

UNIVERSITE DU QUEBEC

THESE
PRESENTEE A
L'UNIVERSITE DU QUEBEC A TROIS-RIVIERES
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAITRISE ES SCIENCES (ENVIRONNEMENT)

PAR
MARIO LUPIEN

BACCALAUREAT SPECIALISE EN SCIENCES (CHIMIE)

EFFET DU SULFURE DE SODIUM DISSOUS SUR LA CROISSANCE DU PHYTOPLANCTON:

ÉTUDE EN MONTAGE DYNAMIQUE.

JANVIER 1978

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

Résumé

Effet du sulfure de sodium dissous sur la croissance du phytoplancton.

Etude en montage dynamique.

Suite à l'implantation de l'usine d'eau lourde La Prade dans le parc industriel de Bécancour, il y aura émission de polluants. Un de ces polluants, l'hydrogène sulfuré, menace très sérieusement la population ainsi que l'environnement.

On estime que lors du fonctionnement normal de l'usine, les eaux de déversement contiendront 300 ppb d'hydrogène sulfuré. Dans une étude en système dynamique, Adelman (1970) observait une diminution de survie des poissons, une augmentation de malformations physiologiques et une limitation dans la croissance des alevins. Ces effets furent observés dans tous les essais, et ce à des concentrations aussi basses que 18 ppb en hydrogène sulfuré pour les oeufs et 8 ppb pour les alevins.

À la lumière des résultats obtenus en montage dynamique, nous pouvons affirmer hors de tous doutes que la présence de sulfures en solution a une action inhibitrice sur la croissance du phytoplancton et ce même à de très faibles concentrations. Ainsi le pourcentage d'inhibition passe de 4% pour l'essai à 180 ppb, à 35% pour celui à 680 ppb.

L'effet de la présence des sulfures, tel que nous le percevons, est d'ajouter des contraintes au développement du phytoplancton. Suivant la théorie de l'espace vital, ces contraintes astreignent la colonie à limiter la croissance de ses individus afin d'assurer la survie de la collectivité.

Mario Lupien

Mario Lupien

Roger Leblanc
Dr Roger Leblanc

À Odette,

À mes parents,

REMERCIEMENTS

Au terme de cette recherche, nous sentons le besoin d'exprimer notre reconnaissance à tous ceux qui, de près ou de loin, nous ont aidé à la mener à bonne fin.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	iii
TABLE DES MATIERES	iv
LISTE DES FIGURES	vi
LISTE DES TABLEAUX	ix
I- INTRODUCTION	1
A. Le système CANDU	2
B. Le procédé GIRDLER-SULPHIDE	4
C. Effets du H ₂ S sur la vie aquatique	10
II- LE PLANCTON MARIN	12
A. Généralités	13
1. Définition et divisions du plancton ..	13
a) La taille des organismes planctoniques	14
b) La répartition verticale	14
c) Le mode de nutrition	15
2. Caractéristiques générales du plancton	15
B. Le phytoplancton	16
1. Les chrysophycées	16
2. Les euglénophycées	17
3. Les cyanophycées	18
4. Les chlorophycées	18
C. Répartition verticale du phytoplancton	19
D. Composition chimique du phytoplancton	20
E. Les cultures d'algues	21
1. Echantillonnage et isolation du prélevement	21
2. Le milieu de culture	23
3. Identification des différentes espèces dans la culture mixte	26
F. Détermination du taux de croissance d'une culture d'algues	34
G. Relation entre le taux de croissance et la concentration de chlorophylle a	37
H. Mesure de la concentration en chlorophylle a	39
1. Spectrophotométrie d'absorption	39
2. Spectrofluorométrie	40

III-	DOSAGES	42
	A. Dosage de l'hydrogène sulfuré	43
	1. Méthodes disponibles en phase aqueuse	43
	a) Méthode absorptiométrique (1,10-phénanthroline	43
	b) Electrode à ion spécifique	44
	c) Méthode iodométrique ou titrimétrique	45
	d) Méthode colorimétrique (bleu de méthylène)	46
	2. Courbes de calibration en sulfures dissous	47
	a) Détermination de la pureté du sulfure de sodium	47
	b) Dosage des sulfures en solution par la méthode du bleu de méthylène	51
	B. Dosage de la chlorophylle <i>a</i>	59
	1. Courbes de calibration pour la chlorophylle <i>a</i> commerciale (Sigma) en solution dans le diéthyléther	59
	2. Courbes de calibration pour la chlorophylle <i>a</i> provenant d'un extrait de la culture mixte en solution dans l'acétone 90 %	59
IV-	MONTAGE DYNAMIQUE POUR L'ETUDE DE L'EFFET DES SULFURES DISSOUS SUR LA CROISSANCE DU PHYTOPLANCTON	65
	A. Le montage	66
	B. La cellule d'étude	69
	C. La calibration du montage	72
	D. La croissance d'un échantillon de la culture mixte	73
V-	DISCUSSION	80
VI-	LISTE DES OUVRAGES CITES	96
VII-	BIBLIOGRAPHIE	101

LISTE DES FIGURES

1- Production d'eau lourde (D_2O) : le procédé GIRDLER-SULFIDE.....	p. 5
2- Récupération à la vapeur d'eau.....	p. 8
3- Diagramme schématique d'une culture d'algues.....	p. 22
4- Culture mixte: vue d'ensemble (500x).....	p. 27
5- Les chrysophycées (1000x) - <u>Melosira granulata</u> - <u>Diatoma tenue var elongatum</u>	p. 28
6- Les euglénophycées (1000x) - <u>Trachélonomas sprilliformis</u>	p. 29
7- Les cyanophycées (1000x) - <u>Oscillatoria sprilliformis</u> - <u>Chroococcus dispersus var minor</u> - <u>Gomphosphaeria lacustris</u>	p. 30
8- Les chlorophycées (1000x) - <u>Scenedesmus acuminatus var minor</u> - <u>Ankistrodesmus falcatus var sprilliformis</u> ..	p. 31
9- Les chlorophycées (1000x) - <u>Scenedesmus quadricanda var quadrispina</u> - <u>Chlorella vulgaris</u> - <u>Scenedesmus armatus</u> - <u>Scenedesmus abundans</u>	p. 32
10- Les chlorophycées (1000x) - <u>Pediastrum duplex var gracillinum</u> - <u>Pediastrum duplex</u>	p. 33
11- Phases de croissance d'une culture statique d'organismes microbien.....	p. 35
12- Taux de croissance de l'espèce <u>Dunaliella tertiolecta</u> , une algue verte, à 20°C. (source : Eppley et Sloan (1966) (10)).....	p. 38
13- Absorbance à une longueur d'onde de 665 nm en fonction de la concentration en sulfures dissous. (Intervalle de 0-1200 ppb : le solvant étant l'eau distillée).....	p. 52
14- Absorbance à une longueur d'onde de 665 nm en fonction de la concentration en sulfures dissous. (Intervalle de 0-240 ppb : le solvant étant l'eau distillée).....	p. 53

15- Absorbance à une longueur d'onde de 665 nm en fonction de la concentration en sulfures dissous. (Intervalle de 0-120 ppb : le solvant étant l'eau distillée).....	p. 54
16- Absorbance à une longueur d'onde de 665 nm en fonction de la concentration en sulfures dissous. (Intervalle de 0-60 ppb : le solvant étant l'eau distillée).....	p. 55
17- Absorbance à une longueur d'onde de 665 nm en fonction de la concentration en sulfures dissous. (Intervalle de 0-1200 ppb : le solvant étant l'eau du robinet).....	p. 57
18- Absorbance à une longueur d'onde de 665 nm en fonction de la concentration en sulfures dissous. (Intervalle de 0-240 ppb : le solvant étant l'eau du robinet).....	p. 58
19- Intensité relative de fluorescence en fonction de la concentration en chlorophylle <u>a</u> (Sigma).....	p. 60
20- Intensité relative de fluorescence en fonction de la concentration en chlorophylle <u>a</u> (culture mixte).	p. 62
21- Intensité relative de fluorescence en fonction de la concentration en chlorophylle <u>a</u> (culture mixte).	p. 64
22- Diagramme schématique du montage dynamique.....	p. 68
23- Cylindre à phytoplancton.....	p. 70
24- La cellule d'étude.....	p. 71
25- Intensité relative de fluorescence d'un extrait de chlorophylle <u>a</u> en fonction du temps (cinétique de croissance à 1300 ppb S ⁻⁻).....	p. 74
26- Intensité relative de fluorescence d'un extrait de chlorophylle <u>a</u> en fonction du temps (cinétique de croissance à 17040 ppb S ⁻⁻).....	p. 75
27- Intensité relative de fluorescence d'un extrait de chlorophylle <u>a</u> en fonction du temps (cinétique de croissance à 11730 ppb S ⁻⁻).....	p. 76
28- Intensité relative de fluorescence d'un extrait de chlorophylle <u>a</u> en fonction du temps (cinétique de croissance à 6410 ppb S ⁻⁻).....	p. 77
29- Intensité relative de fluorescence d'un extrait de chlorophylle <u>a</u> en fonction du temps (cinétique de croissance à 680 ppb S ⁻⁻).....	p. 78

30-	Intensité relative de fluorescence d'un extrait de chlorophylle a en fonction du temps (cinétique de croissance à 180 ppb S ⁻⁻).....	p. 79
31-	Intensité relative de fluorescence d'un extrait de chlorophylle a en fonction du temps (cinétique de croissance à blanc).....	p. 87
32-	Différents types de croissance de cultures d'algues en fonction du temps. (Source O'Brien (1972) (25))	p. 88
33-	Intensité moyenne de fluorescence du plateau stationnaire en fonction de la concentration en sulfures..	p. 91
34-	Pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en sulfures.....	p. 92

LISTE DES TABLEAUX

I-	Analyse des effluents liquides.....	p. 9
II-	Effets du H ₂ S sur la vie aquatique.....	p. 11
III-	Bold Basal pH 6.6	p. 23
IV-	Milieu de culture : macronutriments.....	p. 24
V-	Milieu de culture : solution EDTA.....	p. 24
VI-	Milieu de culture : solution de fer.....	p. 25
VII-	Milieu de culture : solution de bore.....	p. 25
VIII-	Milieu de culture : micronutriments.....	p. 25
IX-	Standardisation d'une solution de thiosulfate de sodium par le bichromate de potassium.....	p. 48
X-	Standardisation d'une solution d'iode par le thiosulfate de sodium.....	p. 48
XI-	Dosage des sulfures dissous dans une solution Na ₂ S	p. 50
XII-	Compilation des intensités moyennes de fluorescence des différents essais pour la phase stationnaire.....	p. 89
XIII-	Compilation des pourcentages d'inhibition calculés pour la population finale de chaque essai.....	p. 90

CHAPITRE I

INTRODUCTION

CHAPITRE I

INTRODUCTION

A. Le système CANDU

Le système CANDU (Canadian Deutérium-Uranium) servant à la production d'énergie électrique à partir de la fission nucléaire est basé sur la combinaison de deux concepts clés, premièrement celui des réacteurs à tubes de force et deuxièmement la modération à l'eau lourde. Cette combinaison a donné naissance à un système efficace et fiable. On retire ainsi de l'uranium plus d'énergie que tout autre système commercial.

Selon Lumb (1975) (1), les besoins futurs d'eau lourde reposent essentiellement sur le nombre de réacteurs modérés à l'eau lourde qui seront construits pour la fourniture d'électricité. Il est aussi possible qu'on utilise des réacteurs CANDU pour la production de vapeur pour l'industrie de transformation si le prix du combustible fossile continue d'augmenter.

De minimes quantités d'eau lourde sont requises pour combler les pertes qui s'évaluent à environ 0.5 % par année à la centrale

nucléaire de Pickering de l'Hydro-Ontario, c'est-à-dire, approximativement dix tonnes par année. On utilise aussi de très petites quantités d'eau lourde dans les recherches en biologie et autres études employant les traceurs.

La quantité d'électricité que peut produire l'énergie nucléaire au Canada a fait l'objet de différents calculs et variera de 100 Gigawatts à 130 Gigawatts d'ici l'an 2000. Le ravitaillement en eau lourde de ces réacteurs nécessitera la production maximale de toutes les usines déjà engagées ainsi que la production de deux ou trois usines additionnelles. Des quantités encore plus considérables seront nécessaires si on réserve les combustibles fossiles à d'autres usages et si d'autres pays se tournent vers un plus grand usage des réacteurs modérés à l'eau lourde.

En regardant au-delà du siècle présent, il se peut que l'eau lourde soit la source de deutérium dont les réacteurs à fusion auront besoin. L'industrie de l'eau lourde au Canada est déjà la plus importante du monde avec une production annuelle de 1000 Mg, et celle-ci atteindra de trois à quatre mille Mg (3000 -4000 Mg) au début de la prochaine décennie (voir référence 1).

La plus grande partie de cette eau lourde sera extraite de l'eau naturelle par le procédé Girdler-Sulphide (G.S.).

B. Le procédé GIRDLER-SULFIDE

Le procédé Girdler-Sulfide, conçu et mis en pratique d'abord aux Etats-Unis, reste le seul procédé capable de produire la quantité d'eau lourde demandée par le programme CANDU. D'autres procédés sont toutefois en voie de développement. Le procédé est basé sur la réaction entre le sulfure d'hydrogène et l'eau:



Cette réaction est réversible, rapide et ne requiert pas de catalyseur. A basse température, l'équilibre favorise le passage du deutérium vers l'eau en plus grande quantité qu'à haute température.

Cette réaction est mise en pratique en faisant barboter à contre-courant l'hydrogène sulfuré dans l'eau, dans des tours munies de plateaux perforés ou à calottes (voir la figure 1). Chaque étape d'enrichissement comprend une tour froide à 30°C et une chaude à 130°C. Les températures sont limitées d'une part par le point de fusion de l'hydrate solide d'hydrogène sulfuré qui s'établit à 28.4°C à 2000 kPa de pression et d'autre part par la perte accélérée d'énergie à plus de 130°C.

L'eau coule à travers les plateaux perforés et se mélange au gaz qui monte par les trous des plateaux pour produire une mousse stable. L'eau se sépare du gaz en se déversant par dessus un barrage et tombant au plateau inférieur tandis que le gaz continue à travers les trous du plateau inférieur. Chaque fois que le gaz et le liquide entrent en contact, le deutérium passe

FIGURE : I

PRODUCTION D'EAU LOURDE (D_2O)

5

A SECTION FROIDE DE TOUR D'ÉCHANGE

AUX BASSES TEMPÉRATURES, LE DEUTÉRIUM QUITTE LE GAZ (HYDROGÈNE SULFURÉ) POUR ALLER DANS L'EAU



L'EAU S'ÉCOULE AU TRAVERS DES PLATEAUX PERFORÉS



LES BULLES DE GAZ REMONTENT DANS L'EAU

PAROI DE LA TOUR

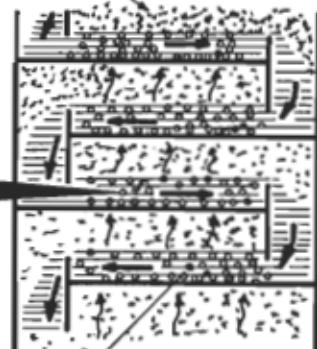
EAU ENRICHIE EN DEUTÉRIUM

B SECTION CHAUDE DE TOUR D'ÉCHANGE

AUX HAUTES TEMPÉRATURES, LE DEUTÉRIUM SORT DE L'EAU POUR ALLER DANS LE GAZ (HYDROGÈNE SULFURÉ)



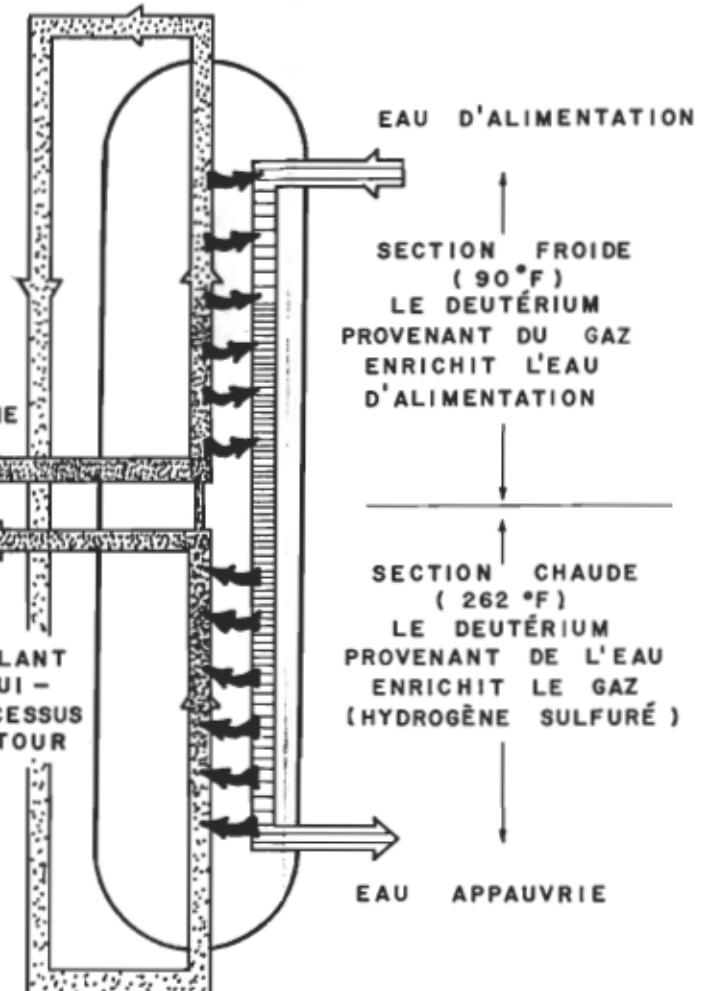
GAZ ENRICHIE EN DEUTÉRIUM



GAZ ENRICHIE ALLANT DANS LA TOUR SUIVANTE (LE PROCESSUS SE RÉPÈTE DE TOUR EN TOUR)

L'ÉCHANGE DE DEUTÉRIUM SE PRODUIT ALORS QUE LES BULLES DE GAZ TRAVERSENT L'EAU

C TOUR D'ÉCHANGE (PLATEAUX NON-ILLUSTRÉS)



de l'un à l'autre.

Dans la section froide de la tour (partie A de la figure 1), on favorise le passage du gaz au liquide. Soit la réaction :



Nous retrouvons donc une concentration maximale en deutérium dans la phase liquide au bas de la section froide de la tour d'échange.

Dans la section chaude de la tour (partie B de la figure 1), on favorise le passage du liquide au gaz. Soit la réaction :



Nous retrouvons donc une concentration maximale en deutérium dans la phase gazeuse au haut de la section chaude de la tour d'échange.

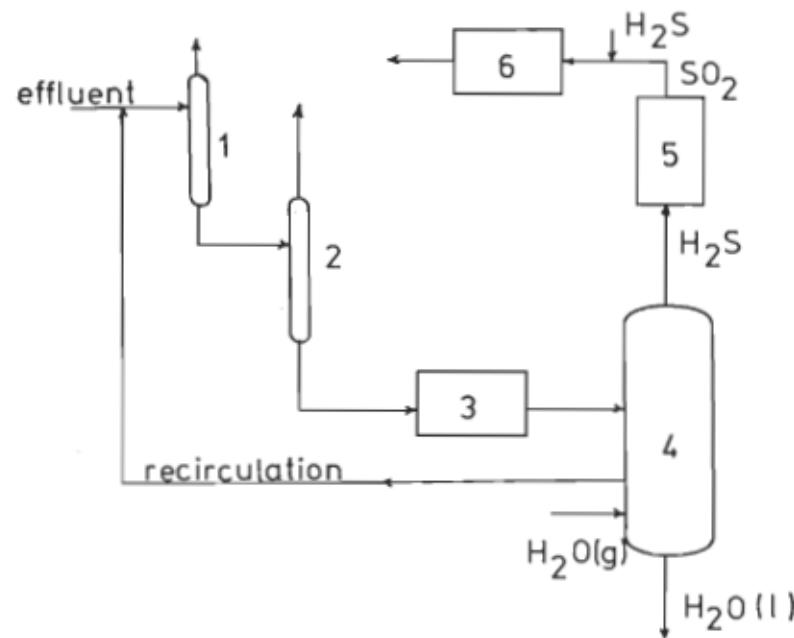
Puisqu'il existe un éventail de concentrations, on peut soustraire une fraction de fluide dans laquelle le deutérium est plus concentré. On peut accomplir ceci en faisant un piquetage sur les circuits de gaz et de liquide à un point entre les deux sections (partie C de la figure 1). Ces fractions peuvent alors être enrichies dans des paires de tours semblables mais plus petites. Plusieurs variations du système sont possibles et dans le programme canadien, les schémas de fonctionnement des usines de Glace Bay, Port Hawkesbury, Bruce et La Prade exhibent des différences sensibles qui reflètent les conditions locales de la chimie des eaux, en l'occurrence l'approvisionnement en énergie,

l'expérience et d'autres facteurs. Tel que mentionné dans le pamphlet PP-8 Fr de l'EACL (2), le procédé G.S. est surtout utilisé pour enrichir l'eau naturelle de 245 ppm à 20 % D₂O. On obtient l'eau lourde à la teneur requise pour les réacteurs (99.75 %) par distillation fractionnée sous vide.

L'eau qui a été traitée dans le procédé d'extraction G.S. contient une substance volatile, soit l'hydrogène sulfuré dont la concentration a été réduite à environ 0.3 ppm par lavage à la vapeur. Cette eau est alors aérée pour oxyder l'hydrogène sulfuré résiduel avant de la mélanger aux effluents de l'usine. Tout malfonctionnement de l'usine qui affecte la performance du "stripper" * peut être décelé et l'eau est retournée vers des étangs où on peut procéder à l'oxydation et ainsi réduire la teneur en sulfure d'hydrogène.

On a estimé que lors d'un fonctionnement normal, l'analyse des eaux de déversement de l'usine La Prade révèlera des données comparables à celles présentées au tableau I (Etude préliminaire de la société CANATOM pour l'usine La Prade (3)).

* Colonne à distiller à plateaux qui traite les eaux du procédé, par lavage à la vapeur. Ce traitement permet de soustraire l'hydrogène sulfuré (voir figure 2).



- 1 RÉCUPÉRATEUR À HAUTE PRESSION
- 2 RÉCUPÉRATEUR À BASSE PRESSION
- 3 RÉSERVOIR
- 4 STRIPPER
- 5 FOURNAISE
- 6 PRODUCTION DE SOUFRE

Figure 2 : Récupération à la vapeur d'eau.

Tableau I : Analyse des effluents liquides.

Caractère physico-chimique	Estimation
COD (Demande Chimique en Oxygène)	5-15 ppm O_2
Température	85 $^{\circ}F$
pH	6.0-7.0
Couleur	10 unités APHA (max.)
Solides en suspension totaux:	10 ppm (max.)
Solides volatils	jusqu'à 5 ppm
Solides dissous	250 ppm (max.)
Huile	6 ppm (max.)
Hydrogène sulfuré	0.3 ppm (max.)
Fe	1 ppm (max.)
Cr	0.4 ppm (max.)
Chlorure	0.1 ppm (max.)

Source : Etude préliminaire de la société CANATOM pour l'usine La Prade.

C.. Effets du H₂S sur la vie aquatique

Ces expériences ont consisté à exposer des oeufs de poissons ainsi que des alevins à une concentration précise d'hydrogène sulfuré. Le tableau II résume les résultats obtenus par Adelman (1970) (4) et Smith (1972) (5).

Dans son étude en système dynamique, Adelman (1970) (4) observe une diminution de survie, une augmentation des malformations physiologiques et une limitation de leur croissance. Ces critères sont observés dans tous les essais, et ce pour des concentrations aussi faibles que 18 ppb pour les oeufs et 8 ppb pour les alevins "SAC".

Dans une étude similaire, Smith (1972) (5) obtient en système statique des résultats comparables. Il explique que ces conditions expérimentales sont fréquemment retrouvées dans la nature.

Les observations expérimentales demeurent, mais le point de l'Energie Atomique du Canada Limitée (EACL) est tout aussi logique ; à savoir, que les poissons sont attirés dans la région du déversoir à cause des gradients de température et qu'ils sont constamment à la recherche d'une température idéale pour leur organisme. Par conséquent, leur exposition serait de courte durée.

À ce jour, aucune donnée n'est publiée au sujet de l'effet de l'hydrogène sulfuré sur la croissance du plancton. Nous sommes en mesure de croire que les microorganismes ne de-

meureront pas indifférents. Comme le phytoplancton est à la base de la chaîne alimentaire, nous nous proposons de vérifier l'importance de cette pollution.

Tableau II : Effets du H₂S sur la vie aquatique.*

ESPECE	96 h. TL ₅₀ ** (mg/l)
Alevin "SAC"	0.026
Alevin "WALLEYE"	0.007
Alevin "REMORA"	0.013-0.026
Oeufs de TRUITE	0.049
Oeufs "WALLEYE"	0.074-0.087
Oeufs "REMORA"	0.028
Oeufs de BROCHET	0.037

* Les conditions expérimentales sont 6 mg/l d'oxygène dissous à 15°C.

** "Median tolerance Limits", sur une période de 96 heures

Source : Adelman (1970) (4) et Smith (1972) (5)

CHAPITRE II

LE PLANCTON MARIN

fond, mènent la nuit une vie pélagique et nous avons encore là, entre le benthos et le plancton cette fois, une marge incertaine. La grande majorité des organismes du plancton, ou planctontes, ne pourra cependant se déplacer que relativement peu au milieu de la pleine eau. Son mode de capture électif sera alors le filet à plancton, grand cône en soie ou nylon à bluter qui, filtrant l'eau à travers ses mailles, retiendra les organismes de dimensions supérieures à celles-ci, et les concentrera à son extrémité munie d'un collecteur.

La définition du plancton est extrêmement large. Son étude approfondie nécessite de les classer en catégories plus limitées, ce qui peut se faire suivant différents critères tels que:

a) La taille des organismes planctoniques

- ultramicroplancton : < 2 μ
- nanoplancton : 2-20 μ
- microplancton : 20-200 μ
- macroplancton : 200-2000 μ
- mégaplancton : > 2000 μ

b) La répartition verticale

- épiplancton dans la zone épipélagique (0-120 m)
- mésoplancton dans la zone mésopélagique (jusqu'à 100-300 m)
- infraplancton dans la zone infrapélagique (jusqu'à 500-600 m)
- bathyplancton dans la zone bathypélagique (au-delà 500-600 m)

CHAPITRE II

LE PLANCTON MARIN

A. Généralités

1. Définition et divisions du plancton

Suivant Bougis (1974) (6), le plancton se définit comme l'ensemble des organismes pélagiques susceptibles d'être entraînés par les déplacements d'eaux. Il se différencie ainsi du necton, également pélagique, par le fait que ces organismes nagent de façon suffisamment puissante pour avoir des déplacements autonomes par rapport à leur milieu. Le plancton s'oppose également au benthos constitué par les êtres vivants peuplant le fond ou sa proximité immédiate.

Certains organismes, considérés comme planctoniques, sont capables de présenter des déplacements verticaux rapides et de grande amplitude avec une certaine indépendance vis-à-vis les eaux environnantes: ils sont en fait très proches des animaux qui forment le micronecton, c'est-à-dire le necton de dimensions réduites. D'autres organismes vivant près du fond, ou sur le

c) Le mode de nutrition

Le plancton végétal ou phytoplancton, capable de synthétiser sa propre substance grâce à la photosynthèse, est différencié du plancton animal (zooplancton) qui utilise la production existante pour s'alimenter.

2. Caractéristiques générales du plancton

Malgré l'extrême diversité du plancton, il est possible d'y reconnaître des caractères généraux qui lui donnent une physionomie particulière : il s'agit essentiellement de sa coloration et de ses dimensions.

Les animaux planctoniques sont peu colorés et montrent une tendance générale à être transparents, la pigmentation se trouvant limitée à quelques organes restreints. Ceci est particulièrement net chez les hydroméduses, siphomophores, les salpes et les firoles. Deux exceptions cependant sont à signaler ; les animaux planctoniques superficiels sont souvent d'un bleu intense (Véléelle), ceux habitant les grandes profondeurs sont fréquemment d'une teinte rouge ou brune.

D'autre part, de façon générale, la grande majorité des organismes possède des dimensions de l'ordre du centimètre ou du millimètre, pour le plancton animal, et de l'ordre de la centaine ou de la dizaine de micron pour le plancton végétal.

B. Le phytoplancton

Le phytoplancton se définit comme le plancton de nature végétale, c'est-à-dire le plancton capable de synthétiser sa propre substance par photosynthèse à partir de l'eau, du gaz carbonique et de l'énergie lumineuse.

La façon de reconnaître les algues est quelque chose d'assez spécial ; nous ne pouvons donc, dans le cadre de ce travail, développer la question. Nous nous limiterons donc à expliciter les principales caractéristiques de certains groupes retrouvés dans notre culture mixte.

1. Les chrysophycées

De la classe des diatomées ou bacillariophycées, leurs caractéristiques sont les suivantes :

- algues unicellulaires souvent réunies en chaînes,
- paroi cellulaire composée de substances pectiques associées à la silice,
- absence de cellulose,
- frustule composé de deux moitiés ou valves qui s'emboitent comme un plat de Pétri,
- les valves se prolongent latéralement par des bandes connectives (pleivres) formant la ceinture,
- le cytoplasme est creusé de grandes vacuoles,
- les chromatophores, jaunes ou d'un brun doré, contiennent de la chlorophylle (a et c) et des caroténoïdes (xanthophylles, parmi lesquelles les plus abondantes sont la fucoxanthine et les carotènes),

- les produits de synthèse sont des gouttelettes de lipides et des grains de volutine (accumulation des phosphates à l'état de polyphosphates),
- production d'amidon inexiste.

La multiplication des algues s'effectue par scissiparité. Les deux valves s'écartent un peu, une mitose produit deux noyaux, le protoplasme se divise et la cloison qui se forme se délamine en deux nouvelles valves. Chaque nouvelle valve est emboîtée par l'ancienne valve qui l'accompagne. Il s'ensuit que les cellules diminuent peu à peu de taille au cours des divisions successives.

2. Les euglénophycées

Ces organismes unicellulaires, généralement de couleur verte, nagent activement dans l'eau au moyen de flagelles. Ils peuvent être sphériques, ou ovoides, ou piriformes. Leur multiplication se fait par division cellulaire dans le sens de la longueur. Les botanistes considèrent ces organismes comme des algues, donc comme des plantes ; mais les zoologistes sont d'avis que ce sont des animaux unicellulaires, les protozoaires, et ils les placent dans la classe des flagellates (animaux possédant un ou plusieurs flagelles).

Les mieux connus des euglénophycées sont les euglènes, qui se rencontrent dans les mares d'eau stagnante et quelques fois dans les aquariums. Ces organismes verts ont souvent la forme d'un cigare et possèdent un seul flagelle à l'avant de la cellule ; ils portent aussi une "tache oculaire" rouge, qui semble un

organe de perception de la lumière.

3. Les cyanophycées

Ce sont des algues gluantes contenant un pigment bleu (la phycocyanine) surajouté à la chlorophylle et à d'autres pigments. Le bleu masque les autres teintes et donne à la plupart des espèces une coloration vert-bleue caractéristique ; d'autres couleurs, cependant, se rencontrent, depuis l'orangé jusqu'au noir. Beaucoup d'espèces sont unicellulaires ; les cellules sont très simples et ne semblent pas posséder de noyaux définis. D'autres espèces forment des colonies ; chez celles-ci, des plantes unicellulaires sont réunies pour constituer des filaments, des lamelles ou des boules. Les algues bleues se multiplient uniquement par voie asexuée.

4. Les chlorophycées

Les algues vertes ou chlorophycées se rencontrent dans les eaux douces, bien qu'il existe quelques espèces marines. Certaines formes se sont adaptées à la vie terrestre, particulièrement dans des endroits où le milieu n'est pas trop sec ; elles croissent alors fixées aux mousses, aux rochers, aux arbres ou à même le sol. Certaines espèces sont unicellulaires ; d'autres forment des colonies ; d'autres encore sont pluricellulaires et produisent des filaments (portant parfois de nombreuses ramifications) ou de grandes lames minces. Elles se multiplient de diverses façons : par division cellulaire, par fragmentation (rupture en fragments) ou par reproduction sexuée.

C. Répartition verticale du phytoplancton

L'étude des différentes couches d'eau montre de grandes variations dans la répartition du phytoplancton, ainsi que sa raréfaction dans les couches profondes. Ceci ne saurait surprendre puisque le plancton végétal doit recevoir une lumière suffisante pour effectuer sa photosynthèse et ne peut se développer que dans les couches supérieures des océans.

Bien que la répartition en profondeur soit sous la dépendance de la lumière nécessaire à la photosynthèse, ce n'est pas dans les couches superficielles les plus éclairées que se situe généralement le maximum de densité, mais à un niveau plus bas, à quelques dizaines de mètres de profondeur. Deux facteurs interviennent dans ce phénomène.

- Aux fortes intensités d'éclairage, le taux de photosynthèse des algues phytoplanctoniques s'abaisse et peut être même sérieusement perturbé.
- Beaucoup d'organismes du phytoplancton, particulièrement les diatomées, ne peuvent se déplacer par eux-mêmes ou sont peu mobiles. Ils auront tendance à s'enfoncer dans l'eau, ainsi nous retrouverons les plus fortes densités en-dessous des niveaux de forte production. Le maintien d'une population de phytoplankton près de la surface suppose donc une certaine turbulence de l'eau. Les cellules végétales sont entraînées passivement près de la surface des eaux.

D. Composition chimique du phytoplancton

La composition chimique du phytoplancton est le sujet de plusieurs projets de recherche. On peut en conclure que la généralisation serait extrêmement difficile et hasardeuse.

L'évaluation de la production primaire donne la production de matière organique végétale en carbone. Ce n'est là qu'une première information. Cette matière organique se répartit en protéines, hydrates de carbone et lipides. Ces substances organiques sont loin d'être équivalentes et il n'est pas sûr, à priori, qu'elles se retrouvent de façon uniforme dans les différentes espèces de phytoplancton.

E. Les cultures d'algues

1. Echantillonnage et isolation du prélèvement

Pour fins d'étude, nous avions l'option d'utiliser des cultures spécifiques d'algues ou des cultures mixtes. Pour reproduire le plus fidèlement possible les conditions environnementales du fleuve, nous avons opté pour la culture mixte.

Nous avons donc prélevé un échantillon près du complexe thermonucléaire de Gentilly à l'aide d'un filet à phytoplanctons. Dans un deuxième temps, nous avons isolé les phytoplanctons des solides en suspension et des microbes, en les plaçant dans un milieu qui favorise de façon sélective leur croissance. Nous avons donc mélangé une solution de nutriments à de l'agar chaud que nous avons ensuite déposé dans des plats de Pétri. L'étape suivante consiste à ensemencer les plats et à les placer en présence de gaz carbonique et d'un éclairage favorable.

Après deux semaines, nous avons procédé à une deuxième purification en utilisant un microscope pour localiser les phytoplanctons et pour les transférer sur de nouveaux plats de Pétri. Après un laps de temps sensiblement semblable, nous avons ensemencé la culture proprement dite (voir figure 3) contenant un milieu Bristol (voir les tableaux III-IV-V-VI-VII) qui avait été autoclavé. La dernière opération est effectuée dans une hotte à rayons U.-V. pour éviter toute contamination de la culture.

La culture d'algues est réalisée sous une rampe d'éclairage. Le gaz carbonique nécessaire à la photosynthèse est rendu dispo-

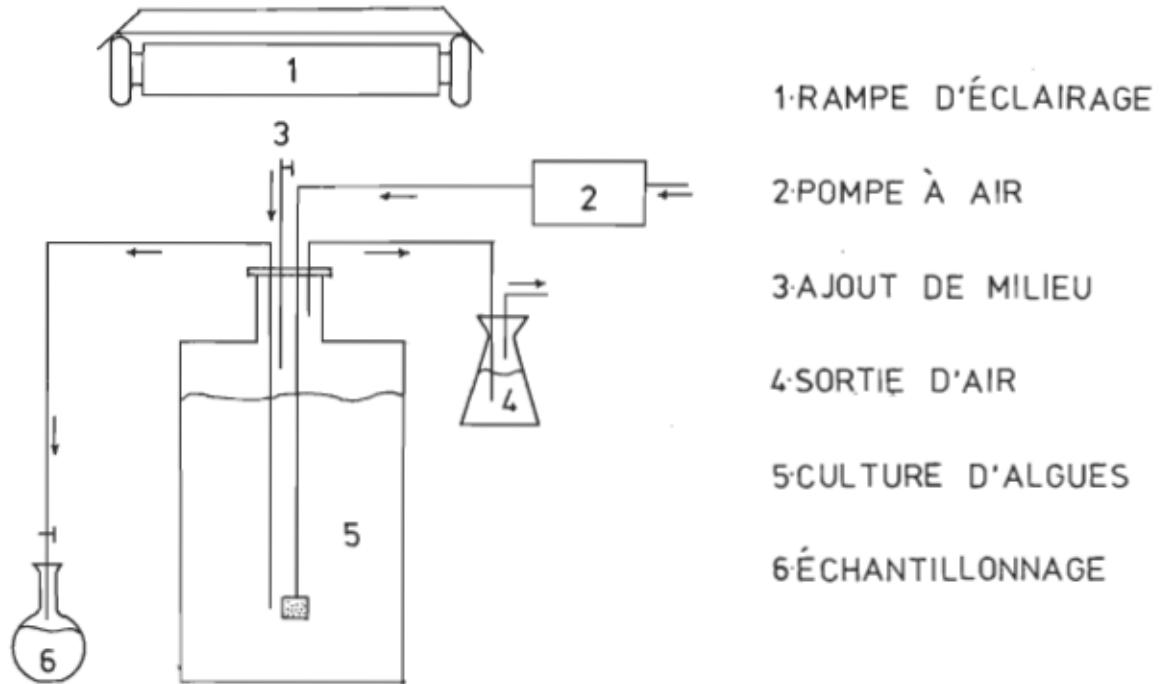


Figure 3 : Diagramme schématique d'une culture d'algues.

nible en faisant barboter de l'air, préalablement filtré, dans le milieu de culture. La figure 3 montre un diagramme schématisé de la méthode expérimentale relative à la dite culture.

2. Le milieu de culture

Nous avons utilisé la solution Bristol, elle est aussi connue sous l'appellation "Bold Basal pH 6.6". Elle est constituée de cinq classes de nutriments qui sont mélangés dans les proportions dictées dans le tableau III. Chacune des classes de nutriments fait ensuite le sujet des tableaux IV, V, VI, VII et VIII.

Tableau III : Bold Basal pH 6.6.

Classe de nutriments	Tableau	Volume à ajouter (ml/l de milieu)
Macronutriments	IV	60
EDTA	V	1
Fer	VI	1
Bore	VII	1
Micronutriments	VIII	1

Tableau IV : Milieu de culture : Macronutriments.

Solution	Produit chimique	Concentration (g/400 ml)
1	NaNO ₃	10
2	CaCl ₂ .2H ₂ O	1
3	MgSO ₄ .7H ₂ O	3
4	K ₂ HPO ₄	3
5	KH ₂ PO ₄	7
6	NaCl	1

Tableau V : Milieu de culture : Solution EDTA.

Solution	Produit chimique	Concentration (g/l)
7	EDTA	50
	KOH	31

Tableau VI : Milieu de culture : solution de fer.

Solution	Produit chimique	Concentration (g/l)
8	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	4.98
	H_2SO_4	1.0

Tableau VII : Milieu de culture : solution de bore.

Solution	Produit chimique	Concentration (g/l)
9	H_3BO_3	11.42

Tableau VIII : Milieu de culture : micro-nutriments.

Solution	Produit chimique	Concentration (g/l)
10	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.82
	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1.44
	MoO_3	0.71
	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1.57
	$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.49

3. Identification des différentes espèces dans la culture mixte.

Nous avons identifié quelques espèces de phytoplanctons. Les photographies qui suivent, ont été prises à partir d'un aliquot de la culture mixte à l'aide d'un microscope. La figure 4 nous donne une vue d'ensemble de la culture, alors que les figures qui suivent sont plus spécifiques.

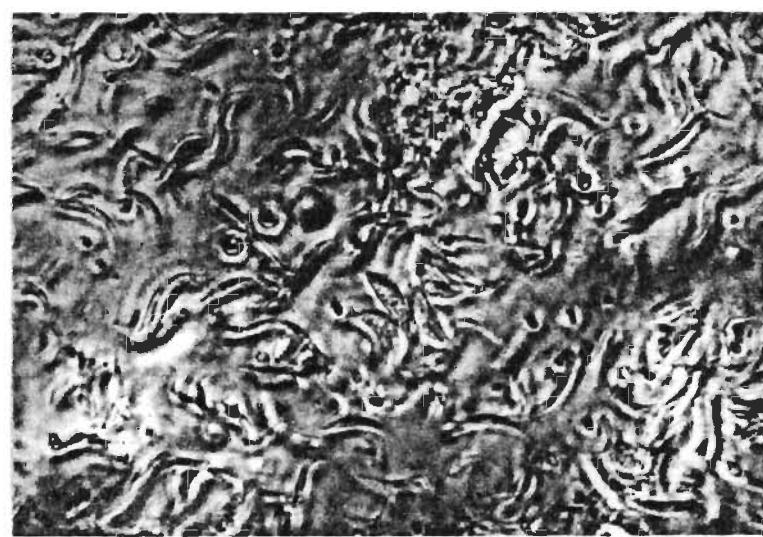
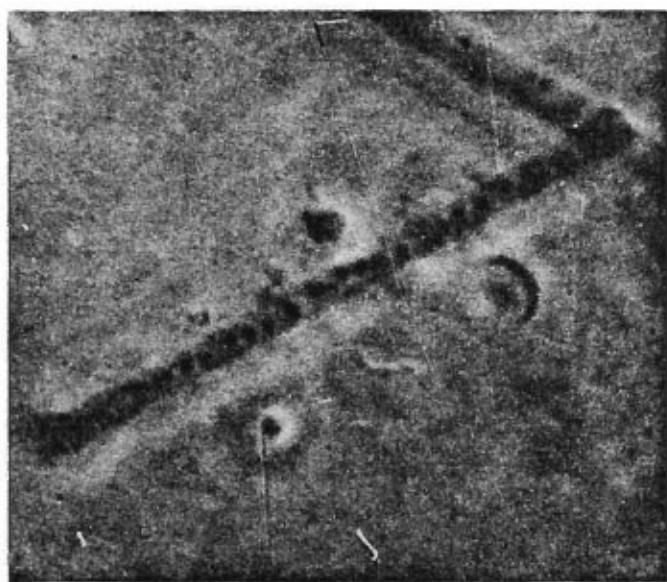


Figure 4 : Culture mixte: vue d'ensemble (500 x).



A. *Melosira granulata*



B. *Diatoma tenué*
var *elongatum*

Figure 5 : Les chrysophycées (1000x).

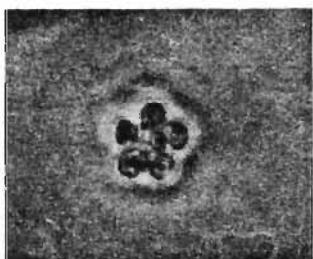


Trachelomonas sprilliformis

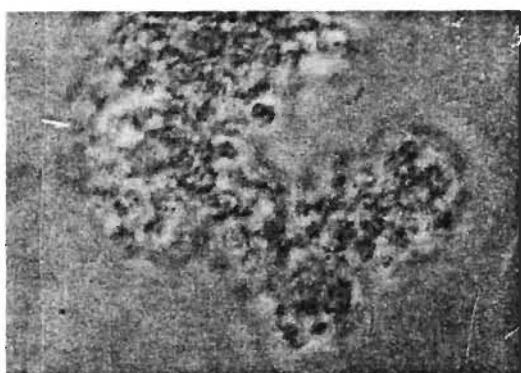
Figure 6 : Les euglénophycées (1000x).



A. Oscillatoria sprilliformis



B. Chroococcus dispersus var minor



C. Gomphosphaeria lacustris

Figure 7 : Les cyanophycées (1000x).



A. Scenedesmus acuminatus
var minor



B. Ankistrodesmus falcatus
var sprilliformis

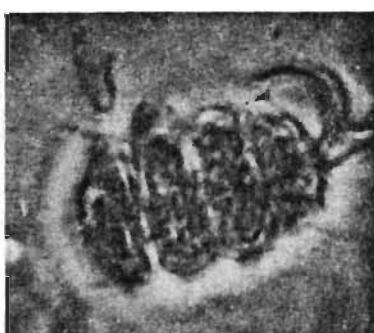
Figure 8 : Les chlorophycées (1000x).



A. Scenedesmus quadricauda
var. quadrispina



B. Chlorella vulgaris

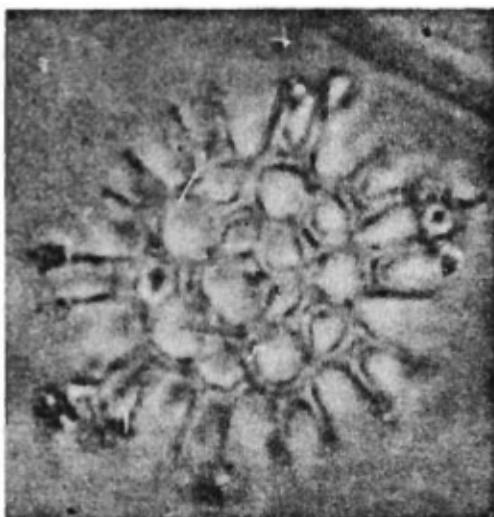


C. Scenedesmus armatus

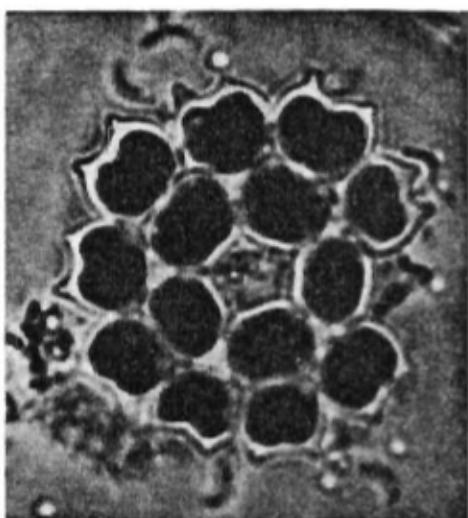


D. Scenedesmus abundans

Figure 9 : Les chlorophycées (1000x).



A. *Pediastrum duplex*
var *gracillimum*



B. *Pediastrum duplex*

Figure 10 : Les chlorophycées (1000x).

F. Détermination du taux de croissance d'une culture d'algues

Les algues ont un processus de division cellulaire semblable aux organismes microbiens. Le taux de croissance d'une culture statique ("batch cultures") confinée à volume constant, est décrit par une courbe de croissance sigmoïde. Le cycle de croissance (Monod (1949) (7)) est divisé en phases de croissances (voir la figure 11) que l'on identifie selon les termes suivants;

- 1 : phase d'adaptation : la croissance augmente légèrement avec le temps, elle peut-être absente ou décroître dans certains cas.
- 2 : phase exponentielle : le taux de croissance est constant, la biomasse double à chaque intervalle de temps successif.
- 3 : phase déclinante : le temps requis pour doubler la biomasse augmente.
- 4 : phase stationnaire : la biomasse demeure constante, signifiant que les pertes du catabolisme égale le procédé anabolique.

L'expression mathématique du taux de croissance s'exprime sous la forme :

$$R_e = \frac{\log X_2 - \log X_1}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

où R_e : taux de croissance exponentielle

CROISSANCE MICROBIENNE

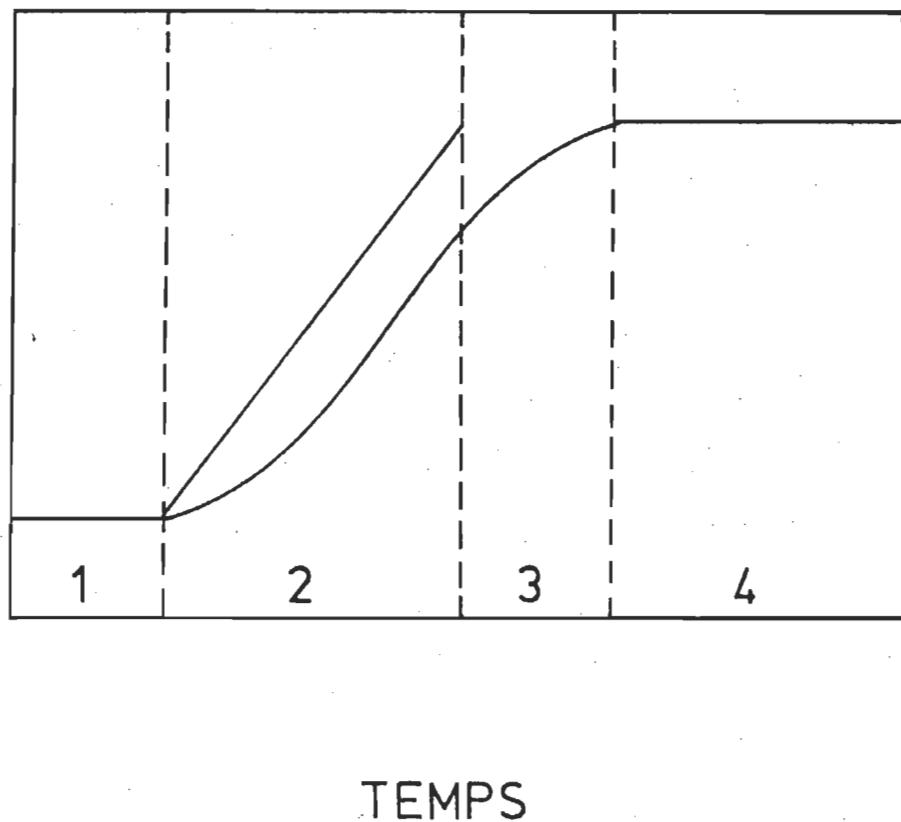


Figure 11 : Phases de croissance d'une culture statique
d'organismes microbiens.

X_1 , X_2 : valeurs numériques de la biomasse au début et
à la fin de la phase 2 (voir la figure 11)

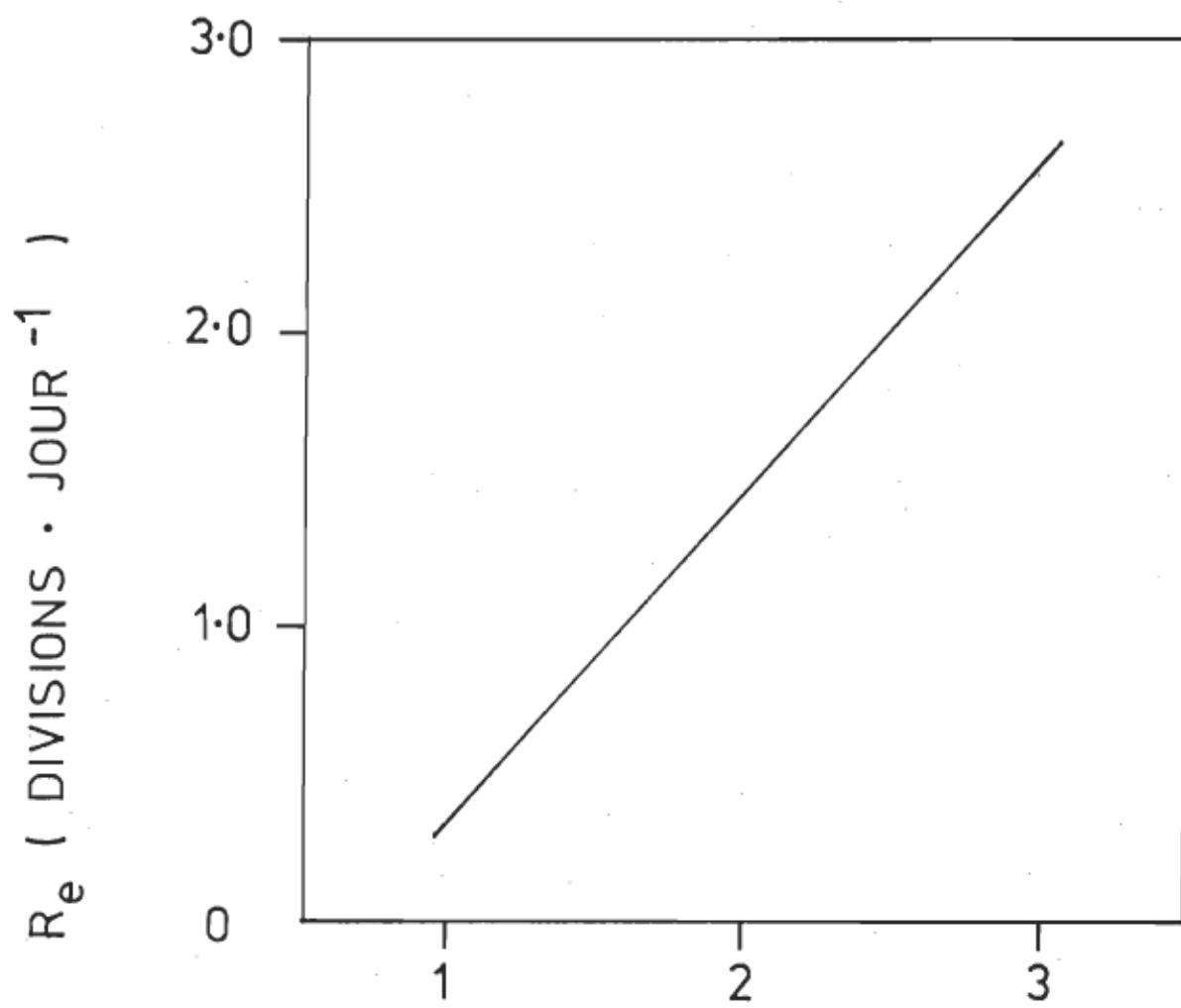
t_1 , t_2 : temps correspondant aux valeurs X_1 et X_2 .

La reproductibilité du taux de croissance d'une culture d'algues dépend de la stabilité et de la reproductibilité des conditions externes sous lesquelles le taux est observé et surtout de la composition d'âge des cellules individuelles formant la population.

La croissance est mesurée directement en analysant la biomasse de la cellule. La concentration de plusieurs composants cellulaires peut être utilisée comme mesure de la biomasse ; par exemple la concentration de carbone, de lipides, de protéines et de pigments. De ces composants, le pigment chlorophyllien (chlorophylle a) est le plus largement utilisé.

G. Relation entre le taux de croissance et la concentration
de chlorophylle a

En travaillant sur des populations naturelles, Kobayasi (1961) (8) a trouvé une corrélation linéaire entre le contenu en chlorophylle a et le nombre de cellules. Il utilisa à cette fin l'équation (1). Il a calculé que la proportion en chlorophylle à la matière sèche d'algue varie suivant les espèces : 0.6 - 0.8 % dans les diatomés et 0.8 - 1.2 % dans les algues vertes. C'est pourquoi des coefficients de corrélation entre le taux de croissance (division par jour) et la concentration en chlorophylle peuvent varier de 0.75 à 0.97 sur des populations naturelles tel que rapporté par Peters, Ball et Kevern (1968) (9). Cependant en utilisant une espèce d'algue, sous des conditions contrôlées en laboratoire, Eppley et Sloan (1966) (10) ont obtenu un coefficient de corrélation de 0.903. La concentration en pigment photosynthétique est déterminée en prenant un spectre d'absorption d'un extrait (solvant étant l'acétone 90 %) de culture et en transposant les résultats obtenus dans l'équation spectrophotométrique de Parsons et Strickland (1963) (11). La figure 12 montre la relation entre le taux de croissance et la concentration en chlorophylle a.



LOG 100 (CHLOROPHYLLE a)

Figure 12 : Taux de croissance de l'espèce Dunaliella tertiolecta, une algue verte, à 20°C.

Source : Eppley et Sloan (1966) (10).

H. Mesure de la concentration en chlorophylle a

1. Spectrophotométrie d'absorption

Les principes de l'extraction des pigments photosynthétiques en utilisant l'acétone 90 % et l'analyse spectrophotométrique de cet extrait ont été développés par Richards et Thompson (1952) (12). Depuis, des modifications ont été apportées par Parsons et Strickland (1963) (11), (1965) (13) et plus récemment, Jeffrey et Humphrey (1975) (14) ont suggéré les équations trichromatiques suivantes, lesquelles sont largement employées aujourd'hui.

$$C_a = 11.85 E_{664} - 1.54 E_{647} - 0.08 E_{630} \quad (2)$$

$$C_b = -5.43 E_{664} + 21.03 E_{647} - 2.66 E_{630} \quad (3)$$

$$C_{C_1+C_2} = -1.67 E_{664} - 7.60 E_{647} + 24.25 E_{630} \quad (4)$$

où C_a , C_b et $C_{C_1+C_2}$ sont les concentrations respectives des chlorophylles a, b et c, en mg/l.

E correspond à la mesure d'absorbance à chacune des trois longueurs d'onde (664 nm, 647 nm et 630 nm).

Le système obéit à la loi de Beer-Lambert pour des absorbances inférieures à 0.8. La concentration de chlorophylle (a, b et c) dans un volume connu de culture liquide est calculée si les données suivantes sont connues :

- le volume d'acétone utilisé pour l'extraction en millilitres (V_a)

- le volume original de culture filtré en millilitres (V_c)

En utilisant des cellules de 10 millimètres, on trouve la concentration de pigment en mg/l à l'aide de la relation :

$$C_a' \text{ (mg/l)} = \frac{C_a V_a}{V_c} \quad (5)$$

où C_a est la concentration calculée dans la relation (2)

On pourrait écrire des relations semblables pour les chlorophylles b et c.

Une deuxième méthode pour déterminer la concentration en chlorophylle a consiste à tracer la ligne de base sur le spectre obtenu, entre les mesures d'absorbance à 550 nm et 750 nm. Cette étape sert à éliminer la lumière dispersante et ainsi à corriger la mesure d'absorbance pour la chlorophylle. On applique ensuite la loi de Beer-Lambert en utilisant les coefficients d'extinction proposés par Seely et Jensen (1965) (15) pour la chlorophylle a dans différents solvants.

$$\epsilon_{\text{chlorophylle } a} \text{ (acétone 90\%)} = 7.66 \times 10^4 \text{ l.mole}^{-1} \text{cm}^{-1}$$

$$\epsilon_{\text{chlorophylle } a} \text{ (diéthyl éther)} = 8.51 \times 10^4 \text{ l.mole}^{-1} \text{cm}^{-1}$$

2. Spectrofluorométrie

L'approche fluorométrique pour l'analyse de la chlorophylle extraite dans l'acétone 90 % telle que décrite par Yentsch et Menzel (1963) (16), puis Holm-Hansen et ses collègues (1965) (17), représente une méthode beaucoup plus sensible par rapport aux

méthodes d'absorption. Cette méthode permet de filtrer des volumes de culture plus faibles et elle est plus rapide puisqu'on travaille à une seule longueur d'onde.

L'extrait de chlorophylle est excité à 430 nm, et on observe un seul pic d'émission de fluorescence entre 660 et 670 nm. Le fluorimètre est calibré à partir d'un extrait de chlorophylle de concentration connue, laquelle est déterminée par spectrophotométrie d'absorption (voir la section précédente à la page 39).

CHAPITRE III

DOSAGES

CHAPITRE III

DOSAGES

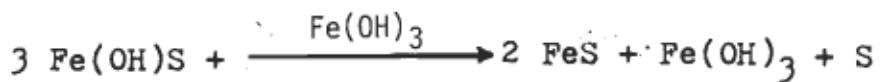
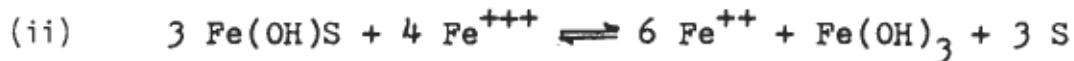
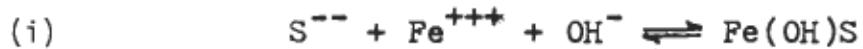
A. Dosage de l'hydrogène sulfuré

1. Méthodes disponibles en phase aqueuse

Dans la présente partie, différentes méthodes sont expliquées pour doser l'hydrogène sulfuré.

a) Méthode absorptiométrique (1,10-phénanthroline)

Publiée par Rahim, Salim et Shereef (1973) (18), cette méthode est basée sur la réduction à pH 3 du Fe^{+++} en Fe^{++} par l'ion sulfure en présence du 1,10-phénanthroline. Il y a alors formation du complexe $(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_3\text{Fe}^{++}$. Les réactions sont les suivantes :



L'équation globale de la réaction d'oxydo-réduction s'exprime sous la forme :



On obtient un complexe orange-rougeâtre en présence de l'ion ferreux. Ce complexe吸orbe à 396 nm ainsi qu'à 510 nm. Quant à l'ion ferrique, on obtient un complexe jaune qui吸orbe lui aussi à 396 nm. L'absorbance à 396 nm donne la concentration totale en fer tandis que celle à 510 nm correspond à la concentration de l'ion ferreux ou à la concentration de sulfures que nous voulons déterminer.

En utilisant un spectrophotomètre Unicam SP-1800, on obtient un graphique de calibration pour des concentrations variant de 0.033 à 100 ppm. La sensibilité de la méthode est de 0.0016 ug ml⁻¹ ou 1.6 ppb.

b) Electrode à ion spécifique

Barica (1973) (19) décrit une méthode simplifiée de standardisation d'une solution aqueuse de sulfures.

Une électrode au chlorure d'argent est utilisée pour déterminer le point de virage dans le titrage de la solution standard de sulfure de sodium par le nitrate d'argent. La méthode permet un titrage potentiométrique en moins de 60 secondes.

Les concentrations en sulfures déterminées par cette méthode se situent dans les limites de $\pm 0.024 \text{ mg l}^{-1} \text{ S}$ (Déviation standard), ou 3 % des valeurs obtenues par standardisation iodométrique conventionnelle.

La méthode recommandée par les fabricants d'électrodes, en

particulier, la firme Orion (1975) (20), nous permet des résultats reproductifs jusqu'à une concentration de 0.1 ppm. On peut abaisser la sensibilité jusqu'à 30 ppb en enlevant les métaux lourds (identifiés comme étant Cu et Cr) de la solution de salicylate de sodium, qui est le réactif à utiliser, par extraction au di-thizone.

Pour obtenir une plus grande sensibilité et ainsi déterminer la concentration en sulfures dans les eaux naturelles, on doit au préalable passer par une étape de préconcentration. Cette étape de préconcentration consiste à précipiter les sulfures en ZnS, ensuite à centrifuger et à décanter la solution. On peut ainsi concentrer la solution par un facteur de 10. Baumann (1974) (21) affirme obtenir des lectures de sulfures de l'ordre de 5 - 10 ppb avec une déviation standard relative de 6 - 10 %.

c) Méthode iodométrique ou titrimétrique

La méthode est basée sur la réaction réversible suivante :



Pour obtenir des résultats satisfaisants, la solution sulfurée doit être diluée à des concentrations de l'ordre de 0.04 % ou 0.02 N. On élimine ainsi les pertes d'hydrogène sulfuré et on évite les réactions secondaires.

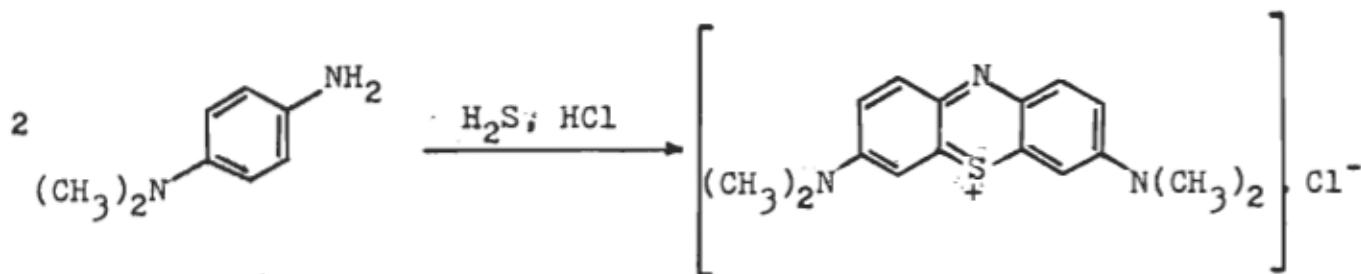
L'excès d'iode est alors titré avec une solution standard de thiosulfate en présence d'amidon comme indicateur.



La sensibilité de la méthode n'est pas très bonne car pour doser un échantillon de 1ppm dans de telles conditions, le volume doit être environ de 500 ml. Pour améliorer la sensibilité, il faut procéder à une préconcentration.

d) Méthode colorimétrique (bleu de méthylène)

La méthode est basée sur la réaction du sulfure avec le N,N-diméthyl-p-phénylenediamine en milieu acide formant ainsi le bleu de méthylène.



On détermine ensuite la concentration du bleu de méthylène par spectrophotométrie. La sensibilité d'une telle méthode ne permet pas d'obtenir des lectures inférieures à 50 ppb et sa précision est évaluée à 5 ppb.

Comme la limite inférieure de concentration en sulfures utilisée dans nos expériences se situe à 180 ppb, la présente méthode est applicable à notre travail. De plus sa reproductibilité, sa précision et sa rapidité sont des critères importants qui favorisent cette méthode. Suite à différents essais, nous croyons que la méthode colorimétrique (bleu de méthylène) est idéale pour le dosage des sulfures dissous (le détail du dosage est donné à la partie 2.b du présent chapitre).

2. Courbes de calibration en sulfures dissous

a) Détermination de la pureté du sulfure de sodium

Nous avons utilisé à cette fin la méthode titrimétrique (American Public Health Association (1967) (22)).

Les équipements et les réactifs sont:

- deux cylindres d'aération (barboteurs)
- cylindre de gaz carbonique
- solution d'acétate de zinc 1 M
- acide sulfurique concentré
- acide chlorhydrique concentré
- solution d'iode 0.025 N standardisée par le thiosulfate de sodium, utilisant l'amidon comme indicateur.
- solution de thiosulfate 0.025 N standardisée par le bichromate de potassium.

Deux cylindres d'aération sont collectés en série. Le gaz carbonique est passé dans l'appareil pour enlever l'oxygène. Un volume mesuré de 250 ml de la solution de sulfures (Na_2S), d'environ 40 ppm, est introduite dans le premier cylindre, puis est acidifiée avec 10 ml de H_2SO_4 concentré. Le deuxième cylindre contient 10 ml de la solution d'acétate de zinc diluée à 100 ml avec de l'eau distillée. On fait alors passer le gaz carbonique à travers l'échantillon pendant une ^{heure}_{Afin} afin d'obtenir une précipitation complète du sulfure de zinc. La solution d'iode 0.025 N est ajoutée en excès puis acidifiée avec 5 ml de HCl concentré. On titre ensuite l'excès d'iode avec le thiosulfate 0.025 N en

présence d'amidon.

La standardisation d'une solution de thiosulfate fût donc accomplie par titrage d'une quantité précise de bichromate de potassium et les résultats sont résumés dans le tableau IX. A l'aide de cette solution de thiosulfate nous avons ensuite standardisé une solution d'iode (voir le tableau X).

Tableau IX: Standardisation d'une solution de thiosulfate de sodium par le bichromate de potassium.

Poids de bichromate P ₁ (g)	Normalité du bichromate N ₁ (N)	Volume de bichromate V ₁ (ml)	Volume de thiosulfate V ₂ (ml)	Normalité du thiosulfate N ₂ = N ₁ V ₁ /V ₂ (N)
1.2391	0.02527	20.00	20.40	0.0252

Tableau X: Standardisation d'une solution d'iode par le thiosulfate de sodium.

Solution de thiosulfate		Solution d'iode	
volume V ₂ (ml)	normalité N ₂ (N)	volume V ₃ (ml)	normalité N ₃ (ml)
21.80	0.0252	25.00	0.0220

Nous avons ensuite utilisé la solution d'iode standardisée. Les équations pertinentes à la méthode titrimétrique sont les suivantes :

$$\text{Equivalent en S}^{--} = \frac{(N_3 V_3 - N_2 V_2)}{2 \times 1000}$$

$$\text{Poids en S}^{--} = \frac{(\text{équivalent S}^{--}) \times (\text{Poids atom. du S}) \times 1000}{\text{volume titré de la solution mère en ml}}$$

$$\% P/P \text{ en S}^{--} \text{ dans Na}_2\text{S} = \frac{(\text{poids en S}^{--}) \times 100\%}{\text{poids de Na}_2\text{S par litre de sol.}}$$

où N_3 = normalité de la solution d'iode = 0.0220 N

V_3 = volume de la solution d'iode = 50.00 ml

N_2 = normalité de la solution de thiosulfate = 0.0252 N

V_2 = volume titrant de thiosulfate de sodium

Les résultats expérimentaux sont présentés dans le tableau XI et ils sont suivis d'un exemple de calcul.

Tableau XI : Dosage des sulfures dissous dans une solution Na₂S.

Essai	V ₂ (ml)	Equi. en S ⁻⁻ (10 ⁻⁴ équi.)	Poids en S ⁻⁻ (g)	Poids Na ₂ S (g)	% P _P S ⁻⁻ (%)
1	31.00	1.594	0.0510	0.2520	20.24
2	33.00	1.341	0.0429	0.2520	17.02
3.	31.00	1.594	0.0510	0.2452	20.82
4	32.30	1.341	0.0429	0.2452	17.50
5	31.70	1.379	0.0441	0.2452	18.00
6	32.50	1.404	0.0449	0.2505	17.94
7	33.30	1.303	0.0417	0.2505	16.65
8	33.90	1.227	0.0393	0.2505	15.68

Exemple de calcul pour l'essai # 1.

$$\text{Equivalent en S}^{--} = \frac{((0.0220 \times 50.00) - (0.0252 \times 31.00))}{2 \times 1000}$$

$$= 1.594 \times 10^{-4} \text{ équi.}$$

$$\text{Poids en S}^{--} = \frac{1.594 \times 10^{-4} \times 32.064 \times 10^3}{100} = 0.0510 \text{ g}$$

$$\% P_{P} \text{ en S}^{--} \text{ dans le Na}_2\text{S} = \frac{0.0510 \text{ g} \times 100 \%}{0.2520 \text{ g}} = 20.24 \%$$

b) Dosage des sulfures en solution par la méthode du bleu de méthylène.

Comme nous l'avons vu précédemment, la méthode est basée sur la réaction des sulfures avec le N,N-diméthyl-p-phénylénediamine en milieu acide, formant ainsi le bleu de méthylène.

On détermine la concentration du bleu de méthylène par spectrophotométrie. On prépare des échantillons de concentration connue en sulfures et on obtient ainsi les courbes de calibration de l'absorbance à 665 nm en fonction de la concentration en sulfures (S^{--}).

Dans une première étape, nous avons utilisé l'eau distillée comme solvant afin d'éprouver la méthode. Les résultats expérimentaux sont rapportés à la figure 13. Nous avons utilisé la méthode des moindres carrés pour déterminer la relation linéaire de la figure 13. L'équation qui représente cette linéarité est la suivante:

$$C_{S^{--}} = (913 A_{665} \pm 39) \text{ ppb} \quad (6)$$

où $C_{S^{--}}$ est la concentration en sulfures (ppb)

A_{665} est l'absorbance du bleu de méthylène formé correspondante à $C_{S^{--}}$

Les figures 14, 15 et 16 réfèrent aux mêmes résultats expérimentaux, mais en utilisant un intervalle différent pour la concentration en sulfures.

$$\text{Figure 14 : } C_{S^{--}} = (1017 A_{665} \pm 10) \text{ ppb} \quad (7)$$

$$\text{Figure 15 : } C_{S^{--}} = (1048 A_{665} \pm 7) \text{ ppb} \quad (8)$$

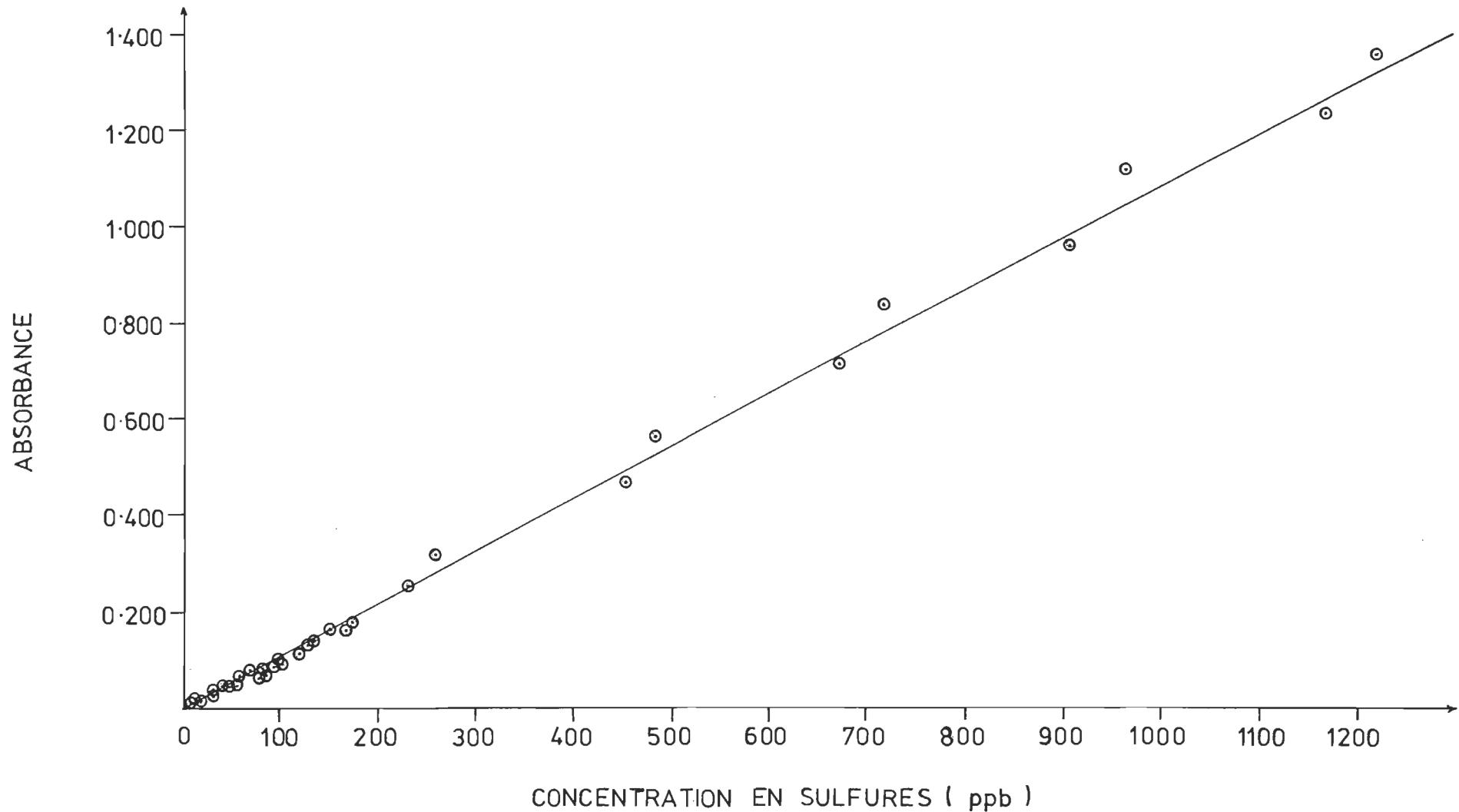


Figure 13 : Absorbance à une longueur d'onde de 665 nm en fonction de la concentration en sulfures dissous (Intervalle de 0-1200 ppb ; le solvant étant l'eau distillée).

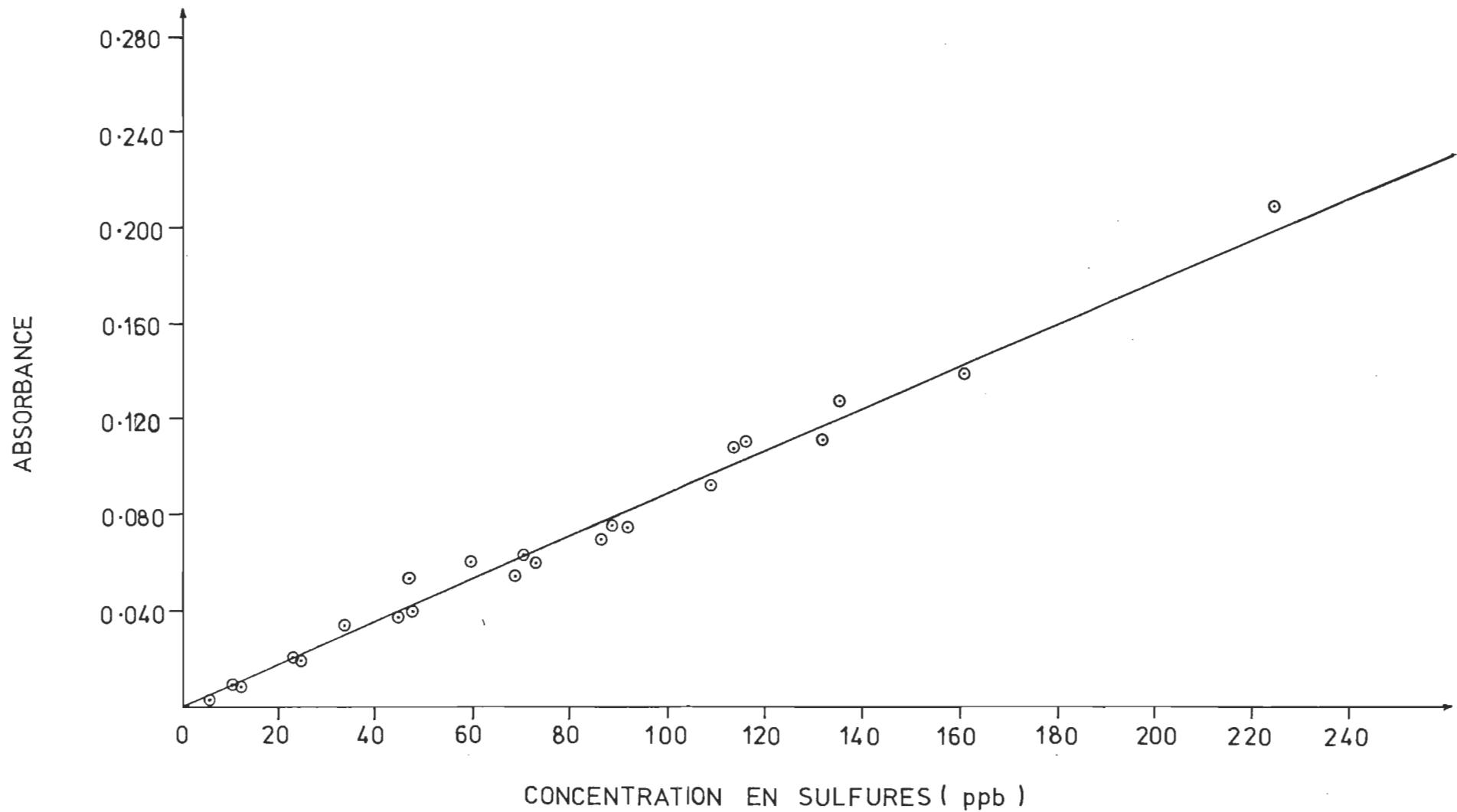


Figure 14 : Absorbance à une longueur d'onde de 665 nm en fonction de la concentration sulfures dissous. (Intervalle de 0-240 ppb ; le solvant étant l'eau distillée)

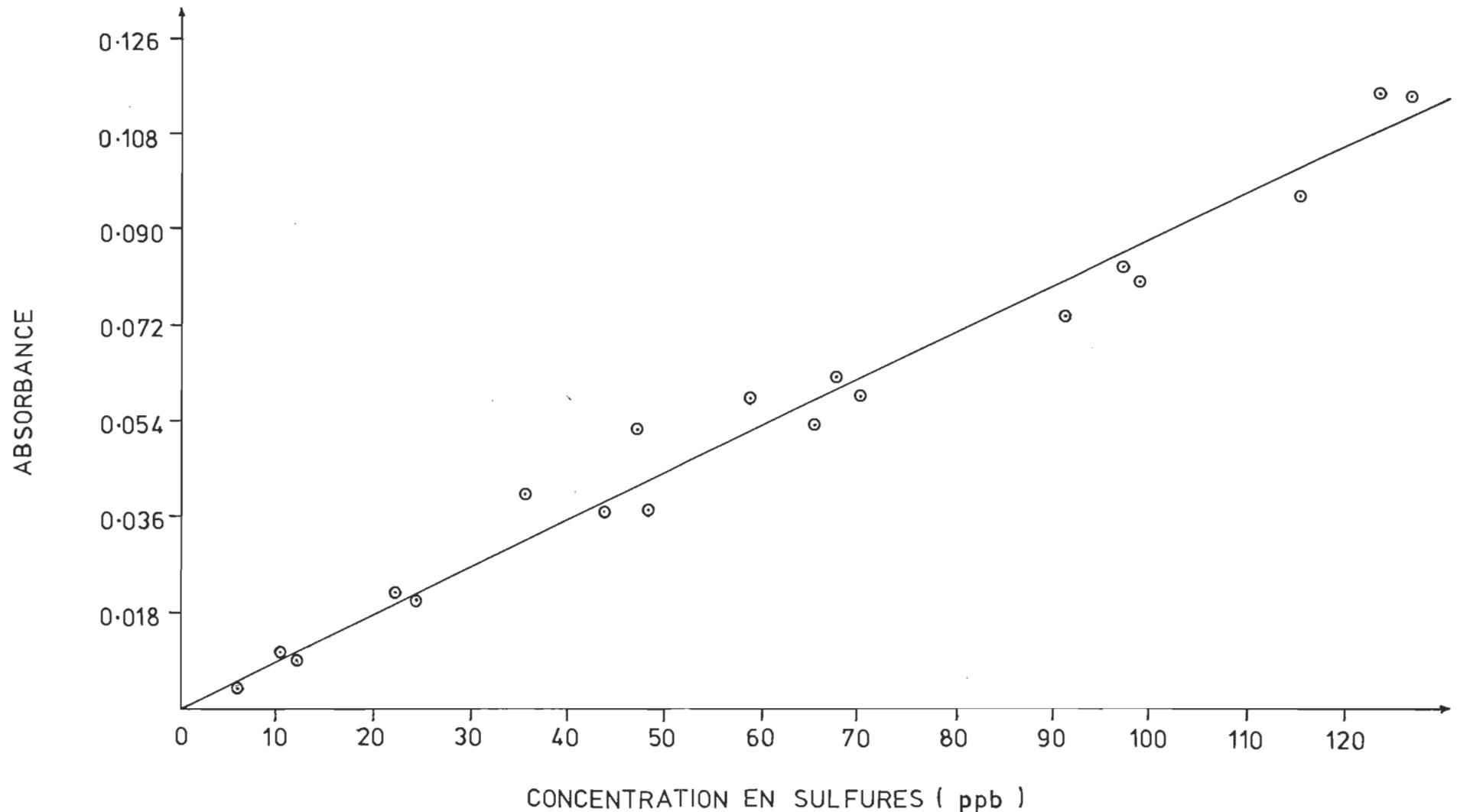


Figure 15 : Absorbance à une longueur d'onde de 665 nm en fonction de la concentration en sulfures dissous. (Intervalle de 0-120 ppb ; le solvant étant l'eau distillée)

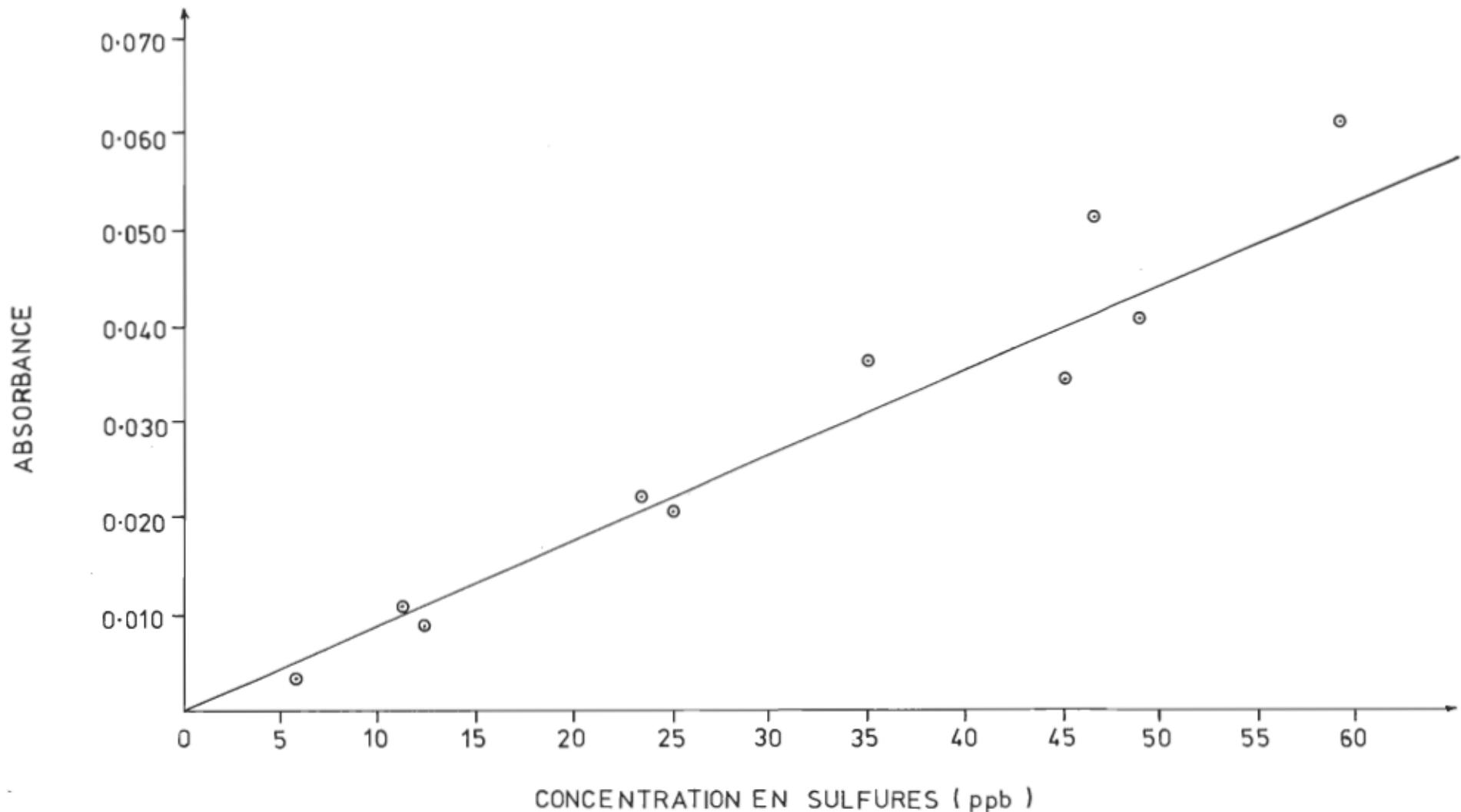


Figure 16 : Absorbance à une longueur d'onde de 665 nm en fonction de la concentration en sulfures dissous. (Intervalle de 0-60 ppb ; le solvant étant l'eau distillée)

$$\text{Figure 16 : } C_{S^{--}} = (996 A_{665} \pm 5) \text{ ppb} \quad (9)$$

Dans un deuxième temps, l'eau du robinet qui devait également servir dans le montage dynamique fut utilisée comme solvant. Les résultats expérimentaux sont rapportés à la figure 17 et l'équation de la droite est :

$$C_{S^{--}} = (958 A_{665} + 41, \pm 38) \text{ ppb} \quad (10)$$

On réalise que la droite ne passe pas par l'origine, mais la pente calculée par la méthode des moindres carrés est sensiblement la même. On constate un déplacement de la droite avec un intercept sur la partie négative de l'axe des ordonnées, en passant par le quatrième quadrant du système cartésien. Nous concluons donc à la présence d'une substance dont la concentration serait constante dans l'eau du robinet ce qui expliquerait la disparition de 41 ppb en sulfures.

La figure 18 révèle une droite dont l'équation est sous la forme :

$$C_{S^{--}} = (1085 A_{665} + 33, \pm 25) \text{ ppb} \quad (11)$$

pour l'intervalle de concentration de 0 à 240 ppb en sulfures.

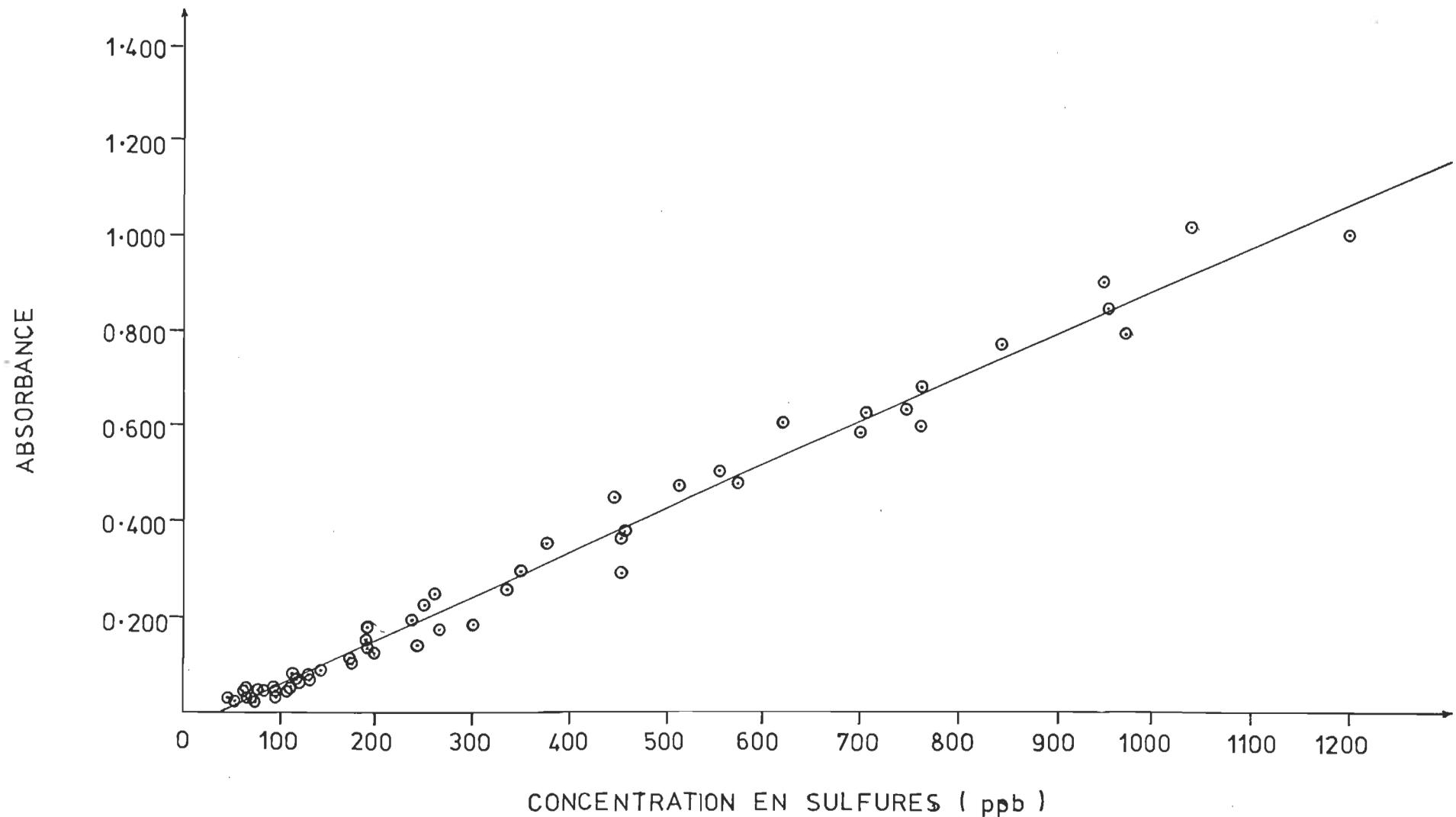


Figure 17 : Absorbance à une longueur d'onde de 665 nm en fonction de la concentration en sulfures dissous. (Intervalle de 0-1200 ppb ; le solvant étant l'eau du robinet)

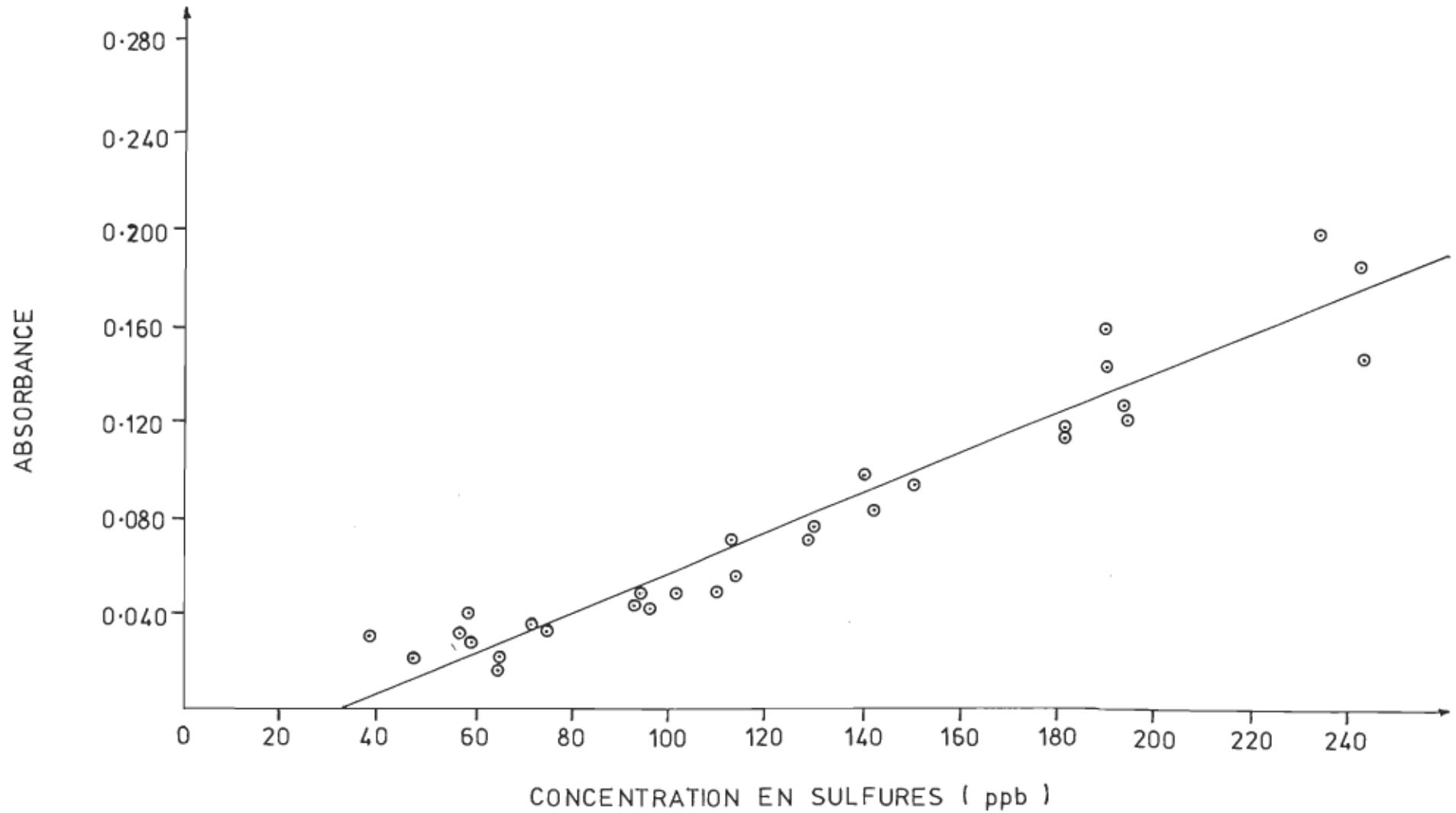


Figure 18 : Absorbance à une longueur d'onde de 665 nm en fonction de la concentration en sulfures dissous.(Intervalle de 0-240 ppb ; le solvant étant l'eau du robinet)

B. Dosage de la chlorophylle a

1. Courbes de calibration pour la chlorophylle a commerciale (Sigma) en solution dans le diéthyléther.

À partir d'une solution mère de concentration connue, on procédait à différentes dilutions. Dans un deuxième temps, on prenait successivement des spectres d'absorption à l'aide d'un spectrophotomètre Pye-Unicam SP 1800 (U.V.-Visible) et les spectres de fluorescence, à l'aide d'un spectrofluorimètre Perkin-Elmer MPF-2A.

Les résultats sont ensuite portés sur un graphique. L'intensité relative de fluorescence en fonction de la concentration en chlorophylle a nous donne une relation linéaire pour des concentrations de l'ordre de 10^{-8} - 10^{-6} M. L'équation de la droite de la figure 19 étant:

$$\log (I_p / I_o) = 1.175 \log C_{\text{chlorophylle } \underline{a}} + 6.974 \quad (12)$$

Il est à noter que l'intensité de fluorescence de la chlorophylle a à différentes concentrations est représentée par I_p tandis que l'intensité de fluorescence de la chlorophylle a dont la concentration demeure constante (10^{-4} M) est I_o . La mesure de I_o est nécessaire pour corriger les fluctuations dans l'intensité de la lampe d'irradiation au cours du temps.

2. Courbes de calibration pour la chlorophylle a provenant d'un extrait de la culture mixte en solution dans l'acétone 90%.

On filtre sous vide un volume mesuré de culture ou d'échan-

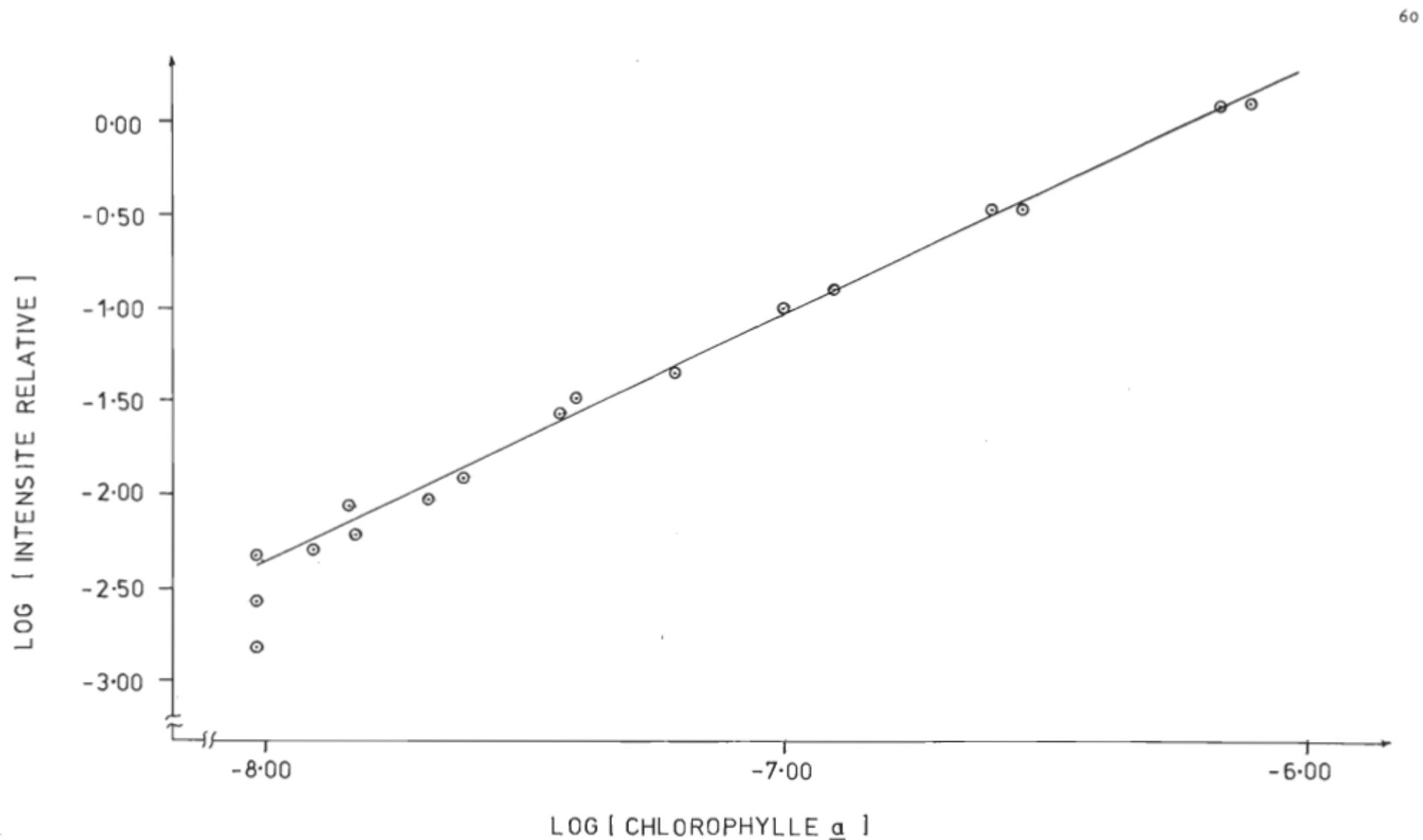


Figure 19 : Intensité relative de fluorescence en fonction de la concentration en chlorophylle a (Sigma).

tillon sur membrane Millipore 0.45μ . Le filtre contenant les algues est ensuite macéré dans une éprouvette contenant de l'acétone 90% par un broyeur en téflon. On ajuste ensuite le volume pour connaître le facteur de dilution et on transfert la solution dans un tube à centrifugation. On centrifuge la dite solution pendant cinq minutes. Les tubes sont ensuite mis à l'obscurité pour une période de 10-30 minutes, puis les spectres d'absorption et de fluorescence sont enregistrés.

Les résultats sont ensuite portés sur un graphique semblable à la section précédente. La figure 20 nous présente une relation linéaire pour des concentrations de l'ordre de 10^{-8} - $10^{-6} M$. L'équation de la droite de la figure 20 est donné par la relation:

$$\log (I_p / I_o) = 1.140 \log C_{\text{chlorophylle } a} + 6.714 \quad (13)$$

Une suspension de carbonate de magnésium peut être ajoutée avant le broyage pour éviter la dégradation de la chlorophylle en phaeophytine.

Pour juger de la validité de la méthode, on compare les équations des figures 19 et 20 obtenues par la méthodes des moindres carrés ; les pentes se comparent relativement bien, une incertitude de 3.1 % est observée. Quant à l'incertitude sur l'intercept des deux équations, elle est de 0.8 %. A la lumière de cette comparaison, nous concluons à la validité ou à la pertinence de la méthode pour les fins que nous poursuivons.

Pour faciliter le traitement des données, nous utiliserons la figure 21. La distinction fondamentale avec la figure 20 est

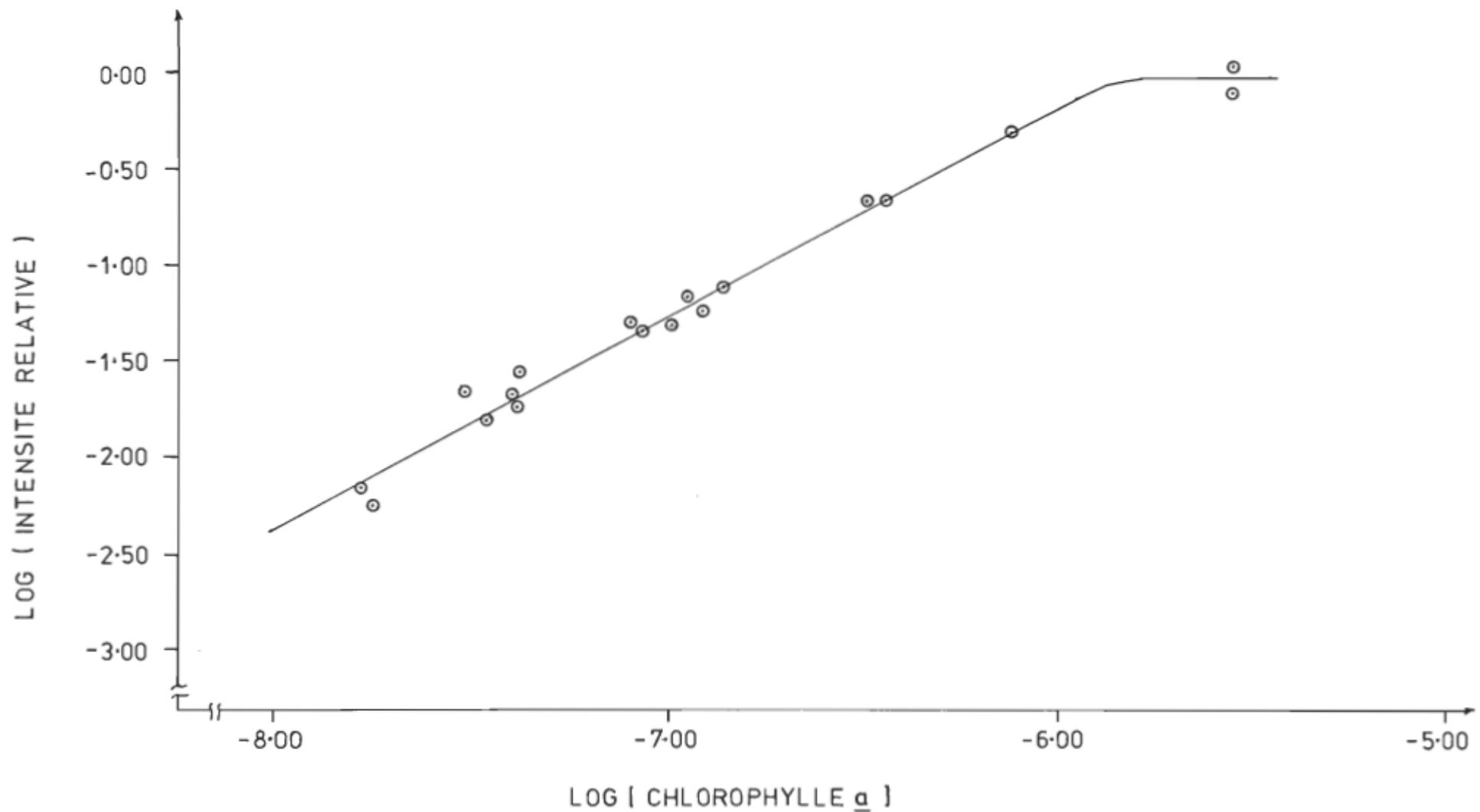


Figure 20 : Intensité relative de fluorescence en fonction de la concentration en chlorophylle a (culture mixte).

d'avoir négligé l'intensité de référence dans les calculs. On note à la figure 21, une bonne linéarité dans l'intervalle de concentration 10^{-8} - 10^{-6} M ce qui justifie l'utilisation de cette figure dans le traitement des mesures expérimentales.

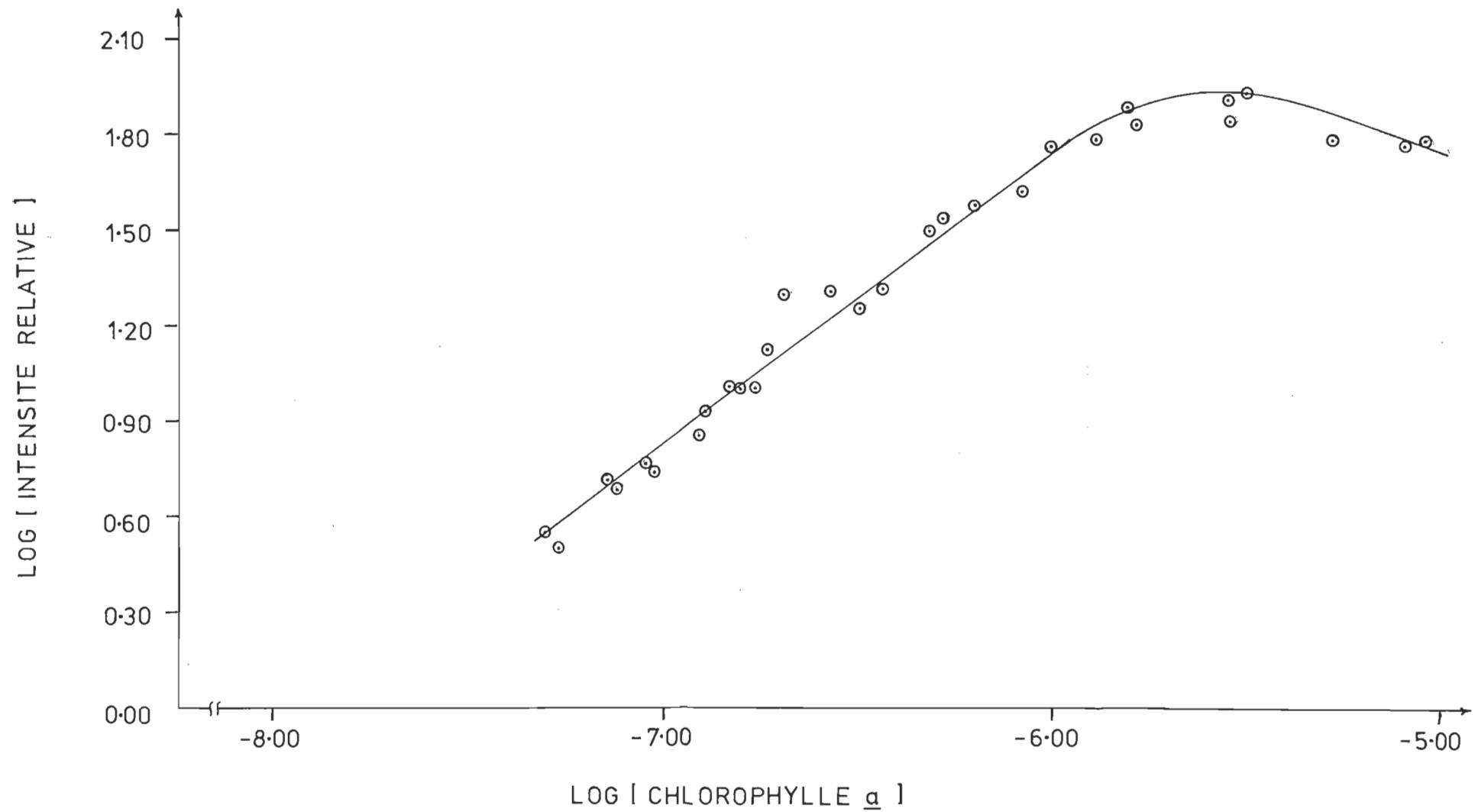


Figure 21 : Intensité relative de fluorescence en fonction de la concentration en chlorophylle a (culture mixte).

CHAPITRE IV

MONTAGE DYNAMIQUE POUR L'ETUDE
DE L'EFFET DES SULFURES DISSOUS
SUR LA CROISSANCE DU PHYTOPLANCTON.

CHAPITRE IV

MONTAGE DYNAMIQUE POUR L'ETUDE DE L'EFFET DES SULFURES DISSOUS SUR LA CROISSANCE DU PHYTOPLANCTON.

A. Le montage

En s'inspirant du montage dynamique réalisé par Colby et Smith (1967) (23) et en l'adaptant à notre étude sur le phytoplancton, nous en sommes venus à concevoir le montage de la figure 22.

La cellule d'étude (H) est surmontée d'une rampe d'éclairage (I) et sa température est maintenue constante par une circulation de liquide à l'aide d'une pompe Haake (J).

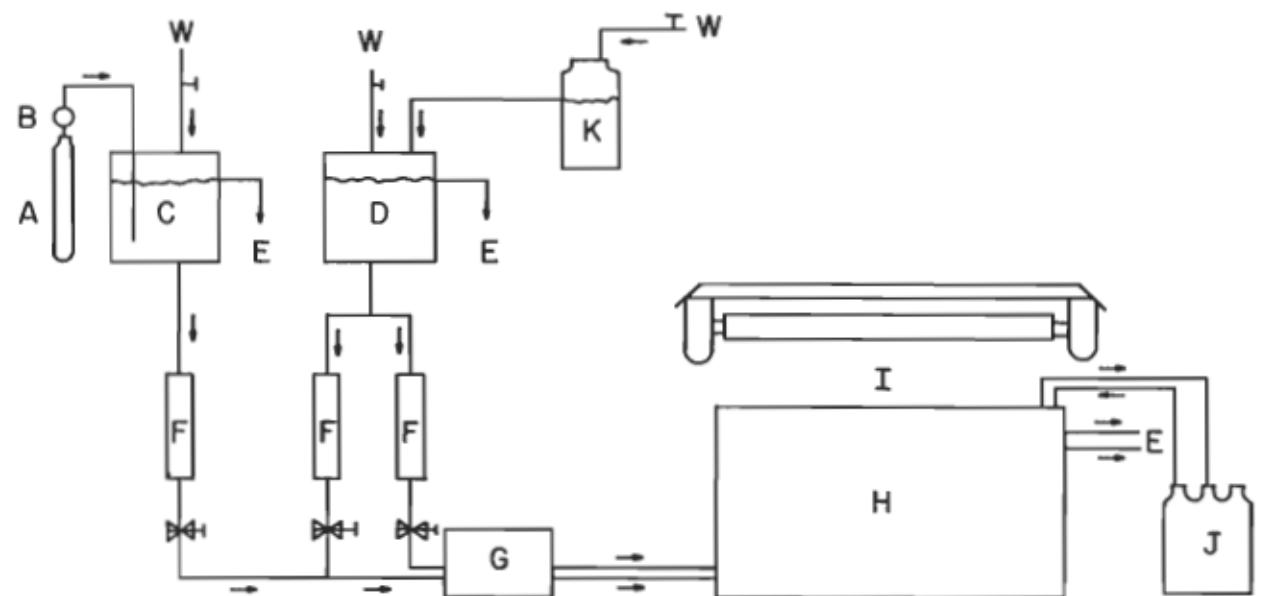
Initialement, le montage fût conçu tel qu'illustré à la figure 22. Après avoir éprouvé de sérieux problèmes avec les vapeurs d'hydrogène sulfuré, nous avons délaissé le cylindre H_2S (A) pour nous tourner vers une solution concentrée de Na_2S qui était directement déposée dans le bassin à sulfures (C).

Un réservoir à nutriments concentrés (K) déverse avec un

débit constant, son contenu dans un bassin à nutriments dilués (D) afin d'obtenir le facteur de dilution désiré.

Les concentrations de nutriments et de sulfures dissous acheminés à la cellule d'étude sont maintenues constantes à l'aide de débitmètres (F) et la circulation est effectuée par une pompe péristaltique (G).

Tout en étant conscient des limites du dit montage, nous en sommes néanmoins satisfaits.



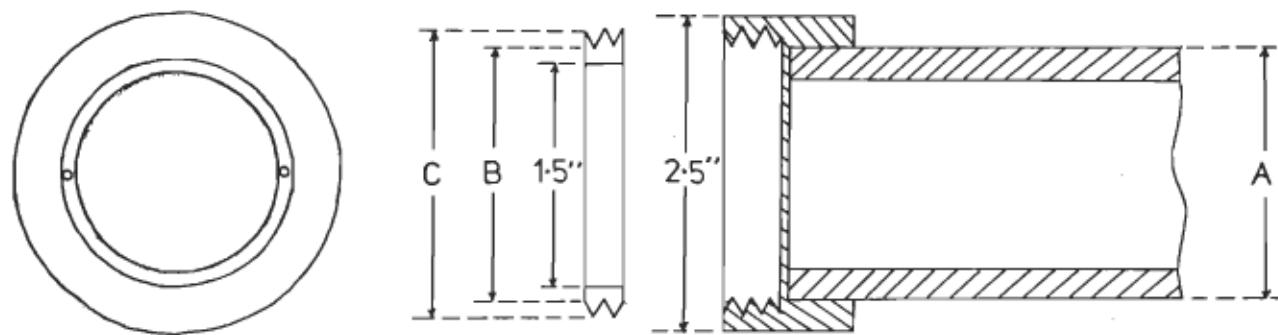
- A · CYLINDRE H₂S
- B · RÉGULATEUR
- C · BASSIN SULFURES
- D · NUTRIMENTS DIL.
- F · DÉBITMÈTRES
- G · POMPE
- H · CELLULE D'ÉTUDE
- I · RAMPE D'ÉCLAIRAGE
- J · POMPE HAAKE
- K · NUTRIMENTS CONC.
- E · ÉVIER
- W · EAU DU ROBINET

B. La cellule d'étude

En prenant en considération les dimensions du phytoplancton, ainsi que le nombre restreint d'alternatives pour confiner ces microorganismes dans un récipient permettant un écoulement continu, nous avons conçu le tube de la figure 23.

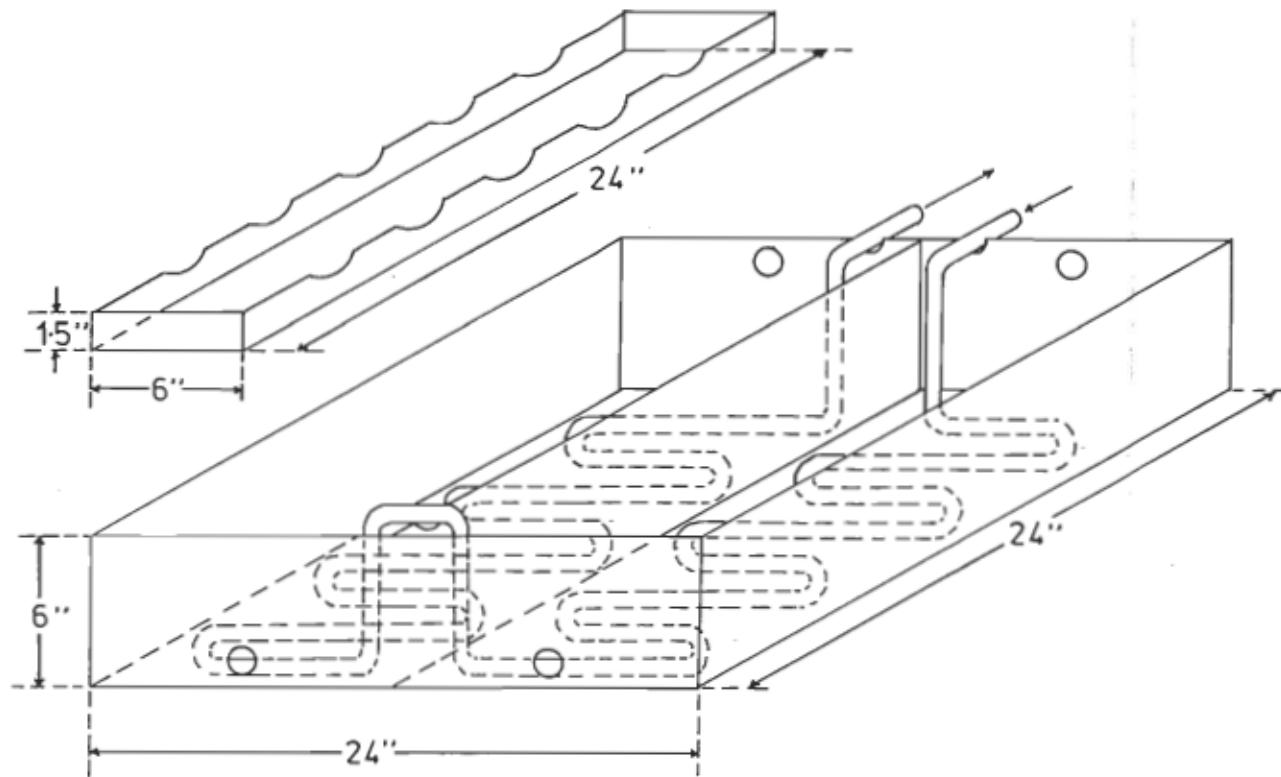
La cellule à phytoplancton est constituée d'un tube cylindrique de verre, fermée aux deux extrémités par des bouchons de téflon concentriques, ces bouchons retiennent des membranes Millipore 0.45 mu. Les tubes reposent transversalement, à l'écoulement, sur un support de chlorure de polyvinyle déposé dans la cellule d'étude de la figure 24.

La cellule d'étude est constituée de deux compartiments. Un compartiment sert à l'état de référence alors que le deuxième sert à l'étude proprement dite et contient une concentration constante en sulfures dissous. Un thermorégulateur Haake nous permet de thermostatier la cellule d'étude. Les dimensions de la cellule d'étude et du cylindre à phytoplancton sont données aux figures 23 et 24.



- A · MESURE PROPRE À CHAQUE TUBE (~2")
- B · DIAMÈTRE INTÉRIEUR : 1.875"
- C · DIAMÈTRE EXTÉRIEUR : 1.975" (FILETÉ 13 N.C.)

Figure 23 : Cylindre à phytoplancton



ÉCHELLE : 1 cm → 2"

Figure 24 : La cellule d'étude

C. La calibration du montage

Avant de vérifier si les sulfures ont un effet quelconque sur le processus de la division cellulaire du phytoplancton, il nous faut contrôler le maximum de paramètres susceptibles d'affecter nos essais.

Selon Griffiths (1973) (24), les facteurs influençant la capacité photosynthétique d'une culture sont principalement la température, l'intensité d'éclairage, la période d'éclairage et la concentration en nutriments.

Ces facteurs ayant été pris en considération lors de la conception du montage, il ne nous reste plus qu'à introduire l'agent polluant dans les proportions désirées.

En manipulant les débitmètres et en ajustant la pompe péristaltique, on réussit à obtenir la concentration désirée en sulfures dissous dans la section expérimentale de la cellule d'étude. Par des vérifications périodiques, on s'assure de la constance de cette concentration pour la durée de l'essai.

D. La croissance d'un échantillon de la culture mixte.

Après avoir vérifié de façon spectrophotométrique, la concentration d'un aliquot de la culture ; on dilue à la concentration initiale désirée et on débute l'essai en utilisant six tubes cylindriques à phytoplancton. On en place trois dans la section de référence de la cellule d'étude et les trois autres sont déposés dans la section expérimentale.

Pour vérifier la croissance dans le temps de chaque échantillon, on extrait la chlorophylle a à partir de 10 millilitres et on détermine la concentration à des temps précis. L'essai est considéré comme complet lorsque la phase stationnaire est atteinte, ce qui requiert une douzaine de jours.

Des essais ont été réalisés à différentes concentrations en sulfures dissous. Les courbes de croissance des différents essais font l'objet des figures qui suivent. La figure 25 nous révèle l'intensité relative de fluorescence d'un extrait de chlorophylle a en fonction du temps. L'essai de la figure 25 fut réalisé à 1300 ppb en sulfures (S⁻⁻). L'essai de la figure 26 le fut à 17.040 ppm, alors que celui de la figure 27 était à 11.730 ppm. Finalement les essais des figures 28-29-30 étaient réalisés respectivement à 6.410 ppm, 680 ppb et 180ppb.

L'analyse des courbes de croissance des échantillons à blanc révèle un milieu très réactif qui serait attribuable à la présence d'un ou plusieurs agents inhibiteurs dans l'eau du robinet. C'est ainsi qu'au lieu d'obtenir une croissance exponentielle, la population ne fait que doubler si on compare la phase stationnaire à la phase d'adaptation.

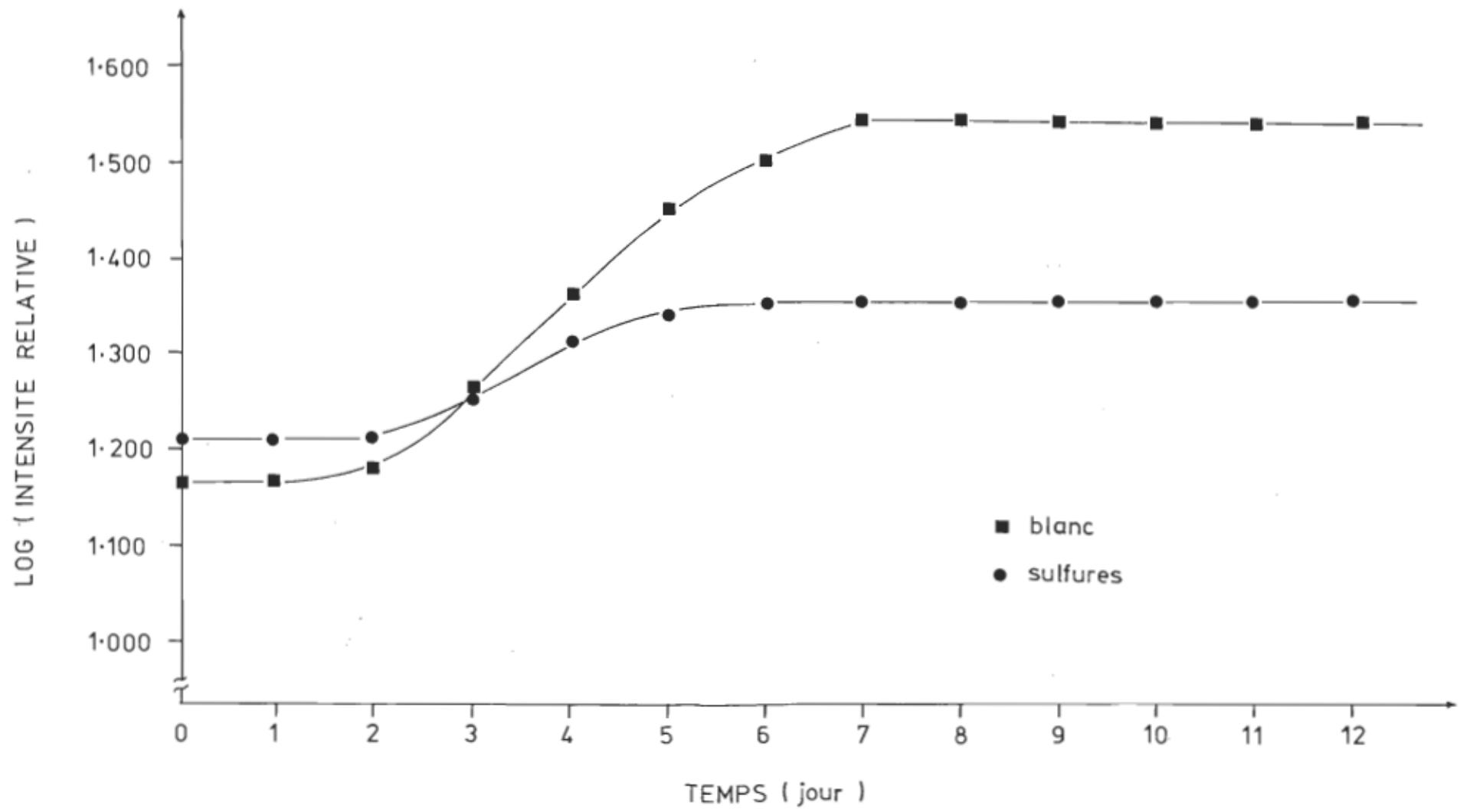


Figure 25 : Intensité relative de fluorescence d'un extrait de chlorophylle a en fonction du temps (cinétique de croissance à 1300 ppb S⁺⁺).

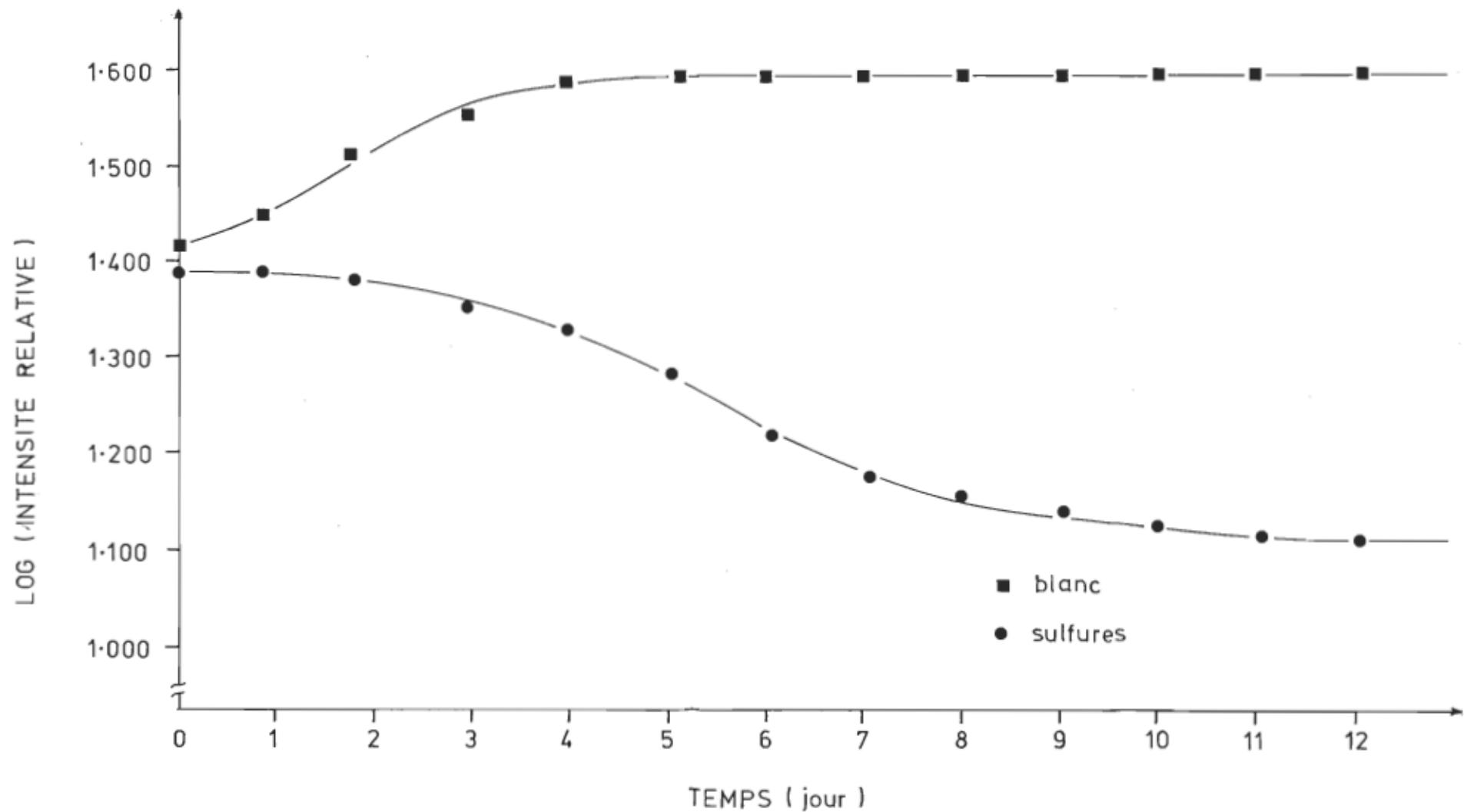


Figure 26 : Intensité relative de fluorescence d'un extrait de chlorophylle a en fonction du temps (cinétique de croissance à 17040 ppb S⁻).

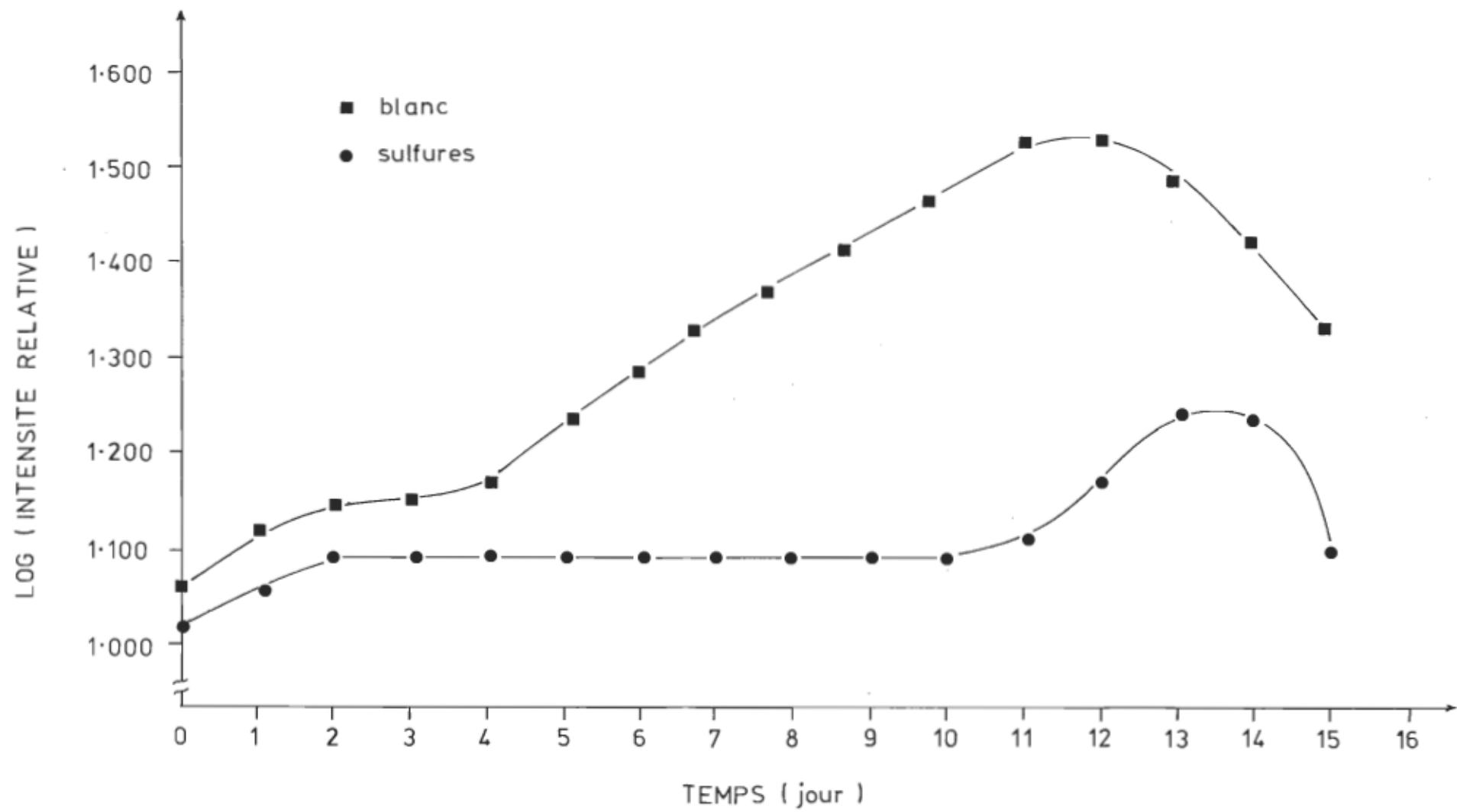


Figure 27 : Intensité relative de fluorescence d'un extrait de chlorophylle a en fonction du temps (cinétique de croissance à 11730 ppb S $^{++}$).

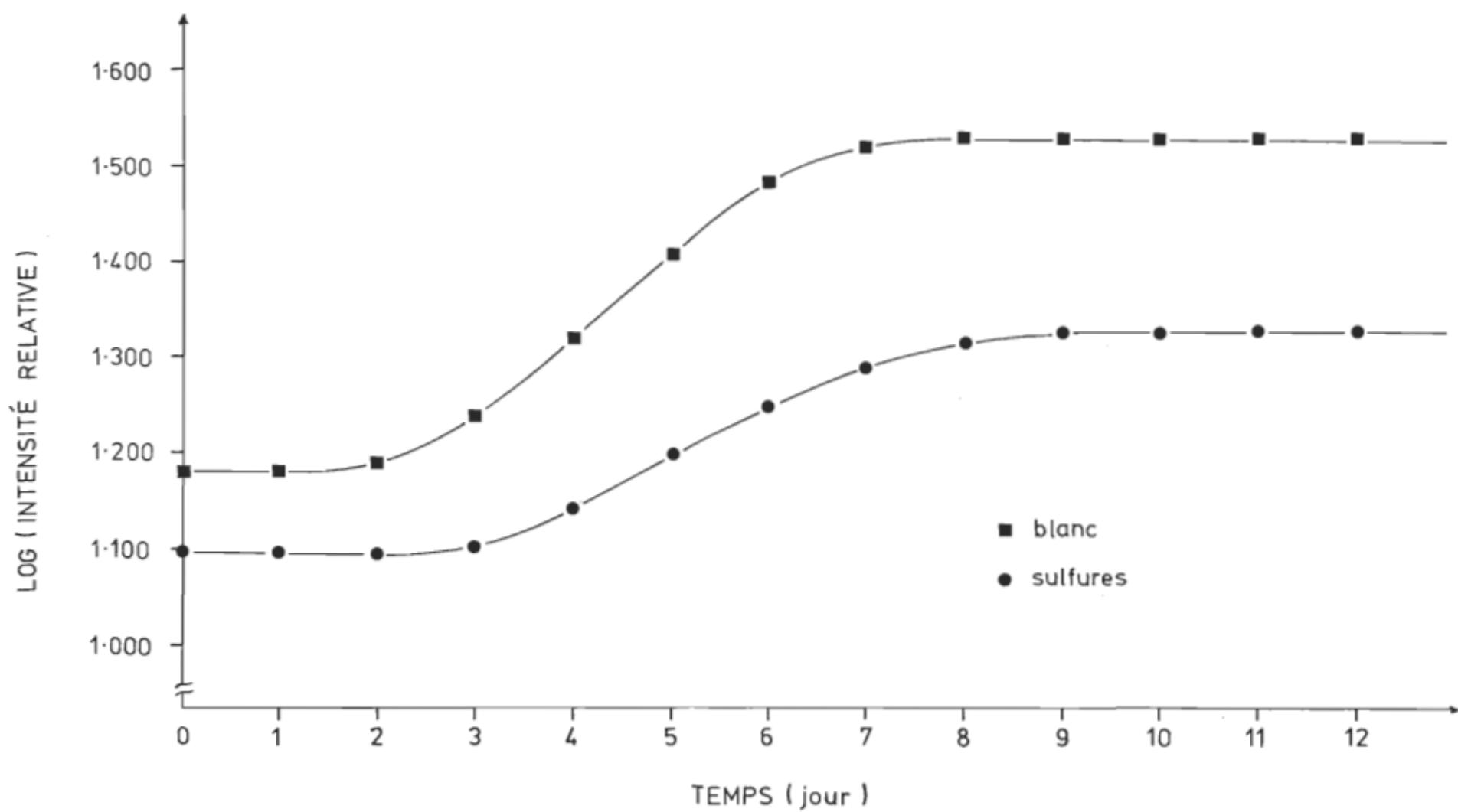


Figure 28 : Intensité relative de fluorescence d'un extrait de chlorophylle a en fonction du temps (cinétique de croissance à 6410 ppb S $^{--}$).

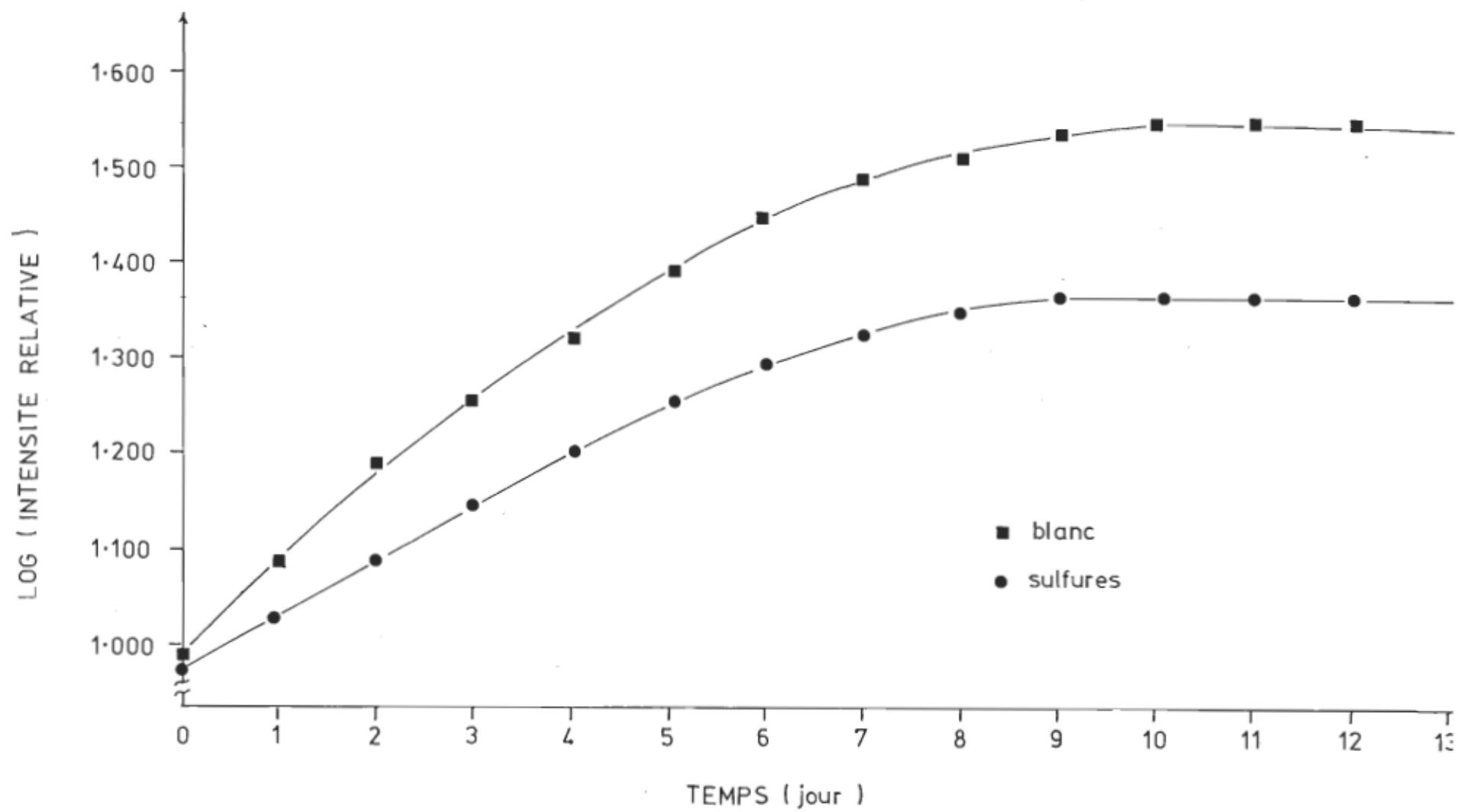


Figure 29 : Intensité relative de fluorescence d'un extrait de chlorophylle a en fonction du temps (cinétique de croissance à 680 ppb S $^{--}$).

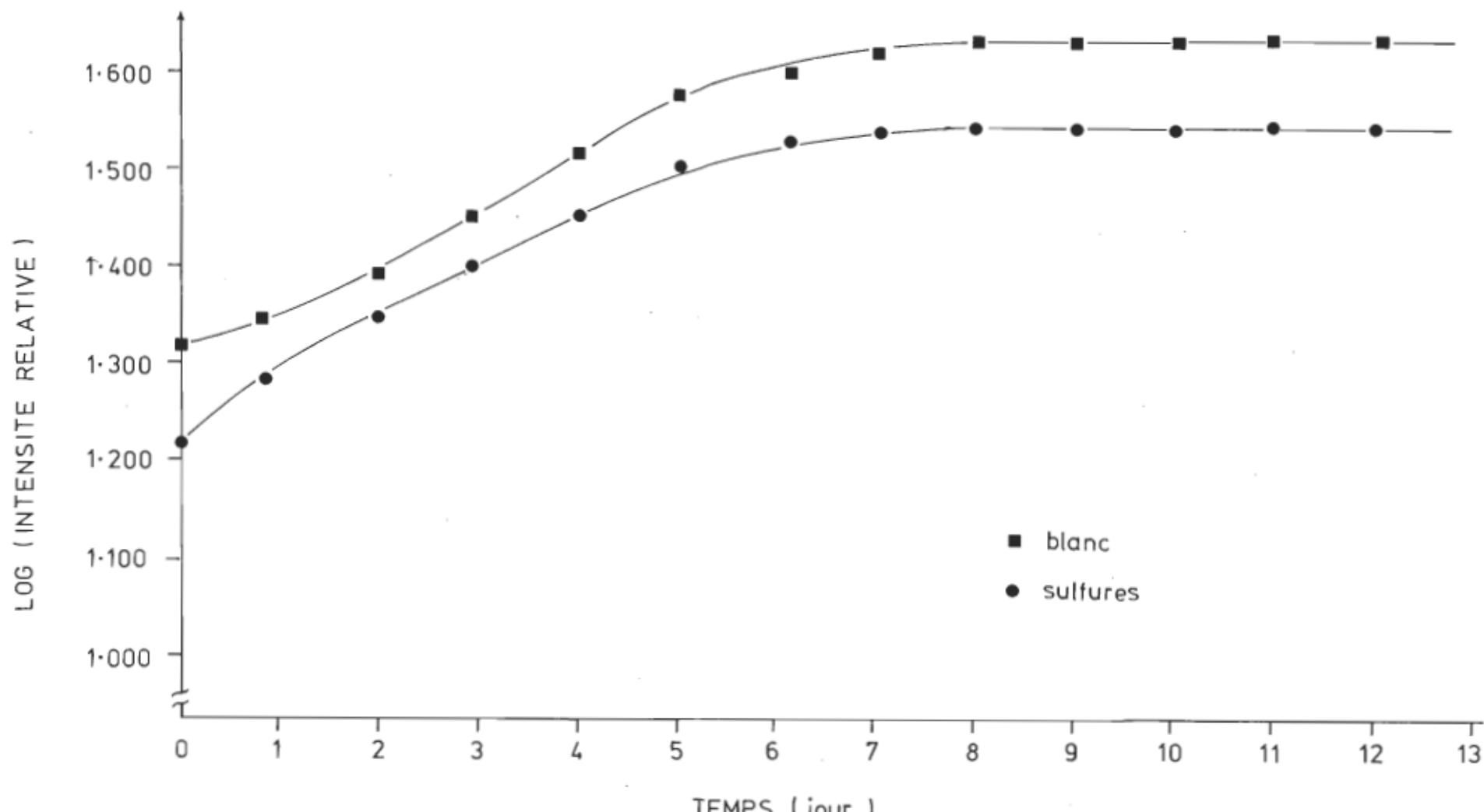


Figure 30 : Intensité relative de fluorescence d'un extrait de chlorophylle a en fonction du temps (cinétique de croissance à 180 ppb S^{--})

CHAPITRE V

DISCUSSION

CHAPITRE V

DISCUSSION

Notre cheminement expérimental fut le suivant:

- 1) préparation d'une culture mixte d'algues.
 - prélèvement
 - purification
 - montage
 - identification des espèces
- 2) sélection et mise au point des méthodes de calibration.
 - estimation de la population d'algues
 - dosage des sulfures
- 3) réalisation du montage dynamique.
 - paramètres de construction
 - assemblage du montage
 - calibration du montage
- 4) étude en montage dynamique
 - les différents essais

Dans un premier temps, nous avons donc prélevé un échantillon près du complexe thermonucléaire de Gentilly à l'aide d'un fillet à phytoplanctons. Nous avons isolé les phytoplanctons des solides en suspension et des microbes en ensemencant des plats de Pétri contenant une solution de nutriments. Sous un éclairage adéquat, les algues se sont multipliées et nous avons pu procéder à une deuxième purification. Après deux semaines, nous avons ensemencé la culture (voir la figure 3 de la page 22) contenant un milieu Bristol qui avait été autoclavé.

Nous avons ensuite identifié quelques espèces de phytoplanctons. Les figures 4 à 10 inclusivement illustrent des photographies prises à partir d'un aliquot de la culture mixte et ce à l'aide d'un microscope.

En se basant sur les cinétiques de croissance, on se doit de choisir une méthode expérimentale simple et surtout reproducible pour estimer la population de phytoplanctons à un temps donné. Parmi les méthodes généralement employées, soit celle du carbone marqué, celle du dosage de la chlorophylle a, celle du comptage des cellules, celle de la diffraction lumineuse, nous croyons que la méthode chlorophyllienne est la plus appropriée car elle est simple d'utilisation et quantitative dans les valeurs expérimentales.

Pour juger de la validité de la méthode chlorophyllienne, nous avons comparé les équations des figures 19 et 20 obtenues par la méthode des moindres carrés ; une incertitude de 3.1 % est observée pour les pentes alors que l'incertitude sur l'inter-

cept des deux équations est de 0.8 %. A la lumière de cette comparaison (culture mixte vs chlorophylle commerciale), nous avons conclu à la validité de la méthode pour les fins que nous poursuivons.

Les méthodes les plus utilisées pour le dosage des sulfures en solution sont les suivantes:

- absorptionnétique
- colorimétrique (bleu de méthylène)
- électrode à ion spécifique
- titrimétrique

En considérant les objectifs que nous nous étions fixés, la méthode colorimétrique au bleu de méthylène est idéale. Nous avons d'abord vérifié sa linéarité et sa reproductibilité en utilisant l'eau distillée comme solvant. Après avoir passé avec succès la première étape, nous avons repris les essais en utilisant l'eau du robinet ; eau que nous devions utiliser dans nos essais en système dynamique. Les résultats expérimentaux sont rapportés à la figure 17 de la page 57 et l'équation de la droite est la suivante:

$$C_{S^{2-}} = (958 A_{665} + 41, \pm 38) \text{ ppb}$$

On réalise que la droite obtenue par la méthode des moindres carrés ne suit pas la loi de Beer-Lambert, en ce sens qu'elle ne passe pas par l'origine. La pente calculée est sensiblement la même que celle obtenue avec de l'eau distillée mais on constate un déplacement de la droite avec un intercept sur la partie négative de l'axe des ordonnées en passant par le quatrième qua-

dran du système cartésien. Nous supposons qu'il existe dans l'eau du robinet une substance qui réagit avec le sulfure. La concentration de cette substance serait constante ce qui expliquerait la disparition de 41 ppb en sulfures.

Comme la limite inférieure de concentration en sulfures utilisée dans nos expériences se situe à 180 ppb, la présente méthode est applicable à notre travail.

La troisième étape de notre travail expérimental consistait à réaliser un montage dynamique. Les paramètres et facteurs que nous avons considérés lors de la conception sont les suivants:

- taille du phytoplancton
- oxydation possible des sulfures si le temps de rétention de la cellule d'étude est trop grand.
- constance de la concentration en sulfures
- constance de la concentration de nutriments
- matériaux inertes
- éclairage (intensité de la lumière à la surface de l'eau: 150mW/cm^2)
- température ($20.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$)
- dimensions globales du montage qui nous permettraient de l'insérer dans une hotte.

En s'inspirant du montage dynamique réalisé par Colby et Smith (1967) (23) et en l'adaptant à notre étude sur le phytoplancton, nous avons conçu le montage de la figure 22 (voir page 68).

Avant de vérifier si les sulfures ont un effet quelconque sur le processus de division cellulaire du phytoplancton, il nous faut contrôler le maximum de paramètres susceptibles d'affecter

nos essais.

Selon Griffiths (1973) (24), les facteurs influençant la capacité photosynthétique d'une culture sont principalement la température, l'intensité d'éclairage, la période d'éclairage et la concentration en nutriments. Ces facteurs ayant été pris en considération lors de la conception du montage(voir p. 21, 23, 84); il ne nous restait plus qu'à introduire l'agent polluant dans les proportions désirées. En manipulant les débitmètres et en ajustant la pompe péristaltique, on réussit à obtenir la concentration désirée en sulfures dissous dans la section expérimentale de la cellule d'étude. Par des vérifications périodiques, on s'assure de la constance de cette concentration pour la durée de l'essai.

Après avoir vérifié de façon spectrophotométrique la concentration d'un aliquot de la culture ; on dilue à la concentration initiale désirée et on débute l'essai. Pour vérifier la croissance dans le temps de chaque échantillon, on extrait la chlorophylle a à partir de 10 millilitres et on détermine la concentration à des temps précis. L'essai est considéré comme complet lorsque la phase stationnaire est atteinte, ce qui requiert une douzaine de jours.

En nous reportant à la figure 11 de la page 35 qui relate les différentes phases de croissance d'une culture statique, il y a trois zones qui sont susceptibles de nous fournir une corrélation, en l'occurrence:

- 1) la phase d'adaptation, par sa durée.
- 2) la phase exponentielle, par son taux de croissance.
- 3) la phase stationnaire, par sa population maximale.

Afin d'avoir une certaine reproductibilité, nous allons sélectionner la zone appropriée en utilisant les essais à blanc. Les informations que nous pouvons tirer de la figure 31 sont les suivantes :

- 1) absence de la zone d'adaptation lors de certains essais.
- 2) le temps de stabilisation des échantillons est reproducible et il est d'environ huit (8) jours.
- 3) bonne reproductibilité de la zone stationnaire dans tous les essais à blanc. L'écart maximum est de 5.1 % par rapport à la valeur moyenne des six (6) essais.

Nous sommes obligés de rejeter la zone d'adaptation car sa reproductibilité est peu satisfaisante. Etant donné que le taux de croissance est relié à cette même zone d'adaptation, nous sommes également tenus de rejeter la zone de croissance exponentielle car l'incertitude d'une telle corrélation devient beaucoup trop grande. La reproductibilité quant à la zone stationnaire chez les essais à blanc nous porte à croire qu'il y a effectivement effet dû à la présence de l'hydrogène sulfuré, la corrélation entre les différents essais de concentrations différentes nous sera fournie par cette zone.

Selon O'Brien (1972) (25), les plantes répondent suivant deux types de croissance lors d'une variation de la concentration d'un facteur relié à la croissance (voir la figure 32). Le type 1 nous démontre un changement dans la densité finale (zone stationnaire) de la culture tandis que le type 2 s'attarde à une variation du taux de croissance.

Selon la figure 32, en augmentant la concentration du fac-

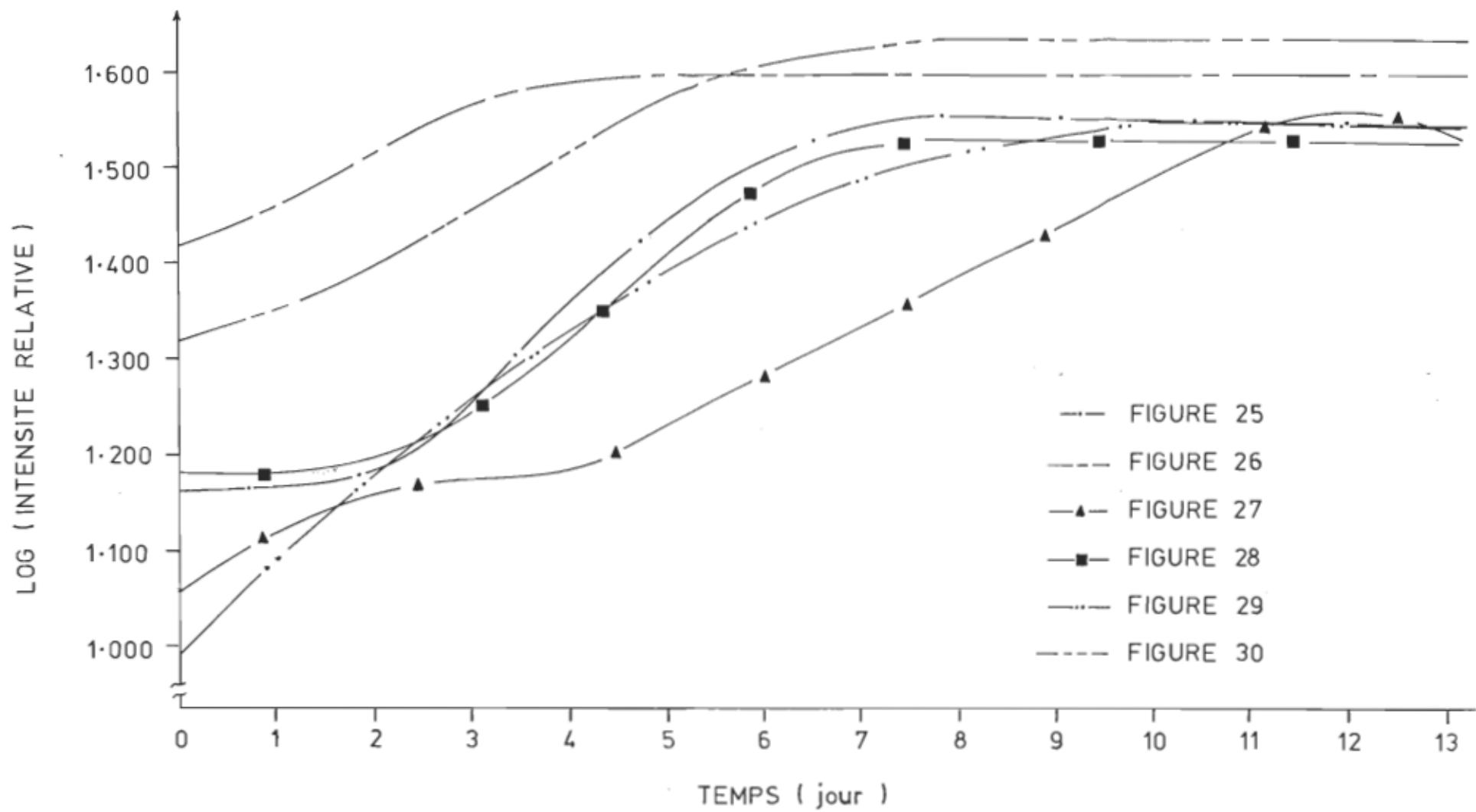


Figure 31 : Intensité relative de fluorescence d'un extrait de chlorophylle a en fonction du temps (cinétique de croissance à blanc).

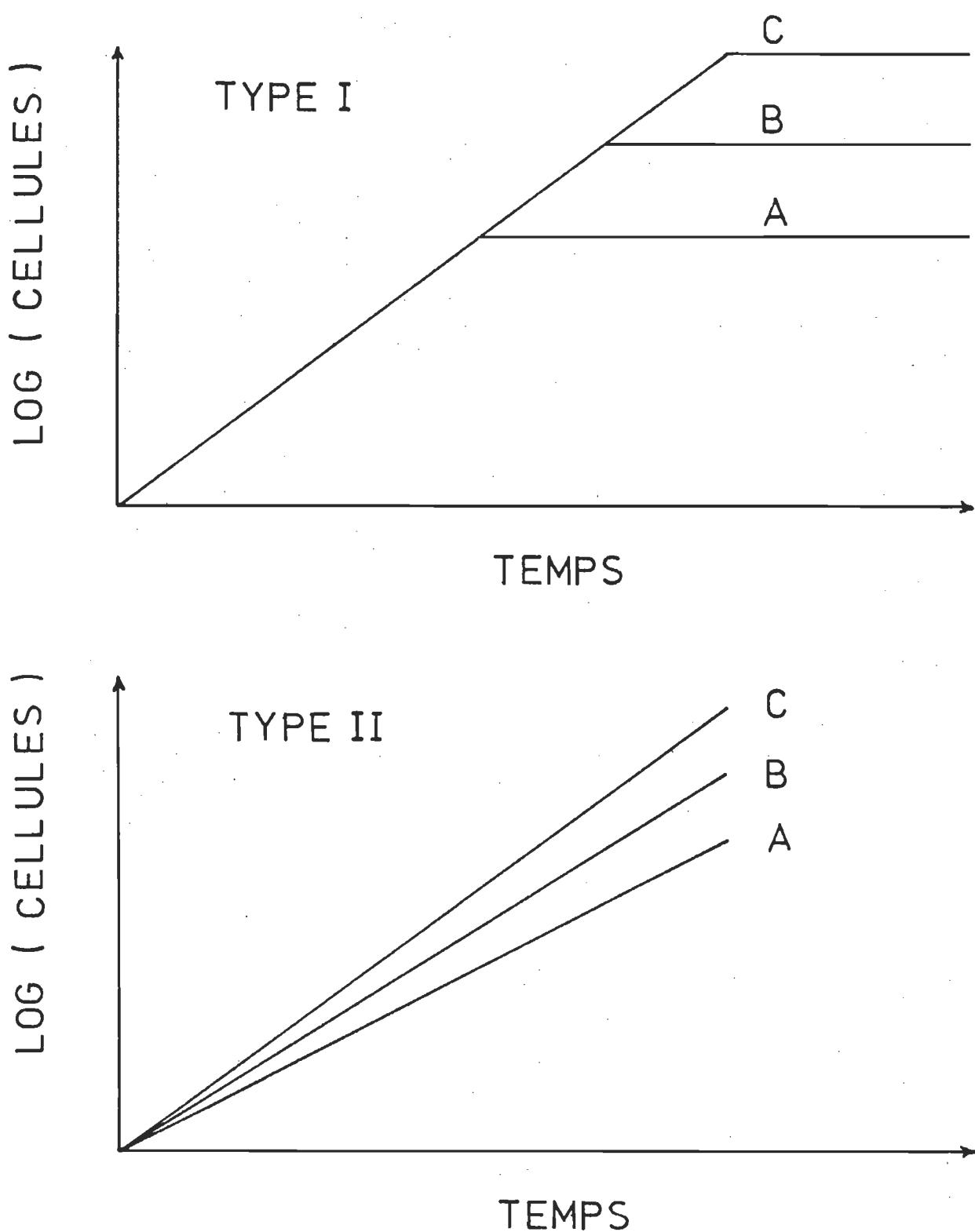


Figure 32 : Différents types de croissance de cultures d'algues en fonction du temps.

Source : O'Brien (1972) (25)

teur influençant la croissance du phytoplancton. ($A < B < C$), nous facilitons d'autant la croissance en fonction du temps. Nous pourrions, par exemple observer un de ces deux types de croissance en faisant varier la concentration en azote.

Dans notre cas, nous sommes en présence d'une cinétique de croissance de "type I". Toutefois, l'effet d'une augmentation de concentration du polluant est de diminuer les possibilités de reproduction du phytoplancton. Nous parlerons donc d'inhibition.

La reproductibilité quant à la zone stationnaire chez les essais à blanc nous porte à croire qu'il y a effectivement effet dû à la présence de l'hydrogène sulfuré. La corrélation entre les essais de différentes concentrations nous sera fournie par cette zone.

Tableau XII : Compilation des intensités moyennes de fluorescence des différents essais pour la phase stationnaire.

Figure	C_S -- (ppm)	$\log I_p$		I_p	
		sulfure	blanc	sulfure	blanc
25	1.300	1.360	1.536	22.91	34.40
26	17.040	1.090	1.594	12.30	39.30
27	11.730	1.240	1.495	17.38	31.25
28	6.410	1.319	1.510	20.84	31.40
29	0.680	1.365	1.540	23.19	34.70
30	0.180	1.534	1.629	34.20	42.60

En effectuant la moyenne de tous les essais à blanc, nous obtenons en absence de sulfure une valeur de $I_p = 35.61$.

La figure 33 révèle qu'il y a effectivement corrélation entre le log. de l'intensité moyenne de fluorescence du plateau stationnaire et la concentration en sulfures. Les valeurs proviennent du tableau XII qui donne les résultats des différents essais.

Tableau XIII: Compilation des pourcentages d'inhibition calculés pour la population finale de chaque essai.

Figure	$C_{S^{--}}$ (ppm)	I_p (intensité relative)	Pourcentage d'inhibition*
—	0	35.61	—
30	0.180	34.20	3.96
29	0.680	23.19	34.87
25	1.300	22.91	35.66
28	6.400	20.84	41.48
27	11.730	17.38	51.19
26	17.040	12.30	65.46

* Le pourcentage d'inhibition est calculé à partir de la relation: % d'inhibition = $(1 - (I_p \text{ sulfures} / I_p \text{ blanc})) \times 100\%$

N.B. Les résultats de ce calcul sont dans le tableau XIII et font l'objet de la figure 34.

À la lumière des résultats obtenus, nous pouvons affirmer hors de tous doutes que la présence de sulfures en solution a une action inhibitrice sur la croissance du phytoplancton et ce même à très faibles concentrations.

Les causes possibles d'un tel effet inhibiteur se résument ainsi,

- contact direct avec un composé ou ion inhibiteur
- interaction entre le contaminant et le milieu ; ayant pour résultat l'élimination ou la réduction en concentration d'un composé essentiel

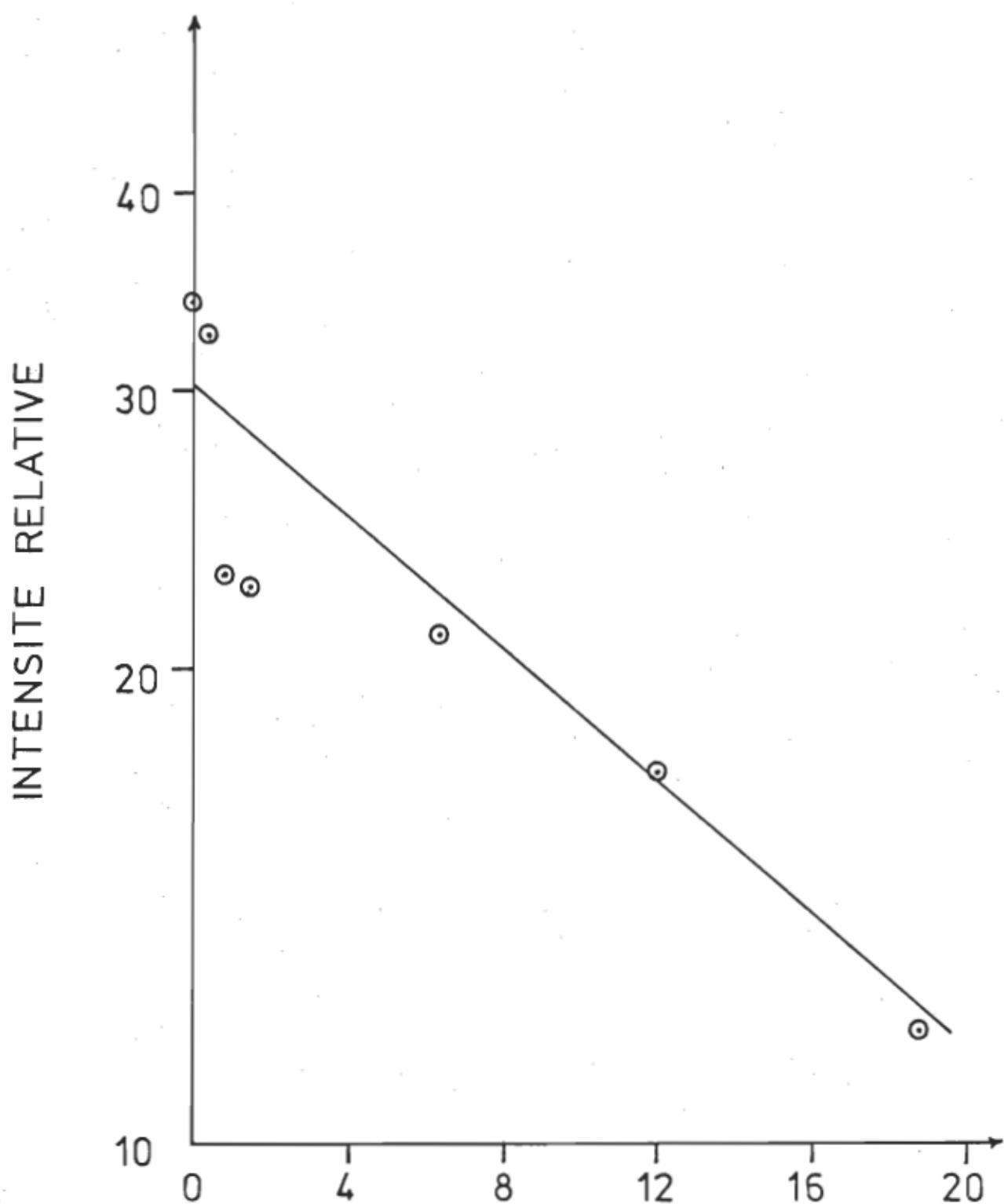


Figure 33 : CONCENTRATION EN SULFURES (ppm)

Logarithme de l'intensité moyenne de fluorescence du plateau stationnaire en fonction de la concentration en sulfures.

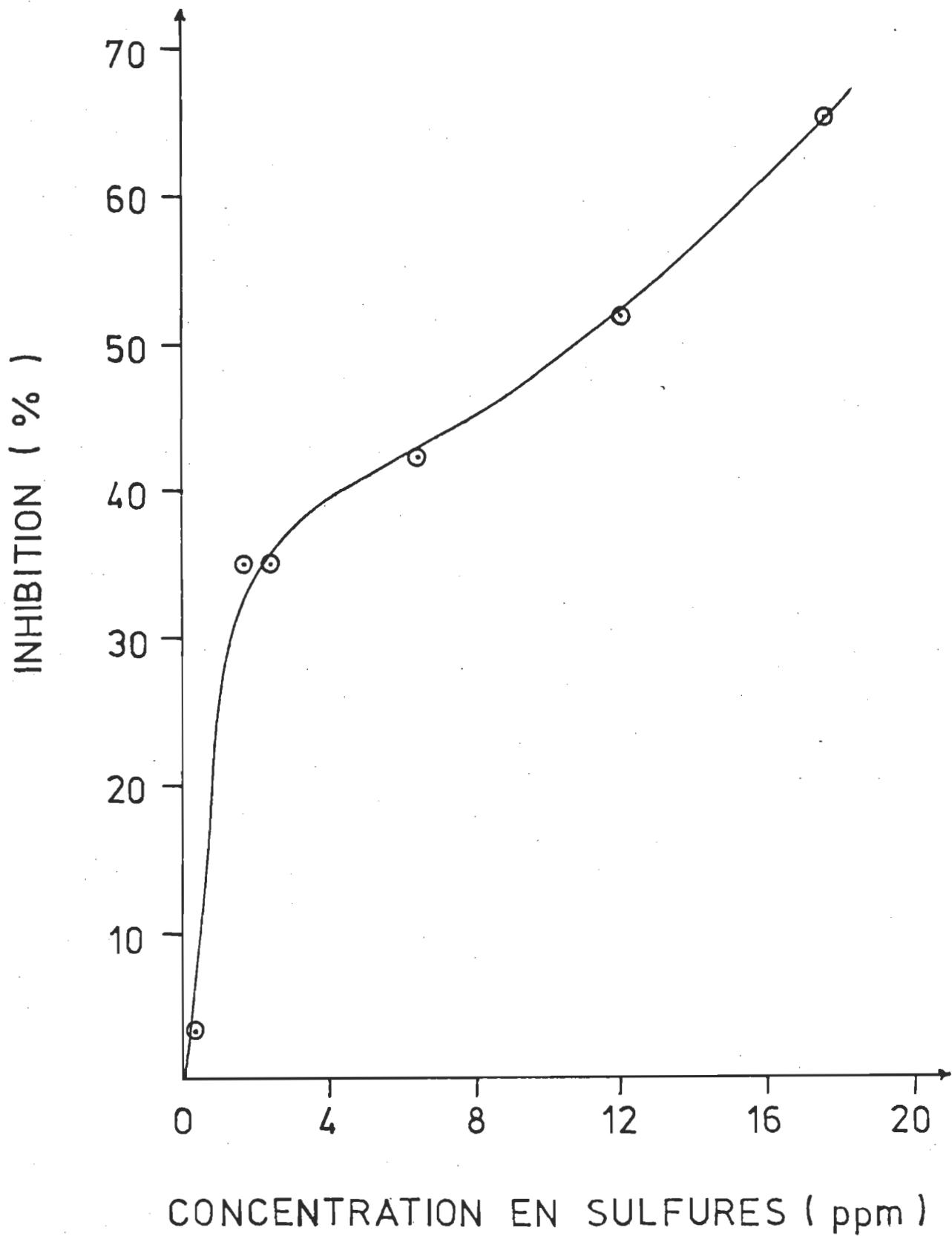


Figure 34 : Pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en sulfures.

- adsorption d'un composé ou ion à la surface du plancton.

La corrélation démontrée par les figures 33 et 34 nous porte à conclure à un effet marqué même aux faibles concentrations en sulfures.

En utilisant la phase stationnaire de la courbe de croissance, nous nous basons sur la théorie de l'espace vital qui délimite le nombre maximum d'individus acceptables sans mettre en péril la survie de la collectivité et ce pour un environnement et des conditions données.

L'effet de la présence des sulfures, tel que nous le percevons, est d'abaisser ou d'inhiber la capacité de reproduction que possède le phytoplancton et ce en ajoutant aux contraintes déjà existantes. Une concentration supérieure en sulfures correspondrait à une quantité additionnelle de contraintes.

En admettant que la multiplication d'organismes microbiens est exponentielle, pour chaque génération nouvelle d'individus astreinte à ne pas voir le jour ; l'effet de telles contraintes ne peut être que logarithmique.

La figure 33 nous permet d'affirmer que la relation est effectivement logarithmique entre l'intensité moyenne de fluorescence du plateau stationnaire et la concentration en sulfures.

Une dernière compilation utilisant la population finale de chaque essai par comparaison à celle des essais à blanc, nous permet de calculer le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en sulfures (voir la figure 34).

Selon le rapport préliminaire de Canatom (1974) (3), les effluents de l'usine d'eau lourde La Prade contiendront 300 ppb en sulfures. La figure 34 prédit une inhibition de 10 % à cette concentration et aux conditions mentionnées aux pages 84 et 85. Adelman (1970) (4) a noté des problèmes majeurs pour les poissons à des concentrations beaucoup plus faibles que 300 ppb.

Toujours dans le même rapport, Canatom affirme "la turbulence normale du fleuve permettra une dilution efficace..." (traduction). Si le calcul fut effectué en fonction du débit total du fleuve St-Laurent, nous acceptons avec certaines réserves l'argumentation soulevée. Par contre, si les effluents sont déversés dans une région où on ne peut compter que sur 20 % du débit total, la dilution (qui est un moyen de traitement très discutable) ne se fera pas aussi rapidement que souhaitable pour la faune et la flore aquatique.

Il est encore trop tôt pour jauger l'importance de notre recherche. Néanmoins la guerre d'usure entre les industriels et les environmentalistes se poursuit et nous avons le sentiment d'avoir marqué un point.

Nous nous devons d'encourager l'amorce de projets qui éclairciraient les questions soulevées par notre étude. Dans la même ligne de pensée, il serait essentiel de vérifier l'importance des différentes espèces planctoniques en fonction des saisons et ensuite d'effectuer des études face à différents polluants industriels des espèces prépondérantes. Il y aurait également lieu de vérifier le taux de toxicité à ces différents polluants, de

toute la faune aquatique du fleuve St-Laurent.

En terminant, qu'il me soit permis de traduire le plus exactement possible une pensée d'un musicien moderne dont le nom est Klaus Schulze, alors qu'il s'interrogeait sur sa musique; "Selon moi, la musique est la peinture de fond à une projection mentale; l'interprétation exacte doit venir de l'auditeur, car il doit y ajouter une signification."

Amicalement vôtre,

Mario Lupien

Avril 1978

CHAPITRE VI

LISTE DES OUVRAGES CITES

CHAPITRE VI

LISTE DES OUVRAGES CITES

- (1) LUMB, P.B.. (1975). Les usines d'eau lourde au Canada et leurs implications. Conférence donnée à l'Université du Québec à Trois-Rivières, le 20 novembre 1975.
- (2) ENERGIE ATOMIQUE DU CANADA Limitée (1970). L'eau lourde. Publication PP-8FR.
- (3) CANATOM MONMAX. (1974). Environmental Assessment Report for An-Heavy Water Plant In Quebec (Preliminary).
- (4) ADELMAN, I.R. et L.L. Smith Jr.,(1970). Effect of hydrogen sulfide on northernpike eggs and sac.fry. Am. Fish. soc. Trans., 99: 501-509.
- (5) SMITH, L.L. et D.M. OSEID (1972). Effects of hydrogen sulfide on fish eggs and fry. Water Research, Permagon Press, vol. 6, 711-720.

- (6) BOUGIS, P. (1974). Ecologie du plancton marin : Tome 1, le phytoplancton. Mason et cie, Paris.
- (7) MONOD J. (1949). The growth of bacterial cultures. Ann. Rev. Microbiol., 3: 371-394.
- (8) KOBAYASI, H. (1961). Chlorophyll content in sessile algal community of Japanese mountain river, Böt. Mag., Tokyo, 74: 228-35.
- (9) PETERS, J.C., R.C. BALL et N.R. KERVERN (1968). An evaluation of artificial substrats for measuring periphyton production. Michigan State Univ. Dept. Fish. Wildlife, tech. rep. No. 1.
- (10) EPPELEY, R.W. et P.A. SLOAN (1966). Growth rates of marine phytoplankton: correlation with light absorption by cell chlorophyll a. Physiol. Plant., 19: 47-59.
- (11) PARSONS, T.R. et J.D.H. STRICKLAND (1963). Discussion of spectrophotometric determination of marine plant pigments, with revised equations for ascertaining chlorophylls and carotenoids. J. Mar. Res., 21: 155-163.
- (12) RICHARDS, F.A. et T.G. THOMPSON (1952). The estimation and characterization of plankton populations by pigment analysis. J. Mar. Res., 11: 156-172.

- (13) PARSONS, T.R. et J.D.H. STRICKLAND (1965). Particulate organic matter: pigment analysis, determination of phytoplankton pigments. J. Fish. Res. B. Canada, 18: 117-127.
- (14) JEFFREY, S.M. et G.F. HUMPHREY (1975). New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c₁ c₂ in higher plants, algae, and natural phytoplankton. Biochem. Physiol. Pflanz., 167 (2): 191-4.
- (15) SEILY, G.R. et R.G. JENSEN, (1965). Effect of solvent on the spectrum of chlorophyll. Spectrochimica Acta, 21: 1835-45.
- (16) YENTSCH, C.S. et D.N. MENZEL (1963). A method for the determination of phytoplankton chlorophyll and phaeophytin by fluorescence. Deep-Sea Res., 10: 221-31.
- (17) HOLM-HANSEN, O., C.J. LORENZEN, W.R. HOLMES et J.D.H. STRICKLAND (1965). Fluorometric determination of chlorophyll. J. Cons. Perm. Int. Explor. Mer., 30, No 1, 3-15.
- (18) RAHIM, S.A., A.Y. SALIM et MRS. S. SHEREET. (1973). Absorptiometric determination of trace amounts of sulfide ion in water, Analyst, 98 (1973): 851-6.
- (19) BARICA, J., (1973). Use of a silver-sulfide electrode for standardizing aqueous sulfide in water. J. Fish. Res.

Board of Canada, 30 (10): 1589-91.

(20) ORION RESEARCH (1975). Analytical methods guide. Seventh Edition.

(21) BAUMANN, E.W. (1974). Determination of parts per billion sulfide in water with the sulfide selective electrode. Analytical Chemistry, 46 (9): 1345-7.

(22) AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (1967). Standard methods for the examination of water and waste water including bottom sediments and sludges deposits in Rainy River. 12th Ed., New York, 769 pp.

(23) COLBY, P.J. et L.L. SMITH Jr (1967). Survival of walleye eggs and fry on paper fiber sludge deposits in Rainy River. Am. Fish. Soc. Trans., 96: 278-296.

(24) GRIFFITHS, D.J. (1973). Factors affecting photosynthetic capacity of laboratory cultures of the diatom Phaeodactylum. Marine Biology, 21: 91-97.

(25) O'BRIEN, W.J. (1972). Limiting factors in phytoplankton algae ; their meaning and measurement. Sciences, 178 (4061): 616-7.

CHAPITRE VII

BIBLIOGRAPHIE

CHAPITRE VII

BIBLIOGRAPHIE

AKSENOVA, Y.I. (1971). The comparative aspects of using the chlorophyll method. Hydrobiol. J. (973), 7 (4): 91-93.

ALFEROVA, L.A. et G.A. TITOVA (1974). Catalysts for removal of hydrogen sulfide and its salts from waste waters by air oxydation. Tr. VNII vodosnabzh., kanaliz., giorotskhns soozruzh. i inzh. girdogeol., 43: 4-6.

ALLAN, C.J. et J.G. BAYLY (1975). Apparatus for detecting hydrogen sulfide in the production of heavy water. Ger. Offen. 2, 452, 685 (CL.GOIN), 02 Oct. 1975, 17pp.

ALMGREN, T. et I. HAGSTRÖM (1974). The oxydation rate of sulfide in sea water. Water Research, Vol. No. 8, Pentagon Press, 395-400.

AUMERAS, M. (1928). Contribution à l'étude des équilibres ioniques. J. Chem. Phys., 25: 727.

BACHRACH, E. et N. LUCCIARDI (1932). Influence de la concentration en ion hydrogène (pH) sur la multiplication de quelques diatomés marines. Rev. Algol., 6: 251-261.

BALLESTER, A. (1973). Continuous fluorimetric analysis of the phytoplankton. Afinidad, Vol. 30, 309-310: 787-794.

BARBER, R.T. (1972). Organic ligands and phytoplankton growth in nutrient-rich sea-water. Trace met. met.-org. interact. nat. waters, (Symp.), 321-338.

BARLOW, J.P., W.P. SCHAFFNER, F. DE NOYELLES Jr. et B. PETERSON (1973). Continuous flow nutrient bioassays with natural phytoplankton populations. Bioassay Tech. Environ. Chem., 299-319.

BELYANIN, V.N., V.V. SPIROV et E.A. FURYAEV, (1975). Spectrophotometry of individual Chlorella cells. Biofizika, 20 (5): 848-852.

BERMAN, T. et R.W. EPPELEY (1974). The measurement of phytoplankton parameters in nature. Sci. Prog. Oxf., 61: 219-239.

BLACK, C.C., J. BURRIS et R.G. EVERSON (1976). Influence of oxygen concentration on photosynthesis in marine plants. Aust. J. Plant Physiol., 3 (1): 81-86.

BOULEGE, J. et G. MICHARD (1974). Problems encountered in the determination of sulfides dissolved in natural reductor media.

C. R. Acad. Sci., Ser. D., 278 (7): 805-807.

BOURRELLY, P. (1966). Les algues d'eau douce, Tome I, Les algues vertes, N. Boubée et Cie, 511 pp.

BROCK, T.D. et M.L. BROCK (1968). The measurement of chlorophyll, primary productivity, photophosphorylation and macromolecules in benthic algae. Limnol. and Oceanogr., 12: 600-605.

CHEN, K.Y. et J.C. MORRIS (1970). Oxidation of aqueous sulfide by O₂. 5th Int. Cont. Wat. Pollut. Res., San Francisco, Calif.

CHEN, K.Y. et J.C. MORRIS (1972). Kinetics of oxydation of aqueous sulfide by O₂. Environmental Science & Technology, 6 (6): 529-537.

CHEVALIER, J.R. (1973). Toxicity of sodium sulfide to Commun-shiners - Dynamic Bioassay. Div. Ind. Environ. Syst., 56 (5): 135-136.

CREITZ, G.I. et F.A. RICHARDS (1955). The estimation and characterization of plankton populations by pigments analysis. J. of Marine Res., 14: 211-216.

DAVIES, R.M., (1975). Zooplankton entrainment at three mid-atlantic power plants. J. of Water Pollution Control Federation, 47 (8): 2130-2142.

DUNNETTE, D.A. (1973). Chemical ecology of hydrogen sulfide production in fresh water lake sediment. Univ. of Michigan, Ann. Arbor, 133pp.

DUNSTAN, W.M. (1975). Problems of measuring and predicting influence of effluents on marine phytoplankton. Environ. Sci. Technol., 9 (7): 635-638.

DYER, D.L. et D.E. RICHARDSON (1962). Materials of construction in algal culture. Applied Microbiology, 10: 129-132.

EPPELEY, R.W. (1972). Temperature and phytoplankton growth in the sea. U.S. Natl. Mar. Fish. Ser., Fish. Bull. (973), 70 (4): 1063-1085.

FLEMING, A.N. (1975). Periodicity, identification and control of algae in managed ponds. Gov. Rep. Ann. Index (U.S.), 75 (15): 39.

FLEMING, W.M. (1975). Model of phosphorus cycle and phytoplankton growth in Skana Lake, British Columbia. Avail. Natl. Libr. Canada, Ottawa, Ont., From Diss. Abstr. Int. B., 35 (11): 5470.

GAVIS, J. et J.F. FERGUSON (1975). Kinetics of carbon dioxide uptake by phytoplankton at high pH. Limnol. Oceanogr., 20 (2): 211-221.

GERHART, D.Z. (1973). Nutrient limitation and production of

phytoplankton in Mirror Lake. West Thornton, New Hampshire,
129pp.

GOLTERMAN, H.L. (1970). Methods for chemical analysis of fresh waters. Blackwell Scientific Publications, London, 52-54.

HAMELIN, A. et J. MEUNIER (1976). Etude des effets de l'hydrogène sulfuré et des sulfures dissous sur l'algue verte Chlorella. Présenté dans le cadre du cours 723-721 Projet de fin d'étude et séminaires, Université du Québec à Trois-Rivières.

HELLEBUST, J.A. et J. TERBORGH (1967). Effects of environmental conditions on the rate of photosynthesis and some photosynthetic enzymes in Dunaliella tertiolecta butcher. Limnol. Oceanogr., 12: 559-567.

HERVO, G., G. Pailletin, J. THIERRY, et G. BREUZE (1975). Determination of the various fluorescence lifetimes exhibited in vivo by chlorophyll a. J. Chim.- Phys. Chim.- Biol., 72 (6): 761-766.

HUBER-PESTALOZZI; G. (1938). Die Binnengevasser 1. Teil Allgemeiner Teil Blaualgen, Bakterien. Pilze, 342pp.

HUSTEDT; F. (1930). Die Süsswasser Flora mittleuropas. Hift 10: Bacillariophyta (diatomeae), ed. A. Pascher, 466 pp.

ICHIMURA, S., Y. SAIJO et Y. ARUGA (1962). Photosynthétic cha-

racteristics of marine phytoplankton and their ecological meaning in the chlorophyll method. Bot. Mag., Tokyo, 75: 212-220.

JITTS, H.R., C.D. McALLISTER, K. STEPHENS et J.D.H. STRICKLAND (1964). The cell division rates of some marine phytoplankters as a function at light and temperature. J. Fish. Res. Bd. Canada, 21 (1): 139-157.

KIETER, D.A. (1973). Fluorescence properties of natural phytoplankton populations. Mar. Biol. (Berl.), 22 (3): 263-269.

LEMBI, C.A. et S.E. COLERIDGE (1975). Selective toxicity of detergents and herbicides to phytoplankton. Tech. Rep. Purdue Univ. Water Res. Cent., 71, 71 pp.

LINCOLN, A. (1974). Using a fluorometer to measure phytoplankton concentrations at sea and in the laboratory. Br. Phycol. J., 9 (2): 222.

LOFTUS, M.E. et H.H. SELIGER (1975). Limitations of the in vivo chlorophyll a fluorescence technique. Avail. Ntes From Nuck. Sci. Abstr., 31 (3); Abstr. No. 8053.

LORENZEN, C.J. (1967). Determination of chlorophyll and pheo-pigments, spectrophotometric equations. Limnol. Oceanogr., vol. 12, 335-346.

LOWE, R.L. (1974). Environmental requirements and pollution

tolerance of fresh waters Diatoms. U. S. Ntis, Pb. Rep. 1974,
No. 239490, Avail. Ntis from Gov. Rep. Ann. Index (U. S.) 1975,
75 (10), 35.

Mc ALLISTER, C.D., N. SHAH et J.D.H. STRICKLAND (1964). Marine phytoplankton photosynthesis as a function of light intensity ; a comparaison of methods. J. Fish. Res. Bd. Canada, 21 (1) : 159-181.

MEUNIER, L. et M. KAPP, (1932). Oxydation par l'air des solutions étendues de sulfure de sodium. Chim. Ind., 27, numéro spécial, 3 : 718.

MOEST, R.R. (1975). Hydrogen sulfide determination by the methylene blue method. Anal. Chem. 47 (7) : 1204-1205.

MORRIS, I. et H.E. GLOVER (1974). Questions on the mechanism of temperature adaptation in marine phytoplankton. Mar. Biol. (Berl.), 24 (2) : 147-154.

MOSS, B. (1973). The influence of environmental factors on the distribution of freshwater algae ; An experimental study. The Journal of Ecology, 61 (1) : 157-177.

MOUNTFORD, K. (1973). Parallel measurements of phytoplankton photosynthesis using dissolved oxygen and Carbon-14 in the vicinity of nuclear power plant. Bull. N. J. Acad. Sci., 18 (2) : 26-29.

MANAMAR, M. et N.M. BURNS (1976). Relationships of phytoplankton biomass with soluble nutrients, primary production, and chlorophyll a in Lake Erié, 1970. J. Fish. Res. Board Can., 33 (3): 601-611.

MURRAY, S., J. SCHERFIG et P.S. DIXON (1971). Evaluation of algal assay procedures - PAAP batch test. Water Pollution Control Federation Journal, 43: 1991-2003.

PAASCHE, E. (1975). Growth of the plankton diatom Thalassiosira riordiniskideldii at low silicate concentrations. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 18 (2): 173-183.

PACKARD, T.T., A.H. DEVOL et F.D. KING (1975). Effect of temperature on the respiratory electron transport system in marine plankton. Deep-sea Res. Oceanogr. Abstr., 22 (4): 237-249.

PACKSHINA, E.V. et I. KRASNOWSKI (1974). Study of photoreduction of bacteriochlorophyll, chlorophyll, and their Mg free derivatives by sodium sulfide and hydrogen sulfide. Biofizika, 19 (2): 238-243.

PATRICK, R. et C.W. REYNER (1966). The diatoms of the United States, vol. 1., 688 pp.

PRESCOTT, G.W. (1970). Algae of the great lakes area. William C. Brown Co., 977 pp.

RICE, H.V., D.A. LEIGHTY et G.C. McLEOD (1973). Effects of some trace metals on marine phytoplankton. CRC Crit. Rev. Microbiol., 3 (1): 27-49.

RICE, T.R. et R.C. FERGUSON (1975). Response of estuarine phytoplankton to environmental conditions. Belle W. Baruch Libr. Mar. Sci., 3(Physiol. Ecol. Estuarine Org.), 1-43.

RICHARDS, F.A. (1952). The estimation and characterization of plankton populations by pigment analysis. J. Mar. Res., vol.II, 147-155.

RODIER, J. (1975). L'analyse de l'eau ; eaux naturelles, eaux résiduaires et eau de mer. Tome 1, 5th ed., Dunod, 629 pp.

SHIMURA, S et Y. FUJITA (1973). Some properties of the chlorophyll fluorescence of the diatom *Phaeodactylum tricornutum*. Plant Cell Physiol., 14 (2): 341-352.

SOROKIN, E.M. (1975). Duration of chlorophyll a fluorescence in Chlorella cells with respect to temperature. Biofizika, 20 (5): 941-942.

STECHER, P.J. (1972). Pollution control review No 5 : hydrogen sulfide removal processes. Noyes Data Corp., Park Ridge, N.J. 288 pp.

STEIN, J.R. (1973). Handbook of phycological methods ; culture

methods and growth measurements. New York, Cambridge Univ. Press, 448 pp.

TAFT, C.E. et C.W. TAFT (1971). The algae of Western lake Erie, Ohio State Univ., 189 pp.

TALLING, J.F. et D. DRIVER (1961). Some problems in the estimation of chlorophyll a in phytoplankton. Proceedings, conference of primary productivity measurement, Marine and Freshwater, Hawaii, U.S. Atom. Ener. Comm. TID-7633, 142-146.

VERNON, L.P. (1960). Spectrophotometric determination of chlorophylls and phaeophytins in plant extracts. Anal. Chem., 32 (9): 1144-1150.

WEISS, D. (1974). Determination of sulfides in water by an ion selective electrode. Chemicke Listy, 68 (5): 528-534.

WESTERMANN, VON H.D., A. THALMANN et H. KUMMER (1975). Toxicity of hydrogen sulfide in animal feeding, survey of the literature. Landwirtschaftliche forschung, 28: 70-80.

YENTSCH, C.S. (1974). Environmental physiology of marine phytoplankton. Oceanogr. Mar. Biol., 12: 41-75.

YENTSCH, C.S. et I. MORRIS (1972). A new method for concentrating phytoplankton by filtration with continuous stirring. Limnol. Oceanogr., 17 (3): 490-493..

YENTSCH, C.S., C.M. YENTSCH, L.R. STRUBE et I. MORRIS (1974).

Influence of temperature on the photosynthetic efficiency in
natural populations of marine phytoplankton. AEC Symp. Ser.,
32: 508-517.