

Indices biochimiques et milieux marins. Journées du GABIM, Brest, 18-20 Nov. 1981
Publi. CNEOX (Actes Colloq.) n. 14, 1982, p.139 à 146

SPECTROFLUORIMETRIE DE SUBSTANCES HUMIQUES
PROVENANT D'EAUX D'ESTUAIRE
ETAT DES OBSERVATIONS AVEC CETTE METHODOLOGIE

M. EWALD⁽¹⁾, C. BELIN^{*}, P. BERGER^{*} and H. ETCHEBER^{**}

^{*}Groupe d'Océanographie Chimique, Université de Bordeaux I, 33405 Talence
Cedex (France).

^{**}Institut de Géologie du Bassin d'Aquitaine, 33405 Talence Cedex (France)

MOTS-CLES : Substances-humiques ; acides-fulviques ; acides-humiques ; spectro-
fluorimétrie ; sédiment-marin-profond ; eau d'estuaire.

RESUME :

— Ce travail préliminaire sur les eaux de l'estuaire de la Gironde montre que les substances humiques peuvent être identifiées par spectrofluorimétrie, aussi bien à l'état dissous (mesure directe) ou à l'état particulier après extraction chimique. Ces substances humiques de l'estuaire de la Gironde présentent des spectres de fluorescence typiques d'un matériel d'origine terrigène, si on les compare à ceux qui sont obtenus avec du matériel d'origine marine autochtone (sédiments marins profonds de la mission Orgon IV). —

INTRODUCTION :

La présence et le comportement des substances humiques dans les estuaires ont été décrits par plusieurs auteurs (REUTER et PERDUE, 1977 ; mise au point de HEAD, 1976 et références incluses). Le comportement des substances humiques dans un estuaire est d'abord estimé à partir de la mesure globale du carbone organique dissous et particulaire, associé à la matière organique. La spectrophotométrie d'absorption UV-VIS peut aussi donner des informations qualitatives et quantitatives (KROM et SHOLKOVITZ, 1977).

(1) A qui la correspondance doit être adressée.

Peu d'études directes par spectrofluorimétrie sur les acides fulviques dissous dans les eaux d'estuaire ont été effectuées jusqu'à présent. On trouve des travaux sur les eaux de mer où la concentration totale des substances humiques a été déterminée par spectrofluorimétrie (LUNDQUIST et al., 1978 ; NYQUIST, 1979). De plus les acides fulviques et humiques extraits par voie chimique de la matière organique particulaire, transitant dans l'estuaire, n'ont pas encore fait l'objet d'étude en spectrophotométrie ou en spectrofluorimétrie.

L'objet de ce travail est de montrer l'existence d'acides fulviques dissous et particulaires dans les eaux de l'estuaire de la Gironde ainsi que d'acides humiques particulaires par la méthode spectrofluorimétrique. Ce premier bilan de résultats est, dans l'état actuel des mesures, seulement descriptif. C'est la raison pour laquelle le matériel humique n'a pas été décationisé, pour donner une description de l'état brut de la situation, accessible par spectrofluorimétrie. Nous allons maintenant aborder la décationisation des substances humiques pour tenir compte de l'effet d'extinction de la fluorescence par des cations métalliques paramagnétiques (SAAR et WEBER, 1980).

De telles informations sont utiles pour comprendre le rôle des substances humiques comme facteur écologique dans les processus de régulation de la biocénose par voie directe ou indirecte, impliquant le transport par les substances humiques de polluants chimiques.

METHODES

L'eau et les matières en suspension ont été prélevées dans le milieu de l'estuaire de la Gironde (France) durant février 1981. Le pH était 7,6, la salinité 2‰, la turbidité 1,120 mg/l. L'eau a été filtrée sur filtre Whatman GF/C (0,45-1 μ), pyrolysée à 500°C durant 30 minutes pour éliminer les impuretés organiques. Le résidu est appelé arbitrairement "matière organique particulaire" et le filtrat "matière organique dissoute". L'eau filtrée a été directement étudiée par spectrophotométrie d'absorption UV-VIS avec un appareil Beckman Acta M VI (cuves de quartz de 5 cm. de long), ainsi que par spectrofluorimétrie avec un appareil Hitachi-Perkin-Elmer MPF-3, muni d'un photomultiplicateur R 106 (cuves de quartz de 1 cm. x 1 cm.). La bande passante du spectrofluorimètre était de 16 nm à l'excitation et de 4 nm à l'observation. Les cellules de fluorescence sont thermostatées à 20°C. Les spectres de fluorescence ne sont pas corrigés pour la variation de la fonction instrumentale à l'émission en fonction de la longueur d'onde. En effet, si l'on considère l'absence d'intercalibration du procédé de

* ALMGREN et al., 1975.

correction entre différents laboratoires, une correction de spectres sans intercalibration et donc sans la valeur des erreurs correspondantes pourrait induire en erreur lors des comparaisons (une étude sur la correction de spectres sera prochainement proposée). Dans ce travail tous les spectres fournis sont obtenus sur le même instrument avec les mêmes conditions expérimentales. Les comparaisons relatives qui sont l'objet de cet article, ne nécessitent pas une correction absolue pour les interprétations que nous donnons ici.

Une autre correction doit être examinée avec attention. Tout d'abord les solutions doivent être suffisamment diluées pour éviter l'effet d'écran et la réabsorption de fluorescence. Ensuite toutes les eaux examinées montrent un effet de diffusion Tyndall, liée à la présence de macromolécules, qui modifie considérablement le blanc des expériences de spectrofluorimétrie et qui devrait être en première analyse celui de l'eau bidistillée. En fait, il n'en est rien (voir EWALD et JOBET-BELIN, 1981) et on doit mesurer le spectre du blanc sur une solution non fluorescente d'alcool polyvinylique (PVA) (Schuchardt, Masse moléculaire $\approx 75\ 000$) dans l'eau. Dans ces conditions quand la diffusion du PVA est normalisée à celle de la solution réelle, le spectre "blanc" dû à la lumière polychromatique diffuse du monochromateur d'excitation (EWALD et JOBET-BELIN, 1981) est soustrait du spectre de la solution étudiée. Cette correction peut être considérée comme importante dans le cas où l'eau filtrée est très diffusante ou quand l'intensité de fluorescence est faible (c'est-à-dire du même ordre de grandeur que celui de l'émission de la diffusion Raman de l'eau, ce qui est généralement le cas pour la fluorescence des acides humiques).

Pour la matière organique particulaire (taille $> 0,45\ \mu$), les acides fulviques (AF) et les acides humiques (AH) sont extraits par une méthode chimique connue (DEBYSER et GADEL, 1981 et références citées). Les AF et les AH ne sont pas décationisés. Le blanc de toutes les opérations d'extraction a été fait et la fluorescence de ce blanc ne donne pas d'émissions qui interfèrent avec celles qui sont présentées ici, pour l'excitation à 370 nm.

Nous utilisons comme matériel de référence, d'origine marine autochtone, les échantillons de sédiment prélevés lors de la mission Orgon IV sur le N/O Jean Charcot en novembre 1978. La carotte de sédiment est obtenue à 4 750 m. de profondeur avec un carottier Reineck long (Station KL4). L'obtention des eaux interstitielles, des eaux superficielles du sédiment (≈ 5 m au-dessus du sédiment), l'extraction chimique des AF et des AH du sédiment (10 à 50 cm sous l'interface eau-sédiment) ont déjà été décrits (EWALD et JOBET-BELIN, 1981). La matière organique prélevée dans ce cas peut être considérée comme essentiellement d'origine

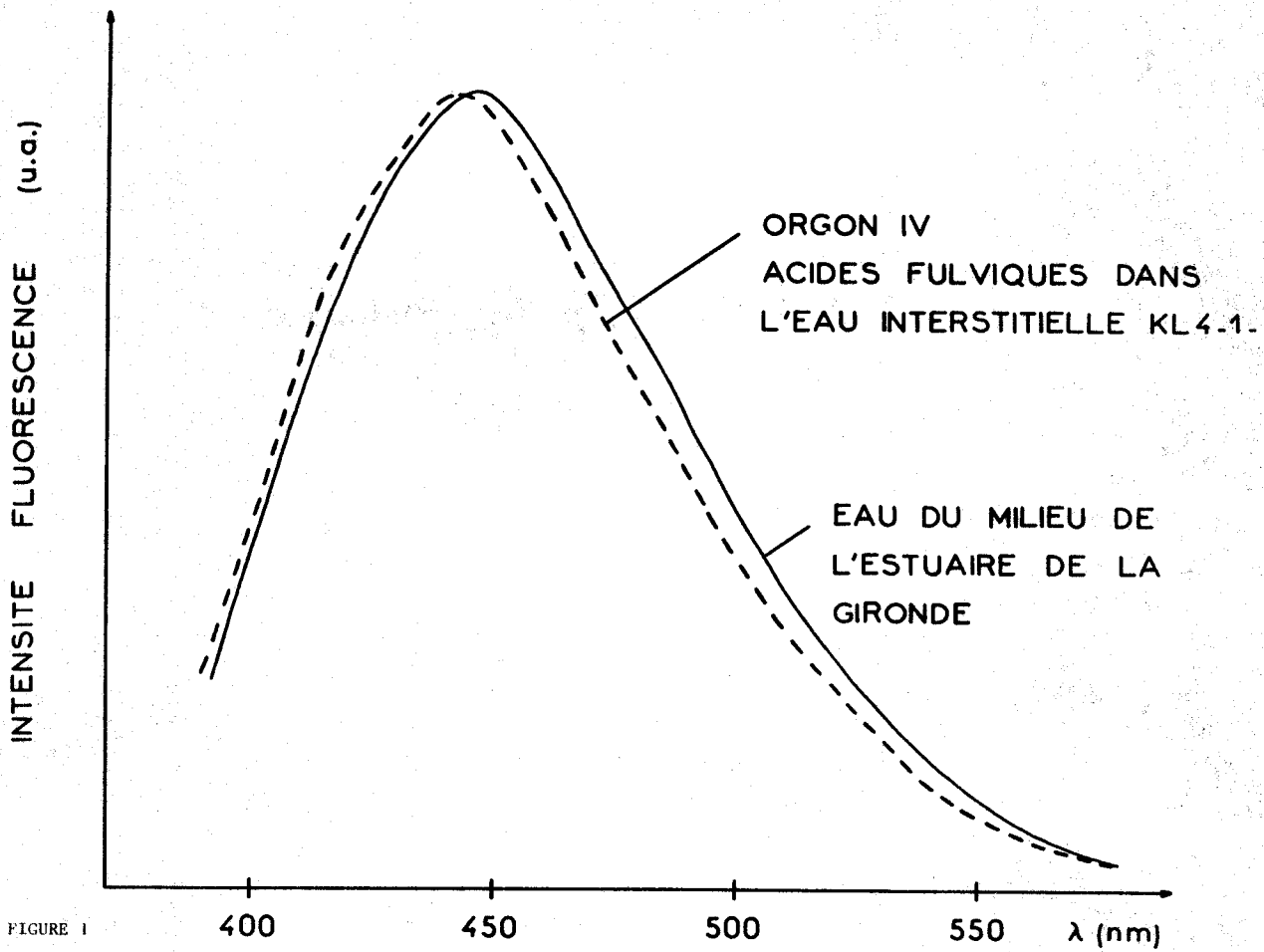


FIGURE 1

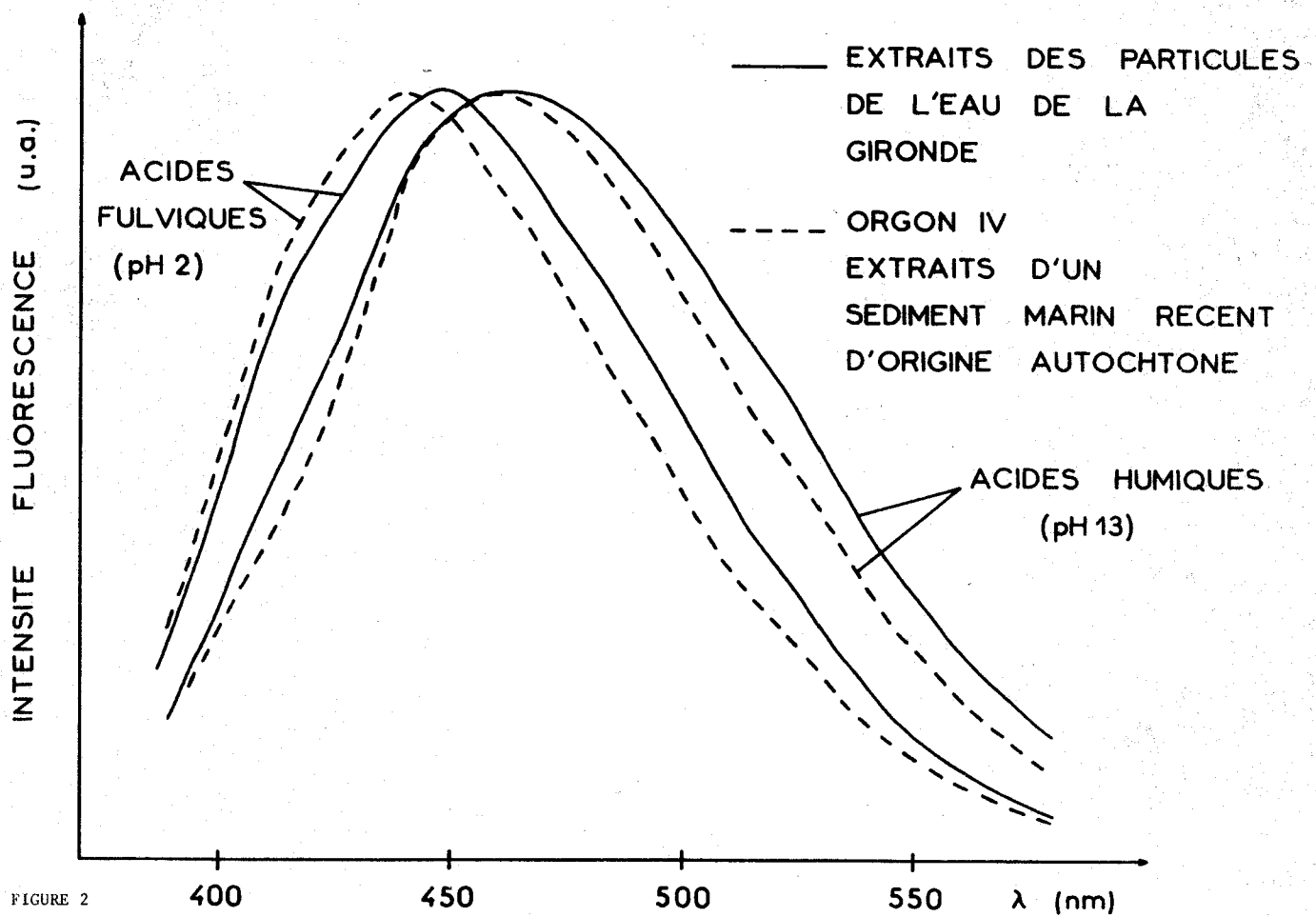


FIGURE 2

autochtone (CARATINI et al., 1981 ; DEBYSER et al., 1981). Ces échantillons seront considérés ici comme du matériel de référence d'origine marine autochtone pour les substances humiques.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

La comparaison (fig. 1) du spectre de fluorescence de l'eau filtrée de l'estuaire de la Gironde avec l'eau interstitielle ou superficielle filtrée de la station 4 de la mission Orgon IV, montre que les acides fulviques sont les composants organiques fluorescents majoritaires à l'état dissous. Un déplacement significatif vers le rouge est observé sur le spectre de fluorescence des acides fulviques de l'eau de la Gironde comparé à celui de l'eau interstitielle d'Orgon IV (KL 4).

Pour la matière organique particulaire de l'eau de la Gironde on constate, du moins sur le plan de l'information spectrofluorimétrique, que les substances humiques extraites se comportent comme, respectivement, les acides fulviques et les acides humiques extraits des sédiments d'Orgon IV mais avec un déplacement vers le rouge du spectre de fluorescence (seulement un élargissement vers le rouge pour les acides humiques). (fig. 2)

Les spectres d'absorption UV-VIS de ces substances humiques (non présentés ici) apparaissent sans structure, ce qui est connu avec ces composés. La pente de la variation de la densité optique en fonction de la longueur d'onde est plus forte pour les acides fulviques que pour les acides humiques comme cela a déjà été mentionné (SCHNITZER, 1978).

DISCUSSION

Ces résultats doivent être considérés comme un bilan partiel et préliminaire pour l'estuaire de la Gironde. Sur la base de ces résultats (en cours de développement) on voit que les eaux de la Gironde contiennent des acides fulviques à l'état dissous (d'autres mesures, non publiées, ont été faites tout au long de l'estuaire, de La Réole à l'embouchure, avec le même type de réponse quant au spectre de fluorescence). A l'état particulaire les acides fulviques et humiques sont présents, environ à la même concentration relative, exprimée en carbone organique (résultats à paraître).

La comparaison avec les résultats obtenus lors de la mission Orgon IV, montre que le déplacement vers le rouge obtenu sur les spectres de fluorescence des échantillons de la Gironde doit être relié à l'origine terrestre des géopo-

lymères entraînés par les eaux météoriques depuis le sol des bassins versants jusqu'au fleuve.

Il est connu que les substances humiques d'origine terrestre proviennent en grande partie de la lignine, composé fortement aromatique, qui donne ensuite une structure polymérique avec des chromophores aromatiques du type phénols comportant des substituants carboxyliques (SCHNITZER, 1978) et des molécules plus conjuguées comme des coumarines (LARSON et ROCKWELL, 1980). Au contraire les substances humiques d'origine marine ne contiennent pas en général de groupements phénoliques, dérivés de la lignine, et la fluorescence est déplacée vers le bleu (STUERMER, 1975).

La compréhension du rôle que jouent les chromophores des substances humiques dans les caractéristiques de la fluorescence de ces substances fait l'objet d'une attention croissante de la part de la communauté scientifique, si on considère la possibilité de caractériser et de doser les substances humiques dans les eaux.

Une telle approche est en cours d'étude au laboratoire afin de présenter une méthodologie basée sur la spectrofluorimétrie pour caractériser l'origine et l'évolution chimique des substances humiques dans les eaux. En fin de compte il s'agira d'étudier spécifiquement le rôle que jouent les substances humiques dans la régulation de la biocénose directement ou indirectement par le transfert de polluants chimiques.

REMERCIEMENTS

Nous sommes très reconnaissants aux Professeurs J. JOUSSOT-DUBIEN et M. VIGNEAUX pour l'intérêt soutenu qu'ils ont porté à ce travail, au Dr. C. LATOUCHE et à son groupe pour leur collaboration et leurs fructueuses discussions dans le travail sur l'estuaire de la Gironde.

Ce travail a été financé en partie grâce à un contrat ATP "Océanographie Chimique" (1981-1982) et à un contrat CNEXO (n° 80/2370).

REFERENCES

- ALMGRENT T., JOSEFSSON B. and NYQUIST G., A fluorescence method for studies of spent sulfite liquor and humic substances in sea water. *Anal.Chim.Acta*, 78, p.411-422 (1975).
- CARATINI C., BELLET J. et TISSOT C., Etude microscopique de la matière organique : palynologie et palynofaciès. In "Géochimie organique des sédiments marins profonds", Mission Orgon IV, Golfe d'Aden, Mer d'Oman. Edition du CNRS, p.265-307(1981).
- DEBYSER Y. et GADEL F., Géochimie des kérogènes dans les sédiments. In "Géochimie organique des sédiments marins profonds", Mission Orgon IV Golfe d'Aden, Mer d'Oman. Edition du CNRS, p.447-482 (1981)
- EWALD M. et JOBET-BELIN C., Fluorescence d'acides fulviques et d'acides humiques extraits d'un sédiment marin d'origine autochtone. Etude directe de la fluorescence de l'eau sus-jacente et interstitielle du sédiment. In : "Géochimie organique des sédiments marins profonds", Mission Orgon IV Golfe d'Aden, Mer d'Oman. Edition du CNRS, p. 383-403 (1981).
- HEAD P. C., Organic processes in estuaries. In "Estuarine Chemistry", Ed. Burton J.D. and Liss P.S., Academic Press Ltd, p. 54-85 (1976).
- KROM M.D. and SHOLKOVITZ E.R., Nature and reaction of dissolved organic matter in the interstitial waters of marine sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 41, p.1565-1573 (1977).
- LARSON R.A. and ROCKWELL A.L., Fluorescence spectra of water-soluble humic materials and some potential precursors. *Arch. Hydrobiol.*, 89, p.416-425 (1980).
- LUNDQUIST K., JOSEFSSON B. and NYQUIST G., Analysis of lignin products by fluorescence spectroscopy. *Holzforschung*, 32, p.27-32 (1978).
- NYQUIST G., Investigation of some optical properties of seawater with special reference to lignin sulfonates and humic substances, Ph D dissertation Univ. of Göteborg, Sweden (1979).
- REUTER J.H. and PERDUE E.M., Importance of heavy metal-organic matter interactions in natural waters. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 41, p.325-334, (1977).
- SAAR R.A. and WEBER J.H., Comparison of spectrofluorimetry and ion-selective electrode potentiometry for determination of complexes between fulvic acid heavy-metal ions. *Anal. Chem.*, 52, p.2095-2100 (1980).
- SCHNITZER M., Humic substances : chemistry and reactions. In "Soil Organic Matter" (Developments in Soil Science 8). Ed. by Schnitzer M. and Khan S.U. Elsevier Scientific Pub. Comp., p.1-58 (1978).
- STURMER D.H., The characterization of humic substances in sea water. Ph. D. Dissertation, M.I.T. and Woods Hole Oceanographic Institution (1975).