. White); *Rev. Mineral.* **23**, 177–260.

Davis J. A. and Leckie J. O. (1978) Surface ionization and complexation at the oxide/water interface. 2. Surface properties of amorphous iron oxyhydroxide and adsorption of metal ions. *J. Colloid Interf. Sci.* **67**, 90–105.

Davison W. (1993) Iron and manganese in lakes. *Earth-Sci. Rev.* **34**, 119–163.

Davison W., Grime G. W., Morgan J. A. W., and Clarke K. (1991) Distribution of dissolved iron in sediment pore waters at submillimetre resolution. *Nature* **352**, 323–325.

Day G. M., Hart B. T., McKelvie I. D., and Beckett R. (1994) Adsorption of natural organic matter onto goethite. *Colloids Surf. A: Physicochem. Engineer. Aspects* **89**, 1–13.

Dempsey B. A. and Singer P. C. (1980) The effects of calcium on the adsorption of zinc by MnO_x(s) and $Fe(OH)_3$(am). In *Contaminants and Sediments, Vol. 2. Analysis, Chemistry, Biology* (ed. R. A. Baker), pp. 333–352. Ann Arbor Science Publishers.

Dzombak D. and Morel F. M. M. (1990) *Surface Complexation Modeling: Hydrous Ferric Oxide.* Wiley.

Fortin D., Leppard G. G., and Tessier A. (1993) Characteristics of lacustrine diagenetic iron oxyhydroxides. *Geochim. Cosmochim. Acta* **57**, 4391–4404.

Fu G., Allen H. E., and Cowan C. E. (1991) Adsorption of cadmium and copper by manganese oxide. *Soil Sci.* **152**, 72–81.

Gu B., Schmitt J., Chen Z., Liang L., and McCarthy J. F. (1994) Adsorption and desorption of natural organic matter on iron oxide: Mechanisms and models. *Environ. Technol.* **28**, 38–46.

Hamilton-Taylor J., Davison W., and Morfett K. (1995) The biogeochemical cycling of Zn and Cu in a seasonally anoxic lake. *Limnol. Oceanogr.* (submitted).

Hesslein R. H. (1976) An in situ sampler for close interval pore water studies. *Limnol. Oceanogr.* **21**, 912–914.

Honeyman B. D. and Leckie J. O. (1986) Macroscopic partitioning coefficients for metal ion adsorption. In *Geochemical Processes at Mineral Surfaces* (ed. J. A. Davis and K. A. Hayes); *ACS Symp. Ser. 323*, pp. 162–190. ACS.

Huerta-Diaz M. A., Tessier A., and Carignan R. (1996) Geochemistry of trace metals associated with reduced sulfur in freshwater sediments. *Geochim Cosmochim. Acta* (submitted).

Hunter K. A. (1980) Microelectrophoretic properties of natural surface-active organic matter in coastal seawater. *Limnol. Oceanogr.* **25**, 807–822.

Hunter K. A. and Liss P. S. (1979) The surface charge of suspended particles in estuarine and coastal waters. *Nature* **282**, 823–825.

Keil R. G., Tsaakis E., Fuh C. B., Giddings J. C., and Hedges J. I. (1994) Mineralogical and textural controls on the organic composition of coastal marine sediments: Hydrodynamic separation using SPLITT-fractionation. *Geochim. Cosmochim. Acta* **58**, 879–893.

Leppard G. G., Massalski A., and Lean D. R. S. (1977) Electron-opaque microscopic fibrils in lakes: their demonstration, their biological derivation and their potential significance in the redistribution of cations. *Protoplasma* **92**, 289–309.

Luoma S. N. (1986) A comparison of two methods for determining copper partitioning in oxidized sediments. *Mar. Chem.* **20**, 45–49.

Luoma S. N. and Davis J. A. (1983) Requirements for modeling trace metal partitioning in oxidized estuarine sediments. *Mar. Chem.* **12**, 159–181.

Malcolm R. L. (1985) Geochemistry of stream fulvic and humic substances. In *Humic Substances in Soil, Sediment, and Water. Geochemistry, Isolation, and Characterization* (ed. G. R. Aiken et al.), pp. 181–209. Wiley-Interscience.

Malcolm R. L. (1991) Factors to be considered in the isolation and characterization of aquatic humic substances. In *Humic Substances in the Aquatic and Terrestrial Environment* (ed. H. Boren and B. Allard), pp. 369–391. Wiley.

Mayer L. M. (1994a) Surface area control of organic carbon accumulation in continental shelf sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta* **58**, 1271–1284.

Mayer L. M. (1994b) Relationships between mineral surfaces and organic carbon concentrations in soils and sediments. *Chem. Geol.* **114**, 347–363.

Neihof R. A. and Loeb G. I. (1972) The surface charge of particulate matter in seawater. *Limnol. Oceanogr.* **17**, 7–16.

Ochs M., Cosovic B., and Stumm W. (1994) Coordinative and hydrophobic interaction of humic substances with hydrophilic Al2O3 and hydrophobic mercury surfaces. *Geochim. Cosmochim. Acta* **58**, 639–650.

Papelis C., Hayes K. F., and Leckie J. O. (1988) HYDRAQL: *A Program for the Computation of Chemical Equilibrium Composition of Aqueous Batch Systems Including Surface Complexation Modeling of Ion Adsorption at the Oxide/Solution Interface. Stanford Univ. Dept. Civ. Eng. Tech. Rep. 306.*

Peachey L. D. (1958) Thin sections. 1. A study of section thickness and physical distortion produced during microtomy. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **4**, 233–242.

Perret D., Leppard G. G., Muller M., Belzile N., De Vitre R. R., and Buffle J. (1991) Electron microscopy of aquatic colloids: nonperturbing preparation of specimens in the field. *Wat. Res.* **25**, 1333–1343.

Reuter J. H. and Perdue E. M. (1977) Importance of heavy metal-organic matter interactions in natural waters. *Geochim. Cosmochim. Acta* **41**, 325–334.

Schindler P. W. (1981) Surface complexes at oxide-water interfaces. In *Adsorption of Inorganics at Solid-Liquid Interfaces* (ed. M. A. Anderson and A. J. Rubin), pp. 1–49. Ann Arbor Science Publishers.

Schindler P. W., Furst B., Dick R., and Wolf P. U. (1976) Ligand properties of surface silanol groups. I. Surface complex formation with Fe^{3+}, Cu^{2+}, Cd^{2+}, and Pb^{2+}. *J. Colloid Interf. Sci.* **55**, 469–475.

Schlautman M. A. and Morgan J. J. (1994) Adsorption of aquatic humic substances on colloidal-size aluminum oxide particles: Influence of solution chemistry. *Geochim. Cosmochim. Acta* **58**, 4293–4303.

Smith R. W. and Jenne E. A. (1991) Recalculation, evaluation, and prediction of surface complexation constants for metal adsorption on iron and manganese oxides. *Environ. Sci. Technol.* **25**, 525–531.

Smith R. M. and Martell A. E. (1977) *Critical Stability Constants*. Plenum.

Spurr A. R. (1969) A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.* **26**, 31–43.

Stumm W., Hohl H., and Dalang F. (1976) Interaction of metal ions with hydrous oxides. *Croat. Chem. Acta* **48**, 491–504.

Tessier A., Carignan R., Dubreuil B., and Rapin F. (1989) Partitioning of zinc between the water column and the oxic sediments in lakes. *Geochim. Cosmochim. Acta* **53**, 1511–1522.

Tipping E. (1981) The adsorption of aquatic humic substances by iron oxides. *Geochim. Cosmochim. Acta* **45**, 191–199.

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. *Comp. Geosci.* **20**, 973–1023.

Tipping E. and Heaton M. J. (1983) The adsorption of aquatic humic substances by two oxides of manganese. *Geochim. Cosmochim. Acta* **47**, 1393–1397.

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

Tipping E., Griffith J. R., and Hilton J. (1981a) The effect of adsorbed humic substances on the uptake of copper(II) by goethite. *Croat. Chem. Acta* **56**, 613–621.

Tipping E., Woof C., and Cooke D. (1981b) Iron oxide from a seasonally anoxic lake. *Geochim. Cosmochim. Acta* **45**, 1411–1419.

Tipping E., Thompson D. W., and Woof C. (1989) Iron oxide particulates formed by the oxygenation of natural and model lakewaters containing Fe(II). *Arch. Hydrobiol.* **115**, 59–70.

Zasoski R. J. and Burau R. G. (1988) Sorption and sorptive interaction of cadmium and zinc on hydrous manganese oxide. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* **52**, 81–87.