

Vers une nouvelle méthode de détermination des métaux labiles dans les milieux aquatiques

■ G. VARRAULT¹, V. ROCHER², G. BRACMORT¹, Y. LOUIS^{1,3}, Z. MATAR¹

Mots-clés : métaux traces, biodisponibilité, labilité, disque chélatant, milieu récepteur, rejets urbains, réglementation

Keywords: trace metals, bioavailability, lability, chelating disk, received water, urban discharges, regulation

Introduction

Il est désormais admis que la connaissance des concentrations en éléments traces métalliques (ETM) dans l'échantillon brut (dissous + particulaire) ou même dans l'échantillon filtré (dissous) n'est pas suffisante pour évaluer à court terme l'impact des métaux sur les organismes vivants dans les systèmes aquatiques. Pour ce faire, il est nécessaire d'estimer la fraction de métal biodisponible. Plusieurs techniques existent et ont été comparées [SIGG *et al.*, 2006]. La plus répandue est incontestablement la technique du *diffusive gradient in thin film* (DGT) qui permet la mesure de la fraction labile des complexes métalliques [DAVISON et ZHANG, 1994] laquelle est une bonne estimation de la fraction réellement biodisponible des métaux même si, dans certains cas, cette fraction semble légèrement surestimée [DIVIS *et al.*, 2007 ; LUIDER *et al.*, 2004 ; TUSSEAU-VUILLEMIN *et al.*, 2004]. Cette méthode est une méthode intégrative, c'est-à-dire qu'elle permet d'évaluer une concentration moyenne de métaux provenant d'espèces labiles pendant la durée de l'échantillonnage qui correspond à la période d'immersion du dispositif dans l'échantillon.

Malgré sa relative simplicité, le transfert de la technique DGT aux acteurs opérationnels impliqués dans

la gestion des systèmes aquatiques peut se révéler délicat. En effet, si la mise en pratique est relativement simple, la détermination de la concentration moyenne labile dans le milieu échantillonné n'est pas immédiate et nécessite des calculs supplémentaires. En outre, cette méthode, par nature intégrative, est inadaptée à la mesure des concentrations de métaux labiles pour des échantillons ponctuels.

L'objectif poursuivi est d'optimiser une méthode de détermination des concentrations en métaux labiles, méthode à la fois simple et permettant des mesures ponctuelles. Pour cela, nous avons choisi l'utilisation de disques chélatants [CHAMINDA *et al.*, 2008 ; CHAMINDA *et al.*, 2010]. Ces disques sont constitués d'un polymère (polystyrène divinylbenzène) fonctionnalisé par des groupements iminodiacétiques (IDA) chélatants. Ces groupes IDA sont aussi ceux de la résine Chelex 100, bien connue dans le domaine de la spéciation des métaux [FLORENCE, 1982] et d'ailleurs utilisée dans les DGT. L'originalité, ici, est d'utiliser ces groupements non pas sous forme de résine, mais sous forme de disques chélatants qui se présentent et s'utilisent exactement comme de simples disques filtrants. La méthode consiste à faire passer à travers le disque chélatant l'échantillon préalablement filtré. Les groupements IDA forment alors des complexes avec les métaux labiles (qui se dissocient) en laissant passer les complexes métalliques inertes (qui ne se dissocient pas pendant le temps de contact). La concentration en métal « inerte » est déterminée dans l'effluent de disque (solution de sortie) et donne accès à la concentration

¹ Laboratoire eau environnement et systèmes urbains (Leesu) – Université Paris-Est – 61, avenue du Général-de-Gaulle – 94010 Créteil cedex.

² Siaap, direction du développement et de la prospective – 82, avenue Kléber – 92700 Colombes.

³ Université de Lyon, INSA-Lyon – Laboratoire LGCIE – Bât. Carnot – 9, rue de la Physique – 69621 Villeurbanne.

en formes labiles par différence avec celle en métal dissous total. La concentration en métal labile peut également être déterminée directement, mais cela nécessite alors l'élution du disque chélatant et l'analyse de l'éluat. Ce principe et cet usage très simples nous ont paru compatibles, d'une part, avec un transfert vers le milieu opérationnel et, d'autre part, avec des mesures ponctuelles. Cette technique est donc tout à fait complémentaire de la DGT qui est une mesure intégrative. En outre, cette méthode étant utilisée directement sur site présente l'avantage de limiter les changements de spéciation des métaux pouvant intervenir lors du transport/stockage si la spéciation n'est pas réalisée immédiatement.

Ce travail est le fruit d'une collaboration menée entre le laboratoire de recherche universitaire Leesu et la direction du développement et de la prospective du Syndicat interdépartemental de l'assainissement de l'agglomération parisienne (Siaap). Il a consisté principalement à valider la méthode analytique. Nous avons en outre caractérisé la labilité par cette méthode de plusieurs complexes métalliques connus. Les résultats obtenus ont été comparés, sur des bases bibliographiques, avec la labilité de ces mêmes complexes mesurée par la technique DGT.

1. Matériel et méthodes

1.1. Caractéristiques et principe d'utilisation du disque chélatant

Le disque choisi est un disque de marque Empore de la société 3M de 47 mm de diamètre. Il est constitué de la même manière que les résines chélatantes de type « Chelex 100 » : polymère (polystyrène divinylbenzène) avec des groupements chélatants iminodiacétiques.

Le passage de l'échantillon dans le disque chélatant va permettre de distinguer les métaux dits labiles des métaux dits inertes. Les métaux labiles vont être fixés par les groupements fonctionnels du disque tandis que les métaux inertes, non retenus, se retrouvent dans la solution de sortie (*figure 1*). La fraction labile des métaux est la somme des métaux libres, c'est-à-dire non complexés, et des métaux engagés dans des complexes qui se dissocient durant le temps de la

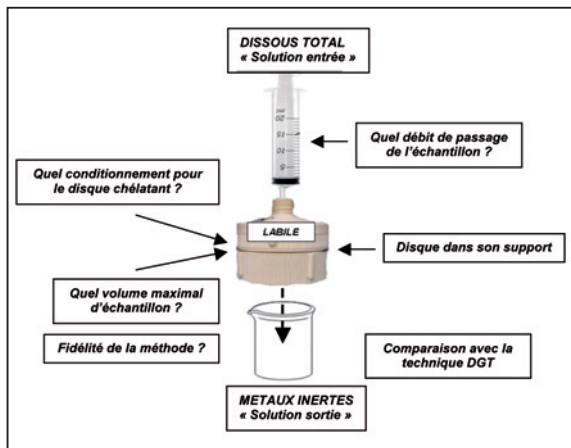
mesure, c'est-à-dire pendant le temps de contact entre l'échantillon et les groupements fonctionnels du disque. Il s'agit des complexes formés entre les métaux et les ligands inorganiques (Cl^- , SO_4^{2-} , NO_3^- ...) et d'une partie des complexes formés avec les ligands organiques. Les métaux inertes sont les métaux engagés dans des complexes qui ne se dissocient pas durant le temps de la mesure. La notion de labilité est donc une notion « opérationnelle », c'est-à-dire qu'elle dépend de la technique utilisée pour la mesurer. Dans le cas présent, comme dans le cas de la technique DGT, elle dépend du temps laissé à la dissociation des complexes métalliques.

La concentration en métal inerte est obtenue par l'analyse des métaux dans la solution de sortie. La concentration en métal labile peut être déterminée classiquement comme avec la technique DGT par une extraction (élution) des métaux retenus par le disque chélatant. Cette élution est réalisée à l'aide d'une solution d'acide fort de haute pureté. Afin d'améliorer la limite de quantification de cette méthode analytique, il est possible de préconcentrer l'échantillon avec un facteur de préconcentration égal au ratio (volume de l'échantillon)/(volume de la solution éluante). La concentration en métal labile peut également être déterminée par le calcul de la différence entre la concentration totale de métal dissous et la concentration de métal inerte. C'est cette méthode que nous avons privilégiée dans le cadre de ce travail.

Les métaux étudiés sont le cadmium (Cd), le nickel (Ni) et le plomb (Pb) qui font partie des substances prioritaires (directive cadre sur l'eau, DCE – bon état chimique), ainsi que le cobalt (Co), le cuivre (Cu) et le zinc (Zn) qui, pour ces deux derniers, font partie des polluants spécifiques pour l'évaluation du bon état écologique.

1.2. Protocole de validation de la méthode

Différents tests ont été effectués afin de déterminer les conditions d'utilisation de la méthode des disques chélatants et afin de vérifier sa fiabilité et sa robustesse. Le schéma de la *figure 1* décrit le principe d'utilisation du disque chélatant et reprend les principaux points d'interrogation sur lesquels nous avons travaillé.



Technique DGT : *diffusive gradient in thin film*.

Figure 1. Synopsis de l'utilisation du disque chélatant et paramètres testés pour la validation de la méthode

1.2.1. Optimisation du conditionnement des disques chélatants

Avant son utilisation, il est nécessaire de conditionner le disque chélatant. Le conditionnement nécessite deux étapes. La première étape vise à placer les groupements fonctionnels chélatants iminodiacétiques dans leur forme déprotonée qui est la plus active vis-à-vis de la complexation des métaux. Pour ce faire et suivant les préconisations du fabricant, le passage de 100 mL d'une solution tampon d'acétate d'ammonium (pH = 5,3) est réalisé.

La seconde étape vise à décontaminer les disques chélatants. Cette étape est indispensable dans le cas de mesures de très faibles concentrations en métaux dans l'environnement (de l'ordre de la centaine de ng/L) dans la mesure où une masse résiduelle de métaux demeure inévitablement dans les disques chélatants neufs. Il s'agit donc de réduire la masse de métal résiduelle dans les disques afin de les rendre compatibles avec la mesure des métaux traces dans l'environnement. Cette étape est particulièrement critique dans le cas où la concentration en métal labile est déterminée directement, car l'élution du disque par une solution d'acide fort va extraire les métaux résiduels en plus des métaux provenant de l'échantillon. Dans le cas d'une détermination de la concentration en métal inerte où seul l'échantillon en sortie de disque est analysé, les risques d'une contamination de l'échantillon par le disque sont plus faibles, car les métaux contaminants résiduels sont probablement retenus dans le disque par les groupements fonctionnels.

Pour décontaminer les disques chélatants, deux types de lavages différents ont été testés : le lavage classique et le lavage par recirculation. Le lavage classique consiste en deux passages successifs de 20 mL d'acide nitrique (3 mol/L) avec un temps de contact de l'ordre de la minute. Cette manipulation a été effectuée pour quatre réplicats. Le lavage par recirculation consiste en une recirculation dans le disque chélatant d'acide nitrique concentré (3 mol/L) maintenue à un débit de 10 mL/min à l'aide d'une pompe péristaltique pendant 45 minutes. Cette augmentation du temps de contact peut permettre d'améliorer la décontamination.

À l'issue de chaque type de lavage, une élution est réalisée afin de quantifier les masses résiduelles de métaux extractibles lors de l'élution. L'élution consiste en un passage d'un volume de 20 mL d'acide nitrique 3 mol/L. La quantification des métaux élués permettra d'estimer la contamination des résines dans le cas d'une détermination directe de la concentration en métaux labiles. De même, à l'issue du lavage, un volume d'eau ultrapure est passé sur les disques décontaminés puis récupéré en sortie. L'analyse de la solution de sortie nous permet de caractériser la contamination dans le cas de la détermination indirecte de la concentration en métaux labiles (analyse des métaux inertes).

1.2.2. Détermination du débit de passage de l'échantillon

Le débit de passage de l'échantillon, dans la mesure où il détermine le temps de contact entre les complexes métalliques et les groupements fonctionnels des disques chélatants, peut avoir une forte influence sur la mesure des fractions labiles et inertes. En effet, plus le temps de contact est important plus le complexe métallique est susceptible de se dissocier durant le passage dans le disque, augmentant donc la fraction labile. Pour la fiabilité des mesures, il est impératif de caractériser l'influence du débit de passage de l'échantillon sur la mesure de la concentration des métaux labiles ou inertes.

Différents types d'échantillons ont été testés [BRACMORT, 2010]. Les résultats présentés ici concernent des échantillons provenant de l'entrée et de la sortie de la station d'épuration (STEP) Seine Centre. Chaque échantillon est passé à travers un disque préalablement conditionné du débit le plus fort au débit le plus

faible (500, 300, 200, 150, 80, 50, 20, 10, 5 mL/min). L'opération est réalisée en duplicat. La concentration en métaux inertes est ensuite déterminée par analyse de la solution collectée en sortie de disque.

1.2.3. Caractérisation de la labilité des complexes

Afin de caractériser la technique du disque chélatant en tant qu'outil de spéciation, la labilité de quelques complexes métalliques bien connus a été étudiée avec la technique du disque chélatant. Il s'agit d'identifier parmi ces complexes ceux qui sont labiles et ceux qui sont inertes avec cette technique.

Pour ce faire, des solutions synthétiques sont préparées à pH 8 et à une concentration de 100 µg/L en métaux. Chaque solution synthétique contient un seul ligand organique en fort excès, à une concentration de 0,01 mol/L. Les différents ligands testés sont le citrate, la glycine, l'acide nitrilotriacétique (NTA) et l'acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA) dans l'ordre croissant de leur pouvoir complexant des métaux. Ces ligands sont en excès dans la solution afin que plus de 99 % du métal soit sous forme complexée (modélisée par Visual Minteq). Une solution synthétique dite solution « minérale » ne contient pas de ligand organique. Chacune de ces solutions synthétiques est passée sur le disque chélatant à un débit de 200 mL/min. La concentration en métaux inertes est ensuite déterminée dans la solution de sortie et la fraction de métaux labiles est ensuite déterminée par calcul pour chaque type de ligand.

1.2.4. Détermination du volume maximal d'échantillon

Le but de ce test est de déterminer le volume d'échantillon maximal que l'on peut faire passer sur le disque sans altérer la qualité de la mesure. Deux échantillons d'entrée et de sortie de la STEP Seine Centre, préalablement filtrés à 0,45 µm, sont passés à travers le disque chélatant. Des volumes connus sont passés successivement à un débit de 200 mL/min. Après le passage de chaque volume, le filtrat est récupéré afin d'analyser les métaux inertes.

1.2.5. Fidélité de la méthode

La réplicabilité de la méthode (même opérateur, même disque, même jour) a été caractérisée grâce à l'analyse de deux solutions d'entrée et de sortie de la

STEP Seine Centre. Cette analyse a été répétée 20 fois. La répétabilité (même opérateur, disque différent, même jour) de la méthode a été caractérisée à l'aide de l'analyse d'une solution synthétique de métaux (100 µg/L en présence de NTA) sur dix disques différents. Le passage des solutions s'est fait à un débit de 200 mL/min.

1.2.6. Conditions opératoires et réactifs utilisés

De manière classique en ce qui concerne l'analyse des métaux traces dans l'environnement, il est impératif de limiter les contaminations. La préparation du matériel et des solutions est faite dans une salle blanche (classe ISO 7). Tout le matériel (flacons, support de filtration, seringue) susceptible d'être en contact avec l'échantillon à analyser subit un cycle de lavage particulier avec, notamment, un premier lavage au détergent et un lavage de 24 heures minimum dans un bain d'acide nitrique à 5 %. Tous les réactifs utilisés sont des réactifs de haute pureté (série Suprapur, chez Merck, ou Optima, chez Fisher Scientific). L'eau ultrapure est fournie par un appareil de purification d'eau « Purelab-ultra » commercialisé par ElgaLabwater. Le matériel est ensuite séché sous une hotte à flux laminaire en salle blanche.

1.2.7. Analyses des métaux dissous et inertes

Avant l'analyse des métaux proprement dite, il est nécessaire de séparer par filtration les fractions métalliques dissoutes des fractions particulaires. De même, l'utilisation du disque chélatant nous permet de séparer les fractions labiles des fractions inertes.

• Les métaux dissous

L'échantillon brut est introduit à l'aide d'une seringue dans un support de filtration en polypropylène (Swinnex) contenant un filtre en acétate de cellulose de 47 mm de diamètre et de porosité 0,45 µm. Le filtrat est récupéré dans un tube ultrapropre (SCP Science), acidifié à 2 % (HNO₃ suprapur) puis conservé à 5 °C avant analyse.

• Les métaux inertes

L'échantillon préalablement filtré est passé à travers le disque chélatant selon le même dispositif que pour la filtration. La solution de sortie, qui ne contient que les métaux inertes, est récupérée dans un tube ultrapropre (SCP Science), acidifiée à 2 % (HNO₃ suprapur) puis conservée à 5 °C avant analyse. La concentration en

métaux labiles est obtenue par calcul de la différence de concentration entre l'échantillon dissous (somme de l'inerte et du labile) et l'échantillon inerte.

• **L'analyse des métaux en ICP-MS**

Les analyses par spectrométrie de masse couplée à un plasma inductif (ICP-MS) ont eu lieu au laboratoire des sciences du climat et de l'environnement (LSCE), unité mixte de recherche entre le CNRS, le CEA et l'université de Versailles Saint-Quentin (UVSQ) à Gif-sur-Yvette. L'appareil utilisé est « X Serie ICP MS » de la marque Thermo Electron Corporation dont l'application est gérée par le logiciel Thermo Plasmalab. Afin de vérifier la validité de la mesure, des solutions de contrôle – certifiées par le National Institute of Standards and Technology (NIST) – sont utilisées.

2. Résultats et discussion

Les principaux résultats obtenus concernant la mise au point de la méthode de détermination des métaux labiles par l'utilisation de disque chélatant sont présentés dans cette partie.

2.1. Optimisation du conditionnement des disques chélatants

Les disques chélatants ont été décontaminés par les deux types de lavage présentés précédemment. De manière générale, pour l'ensemble des métaux

étudiés, il apparaît que la masse de métal extraite diminue en relation avec le nombre de lavages effectué et donc du volume d'acide utilisé [BRACMORT, 2010]. Dans le cas du lavage classique, après deux lavages à l'acide, les masses de Co, Cd et Pb dans l'éluat sont très faibles, mais elles restent élevées pour le Ni et surtout pour le Cu et le Zn (tableau I). Dans le but de diminuer la masse résiduelle en métaux contaminants, le lavage par recirculation d'acide a été testé. Pour le cuivre, le nickel et le plomb, le lavage par recirculation d'acide permet de diminuer considérablement les masses extraites, d'un facteur environ 50 pour le cuivre, d'au moins 20 pour le nickel et d'un facteur 10 pour le plomb. Pour le zinc, la masse extraite ne diminue que d'un facteur 2 par rapport au lavage classique.

Pour les deux types de lavage, les masses maximales de métaux dans l'éluat sont comparées aux masses moyennes pouvant être apportées par le passage de 100 mL d'eau de surface (ES) ou de rejet de STEP (tableau II).

Dans le cas du lavage classique, les masses résiduelles de Cd et de Co dans l'éluat sont faibles comparées à celles apportées par 100 mL d'un échantillon d'eau de surface ou de STEP. Pour les autres métaux, ces masses sont très importantes, voire largement supérieures à celles apportées par les échantillons. Dans le cas du

	Masse métal dans l'éluat (ng)	Cd	Co	Cu	Ni	Pb	Zn
Lavage classique	Moyenne (n = 4)	0,055	< 0,2	340	40,2	4,0	480
	Valeur maximale	0,1	< 0,2	520	61,2	13,7	1 080
Lavage par recirculation	Moyenne (n = 3)	< 0,02	< 0,2	7,6	< 2	0,3	250
	Valeur maximale	< 0,02	< 0,2	20,9	< 2	0,6	495

Tableau I. Masses des métaux dans l'éluat en fonction du type de lavage réalisé

	Cd	Co	Cu	Ni	Pb	Zn
Masse de métaux labiles dans 100 mL d'ES (ng)*	1	10	50	100	10	500
% maximal de contamination avec lavage classique	10	< 2	> 100	61	> 100	> 100
% maximal de contamination avec lavage par recirculation	< 2	< 2	41,8	< 2	6	99
Masse de métaux labiles dans 100 mL de rejet de STEP (ng)*	3	150	150	600	30	3 000
% maximal de contamination avec lavage classique	3,3	< 0,2	> 100	10,2	45,7	35,8
% maximal de contamination avec lavage par recirculation	< 0,7	< 0,2	14	< 0,4	2	16,5

*Ces estimations ont été faites à partir des résultats obtenus lors des prélèvements à Alfortville, Suresnes, Andrésy et Méricourt pour les eaux de surface (eau de Seine) et à Seine Amont, Seine Centre et Seine Aval pour les eaux de rejet de STEP.

Tableau II. Comparaison des masses maximales des métaux dans l'éluat et des masses de métaux moyennes dans des échantillons d'eaux de surface (ES) et de rejets de station d'épuration (STEP)

lavage par recirculation, les masses de Cd, Co, Ni et Pb dans l'éluat sont faibles comparées à celles apportées par le passage de 100 mL d'eau de surface ou de rejet de STEP. Pour le cuivre et le zinc, ces masses résiduelles sont encore trop élevées surtout dans le cas d'un échantillon d'eau de surface puisqu'elles représentent respectivement 42 % et 99 % de la masse apportée par l'échantillon. Dans le cas d'un échantillon de rejet de STEP, ces masses représentent moins de 20 % des masses apportées par l'échantillon.

Il apparaît donc que le lavage par recirculation d'acide permet de décontaminer suffisamment les disques, les rendant utilisables avec des matrices environnementales peu chargées. Les cas du cuivre et du zinc dans les eaux de surface restent problématiques, mais peuvent être améliorés par la préconcentration de l'échantillon. En effet, dans le cas de la détermination directe des métaux labiles, il est possible de préconcentrer l'échantillon d'un facteur égal au ratio (volume de l'échantillon)/(volume de la solution éluante). Dans l'exemple ci-dessus, le passage d'un échantillon d'eau de surface de 400 mL ou de 1 000 mL permettrait de réduire la masse résiduelle à moins de 10 % du cuivre et du zinc apportés par l'échantillon.

Dans le cas d'une détermination de la concentration en métal inerte (calcul du labile par différence entre le total et l'inerte), il importe de caractériser la contamination non pas de l'éluat, mais de la solution de sortie. Des blancs ont été effectués après un lavage classique suivi ou non d'un lavage par recirculation d'acide. Les concentrations métalliques dans les blancs effectués avant ou après les recirculations d'acide sont peu différentes [BRACMORT, 2010] et présentent des concentrations très faibles, sauf dans le cas du zinc où elles sont de l'ordre de quelques µg/L. Les valeurs moyennes de blanc sont présentées dans

le *tableau III*. Il est probable que, notamment dans le cas du zinc, ces contaminations ne proviennent pas du disque chélatant en lui-même, mais plutôt du flaconnage utilisé, même si celui-ci a subi une étape préalable de décontamination.

Les valeurs de concentration métalliques obtenues dans les blancs ont été comparées aux concentrations moyennes de métaux inertes que l'on est susceptible de trouver dans les matrices environnementales.

Les résultats sont très satisfaisants pour le Co, le Ni et le Pb puisque la concentration moyenne du blanc est inférieure respectivement à 10 % et 3 % de la concentration moyenne d'une eau de surface et d'une eau de rejet de STEP. Dans le cas du Cd, du Ni et du Zn, la contamination est un peu plus importante (de l'ordre de 20 % dans le cas d'un échantillon d'eau de surface), mais reste toutefois modérée.

• **Synthèse concernant le conditionnement du disque**

Pour la détermination directe des concentrations en métaux labiles qui nécessite l'éluat du disque, il est indispensable de décontaminer celui-ci à l'aide d'un lavage effectué par recirculation d'acide. Le volume d'acide utilisé ainsi que la durée de lavage doivent être ajustés au cas par cas en fonction des concentrations en métaux traces de l'échantillon. En outre, plus le volume d'échantillon est grand et plus les contaminations résiduelles sont faibles, en proportion, par rapport aux métaux préconcentrés dans le disque.

Pour la détermination des concentrations en métaux inertes (calcul du labile), une décontamination du disque par recirculation du disque n'est pas indispensable, un lavage classique tel qu'il a été appliqué ici est suffisant. Quoi qu'il en soit, en raison notamment de la variabilité de la contamination résiduelle dans les disques chélatants, il est indispensable de faire des blancs préalable-

Concentration (µg/L)	Cd	Co	Cu	Ni	Pb	Zn
Blanc moyen	0,001	0,001	0,3	0,02	< 0,01	0,8
Eau de surface*	0,005	0,050	1,5	1,5	0,10	4
Apport du blanc ES	20 %	2 %	20 %	1 %	< 10 %	20 %
Eau de rejet de STEP*	0,02	1	2	5	0,3	20
Apport du blanc STEP	5 %	1 %	15 %	0,4 %	< 3 %	4 %

*Ces estimations ont été faites à partir des résultats obtenus lors des prélèvements à Alfortville, Suresnes, Andrésy et Méricourt pour les eaux de surface (Seine) et à Seine Armont, Seine Centre et Seine Aval pour les eaux de rejet de STEP.

Tableau III. Comparaison des concentrations moyennes des blancs aux concentrations moyennes en métaux inertes dans les eaux de surface (ES) et de rejets de station d'épuration (STEP)

ment aux mesures de métaux labiles et/ou inertes dans des échantillons réels afin d'adapter la procédure de décontamination aux échantillons analysés.

2.2. Détermination du débit de passage de l'échantillon

La figure 2 représente les concentrations en cuivre et nickel inertes respectivement en entrée et en sortie de la STEP Seine Centre. Il apparaît que les concentrations en métaux inertes augmentent avec le débit, ce qui est tout à fait cohérent : l'augmentation du débit diminue le temps de contact, ce qui a pour effet de diminuer la labilité des complexes métalliques et donc d'augmenter la fraction de métaux inertes. Il apparaît une gamme de débit pour laquelle les concentrations en métaux inertes sont stables ; en effet, à partir d'environ 150 mL/min, les concentrations en métaux inertes sont assez stables, même s'il demeure une légère augmentation de la concentration en nickel inerte en sortie de STEP.

Il semble donc nécessaire d'imposer un débit minimal de passage de l'échantillon afin d'assurer des résultats robustes. Sur l'ensemble des résultats obtenus pour les

solutions testées [Bracmort, 2010], le débit influence peu la labilité des complexes métalliques à partir de 150 mL/min, et ce, jusqu'à 500 mL/min au moins. Afin d'assurer des résultats répétables, il faut donc faire passer les solutions à un débit variant de 150 à 500 mL/min. Par exemple, pour l'utilisation d'une seringue de 25 mL, le passage des solutions devra être compris entre 3 et 10 secondes. Cette gamme de temps de passage est suffisamment large pour permettre l'utilisation de cette technique dans un cadre opérationnel sur le terrain et sans pompe péristaltique.

2.3. Caractérisation du métal labile par les disques chélatants

Dans le cas de la solution « minérale », c'est-à-dire ne contenant pas de ligands organiques, la fraction de métaux labiles est de l'ordre de 100 %. Ce résultat était attendu dans la mesure où les complexes métalliques établis avec des ligands minéraux sont généralement très labiles. Dans le cas des solutions synthétiques avec ligand organique, les fractions de métaux labiles sont présentées dans le tableau IV.

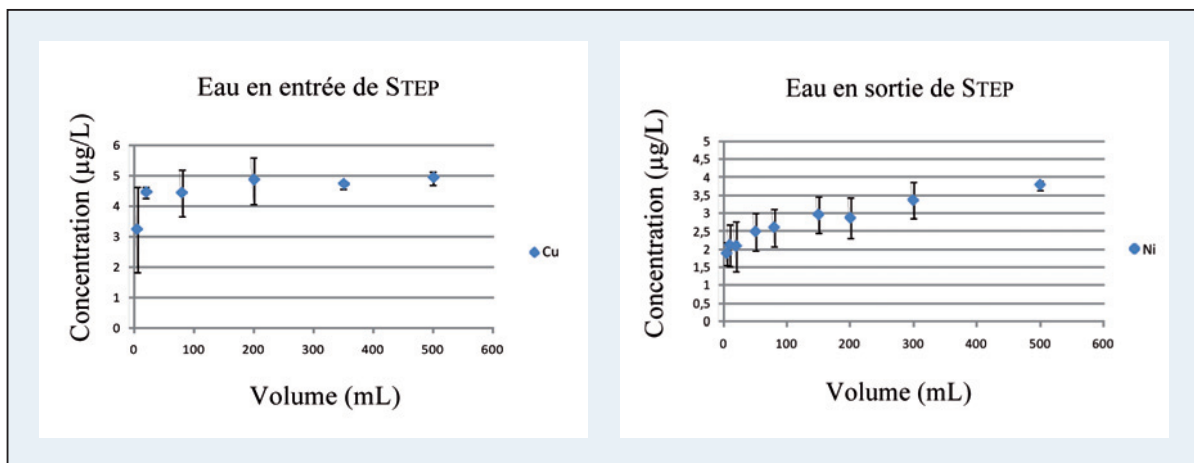


Figure 2. Concentrations en cuivre et en nickel inertes, respectivement en entrée et en sortie de la station d'épuration Seine Centre

% Métaux labiles	Cd	Co	Cu	Ni	Pb	Zn
Glycine	90	90	100	50	100	100
Citrate	100	80	10	20	40	90
NTA	40	10	10	0	5	5
EDTA	1	2	1	2	1	0

NTA : acide nitrilotriacétique ; EDTA : acide éthylène diamine tétraacétique.

Tableau IV. Fractions de métaux labiles déterminées avec la méthode des disques chélatants pour quelques complexes métalliques

Si quelques métaux présentent des comportements spécifiques, nous constatons dans l'ensemble que la stabilité des complexes avec les métaux suit cet ordre : Glycine < Citrate < NTA < EDTA. Cela est cohérent avec le fait que la glycine est un ligand bidentate, le citrate est tridentate, le NTA est tétra-dentate et l'EDTA, hexadentate.

Les complexes établis avec la glycine sont pleinement labiles pour le cuivre et partiellement labiles pour le nickel. Les complexes établis avec le citrate, le NTA et l'EDTA, sont inertes pour le cuivre et pour le nickel. Selon la littérature, avec la technique DGT, les complexes établis avec la glycine, le citrate et le NTA, sont entièrement labiles pour le cuivre et le nickel, tandis que les complexes établis entre l'EDTA et le cuivre et le nickel sont totalement inertes [SCALLY *et al.*, 2003]. Il semble donc que la technique du disque chélatant, comparée à la méthode DGT, permette de se rapprocher de la concentration en métal libre (dont on a déjà montré tout l'intérêt précédemment). En effet, des complexes labiles en DGT apparaissent inertes avec la technique du disque chélatant (exemple des complexes du cuivre et du nickel avec le citrate et le NTA). Cela peut s'interpréter par une limite cinétique puisque le temps de contact permettant la dissociation des complexes est de l'ordre de quelques minutes en DGT et seulement de 0,1 à 0,5 seconde pour le disque chélatant. Toutefois, les deux méthodes (DGT ou disque) appliquées à des échantillons réels du milieu récepteur conduisent à des valeurs similaires des fractions de métaux labiles par rapport au dissous total [LOUIS *et al.*,

2009]. Il est probable que les complexes établis entre les métaux et la matière organique dissoute des systèmes aquatiques présentent globalement la même labilité avec les deux techniques. Il est donc probable que la fraction de métaux « labiles-disques chélatants » soit très proche de la fraction de métaux « labiles -DGT » dans les systèmes aquatiques.

2.4. Détermination du volume maximal de l'échantillon

L'objectif de ce test est de déterminer le volume maximal que l'on peut passer sur le disque chélatant sans altérer la mesure de la labilité des complexes métalliques. Par exemple, une saturation des sites fixateurs du disque conduirait à une forte diminution de la fraction labile. Pour ce faire, les concentrations en cuivre et zinc inertes ont été déterminées dans deux échantillons d'entrée et de sortie de la STEP Seine Centre en fonction du volume d'échantillon passé à travers le disque chélatant.

Nous pouvons constater (*figure 3*) que la concentration en métaux inertes reste relativement stable jusqu'à respectivement des volumes maximums d'un litre et de deux litres pour les échantillons d'entrée et de sortie de STEP. À partir de ces volumes, les échantillons, même s'ils sont préalablement filtrés, entraînent un début de colmatage du disque chélatant empêchant de poursuivre normalement la mesure. Il est probable que les colloïdes (notamment la matière organique colloïdale) présents dans l'échantillon filtré sont à l'origine de ce colmatage. Notons qu'il n'a pas pu être mis en évidence de saturation des groupements fonctionnels du disque.

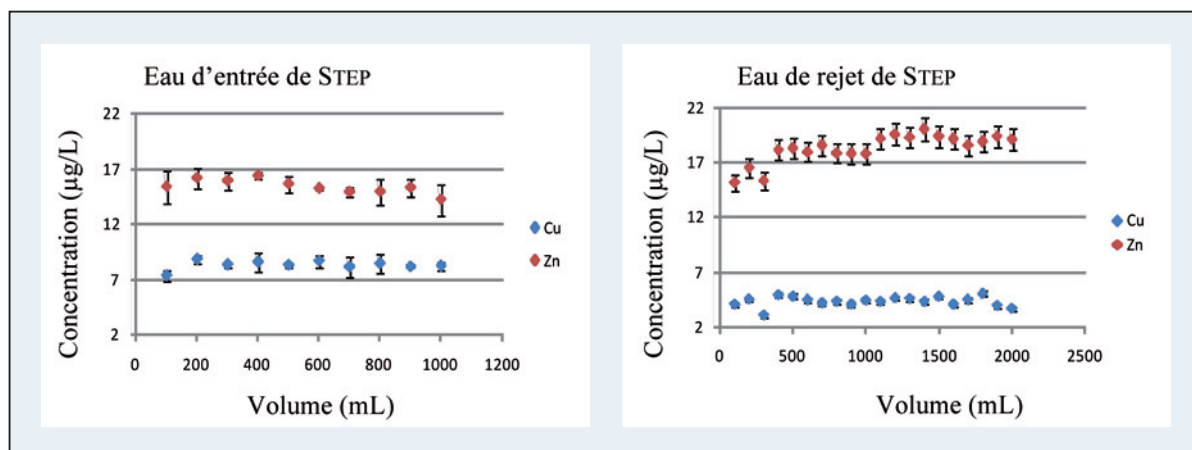


Figure 3. Concentrations en Cu et Zn inertes en fonction du volume d'eau de station d'épuration (STEP) passé

2.5. Fidélité de la méthode

Le test de réplicabilité donne les résultats suivants sur 20 mesures : le *tableau V* présente les moyennes de concentration en métaux inertes obtenue pour les 20 mesures ainsi que leurs écarts types et intervalles de confiance. Ces intervalles de confiance (< 5 % de la valeur moyenne) sont très satisfaisants et démontrent une bonne réplicabilité de la méthode.

Le test de répétabilité a été effectué sur dix mesures avec une solution synthétique contenant les métaux et le ligand organique NTA.

Les résultats sont très satisfaisants puisque les intervalles de confiance sont inférieurs à 10 % de la valeur moyenne, voire même inférieurs à 3 % pour le Co, le Cu et le Ni. Il apparaît donc que la fidélité de la méthode reste très bonne, même lorsque des disques différents sont utilisés. La fraction labile mesurée n'est donc pas modifiée d'un disque à l'autre.

En outre, des tests de reproductibilité ont été menés avec des opérateurs différents [BRACMORT, 2010] et ont également donné de bons résultats, attestant de la robustesse de la méthode.

Conclusion et perspectives

L'objectif principal de cette étude est la mise au point d'une méthode permettant d'estimer la biodisponibilité des métaux traces dans les systèmes aquatiques. Actuellement, la réglementation impose des limites sur les fractions totales et dissoutes. De nombreuses

études ont montré que ces fractions ne sont pas représentatives du métal susceptible d'être toxique dans le milieu. C'est la raison pour laquelle, dans un souci d'anticipation de la réglementation, il est important de déterminer la proportion de métaux biodisponibles dans les rejets urbains et dans le milieu récepteur. Dans ce contexte, il est nécessaire de pouvoir disposer d'une méthode simple, robuste et fiable permettant de réaliser la spéciation des métaux dissous.

Dans le cadre de ce travail, nous proposons la technique du disque chélatant. Cette méthode, particulièrement adaptée à des mesures ponctuelles (en cela, elle est complémentaire de la méthode DGT) présente l'avantage d'être simple et applicable dans un domaine opérationnel. Une première étape de validation a été nécessaire afin de fixer les conditions d'utilisation du disque permettant d'obtenir des résultats fiables et répétables. Les résultats obtenus ont permis de répondre aux principales interrogations concernant l'utilisation du disque pour des matrices environnementales. Les conditions de préparation du disque, le débit et le volume maximal de passage des échantillons à travers le disque ont été définis. La labilité de quelques complexes métalliques connus a été étudiée et nous a permis de mettre en évidence que, comparée à la DGT, la fraction labile mesurée à l'aide de cette technique est plus proche de la concentration de l'ion libre qui est un bon outil prédictif de la biodisponibilité.

Enfin, le transfert de cette technique dans un cadre opérationnel est en cours puisqu'elle est déjà utilisée par la cellule technique de la direction du développement et de la prospective du Siaap pour des mesures de métaux labiles dans le milieu récepteur et dans les rejets urbains. L'utilisation de cette méthode directement sur le site d'échantillonnage présente l'avantage de limiter les changements de spéciation des métaux pouvant intervenir lors du transport/stockage comme

	Cu	Zn
Eau entrée de station d'épuration		
Moyenne de concentration (µg/L)	8,34	15,45
Écart type	0,40	0,65
Intervalle de confiance à 95 %	0,19	0,31
Eau de sortie de station d'épuration		
Moyenne concentration (µg/L)	4,43	20,62
Écart type	0,47	1,32
Intervalle de confiance à 95 %	0,22	0,62

Tableau V. Test de la réplicabilité (n = 20)

Métaux	Cd	Co	Cu	Ni	Pb
Moyenne de concentration (µg/L)	66,6	74,1	61,7	77,8	67,9
Écart type (µg/L)	5,5	2	4,6	0,5	2,5
Intervalle de confiance à 95 % (µg/L)	3,9	1,4	3,3	0,3	1,8

Tableau VI. Test de la répétabilité pour une solution métallique en présence d'acide nitrilotriacétique (NTA) (n = 10)

c'est le cas lorsque la spéciation (séparation des fractions labiles et inertes) n'est pas réalisée immédiatement.

Remerciements

Les auteurs remercient les équipes de la direction du développement et de la prospective du Siaap, et en particulier Erwan Garcia-Gonzalez, Julien Poullaude,

Céline Briand et Sabrina Guérin, pour leur participation active à cette étude. Les auteurs remercient également Sam Azimi, adjoint au responsable d'exploitation du site Seine Centre, pour le soutien technique apporté à ce projet. Nous remercions également Sophie Ayrault et Louise Bordier pour leur disponibilité lors des analyses en ICP-MS réalisées dans leur laboratoire.

Bibliographie

BRACMORT G. (2010) : *Détermination des métaux labiles par les disques chélatants : validation de la méthode et application sur des matrices environnementales*. Rapport de master 2 SAGE (2010), Université Paris-Est Créteil. pp. 68.

CHAMINDA G.G.T., NAKAJIMA F., FURUMAI H. (2008) : « Heavy metal (Zn and Cu) complexation and molecular size distribution in wastewater treatment plant effluent ». *Water Science and Technology*; 58: 1207-1213.

CHAMINDA G.G.T., NAKAJIMA F., FURUMAI H., KASUGA I., KURISU F. (2010): « Comparison of metal (Zn and Cu) complexation characteristics of DOM in urban runoff, domestic wastewater and secondary effluent ». *Water Science and Technology*; 62: 2044-2050.

DAVISON W., ZHANG H. (1994): « *In situ* speciation measurements of trace components in natural waters using thin-film gels ». *Nature*; 367: 546-548.

DIVIS P., DOCEKALOVA H., BRULAK L., PAVLIS M., HEKERA P. (2007): « Use of the diffusive gradients in thin films technique to evaluate (bio)available trace metal concentrations in river water ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry*; 387: 2239-2244.

FLORENCE T.M. (1982): « The speciation of trace-elements in waters ». *Talanta*; 29: 345-364.

LOUIS Y., VARRAULT G., PRIADI C., AYRAULT S., SAAD M., LEROY F. (2009): *Détermination des concentrations en métaux labiles et dissous dans la Marne et ses affluents durant un épisode de temps de pluie*. Rapport Piren-Seine (2009). pp. 22.

LUIDER D.C., CRUSIUS J., PLAYLE C.R., CURTIS J.P. (2004): « Influence of natural organic matter source on copper speciation as demonstrated by Cu binding to fish gills, by ion selective electrode, and by DGT gel sampler ». *Environmental Science and Technology*; 38: 2865-2872.

SCALLY S., DAVISON W., ZHANG H. (2003): « *In situ* measurements of dissociation kinetics and labilities of metal complexes in solution using DGT ». *Environmental Science and Technology*; 37: 1379-1384.

SIGG L., BLACK F., BUFFLE J., CAO J., CLEVEN R., DAVISON W., et al. (2006): « Comparison of analytical techniques for dynamic trace metal speciation in natural freshwaters ». *Environmental Science & Technology*; 40: 1934-1941.

TUSSEAU-VUILLEMIN M.-H., GILBIN R., BAKKAUS E., GARRIC J. (2004) : « Performance of diffusion gradient in thin films to evaluate the toxic fraction of copper to "Daphnia magna" ». *Environmental Toxicology and Chemistry*; 23: 2154-2161.

Résumé

G. VARRAULT, V. ROCHER, G. BRACMORT, Y. LOUIS, Z. MATAR

Vers une nouvelle méthode de détermination des métaux labiles dans les milieux aquatiques

Il est désormais admis que pour évaluer à court terme l'impact des métaux sur les organismes vivants dans les systèmes aquatiques, il est nécessaire d'estimer la fraction de métal biodisponible. Plusieurs techniques existent comme, notamment, la méthode du *diffusive gradient in thin film* (DGT) qui permet la mesure de la fraction labile des complexes métalliques. Cependant, cette méthode est par nature une méthode intégrative et n'est donc pas adaptée aux mesures ponctuelles de métaux labiles. L'objectif de cette étude, menée par le Leesu en collaboration avec les équipes de la direction du développement et de la prospective du Siaap, est d'optimiser et de valider une méthode simple de détermination des concentrations en métaux labiles. Pour cela, nous avons choisi l'utilisation de disques chélatants constitués d'un polymère (polystyrène divinylben-

zène) fonctionnalisé par des groupements imino-diacétiques (IDA) chélatants semblables à ceux utilisés par la méthode DGT. L'originalité, ici, est d'utiliser ces groupements sous forme de disques chélatants qui se présentent et s'utilisent exactement comme de simples disques filtrants. L'échantillon filtré à analyser est introduit dans le disque chélatant, les groupements IDA retiennent par complexation les métaux labiles en laissant passer les complexes métalliques inertes. La concentration en métal « inerte » est déterminée dans l'effluent de disque (solution de sortie) et donne accès à la concentration en formes labiles par soustraction à celle en métal dissous total. Ce principe et cet usage très simples sont compatibles, d'une part, avec un transfert vers le milieu opérationnel et, d'autre part, avec des mesures ponctuelles.

Abstract

G. VARRAULT, V. ROCHER, G. BRACMORT, Y. LOUIS, Z. MATAR**Towards a new method for labile metal assessment in aquatic environments**

It is now recognized that in order to evaluate the impact of metals on living organisms in aquatic systems, it is necessary to assess the bioavailable fraction of metal. Several techniques exist such as the DGT method (Diffusive Gradient in Thin Film) which allows the measurement of the labile fraction of metal complexes. However, this method is by nature an integrative approach and is not suitable for spot measurements of labile metals. The objective of this study, conducted by the Leesu in collaboration with Siaap, is to optimize and to validate a simple method for the determination of labile metal concentrations in aquatic systems. For this, we chose the use of chelating disks made

of a polymer (polystyrene divinylbenzene) functionalized with imino-diacetic acid (IDA) which are chelating groups similar to those used by the DGT method. The originality here is to use these chelating groups in chelating disks which can be used just like ordinary filter discs. The filtered sample is introduced into the chelating disk, IDA groups retain labile metal by complexation. The concentration of "inert" metal is determined in the disk effluent and provides access to the concentration of labile forms by subtracting from total dissolved metal. This principle is very simple and is compatible with spot measurements.