

Rôle des acides humiques dans le transfert du pyrène entre les minéraux argileux et l'eau

Pyrene transfer from clay particles to water: the role of humic acid

B. FANGET, O. DEVOS, E. NAFFRECHOUX *

SUMMARY

Humic substances become fixed to the surface of clay minerals and modify the adsorption sites of hydrophobic organic pollutants (HOP). The dissolved humic substances complex the HOP according to reversible binding mechanisms normally assessed by the K_{oc} distribution coefficient. The humic solutes could thus be responsible of transporting HOP in aquatic ecosystems by solubilising the adsorbed fraction on sediment. Our study aims to quantify and model these phenomena using commercially available compounds:

- pyrene, a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) generally used as fluorescence probe and able to bind strongly to humic acid (AH);
- a commercially available humic acid (Aldrich), with a high molecular weight and high aromaticity, which can easily adsorb onto colloidal matter and strongly bind PAH;
- kaolinite clay, a ubiquitous mineral in aquatic systems, with a particle size distribution in aqueous solution similar to that observed in lake waters.

We also have chosen physico-chemical conditions representative of freshwater: pH (6.5) and ionic strength (10^{-2} M). The adsorption isotherm of the humic acid (HA) on kaolinite at pH = 6.5 and at ionic strength 10^{-2} M follows a Freundlich isotherm, for which model values are fixed at $K_F = 0.79$ and $n_F = 1.90$. The carboxylic groups of the dissolved HA, which represented more than half the total acidity, were not protonated under these conditions. Despite the negative surface charge of the particles, kaolinite was able to adsorb about $0.2 \text{ mgC}\cdot\text{g}^{-1}$ of HA. A decrease in the solution pH occurred as the adsorbed HA quantity increased, suggesting a chemisorption of HA onto clay. The high-pressure size exclusion chromatogram (HPSEC) of the non-adsorbed HA, isolated after cen-

Laboratoire de chimie moléculaire et environnement, ESIGEC, Université de Savoie, 73376 Le Bourget du Lac, France.

* Correspondance. E-mail : emmanuel.naffrechoux@univ-savoie.fr

** Les commentaires seront reçus jusqu'au 30 avril 2003.

trifugation of the colloidal solution, reflects the selective adsorption of the HA. The higher the molecular weight of the HA (> 70000 Da), the better the adsorption. The hypothesis of the selective adsorption of the humic substances onto clay was also confirmed by the fluorescence variations of the chromatographed fractions.

Using the same experimental conditions, pyrene seemed to adsorb and generate micro-crystals on the surface of the clay. The first part of the isotherm fits the pyrene monomer adsorption onto the hydrophobic siloxane surface of the clay. In the second part, the dramatic increase in the adsorption isotherm could be attributed to the formation of pyrene micro-crystals on the solid surface. For a residual pyrene concentration equal to $40 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, the PAH quantity adsorbed onto kaolinite clay ($7 \text{ nmol}\cdot\text{g}^{-1}$) was about twenty times lower than the quantity adsorbed onto montmorillonite clay ($150 \text{ nmol}\cdot\text{g}^{-1}$). This could be explained by the inaccessibility of the interlayer cavity of kaolinite to any solute.

Natural colloids are often coated by a humic layer. This coating can thus modify HOP adsorption onto the particles. The presence of humic acid fixed on kaolinite effectively modifies pyrene adsorption. This adsorption can be modelled by a Freundlich isotherm with the parameters $K'_F = 0.30$ and $n'_F = 2.00$. The adsorbed HA molecules seem to limit the formation of pyrene micro-crystals, even if the pyrene adsorption is not competitive with the HA fixation. Indeed, no HA desorption occurs during pyrene fixation onto the organic coated kaolinite.

The interactions between pyrene and dissolved humic acid have been quantified by extinction fluorescence spectroscopy and the Stern-Volmer relationship. The unabsorbed, dissolved humic fraction is characterised by K_{oc} values higher than the initial humic acid ($2.95\cdot 10^5 \text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$ compared to $1.86\cdot 10^5 \text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$). These two values are of the same magnitude as the published value obtained for the non-purified Aldrich HA ($2.3 \pm 0.3 \times 10^5$). The K_{oc} value obtained for the non-adsorbed fraction of HA is unexpected because of the low molecular weight of these molecules. This K_{oc} value can be related either to a better accessibility of the HA hydrophobic cavity for pyrene, or rather to a more efficient fluorescence quenching of pyrene by the humic solutes.

The dissolved humic acid may complex the non-ionic PAH according to reversible bonding mechanisms. Therefore, HA can act as a carrier of hydrophobic contaminants if it is able to desorb HOP from the surface of the particles. The results obtained for the quantification of the desorbed pyrene in pure water and in a HA solution ($50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) tend to minimise the role of dissolved natural organic matter in the transport of hydrophobic pollutants from the solid to the liquid medium. The values of pyrene concentration in solution obtained after 24 hours contact with kaolinite clay sorbed pyrene with pure water or with the HA solution were very low (respectively 2.4 nM and 12.9 nM) and below the water solubility of pyrene (802 nM). It has been previously demonstrated that the desorption kinetics of pyrene from quartz material are not influenced by the organic matter content of the solution (SCHMITT, 1999). Our results demonstrate that the HA content of the solution did not greatly modify the quantity of pyrene desorbed from clay minerals.

Key-words: *humic acid, pyrene, kaolinite, adsorption, fluorescence, size exclusion chromatography.*

RÉSUMÉ

Les substances humiques se fixent en surface des minéraux argileux et modifient les sites d'adsorption des polluants organiques hydrophobes (POH).

Parallèlement, les substances humiques dissoutes complexent les POH non ioniques selon des mécanismes de liaison réversible généralement évalués par le coefficient de partage K_{oc} . Les solutés humiques seraient ainsi responsables du transport des POH dans les écosystèmes aquatiques par solubilisation de la fraction adsorbée sur le sédiment. Notre étude a pour objectif la quantification et la modélisation de ces phénomènes pour des composés modèles disponibles commercialement : kaolinite, pyrène et acide humique Aldrich purifié.

L'isotherme d'adsorption de l'acide humique (AH) sur la kaolinite à pH 6,5 et à force ionique 10^{-2} M suit une loi de Freundlich, dont les valeurs du modèle sont $K_F = 0,79$ et $n_F = 1,90$. Dans les mêmes conditions expérimentales, le pyrène, composé modèle à quatre noyaux du groupe des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), semble s'adsorber en formant des microcristaux à la surface de l'argile. La présence d'acide humique fixé sur la kaolinite modifie l'adsorption du pyrène, qui se modélise par une isotherme de Freundlich de paramètres $K'_F = 0,30$ et $n'_F = 2,00$.

Les interactions entre le pyrène et l'acide humique dissous ont été quantifiées par spectroscopie d'extinction de fluorescence et relation de Stern-Volmer. La fraction humique dissoute non adsorbée sur le minéral argileux se caractérise par de plus fortes valeurs de K_{oc} que l'acide humique initial ($2,95 \cdot 10^5 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$ contre $1,86 \cdot 10^5 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$). L'hypothèse de fractionnement des substances humiques lors de l'adsorption sur l'argile est confirmée par les variations du poids moléculaire moyen des AH, déterminé par chromatographie d'exclusion stérique, et des variations des intensités de fluorescence des fractions chromatographiées.

Les résultats obtenus pour la quantification du pyrène désorbé du solide argileux dans l'eau pure et dans une solution d'AH ($50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) tendent à minimiser le rôle de la matière organique naturelle dissoute dans le transfert des polluants hydrophobes du milieu solide au milieu liquide.

Mots clés : *acide humique, pyrène, kaolinite, adsorption, fluorescence, chromatographie d'exclusion stérique.*

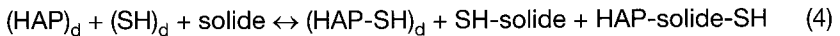
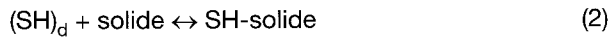
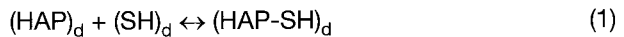
1 - INTRODUCTION

Les substances humiques (SH), constituant 25 à 50 % du carbone organique dissous (COD) des eaux de surface (THURMAN, 1985), sont aussi présentes dans les sédiments. Ces acides polyélectrolytiques, qualifiés d'humiques ou fulviques selon leur solubilité aqueuse à pH inférieur à 2, sont produits par la décomposition des molécules organiques d'origine animale et végétale contenues dans les eaux. Leur structure macromoléculaire polyfonctionnelle varie selon leur origine biologique et leur processus de formation mais présente toujours des capacités complexantes à l'égard des métaux (BUFFLE et DELADOEY, 1982) et des propriétés amphiphiles leur conférant un rôle important dans le transport des micropolluants aromatiques (RAV-ACHA et REHBUN, 1992 ; CABANISS *et al.*, 2000). La matière humique présente en effet des propriétés hydrophobes rendant possible les interactions soluté-soluté avec des composés organiques non ioniques (PEURAVUORI, 2001).

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) interagissent avec les substances humiques dissoutes ou fixées sur les colloïdes et sédiments. De

nombreuses études ont été réalisées au cours des dernières années, abordant les aspects thermodynamiques par la détermination des constantes de partition Koc entre l'eau et les molécules humiques (MCCARTHY et JIMENEZ, 1985 ; HERBERT *et al.*, 1993 ; CHEFETZ *et al.*, 2000) ou les aspects structuraux par l'étude des relations entre le Koc et les descripteurs moléculaires des substances humiques (CHIN *et al.*, 1997 ; PERMINOVA *et al.*, 1999). L'hydrophobicité des HAP leur confère également la propriété de s'adsorber sur les solides minéraux en suspension dans l'eau ou déposés sur le sédiment (CHIOU *et al.*, 1998). La distribution des HAP dans l'écosystème aquatique dépend donc d'un équilibre entre la fraction adsorbée sur le sédiment et la fraction soluble liée au COD (JOHNSON et AMY, 1995).

Les substances humiques amphiphiles peuvent recouvrir les colloïdes minéraux (argileux ou siliceux) avec une affinité dépendante de leur poids moléculaire apparent (SPECHT *et al.*, 2000), de la nature du minéral et du pH de la solution (ZHOU *et al.*, 1994). La nature et la quantité de matériel humique fixé au minéral peuvent alors perturber l'adsorption des HAP sur le solide. Les différentes interactions entre les solutés (HAP_d et SH_d) et le solide peuvent se résumer par les équilibres suivants (1 à 4) :



L'équilibre (4) représente globalement les interactions des solutés humiques et aromatiques polycycliques en phase liquide et avec le solide. La nature et la concentration de composés humiques en solution peuvent ainsi influencer la thermodynamique ou la cinétique de désorption des HAP du solide (SCHMITT *et al.*, 1999).

Il n'existe qu'un nombre limité de travaux prenant en compte la complexité globale des interactions AH-solide-HAP (BRUNK *et al.*, 1997 ; JONES et TILLER, 1999). Notre principal objectif est d'apporter une contribution à l'étude des équilibres (1 à 4) par la modélisation des phénomènes d'adsorption des AH et des HAP sur les solides argileux et par la quantification de l'influence des composés humiques dissous sur la désorption des HAP. Pour cela, nous avons utilisé :

- le pyrène, HAP souvent considéré comme sonde de fluorescence et possédant une forte capacité de liaison avec les acides humiques (PERMINOVA *et al.*, 1999, PEURAVUORI, 2001) ;
- un acide humique (AH) disponible commercialement et de fort poids moléculaire facilitant son adsorption sur le solide et dont l'aromaticité élevée favorise la capacité de liaison avec les HAP ;
- la kaolinite, minéral argileux présent dans les écosystèmes aquatiques et dont les dimensions particulières correspondent à celles rencontrées dans certaines eaux de surface ;
- des conditions de pH (6,5) et force ionique (10^{-2} M) représentatives de celles d'une eau naturelle superficielle.

2 – MATÉRIELS ET MÉTHODE

2.1 Réactifs

La kaolinite ($[Al_4Si_4O_{10}(OH)_8]$, kaolin blanc en poudre, Merck) est préalablement lavée par cinq rinçages dans de l'eau UHQ (Elga Maxima), centrifugée 15 minutes à $3\,000\text{ tr}\cdot\text{min}^{-1}$ et séchée. Cette procédure permet d'éliminer les sels solubles (0,025 % de Ca – 0,025 % Cl – 0,1 % SO_4). L'argile lavée est rendue homo-ionique par mise en suspension dans une solution aqueuse 10^{-2} M de $NaNO_3$ dont le pH est ajusté à 6,5 par ajout d' HNO_3 durant une heure. Cette opération permet l'élimination des cations divalents, qui pourraient d'une part favoriser l'adsorption des AH sur le solide par complexation de surface, d'autre part modifier la conformation des AH et diminuer leur capacité de liaison avec le pyrène. La siccité est déterminée pour chaque essai par centrifugation à $3\,000\text{ tr}\cdot\text{min}^{-1}$ durant 15 minutes et séchage à l'étuve à 100 °C du culot de centrifugation (12 heures) après pesée. La masse en eau représente environ 50 % du total. Le culot de centrifugation de la suspension homo-ionique, pâte de kaolinite hydratée, est conservé à 4 °C en flacon verre hermétiquement bouché. La distribution granulométrique de la solution colloïdale de kaolinite à pH 6,5 et force ionique 10^{-2} M est comprise entre $0,1\text{ }\mu\text{m}$ et $70\text{ }\mu\text{m}$, avec un maximum à $8,2\text{ }\mu\text{m}$. Les particules de dimension inférieures à $3,9\text{ }\mu\text{m}$ représentent 30,1 % du solide en suspension.

L'acide humique est commercialisé sous forme du sel de sodium, (lot n° 61852-095, référence 1,675-2, Aldrich). Un gramme de produit commercial est dissous dans environ 250 mL de solution concentrée de NaOH à pH 11 durant 24 heures. La solution est centrifugée à $3\,000\text{ tr}\cdot\text{min}^{-1}$ durant 15 minutes puis filtrée à $0,45\text{ }\mu\text{m}$ pour éliminer les impuretés insolubles en milieu basique. Les acides humiques dissous dans le filtrat sont précipités à pH 1 en milieu HF durant 12 heures (permettant la dissolution des silicates). Le précipité récupéré après centrifugation ($3\,000\text{ tr}\cdot\text{min}^{-1}$ durant 15 min) est lavé trois fois par 300 mL d'eau UHQ. Chaque lavage est suivi d'une centrifugation. L'acide humique obtenu est séché à 45 °C durant 6 heures puis conservé en flacon fermé.

Le pyrène est un HAP à quatre noyaux, de masse moléculaire $202\text{ g}\cdot\text{mole}^{-1}$ et de solubilité dans l'eau $162\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Le produit utilisé est disponible sous la référence 177 auprès du bureau de référence BCR de la commission de la Communauté européenne, est utilisé sans purification préalable. Une solution mère méthanolique à $125\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ est conservée en flacon ambré à 4 °C .

2.2 Adsorption du pyrène sur la kaolinite

Quatorze essais correspondant à des masses de kaolinite déshydratée variant de 200 à $2\,500\text{ mg}$ ont été réalisés. La masse adéquate de pâte de kaolinite hydratée est mise en suspension dans 25 mL d'une solution aqueuse de $NaNO_3\ 10^{-2}\text{ M}$ à pH 6,5 contenant $25\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de pyrène durant 24 heures. La suspension est agitée mécaniquement 2 minutes toutes les 6 heures puis centrifugée durant 15 minutes à $3\,000\text{ tr}\cdot\text{min}^{-1}$. Le pyrène soluble dans la phase aqueuse surnageante est extrait par 5 mL de cyclohexane sous agitation va-et-vient à $100\text{ coups}\cdot\text{min}^{-1}$ durant 20 minutes. La phase organique récupérée est soumise à un courant d'azote pour évaporation du cyclohexane. Le résidu sec

est dissous dans l'acétonitrile et analysé par chromatographie liquide haute pression (HPLC) à détection de fluorescence (chaîne Merck Hitachi L6200-A F-1080). Les conditions chromatographiques sont les suivantes : colonne Merck Lichrospher 250-4, éluant acétonitrile HPLC Baker, débit $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, température $20 \text{ }^\circ\text{C}$, détection de fluorescence $\lambda_{\text{ex}} = 333 \text{ nm}$ $\lambda_{\text{obs}} = 382 \text{ nm}$.

2.3 Adsorption de l'acide humique sur la kaolinite

Onze essais ont été réalisés avec des masses de kaolinite déshydratée variant de 200 à 2 500 mg. La masse de pâte de kaolinite hydratée est mise en suspension durant 24 heures dans 25 mL d'une solution aqueuse de NaNO_3 10^{-2} M à pH 6,5 contenant $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ d'acide humique (soit $16,2 \text{ mg}\cdot\text{C}\cdot\text{L}^{-1}$). La suspension est agitée mécaniquement 2 minutes toutes les 6 heures puis centrifugée durant 15 minutes à $3\,000 \text{ tr}\cdot\text{min}^{-1}$. La phase aqueuse surnageante est alors analysée par chromatographie d'exclusion stérique haute pression (CESHP) et quantification du COD.

Le poids moléculaire des composés humiques a été déterminé par CESHP. L'instrumentation est constituée de la chaîne chromatographique Merck-Hitachi décrite en 2.2 et d'une colonne et précolonne TSK G3000SW. Le système CESHP a été calibré selon la méthode d'étalonnage décrite par PEURAVUORI et PIHLAJA (1997). La phase mobile est constituée d'une solution de nitrate de sodium 10^{-2} M à pH 6,5, dont le débit est fixé à $0,8 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. La détection UV est fixée à 280 nm, la détection de fluorescence est obtenue avec $\lambda_{\text{ex}} 330 \text{ nm}$ et $\lambda_{\text{obs}} 440 \text{ nm}$. Le poids moléculaire moyen en nombre est calculé selon l'étalonnage $\log M_n = 5,34 - 2,85 K_{AV}$ ($R^2 0,97$).

Le contenu en Carbone Organique Dissous des échantillons a été déterminé au moyen d'un appareillage réalisé au laboratoire. Ce dispositif permet l'oxydation de la matière carbonée par voie humide au moyen de peroxydisulfate de potassium sous irradiation UV et la quantification du CO_2 formé par conductimétrie après redissolution et réaction avec une solution titrée d'hydroxyde de sodium. La précision de la mesure est de $0,1 \text{ mg C}\cdot\text{L}^{-1}$ sur l'étendue de travail ($0,1$ à $20 \text{ mg C}\cdot\text{L}^{-1}$).

2.4 Interaction du pyrène avec l'acide humique

Les expériences de complexation du pyrène par l'acide humique Aldrich ont été conduites en triplicats en flacon en verre ambré de 60 mL, fermé par un joint PTFE. Un volume de $106 \mu\text{L}$ d'une solution de pyrène dans le dichlorométhane à $583 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ est évaporé sous léger courant d'azote. Un volume de 3 mL de solution aqueuse d'acide humique (de concentration comprise entre 5 et $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) à pH 6,5 et force ionique 10^{-2} M (NaNO_3) est ajouté pour la dissolution du pyrène. L'homogénéisation est favorisée dans un bain à ultrasons (40 kHz) durant une minute. Après 24 heures de mise à l'équilibre, un dégazage permettant l'élimination de l'oxygène dissous (quencher de fluorescence du pyrène) est réalisé sous vide de 40 mbars pendant 3 minutes. La concentration d'oxygène dissous est alors inférieure à $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. L'échantillon est regazé à l'azote ($P_{\text{N}_2} 1\,050 \text{ mbars}$). La mesure d'extinction de fluorescence du pyrène lié aux acides humiques est réalisée au moyen d'un spectrofluorimètre conçu au laboratoire et décrit précédemment (DEVOS *et al.*, 2000). La solution est transférée dans une cuve de quartz Suprasil miroitée face arrière (semi-micro 114 FR-

QS Hellma) puis mise sous vide de 40 mbars. Les mesures de fluorescence sont réalisées après une minute à une longueur d'onde d'excitation de 313 nm (bande passante de 4 nm) et une longueur d'onde d'émission de 383,6 nm (bande passante de 0,5 nm). Afin de minimiser les réactions photochimiques, l'obturateur n'est ouvert que pendant la mesure (une seconde de stabilisation de la valeur du photomultiplicateur, suivie de 8 millisecondes d'acquisition du signal correspondant à 50 valeurs moyennées). Les effets de filtre interne, absorption du rayonnement d'excitation et/ou du rayonnement de fluorescence par la solution, sont corrigés selon la méthode décrite par PARKER (1968). L'absorbance UV a été mesurée avec un spectrophotomètre à barrette de diodes Hewlett-Packard 8453 en cuve quartz Suprasil (1 cm de trajet optique).

3 – RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1 Isotherme d'adsorption de l'acide humique sur la kaolinite

Les arêtes de la surface des particules de kaolinite peuvent réagir avec les fonctions carboxyliques déprotonnées de l'acide humique selon un mécanisme d'échange de ligand entre le groupe OH_2^+ de l'argile et COO^- de l'AH (JONES et TILLER, 1999). Lors de nos expérimentations, le pH de la solution colloïdale de kaolinite et d'acide humique varie au maximum de 6,5 à 6,8. Cette variation du pH, qui diminue avec la quantité d'acide humique adsorbé sur la kaolinite, nous permet de supposer un mécanisme de chimisorption déjà proposé par d'autres auteurs au vu de l'endothermie de la réaction d'adsorption de certains acides humiques sur l'argile (ZHOU *et al.*, 1994). La *figure 1* représente l'isotherme d'adsorption de l'acide humique sur la kaolinite à 20 °C. L'adsorption suit une loi de Freundlich $Q = 0,79 C^{0,526}$ (avec Q en mg-C/g kaolinite sèche et C en mg-C·L⁻¹). Les quantités maximales d'AH adsorbées sur la kaolinite sont inférieures à celles obtenues par JONES et TILLER (0,2 mg-C/g contre 4,8 mg-C/g) en raison des conditions de pH et force ionique différentes (6,5 et 10⁻² M dans cette étude contre 4,0 et 10⁻³ M dans l'étude citée en référence) et de la nature différente de l'AH (l'AH utilisé par JONES et TILLER est extrait de sol). A pH acide et force ionique faible, la protonation des AH réduit les forces de répulsion électrostatique entre la molécule organique et la surface chargée de la kaolinite (pH du point de charge nulle = 4,6). À pH voisin de la neutralité, la surface du minéral est chargée négativement, de même que la molécule humique, augmentant ainsi la répulsion électrostatique (SPECHT *et al.*, 2000). ZHOU *et al.* (1994) ont pu fixer 7 milligrammes d'AH Aldrich par gramme de vermiculite à pH 6,5. Les surfaces spécifiques des deux argiles, déterminées par adsorption de N₂ par méthode BET sur le solide déshydraté, sont respectivement de 7,1 m²·g⁻¹ pour la vermiculite et 15,0 m²·g⁻¹ pour la kaolinite. La quantité d'AH fixée sur la kaolinite en suspension est toutefois inférieure d'un facteur 10 à celle fixée sur la vermiculite. Ceci peut s'expliquer par la modification de la surface d'adsorption disponible après hydratation et gonflement des particules argileuses : la vermiculite, du groupe des montmorillonoides, est capable de fixer des composés organiques polaires entre les feuillettes argileux alors que ce mécanisme d'intercalation est interdit par la structure de la kaolinite (VAN OLPHEN, 1977).

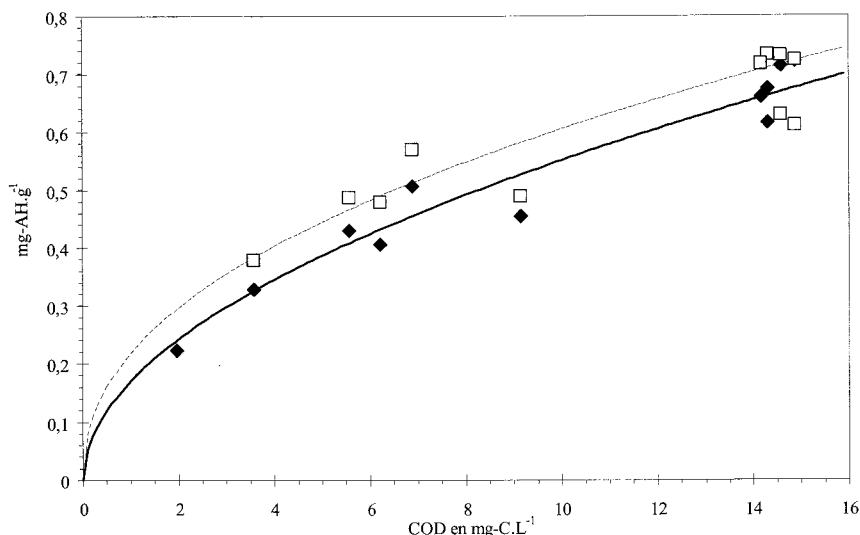


Figure 1 Isotherme d'adsorption des AH Aldrich sur la kaolinite à 20 °C.

($C_0 = 50 \text{ mg-AH}\cdot\text{L}^{-1} = 16,2 \text{ mg-C}\cdot\text{L}^{-1}$) – pH 6,5 – $1 \cdot 10^{-2} \text{ M (NaNO}_3)$;

-- CES détection UV280 nm ♦— COD.

Adsorption of Aldrich humic acid onto kaolinite clay at 20°C

($C_0 = 50 \text{ mg-HA}\cdot\text{L}^{-1} = 16,2 \text{ mg-C}\cdot\text{L}^{-1}$) – pH 6,5 – $1 \cdot 10^{-2} \text{ M (NaNO}_3)$;

-- UV280 nm Size Exclusion Chromatography ♦— DOC.

L'analyse en CESHP du surnageant de centrifugation révèle un fractionnement en poids moléculaire des acides humiques lors de l'adsorption sur le solide argileux. L'évolution des chromatogrammes en fonction de la quantité de kaolinite en contact avec la solution est présentée sur la *figure 2*. La diminution disymétrique du chromatogramme avec détection UV, plus élevée pour les composés humiques de poids moléculaire important, en fonction de l'augmentation de la quantité de kaolinite en suspension permet de supposer l'adsorption préférentielle de ces molécules sur les colloïdes argileux. Les fractions humiques de poids moléculaires supérieures à 70 000 Da sont adsorbées prioritairement. Ces fractions concernent des molécules (ou des agrégats moléculaires) d'acide humique peu fluorescent ou dont la fluorescence est éteinte par réabsorption intramoléculaire du rayonnement. En effet, le chromatogramme avec détection de fluorescence de l'acide humique initial révèle uniquement des fractions de poids moléculaire inférieur à 50 000 Da.

3.2 Isotherme d'adsorption du pyrène sur la kaolinite

L'adsorption du pyrène sur la kaolinite est représentée par l'isotherme de la *figure 3*. Les tests effectués montrent qu'il est possible d'adsorber efficacement le pyrène sur la kaolinite hydratée. La première partie de l'isotherme peut s'interpréter comme l'adsorption de monomère de pyrène sur les groupes siloxane hydrophobes de l'argile. L'augmentation brutale de l'adsorption peut correspondre à la formation de microcristaux en surface du solide, comme

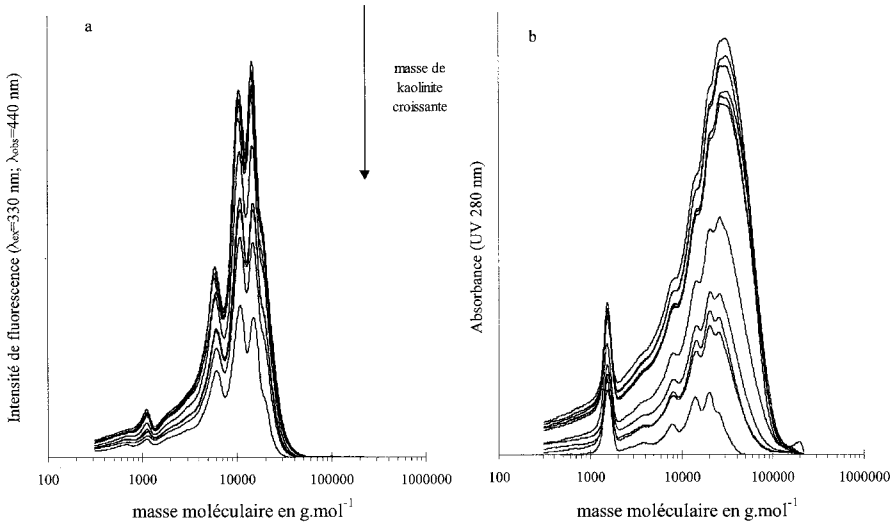


Figure 2 Signal de fluorescence (a) et d'absorbance (b) des chromatogrammes d'exclusion stérique de la fraction d'acide humique non adsorbé sur la kaolinite.

pH 6,5 – $1 \cdot 10^{-2}$ M (NaNO_3) – Concentration initiale en AH = $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Volume de solution = 25 mL Masse de Kaolinite = 0,2 à 2,5 g.

Size Exclusion Chromatogram with a) fluorescence detection and b) UV absorbance detection of the non-sorbed fraction of humic acid.

pH 6,5 – $1 \cdot 10^{-2}$ M (NaNO_3) – Initial HA Concentration = $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Volume of solution = 25 mL Mass of kaolinite clay = 0,2 à 2,5 g.

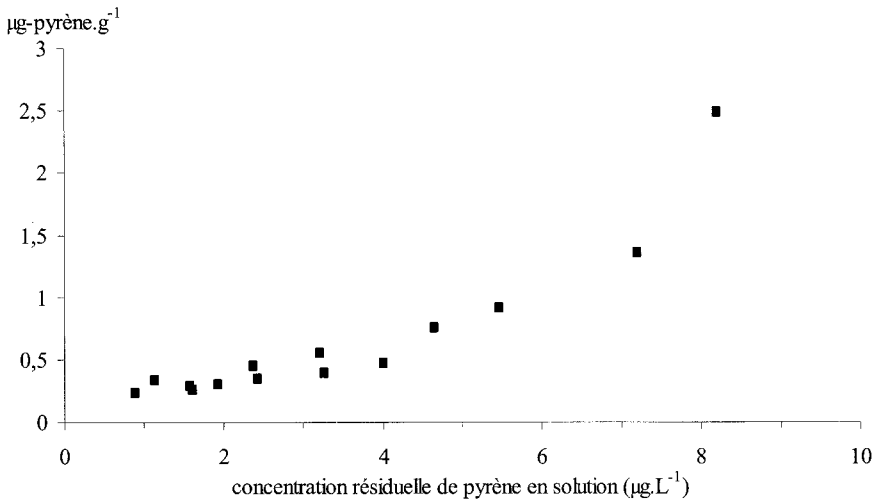


Figure 3 Isotherme d'adsorption du pyrène sur la kaolinite – pH 6,5 – $1 \cdot 10^{-2}$ M (NaNO_3).

Adsorption of pyrene onto kaolinite clay – pH 6,5 – $1 \cdot 10^{-2}$ M (NaNO_3).

LABBE et REVERDY (1988) ont pu l'observer sur la laponite hydratée. Cette allure atypique de l'isotherme peut s'apparenter à celle des isothermes d'adsorption des détergents non ioniques sur la kaolinite (KO *et al.*, 1998). L'isotherme d'adsorption du pyrène sur la montmorillonite dans l'eau pure possède un profil similaire (CLEMENS *et al.*, 1994). Pour une concentration résiduelle de pyrène en solution de 40 nmol·L⁻¹, la quantité de pyrène adsorbé sur la kaolinite (7 nmol·g⁻¹) est environ vingt fois inférieure à celle fixée sur la montmorillonite (150 nmol·g⁻¹). Cette différence s'explique par l'impossibilité de pénétration de tout soluté dans l'espace interfoliaire de la kaolinite (KRAEPIEL *et al.*, 1998).

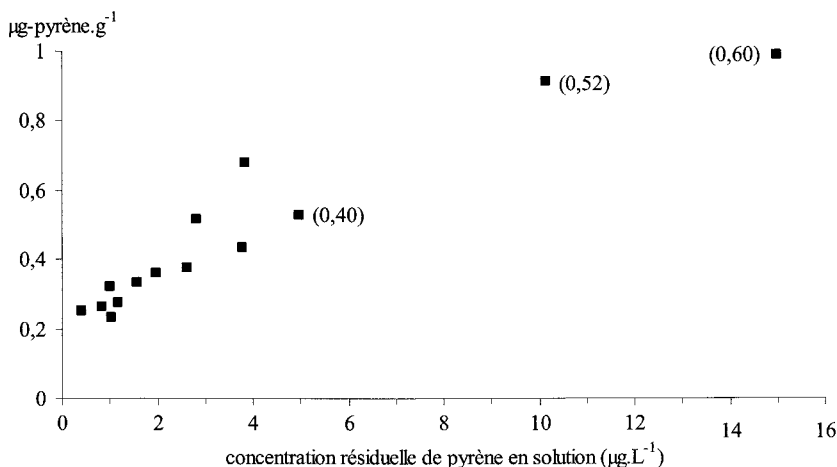


Figure 4 Isotherme d'adsorption du pyrène sur la kaolinite recouverte d'acide humique.

Rapport massique AH/kaolinite en mg-C·g⁻¹ – pH 6,5 – 1 10⁻² M (NaNO₃).

Adsorption of pyrene onto HA covered kaolinite clay.

Massic ratio HA/kaolinite in mg-C·g⁻¹ – pH 6,5 – 1 10⁻² M (NaNO₃).

3.3 Isotherme d'adsorption du pyrène sur la kaolinite recouverte d'acide humique

Les colloïdes naturels sont dans la majorité des cas revêtus d'un film de substances humiques (ZHOU *et al.*, 1994). Cette gangue organique est alors susceptible de modifier les phénomènes de sorption des HAP sur le solide. Des essais de sorption du pyrène ont été menés à pH et force ionique identiques, en solution aqueuse dépourvue d'AH, sur de la kaolinite préalablement mise en contact avec une solution aqueuse d'acide humique (selon le protocole décrit en 2.3). La *figure 4* présente l'isotherme d'adsorption du pyrène sur la kaolinite recouverte d'une quantité croissante d'acide humique (le rapport AH/K, exprimé en mg-C/g de kaolinite, est indiqué pour quelques points expérimentaux). La quantité de pyrène initialement en solution est identique pour tous les essais (25 µg·L⁻¹). Lorsque la surface de la kaolinite est recouverte de composés humiques, sa capacité à fixer le pyrène est fortement modifiée. L'adsorption se modélise par une loi de Freundlich $Q = 0,30 C^{0,50}$ (avec Q en

$\mu\text{g-pyr}\cdot\text{g}^{-1}$ kaolinite et C en $\mu\text{g-pyr}\cdot\text{L}^{-1}$). Les quantités de pyrène adsorbé diffèrent de celles fixées sur la kaolinite pure à partir d'un rapport AH/K supérieur à 0,40. Les molécules d'acide humique à la surface de l'argile semblent alors perturber la formation de microcristaux de pyrène. Le mécanisme de fixation du pyrène sur le solide ne semble pas être compétitif à l'adsorption de l'AH : des mesures d'absorbance UV à 280 nm n'ont pas mis en évidence la désorption des molécules humiques. Comme l'ont déjà constaté ZHOU *et al.* (1994), les AH jouent un rôle majeur dans le contrôle des équilibres d'adsorption des POH sur les particules en suspension.

3.4 Interaction du pyrène avec les acides humiques dissous

L'interaction en solution du pyrène avec l'acide humique est étudiée par la méthode d'extinction de fluorescence. Dans les conditions expérimentales de faible concentration en O_2 dissous et court temps d'irradiation de l'échantillon, il est possible de considérer que le coefficient directeur de la fonction linéaire de Stern-Volmer, représentant la décroissance de la fluorescence du pyrène en fonction de la concentration d'AH, correspond au coefficient de partage K_{oc} du pyrène entre l'eau et l'acide humique :

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{oc}[\text{COD}] = \frac{S_w^*}{S_w}$$

où F_0 et F représentent respectivement les intensités de fluorescence du pyrène en absence et en présence de l'inhibiteur de fluorescence AH à différentes concentrations, $[\text{COD}]$ la concentration d'AH en $\text{kg}\cdot\text{C}\cdot\text{L}^{-1}$, S_w et S_w^* les solubilités respectives du pyrène (en $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) dans l'eau pure et dans une solution d'AH.

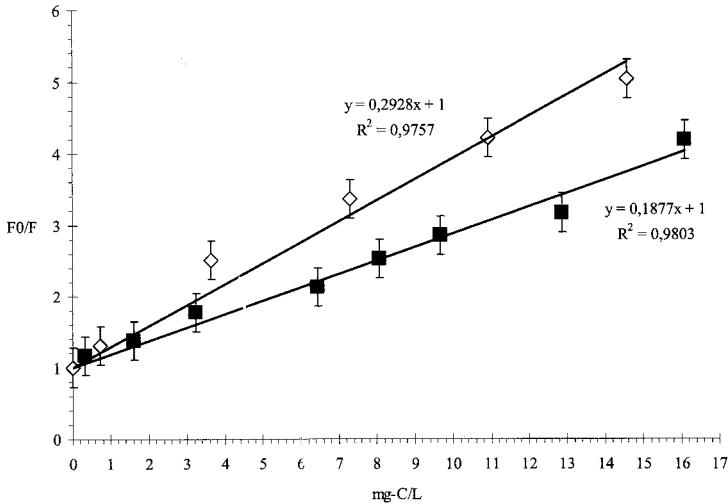


Figure 5 Tracé de Stern-Volmer de l'extinction de fluorescence du pyrène par l'acide humique Aldrich (■) et l'acide humique fractionné lors de l'adsorption sur la kaolinite (◆).

Stern-Volmer plot of pyrene quenching by Aldrich HA (■) and by fractionated HA during adsorption onto kaolinite clay (◆).

Les relations linéaires de Stern-Volmer de l'extinction de fluorescence du pyrène par l'acide humique de la solution mère et par la fraction d'acide humique non adsorbée sur la kaolinite sont représentés sur la *figure 5*. Les points correspondent pour chaque concentration de carbone organique dissous aux valeurs moyennes de trois essais et les barres d'erreur à l'écart-type. Les pentes des droites obtenues permettent le calcul des valeurs de K_{1oc} de la solution mère d'AH ($1,86 \cdot 10^5$) et K_{2oc} des fractions humiques non adsorbées ($2,95 \cdot 10^5$). La valeur K_{1oc} est comparable à celle précédemment publiée par PERMINOVA *et al.* ($2,3 \pm 0,3 \times 10^5$) pour l'acide humique Aldrich utilisé sans purification préalable. La valeur de K_{2oc} obtenue pour la fraction non adsorbée des AH est en contradiction avec la diminution de poids moléculaire observée lors de l'adsorption des fractions sur l'argile. Elle peut soit traduire une meilleure accessibilité des sites hydrophobes du soluté humique pour le pyrène, soit une meilleure efficacité d'extinction de la fluorescence de l'HAP.

3.5 Transfert dans l'eau du pyrène adsorbé sur les particules

La capacité des acides humiques à complexer le pyrène permet de supposer que leur nature et leur concentration en solution gouvernent les mécanismes de désorption des POH des particules argileuses. La solubilisation du pyrène fixé sur la kaolinite a été évaluée par mise en contact de l'argile récupérée par centrifugation en équilibre d'adsorption avec les AH et le pyrène. Un volume de 25 mL d'eau ou d'une solution à $50 \text{ mg-AH} \cdot \text{L}^{-1}$ est mis au contact de l'argile sans agitation, durant 24 heures, à pH 6,5 et force ionique 10^{-2} M. Quatorze essais ont été réalisés pour des quantités d'AH fixées et des masses de pyrène adsorbées variant respectivement de 0,3 à $0,7 \text{ mg-C} \cdot \text{g}^{-1}$ et de 0,2 et $1,0 \text{ } \mu\text{g-pyr} \cdot \text{g}^{-1}$. La masse de pyrène remise en solution n'est affectée ni par le film organique à la surface de la kaolinite, ni par la quantité de pyrène initialement adsorbée. De plus, les quantités de pyrène « resolubilisées » dans l'eau pure (12 ng en moyenne, avec un écart-type de 9 ng) sont comparables à celles mesurées dans la solution d'AH (65 ng en moyenne, avec un écart-type de 26 ng). Ces quantités ne représentent qu'une faible fraction de la masse initialement adsorbée sur la kaolinite (respectivement 2 et 13 %). Les concentrations obtenues (2,4 nM et 12,9 nM) restent très inférieures à la limite de solubilité du pyrène dans l'eau pure (802 nM).

SCHMITT *et al.* (1999) ont précédemment démontré que la cinétique de désorption du pyrène d'une phase solide quartz n'est pas influencée par la présence de matière organique naturelle (extraite de lac marécageux ou de sol). Les résultats obtenus dans cette étude montrent que les acides humiques n'ont également qu'une faible incidence sur la quantité de pyrène désorbée d'une phase solide argileuse.

4 – CONCLUSION

Le pyrène s'adsorbe efficacement sur la kaolinite à pH 6 et force ionique 10^{-2} M. La quantité maximale adsorbée n'a pu être atteinte expérimentalement,

un phénomène de cristallisation de l'HAP en surface des sites hydrophobes de l'argile peut expliquer ce mécanisme. La présence de substances humiques adsorbées dans les mêmes conditions de pH et de force ionique limite les interactions du pyrène avec le solide : le phénomène peut alors être modélisé par une isotherme de Freundlich (K'_F 0,30 et n'_F 2,00).

Les fonctions carboxyliques du matériel humique dissous, représentant plus de la moitié des fonctions acides, sont déprotonnées dans les conditions d'essai. Malgré la charge négative de surface à ce pH, la kaolinite fixe une quantité d'acide humique proche de $0,2 \text{ mg}\cdot\text{C}\cdot\text{g}^{-1}$. Le phénomène peut être modélisé par une loi de Freundlich de paramètres K_F 0,79 et n_F 1,90. L'adsorption sur la kaolinite entraîne un fractionnement de l'acide humique, démontré par des variations importantes de la forme des chromatogrammes d'exclusion stérique de la fraction solubilisée. Les composés de poids moléculaire élevé, qui absorbent à 280 nm mais qui fluorescent faiblement, sont fixés préférentiellement.

Les valeurs de $\log K_{oc}$ obtenues par tracé de la relation de Stern-Volmer varient de 5,27 pour l'acide humique initial à 5,47 pour la fraction d'AH non adsorbée sur la kaolinite, traduisant une capacité de liaison avec le pyrène plus importante de la fraction humique non adsorbée par rapport à l'acide humique initial. Cette augmentation peut toutefois n'être due qu'à une meilleure efficacité d'extinction de la fluorescence du pyrène par les composés humiques non adsorbés.

La solubilisation du pyrène fixé sur les particules de kaolinite à l'aide d'une solution aqueuse contenant $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ d'acide humique dissous (pH 6,5 et 10^{-2} M) est faible et comparable à celle obtenue avec l'eau pure. Le rôle de l'AH dans le transfert du pyrène du sédiment à la phase aqueuse apparaît donc relativement peu important. Des essais mettant en œuvre des solides prélevés dans un écosystème aquatique et des substances humiques extraites d'eaux naturelles sont à réaliser pour compléter ces résultats.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BRUNK B.K., JIRKA G.H., LION L.W., 1997. Effects of salinity changes and the formation of dissolved organic matter coatings on the sorption of phenanthrene: implications for pollutant trapping in estuaries, *Environ. Sci. Technol.*, 31 (1), 119-125.
- BUFFLE J., DELADOEY P., 1982. Analysis and characterization of natural organic matter in freshwaters (II), *Schweiz. Z. Hydrol.*, 44 (2), 363-391.
- CABANISS S.E., ZHOU Q., MAURICE P.A., CHIN Y-P., AIKEN G.R., 2000. A log-normal distribution model for the molecular weight of aquatic fulvic acids, *Environ. Sci. Technol.*, 34 (6), 1103-1109.
- CHEFETZ B., DESHMUKH A.P., HATCHER P.G., GUTHRIE E.A., 2000. Pyrene sorption by natural organic matter, *Environ. Sci. Technol.*, 34 (14), 2925-2930.
- CHIN Y-P., AIKEN G.R., DANIELSEN K.M., 1997. Binding of pyrene to aquatic and commercial humic substances: the role of molecular weight and aromaticity, *Environ. Sci. Technol.*, 31 (6), 1630-1635.
- CHIOU C.T., MCGRODDY S.E., KILE D.E., 1998. Partition characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbons on soils and sediments, *Environ. Sci. Technol.*, 32 (2), 264-269.
- CLEMENS W.D., HAEGEL F.-H., SCHWU-GER M.J., 1994. Concurrence of solubili-

- zation and adsorption in multicomponent suspensions of layer silicates, *Langmuir*, 10, 1366-1369.
- DEVOS O., SABER A.-I., PATUREL L., JAROSZ J., 2000. Direct analysis of PAH in water by synchronous fluorescence, *Luminescence*, 15 (2), 69-71.
- HERBERT B.E., BERTSCH P.M., NOVAK J.M., 1993. Pyrene sorption by water-soluble Organic Carbon, *Environ. Sci. Technol.*, 27 (2), 398-403.
- JOHNSON W.P., AMY G.L., 1995. Facilitated transport and enhanced desorption of polycyclic aromatic hydrocarbons by natural organic matter in aquifer sediments, *Environ. Sci. Technol.*, 29 (3), 807-817.
- JONES K.D., TILLER C.L., 1999. Effect of solution chemistry on the extent of binding of phenanthrene by a soil humic acid comparison of dissolved and clay bound humic, *Environ. Sci. Technol.*, 33 (4), 580-587.
- KO S.-O., SCHLAUTMAN M.A., CARRAWAY E.R., 1998. Effects of solution chemistry on the partitioning of phenanthrene to sorbed surfactants, *Environ. Sci. Technol.*, 32 (22), 3542-3548.
- KRAEPIEL A.M.L., KELLER K., MOREL F.M.M., 1998. On the acid-base chemistry of permanently charged minerals, *Environ. Sci. Technol.*, 32 (19), 2829-2838.
- LABBE P., REVERDY G., 1988. Adsorption characteristics of polycyclic aromatic compounds on clay: pyrene as a photo-physical probe on laponite, *Langmuir*, 4, 419-425.
- McCARTHY J.F., JIMENEZ B.D., 1985. Interactions between polycyclic aromatic hydrocarbons and dissolved humic material: binding and dissociation, *Environ. Sci. Technol.*, 19 (11), 1072-1076.
- PARKER C.A., 1968. Photoluminescence of Solutions, Elsevier Publishing Company, 220-234.
- PERMINOVA I.V., GRECHISHCHEVA N.Y., PETROSYAN V.S., 1999. Relationships between structure and binding affinity of humic substances for polycyclic aromatic hydrocarbons: relevance of molecular descriptors, *Environ. Sci. Technol.*, 33 (21), 3781-3787.
- PEURAVUORI J., PIHLAJA K., 1997. Molecular size distribution and spectroscopic properties of aquatic humic substances, *Anal. Chim. Acta*, 337, 133-149.
- PEURAVUORI J., 2001. Binding of pyrene on lake aquatic humic matter: the role of structural descriptors, *Anal. Chim. Acta*, 429, 75-89.
- RAV-ACHA CH., REBHUN M., 1992. Binding of organic solutes to dissolved humic substances and its effects on adsorption and transport in the aquatic environment, *Wat. Res.*, 26 (12), 1645-1654.
- SCHMITT D., KUMKE M., SEIBEL F., FRIMMEL F.H., 1999. The influence of natural organic matter on the desorption kinetics of pyrene and naphthalene from quartz, *Chemosphere*, 38 (12), 2807-2824.
- SPECHT C.H., KUMKE M.U., FRIMMEL F.H., 2000. Characterization of NOM adsorption to clay minerals by size exclusion chromatography, *Wat. Res.*, 34 (6), 4063-4069.
- THURMAN E.M., 1985. Organic Geochemistry of Natural Waters, Nijhoff/Junk Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Van OLPHEN H., 1977. In: *Clay Colloid Chemistry*, Wiley and Sons New York, 66-67.
- VO-DINH T., 1981. Synchronous excitation spectroscopy, Modern Fluorescence Spectroscopy 4th, Wehry EL Ed., Plenum Press New York, 167-192.
- ZHOU J.L., ROWLAND S., MANTOURA F.C., BRAVEN J., 1994. The formation of humic coatings on mineral particles under simulated estuarine conditions - a mechanistic study, *Wat. Res.*, 28 (3), 571-579.