

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ A

L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC A CHICOUTIMI

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAITRISE EN PRODUCTIVITÉ AQUATIQUE

PAR

LUC LEVERT

B. Sc. en chimie

DISTRIBUTION PAR FILTRATION SUR GEL

DE LA MATIERE ORGANIQUE DISSOUTE

EN FONCTION DU POIDS MOLÉCULAIRE NOMINAL

DANS TROIS TYPES D'EAU DU SAGUENAY

AOUT 1990



Mise en garde/Advice

Afin de rendre accessible au plus grand nombre le résultat des travaux de recherche menés par ses étudiants gradués et dans l'esprit des règles qui régissent le dépôt et la diffusion des mémoires et thèses produits dans cette Institution, **l'Université du Québec à Chicoutimi (UQAC)** est fière de rendre accessible une version complète et gratuite de cette œuvre.

Motivated by a desire to make the results of its graduate students' research accessible to all, and in accordance with the rules governing the acceptance and diffusion of dissertations and theses in this Institution, the **Université du Québec à Chicoutimi (UQAC)** is proud to make a complete version of this work available at no cost to the reader.

L'auteur conserve néanmoins la propriété du droit d'auteur qui protège ce mémoire ou cette thèse. Ni le mémoire ou la thèse ni des extraits substantiels de ceux-ci ne peuvent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

The author retains ownership of the copyright of this dissertation or thesis. Neither the dissertation or thesis, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

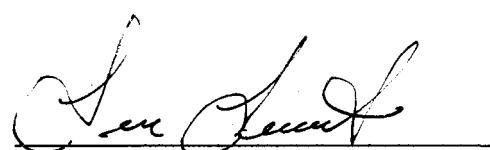
RÉSUMÉ

Trois types d'eau du fjord Saguenay ont été échantillonnés: de l'eau douce de la rivière Saguenay au niveau de Chicoutimi et de l'eau saumâtre et marine du fjord au niveau de Ste-Rose-du-Nord. Après filtration sur filtre Millipore, 0.45 μm , les échantillons ont été élués séquentiellement sur trois ou quatre colonnes chromatographiques contenant du gel Séphadex G-10, G-15, G-25, et G-50. La distribution de la matière organique dissoute en fonction du poids moléculaire nominal a ainsi été obtenue pour ces types d'eau. En général, la limite supérieure du poids moléculaire nominal de ces distributions se situe autour de 5000. L'analyse des données chromatographiques semble démontrer l'agglomération possible de la matière organique dissoute provenant des eaux douces, lorsque ces eaux entrent en contact avec les eaux marines du fjord. Dans le cas des eaux saumâtres et marines, la présence de sel marin et de bicarbonate invalide le dosage de la matière organique.



André Leclerc

Directeur de recherche



Luc Levert

Étudiant gradué

REMERCIEMENTS

J'offre mes plus sincères remerciements à André Leclerc dont les précieux conseils ainsi que le support logistique et financier m'ont permis de mener à bien cette recherche. Les commentaires et conseils d'André Leclerc et de Michel Gagnon furent très utiles dans la préparation de ce mémoire.

De plus, je dois remercier Michel Gagnon pour le prêt de certains appareils et de la littérature qui a servi dans cette recherche. Il m'a aidé à l'interprétation des résultats obtenus.

Plusieurs personnes m'ont aidé lors du prélèvement des échantillons et lors de la réalisation des activités de laboratoire en contribuant à certains travaux et/ou en me prodigant de précieux conseils. Je remercie donc sincèrement Jean-Luc Simard, Gaston Charest et Fenghai Wang.

Je remercie également Jean-Luc Simard de la firme SEDAC inc. de Chicoutimi pour m'avoir donné la chance de faire mon stage.

Table des matières

	page
Résumé	i
Remerciements	ii
Table des matières	iii
Liste des figures	v
Liste des tableaux	vi
Chapitre I : Introduction	1
Chapitre II : Matériel et méthodes	
2.1 Échantillonnage	
2.1.1 Sites de prélèvement	14
2.1.2 Conservation des échantillons	15
2.2 Procédure expérimentale	
2.2.1 Élimination des contaminants possibles	18
2.2.2 Procédure analytique	19
2.3 Filtration sur gel	
2.3.1 Principe de la méthode	28
2.3.2 Appareils	29
2.3.3 Calculs	34
2.3.4 Vérification des colonnes	34
2.4 Dosage du carbone organique	
2.4.1 Principe de la méthode	38
2.4.2 Réactifs	39
2.4.3 Procédure	41
2.4.4 Calculs	42
2.5 Dosage de l'azote	
2.5.1 Principe de la méthode	43
2.5.2 Appareils	46
2.5.3 Réactifs	46
2.5.4 Procédure	48
2.5.5 Calculs	51

Chapitre III : Résultats

3.1 Répartition de la matière organique	
3.1.1 Station 1	53
3.1.2 Station 2	57
3.1.3 Station 3	60
3.2 Répartition du carbone organique	
3.2.1 Station 1	63
3.3 Répartition de l'azote	
3.3.1 Station 1	65
3.3.2 Station 2	66
3.3.3 Station 3	66

Chapitre IV : Discussion

4.1 Relation des teneurs en carbone entre les stations...	69
4.2 Distribution de la matière organique	74
4.3 Distribution du carbone et de l'azote	75

Chapitre V : Conclusion	80
--------------------------------------	----

Bibliographie	83
----------------------------	----

Liste des figures

Figure 1	: Le fjord du Saguenay et ses principaux tributaires..	17
Figure 2	: Organigramme de la procédure analytique	21
Figure 3	: Organigramme de la filtration sur gel	23
Figure 4	: Pic d'exclusion de la colonne G-10 par élution du Bleu Dextran	27
Figure 5	: Montage expérimental de la filtration sur gel	31
Figure 6	: Vérification de la colonne G-10, chromatogramme du sodium dodécylbenzène sulfonate	37
Figure 7	: Chromatogrammes obtenus avec les colonnes G-10, G-15, G-25, G-50 pour les échantillons prélevés à la station 1	56
Figure 8	: Chromatogrammes obtenus avec les colonnes G-10, G-15, G-25 pour les échantillons prélevés à la station 2	59
Figure 9	: Chromatogrammes obtenus avec les colonnes G-10, G-15, G-25 pour les échantillons prélevés à la station 3	62
Figure 10	: Relation entre le carbone nominal en fonction du carbone dosé par la demande chimique en oxygène (DCO)	78

Liste des tableaux

Tableau 1 : Ajustement des appareils servant à la filtration sur gel	33
Tableau 2 : Teneur en carbone dans les fractions	64
Tableau 3 : Teneur en azote dans les fractions	68
Tableau 4 : Comparaison entre les fractions	72

CHAPITRE I
INTRODUCTION

La rivière Saguenay et le fjord Saguenay reçoivent les eaux provenant de tout le bassin hydrographique du lac Saint-Jean. Cet axe fluvial est approximativement orienté de l'ouest-nord-ouest vers l'est-sud-est et les eaux s'écoulent vers l'est avec un débit moyen de $1.7 \times 10^3 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ (Jones et al., 1979). Le cours de la rivière Saguenay, d'une soixantaine de kilomètres, traverse une région fortement industrialisée, urbanisée et agricole. Il transporte donc une grande quantité d'eaux usées. Par exemple, deux barrages hydro-électriques, des alumineries et des papeteries se retrouvent le long de cette rivière. De plus deux ports de mer sont situés à la tête du fjord et desservent une circulation maritime qui transite via le fjord.

L'océanographie du fjord Saguenay a été décrite par Drainville (1968). Le fjord Saguenay occupe une vallée escarpée d'une longueur d'environ 93 km qui se termine au niveau de Tadoussac, à sa confluence avec le Saint-Laurent. La marée est de type semi-diurne et possède une amplitude de 4 à 6 m. Les eaux de surface qui proviennent principalement de la rivière Saguenay (environ 90% des apports d'eau douce) sont relativement chaudes (maximum de 20°C en été) et leur salinité croît spatialement d'amont ($<6^{\circ}/_{\text{o}}$) en aval (maximum de $27^{\circ}/_{\text{o}}$ en juillet). La salinité croît généralement de mai à octobre.

Une couche d'eau saumâtre d'une épaisseur de 5 à 10 m s'écoule sur des eaux marines ($>26^{\circ}/_{\text{o}}$ à 15 m) très froides ($<5^{\circ}\text{C}$ à 15 m) et bien oxygénées (0.6 mat-g/L) qui proviennent de l'estuaire du Saint-Laurent (Côté et Lacroix, 1978, 1979). Les marées favorisent l'échange de ces eaux marines entre le fjord et le Saint-Laurent (Seibert et al., 1979).

La sédimentologie du fjord est caractérisée par une granulométrie décroissante d'amont en aval, sauf dans la région du seuil où le courant interdit la sédimentation des particules fines (Loring, 1975; Leclerc et al., 1986). La bathymétrie du fjord se distingue par l'existence d'un bassin d'une profondeur d'environ 175 m intercalé entre deux bassins plus profonds (250 m). Le seuil en amont du bassin intermédiaire se retrouve à une profondeur d'environ 125 m alors que celui en aval se retrouve à environ 60 m. Le bassin le plus en amont occupe environ les deux tiers de la longueur du fjord. De plus, le panache du Saguenay affecte la qualité du Saint-Laurent en aval de Tadoussac (Lebel et al., 1983). Les sédiments du Saguenay ont été grandement étudiés du point de vue géochimique et minéralogique. Les analyses de carottes de sédiment prélevées par différents auteurs le long du fjord Saguenay permettent de faire ressortir le comportement spatial et temporel du carbone et des métaux suivants : mercure, plomb, zinc et cuivre (Barbeau et al., 1981a, 1981b).

Dans la section aval du fjord, où les profondeurs sont réduites (60 m), le courant empêche la sédimentation des particules fines. Le sédiment y est surtout composé de sable (Loring, 1975). La granulométrie des sédiments de la Baie des Ha! Ha! ressemble plus à celle retrouvée en aval du grand bassin qu'en amont. Ceci indique que les eaux de surface provenant de la rivière Saguenay ne semblent pas pénétrer profondément dans cette baie. Les sédiments de la Baie des Ha! Ha! semblent provenir plutôt des rivières qui s'y déversent que de la rivière Saguenay. Cette distribution spatiale des sédiments dans le fjord indique que la charge sédimentaire provient majoritairement de la rivière Saguenay.

Les teneurs en métaux des sédiments ont été rapportées pour le zinc, le cuivre, le plomb, le mercure, le césium et l'arsenic (Loring, 1976; Smith et Loring, 1981; Barbeau et al., 1981a; Leclerc, 1985). Du point de vue temporelle, une augmentation progressive des teneurs métalliques est observée à partir du début du 20^e siècle, puis semble s'accentuer vers les années 1940 pour ensuite diminuer légèrement durant la dernière décennie. Cette diminution semblerait être attribuable à des lois environnementales plus strictes et au ralentissement économique vécu à la fin des années 1970 et au début des années 1980. Le facteur d'enrichissement des métaux lourds se situe approximativement entre 1.5 et 2.0. Du point de vue spatial, les teneurs en métaux lourds diminuent de l'amont vers l'aval. Ce comportement correspond à celui attendu d'une source anthropique située à la tête du fjord.

La source majeure du mercure anthropique semble avoir été une usine de chlore alcalin qui a été en opération de 1947 à 1976. Loring et Bewers (1978) estiment à environ 105 tonnes la quantité de mercure qui se retrouve dans les sédiments. La fraction non-détritique de ces concentrations en métaux lourds est généralement de l'ordre de 20% (Loring, 1976; Leclerc, 1985).

Les concentrations en carbone organique (Leclerc, 1986; Barbeau et al., 1981b) et en certains polluants organiques dans les sédiments ont un comportement similaire aux métaux traces. Cette matière organique contient une quantité importante de lignine qui semble provenir des industries de pâtes et papier (Pocklington, 1976). Cette lignine pourrait possiblement agir comme agent complexant pour différents métaux. Dans le cas du mercure, cette relation semble avoir été établie (Loring, 1975).

Dans le cas des hydrocarbures poly-aromatiques (HPA), ce comportement est grandement amplifié (Martel et al., 1986, 1987). Les teneurs en HPA des sédiments du Saguenay indiquent une origine industrielle, possiblement les alumineries. Le facteur d'enrichissement des teneurs en HPA est généralement supérieur à 10. Malgré ces teneurs élevées la quantité de HPA retrouvée dans les sédiments ne correspond qu'à quelques pourcents de la quantité totale déversée dans l'environnement.

Les données concernant les concentrations de différentes substances toxiques sont moins nombreuses dans le cas de l'eau que dans le cas des sédiments. Yeats et Bewers (1976) ont dosé le cuivre, le zinc, le fer, le nickel, le cadmium et le cobalt dans les eaux du fjord alors que Côté (1981) a dosé le mercure, le cuivre, le zinc, le plomb et le fer dans les eaux de la rivière. Ces premiers auteurs rapportent des concentrations très élevées en fer attribuables aux alumineries. Gobeil et al. (1984) ont calculé un temps de séjour de 3.5 à 7.5 ans pour le mercure dans l'eau marine du fjord, à une concentration semblable à celle rencontrée dans les océans.

Le sort de ces substances et leur disponibilité pour le biota sont largement contrôlés par la matière organique (Herbert et al., 1982; Leclerc, 1985). La matière organique soluble semble agir comme agent complexant et peut transférer par flocculation une partie des métaux lourds de la colonne d'eau vers les sédiments. L'activité ou la toxicité des métaux lourds peuvent ainsi être réduites par cette complexation (Means et al., 1977; Langston, 1982).

La distribution spatiale des spectres de taille des particules en suspension fait apparaître une stratification des eaux en deux couches en mai et trois en septembre dans le Saguenay. Le principal facteur contrôlant la distribution des spectres de taille des particules est de nature physique, soit la température et la salinité. La variabilité des propriétés physiques et particulières permet de caractériser chacune des couches d'eau. La distribution des spectres de taille des particules ne correspond pas à celle déjà publiée pour certains métaux traces retrouvés dans ces particules. La composition du seston n'est donc pas le principal facteur contrôlant la distribution de ces éléments dans le milieu (Chanut et Poulet, 1978).

La comparaison des eaux du Saguenay et celles adjacentes de l'estuaire du Saint-Laurent montre une similitude physique et chimique (oxygène et sels nutritifs). Le réchauffement estival des eaux profondes du Saguenay se fait progressivement de l'aval vers l'amont. Il est relié à la pénétration au-dessus du seuil d'eaux de surface de l'estuaire pendant la marée montante (Thériault et Lacroix, 1975).

Une analyse dans le temps et l'espace des teneurs en métaux lourds de la matière en suspension du fjord du Saguenay a montré une teneur en fer élevée en eaux profondes (Sundby et Loring, 1978).

La matière organique dissoute joue donc un rôle important lors du transport des métaux traces dans l'environnement aquatique. La nature des substances qui constituent la matière organique dissoute est très diversifiée. Cette matière est normalement classifiée en deux classes selon son milieu d'origine: la matière organique allochtone et autochtone.

Le rapport carbone-azote permet de différencier les substances allochtones des substances autochtones. Un rapport C:N d'environ 50:1 est typique pour les substances allochtones tandis qu'un rapport de 12:1 est plus représentatif des substances autochtones (Wetzel, 1983).

La matière organique dissoute couvre aussi un grand domaine de poids moléculaires, et ceux-ci peuvent donc servir de critères de classification. Ainsi Means et al. (1977) ont réussi à partitionner par filtration sur gel la matière organique dissoute dans l'eau de la rivière Pine Barrens (Oak Ridge, Tennessee) en fonction de son poids moléculaire nominal.

Plusieurs facteurs peuvent affecter la séparation par filtration sur gel. Par exemple, les liaisons ioniques affectent la reproductibilité du profil de la filtration sur gel et il est nécessaire d'ajouter un électrolyte à l'échantillon avant le passage sur la colonne. La demande chimique en oxygène (DCO) donne un estimé de la quantité de carbone dans les fractions contenue dans la matière organique naturelle isolée par filtration sur gel Séphadex.

L'analyse spectrale (infrarouge, ultraviolet, et fluorescence) indique que les fractions obtenues par élution sur gel Séphadex sont fragmentées comme un système de polymères avec de petites différences dans les caractéristiques chimiques. Les principales différences dans le spectre infrarouge se situent entre l'elongation et la courbure (bending) de la liaison aliphatique C-H et l'elongation de la liaison C-O. Tous les spectres ultraviolets montrent une plus grande absorbance à des longueurs d'onde plus basses. Pour les spectres de fluorescence, un seul pic est présent (Hall, 1970).

Hanya et Ogura (1964) et Ogura (1965) ont démontré la linéarité entre l'absorbance à 220 μm et la demande chimique en oxygène. Ils ont développé une équation qui décrit cette relation, cependant il est nécessaire d'incorporer une variable pour maintenir la linéarité dépendant des échantillons. L'équation est la suivante:

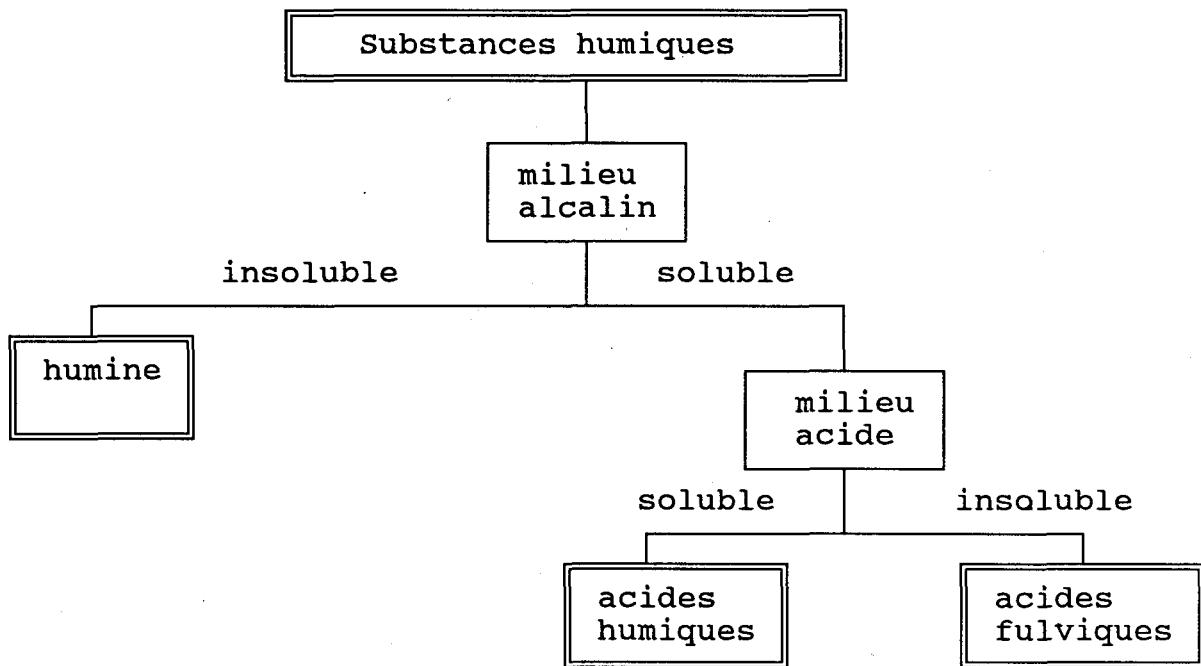
$$\text{DCO} = a(A_{220})^{1.47}$$

où DCO = demande chimique en oxygène

a = variable dépendant de l'aire sous la courbe de l'échantillon (entre 11 et 36)

A_{220} = absorbance à 220 μm

Les substances humiques sont des composés organiques amorphes de couleur jaune à brun provenant de la terre. Ces polymères acides ont relativement des poids moléculaires élevés. Les substances humiques peuvent être classifiées selon leur solubilité. Les substances organiques colorées qui sont insolubles en milieu alcalin sont identifiées comme "humine". Les acides humiques représentent la fraction des substances humiques qui est soluble en milieu alcalin mais précipite en milieu acide. Les acides fulviques sont les substances colorées restant en solution après la précipitation des acides humiques. Le schéma suivant représente cette séparation.



L'étude chimique de la matière organique est extrêmement difficile car elle se retrouve à basse concentration. Dans la plupart des cas, les échantillons doivent être concentrés avant le début des analyses. Plusieurs types de concentration ont été utilisés: l'extraction par des solvants (Lamar et Goerlitz, 1966; Shapiro, 1957), la concentration à froid (Kobayashi, 1963), l'évaporation par le vide (Gjessing et Lee, 1967), la résine à base de fer (Christman et Ghassemi, 1966) et l'absorption par une colonne (Krumke, 1963). Les conditions expérimentales de la concentration peuvent altérer la matière organique, par exemple par polymérisation ou par décomposition.

Différents chercheurs ont utilisé le gel Séphadex pour séparer les molécules organiques contenues dans les eaux naturelles. Gjessing (1965) a été le premier à utiliser ce gel pour séparer les substances humiques. Shapiro (1966) a pour sa part étudié vingt deux lacs du Minnesota. Gjessing et Lee (1967) ont employé les gels Séphadex G-10, G-25, G-75 pour étudier le fractionnement de la matière organique contenue dans les lacs dans le Wisconsin.

Les effets de la concentration et d'injections successives d'échantillons contenant de la matière organique ont été étudiés par Hall (1970). Une série de 26 échantillons, concentrés cent fois, ont été séparés sur une colonne G-75. Les fractions d'un échantillon ont été combinées et concentrées pour être par la suite séparées de nouveau en fractions. Apparemment, le matériel organique n'a pas été altéré dans son profil de distribution. Le pourcentage de récupération a été de 104 pourcent.

Dans le cas du Saguenay, ce genre d'étude n'a pas pu être retracé dans la littérature scientifique. Afin de remédier à ce manque de connaissances, ce mémoire se propose les buts suivants: obtenir la distribution quantitative de la matière organique dissoute dans trois types d'eau du Saguenay en fonction de son poids moléculaire nominal; obtenir la distribution qualitative, déterminée par le rapport C:N, de cette matière en fonction de son poids moléculaire nominal.

CHAPITRE II
MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1 Echantillonnage

2.1.1 Sites de prélèvement

Trois stations ont été échantillonnées sur deux sites. Le premier site correspond à la station "050" de Drainville (1968) qui se situe dans la rivière Saguenay à la hauteur de Chicoutimi (figure 1) en amont des sorties des eaux usées de la ville de Chicoutimi. La température de cette eau était alors de 20°C à marée basse à une profondeur d'un mètre et le pH était de 6.79. L'échantillonnage s'est effectué le 6 août 1986 à 10:00. Cette station est représentative des eaux douces de la rivière Saguenay. L'autre site est localisé dans le fjord en face de Ste-Rose-du-Nord et correspond à la station "DR 190" de Drainville (1968). La première station est à une profondeur de 3.2 mètres. Cet échantillon provient de la couche d'eau saumâtre qui surnage la couche d'eau salée. La salinité de l'eau de cette station est de 6 parties par mille représentant une eau saumâtre, le pH est de 7.45 et la température est de 21.5°C. La deuxième station de ce site est à une profondeur de 19.5 mètres. Cet échantillon provient de la couche d'eau marine du fjord. La salinité est de 26 parties par mille, le pH est de 7.79 et la température est de 7.0°C. Ces stations ont été échantillonnées le 20 août 1986 à 11:00 et la marée était montante à ce moment-là.

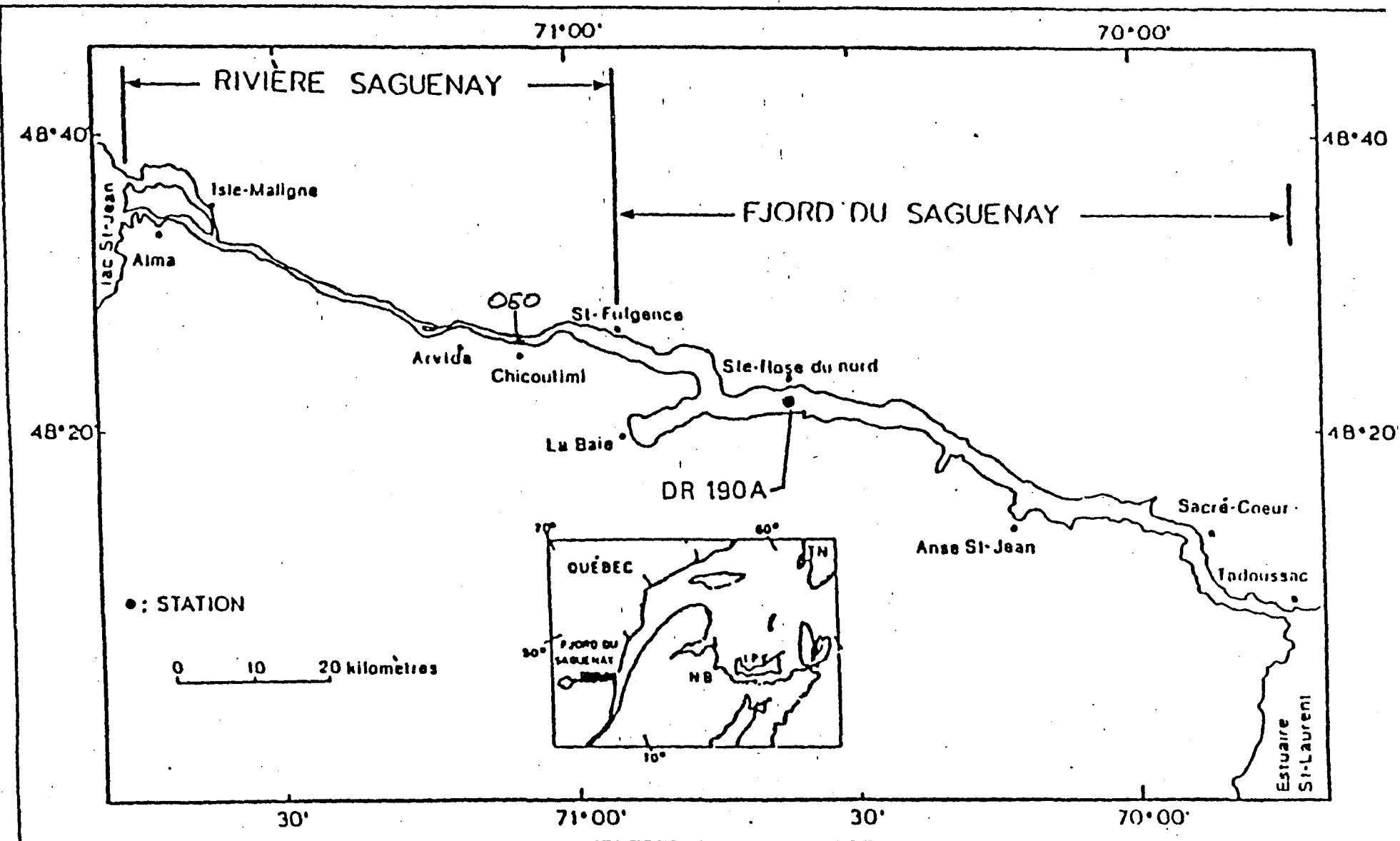
La variation entre ces trois stations permettra de faire ressortir les caractéristiques majeures propres des trois types d'eau que l'on retrouve dans l'axe fluvial rivière Saguenay-fjord Saguenay.

La filtration sur gel requérant environ trois heures par injection, le nombre d'injections, sans compter la mise au point de cette technique récente en environnement, a dû être maintenu en deça de la centaine. La quantité d'échantillons à filtrer pour chaque station nécessitant environ 30 à 40 injections, seul trois stations ont pu être choisies.

2.1.2 Conservation des échantillons.

Aucun préservatif n'a été ajouté aux échantillons d'eau de chacune des trois stations. Tous ces prélèvements ont été conservés à 4°C avant et après chacun des différents fractionnements.

Figure 1 : Le fjord du Saguenay et ses principaux tributaires



2.2 Procédure expérimentale

2.2.1 Élimination des contaminants possibles

Il est important de ne pas introduire de contaminants dans la préparation ou l'analyse des échantillons. Les teneurs attendues sont faibles (de l'ordre du $\mu\text{g/L}$ ou ppb) et il est alors très facile de contaminer les échantillons.

Pour minimiser les sources de contamination, des réactifs de très grande pureté ont été utilisés. Ces réactifs (Ex: acides) sont toujours présents en grande quantité au cours du traitement des échantillons.

De plus, toute la verrerie utilisée a été lavée par trempage à l'acide chlorhydrique concentrée pendant 24 heures puis par rinçage à l'eau déminéralisée Super Q. La verrerie a été lavée jusqu'à ce qu'aucune trace de contamination en métaux lourds puisse être détectée dans l'eau de rinçage.

Afin de confirmer que les mesures de décontamination ont été satisfaisantes, de l'eau déminéralisée a subi le même traitement analytique que les échantillons.

2.2.2 Procédure analytique

La procédure analytique est illustrée à la figure 2 . La première étape consiste en une filtration sur des filtres Millipores de 0.45 um. Ces filtres ont été préalablement lavés en filtrant 100 mL d'eau déminéralisée. Ils ont ensuite été séchés dans une étuve à une température de 100°C pendant 24 heures. Les filtres ont été refroidis dans un dessicateur pendant 6 heures (jusqu'à ce que leurs poids soient constants). Enfin ils ont été pesés précisément. Les échantillons aqueux ont été filtrés à travers ces filtres pour éliminer la matière particulaire en suspension.

La deuxième étape consiste dans le fractionnement de la matière organique dissoute contenue dans les filtrats de l'étape précédente en fonction du poids moléculaire nominal au moyen de la chromatographie par filtration sur gel. Quatre colonnes de gel Séphadex ont été utilisées consécutivement. Chacune d'elles possède une limite d'exclusion plus élevée que la précédente. L'étape de la séparation est détaillée à la figure 3 .

Les dimensions des colonnes ne permettent que des injections inférieures ou égales à 2.0 ml. Les échantillons sont préalablement concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif afin de réduire le nombre d'injections.

Figure 2 : Organigramme de la procédure analytique.

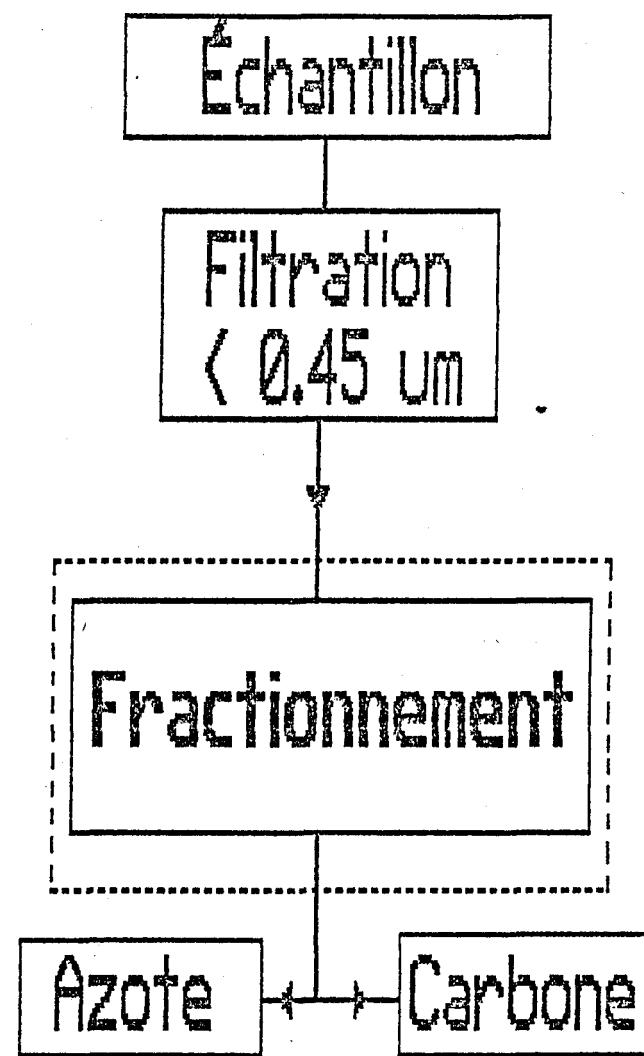
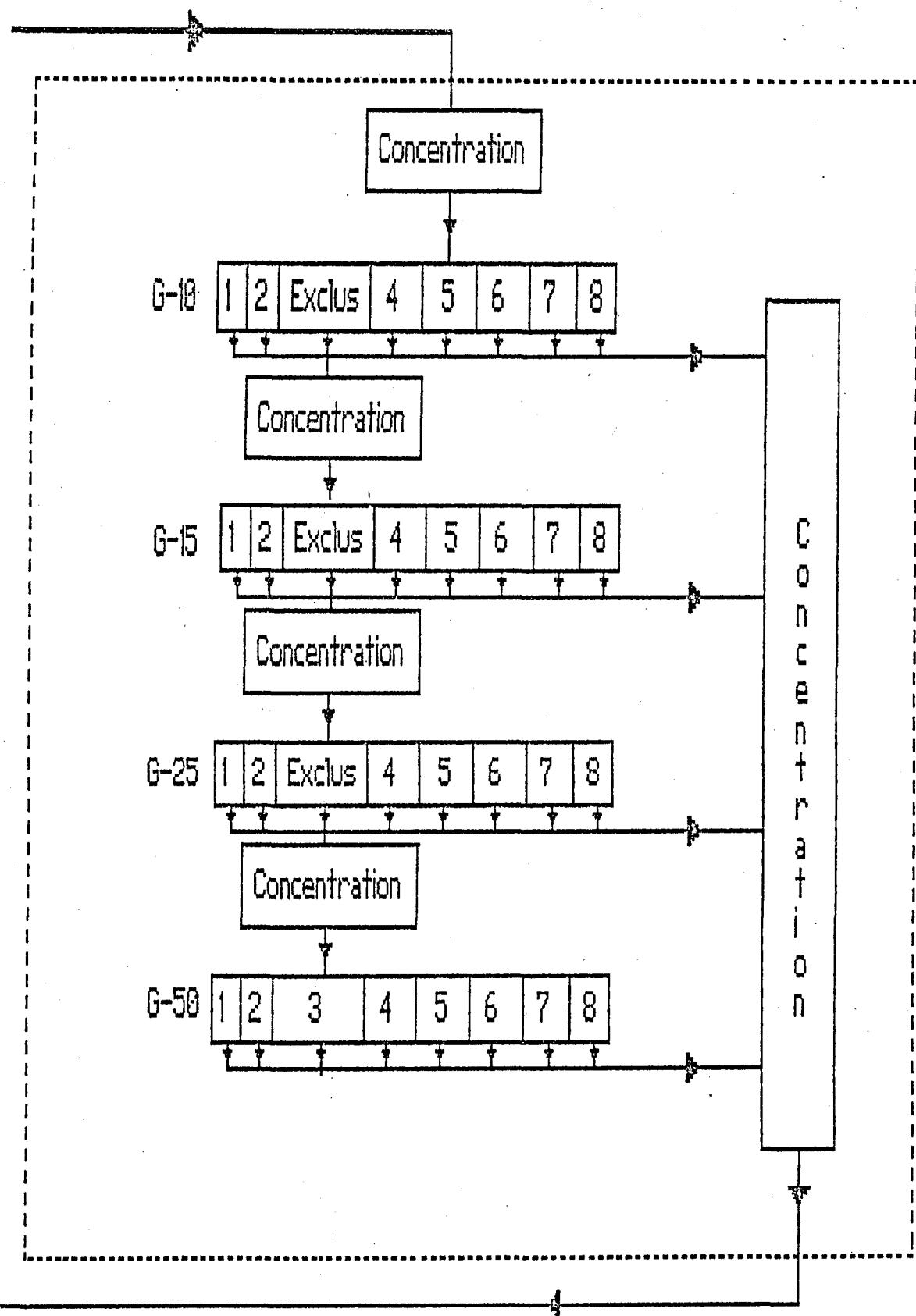


Figure 3 : Organigramme de la filtration sur gel.

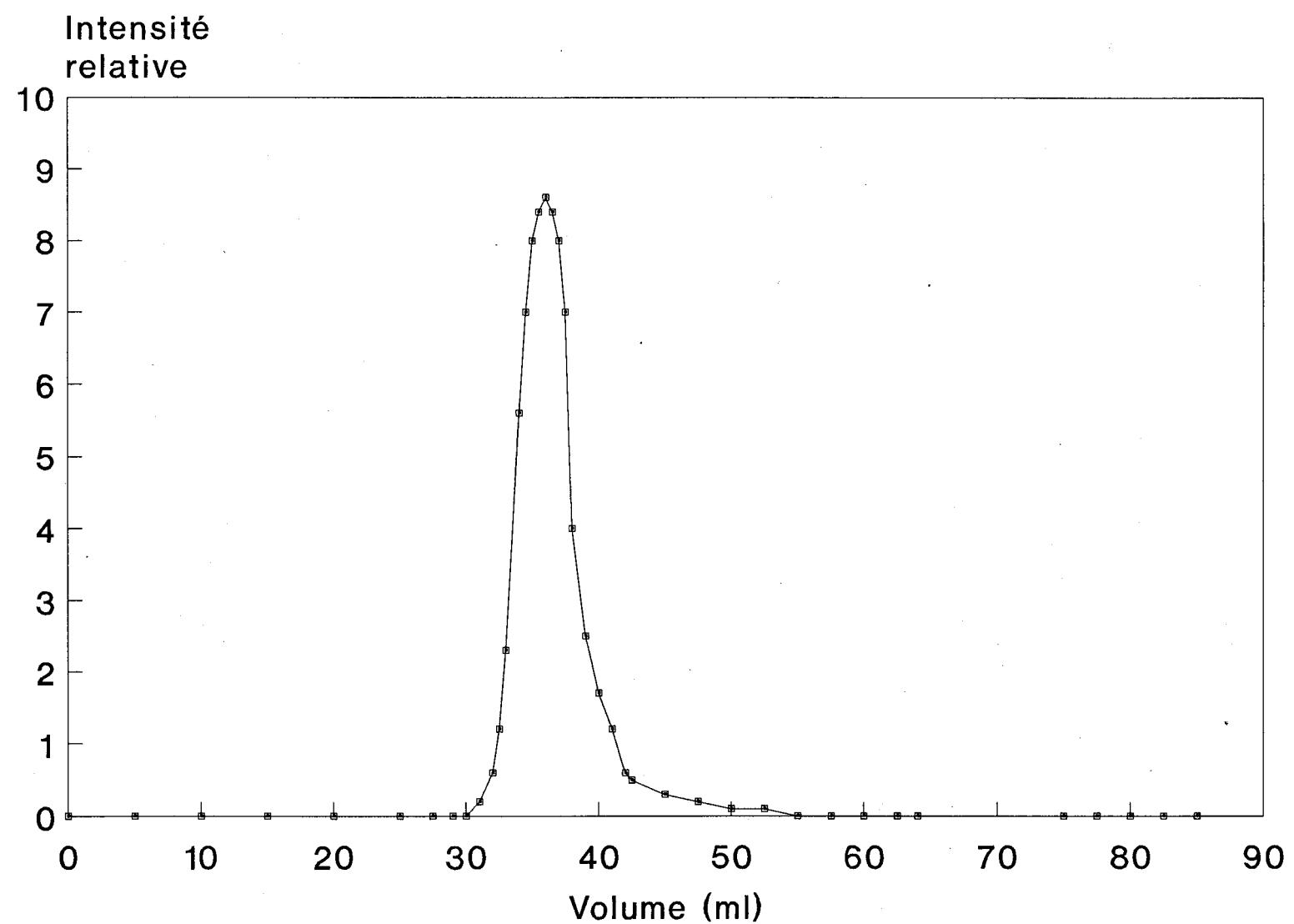


La première colonne utilisée contient un gel de type Séphadex G-10. Ce gel sert entre autre à dessaler l'échantillon. La zone de fractionnement de cette colonne exprimée en poids moléculaire nominal (M) est inférieur à 700. Les molécules ayant un poids moléculaire nominal supérieur à 700 se retrouvent dans le pic d'exclusion (figure 4).

Le volume exclus de la colonne G-10, correspondant à la troisième fraction, est ensuite concentré par évaporation avant l'injection dans la colonne G-15. Le volume final après concentration est de 25 ml permettant dix injections de 2.0 ml dans cette colonne. La zone de fractionnement de cette colonne exprimée en poids moléculaire nominal est inférieure à 1500. Puisque l'échantillon injecté ne devrait plus contenir que des molécules de poids moléculaire nominal supérieur à 700, il s'ensuit que pendant cette étape des molécules de poids moléculaire nominal situé entre 700 et 1500 sont séparées. La fraction excluse de la G-15 est ensuite introduite après concentration dans la colonne contenant du gel de type Séphadex G-25. La zone de fractionnement de ce gel se situe entre 100 et 5000 en terme de poids moléculaire nominal. La dernière colonne utilisée contient du gel Séphadex G-50. Sa zone de fractionnement se situe entre 500 et 10000 en terme de poids moléculaire nominal.

Les différentes fractions recueillies, autres que les pics d'exclusion (sauf pour la colonne contenant du gel Séphadex G-50) sont concentrées sur évaporateur rotatif. Le dosage du carbone est effectué par titration et celui de l'azote sous forme ammoniacale est effectué à l'aide d'une électrode spécifique.

Figure 4 : Pic d'exclusion de la colonne G-10 par élution du Bleu Dextran.



2.3 Filtration sur gel

2.3.1 Principe de la méthode

La filtration par chromatographie sur gel permet de séparer des molécules selon leur dimension. Elle peut être grossièrement comparée à un tamis. Chaque colonne possède une limite supérieure de séparation appelée "exclusion". Les molécules plus grosses que la limite d'exclusion ne sont pas séparées. Les premières fractions recueillies sont celles qui contiennent des molécules de poids moléculaires nominaux élevés et les dernières fractions recueillies contiennent des molécules de faibles poids moléculaires nominaux.

Le principe de la filtration est le suivant. Un liquide contenant des molécules dissoutes de différentes grosseurs est introduit dans la colonne contenant le gel. Ce gel est un ensemble de billes poreuses de dimension définie. La phase liquide stationnaire est immobilisée à l'intérieur de ces pores. La limite d'exclusion est reliée à la dimension des pores. Plus la molécule est petite, plus elle peut diffuser dans la phase stationnaire. Son temps de résidence dans la colonne est alors plus long et elle nécessite un plus grand volume d'éluant pour être éluée. La séparation obtenue dépend de la taille des pores et de la densité du gel.

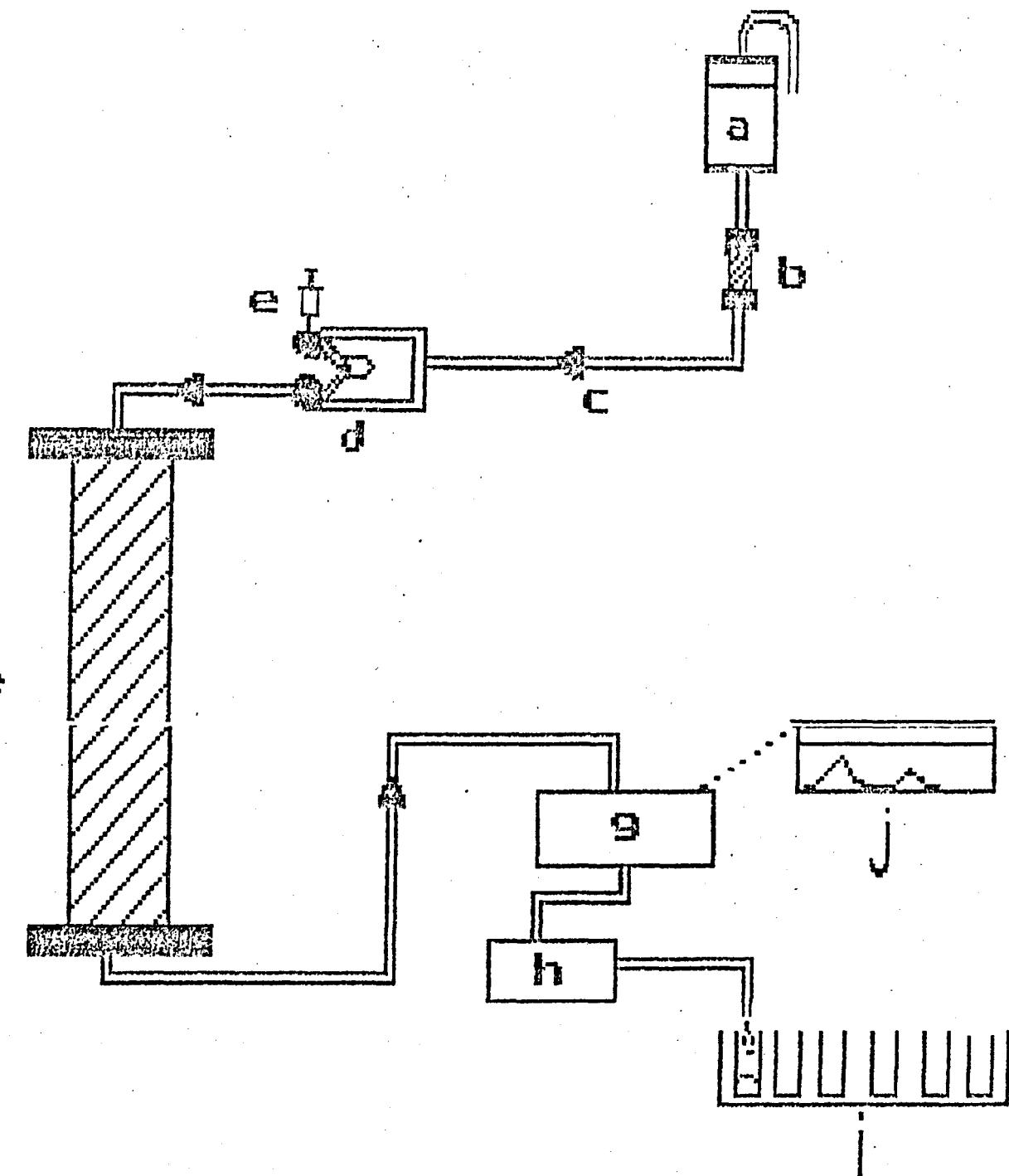
Les molécules du mélange initial sont éluées de la colonne dans l'ordre décroissant de leur poids moléculaire nominal, ordre qui correspond à leur temps de résidence dans la phase stationnaire.

Le gel de Dextran utilisé est de type "Séphadex". La porosité du gel détermine la zone de fractionnement. Le gel Séphadex est stable en milieu alcalin ou faiblement acide (Pharmacia).

2.3.2 Appareils

La filtration sur gel s'effectue presque toujours dans des colonnes dont les dimensions dépendent de la quantité d'échantillon à injecter. La figure 5 représente un schéma du montage expérimental.

Figure 5 : Montage expérimental de la filtration sur gel



Légende

- | | |
|-----------------------|----------------------------|
| a. Réservoir à éluant | f. colonne |
| b. Pré-colonne | g. DéTECTEUR U.V. |
| c. Capillaire | h. Pompe péristaltique |
| d. Boucle d'injection | i. Collecteur de fractions |
| e. Seringue | j. Enregistreur |

Pour obtenir des résultats reproductibles, la colonne doit être préparée avec grands soins pour assurer un compactage homogène du gel. Le remplissage s'effectue avec du gel convenablement gonflé (24 H) dans l'éluant dégazé. Le remplissage de la colonne (f) doit être régulier. Le test d'homogénéité s'effectue avec une solution de Bleu Dextran 2000 (2 mg/L). La progression de la zone colorée et la définition du pic d'exclusion (figure 4) déterminent l'homogénéité du lit du gel.

L'échantillon est introduit dans la boucle d'injection (d) et est entraîné par l'éluant (eau à pH=6.5) à travers la colonne (f) où s'effectue le fractionnement. La circulation de l'éluant est contrôlée par une pompe péristaltique (h) à débit constant. A la sortie de la colonne, l'éluat traverse un détecteur Ultra-Violet (g) opérant à une longueur d'onde de 280 nm. Celui-ci produit un signal qui dépend entre autre du type et de la concentration de la matière organique contenue dans l'éluat pendant son dosage dans la cellule du détecteur (g). Ce signal est tracé sur papier par un enregistreur (j) et les fractions sont recueillies par le collecteur de fractions (i). La pré-colonne (b) sert à éliminer toute substance pouvant être introduite dans la colonne par l'éluant. Celle-ci est remplie de gel Dextran de type G-10. Les divers ajustements des appareils servant à la filtration sur gel sont donnés au tableau 1.

Tableau 1.
Ajustement des appareils
servant à la filtration sur gel

Système à filtration sur gel	Pharmacia
Éluant	Eau à un pH de 6.5
Volume d'injection	2.0 ml
Type de gel	Dextran
Grosseur de gel	G-10, G-15, G-25, G-50
Débit de la pompe	0.5 mL/min
Détecteur	UV
Longueur d'onde du détecteur	280 nm
Volume détecteur	3.6 μ L
Atténuation	2 X
Voltage enregistreur	1.0 Volt
Volume des fractions	15, 10, 10, 10, 10 10, 10, 10 ml
Vitesse de l'enregistreur	1.0 mm/min

2.3.3 Calculs

Lors de l'élution des échantillons, une certaine dilution est produite. Ces fractions diluées sont donc concentrées au moyen d'un évaporateur rotatif. Les facteurs de dilution et de concentration doivent être déterminés afin d'exprimer les concentrations dans la fraction originale.

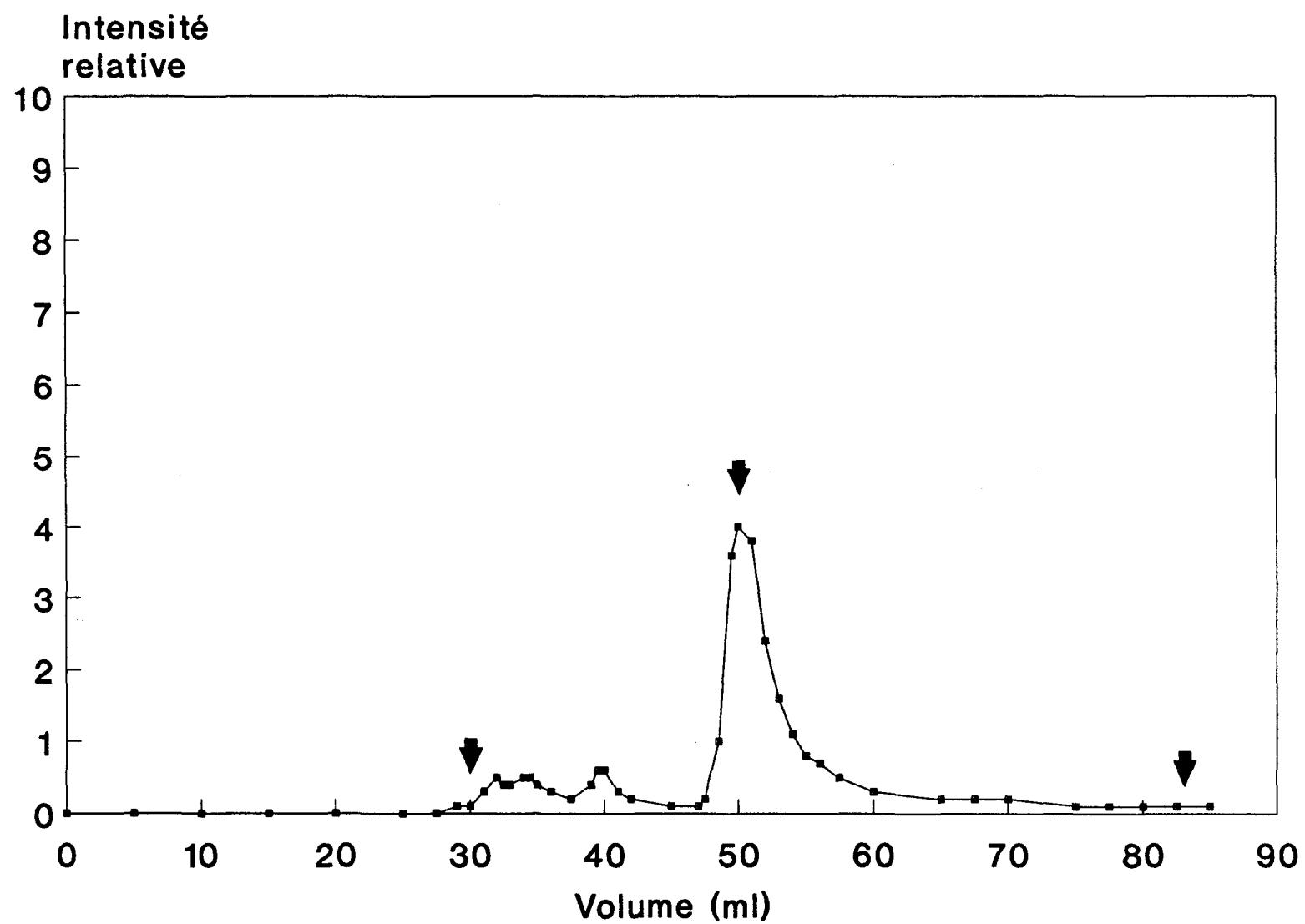
2.3.4 Vérification des colonnes

Le but de la vérification est de s'assurer que l'élution d'un produit de poids moléculaire connu est entre le pic d'exclusion et le volume total. Le produit utilisé doit avoir une similarité structurale avec les produits analysés pour bien évaluer le fractionnement de la colonne.

La vérification de la colonne G-10 s'est faite avec le sodium dodécylbénzène sulfonate. Le chromatogramme de l'élution est illustré à la figure 6. Le pic majeur de ce chromatogramme est celui du dodécylbénzène sulfonate ($PM = 349$) tandis que les autres pics sont des contaminants. La première flèche, vers trente millilitres, indique le pic d'exclusion de cette colonne. La deuxième flèche indique l'élution du dodécylbénzène sulfonate. La troisième flèche indique le volume total de la colonne qui est calculé à l'aide du diamètre intérieur de la colonne multiplié par la longueur de celle-ci. L'élution du sodium xylène sulfonate ($PM = 208$) à travers la colonne a servi de double vérification.

La vérification de la colonne G-15 s'est aussi faite avec le dodécylbénzène sulfonate. La colonne G-25 a été vérifiée à l'aide de polystyrènes sulfonatés de poids moléculaire de 1800 et de 4400 et du dodécylbénzène sulfonate. La colonne G-50 n'a pas été vérifiée car l'utilisation de celle-ci n'a pas été jugée vraiment nécessaire.

**Figure 6 : Vérification de la colonne G-10,
Chromatogramme du sodium dodécy1 benzène.**



2.4 Dosage du carbone organique

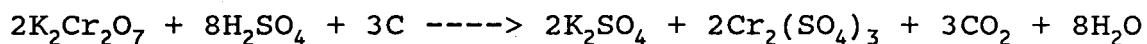
2.4.1 Principe de la méthode

Cette méthode est utilisée pour mesurer les équivalents d'oxygène de la matière organique contenue dans un échantillon qui est susceptible d'être oxydé par un puissant oxydant chimique. La plupart des composés organiques sont oxydés de 95 à 100% par rapport à la valeur théorique.

Les composés aliphatiques sont oxydés plus facilement lorsque du sulfate d'argent est ajouté comme catalyseur. Toutefois, le sulfate d'argent (Ag_2SO_4) réagit avec les chlorures, les bromures, et les iodures pour produire un précipité qui est partiellement oxydé. L'effet de la présence d'halogènes, qui sont eux aussi oxydés, peut être largement diminué par la complexation avec le sulfate mercurique (HgSO_4) avant le début du reflux. Cette procédure n'est toutefois pas valide lorsque la concentration en chlorure est supérieure à 2000 mg/L. Le domaine d'application est de 1.0 mg/L C et plus.

Le carbone contenu dans la matière organique est oxydé par un mélange de dichromate de potassium et d'acide sulfurique. L'oxygène consommé est proportionnel au carbone qui est dosé. L'excès de dichromate de potassium est titré par un sel ferreux $(\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O})$. L'indicateur est le ferroin (APHA, 1985)

La réaction avec la matière organique peut être schématisée par l'équation suivante :



2.4.2 Réactifs

Solution standard de dichromate de potassium, 0.0417 M :

Dissoudre 12.2590 g de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, préalablement séché à 100°C pendant deux heures, dans 500 ml d'eau déminéralisée, 167 ml de H_2SO_4 concentré et 33.3g de HgSO_4 . Refroidir à la température de la pièce et compléter à 1000 ml.

Solution d'acide sulfurique : Ajouter 5.5 g de Ag_2SO_4 par kg de H_2SO_4 . Prévoir un à deux jours pour la dissolution du Ag_2SO_4 .

Standard de sulfate d'ammonium ferreux (FAS) 0.040M : Dissoudre 15.68 g $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dans 600 ml d'eau déminéralisée. Ajouter 20 ml de H_2SO_4 , refroidir et compléter à 1000 ml.

Indicateur Ferroin : Dissoudre dans de l'eau déminéralisée 1.485 g de 1,10-phénanthroline monohydratée et 0.695 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ puis compléter à 100 ml.

Solution mère 500 mg/L O_2 : Dissoudre 0.4250 g de phtalate acide de potassium ($\text{HOOC}_6\text{H}_4\text{COOK}$) préalablement chauffé pendant 2 heures à 120°C dans 1 litre d'eau déminéralisée.

Dilution de la solution mère

Std 10 mg/L = Diluer 2.00 ml de 500 mg/L dans 100 ml d'eau.
Std 15 mg/L = Diluer 3.00 ml de 500 mg/L dans 100 ml d'eau.
Std 25 mg/L = Diluer 5.00 ml de 500 mg/L dans 100 ml d'eau.
Std 40 mg/L = Diluer 8.00 ml de 500 mg/L dans 100 ml d'eau.
Std 50 mg/L = Diluer 10.00 ml de 500 mg/L dans 100 ml d'eau.
Std 100 mg/L = Diluer 20.00 ml de 500 mg/L dans 100 ml d'eau.

2.4.3 Procédure

Dans un tube à essai de 16 x 100 mm avec bouchon de téflon, pipetter 1.5 ml de la solution de dichromate de potassium, 3.5 ml de la solution d'acide sulfurique et 2.5 ml d'échantillon. Préparer également un blanc en substituant le volume d'échantillon requis (2.5 ml) par de l'eau déminéralisée. Agiter le tube et faire chauffer dans un bloc en aluminium à $150 \pm 3^\circ\text{C}$ pendant 2 heures.

Laisser refroidir, ajouter une goutte d'indicateur et titrer directement dans le tube à essai avec le standard de FAS 0.10 M. Le point de virage est atteint lorsque la coloration change du bleu-vert à rouge-brun.

Pour connaître la concentration précise du standard de dichromate de potassium, pipetter 1.5 ml de standard de dichromate de potassium 0.0347 M, 3.5 ml de la solution d'acide et 2.5 ml d'eau déminéralisée dans un tube à essai. Ajouter une goutte d'indicateur. Titrer avec le standard FAS 0.10 M.

2.4.4 Calculs

Calcul de la molarité du FAS

$$\text{Molarité du FAS} = \frac{V_1 \times 0.25}{V_2}$$

Calcul de la demande chimique en oxygène (DCO)

$$\text{DCO en mg O}_2/\text{L} = \frac{(A - B) \times M \times 8000}{V_3}$$

Calcul du carbone organique

$$\text{CO en mg C/L} = \frac{(A - B) \times M \times 3000}{V_3}$$

A = Volume de FAS pour le blanc (ml)

B = Volume de FAS pour l'échantillon (ml)

M = Molarité du FAS

V_1 = Volume de dichromate de potassium (ml)

V_2 = Volume de FAS (ml)

V_3 = Volume d'échantillon (ml)

2.5 Dosage de l'azote

2.5.1 Principe de la méthode

Dans l'eau naturelle et l'eau usée, les formes d'azote sont dans l'ordre décroissant d'état d'oxydation les nitrates, les nitrites, l'ammoniaque et l'azote organique. Toutes ces formes d'azote, incluant l'azote gazeux (N_2), sont biochimiquement interconvertibles et sont des composantes du cycle de l'azote.

L'azote organique est défini comme l'azote lié à la matière organique avec un état d'oxydation moins trois (-3). Analytiquement, le dosage de l'azote organique nécessite un pré-traitement appelé "azote Kjeldahl". L'azote organique inclue les substances naturelles telles que les protéines, peptides, acides nucléiques, l'urée et les nombreuses substances organiques synthétiques.

Le facteur primordial qui influence le choix de la méthode semi-macro Kjeldahl est relié à la faible quantité d'azote dans un échantillon contenant de l'azote organique et à l'élimination de l'interférence due aux sels .

Lorsqu'un échantillon contient une grande quantité de sel, la température nécessaire pour avoir une libération de l'azote est autour de 400°C. Pour prévenir une température de digestion excessive, il suffit d'augmenter la quantité d'acide sulfurique pour maintenir le rapport sel-acide. L'ajout d'une plus grande quantité de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ avant la distillation neutralise l'excès d'acide.

Durant la digestion, l'acide sulfurique oxyde la matière organique en CO_2 et en H_2O . Si la quantité de matière organique est abondante, une grande partie de l'acide sera consommée diminuant ainsi le rapport acide-sel. La température nécessaire à la libération de l'azote augmentera donc. La présence de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ est obligatoire pour garder un pH élevé lors de la distillation.

La digestion complète de la plupart des échantillons est favorisée lorsque l'on utilise un catalyseur comme le cuivre. Cette procédure ne permet pas de libérer l'azote qui est sous forme azide, azo, hydrazone, nitrate, nitrite, nitro, nitrozo, oxime et semi-carbazone.

En présence de l'acide sulfurique (H_2SO_4), du sulfate de potassium et du catalyseur $CuSO_4$, l'azote sous forme amine de la matière organique est convertie en sulfate d'ammonium ($(NH_4)SO_4$). L'ammoniaque libre et l'ammonium sont aussi converti en sulfate d'ammonium. La décomposition de l'azote lié aux différents ions métalliques se fait à l'aide du sodium thiosulfate ($Na_2S_2O_3$). Après la décomposition, l'ammoniaque est distillé en milieu alcalin et adsorbé par l'acide borique. L'ammoniaque est déterminé par la suite au moyen d'une électrode sélective.

L'électrode sélective servant à doser l'azote sous forme ammoniacale utilise une membrane perméable seulement au gaz. L'intérieur de l'électrode contient une solution de chlorure d'ammonium (APHA, 1895). L'azote dissous ($NH_3(aq)$ et NH_4^+) est converti en $NH_3(aq)$ à un pH de 11 avec une base forte. $NH_3(aq)$ diffuse à travers la membrane et change le pH de la solution interne qui est mesuré par l'électrode à pH. La mesure potentiométrique est lue sur un pH-mètre ayant une échelle en millivolt.

2.5.2 Appareils

Électromètre: Un pH-mètre avec une échelle en millivolt d'une résolution de 0.1 mV. Il doit être possible de détecter des concentrations donnant une lecture entre -700 mV et +700 mV.

Électrode: Une électrode sélective à l'azote de marque Orion.

Agitateur magnétique: Il doit être isolé contre les variations de température.

Barre magnétique: Elle doit être recouverte de téflon.

2.5.3 Réactifs

Solution de digestion : Dissoudre 134 g de K_2SO_4 dans 650 ml d'eau, ajouter 200 ml d'acide sulfurique concentré H_2SO_4 . Compléter à 1 litre.

NaOH-Na₂S₂O₃.5H₂O : Dissoudre 250 g de NaOH et 12.5 g de Na₂S₂O₃.5H₂O dans 350 ml d'eau, refroidir et jauger à 500 ml.

CuSO₄ : Dissoudre 25.115 g de CuSO₄ dans 750 ml d'eau. Jauger à 1 litre.

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: Dissoudre 0.35 g de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dans 100 ml d'eau.

Préparer une nouvelle solution chaque semaine.

H_2SO_4 0.5 M : Diluer 100 ml de H_2SO_4 1 M avec 100 ml d'eau.

MnSO_4 0.006N : Dissoudre 50 mg de $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ dans 100 ml d'eau.

Solution standard 5000 ppm d'azote (N): Dissoudre 1.9095 g de NH_4Cl . Séché à 100°C pendant deux (2) heures dans 80 ml d'eau. Compléter à 100 ml dans un ballon volumétrique.

Solution de NaOH 5 M: Dissoudre 200 g de NaOH dans 800 mL d'eau. Refroidir et diluer à 100 mL.

Ajusteur de force ionique (ISA): Mélanger 45 mL de NaOH 5 M à 45 mL de EDTA dissodique 0.05 M et 10 mL de méthanol avec un indicateur de couleur.

Solution standard 5.00 mg/L d'azote (N): Diluer 1.0 mL de la solution standard de 5000 ppm dans 1000 mL d'eau.

Dilution du standard mère.

Std 10 $\mu\text{g/L}$ = diluer 0.200 mL de 5.0 mg/L dans 100 mL d'eau.

Std 20 $\mu\text{g/L}$ = diluer 0.400 mL de 5.0 mg/L dans 100 mL d'eau.

Std 40 $\mu\text{g/L}$ = diluer 0.800 mL de 5.0 mg/L dans 100 mL d'eau.

Std 80 $\mu\text{g/L}$ = diluer 1.600 mL de 5.0 mg/L dans 100 mL d'eau.

Std 120 $\mu\text{g/L}$ = diluer 2.400 mL de 5.0 mg/L dans 100 mL d'eau.

2.5.4 Procédure

Digestion des échantillons d'eau

- Pipetter 20 ml de l'échantillon dans un bécher de 250 ml.
- Diluer à 100 ml avec de l'eau distillée.
- Préparer un blanc avec 100 ml d'eau.
- Ajuster le pH à 6.8 \pm 0.2 sans dépasser 7.0 avec du NaOH.
- Pipetter 0.5 ml de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.
- Ajouter 30 ml de la solution de digestion dans le cylindre gradué.
- Pipetter 10 ml de CuSO_4 et ajouter quatre billes de verre.
- Chauffer jusqu'à l'obtention d'une fumée blanche.
- Laisser chauffer pendant trente minutes. Laisser refroidir.
- Diluer à 40 ml avec de l'eau déminéralisée dans le bécher.

Distillation des échantillons

Dans le ballon de 250 ml:

- Transférer les 40 ml de la solution digérée dans le ballon.
- Ajouter 100 ml d'eau tout en rinçant le bécher.
- Ajouter 25 ml de NaOH-Na₂S₂O₃ juste avant le début de la distillation avec un entonnoir.

Dans un ballon volumétrique de 100 ml.

- Placer 25 ml de H₂SO₄.
- Distiller jusqu'à 100 ml.

Préparation des échantillons

- Pipetter 8 ml d'échantillon dans un bécher.
- Ajuster le pH à 6.8 ± 0.2 sans dépasser 7.0 avec du NaOH.
- Jauger à 10 ml.

Calibration de l'électromètre

Placer 100 mL de chacune des solutions standards dans des bêchers de 150 mL. Immerger l'électrode dans le standard de plus basse concentration et mélanger avec l'agitateur magnétique. Ne pas mélanger trop rapidement afin de ne pas aérer la solution. La présence de bulles d'air peut rendre les mesures instables. Toutes les mesures doivent être à la même température et avec une agitation constante.

Ajouter 2.0 mL d'ISA pour déplacer le pH de la solution vers 11. Garder l'électrode dans la solution jusqu'à ce que la lecture demeure stable.

Ne pas ajouter la solution "ISA" avant d'immerger l'électrode car l'ammoniac est relâché lorsque la solution devient basique. Répéter cette procédure avec des standards de plus en plus concentrés. Attendre au moins 5 minutes avant d'enregistrer le résultat pour des standards et échantillons de concentration $\leq 1 \text{ mg/L NH}_3\text{-N}$.

2.5.5 Calculs

Graphique de la courbe standard

Tracer sur un papier semi-logarithmique la concentration d'azote en milligramme par litre de NH₃-N sur l'axe logarithmique versus le potentiel en millivolt sur l'axe linéaire.

Mesure des échantillons

Diluer si nécessaire l'échantillon pour obtenir une concentration en NH₃-N qui est au milieu des standards analysés. Porter sur le graphique les potentiels lus des échantillons et lire la concentration correspondante.

CHAPITRE III

RÉSULTATS

3.1 Répartition de la matière organique

3.1.1 Station 1

Les chromatogrammes de cette station sont illustrés à la figure 7. Quatre pics apparaissent distinctement dans le chromatogramme obtenu avec le gel G-10. Les sommets des deux premiers pics se situent dans la fraction no. 3 qui est le pic d'exclusion. Le sommet du troisième pic se trouve dans la fraction suivante. Le sommet du quatrième pic se situe à la fin de la fraction no. 4 et au début de la fraction no. 5. L'échantillon a été préalablement concentré par un facteur de 31.

La fraction no. 3 de la colonne G-10, après concentration par un facteur de 4, a été injectée dans la colonne G-15. Le chromatogramme de la colonne G-15 révèle deux pics. Le sommet du premier se situe dans la fraction no. 3 et l'autre dans la fraction no. 4. Le pic dans la fraction 3 est large et laisse présumer trois pics se chevauchant.

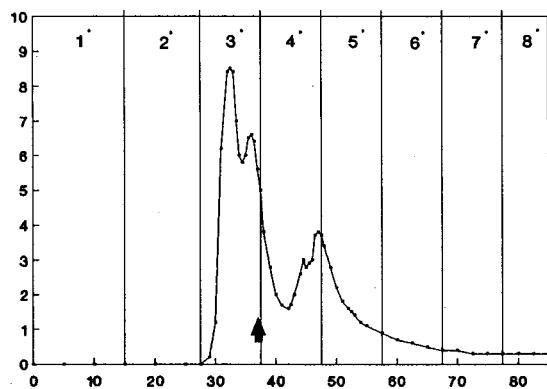
Le chromatogramme de la colonne G-25 indique une répartition de la matière organique dans les fractions 3 à 6. Le premier pic est large, mal défini et réparti principalement dans les fractions no.3 et no.4. Le pic dans la fraction 5 est bien défini. Celui dans la fraction 6 est faible mais détectable. La fraction excluse de la colonne G-15 a été concentrée par un facteur de 12 avant son injection dans la colonne G-25.

La fraction 3 de la colonne G-25 a été concentrée par un facteur de trois avant son injection dans la colonne G-50. Un seul pic apparaît sur le chromatogramme de la colonne G-50. Il est faible et se retrouve dans la fraction 7. Les flèches sur les figures 7 à 9 indiquent les volumes d'exclusion.

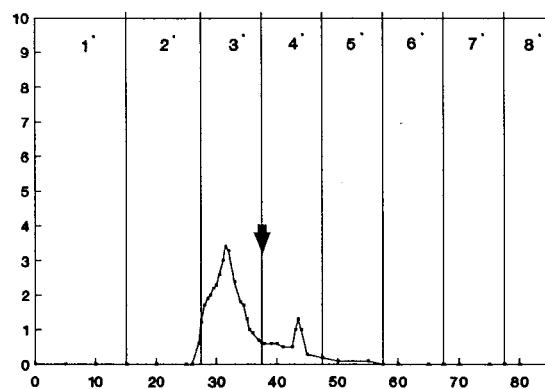
Figure 7 : Chromatogrammes obtenus avec les colonnes G-10,
G-15, G-25, G-50 pour les échantillons prélevés à la
station 1.

Station 1

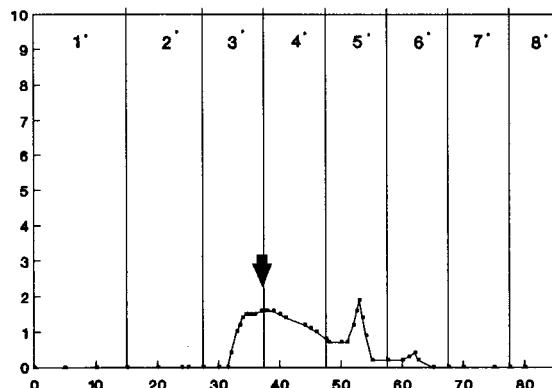
Colonne G-10



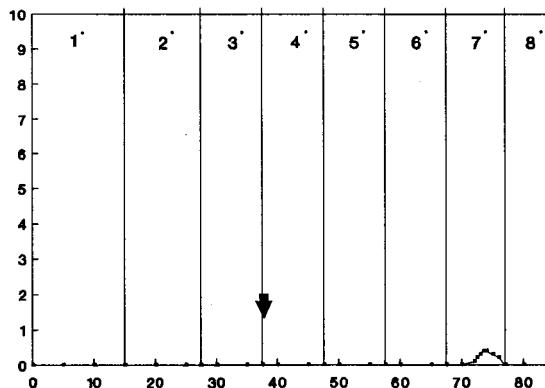
Colonne G-15



Colonne G-25



Colonne G-50



(*) Numéro des fractions

3.1.2 Station 2

L'échantillon prélevé à la station no. 2 a été injecté sur les colonnes G-10, G-15, G-25. L'échantillon injecté sur la colonne G-10 et les fractions no. 3 des colonnes G-10 et G-15 ont été concentrés par des facteurs de 16, 8 et 15 respectivement. Les chromatogrammes de la station 2 se retrouvent à la figures 8.

Le chromatogramme de la colonne G-10 montre trois pics. Leurs sommets se situent dans les fractions 3, 4 et 5. Le pic d'exclusion est intense et bien défini. Les deux autres pics sont moins intenses mais bien définis.

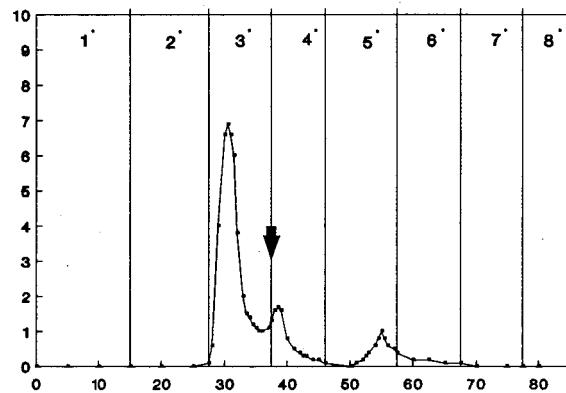
L'injection de la fraction no. 3 de la colonne G-10 sur la colonne G-15 produit un chromatogramme avec trois pics majeurs. Le premier est peu intense et mal défini. Son sommet se situe à la fin de la fraction 2 et au début de la fraction 3. Le pic dont le sommet situe dans la fraction 4 est le plus intense de ce chromatogramme. Le dernier pic est peu intense mais il est bien défini.

Le chromatogramme de la colonne G-25 indique deux pics. Ceux-ci se retrouvent dans les fractions 7 et 8. Le premier pic est large tandis que le deuxième apparaît comme un épaulement sur le premier.

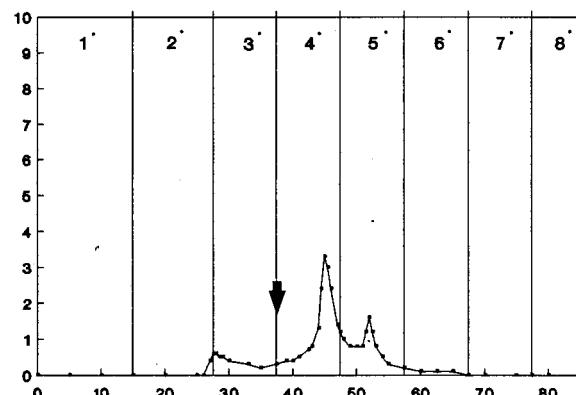
Figure 8 : Chromatogrammes obtenus avec les colonnes G-10,
G-15, G-25 pour les échantillons prélevés à la
station 2.

Station 2

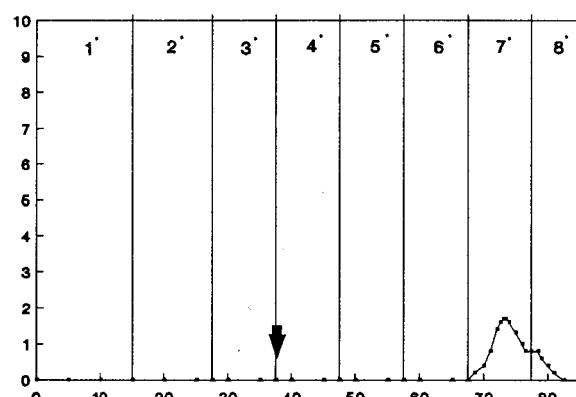
Colonne G-10



Colonne G-15



Colonne G-25



(*) Numéro des fractions

3.1.3 Station 3

Il a fallu concentrer l'échantillon possédant une salinité de 26‰ par un facteur de 126 avant de l'injecter sur la colonne G-10. Les facteurs de concentrations des fractions des colonnes G-10 et G-15 sont de 14 et 11. La figure 9 montre les chromatogrammes des colonnes G-10, G-15 et G-25 de l'échantillon prélevé à la station 3.

Trois pics sont présents sur le chromatogramme de la colonne G-10. Les sommets des deux premiers sont situés dans la troisième fraction. Le dernier pic est situé dans la sixième fraction. Le premier est le plus intense.

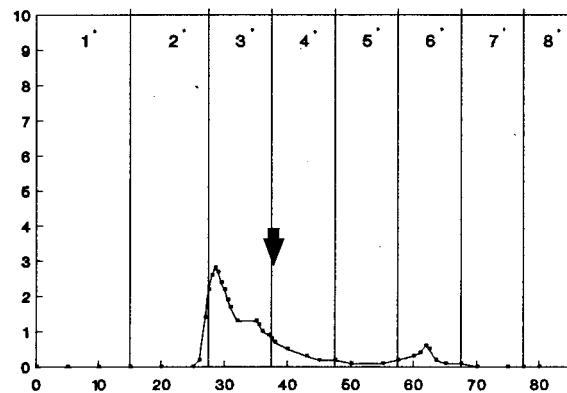
Les pics du chromatogramme de la colonne G-15 sont moins bien résolus. Un pic large se retrouve surtout dans la troisième fraction suivi d'un plateau décroissant dans la quatrième fraction produit par plusieurs pics mal résolus. Un petit pic de faible intensité mais bien défini apparaît dans la cinquième fraction.

Pour la colonne G-25, il y a deux pics d'intensité moyenne et de bonne définition. Ils se retrouvent surtout dans les fractions 6 et 7.

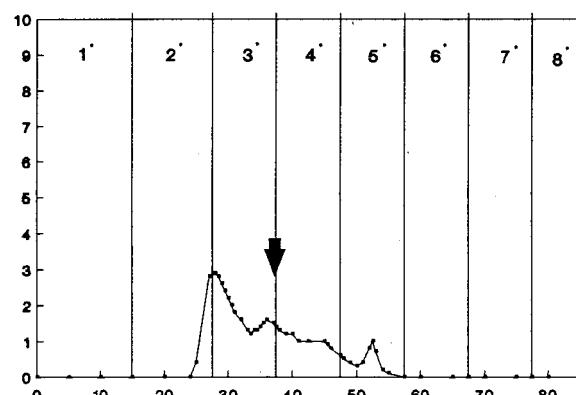
Figure 9 : Chromatogrammes obtenus avec les colonnes G-10,
G-15, G-25 pour les échantillons prélevés à la
station 3.

Station 3

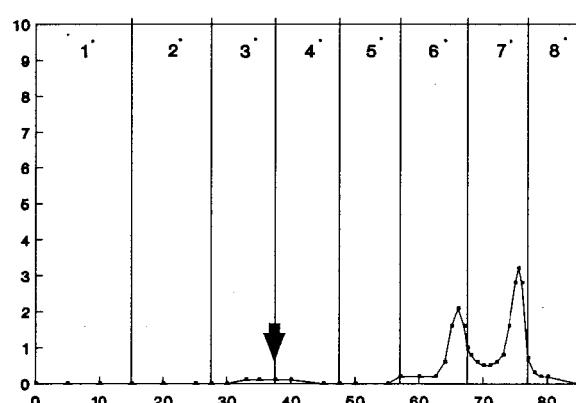
Colonne G-10



Colonne G-15



Colonne G-25



(*) Numéro des fractions

3.2 Répartition du carbone organique

Plusieurs pré-traitements ont été nécessaires avant le dosage du carbone organique. Les deux premières fractions servent de témoin car elles représentent le volume d'éluant dans la colonne avant l'élution de l'échantillon. La moyenne des deux premières fractions a donc été soustraite des fractions 4 à 8 pour les colonnes Séphadex G-10, G-15 et G-25. La limite de détection de la méthode est calculée à partir de l'écart entre ces deux valeurs. Le dosage du carbone n'a pu être possible pour les stations 2 et 3 car la teneur élevée en sel et en carbonate a agi comme interférent. Seules les données de la station 1 sont valables à l'interprétation.

3.2.1 Station 1

Les teneurs en carbone organique sont représentées au tableau 3. Pour la colonne Séphadex G-10, la fraction 4 contient le plus de carbone organique. La fraction 5 contient la moitié de la fraction 4. Les trois dernières fractions sont du même ordre et la moitié de la fraction 5.

La fraction 4 de la colonne Séphadex G-15 possède la concentration en carbone organique la plus élevée avec 555 µg/L. La fraction suivante a une concentration inférieure à la fraction 4 mais demeure élevée. La fraction 6 est celle dont la concentration en carbone organique est la plus faible.

Pour la colonne Séphadex G-25, la fraction 6 est celle dont la concentration en carbone organique est la plus élevée. Les fractions 4 et 5 sont de mêmes concentrations mais quatre fois moins élevées que la fraction 6. Les deux dernières fractions sont de mêmes concentrations mais trois fois moindre que les fractions 4 et 5.

Tableau 2.
Teneur en carbone dans les fractions

STATION NO 1

Colonne	G-10	G-15	G-25
	No. Fraction	Carbone (µg/L)	Carbone (µg/L)
4	1597	556	428
5	772	335	428
6	396	57	1537
7	360	116	126
8	396	97	126

3.3 Répartition de l'azote

L'électrode sélective est utilisée dans la méthode retenue. Les deux premières fractions ont servi de témoins. La moyenne des deux premières fractions a été soustraite des concentrations retrouvées dans les fractions 4 à 8 pour les deux premières colonnes et les fractions 3 à 8 pour la colonne Séphadex G-25. Les résultats sont répertoriés dans le tableau 4.

3.3.1 Station 1

Pour la colonne Séphadex G-10 de la station 1, la concentration d'azote diminue de la fraction 4 vers la fraction 8. La concentration en azote de la fraction 4 est de $70 \mu\text{g/L}$. et celle de la fraction 8 est $0.7 \mu\text{g/L}$.

Seule la fraction 4 de la colonne Séphadex G-15 possède une concentration d'azote significative avec $1.91 \mu\text{g/L}$.

Aucune fraction de la colonne Séphadex G-25 ne possède une concentration d'azote significative.

3.3.2 Station 2

Deux fractions seulement de la colonne Séphadex G-10 ont des concentrations d'azote significatives. La fraction 8 contient dix fois moins d'azote que la fraction 4.

Aucune fraction de la colonne Séphadex G-15 ne possède une concentration d'azote significative.

La fraction 4 de la colonne Séphadex G-25 contient 15 $\mu\text{g}/\text{L}$ d'azote. Les fractions 5,6 et 8 ne contiennent pas d'azote. La fraction 3 contient deux fois moins d'azote que la fraction 4. La fraction 7 contient 2 $\mu\text{g}/\text{L}$ d'azote.

3.3.3 Station 3

Les fractions 4 et 6 de la colonne G-10 ont des teneurs en azote inférieures à 1 $\mu\text{g}/\text{L}$. Les concentrations en azote des autres fractions ne sont pas significatives.

Toutes les fractions de la colonne Séphadex G-15 ont des concentrations similaires autour de 1 $\mu\text{g}/\text{L}$.

La fraction 4 de la colonne Séphadex G-25 est celle qui a la concentration d'azote la plus élevée avec 1,5 $\mu\text{g/L}$. Les fractions 7 et 8 ont des concentrations d'azote équivalentes. Les fractions 5 et 6 n'ont pas de concentration d'azote significative.

Tableau 3.
Teneur en azote

STATION NO 1

Colonne	G-10	G-15	G-25
No. Fraction	Azote ($\mu\text{g/L}$)	Azote ($\mu\text{g/L}$)	Azote ($\mu\text{g/L}$)
4	70	1.91	<0.10
5	33	<0.10	<0.10
6	7.7	<0.10	<0.10
7	2.89	<0.10	<0.10
8	0.70	<0.10	<0.10

STATION NO 2

Colonne	G-10	G-15	G-25
No. Fraction	Azote ($\mu\text{g/L}$)	Azote ($\mu\text{g/L}$)	Azote ($\mu\text{g/L}$)
3			6.5
4	29	<0.10	15
5	<0.10	<0.10	<0.10
6	<0.10	<0.10	<0.10
7	<0.10	<0.10	2.17
8	2.54	<0.10	<0.10

STATION NO 3

Colonne	G-10	G-15	G-25
No. Fraction	Azote ($\mu\text{g/L}$)	Azote ($\mu\text{g/L}$)	Azote ($\mu\text{g/L}$)
3			0.67
4	0.20	1.69	1.56
5	<0.10	1.30	<0.10
6	0.47	1.43	<0.10
7	<0.10	1.30	0.22
8	<0.10	1.23	0.22

CHAPITRE IV
DISCUSSION

4.1 Relation des teneurs en carbone entre les stations

Plusieurs acides carboxyliques de type humates précipitent en présence d'ion calcium (Ca^{2+}) et magnésium (Mg^{2+}). Plusieurs substances humiques sont présentes dans les eaux naturelles sous forme colloïdale. Les humates sont des colloïdes chargés négativement qui sont classés comme solubles car ils passent à travers un filtre $0.45 \mu\text{m}$. Ils sont coagulés par le Mg^{2+} et le Ca^{2+} lorsque la concentration de ces cations est supérieure à 10^{-3} M car la concentration en substances humiques dans ces conditions est alors inférieure à 1 mg C/L (Stumm et Morgan, 1981). Les estuaires sont particulièrement efficaces pour éliminer les substances humiques de la couche d'eau, probablement par coagulation (par les cations de l'eau de mer) des humates typiquement liés par les oxydes de fer hydreux (Boyle et al, 1977).

Les chromatogrammes des eaux saumâtres de la station 2 dont la salinité est de 6‰ (figure 8) peuvent être comparés à ceux qui seraient obtenus par un simple mélange des eaux douces de la station 1 qui a une salinité de 0‰ (figure 7) et des eaux marines de la station 3 possédant une salinité de 26‰ (figure 9). Un mélange composé par un apport de 77 % d'eaux marines de la station 3 et de 23% d'eaux douces de la station 1 produirait une eau ayant la même salinité que celle observée à la station 2.

La combinaison des aires sous les courbes de chaque fraction des chromatogrammes des stations 1 et 3 dans un rapport 23:77 devrait produire les chromatogrammes attendus à la station 2. Il faut tenir compte des différents facteurs de concentration de chaque fraction en effectuant ces calculs. Les facteurs de dilution produits par les élutions peuvent être ignorés car ils sont toujours identiques et affectent chaque chromatogramme de la même manière. Le tableau 5 indique les aires sous les courbes divisées par les facteurs de concentration respectifs des différentes fractions sous l'entête "carbone réelle" et les aires attendues à la station 2 sous l'entête "carbone calculée"

Pour la colonne Séphadex G-10, la différence entre le total réel des aires sous la courbe observées à la station 2 et le total calculé de cette même station indique qu'il y a conservation de la matière organique. La différence de 10% entre les deux résultats n'est pas significative et représente la précision de la méthode. L'eau retrouvée à la station 2 est bien un mélange des deux autres types d'eau. Cependant il est à remarquer que l'aire réelle de la fraction 3 est supérieure à celle calculée. De même les aires réelles des autres fractions sont inférieures à celles qui sont calculées. Ce comportement peut s'expliquer par une agglomération des petites molécules lorsque l'eau douce est mise en contact avec l'eau salée. On observe un transfert des petites molécules vers les plus grosses.

Tableau 4. Comparaison entre les fractions

G-10

No. Fraction	Carbone Station 1 Réelle	Carbone Station 3 Réelle	Carbone Station 2 Calculée	Carbone Station 2 Réelle
3	1.6387	0.1344	1.2927	1.7912
4	0.9065	0.0360	0.7062	0.3674
5	0.6371	0.0160	0.4942	0.2541
6	0.2306	0.0200	0.1822	0.1225
7	0.1339	0.0000	0.1031	0.0092
8	0.0726	0.0000	0.0559	0.0000
			2.8344	2.5444
				0.2900

G-15

No. Fraction	Carbone Station 1 Réelle	Carbone Station 3 Réelle	Carbone Station 2 Calculée	Carbone Station 2 Réelle
3	0.8472	0.0539	0.6647	0.1527
4	0.2574	0.0301	0.2051	0.4600
5	0.0493	0.0115	0.0406	0.2863
6	0.0000	0.0001	0.0000	0.0382
7	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
8	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
	1.1539	0.0955	0.9105	0.9373
				-0.0268

G-25

No. Fraction	Carbone Station 1 Réelle	Carbone Station 3 Réelle	Carbone Station 2 Calculée	Carbone Station 2 Réelle
3	0.1366	0.0011	0.1054	0.0000
4	0.2234	0.0013	0.1723	0.0000
5	0.1341	0.0013	0.1035	0.0000
6	0.0253	0.0100	0.0218	0.0136
7	0.0000	0.0125	0.0029	0.1377
8	0.0000	0.0013	0.0003	0.0285
	0.5193	0.0277	0.4063	0.1798
				0.2265

La colonne Séphadex G-15 donne une séparation plus fine du pic d'exclusion de la G-10. La différence entre le total réel de la station 2 et le total calculé est légèrement négative et non significative. Il y a donc conservation de la matière organique pour les molécules séparées par cette colonne de gel. L'aire sous la courbe réelle de la fraction 3 est inférieure à celle calculée. Dans le cas des trois fractions, suivantes les aires réelles sont supérieures aux aires calculées. Ceci indique que la dimension maximale des agglomérats se situe dans le pic d'exclusion de la G-15. Les molécules ayant des dimensions correspondant aux fractions 4, 5 et 6 ont vu possiblement leur quantité augmentée par agglomération, alors que le pic d'exclusion a diminué. Le comportement du pic d'exclusion de la G-15 peut être suivi d'une façon plus détaillée au moyen de la colonne G-25. On observe aucune présence de molécules pour les fractions 3, 4 et 5, alors que les aires calculées de ces fractions sont non-nulles. L'aire réelle de la fraction 6 est non-nulle mais elle reste inférieure à l'aire calculée. Ce comportement peut s'expliquer de la façon suivante: les aires réelles des fractions 7 et 8 sont supérieures aux aires calculées. Les petites molécules des eaux douces s'agglomèrent pour former de plus gros agrégats. Les agrégats des fractions 3, 4, 5 et partiellement de la fraction 6 sont de dimensions suffisantes pour pouvoir floculer plus rapidement. Ces agglomérats peuvent ensuite sédimenter ou être retenus sur un filtre 0.45 μm . Ceci explique possiblement la différence significative entre le carbone nominal total de la station 2 réelle et calculée.

Étant donné que la tendance à l'agglomération de la matière organique se retrouve dans toutes les colonnes, si l'on place les colonnes de façon à ce que les molécules séparées soient des plus grosses vers les plus petites (G-25 à G-10) on s'aperçoit que le transfert des petites molécules vers les plus grosses se fait aussi entre les colonnes.

4.2 Distribution de la matière organique.

La matière organique contenue dans l'échantillon a été séparée selon le poids moléculaire (grosseur). Lors du passage des échantillons sur une colonne du type Séphadex, la matière organique possédant un poids moléculaire supérieur à la limite d'exclusion se retrouve dans le premier pic que l'on appelle exclusion. En théorie, l'aire sous la courbe du pic d'exclusion (fraction 3) doit être égale à la somme des aires sous la courbe de la colonne suivante. Les résultats sont exprimés au tableau 4.

La différence entre l'aire sous la courbe du pic d'exclusion de la colonne Séphadex G-10 des trois stations et la somme des aires sous la courbe de la colonne Séphadex G-15 est de 30%.

Lors du passage des échantillons de la colonne Séphadex G-15 à la colonne Séphadex G-25, les stations 1 et 2 ont une perte de 40 %. Pour la station 3 la perte est de 48% mais il est à noter que l'aire sous la courbe pour cette station est dix fois moindre que les deux autres.

En suivant le cheminement des échantillons on s'aperçoit qu'ils sont filtrés sur un filtre $0.45 \mu\text{m}$, concentrés à l'aide d'un rotovapeur et injectés à plusieurs reprises. Le grand nombre de manipulations avant d'obtenir le chromatogramme diminue la justesse de cette méthode. Le grand nombre d'injections normalise les pertes car les trois colonnes donnent un même facteur de perte.

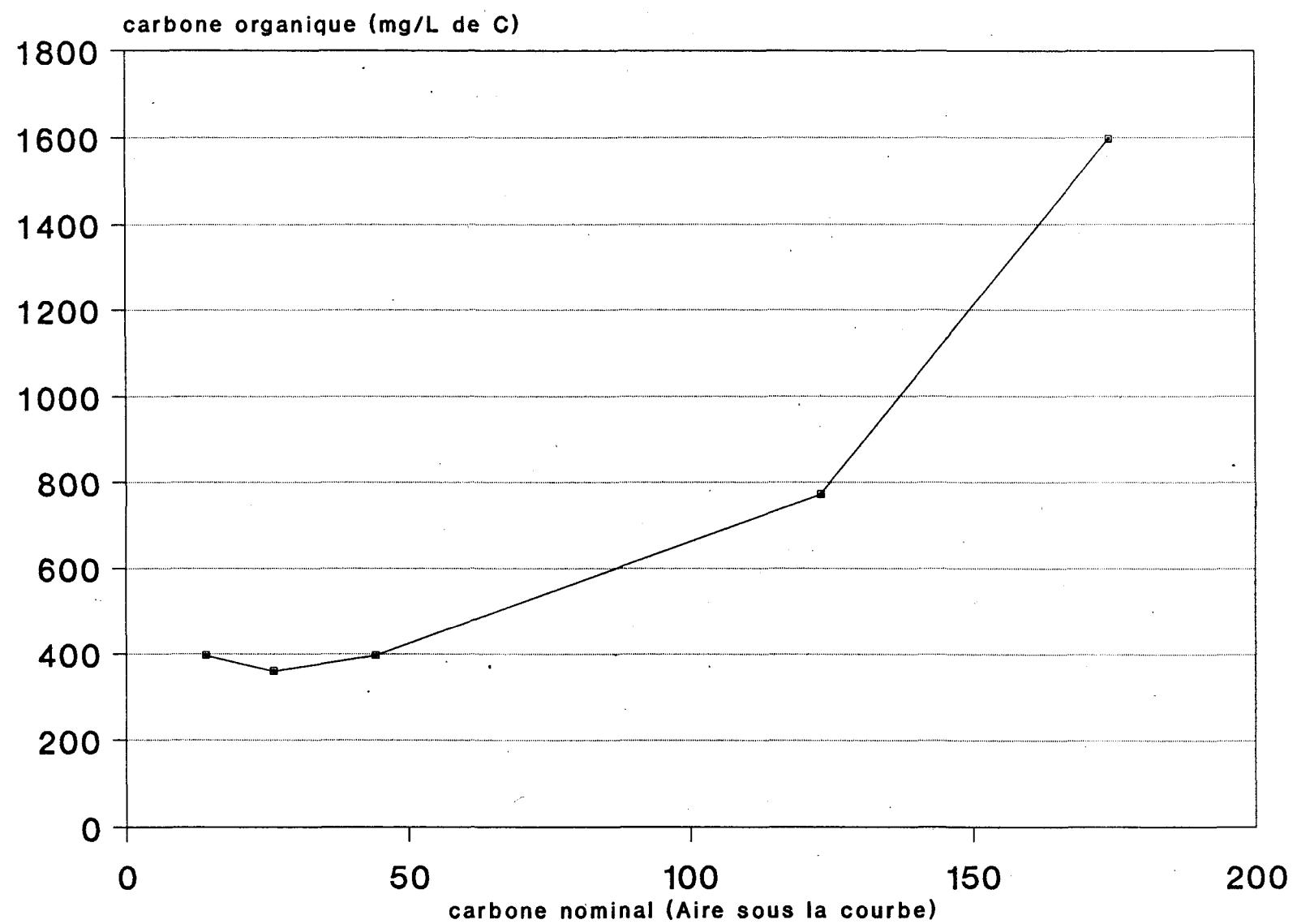
4.3 Distribution du carbone et de l'azote.

Plusieurs auteurs ont voulu valider la détection de la matière organique à l'aide d'un détecteur UV-Visible par d'autres méthodes. Les méthodes de dosage de la matière organique les plus utilisées sont la demande chimique en oxygène (DCO) et le dosage du carbone organique total (COT). La relation n'est jamais linéaire, une ou plusieurs constantes doivent être ajoutées dépendant des échantillons (Hanya et Ogura, 1964).

La figure 10 illustre la relation entre l'aire sous la courbe des chromatogrammes obtenus par le détecteur UV-Visible et le résultat de la demande chimique en oxygène en unité de carbone. Le coefficient de corrélation de cette relation est de 0.938 indiquant quelle n'est pas parfaitement linéaire. La variation des deux types de dosage est dans le même sens. Une augmentation de l'aire sous la courbe dans une fraction implique une augmentation du carbone dosé.

On remarque que les concentrations de carbone organique dosé dans les fractions de la station 1 de la colonne Séphadex G-10 sont proportionnelles à l'aire sous la courbe du chromatogramme enregistré lors du fractionnement de l'échantillon. Les deux autres colonnes donnent une assez bonne idée de la distribution du carbone organique dans les fractions.

Figure 10 : Relation entre le carbone nominal en fonction du carbone dosé par la demande chimique en oxygène (DCO) .



Aucune relation ne peut être retenue pour les deux autres stations entre le carbone organique dosé et le carbone nominal (l'aire sous la courbe). Le sel joue le rôle d'interférant lors du dosage du carbone organique. Il est séparé de l'échantillon lors du passage sur la colonne G-10 et lors de l'ajout de sulfate mercurique et du sulfate d'argent dans le dosage de la DCO. Même avec ces précautions il y a eu de l'interférence dans le dosage, celle-ci peut être due au carbonate contenu dans l'eau salée des stations 1 et 2. Les mesures de carbone organique obtenues pour ces stations ne se prêtent pas à l'interprétation.

Pour ce qui est de l'azote, les concentrations retrouvées dans les fractions se situent à la limite de détection de la méthode. Ces valeurs ne peuvent donc pas être interprétées. Ces faibles valeurs en azote laissent présumer des rapports C/N élevés indiquant surtout une origine allochtone pour la matière organique.

CHAPITRE V
CONCLUSION

Le principal but de ce travail était d'obtenir la distribution de la matière organique dissoute contenue dans les trois types d'eau du fjord du Saguenay en fonction du poids moléculaire nominal. Trois colonnes de gel de type Séphadex sont nécessaires pour obtenir un fractionnement complet. La vérification des colonnes, quoique empirique, permet d'évaluer la grosseur des molécules. Ainsi, en général, la matière organique dissoute possède un poids moléculaire nominal inférieur à 5000.

L'analyse des aires des chromatogrammes semble supporter un mécanisme d'agglomération de la matière organique dissoute provenant des eaux douces de la rivière Saguenay. Au contact des eaux marines du fjord, les petites molécules s'agglomèrent pour former des agrégats. Les agrégats d'un poids moléculaire nominal supérieur à environ 800 sont ainsi transférés de la phase dissoute à la phase particulaire.

Le dosage du carbone organique dans les eaux douces a permis de vérifier que l'aire des chromatogrammes obtenus par le détecteur U.V. est généralement proportionnelle au dosage du carbone organique. Dans les eaux saumâtres et marines la présence de sel, de carbonates et de bicarbonates invalide le dosage du carbone organique par la méthode utilisée ici.

Le dosage de l'azote et des métaux lourds se situe à la limite de détection de la méthode.

Les recherches futures devraient porter sur les eaux de la rivière Saguenay plutôt que sur l'eau du fjord. L'eau de la rivière contient beaucoup plus de matière organique, facilitant ainsi le dosage de l'azote et des métaux lourds. De plus, l'interférence des carbonates et des bicarbonates des eaux salées ne sera pas présente.

BIBLIOGRAPHIE

Am. public health assoc. (APHA), Am. water works assoc. et Water pollut. control fed. 1985. Standard Method for Examination of Water and Wastewater, 16th Edition, APHA, Washington D.C., 1288 p.

Barbeau, C., Bougie, R. et J.-E. Côté. 1981. Variations spatiales et temporelles du césium-137 et du carbone dans des sédiments du fjord du Saguenay. *Can. J. Earth Sci.*, **18**, 1004-1011.

Barbeau, C., Bougie, R. and J.-E. Côté. 1981. Temporal and spatial variations of mercury, lead, zinc and copper in sediments of the Saguenay fjord. *Can. J. Earth Sci.*, **18**, 1065-1074.

Boyle, E.A., Edmond, J.M. and Sholkovitz, E.R. 1977. *Geochim. Cosmochim. Acta* **4**, 1313

Chanut, J.P. et S.A. Poulet. 1978. Distributions des spectres de taille des particules en suspension dans le fjord du Saguenay. *Can. J. Earth Sci.*, **16**, 240-249.

Christman, R.F. et M. Ghassemi. 1966. Chemical nature of organic color in water. *J. AWWA*, **58**, 723-741.

Côté, R. et G. Lacroix. 1978. Variabilité à court terme des propriétés physiques, chimiques et biologiques du Saguenay, fjord subarctique du Québec (Canada). *Int. Revue ges. Hydrobiol.*, **63**, 25-29.

Côté, R. et G. Lacroix. 1979. Influence de débits élevés et variables d'eau douce sur le régime saisonnier de production primaire d'un fjord subarctique. *Oceanol. Acta*, **2**, 299-306.

Côté, R. 1981. Variations saisonnières de la production primaire dans les eaux de surface de la rivière du Saguenay. *Hydrobiol.*, **83**, 3-10.

Drainville, G. 1968. Le fjord du Saguenay: I. Contribution à l'océanographie. *Naturaliste can.*, **95**, 809-855.

Gobeil, C., Cossa, D. et J. Piuze. 1984. Niveaux des concentrations en mercure dans les eaux du fjord du Saguenay (Québec) en octobre 1979 et septembre 1983. *Rapport technique canadien sur l'hydrographie et les sciences océaniques* No 36, Pêches et Océans, 14 pp.

Gjessing, E.T. 1965. Use of 'Séphadex' gel for estimation of molecular weight of humic substances in natural water, *Nature*, **208**, 1091-1092.

Gjessing, E.T. and G.F. Lee. 1967. Fractionation of organic matter in natural waters on Séphadex columns. *Environ. Sci. and Tech.*, **1**, 631-638.

Hall, K.J. 1970. Natural organic matter in the aquatic environment, M. S. thesis, Water chemistry, University of Wisconsin. 312 p.

Hanya, T. and N. Ogura. 1964. Application of ultraviolet spectroscopy to the estimation of dissolved organic substances in water. U. Colombo, and G. D. Hodson eds. Advanced in organic geochemistry MacMillan and Co., New-York, 467-456.

Herbert, E.A., Chaichaeron, B. and K.E. Noll. 1982. Changes in physicochemical forms of lead and cadmium added to freshwater. Environ. Int., 7, 337-341.

Jones, G.H., Leclerc, M., Ouellet, M., Potvin, L., Couture, P., Cluis, D., Sochancka, W. et J. Sochavski. 1979. Productivité biologique des eaux du lac St-Jean. Rapp. Sci. 76, INRS-Eau, Univ. Québec, Que., 641 pp.

Kobayaski, S. 1963. Freeze concentration of dilute aqueous solutions. M. S. thesis, Water Chemistry, University of Wisconsin.

Krumke, G.W. 1963. Activited carbon adsorption technique. M. S. Thesis, Civil Engeneering, University of Wisconsin.

Lamar, W.L. and D.F. Goerlitz. 1966. Organic acids in naturally colored surface waters. U.S. Geological survey water-supply paper 1817-A U.S. Governement printing office, Washington, D.C., 5.

Langston, W.J. 1982. The distribution of mercury in British estuarine sediments and its availability to deposit-feeding bivalves. J. mar. biol. Ass. U.K., 62, 667-684.

Lebel, J., Pelletier, E., Bergeron, M., Belzile, N. et G. Marquis. 1983. Le panache du Saguenay. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 40, 52-60.

Leclerc, A. 1985. Variation du zinc et du cadmium dans les sédiments du fjord du Saguenay. 53^e Congrès de ACFAS 1985.

Leclerc, A., Gagnon, M.J. and A. Rami. 1986. Compaction and movement of interstitial water in bottom sediments of the Saguenay Fjord, Quebec, Canada. Sediment. Geol., 46, 213-230.

Loring, D.H. 1975. Mercury in the sediments of the Gulf of St. Lawrence. Can. J. Earth Sci., 12, 1219-1237.

Loring, D.H. 1976. The distribution of zinc, copper, and lead in the sediments of the Saguenay fjord. Can. J. Earth Sci., 13, 960-971.

Loring, D.H. and J.M. Bewers. 1978. Geochemical mass balances for mercury in a canadian fjord. Chemical Geol., 22, 309-330.

Martel, L., Gagnon, M.J., Massé, R., Leclerc, A. and L. Tremblay.

1986. Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from the Saguenay Fjord, Canada. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **37**, 133-140.

Martel, L., Gagnon, M.J., Massé, R. and A. Leclerc. 1987. The spatio-temporal variations and fluxes of polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments of the Saguenay Fjord, Quebec, Canada. *Water Res.*, **21**, 699-707.

Means, J.L., Crerar, D.A. and J.L. Amster. 1977. Application of gel filtration chromatography to evaluation of organo-metallic interactions in natural waters. *Limnology and Oceanography*, **22**, 957-965.

Ogura, N. 1965. Studies of ultraviolet absorbing materials in natural water II. Relation between ultraviolet absorbance of natural waters and some water qualities, *Nippon Kagaku Zasshi*, **86**, 1286-1288.

Pharmacia fine chemicals, Sephadex-gel filtration in theory and practice, Pharmacia fine chemicals, division of AB Pharmacia, Uppsala, Sweden, 56 p. (sans date).

Pocklington, R. 1976. Terrigenous organic matter in surface sediments from the Gulf of St. Lawrence. *J. Fish. Res. Board Can.*, **33**, 93-97.

Seibert, G.H., Trites, R.W. and S.J. Reid. 1979. Deep water exchange processes in the Saguenay Fjord. *J. Fish. Res. Board Can.*, **36**, 42-53.

Shapiro, J. 1957. Chemical and biological studies on the yellow organic acids in lake water. *Limnology and oceanography*, **2**, 161-179

Shapiro, J. 1966. Yellow organic acids in lake water: differences in the composition and behavior. H. L. Golterman and R. S. Chymo (eds.), 202-216.

Smith, J.N. and D.H. Loring. 1981. Geochronology for mercury pollution in the sediments of the Saguenay Fjord, Quebec. *Environmental Science and Technology*, **15**, 944-951.

Stumm, W et Morgan, J.J. 1981. *Aquatic chemistry, An introduction emphasizing chemical equilibria in natural waters*, 2^e Ed.

Sundby, B. et D.H. Loring. 1978. Geochemistry of suspended particulate matter in the Saguenay fjord. *Can. j. Earth Sci.*, vol **15**, 1002-1011

Thériault, J.-C. et G. Lacroix. 1975. Penetration of deep layer of the Saguenay fjord by surface waters of the St. Lawrence estuary. *J. fish. res. board can.*, vol **32(12)**, 2374-2377

Wetzel, R.G. 1983. *Limnology*. Saunders College Publishing, New York, 767 pp.

Yeats, P.A. and J.M. Bewers. 1976. Trace metals in the waters of the Saguenay fjord. *Can. J. Earth Sci.*, **13**, 1319-1327.