

Université du Québec
INRS-Eau, Terre et Environnement

**PRISE EN CHARGE INTRA-CELLULAIRE ET EXTRA-CELLULAIRE DE L'ALUMINIUM ET DES
FLUORURES PAR LES ALGUES VERTES DANS DES EFFLUENTS D'ALUMINERIES SIMULÉS**

Par
Danaé Pitre

Mémoire présenté
pour l'obtention
du grade de Maître ès sciences (M.Sc.)
en Sciences de l'eau

Jury d'évaluation

Examineur externe

Gérald J. Zagury
École Polytechnique de Montréal

Examineur interne

Peter G.C. Campbell
INRS-Eau, Terre et Environnement

Directeur de recherche

Claude Fortin
INRS-Eau, Terre et Environnement



«C'est bien sûr qu'on a découvert entre temps que c'est le chemin qui nous a fait.»

- Gilles Vigneault, juillet 2010.



REMERCIEMENTS

D'abord, je tiens à remercier mon directeur de recherche, Claude Fortin, pour la qualité de son encadrement, sa grande disponibilité et son sens du détail. Merci de m'avoir fait confiance pour mener à terme ce projet.

Je tiens aussi à remercier Monsieur Amiel Boullemant, pour son expertise et ces recommandations sur les tâches à réaliser. Il a aussi eu l'amabilité d'organiser une visite des installations de Rio Tinto Alcan à Alma qui s'est avérée être très constructive.

Il ne faut pas oublier l'aide technique fournie par les différents employés de l'INRS, spécialement Michelle G. Bordeleau pour son aide avec les procédures de l'ICP-AES et René Rodrigue pour le partage de ses connaissances de l'électrode sélective aux fluorures.

Je souhaite aussi remercier Michel Lavoie et Séverine Le Faucheur qui ont beaucoup contribué à mon apprentissage au laboratoire. Les journées passées au laboratoire, et particulièrement les fins de semaine, se sont trouvées allégées par votre présence. Également, je remercie Isabelle Lavoie pour son aide précieuse avec les analyses statistiques, mais ultimement pour sa spontanéité et sa constante bonne humeur.

En plus de ces collègues de travail, je tiens à remercier une amie qui m'a fait vivre de très beaux moments à Québec durant les deux dernières années, Marie-Andrée Boisvert.

Aussi, je remercie ma famille qui m'a encouragé à entreprendre ces études. Je vous remercie grandement pour vos encouragements et votre amour inconditionnel. Enfin, je te remercie Mazdak pour ton support, ta confiance et toutes les petites attentions que tu as eues pour moi dans les moments difficiles.



RÉSUMÉ

Dans le cadre de ce projet, et en collaboration avec l'industriel Rio Tinto Alcan, nous avons examiné l'accumulation et l'adsorption de l'aluminium et des fluorures par les algues vertes dans des conditions similaires à celles que l'on retrouve dans les effluents finaux d'alumineries. Nous avons tenu compte de la spéciation chimique de l'aluminium dans le milieu puisque ce dernier peut former des complexes stables avec les fluorures, lesquels peuvent possiblement jouer un rôle dans l'adsorption et l'accumulation de l'aluminium.

Nous avons donc comparé le potentiel d'adsorption et d'accumulation de quatre espèces d'algues vertes (c.-à-d. *Chlamydomonas reinhardtii*, *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Chlorella vulgaris* et *Senedesmus obliquus*). D'abord, l'algue était exposée durant quatre jours à un milieu synthétique (pH 7,0) contenant de l'aluminium et des fluorures. Durant cette période, l'aluminium dissous ainsi que la croissance cellulaire étaient suivis périodiquement. À la fin de l'exposition, les solutions étaient filtrées afin de récupérer la portion de métal dissous. Ensuite, un rinçage à l'EDTA permettait de désorber l'aluminium lié à la surface des algues. Finalement, les filtres étaient digérés afin de quantifier l'accumulation chez les algues.

Nos résultats montrent peu de différences entre les espèces dans leur capacité d'enlèvement de l'aluminium. Néanmoins, *P. subcapitata* est l'espèce qui capte le plus d'aluminium par adsorption (15 %) et accumulation (26 %), suivi de *C. reinhardtii* (7 % et 17 % respectivement), *S. obliquus* (13 % et 5 %) et enfin *C. vulgaris* (7 % et 2 %). Toutefois, aucune de ces espèces n'a démontré une aptitude significative à accumuler ou adsorber les fluorures.

Dans un deuxième temps, nous avons étudié l'influence du pH sur l'accumulation et l'adsorption de l'aluminium et des fluorures par *P. subcapitata*. Nous avons mesuré une prise en charge totale de 50 % à pH 7,5, de 41 % à pH 7,0 et de 4 % à pH 5,5. La prise en charge diminuait donc avec l'acidité du milieu. Cette observation s'expliquerait par une plus grande compétition pour la prise en charge par les ions H^+ à pH acide, et ce, malgré l'augmentation de la concentration en ions libres (Al^{3+}).

En dernier lieu, nous avons exploré la prise en charge de l'aluminium par des algues mortes. Les algues séchées dans une étuve n'ont pas montré un potentiel d'accumulation très prometteur avec seulement 11 % de prise en charge totale contre 41 % avec les algues vivantes.

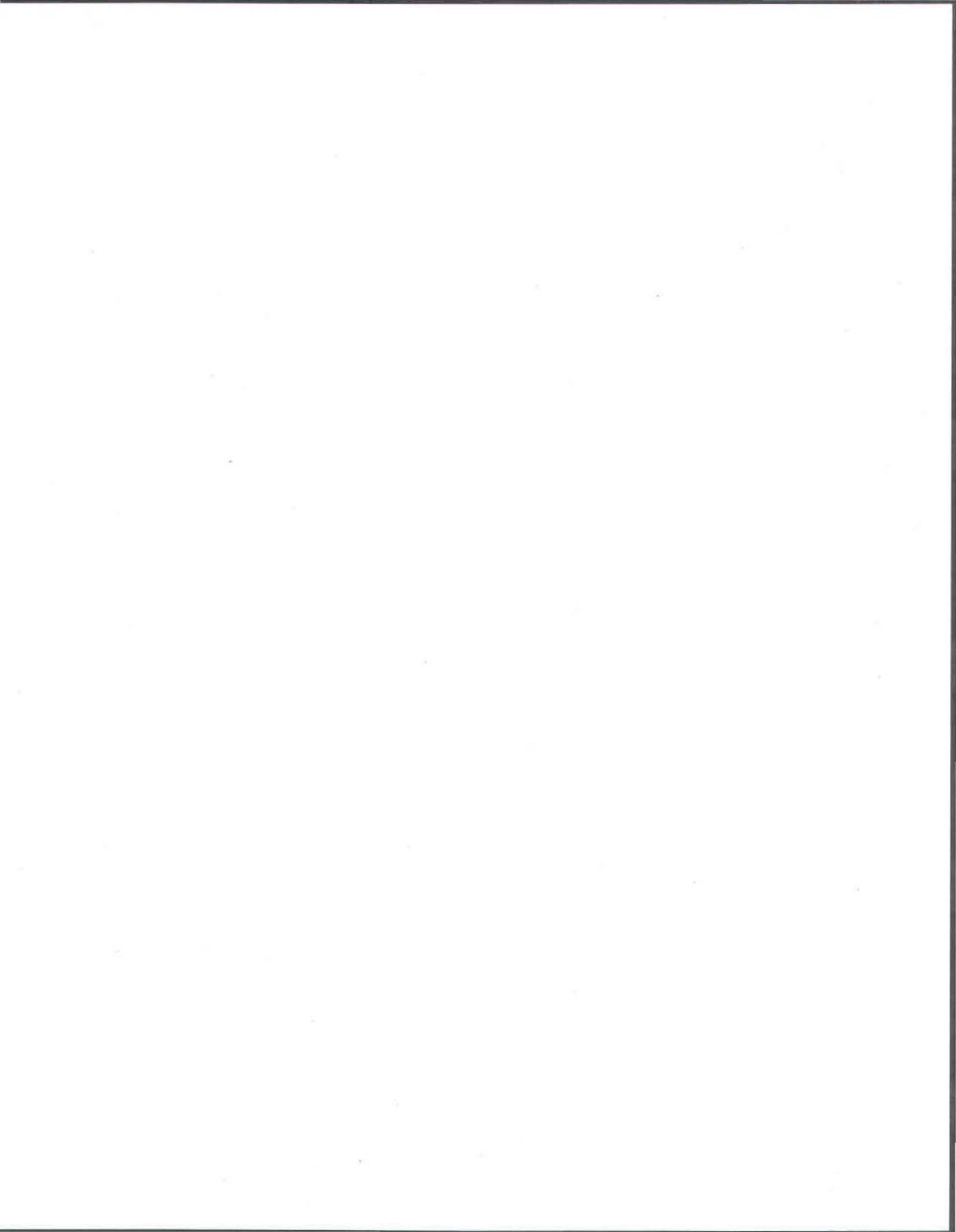
Globalement, ce projet a permis de faire avancer les connaissances sur les interactions métaux-algues tout en explorant le potentiel des algues à épurer les effluents finaux d'alumineries.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....	v
RÉSUMÉ	vii
TABLE DES MATIÈRES.....	ix
LISTE DES TABLEAUX.....	xiii
LISTE DES FIGURES	xv
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	xix
1. INTRODUCTION.....	1
1.1 L'aluminium dans l'environnement	1
1.2 Les fluorures dans l'environnement	3
1.3 Les alumineries.....	4
1.4 Interactions métaux-algues.....	5
1.5 Le Modèle du Ligand Biotique (BLM).....	7
1.6 L'application de la biosorption aux effluents d'alumineries.....	9
1.7 Potentiel accumulateur des algues mortes	10
1.8 Espèces algales utilisées en biosorption	11
2. OBJECTIFS ET HYPOTHÈSE DE RECHERCHE	15
3. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	17
3.1 Choix des organismes.....	17
3.2 Culture des algues	21
3.3 Produits et réactifs	24
3.3.1 Solutions mères de fluorures et d'aluminium.....	25
3.4 Appareils.....	25
3.5 Calculs de spéciation chimique	26
3.6 Approche expérimentale	28
3.6.1 Prise en charge de l'aluminium et des fluorures.....	28
3.6.2 Influence du pH sur la prise en charge	32

3.6.3	Prise en charge par les algues mortes.....	32
3.7	Analyses statistiques.....	33
4.	RÉSULTATS.....	35
4.1	Potentiel accumulateur des algues vertes.....	35
4.1.1	Croissance des algues.....	35
4.1.2	Prise en charge des fluorures.....	39
4.1.3	Prise en charge de l'aluminium.....	41
4.1.4	Précipitation de l'aluminium.....	46
4.2	Influence du pH sur la prise en charge	47
4.2.1	Influence du pH sur la croissance	47
4.2.2	Influence du pH sur la prise en charge des fluorures	49
4.2.3	Influence du pH sur la prise en charge de l'aluminium	49
4.2.4	Influence du pH sur la précipitation de l'aluminium	52
4.3	Potentiel accumulateur des algues mortes	53
4.3.1	Prise en charge des fluorures par les algues mortes	53
4.3.2	Prise en charge de l'aluminium par les algues mortes	54
5.	DISCUSSION	57
5.1	Potentiel accumulateur des algues vertes.....	57
5.1.1	Croissance des algues.....	57
5.1.2	Prise en charge des fluorures.....	58
5.1.3	Prise en charge de l'aluminium.....	59
5.1.4	Précipitation de l'aluminium.....	60
5.2	Influence du pH sur la prise en charge	61
5.2.1	Influence du pH sur la croissance	61
5.2.2	Influence du pH sur la prise en charge des fluorures	63
5.2.3	Influence du pH sur la prise en charge de l'aluminium	64
5.2.4	Influence du pH sur la précipitation de l'aluminium	65
5.3	Potentiel accumulateur des algues mortes	65
5.3.1	Prise en charge des fluorures.....	65

5.3.2 Prise en charge de l'aluminium	66
6. CONCLUSION.....	69
7. RECOMMANDATIONS.....	71
8. BIBLIOGRAPHIE	73
9. ANNEXES	79
9.1 Annexe A : Composition ionique du Fleuve Saint-Laurent	79
9.2 Annexe B : Simulations MINEQL+	80
9.4 Annexe C : Temps de contact avec l'EDTA.....	82
9.3 Annexe D : Interférence de l'aluminium sur les mesures de fluorures dissous	83
9.5 Annexe E : Adsorption d'aluminium sur les parois des contenants	84
9.6 Annexe F : Bilans de masse pour l'aluminium	85
9.7 Annexe G : Fluorures et aluminium mesurés dans les traitements C.....	86



LISTE DES TABLEAUX

Tableau 3.1 - Vitesses de croissance maximale des algues sélectionnées.....	21
Tableau 3.2 - Composantes et proportions des solutions mères utilisées dans la préparation du milieu de culture MHSM-1.....	22
Tableau 3.3 - Concentrations molaires des ions composant le milieu MSHM-1.	23
Tableau 3.4 - Description des traitements expérimentaux.....	29
Tableau 4.1 - Concentrations initiales et finales de fluorures (mg/L \pm écart type) pour les expériences de prise en charge avec chacune des espèces.	40
Tableau 4.2 - Variation des concentrations d'aluminium en solution ($\mu\text{g/L} \pm$ écart type) durant les expériences de prise en charge avec chacune des espèces...	41
Tableau 4.3 - Enlèvement de l'aluminium en valeurs absolues (en femtogramme/cell., ou 10^{-15} g/cell., \pm écart type) selon l'espèce algale (pH 7, $[\text{Al}_T] = 10,4 \mu\text{M}$, $[\text{F}_T] = 379 \mu\text{M}$).....	43
Tableau 4.4 - Récapitulatif des analyses statistiques effectuées sur les valeurs absolues de prise en charge totale.	44
Tableau 4.5 - Récapitulatif des analyses statistiques effectuées sur les valeurs absolues d'adsorption.....	44
Tableau 4.6 - Enlèvement de l'aluminium en pourcentage ($\% \pm$ écart type) selon l'espèce algale (pH 7, $[\text{Al}_T] = 10,4 \mu\text{M}$, $[\text{F}_T] = 379 \mu\text{M}$).	45
Tableau 4.7 - Récapitulatif des analyses statistiques effectuées sur les pourcentages de prise en charge totale.	45
Tableau 4.8 - Récapitulatif des analyses statistiques effectuées sur les pourcentages d'adsorption.....	46
Tableau 4.9 - Récapitulatif des analyses statistiques effectuées sur les pourcentages d'adsorption.....	47

Tableau 4.10 - Enlèvement de l'aluminium en valeurs absolues (en femtogramme/cell., ou 10^{-15} g/cell., \pm écart type) en fonction du pH (<i>P. subcapitata</i> , $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$).....	50
Tableau 4.11 - Récapitulatif des analyses statistiques effectuées sur les valeurs absolues de prise en charge totale selon le pH.	50
Tableau 4.12 - Récapitulatif des analyses statistiques effectuées sur les valeurs absolues d'adsorption selon le pH.....	51
Tableau 4.13 - Enlèvement de l'aluminium en pourcentage ($\% \pm$ écart type) en fonction du pH (<i>P. subcapitata</i> , $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$).....	51
Tableau 4.14 - Récapitulatif des analyses statistiques effectuées sur les pourcentages de prise en charge totale selon le pH.	52
Tableau 4.15 - Récapitulatif des analyses statistiques effectuées sur les pourcentages d'adsorption selon le pH.....	52
Tableau 4.16 - Enlèvement de l'aluminium en valeurs absolues (en femtogramme/cell., ou 10^{-15} g/cell., \pm écart type) par les algues mortes et vivantes (<i>P. subcapitata</i> , pH 7, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$).....	54
Tableau 4.17 - Enlèvement de l'aluminium en pourcentage ($\% \pm$ écart type) par les algues mortes et vivantes (<i>P. subcapitata</i> , pH 7, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$).....	54
Tableau 9.1 - Concentration (M) des cations et anions dans le Fleuve Saint-Laurent.....	79
Tableau 9.2 - Concentration (M) des espèces présentes en solution dans les traitements F.....	80
Tableau 9.3 - Concentration (M) des espèces présentes en solution dans les traitements Al + F.....	81
Tableau 9.4 - Pourcentage d'aluminium adsorbé sur les parois des contenants.	84
Tableau 9.5 - Bilans de masse (μg) de l'aluminium dans les traitements Al + F.	85
Tableau 9.6 - Masse (mg) de fluorures adsorbés et accumulés dans les traitements C...	86
Tableau 9.7 - Masse (μg) d'aluminium adsorbé et accumulé dans les traitements C.	86

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 - Complexes impliquant l'aluminium en milieu aquatique (Côté 2003).....	2
Figure 1.2 - Simulation de la spéciation de l'aluminium en milieu naturel avec MINEQL+. La simulation a été réalisée en utilisant des concentrations en anions et cations inorganiques représentatives du Fleuve Saint-Laurent (Annexe A). La concentration totale en aluminium a été fixée à 1,0 µM et la concentration totale en fluorures à 2,5 µM. De plus, la précipitation des solides dissous n'était pas permise.	3
Figure 1.3 - Simulation de la spéciation des fluorures en milieu naturel avec MINEQL+. La simulation a été réalisée en utilisant des concentrations en anions et cations représentatives du Fleuve Saint-Laurent. La concentration totale en aluminium a été fixée à 1,0 µM et la concentration totale en fluorures à 2,5 µM. De plus, la précipitation des solides dissous n'était pas permise.....	4
Figure 1.4 - Modèle conceptuel de l'interaction métal-algue. M^{2+} représente l'ion métallique libre et ML le métal complexé en solution ; M-X-membrane représente le complexe métallique à la surface de la cellule ; K_C représente la constante de formation du complexe ML ; K_1 et K_2 représentent les deux constantes de formation de M-X-membrane (Campbell 1995).....	7
Figure 3.1 - Croissance de <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> à pH 7 et à 20°C.	18
Figure 3.2 - Croissance de <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> à pH 7 et à 20°C.....	19
Figure 3.3 - Croissance de <i>Chlorella vulgaris</i> à pH 7 et à 20°C.	20
Figure 3.4 - Croissance de <i>Scenedesmus obliquus</i> à pH 7 et à 20°C.....	21
Figure 3.5 - Spéciation théorique de l'aluminium en présence de fluorures. La concentration totale en aluminium a été fixée à 10,4 µM et la concentration totale en fluorures à 379 µM. De plus, la précipitation des solides dissous n'était pas permise.	27
Figure 3.6 - Spéciation théorique des fluorures en présence d'aluminium. La concentration totale en aluminium a été fixée à 10,4 µM et la concentration totale en fluorures à 379 µM. De plus, la précipitation des solides dissous n'était pas permise.	27

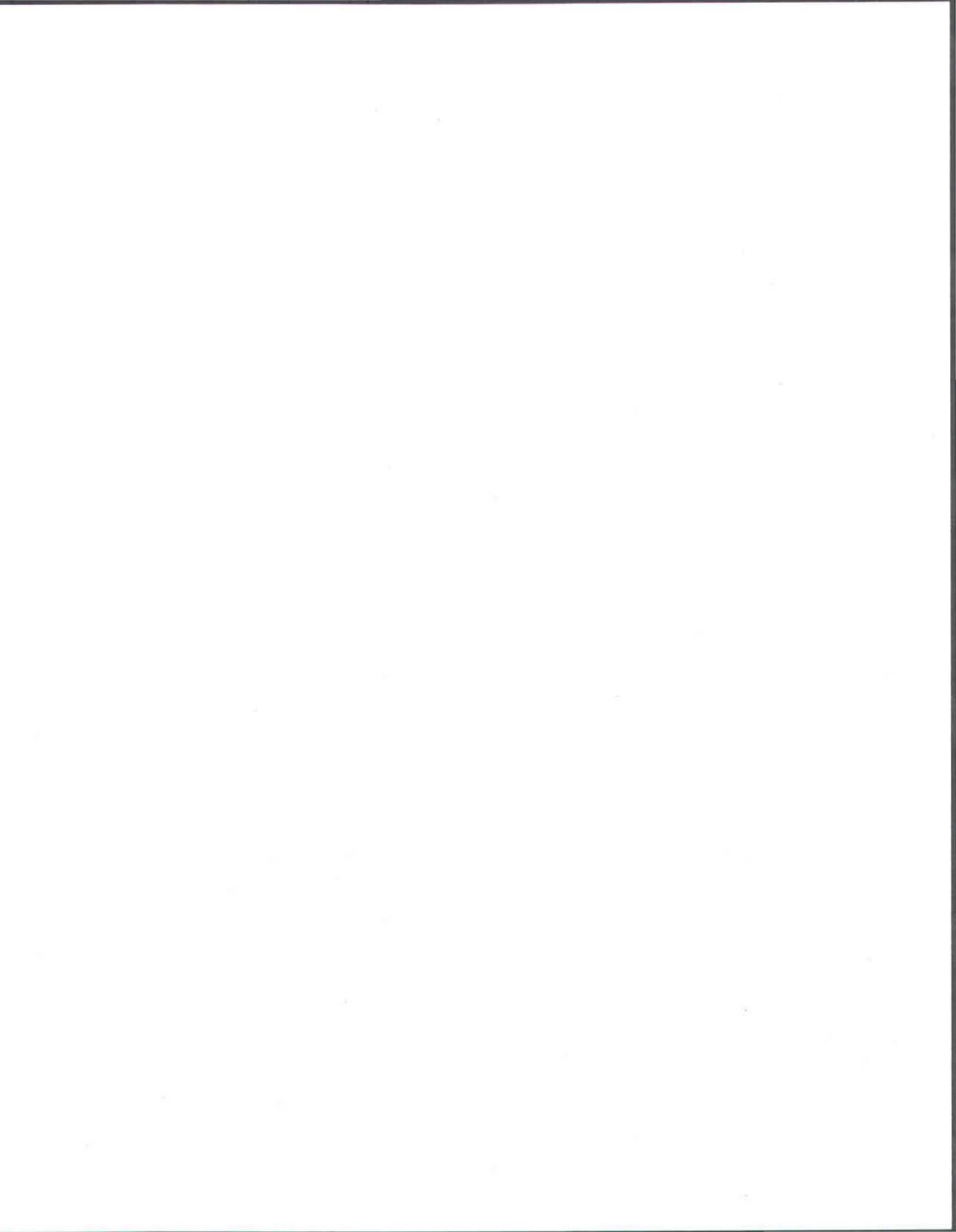
Figure 3.7 - Spéciation théorique des fluorures en absence d'aluminium. La concentration totale en fluorures a été fixée à 379 μM	28
Figure 3.8 - Protocole expérimental pour les expériences de prise en charge.....	30
Figure 4.1 - Courbes de croissance de <i>C. reinhardtii</i> pour les expériences (a) et (b) (pH 7, 20°C, $[\text{Al}_T] = 10,4 \mu\text{M}$, $[\text{F}_T] = 379 \mu\text{M}$).	35
Figure 4.2 - Courbes de croissance de <i>P. subcapitata</i> pour les expériences (a) et (b) (pH 7, 20°C, $[\text{Al}_T] = 10,4 \mu\text{M}$, $[\text{F}_T] = 379 \mu\text{M}$).	36
Figure 4.3 - Courbes de croissance de <i>C. vulgaris</i> pour les expériences (a) et (b) (pH 7, 20°C, $[\text{Al}_T] = 10,4 \mu\text{M}$, $[\text{F}_T] = 379 \mu\text{M}$).	37
Figure 4.4 - Courbes de croissance de <i>S. obliquus</i> pour les expériences (a) et (b) (pH 7, 20°C, $[\text{Al}_T] = 10,4 \mu\text{M}$, $[\text{F}_T] = 379 \mu\text{M}$).	38
Figure 4.5 - Portion de fluorures restant en solution après les 96 heures d'exposition pour chacune des espèces d'algues (pH 7, $[\text{Al}_T] = 10,4 \mu\text{M}$, $[\text{F}_T] = 379 \mu\text{M}$).	40
Figure 4.6 - Cinétique de la prise en charge de l'aluminium selon l'espèce algale (pH 7, $[\text{Al}_T] = 10,4 \mu\text{M}$, $[\text{F}_T] = 379 \mu\text{M}$).	42
Figure 4.7 - Enlèvement de l'aluminium en valeurs absolues et proportion relative des fractions adsorbés et accumulés selon l'espèce algale (pH 7, $[\text{Al}_T] = 10,4 \mu\text{M}$, $[\text{F}_T] = 379 \mu\text{M}$). Des lettres différentes signifient qu'il y a une différence significative ($p < 0,05$) entre les valeurs de prise en charge totale.	43
Figure 4.8 - Enlèvement de l'aluminium en pourcentage et proportion relative des fractions adsorbés et accumulés selon l'espèce algale (pH 7, $[\text{Al}_T] = 10,4 \mu\text{M}$, $[\text{F}_T] = 379 \mu\text{M}$). Des lettres différentes signifient qu'il y a une différence significative ($p < 0,05$) entre les valeurs de prise en charge totale.	45
Figure 4.9 - Précipitation de l'aluminium dans les expériences de prise en charge avec chacune des espèces algales (pH 7, $[\text{Al}_T] = 10,4 \mu\text{M}$, $[\text{F}_T] = 379 \mu\text{M}$). Des lettres différentes signifient qu'il y a une différence significative ($p < 0,05$) entre les valeurs de précipitation.	47
Figure 4.10 - Croissance de <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> en fonction du pH (20°C, $[\text{Al}_T] = 10,4 \mu\text{M}$, $[\text{F}_T] = 379 \mu\text{M}$).	48

- Figure 4.11 - Influence du pH sur le pourcentage de fluorures restant en solution à la fin des expériences de prise en charge (*P. subcapitata*, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$). Les lettres identiques signifient qu'il n'y a pas de différence significative ($p > 0,05$) entre les valeurs de fluorures résiduels.....49
- Figure 4.12 - Enlèvement de l'aluminium en valeurs absolues en fonction du pH (*P. subcapitata*, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$). Des lettres différentes signifient qu'il y a une différence significative ($p < 0,05$) entre les valeurs de prise en charge totale.....50
- Figure 4.13 - Pourcentage d'enlèvement de l'aluminium en fonction du pH (*P. subcapitata*, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$). Des lettres différentes signifient qu'il y a une différence significative ($p < 0,05$) entre les valeurs de prise en charge totale.....51
- Figure 4.14 - Précipitation de l'aluminium en fonction du pH (*P. subcapitata*, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$). Des lettres différentes signifient qu'il y a des différences significatives ($p < 0,05$) entre les valeurs de précipitation.....52
- Figure 4.15 - Portion de fluorures restant en solution à la fin des expériences de prise en charge (*P. subcapitata*, pH 7, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$). Les lettres identiques signifient qu'il n'y a pas de différence significative ($p > 0,05$) entre les valeurs de fluorures résiduels.....53
- Figure 4.16 - Comparaison de la capacité d'enlèvement de l'aluminium en valeurs absolues par les algues mortes et les algues vivantes (*P. subcapitata*, pH 7, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$). Des lettres différentes signifient qu'il y a une différence significative ($p < 0,05$) entre les valeurs de prise en charge totale. ..55
- Figure 4.17 - Comparaison du pourcentage d'enlèvement de l'aluminium par les algues mortes et les algues vivantes (*P. subcapitata*, pH 7, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$). Des lettres différentes signifient qu'il y a une différence significative ($p < 0,05$) entre les valeurs de prise en charge totale.....55
- Figure 5.1 - Solubilité de l'aluminium (gibbsite micro-cristalline) en présence de fluorures ($[F_T] = 379 \mu M$) et en fonction du pH. La concentration d'aluminium dans les milieux d'exposition est de l'ordre de $10^{-5} M$ ($[Al_T] = 10,4 \mu M$).61
- Figure 5.2 - Concentration en ions libres (Al^{3+}) en fonction du pH dans les traitements avec aluminium et fluorures ($[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$).62

Figure 5.3 - Concentration en AlF_4^- en fonction du pH dans les traitements avec aluminium et fluorures ($[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$).....	63
Figure 5.4 - Phénomène de floculation des cellules suite au processus de dessiccation.	67
Figure 9.1 - Aluminium adsorbé en fonction du temps de rinçage à l'EDTA.	82
Figure 9.2 - Interférence de l'aluminium sur le signal de l'électrode sélective pour une concentration de fluorures fixée à 7,2 mg/L (379 μM).....	83

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AAP	<i>Algal Assay Procedure</i>
ACS	<i>American Chemical Society</i>
BLM	<i>Biotic Ligand Model</i>
CDTA	Acide trans-1,2-diamino-cyclohexane-tétra-acétique
CPCC	<i>Canadian Phycological Culture Centre</i>
EDTA	Acide éthylènediamine-tétra-acétique
FEP	<i>Fluorinated ethylene propylene</i>
ICP-AES	<i>Inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy</i>
L	Ligand
M^{z+}	Ion métallique libre
MDDEP	Ministère du Développement Durable, de l'Environnement et des Parcs
MES	Acide 4-morpholino-éthane-sulfonique
MHSM	<i>Modified high salt medium</i>
MOPS	Acide N-morpholino-3-propane-sulfonique
PES	Polyéthersulfone
PC	Polycarbonate
RTA	Rio Tinto Alcan
SERT	Service d'évaluation des rejets toxiques
TISAB	<i>Total ionic strength adjustment buffer</i>
USEPA	<i>U.S. Environmental Protection Agency</i>



1. INTRODUCTION

1.1 L'aluminium dans l'environnement

L'aluminium est le métal le plus abondant sur terre et le troisième élément en importance du tableau périodique (Crist et al. 1981; Taylor et McLennan 1985). L'aluminium est principalement extrait de la bauxite pour sa haute teneur en alumine (Al_2O_3), mais il se retrouve également dans d'autres minéraux tels que la néphéline, la leucite, la sillimanite, l'andalousite et la muscovite, souvent sous forme de silicates d'aluminium (Wright et Welbourn 2002).

L'érosion mécanique et l'altération chimique peuvent permettre à l'aluminium d'être relâché du milieu terrestre, mais souvent sous des formes insolubles. Il est alors important de considérer l'effet des précipitations acides qui peuvent augmenter l'acidité du sol et ainsi permettre à certains ions métalliques présents dans le sol de se solubiliser. Par exemple, un pH acide peut entraîner la dissolution des hydroxydes d'aluminium ($\text{Al}(\text{OH})_3$) ou la désorption de l'aluminium lié à la surface de la matière organique (Wright et Welbourn 2002). Ces complexes solubles sont ainsi mobilisés et lessivés du milieu terrestre vers le milieu aquatique où les concentrations d'aluminium peuvent augmenter et atteindre des concentrations toxiques (Butler 1978; Driscoll et Schecher 1990). De manière naturelle, les rivières et les fleuves d'Amérique du Nord peuvent contenir des concentrations d'aluminium variant entre 0,012 et 2,25 mg/L (Jones et Bennett 1986).

L'aluminium peut former des complexes avec des ligands hydroxyles, des ligands organiques (acides humiques et fulviques), des fluorures, des sulfates et des silicates (**Figure 1.1**) (Wright et Welbourn 2002). L'aluminium en solution s'équilibre donc en de nombreuses espèces chimiques et leur formation dépendra de la disponibilité du métal en solution, du pH, de la force ionique du milieu, et de la concentration en ligands complexants (Driscoll et Schecher 1990). D'autres paramètres tels que la température peuvent influencer la spéciation de l'aluminium. En fait, la température influence la solubilité, le processus d'hydrolyse ainsi que la distribution des espèces chimiques en solution. Par exemple, à une température de 25 °C, les vitesses d'hydrolyse et de sédimentation de l'aluminium sont plus élevées que celles observées à 2 °C (Lydersen et al. 1990).

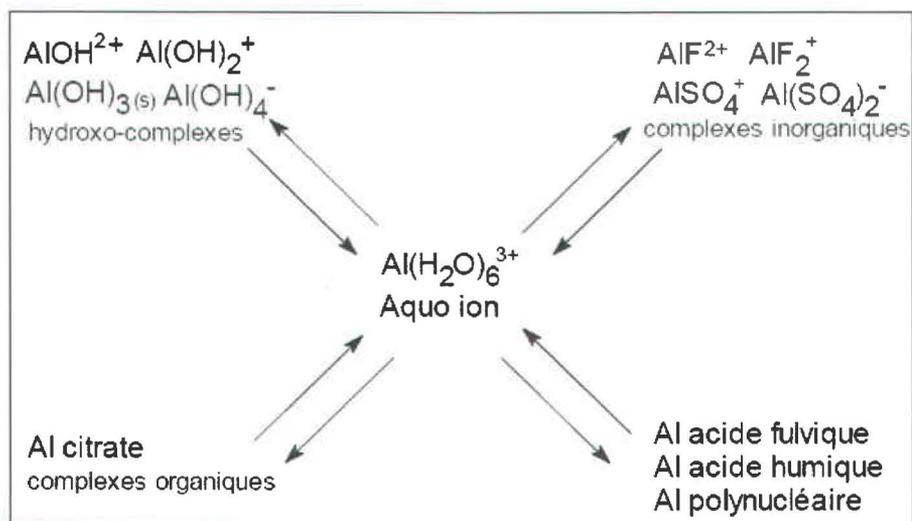


Figure 1.1 - Complexes impliquant l'aluminium en milieu aquatique (Côté 2003).

Afin de déterminer la spéciation du métal en solution, il est important de bien connaître les propriétés physicochimiques du milieu ainsi que les éléments dissous présents. En l'absence d'anions complexant autre que l'eau, l'ion métallique (Al^{3+}) se dissout et s'hydrate en coordonnant six molécules d'eau selon une orientation d'octaèdre (Driscoll et Schecher 1988). Sa spéciation chimique dépend ensuite du pH de la solution et des anions complexants présents (Stumm et Morgan 1996). La spéciation chimique d'un métal en solution nous informe sur sa biodisponibilité et sur le potentiel qu'il a à être absorbé (Twiss et al. 2001). Par exemple, l'ion libre est plus facilement pris en charge que les complexes métalliques (Volesky 1990).

De nos jours, il existe plusieurs programmes informatiques basés sur des principes thermodynamiques qui permettent de simuler la spéciation théorique d'un métal en solution. Par contre, il est important de choisir un programme dont la base de données thermodynamique est complète et de qualité. Le programme MINEQL+ (version 4.5) (Schecher et McAvoy 2001) a été sélectionné ici puisqu'il est facile d'utilisation et que les constantes thermodynamiques utilisées dans ce modèle sont mises à jour continuellement dans notre laboratoire.

La figure 1.2 montre la spéciation chimique de l'aluminium dans une solution de composition similaire à celle du Fleuve Saint-Laurent mais en absence de matière organique. À pH situé entre 4 et 5, c'est l'espèce AlF^{2+} qui domine la distribution des espèces en solution avec quelques autres fluoro-complexes, accompagnée d'une faible proportion d'ion libre (l'aquo-ion $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$). À mesure que le pH approche de la neutralité, il y a hydrolyse des molécules d'eau de la sphère d'hydratation et cette

déprotonation successive permet l'apparition d'autres espèces telles que AlOH^{2+} , Al(OH)_2^+ et Al(OH)_3 . Finalement, au-delà d'un pH 6,5, c'est la forme Al(OH)_4^- qui domine la solution dans ces conditions.

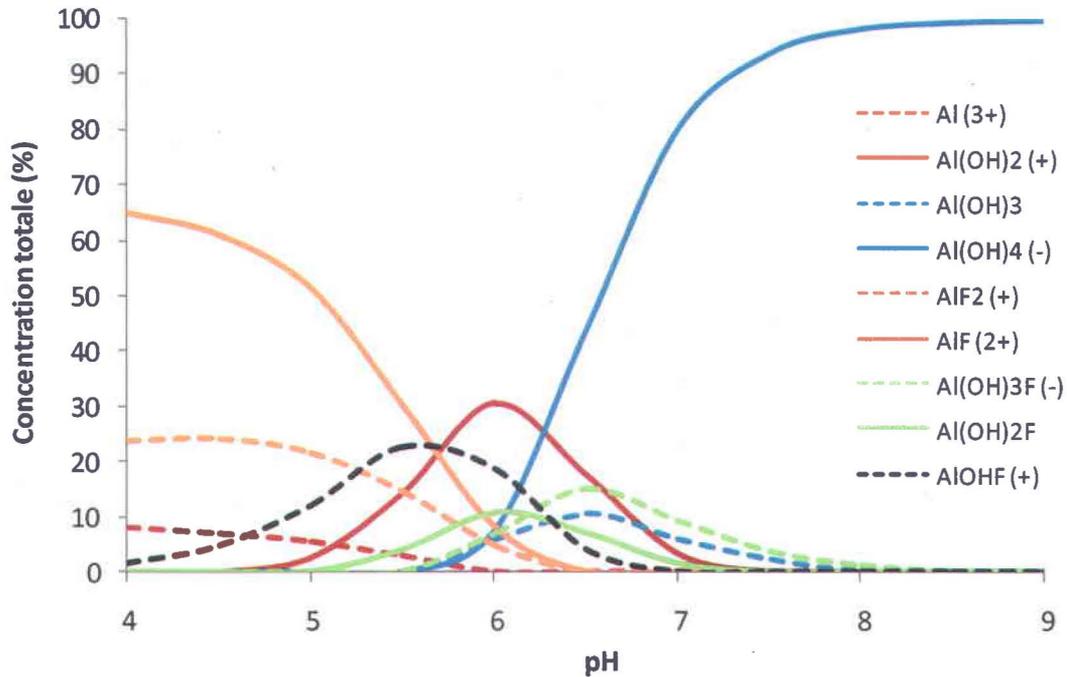


Figure 1.2 - Simulation de la spéciation de l'aluminium en milieu naturel avec MINEQL+. La simulation a été réalisée en utilisant des concentrations en anions et cations inorganiques représentatives du Fleuve Saint-Laurent (**Annexe A**). La concentration totale en aluminium a été fixée à $1,0 \mu\text{M}$ et la concentration totale en fluorures à $2,5 \mu\text{M}$. De plus, la précipitation des solides dissous n'était pas permise.

1.2 Les fluorures dans l'environnement

De tous les éléments du tableau périodique, le fluor (F) est l'élément chimique le plus électronégatif et le plus réactif (Gillespie et al. 1989; Greenwood et Earnshaw 1984). Et dû à cette forte réactivité, le fluor ne peut être retrouvé en milieu naturel sous sa forme élémentaire. Il existe alors sous forme de fluorures inorganiques (incluant l'ion libre F^-) ou comme composés de fluorures organiques (ex. : fréons). Dans l'environnement, les fluorures inorganiques sont bien entendu beaucoup plus abondants que les composés de fluorures organiques (Gillespie et al. 1989; Greenwood et Earnshaw 1984).

En milieu aqueux, le fluor est présent majoritairement sous forme d'ions fluorure (F⁻) et c'est ce qui est représenté dans la simulation effectuée avec le programme MINEQL+ (Figure 1.3). À pH acide, l'acide fluorhydrique (HF) ainsi que d'autres complexes inorganiques (AlF²⁺ et AlF₂⁺) apparaissent en solution. Les fluoro-complexes d'aluminium peuvent effectivement devenir importants dans les eaux douces à des valeurs de pH acides (pH 4,0-5,5) lorsque la concentration d'aluminium est proche de celle en fluorures. Ce sont généralement les formes AlF²⁺ et AlF₂⁺ qui sont plus importantes (Driscoll et Schecher 1988).

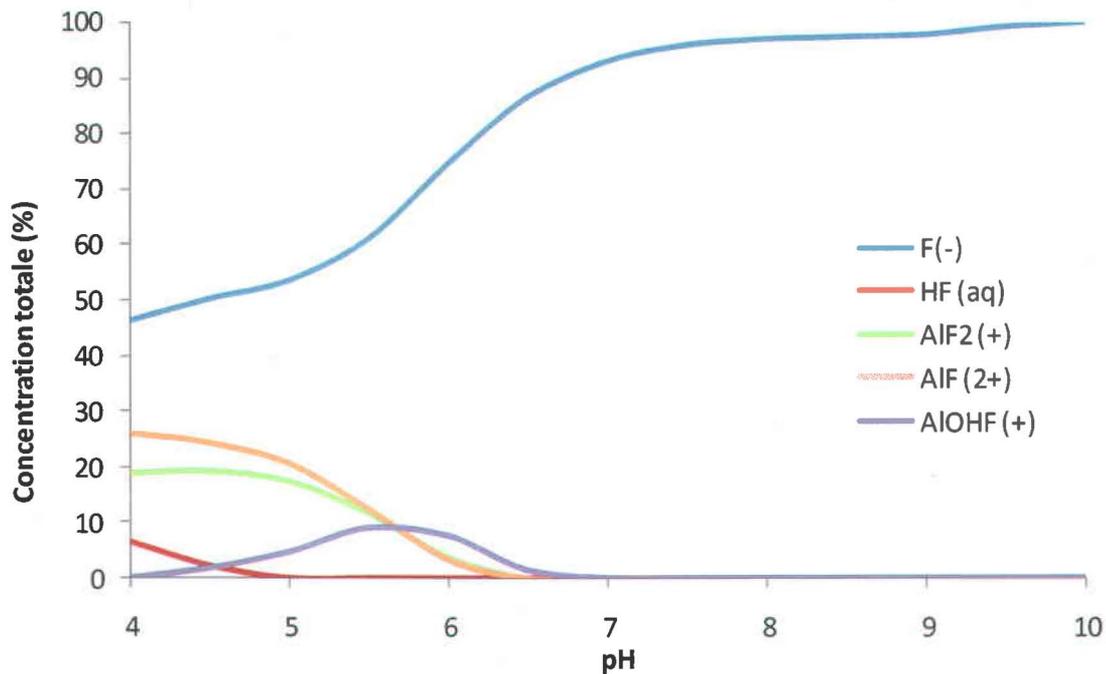


Figure 1.3 - Simulation de la spéciation des fluorures en milieu naturel avec MINEQL+. La simulation a été réalisée en utilisant des concentrations en anions et cations représentatives du Fleuve Saint-Laurent. La concentration totale en aluminium a été fixée à 1,0 µM et la concentration totale en fluorures à 2,5 µM. De plus, la précipitation des solides dissous n'était pas permise.

1.3 Les alumineries

La production d'aluminium, créneau industriel d'importance au Canada, représente une source anthropique importante d'aluminium et de fluorures dans les milieux aquatiques. D'abord, l'aluminium est principalement extrait sous forme de bauxite qui est composée

de 40 à 60 % d'alumine (Al_2O_3) (Wright et Welbourn 2002). Par divers procédés chimiques, on extrait cette alumine et ceci est suivi d'un procédé d'électrolyse permettant de produire l'aluminium métallique. Les fluorures sont utilisés afin d'abaisser la température de fusion durant l'électrolyse de l'alumine en aluminium.

Au Québec, l'entreprise Rio Tinto Alcan opère quatre alumineries et une raffinerie de bauxite dans la région du Saguenay-Lac-Saint-Jean. Malgré les mesures d'atténuation mises en place par l'industrie, des concentrations non-négligeables d'aluminium se retrouvent encore dans les effluents finaux des usines, mais demeurent sous le critère de qualité de l'eau émis par le MDDEP. Ce dernier est de 1,5 mg/L pour les effluents et, dans les eaux de surface, le critère est de 0,087 mg/L pour l'aluminium récupérable, c'est-à-dire l'aluminium mesuré après acidification et filtration (0,45 μm) de l'échantillon (USEPA 1988; USEPA 2006).

Concernant les concentrations de fluorures dans les effluents finaux, elles sont aussi inférieures au critère de qualité du MDDEP de 8 mg/L (SERT 1989). Cependant, les concentrations de fluorures mesurées dans les milieux récepteurs peuvent être jusqu'à dix fois plus élevées que les concentrations naturelles qui tournent autour de 0,05 mg/L (Camargo 2003). Au Québec, le critère de qualité pour la protection de la vie aquatique dans les eaux de surface est de 0,23 mg/L pour les fluorures (SERT 1989). Une revue de la littérature portant sur la toxicité des fluorures en milieu aquatique a d'ailleurs été effectuée en 2004 (Giguère et Campbell 2004).

1.4 Interactions métaux-algues

Les cellules algales se distinguent des cellules animales par la présence d'une paroi cellulaire autour de la membrane cytoplasmique. Cette paroi procure une protection physique contre l'environnement extérieur et elle détermine la forme et la rigidité de la cellule (Volesky 1990). La paroi cellulaire se compose principalement de substances pectiques et de cellulose et sa porosité permet le libre passage de molécules et d'ions. La membrane cellulaire tant qu'à elle contrôle les flux entre le cytoplasme et l'extérieur. La double couche lipidique qui la compose permet le passage de molécules neutres (O_2 , CO_2 , N_2 , glycérol, éthanol, etc.), mais elle reste imperméable aux ions (Volesky 1990). Par contre, elle contient des structures telles que des protéines qui permettent le passage de ces ions. En fait, ces structures, tout comme les parois cellulaires, présentent des groupes fonctionnels qui, grâce à leurs caractéristiques anioniques, sont capables de former des liaisons avec les ions. Ces groupes fonctionnels,

qu'ils soient de nature amine (-NH₂), phosphoryle (-PO₃), carboxyle (-COOH), sulfhydryle (-SH) ou hydroxyle (-OH), différent dans leur affinité et spécificité pour la liaison avec les métaux (Crist et al. 1981; Kuyucak et Volesky 1988; Volesky 1990).

Différentes interactions peuvent être observées entre la cellule et le métal, telles que l'échange d'ions, la complexation, la chélation et la microprécipitation inorganique (Çetinkaya Dönmez et al. 1999; Kuyucak et Volesky 1988; Volesky 1990). La nature de ces mécanismes dépend des propriétés de l'algue (c.-à-d. sa structure, ses groupes fonctionnels et l'aire de sa surface qui dépendent de la division, du genre et de l'espèce) et des propriétés du métal (c.-à-d. son rayon ionique, sa charge ionique, sa masse atomique, son potentiel d'oxydoréduction) en interaction (Andrade et al. 2005).

Comme mentionné précédemment, le pH influence la distribution des espèces métalliques en solution, mais il affecte aussi les sites de liaison à la surface de la cellule. En effet, les algues peuvent atteindre un point isoélectrique ou une charge nulle à un certain pH et ce point isoélectrique variera d'une espèce à l'autre. De manière générale, il est suggéré que la biomasse algale attendrait ce point isoélectrique aux alentours de pH 3 (espèce algale inconnue) (Stumm et Morgan 1970). À des pH supérieurs, les cellules algales présentent une charge nette négative. Dans cette phase ionique, la liaison des ions métalliques avec les groupes phosphoryles, imidazoles, amines et principalement carboxyles est favorisée (Crist et al. 1990). On observe alors une attraction électrostatique entre les cations chargés positivement et les sites de liaison chargés négativement, ce qui correspond au processus d'adsorption (Crist et al. 1988). L'adsorption est donc un processus d'ordre chimique, rapide et réversible qui ne représente pas un facteur limitant dans la cinétique de prise en charge (Kuyucak et Volesky 1988). L'adsorption peut représenter une proportion importante de la prise en charge totale d'un métal, surtout lorsque les temps de contact sont relativement courts (Greger et al. 1992).

L'adsorption est généralement suivie d'un processus d'accumulation plus lent et irréversible où le métal est directement absorbé à l'intérieur de la cellule. L'accumulation résulte de réactions de transport passif ou facilité. Les divers mécanismes caractéristiques de cette phase d'accumulation peuvent inclure la formation de liens à caractère covalents (par exemple avec des métaux de transition comme le Cu) (Crist et al. 1990), des réactions d'oxydoréduction, la cristallisation à la surface de la cellule ou, plus fréquemment, la diffusion à l'intérieur de la cellule et la liaison avec des protéines et d'autres sites intracellulaires (Çetinkaya Dönmez et al. 1999). L'accumulation cellulaire est un processus d'ordre biologique et donc dépendant de l'activité métabolique de la cellule.

Dans l'étude présente, le terme "prise en charge" est utilisé en référence à la combinaison des processus d'adsorption et d'accumulation cellulaire.

1.5 Le Modèle du Ligand Biotique (BLM)

Le modèle du ligand biotique (BLM ; *Biotic Ligand Model*) permet de mieux comprendre l'influence de la spéciation chimique d'un métal sur la prise en charge. Il a été d'abord formulé par Morel en 1983, alors nommé modèle de l'ion libre, dans le but de prédire la biodisponibilité d'un métal en fonction de sa spéciation chimique en solution. Ainsi, le modèle stipule que la réponse biologique d'un organisme aquatique serait proportionnelle à la concentration de la forme libre du métal (M^{Z+}) et non à la concentration totale du métal en solution (Morel 1983). Quelques années plus tard, le modèle a été nuancé par Campbell (1995) et Hudson (1998). On considère désormais que l'interaction du métal avec la membrane cellulaire peut impliquer non seulement la forme libre en solution (M^{Z+}), mais aussi une forme réactive (ML_n^{Z+}) (Figure 1.4).

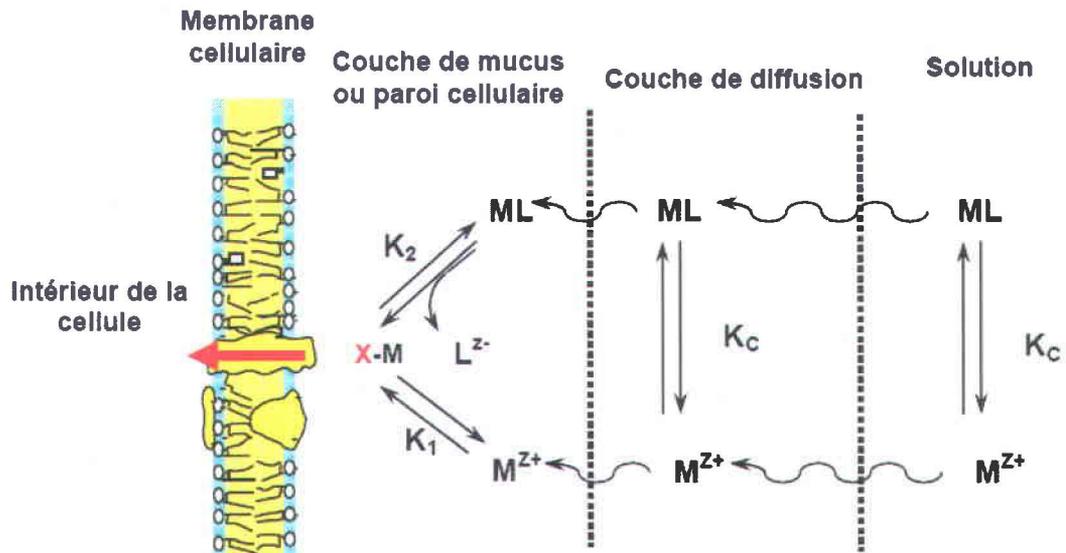


Figure 1.4 - Modèle conceptuel de l'interaction métal-algue. M^{Z+} représente l'ion métallique libre et ML le métal complexé en solution ; $M-X$ -membrane représente le complexe métallique à la surface de la cellule ; K_c représente la constante de formation du complexe ML ; K_1 et K_2 représentent les deux constantes de formation de $M-X$ -membrane (Campbell 1995).

Afin de mieux saisir toutes les implications du BLM, voici les suppositions qui le sous-tendent :

- I. La membrane plasmique constitue le site primaire d'interaction des métaux en solution avec les organismes aquatiques. Cette interaction donne lieu à la formation d'un complexe de surface M-X-cellule.
- II. Le transport du métal en solution à travers la couche de diffusion vers la membrane et la complexation à la surface biologique se produisent plus rapidement que le transport du métal à travers la membrane plasmique. Ainsi, un équilibre s'établit entre les ions métalliques en solution et ceux situés à la surface biologique.
- III. La réponse biologique est proportionnelle à la concentration du complexe de surface M-X-cellule.
- IV. Lors de l'exposition au métal d'intérêt, la nature de la surface biologique doit rester constante.

Si ces conditions sont vérifiées, la réponse biologique de l'organisme devrait varier en fonction de la concentration de l'ion libre en solution, cette dernière étant influencée par la concentration totale du métal (Campbell 1995). La prise en charge d'ions métalliques est donc dépendante de la concentration du métal en solution, mais également du pH, de la température, et de la présence de ligands ainsi que d'ions compétiteurs (Volesky 1990).

Dans le cas de l'aluminium, nous savons que le pH est une variable très importante qui affectera sa spéciation et donc sa biodisponibilité. D'abord, un pH décroissant provoque une augmentation à la fois de la concentration d'aluminium dissous par mobilisation et de la proportion relative des ions libres (Al^{3+}). Par contre, à mesure que le pH descend, il y a une augmentation de la compétition entre les protons (H^+) et les ions Al^{3+} pour les sites de complexation à la surface de l'organisme. En somme, l'acidification du milieu provoque deux effets opposés : une augmentation de la proportion des ions libres (Al^{3+}), puis une diminution de la disponibilité de sites de liaison sur la membrane suite à une protonation (Parent et Campbell 1994).

Ensuite, il peut y avoir compétition pour les sites de complexation à la surface entre le métal d'intérêt et d'autres espèces cationiques présentes en solution telles que Ca^{2+} et Mg^{2+} (Di Toro et al. 2001; Slaveykova et Wilkinson, 2005). Ainsi, une augmentation de la

concentration de ces ions compétiteurs entraînera une diminution de la prise en charge et, conséquemment, une réduction de la toxicité du métal.

Le modèle du ligand biotique est donc utile pour prédire l'accumulation d'un métal par un organisme. L'accumulation est un aspect qui sera étudié dans ce projet conjointement avec le processus d'adsorption, et ce, dans le but ultime de faire diminuer les concentrations de métal en solution.

1.6 L'application de la biosorption aux effluents d'alumineries

Les méthodes conventionnelles de traitement des effluents d'alumineries comprennent la précipitation chimique, l'oxydation ou la réduction chimique, les membranes échangeuses d'ions, la filtration, l'osmose inverse, le traitement électrochimique et la récupération par évaporation (Volesky 1990). En plus d'être coûteux, ces procédés peuvent être inefficaces lorsque les concentrations de métaux dissous en solution sont relativement faibles d'un point de vue industriel (c.-à-d. de l'ordre de 1 à 100 mg/L) malgré qu'elles soient relativement élevées d'un point de vue environnementale (Volesky 1990). Dans ces conditions, les techniques biologiques peuvent être envisagées en complément aux techniques conventionnelles.

Actuellement, Rio Tinto Alcan n'utilise pas de telles méthodes conventionnelles. L'industrie soumet plutôt les effluents à un simple processus de décantation dans des bassins de rétention. C'est un procédé simple et abordable qui réduit suffisamment les concentrations en contaminants dans les effluents finaux des alumineries. C'est d'ailleurs au niveau des bassins de rétention ou encore après l'étape de décantation qu'un procédé biologique pourrait être appliqué afin de réduire de façon plus significative les concentrations d'aluminium et de fluorures qui se trouvent dans les effluents.

Plusieurs études ont démontré que les algues pouvaient être très efficaces dans l'enlèvement de métaux présents dans les effluents industriels. Durant le processus de biosorption, le métal se trouve à la fois immobilisé, contenu et concentré. L'objectif final est de récupérer ce métal et de le retourner dans le procédé industriel afin de minimiser les pertes. En ce sens, les algues vertes peuvent donc représenter un potentiel prometteur et leur utilisation pour l'accumulation des contaminants inorganiques mérite d'être étudiée plus en profondeur.

1.7 Potentiel accumulateur des algues mortes

La plupart des études traitant de biosorption portent jusqu'à présent sur l'utilisation d'algues vivantes, mais il y a maintenant un intérêt grandissant pour la prise en charge des métaux par les algues mortes. En fait, même si elles n'ont plus d'activité métabolique, les algues mortes gardent un potentiel accumulateur. En effet, bien que l'accumulation cellulaire ne soit plus possible, le processus d'adsorption prend toujours place. Aussi, l'utilisation d'algues mortes faciliterait la récupération du métal tout en permettant la réutilisation de la biomasse (Zimnik et Sneddon 1988). Plus précisément, les espèces métalliques peuvent être concentrées dans un plus petit volume grâce à un procédé d'éluion (Volesky 1990). Une fois concentrés, les métaux peuvent être récupérés plus facilement par le biais des méthodes conventionnelles.

Ensuite, comme il n'y a plus d'activité métabolique, l'algue ne requiert plus de milieu de culture spécifique, et ceci représente une préoccupation de moins lors du traitement (ex. : l'ajout de phosphore est nécessaire pour la croissance cellulaire et représente une problématique importante pour l'eutrophisation des cours d'eaux récepteurs). De plus, l'algue peut être utilisée dans des conditions qui seraient normalement toxiques lorsqu'elle est métaboliquement active (Volesky 1990). Dans tous les cas, il faut d'abord s'assurer que la biomasse morte ait les caractéristiques adéquates pour l'application du procédé : dureté, porosité, grosseur des particules, densité, tolérance aux variations de température, de pH, etc (Volesky 1990).

Plusieurs expériences ont porté leur intérêt vers le potentiel d'adsorption de la biomasse morte. Par contre, bien que certains chercheurs aient testé les algues marines et les levures (Kuyucak et Volesky 1988), très peu se sont penchés sur l'utilisation d'algues vertes mortes, et particulièrement, sans pré-traitement.

Jusqu'à maintenant, quelques études ont réussi à démontrer que les algues mortes pouvaient être plus efficaces à accumuler un métal que les algues vivantes. Par exemple, Horikoshi et al. (1979) ont observé que les cellules de *Chlorella regularis* tuées par la chaleur présentaient une capacité d'enlèvement de l'uranium trois fois plus élevée que les cellules vivantes. Des membres de la même équipe ont ensuite observé des résultats similaires pour l'accumulation de divers ions métalliques par des cellules séchées à froid du genre *Chlorella* (Nakajima et al. 1982). *Chlorella vulgaris* a également été testée comme algue morte pour l'adsorption de l'aluminium (Darnall et al. 1986). Les résultats de cette étude révèlent que, lorsque 5 mg/mL (poids sec) de cette algue sont placés en contact avec 100 µM d'aluminium, celle-ci peut accumuler jusqu'à 70 % de l'aluminium à pH 4. En considérant qu'il n'y ait plus de transport possible ou encore de mécanismes de

défense lorsque les algues sont mortes, tous ces résultats montrent qu'il y a certainement des changements qui se produisent au niveau de la membrane cellulaire (Mehta et Gaur 2005).

En contrepartie, d'autres études en sont venues à des conclusions contraires. C'est d'ailleurs le cas de Terry et Stone (2002) qui ont démontré que la forme vivante de *Scenedesmus abundans* accumulait significativement plus de cadmium et de cuivre que la forme morte. Ensuite, Maeda et al. (1985) ont démontré que les cellules de *Chlorella vulgaris* traitées à la chaleur accumulaient moins d'arsenic que les cellules vivantes. D'ailleurs, il a été proposé qu'un traitement thermique ou un séchage puisse diminuer le nombre de sites de liaisons disponibles en dénaturant les protéines au niveau de la membrane cellulaire (Monteiro et al. 2009a).

En ce qui concerne la prise en charge des fluorures, les algues mortes se sont montrées particulièrement prometteuses (Bhatnagar et al. 2002; Mohan et al. 2007). Dans le cas de Mohan et al. (2007), ils ont obtenu une capacité d'enlèvement maximale de fluorures de 64 % avec une concentration initiale de 5 mg/L à pH 7. Il est toutefois important de mentionner que dans tous les cas, les algues mortes subissaient un pré-traitement soit au calcium (Ca^{2+}) (Bhatnagar et al. 2002) ou encore à l'acide chlorhydrique (HCl) (Mohan et al. 2007). Il a été suggéré que de tels prétraitements permettraient d'exposer des sites de liaisons qui seraient généralement inaccessibles ou encore engendreraient une modification chimique de la paroi cellulaire (Bhatnagar et al. 2002; Kapoor et Viraraghavan 1998). En d'autres mots, ce type de traitement entraîne la protonation de la membrane, ce qui permet la prise en charge d'ions chargés négativement tels que les fluorures. En contrepartie, avoir à effectuer un pré-traitement de la biomasse pour qu'elle soit efficace dans l'enlèvement d'un contaminant n'est pas l'idéal puisque les manipulations deviennent plus complexes et des coûts supplémentaires sont alors engendrés.

1.8 Espèces algales utilisées en biosorption

Il existe actuellement entre 21 000 et 25 000 espèces d'algues différentes et seules les propriétés d'adsorption de quelques-unes d'entre elles ont été étudiées à ce jour (Volesky 1990). Comme la composition et la structure de la membrane cellulaire varient d'une espèce à l'autre, chacune possède une affinité différente pour les ions tels l'aluminium et les fluorures. Une revue de la littérature a donc été effectuée afin

d'identifier quelques espèces d'algues vertes qui montrent un potentiel pour l'accumulation de l'aluminium et des fluorures.

D'abord, *Chlamydomonas reinhardtii* est une espèce très utilisée en laboratoire. Sa paroi cellulaire se compose principalement d'une glycoprotéine (hydroxypéidine) qui présente une grande quantité de sites de liaison disponibles pour l'adsorption d'un métal (Volesky 1990). Cette espèce a d'ailleurs déjà été utilisée pour des études de prise en charge de divers métaux, dont le mercure, le plomb, le cadmium et le technétium (Bayramoğlu et al. 2006; Boullemant et al. 2009; Garnham et al. 1992; Tüzün et al. 2005). Une autre étude portant sur la prise en charge du chrome a aussi démontré que les algues traitées par la chaleur montrent une capacité d'adsorption légèrement supérieure aux algues traitées avec de l'acide et aux algues n'ayant pas subi de traitement (Arica et al. 2005).

Pseudokirchneriella subcapitata est une autre espèce très utilisée en laboratoire. Par contre, elle est plus souvent sélectionnée pour déterminer la toxicité des métaux que pour des expériences de prise en charge. Les quelques exemples traitent de la prise en charge du cuivre, du nickel, du plomb, du zinc et du cadmium (Boullemant et al. 2009; Komjarova et Blust 2009).

Chlorella vulgaris, quant à elle, est une espèce fréquemment utilisée pour les expériences de prise en charge de divers métaux tels que l'argent, le cuivre, le cadmium, le zinc, le nickel et le chrome (Çetinkaya Dönmez et al. 1999; Greene et al. 1986; Harris et Ramelow 1990; Jahan et al. 2004). Cette espèce d'algue verte a aussi déjà été utilisée dans des études impliquant l'aluminium (Darnall et al. 1986; Husaini et al. 1996; Rai et al. 1998; Zimnik et Sneddon 1988).

Selon les travaux de Zimnik et Sneddon (1988), *Chlorella vulgaris* serait plus efficace à enlever l'aluminium que *Chlorella fusca* var. *vacuolata*, anciennement appelée *C. pyrenoidosa*. C'est d'ailleurs pour cette raison et pour les difficultés à la faire croître que *Chlorella fusca* n'a pas été retenue pour le projet présenté ici. Zimnik et Sneddon ont démontré entre autres qu'une densité cellulaire de 10 000 mg/L est nécessaire pour obtenir jusqu'à 80 % de liaison de l'aluminium chez *C. vulgaris*. Ils mentionnent aussi que l'accumulation atteint un maximum de 68 % à pH 5. Une autre étude a d'ailleurs obtenu des résultats similaires avec une accumulation d'aluminium de près de 70 % à pH 4 (Darnall et al. 1986). Il est toutefois important de mentionner que les algues utilisées dans ces deux études étaient mortes et donc que ces résultats seront beaucoup plus pertinents pour la comparaison de nos résultats lors de la dernière étape de cette étude, qui consiste à vérifier le potentiel d'accumulation des algues mortes.

De son côté, Husaini et son équipe (1996) ont étudié l'effet des fluoro-complexes d'aluminium sur l'activité ATPase. En fait, ils suggèrent que le complexe AlF_4^- interférerait au site de liaison du phosphate (PO_4^{3-}) durant le processus de phosphorylation et ce, à cause de leur similarité structurale. Par contre, même si ce phénomène peut aider à mieux comprendre les processus de toxicité, il ne peut toutefois nous éclairer sur les processus d'entrée de l'aluminium vers l'intérieur de la cellule. Une étude menée par Rai et al. (1998) suggère que les modes d'entrée de l'aluminium à l'intérieur de la cellule pourraient différer selon qu'il y a présence ou non de fluorures et de phosphate. Ils suggèrent aussi que le phosphate restreindrait la prise en charge d'aluminium dans la cellule tandis que les fluorures la favoriseraient. En fait, la présence de fluorures empêche la formation du précipité $AlPO_4$ puisqu'il forme des liens plus forts que le phosphate avec l'aluminium. Ainsi, les fluorures se complexent avec l'aluminium pour former l'ion AlF_4^- qui peut ensuite s'adsorber aux sites de liaisons du phosphate.

Finalement, le genre *Scenedesmus* est aussi régulièrement utilisé pour des expériences de prise en charge avec divers métaux comme le cuivre, le cadmium, l'argent, le zinc et l'arsenic (Harris et Ramelow 1990; Jahan et al. 2004; Terry et Stone 2002). D'ailleurs, les expériences de Harris et Ramelow (1990) laissent croire que l'espèce *Scenedesmus quadricauda* aurait un potentiel d'accumulation plus important que *Chlorella vulgaris*, et ce, pour divers ions métalliques.

Du même genre, l'espèce *Scenedesmus obliquus* a été utilisée pour des expériences de prise en charge avec le cuivre, le cadmium et le zinc, mais aussi avec le nickel, le plomb, l'uranium, le technétium et le chrome (Çetinkaya Dönmez et al. 1999; Fayed et al. 1983; Garnham et al. 1992; Monteiro et al. 2009a; Monteiro et al. 2009b; Omar 2002; Zhang et al. 1997). Monteiro et al. (2009b) ont également démontré que la prise en charge du zinc était significativement supérieure chez les algues vivantes que chez les algues traitées par la chaleur.

Une étude a également été menée afin de vérifier la tolérance de cette espèce en présence d'aluminium et de fluorures (Ali 2004). En utilisant une concentration de 4 mg/L à la fois pour l'aluminium et les fluorures, cette étude a démontré que cette algue verte est assez résistante à la combinaison d'aluminium et de fluorures. Quoique la croissance de cette algue soit affectée par l'aluminium à pH acide (4,5), la présence de fluorures vient atténuer cette réponse toxique. Finalement, lorsque les algues étaient exposées à ces deux éléments, la prise en charge de l'aluminium était favorisée par un pH neutre (pH 7,3) tandis que la prise en charge de fluorures était favorisée par un pH acide (pH 4,5).



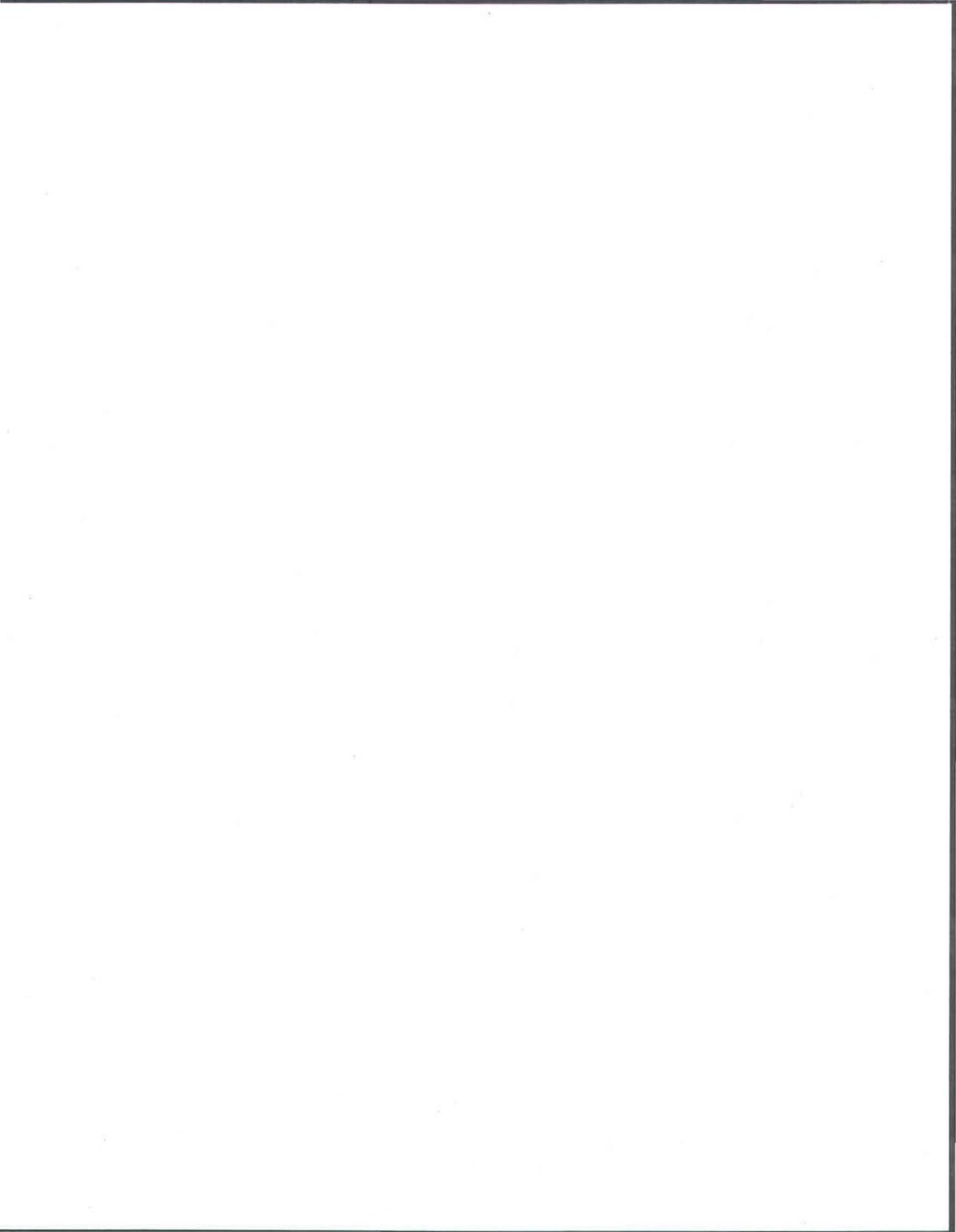
2. OBJECTIFS ET HYPOTHÈSE DE RECHERCHE

Dans le cadre de ce projet, et en collaboration avec l'industriel Rio Tinto Alcan, nous examinons l'accumulation et l'adsorption de l'aluminium et des fluorures par quatre espèces d'algues vertes.

Dans les dernières décennies, la recherche sur les impacts de l'aluminium sur l'environnement n'a porté presque exclusivement que sur la toxicité du métal. En revanche, peu d'études se sont penchées sur la prise en charge du métal, et ce, en fonction de la chimie de l'aluminium dans le milieu d'exposition. Or, dans les lacs acides, tels que ceux du Bouclier canadien, l'aluminium peut former des complexes stables avec les fluorures. Dans un premier temps, nous traiterons donc de l'influence de la formation de ces complexes sur la capacité d'adsorption et d'accumulation des fluorures. Dans un deuxième temps, l'influence du pH sur la prise en charge de l'aluminium et des fluorures sera exploré, et ce, à l'intérieur de la gamme de pH couramment observée dans les eaux de surface et sur les sites d'intérêt de Rio Tinto Alcan. Dans un troisième temps, le potentiel accumulateur des algues mortes sera étudié.

Afin de contribuer à l'optimisation constante des biotechnologies environnementales et de contribuer aux objectifs à long terme du Canada en matière de développement durable, il est nécessaire de mener des études sur des sujets tels que l'utilisation de produits et de procédés d'origine végétale pour la récupération de métaux. Ce projet permettra donc de faire avancer les connaissances sur le sujet tout en développant éventuellement une biotechnologie environnementale novatrice applicable à des eaux résiduaires d'aluminerie.

Notre hypothèse de départ est donc que les algues vertes peuvent être utilisées pour réduire les concentrations de contaminants inorganiques, tels que l'aluminium et les fluorures, dans les effluents d'alumineries.



3. MATÉRIEL ET MÉTHODES

3.1 Choix des organismes

Pour les fins de cette étude, il était important de sélectionner des espèces capables d'accumuler de grandes quantités d'aluminium et de fluorures sans que celles-ci ne soient affectées par la présence de ces éléments. Ainsi, quatre espèces d'algues vertes ont été sélectionnées, soit *Chlamydomonas reinhardtii*, *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Chlorella vulgaris* et *Scenedesmus obliquus*. Ces algues font partie de la division des Chlorophyta. Les algues de cette division présentent une très grande variété de formes différentes, mais toutes se caractérisent par la présence de chromatophores de couleur verte. Les espèces sélectionnées et leurs particularités sont présentées dans les paragraphes suivants.

Chlamydomonas reinhardtii (CPCC 11) est l'une des espèces les plus utilisées en laboratoire à travers le monde. Cette espèce de forme arrondie possède deux flagelles fixés à son extrémité antérieure qui aide à son déplacement dans l'eau (Canter-Lund et Lund 1995; Wehr et Sheath 2003). Elle possède une paroi cellulaire, un protoplaste, un seul chloroplaste et un stigmate (Smith 1951; Wehr et Sheath 2003). *Chlamydomonas* est aussi dotée de deux vacuoles contractiles localisées à la base des flagelles qui ont comme fonction de réguler le contenu en sel de la cellule (Canter-Lund et Lund 1995).



(Wehr et Sheath 2003)

La croissance de *Chlamydomonas reinhardtii* se caractérise par une phase exponentielle qui dure de une à deux journées avant d'atteindre la phase stationnaire (Figure 3.1).

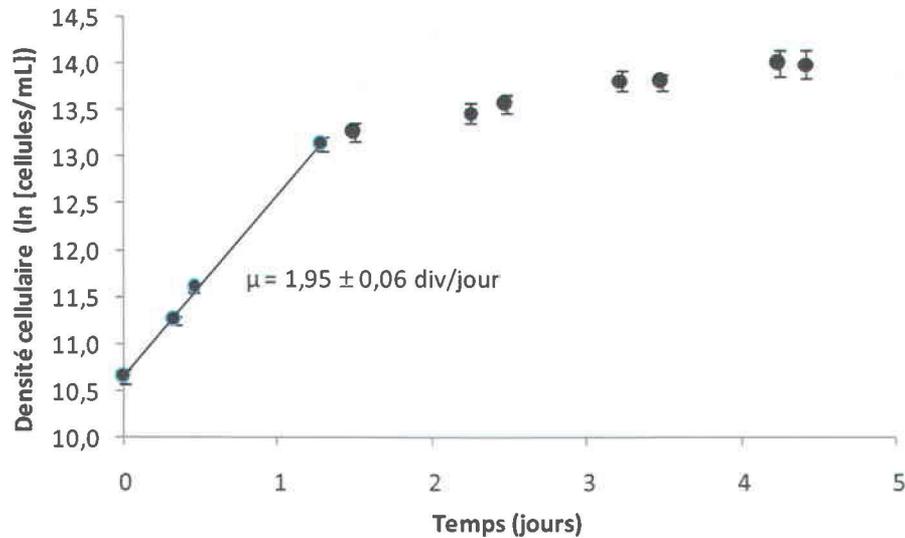


Figure 3.1 - Croissance de *Chlamydomonas reinhardtii* à pH 7 et à 20°C.

Pseudokirchneriella subcapitata (CPCC 37), antérieurement connue sous le nom de *Selenastrum capricornutum*, présente des cellules très caractéristiques en forme de croissant régulier qui ont tendance à se regrouper. Cette algue possède un chloroplaste pariétal (Wehr et Sheath 2003). C'est aussi une espèce utilisée mondialement dans le cadre de bio-essais (Canter-Lund et Lund 1995).



(Wehr et Sheath 2003)

La croissance de *Pseudokirchneriella subcapitata* se caractérise par une phase exponentielle d'environ trois jours (Figure 3.2).

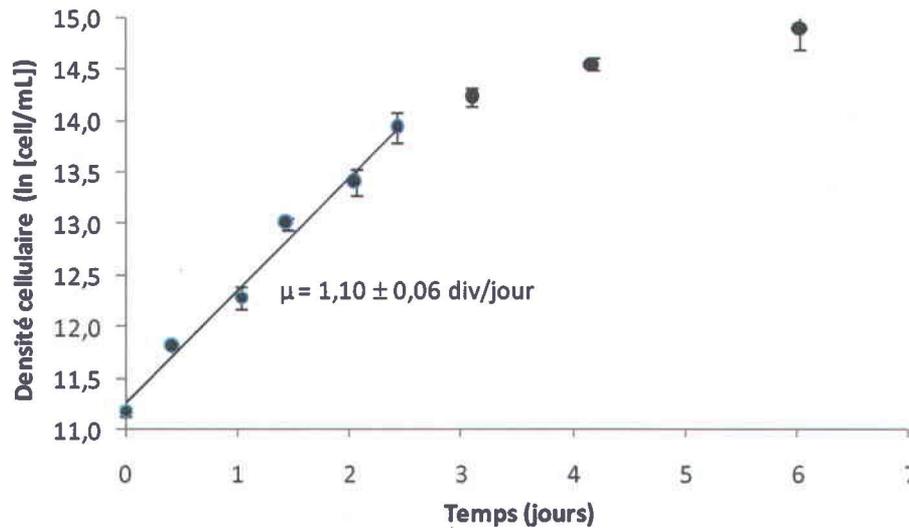
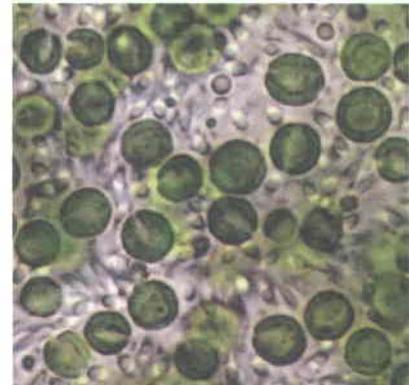


Figure 3.2 - Croissance de *Pseudokirchneriella subcapitata* à pH 7 et à 20°C.

Chlorella vulgaris (CPC 90) est une algue solitaire de forme sphérique qui possède un chloroplaste pariétal en forme de croissant (Prescott 1968; Wehr et Sheath 2003). Les cellules appartenant à ce genre sont très petites avec un diamètre moyen de 5 μm (Wehr et Sheath 2003). *Chlorella* est une algue aquatique, mais elle peut aussi coloniser des substrats subaériens humides (Bourrelly 1966; Wehr et Sheath 2003). C'est l'une des premières algues à avoir été cultivée en laboratoire (Wehr et Sheath 2003). En effet, elle est facile à cultiver et croît rapidement, ce qui en fait un matériel de choix pour l'expérimentation.



(Wehr et Sheath 2003)

La croissance de *Chlorella vulgaris* se caractérise par une phase exponentielle qui dure aussi environ trois jours avant d'atteindre la phase stationnaire (Figure 3.3).

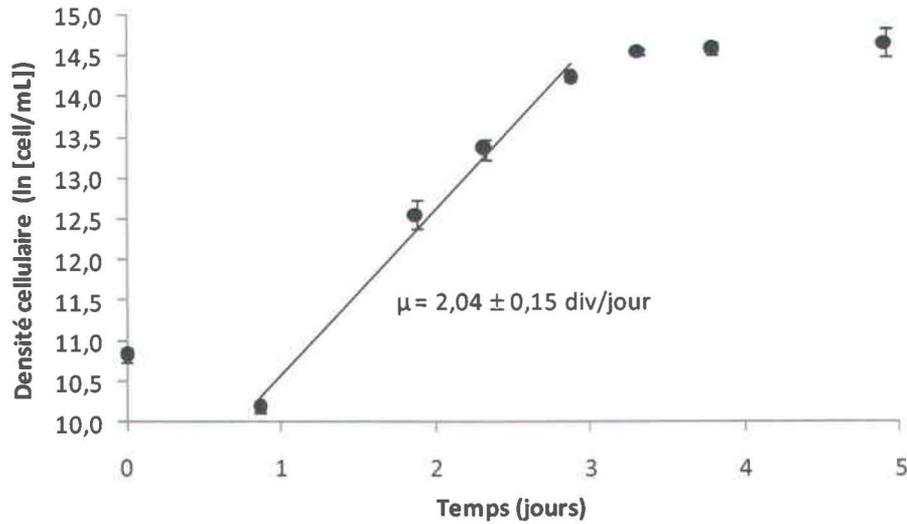


Figure 3.3 - Croissance de *Chlorella vulgaris* à pH 7 et à 20°C.

Scenedesmus obliquus (CPCC 5). Les cellules de cette espèce peuvent être ovales ou en forme de croissant. La paroi cellulaire est lisse et les cellules, quoique pouvant être plus effilées aux extrémités, ne présentent pas d'épines. Le chloroplaste est pariétal et cette algue possède généralement un pyrénnoïde. Elle peuvent former des colonies allant de 2 à 16 cellules jointes latéralement, et parfois même jusqu'à 32 (Wehr et Sheath 2003).



(Wehr et Sheath 2003)

La croissance de *Scenedesmus obliquus* se caractérise par une phase exponentielle plus longue que pour les autres espèces étudiées, soit d'environ cinq jours (Figure 3.4).

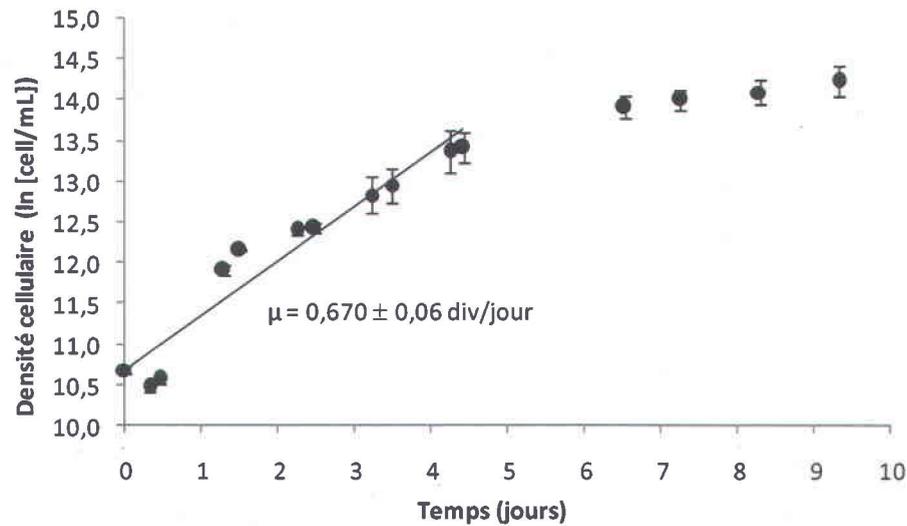


Figure 3.4 - Croissance de *Scenedesmus obliquus* à pH 7 et à 20°C.

Tableau 3.1 - Vitesses de croissance maximale des algues sélectionnées.

	Vitesses de croissance maximale (div/jour ± écart type)
<i>C. reinhardtii</i>	1,95 ± 0,06
<i>P. subcapitata</i>	1,10 ± 0,06
<i>C. vulgaris</i>	2,04 ± 0,15
<i>S. obliquus</i>	0,67 ± 0,06

3.2 Culture des algues

Le milieu utilisé pour la culture des algues ainsi que pour les expériences d'exposition est de type MHSM-1 et il se compose de six solutions mères décrites ici-bas (Tableau 3.2). Comme l'ajout de fluorures dans les traitements modifie la force ionique du milieu, certaines précautions ont dû être prises afin de garder les conditions comparables d'un traitement à l'autre. Ce même milieu a donc aussi été préparé en diminuant la concentration molaire de KNO_3 de manière concomitante avec l'ajout de fluorures. Le tableau 3.3 expose les concentrations molaires en anions et cations qui composent le milieu MHSM-1 ainsi que le milieu où la concentration de KNO_3 a été ajustée.

Tableau 3.2 - Composantes et proportions des solutions mères utilisées dans la préparation du milieu de culture MHSM-1.

Solution mère ^a	Volume utilisé ^b	Composantes	Concentrations
Ammonium #2	5 mL/L	NH ₄ NO ₃	15,0 g/L
		MgSO ₄ , 7H ₂ O	4,00 g/L
		Ca(NO ₃) ₂ , 4H ₂ O	3,21 g/L
Phosphate #2	250 µL/L	KH ₂ PO ₄	29,6 g/L
		K ₂ HPO ₄	57,6 g/L
KNO₃ (1,0 M)	4 mL/L		101,11 g/L
AAP	1 mL/L	H ₃ BO ₃	186 mg/L
		MnCl ₂ , 4H ₂ O	415 mg/L
		FeCl ₃ , 6H ₂ O	160 mg/L
		Na ₂ EDTA, 2H ₂ O	300 mg/L
		Zn ^c (1 g/L)	1,59 mg/L
		Co ^c (1 g/L)	0,64 mg/L
		Mo ^c (1 g/L)	2,88 mg/L
		Cu ^c (1 g/L)	4,47 µg/L

a : Chaque solution est filtrée sur une membrane de porosité de 0,2 µm.

b : Volume de solution mère nécessaire pour préparer un total de 1000 mL de milieu de culture.

c : Étalon pour absorption atomique dans une matrice de HNO₃.

Tableau 3.3 - Concentrations molaires des ions composant le milieu MSHM-1.

Ions	MHSM-1 ^a	MHSM-1 ajusté ^c
NH ₄	9,37 x 10 ⁻⁴	9,37 x 10 ⁻⁴
Cl	5,98 x 10 ⁻⁶	5,98 x 10 ⁻⁶
K	4,22 x 10 ⁻³	3,84 x 10 ⁻³
PO ₄	1,37 x 10 ⁻⁴	1,37 x 10 ⁻⁴
CO ₃	atm. ^b	atm. ^b
NO ₃	5,07 x 10 ⁻³	4,69 x 10 ⁻³
SO ₄	8,12 x 10 ⁻⁵	8,12 x 10 ⁻⁵
Mg	8,12 x 10 ⁻⁵	8,12 x 10 ⁻⁵
Ca	6,80 x 10 ⁻⁵	6,80 x 10 ⁻⁵
Na	1,02 x 10 ⁻⁴	4,81 x 10 ⁻⁴
BO ₃	3,01 x 10 ⁻⁶	3,01 x 10 ⁻⁶
Mn	2,10 x 10 ⁻⁶	2,10 x 10 ⁻⁶
EDTA	8,06 x 10 ⁻⁷	8,06 x 10 ⁻⁷
Fe	5,92 x 10 ⁻⁷	5,92 x 10 ⁻⁷
MoO ₄	3,00 x 10 ⁻⁸	3,00 x 10 ⁻⁸
Zn	2,43 x 10 ⁻⁸	2,43 x 10 ⁻⁸
Co	1,09 x 10 ⁻⁸	1,09 x 10 ⁻⁸
Cu	7,04 x 10 ⁻¹¹	7,04 x 10 ⁻¹¹

a : Fortin (2000).

b : Aucun ajout de carbonates, la concentration de ces derniers s'ajustant par équilibre gazeux avec l'atmosphère.

c : Milieu utilisé pour les traitements contenant des fluorures ($[F_T] = 379 \mu\text{M}$).

Afin de minimiser les risques de précipitations des métaux traces, la solution AAP est ajoutée après que le milieu ait été autoclavé durant 15 minutes à 120°C. Le pH est aussi ajusté après l'étape d'autoclavage par l'ajout de NaOH (1,0 M). Finalement, pour assurer la stabilité du pH tout au long des expériences, un tampon est ajouté aux milieux de culture. Pour les expériences à pH 7, le tampon MOPS (10 mM) est utilisé et pour les expériences à pH 5,5, c'est le tampon MES (10 mM) qui est employé. En fait, plusieurs facteurs, dont les algues, peuvent contribuer à une fluctuation du pH et surtout lorsque les expériences sont de longue durée. Les algues peuvent absorber du CO₂, du NH₄⁺ ou du NO₃⁻ ce qui entraîne un changement de pH du milieu (Nichols 1973).

Les algues sont cultivées avec 100 mL de milieu de culture dans des contenants de type Erlenmeyer en polycarbonate (PC). Les cultures sont conservées dans un incubateur (Convion, CMP4030) où la température est maintenue à 20,0 ± 0,1°C et la luminosité à 100 ± 10 µE (= µmol·m⁻²·s⁻¹). Les contenants sont également agités à une fréquence de 60 rotations par minute afin d'éviter la sédimentation des cellules.

3.3 Produits et réactifs

Tous les contenants utilisés pour la conservation des solutions et lors de la réalisation des expériences étaient composés de polycarbonate (PC), à l'exception de la solution-mère d'aluminium qui était conservée dans un contenant en Teflon® (FEP) afin de minimiser l'adsorption du métal sur les parois. Pour éviter toute contamination, le matériel utilisé lors des expériences étaient préalablement trempés durant au moins 24 heures dans un bain d'acide nitrique (HNO₃ 15 % v/v) puis rincés cinq fois à l'eau déminéralisée et deux fois à l'eau ultra-pure. Dans le cas des Erlenmeyers, ils étaient ensuite autoclavés puis remplis d'eau ultra-pure avant de les ranger dans une armoire fermée. Le reste du matériel était mis à sécher sous une hotte à flux laminaire pour éviter une contamination par la poussière. D'ailleurs, la plupart des manipulations étaient également effectuées sous ce type de hotte.

Les réactifs utilisés étaient sélectionnés pour obtenir un niveau de pureté suffisant pour ne pas contaminer les solutions au-delà des limites de détection. Par exemple, l'acide nitrique (HNO₃), le peroxyde (H₂O₂) et l'hydroxyde de sodium (NaOH) étaient de grade « ACS ».

3.3.1 Solutions mères de fluorures et d'aluminium

L'aluminium et les fluorures étaient ajoutés aux milieux d'exposition à partir de solutions mères. La solution de fluorures était préparée en ajoutant 1,59 g de fluorure de sodium (NaF) à 1000 mL d'eau ultra-pure. On obtenait ainsi une solution mère de fluorures concentrée à 37,9 mM. Il suffisait d'ajouter 1 mL de cette solution aux 100 mL de milieu d'exposition afin d'obtenir la concentration désirée de 379 μ M (7,2 mg/L) dans les traitements devant contenir des fluorures.

La solution mère d'aluminium était préparée en combinant 13,5 mL d'une solution d'aluminium certifié à 1000 μ g/mL et 466,5 mL d'eau ultra-pure. Cette solution était ensuite acidifiée à 4 % en ajoutant 20 mL d'acide nitrique pure afin d'éviter que l'aluminium ne précipite. On obtenait alors une solution mère d'aluminium à 1,04 mM. Dans les traitements devant contenir de l'aluminium, 1 mL de cette solution était ajouté aux 100 mL de milieu d'exposition afin d'obtenir une concentration finale de 10,4 μ M (270 μ g/L). Les solutions mères d'aluminium et de fluorures étaient stérilisées par filtration à 0,2 μ m puis conservées au réfrigérateur.

3.4 Appareils

Plusieurs appareils ont été utilisés pour les différentes étapes de ce projet. D'abord, les solutions étaient préparées en utilisant des balances de marque *Mettler Toledo* et *Sartorius*. Les volumes liquides étaient mesurés à l'aide de pipettes micrométriques de marque *Gilson*, *Fisherbrand*[®] et *Thermo Scientific*. Ensuite, l'autoclave utilisée pour la stérilisation du matériel et des solutions était de marque *Sanyo* (MLS-3780), la centrifugeuse utilisée pour la récolte des algues était de type *Sorvall*[®] RC 5C Plus, les décomptes algaux étaient effectués en utilisant un compteur de particules de type *Multisizer*TM 3 *Coulter Counter* (*Beckman*) et, pour les expériences avec les algues mortes, c'est une étuve de marque *Hotpack* qui a été utilisée.

Le pH des solutions était vérifié à l'aide d'un pH-mètre marque *MeterLab*[®] et d'une électrode de marque *Orion*[®]. La calibration de l'électrode était effectuée à l'aide de deux solutions tampons de pH 4 et 7 (*Fisher Scientific*). Le même pH-mètre était utilisé pour les mesures de fluorures, mais il était alors jumelé à une électrode combinée sélective aux fluorures de marque *Orion* (modèle 9609BNWP). De façon similaire à l'électrode à pH, l'électrode sélective mesure un signal en millivolt qui peut ensuite être converti en concentration de fluorures (mg/L). La conversion se fait en se référant à une courbe

d'étalonnage effectuée à partir de solutions de concentrations connues. Pour les mesures de fluorures dissous, les étalons utilisés avaient des concentrations de fluorures de 5, 7, 9 et 11 mg/L. Pour les mesures de fluorures adsorbés et cellulaires, les étalons utilisés avaient des concentrations de 0,05, 0,1, 0,5, 1,0, 1,5 et 2,0 mg/L. Avant toute prise de mesure avec l'électrode sélective, tous les étalons et les échantillons devaient être dilués avec une solution de TISAB II dans un ratio 1 :1. Le TISAB II est un tampon composé de chlorure de sodium (5,8 % m/v), d'acide acétique (5,7 % v/v), d'hydroxyde de sodium (3 % m/v) et de CDTA (0,4 % m/v) qui a pour fonction de dissocier les fluorures en solution afin qu'ils soient présents sous la forme libre, seule forme étant détectée par l'électrode.

Finalement, l'aluminium était mesuré à l'aide d'un appareil ICP-AES (Vista AX) de marque *Varian*. Les étalons utilisés pour le dosage de l'aluminium avaient des concentrations de 0, 5, 10, 25, 50, 75, 150, 225 et 300 µg/L.

3.5 Calculs de spéciation chimique

L'utilisation d'un logiciel informatique comme MINEQL+ permet d'estimer la spéciation théorique de l'aluminium en présence de fluorures, soit la distribution de l'aluminium parmi ses différentes formes inorganiques (**Figure 3.5**). Des simulations ont également été effectuées afin de déterminer la spéciation théorique des fluorures en présence d'aluminium (**Figure 3.6**) puis en absence d'aluminium (**Figure 3.7**). Les simulations ont été effectuées en utilisant les concentrations en cations et anions utilisées dans le milieu d'exposition (**Tableau 3.2**). Nous avons présumé que les milieux étaient bien oxygénés et nous n'avons pas tenu compte des changements dans les états d'oxydo-réduction des éléments dans nos calculs. Pour chacun des traitements, les concentrations des espèces présentes en solution sont présentées en annexe (**Annexe B**).

Dans les traitements avec aluminium, à pH 7,0, c'est l'hydroxo-complexe $\text{Al}(\text{OH})_3$ qui domine avec le fluoro-complexes $\text{AlF}_3(\text{aq})$ ainsi qu'un complexe mixte $\text{AlOHF}_2(\text{aq})$ (**Figure 3.5**). À proportion moindre, sont aussi présents les complexes AlF_2^+ et $\text{Al}(\text{OH})_4^-$. Pour les pH supérieurs à 7, les hydroxo-complexes $\text{Al}(\text{OH})_3(\text{aq})$ et $\text{Al}(\text{OH})_4^-$ se succèdent à mesure que le pH augmente. Pour les pH inférieurs à 7, les hydroxo-complexes sont progressivement remplacés par les fluoro-complexes AlF_2^+ , $\text{AlF}_3(\text{aq})$ et AlF_4^- .

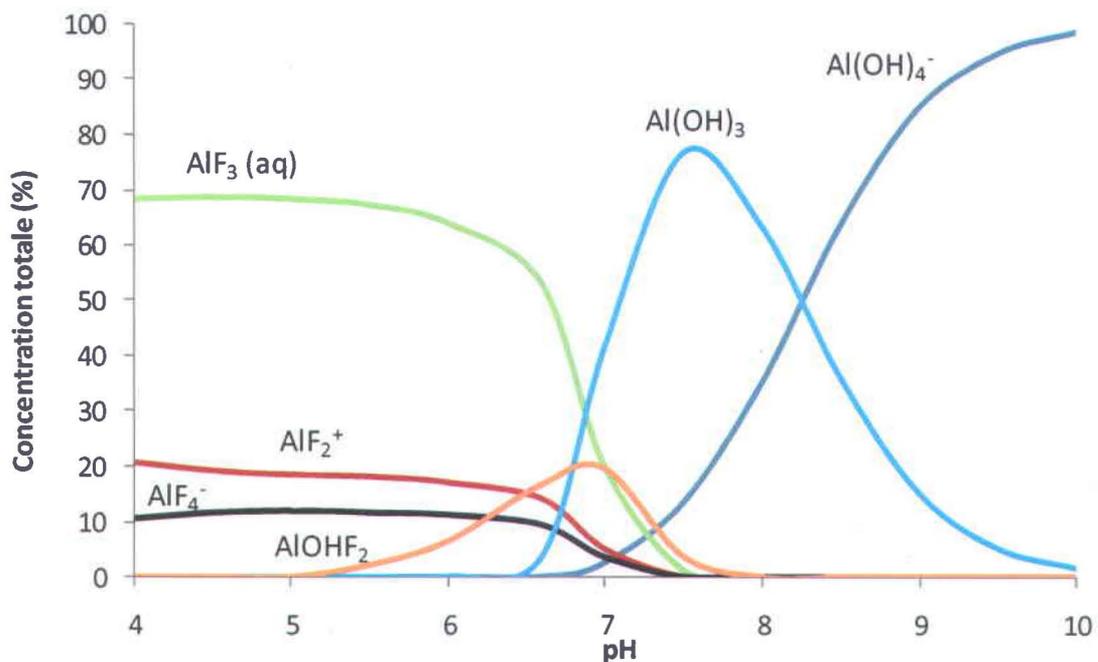


Figure 3.5 - Spéciation théorique de l'aluminium en présence de fluorures. La concentration totale en aluminium a été fixée à 10,4 μM et la concentration totale en fluorures à 379 μM . De plus, la précipitation des solides dissous n'était pas permise.

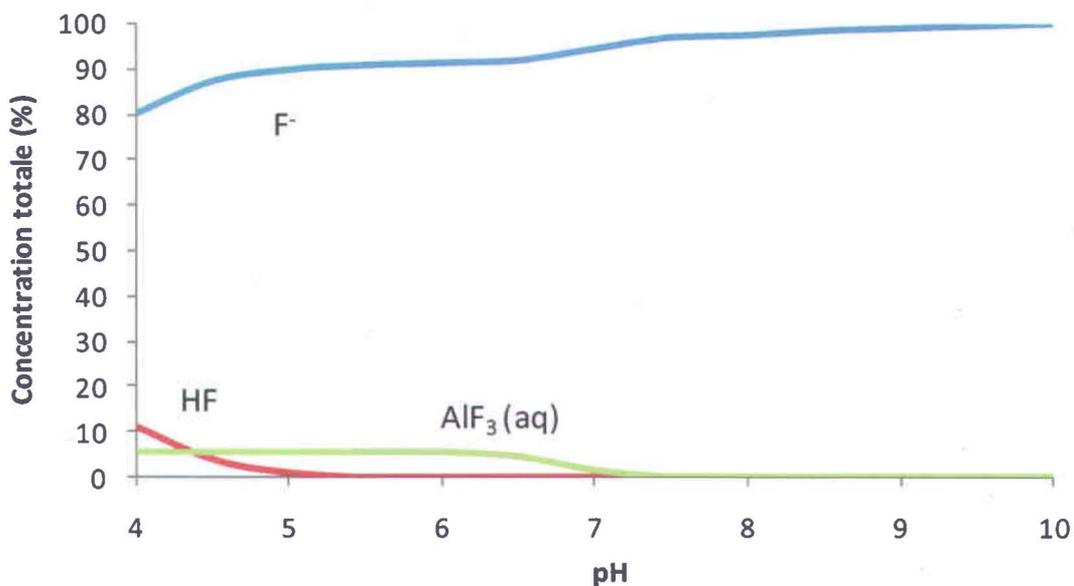


Figure 3.6 - Spéciation théorique des fluorures en présence d'aluminium. La concentration totale en aluminium a été fixée à 10,4 μM et la concentration totale en fluorures à 379 μM . De plus, la précipitation des solides dissous n'était pas permise.

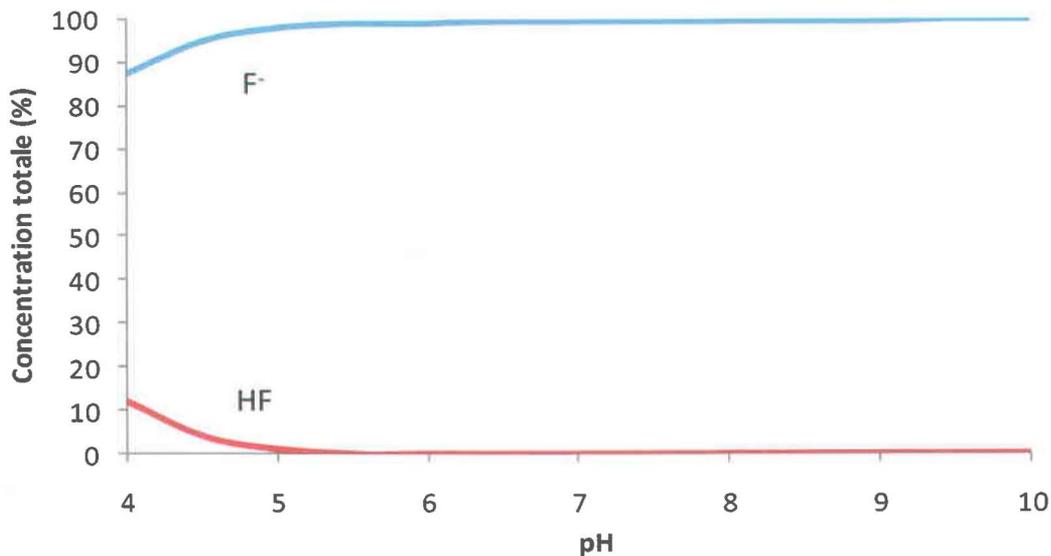


Figure 3.7 - Spéciation théorique des fluorures en absence d'aluminium. La concentration totale en fluorures a été fixée à 379 μM .

À la fois dans les traitements avec et sans aluminium, les fluorures se présentent majoritairement sous la forme libre (F^-) (**Figures 3.6 et 3.7**). Ce n'est qu'à un pH inférieur à 5,0 que la forme HF apparaît en solution de manière moins négligeable. Dans les traitements avec aluminium, comme le fluorure est en excès par rapport à l'aluminium, les fluoro-complexes ne peuvent représenter qu'une faible fraction du fluorure total.

Ces distributions sont représentatives de nos milieux synthétiques simulants des effluents d'alumineries. Il faut toutefois noter que la spéciation de l'aluminium et du fluorure sont passablement différentes de celle qui prévaut dans le milieu aquatique récepteur où, par exemple, la contribution de la forme $\text{AlF}_3(\text{aq})$ est normalement négligeable (**Figures 1.2 et 1.3**). En milieu naturel, la complexation de l'aluminium par la matière organique dissoute (acides humique et fulvique) serait très importante.

3.6 Approche expérimentale

3.6.1 Prise en charge de l'aluminium et des fluorures

Chaque expérience de prise en charge comprenait quatre traitements qui sont décrits dans le tableau suivant (**Tableau 3.4**). Chacun des traitements était effectué en triplicata ce qui totalisait douze milieux à tester pour chacune des espèces d'algues. Les milieux d'exposition étaient préparés 24 heures à l'avance afin de permettre à l'aluminium, qui

possède une cinétique de complexation lente ($k_w = 1 \text{ s}^{-1}$ (Morel et Hering 1993)), et aux fluorures d'atteindre un état d'équilibre.

Tableau 3.4 - Description des traitements expérimentaux.

Traitements	Algues	Fluorures	Aluminium	Fonction
A	X			Contrôle permettant de valider que le milieu est adéquat à la croissance.
C		X	X	Contrôle permettant de vérifier s'il y a des variations dans les concentrations en Al et F tout au long de l'expérience.
Al + F	X	X	X	Traitement permettant de mesurer la prise en charge d'Al et de F.
F	X	X		Traitement permettant de déterminer si Al joue un rôle dans la prise en charge de F.

Il aurait été intéressant d'ajouter un traitement qui contenait de l'aluminium sans fluorures afin de mesurer la différence de prise en charge avec le traitement qui contenait à la fois de l'aluminium et des fluorures (traitement Al + F). Par contre, en raison de sa faible solubilité, l'aluminium en l'absence de ligands complexants aurait, selon des calculs d'équilibre chimique avec MINEQL+, précipité dans les conditions testés. Nous aurions pu réduire la concentration d'aluminium mais nous avons jugé qu'il était préférable de travailler à des concentrations proches de celles observées dans les effluents finaux d'alumineries.

Avant chaque expérience, les algues étaient récoltées en milieu de phase exponentielle par centrifugation. Successivement, les algues étaient centrifugées à trois reprises en appliquant une force de rotation de 9000G durant 15 minutes. Un rinçage avec le milieu de culture était effectué entre chacune des centrifugations afin d'éliminer les débris cellulaires et exsudats produits par les algues. Une fois concentrées, les algues étaient alors comptées afin de déterminer le volume nécessaire pour inoculer les traitements avec une densité cellulaire initiale de 20 000 cellules/mL.

Les expériences de prise en charge étaient d'une durée de quatre jours (96 heures), et ce, afin d'observer à la fois les processus d'adsorption (court terme) et d'accumulation

(long terme). Les concentrations initiales en fluorures et en aluminium étaient mesurées juste avant l'ajout des algues. Puis, un suivi de l'aluminium dissous était effectué en prélevant des aliquotes de 2 mL à chaque pas de temps (1h, 6h, 24h, 48h, 72h, 96h) à l'aide de seringues dotées de filtres jetables en polyéthersulfone (PES) de 0,45 µm (*Thermo Scientific*). Tous les échantillons recueillis ainsi étaient acidifiés à 4 % avec de l'acide nitrique puis conservés au réfrigérateur jusqu'à l'analyse. La croissance algale était également suivie quotidiennement durant la période d'exposition par énumération à l'aide du compteur de particules.

L'approche expérimentale est résumée dans la figure suivante :

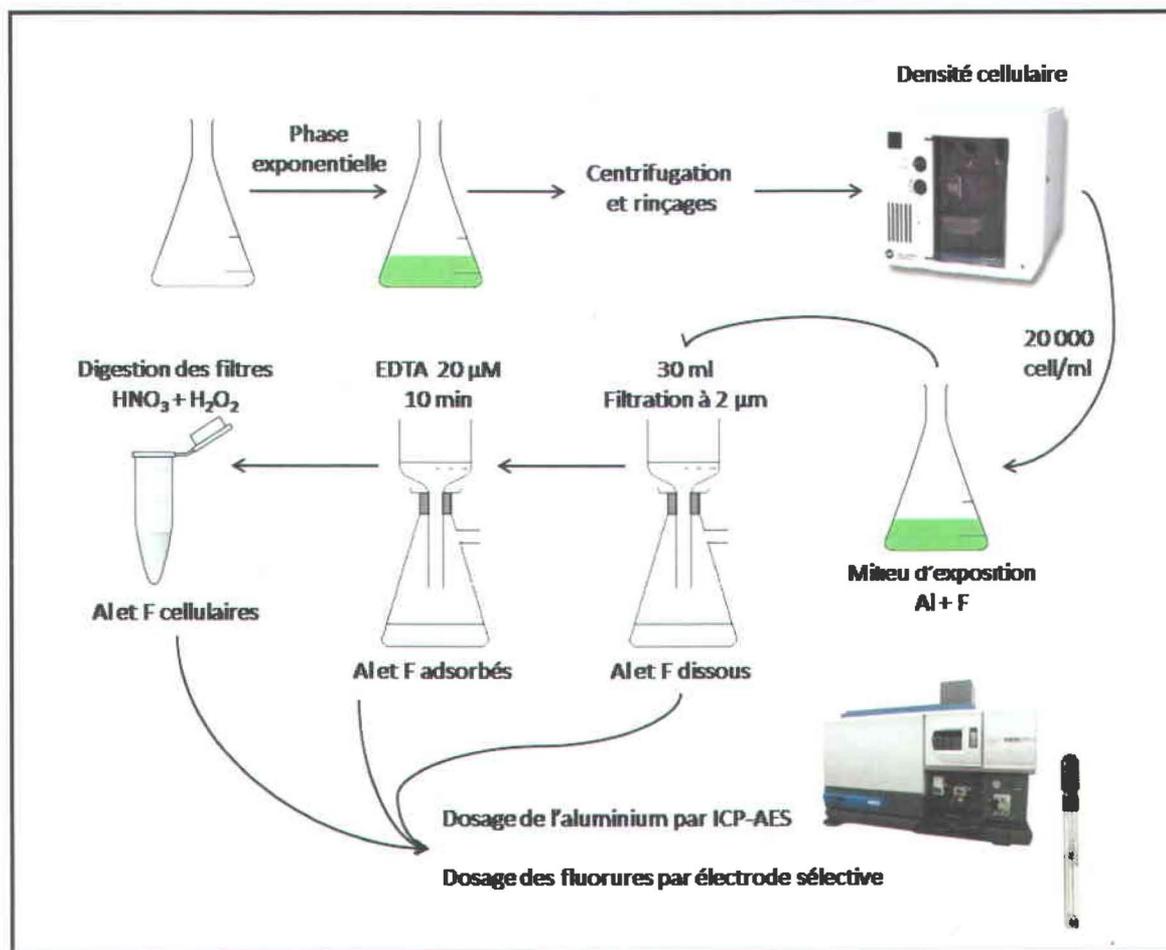


Figure 3.8 - Protocole expérimental pour les expériences de prise en charge.

À la fin de la période d'exposition, les douze milieux étaient filtrés afin de séparer les algues du milieu. Cette étape était effectuée à l'aide d'une rampe à filtration munie de tulipes et de filtres en polycarbonate d'une porosité de 2 µm. Des aliquotes de 2 mL

étaient alors prélevées dans le filtrat afin de mesurer les concentrations finales d'aluminium et de fluorures dissous. Ensuite, en prenant garde de mettre des contenants propres sous les tulipes, les filtres étaient soumis à trois rinçages de 5 mL d'EDTA (20 µM). Par contre, contrairement aux autres rinçages, le troisième rinçage était d'une durée de 10 minutes. Cette durée a été jugée adéquate grâce à un test préliminaire présenté en annexe (**Annexe C**). Cette étape permet donc à l'aluminium adsorbé aux parois cellulaires d'être relargué dans le filtrat. Ce principe fonctionne autant pour les fluorures qui se désorbent suivant un simple gradient de concentrations. Une fois de plus, des aliquotes de 2 mL étaient prélevées dans le filtrat afin de déterminer les concentrations d'aluminium et de fluorures qui avaient été désorbés.

Les aliquotes destinées au dosage des fluorures dissous et adsorbés étaient diluées avec 2 mL de TISAB II avant de pouvoir prendre les mesures avec l'électrode sélective. Les aliquotes destinées au dosage de l'aluminium dissous et adsorbé étaient acidifiées à 4 % puis gardées au réfrigérateur jusqu'au moment d'être mesurées à l'ICP-AES.

La dernière étape consistait à placer les filtres dans des fioles de type *Eppendorf* et d'ajouter 1 mL d'acide nitrique (HNO_3 pur) et 125 µL de peroxyde (H_2O_2) afin de digérer les algues. Les fioles étaient laissées ouvertes sous une hotte chimique durant 24 heures. Ensuite, les échantillons étaient préparés en prélevant 200 µL de cette solution acide et en la diluant dans 4,8 mL d'eau ultra-pure. On obtenait ainsi des échantillons acidifié à 4 % qui permettaient de déterminer les quantités d'aluminium accumulé par les algues. Les échantillons de fluorures accumulés étaient préparés en diluant une partie (200 µL) de la solution acide dans 9 parties (1,8 mL) d'une solution tampon d'acétate de sodium (CH_3COONa) (15 % m/m). En effet, cette dilution est nécessaire pour toute solution dont le pH est inférieur à 5, puisque les ions fluorures peuvent alors se complexer avec les protons pour former du HF ou du HF_2^- , molécules qui ne peuvent être détectées par l'électrode sélective.

À chacune des étapes, un « blanc » ou témoin était préparé afin de s'assurer que le matériel utilisé ne contribuait pas à la contamination d'aluminium ou de fluorures dans les échantillons. Plus précisément, des blancs de filtration ont été effectués avec les seringues munies de filtres encapsulés (0,45 µm), puis avec les membranes filtrantes sur tulipes (2 µm) utilisées lors de la filtration finale. Un blanc a également été effectué avec les mêmes filtres de 2 µm lors de l'étape de digestion. Dans tous les cas, les analyses des blancs étaient concluantes et confirmaient qu'aucune contamination détectable ne provenait du matériel.

Chaque expérience de prise en charge était répétée au moins une deuxième fois pour s'assurer de la reproductibilité des résultats. D'ailleurs, les résultats présentés dans ce mémoire compilent les données recueillies lors de ces deux expériences.

3.6.2 Influence du pH sur la prise en charge

Suite à cette première série d'expériences, l'effet de la variation du pH sur la prise en charge a été étudié. Étant donné les résultats de prise en charge obtenus en première partie ainsi que pour son bon rendement cellulaire, *Pseudokirchneriella subcapitata* a été sélectionnée pour les étapes subséquentes. L'approche expérimentale présentée à la section précédente a été utilisée, mais cette fois en mesurant la prise en charge à pH 5,5 et 7,5. Ces résultats ont ensuite été comparés à ceux déjà obtenus à pH 7. De plus, la prise en charge des fluorures étant absente ou trop faible pour être mesurée, il n'a pas été jugé nécessaire de reproduire le traitement contenant seulement des fluorures. Donc, il y avait un traitement Al + F à pH 5,5, un traitement Al + F à pH 7,5 et les contrôles associés. Une fois de plus, les traitements étaient effectués en triplicata.

Les algues qui étaient préalablement cultivées à pH 7 auraient pu être transférées en phase exponentielle directement dans un milieu à pH 5,5, c'est-à-dire sans période d'acclimatation. Ceci n'est pas supposé avoir d'influence sur la croissance et donc sur le temps nécessaire pour atteindre la phase exponentielle (Boullemant 2007). Toutefois, nous avons jugé qu'il était tout de même préférable, par précaution, de cultiver trois générations à pH 5,5 avant d'effectuer une expérience de prise en charge et tout comme pour les cultures à pH 7,5.

3.6.3 Prise en charge par les algues mortes

Comme les expériences avec les algues mortes nécessitaient une grande densité cellulaire initiale, il a fallu cultiver une dizaine d'Erlenmeyers avec *P. subcapitata* afin d'avoir une réserve de cellules suffisante. Une fois la phase exponentielle atteinte, le contenu de tous les Erlenmeyers était combiné puis centrifugé toujours en trois étapes successives (9000 G, 15 minutes) en effectuant les rinçages intermittents avec du milieu de culture frais. Le concentré d'algues résultant était compté et trois tubes à centrifugation de 500 mL étaient inoculés avec 200 millions de cellules chacun. Cette densité a été fixée selon la densité algale finale mesurée après les quatre jours de

croissance alloués dans les expériences de prise en charge avec les algues vivantes. Ensuite, les tubes étaient de nouveau centrifugés afin d'éliminer le plus de surnageant possible. L'utilisation d'une pipette s'est avérée efficace dans cette étape afin de minimiser les pertes de cellules. D'ailleurs, le surnageant enlevé était également compté afin de s'assurer que les pertes étaient négligeables. Les algues étaient directement mises à sécher dans ces mêmes tubes laissés ouverts à l'intérieur d'une étuve à 60°C durant 24 heures (Çetinkaya Dönmez et al. 1999). Un flacon témoin sans algues (tube à centrifugation de 500 mL vide) a également été placé dans l'étuve afin de s'assurer qu'il n'y ait aucune contamination provenant de l'appareil. Finalement, les algues mortes étaient remises en suspension avec 100 mL des milieux d'exposition correspondant par un simple brassage manuel.

Les expériences de prise en charge avec les algues mortes étaient donc effectuées directement dans les tubes à centrifugation de 500 mL toujours en suivant la même approche expérimentale présentée plus haut. Dans le cas présent, par contre, la durée d'exposition était réduite à 6 heures et les prélèvements d'aliqotes pour les mesures d'aluminium dissous étaient effectués à chaque heure. Les contrôles sans algues (traitements C) ont été effectués, mais, pour des raisons évidentes, il n'était pas nécessaire d'effectuer les contrôles de croissance algale (traitements A).

Le flacon témoin a été manipulé de la même façon que ceux qui contenaient des algues et, une fois de plus, ce blanc a permis de confirmer qu'aucune contamination d'aluminium ou de fluorures ne s'était produite.

3.7 Analyses statistiques

Des analyses statistiques ont été effectuées afin de comparer les valeurs mesurées dans chacune des expériences et de déterminer s'il y a ou non une différence significative entre ces valeurs. Le logiciel informatique SYSTAT (version 13, Cranes Software International Ltd.) a été utilisé pour effectuer des tests d'analyse de variance à un facteur (ANOVA, $p < 0,05$). La normalité des données (test de Kolmogorov-Smirnov) ainsi que l'homogénéité des variances (test de Levene) sont deux conditions qui devaient être satisfaites avant d'effectuer le test paramétrique. Finalement, dans le cas où des différences significatives étaient présentes, un test post-hoc de comparaison (test de Scheffé) était appliqué afin de déterminer les valeurs responsables de ces différences.

En plus des analyses statistiques, des bilans de masse pour l'aluminium étaient effectués afin d'évaluer les pertes et de confirmer la qualité des données (**Annexe F**).

4. RÉSULTATS

4.1 Potentiel accumulateur des algues vertes

4.1.1 Croissance des algues

Deux expériences identiques de prise en charge (a) et (b) ont été effectuées avec chacune des espèces. Les graphiques suivant montrent la croissance cellulaire de chacune des espèces lors de ces expériences, et ce, pour chacun des traitements.

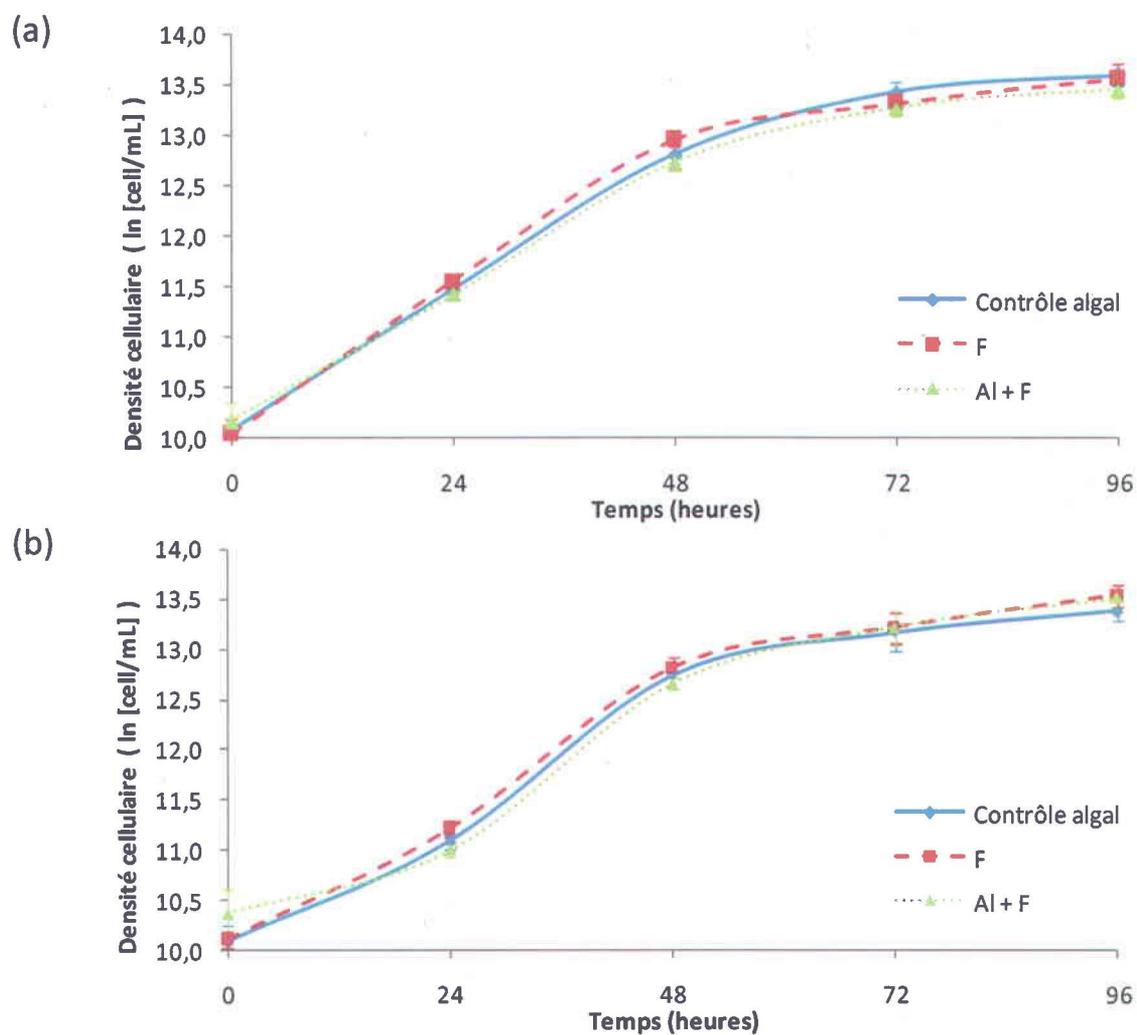


Figure 4.1 - Courbes de croissance de *C. reinhardtii* pour les expériences (a) et (b) (pH 7, 20°C, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$).

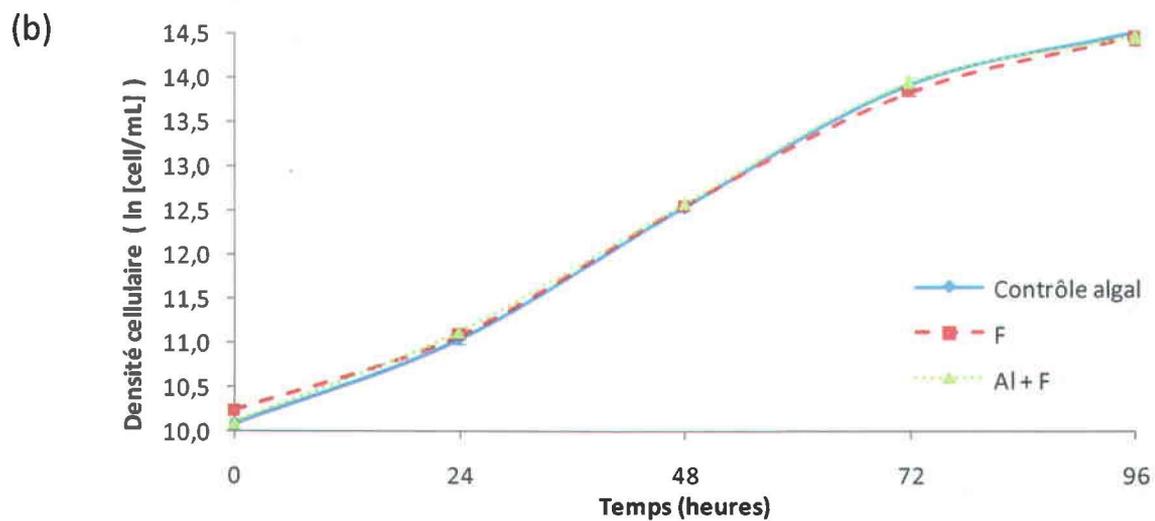
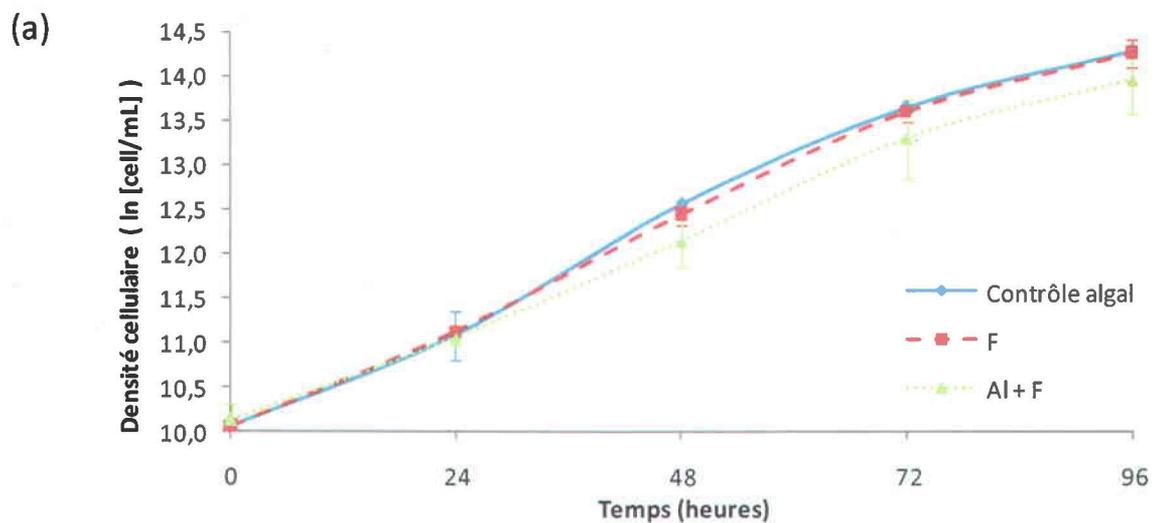


Figure 4.2 - Courbes de croissance de *P. subcapitata* pour les expériences (a) et (b) (pH 7, 20°C, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$).

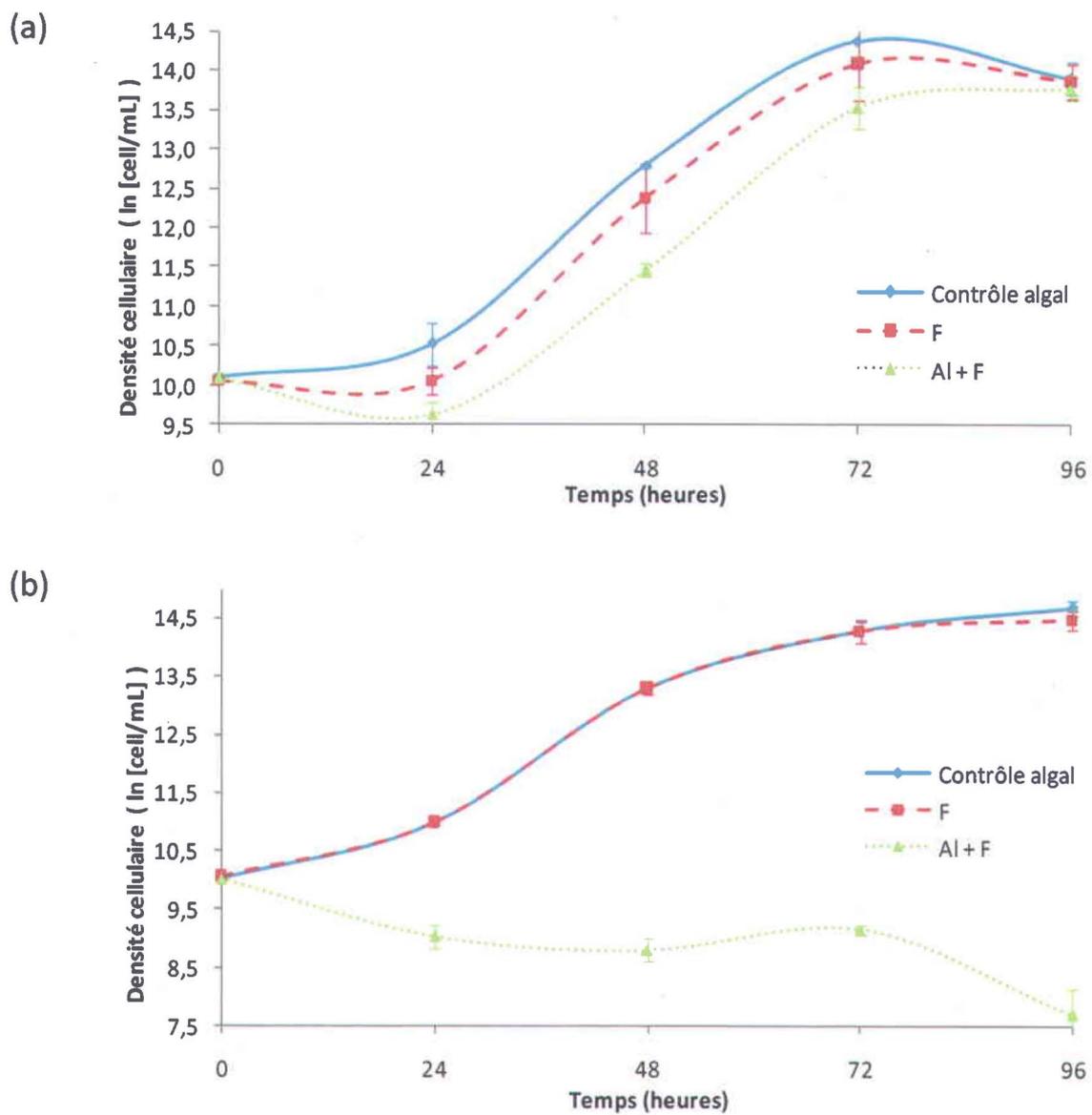


Figure 4.3 - Courbes de croissance de *C. vulgaris* pour les expériences (a) et (b) (pH 7, 20°C, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$).

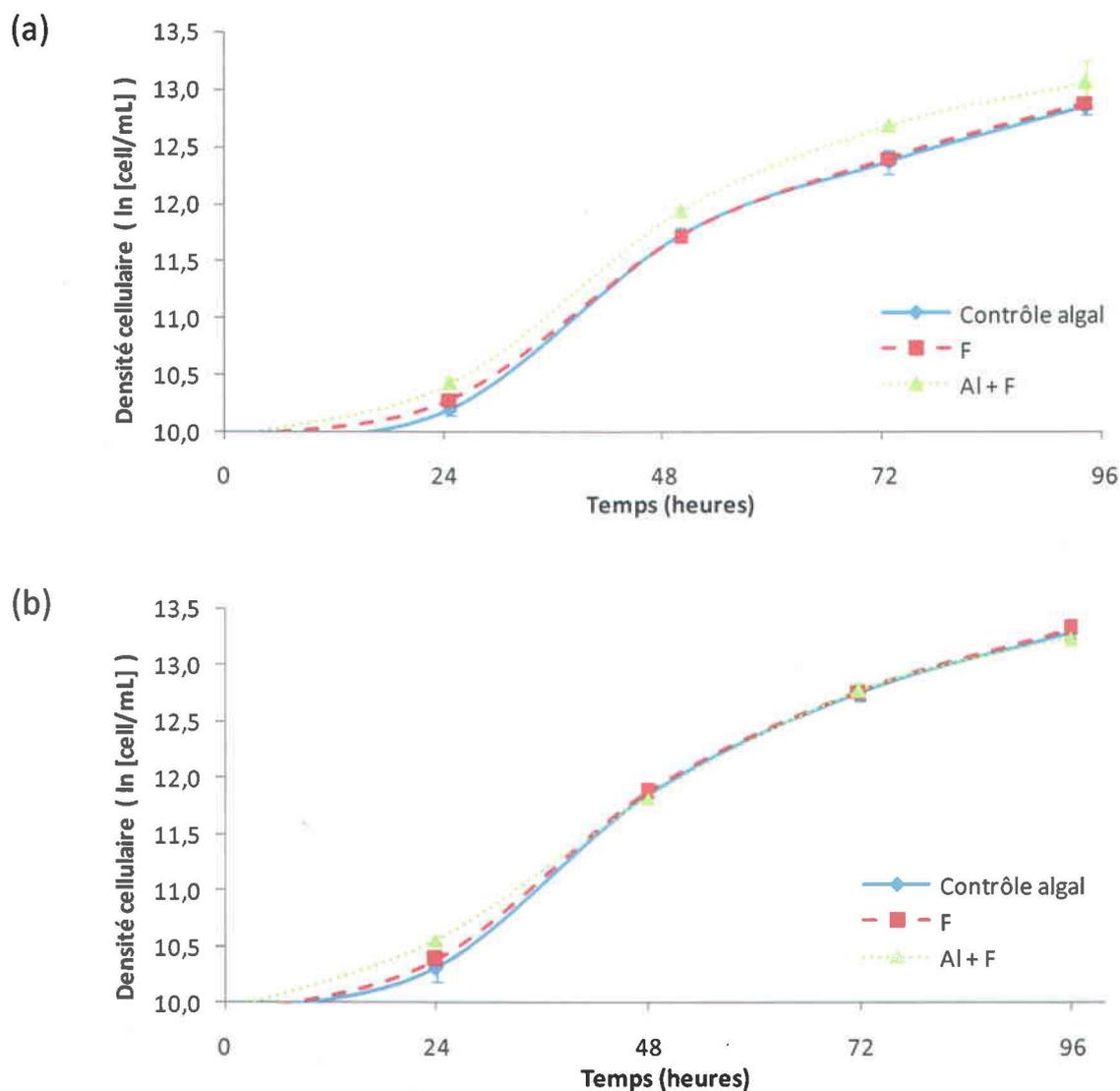


Figure 4.4 - Courbes de croissance de *S. obliquus* pour les expériences (a) et (b) (pH 7, 20°C, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$).

En somme, *C. vulgaris* est l'espèce qui présente le meilleur rendement cellulaire en absence de fluorures et d'aluminium, suivi de près par *P. subcapitata*. Par contre, lorsque les algues sont exposées à ces deux éléments, *P. subcapitata* surpasse *C. vulgaris*. En fait, *C. vulgaris* est la seule espèce dont la croissance semble être affectée par la présence d'aluminium. Durant la première expérience, il y a même eu absence de croissance en présence d'aluminium (Figure 4.3a). Durant la deuxième expérience, bien que le temps pour atteindre la phase exponentielle n'ait pas été affecté, la densité

cellulaire était légèrement plus faible dans le traitement avec aluminium tout au long de l'exposition. En outre, la densité cellulaire finale mesurée dans les traitements avec aluminium de cette expérience était tout de même assez élevée et donc comparable à celle des autres espèces (**Figure 4.3b**). Ce sont d'ailleurs les résultats de cette deuxième expérience seulement qui sont présentés dans les sections suivantes. Pour les autres espèces, les résultats présentés sont une compilation des deux expériences de prise en charge.

4.1.2 Prise en charge des fluorures

Malgré les faibles concentrations d'aluminium par rapport aux fluorures dans les milieux d'exposition et malgré le fait que le CDTA contenu dans le tampon TISAB II a pour fonction de complexer préférentiellement l'aluminium présent en solution, un test préliminaire a permis de démontrer que la présence d'aluminium en solution influençait les lectures de l'électrode sélective aux fluorures. Un facteur de correction a donc été appliqué aux mesures de fluorures afin de contrer cet effet. Les détails de ce test préliminaire sont présentés en annexe (**Annexe D**).

Ensuite, un peu de fluorures ont été mesurés dans le filtrat suivant le rinçage à l'EDTA dans les contrôles sans algue (Traitement C). Ceci est probablement le résultat de gouttelettes qui restaient accrochées aux parois de la tulipe. Le processus de filtration n'étant jamais parfait, un faible volume de solution restait parfois pris au niveau du filtre. Ces valeurs présentées en annexe étaient comparables aux mesures de fluorures adsorbés dans les traitements avec algues, laissant croire que ces valeurs correspondaient au bruit de fond (**Annexe G**). Une valeur moyenne a donc été calculée pour chacune des expériences à partir de ces contrôles, ce qui a ensuite été déduit des valeurs de fluorures adsorbés dans les traitements avec algues. En appliquant cette correction, les valeurs de fluorures adsorbés sont devenues négligeables et les bilans de masses étaient plus cohérents.

Finalement, comme les valeurs de fluorures cellulaires étaient trop faibles, il était impossible d'obtenir une lecture à l'aide de l'électrode sélective. En somme, ce sont les mesures de fluorures qui sont restés en solution à la fin des expositions qui permettent d'estimer la prise en charge pour chacune des espèces d'algue (**Tableau 4.1; Figure 4.5**).

Tableau 4.1 - Concentrations initiales et finales de fluorures (mg/L \pm écart type) pour les expériences de prise en charge avec chacune des espèces.

Traitement F	[F] initiale	[F] finale
<i>C. reinhardtii</i>	7,2 \pm 0,2	6,7 \pm 0,2
<i>P. subcapitata</i>	6,95 \pm 0,02	7,1 \pm 0,3
<i>C. vulgaris</i>	7,3 \pm 0,2	7,36 \pm 0,03
<i>S. obliquus</i>	7,4 \pm 0,1	7,7 \pm 0,1
Traitement Al + F	[F] initiale	[F] finale
<i>C. reinhardtii</i>	7,1 \pm 0,3	6,6 \pm 0,2
<i>P. subcapitata</i>	7,2 \pm 0,2	7,2 \pm 0,3
<i>C. vulgaris</i>	7,1 \pm 0,3	7,3 \pm 0,1
<i>S. obliquus</i>	7,4 \pm 0,3	7,9 \pm 0,4

* Limite de détection de l'appareil : 0,02 mg/L (1 μ M)

** Limite de quantification de l'appareil : 5 mg/L (263 μ M)

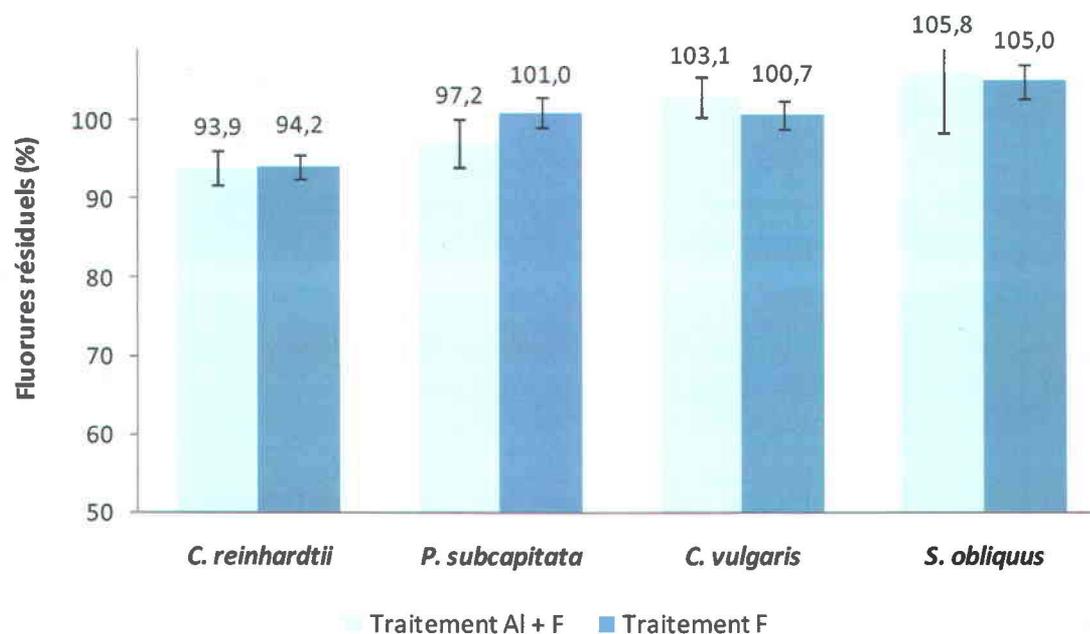


Figure 4.5 - Portion de fluorures restant en solution après les 96 heures d'exposition pour chacune des espèces d'algues (pH 7, [Al_T] = 10,4 μ M, [F_T] = 379 μ M).

4.1.3 Prise en charge de l'aluminium

Le suivi de l'aluminium dissous tout au long de la période d'exposition lors des expériences de prise en charge nous a permis de visualiser la cinétique de prise en charge de l'aluminium par les différentes espèces d'algues (Tableau 4.2; Figure 4.6). On remarque ainsi une diminution rapide de l'aluminium dans la première heure, ce qui résulte du mécanisme d'adsorption. Dans les heures qui suivent, l'enlèvement de l'aluminium se poursuit, mais à un rythme beaucoup plus lent. C'est le résultat de l'accumulation cellulaire.

En fait, la surface de l'algue s'équilibre constamment avec la concentration d'aluminium en solution. À mesure que les ions métalliques sont internalisés, la concentration d'aluminium en solution diminue, ce qui induit progressivement une dissociation de l'aluminium initialement adsorbé.

Tableau 4.2 - Variation des concentrations d'aluminium en solution ($\mu\text{g/L} \pm \text{écart type}$) durant les expériences de prise en charge avec chacune des espèces.

	<i>C. reinhardtii</i>	<i>P. subcapitata</i>	<i>C. vulgaris</i>	<i>S. obliquus</i>
t = 0h	251 \pm 7	240 \pm 31	262 \pm 3	240 \pm 2
t = 1h	63 \pm 17	68 \pm 18	151 \pm 10	93 \pm 5
t = 6h	61 \pm 16	65 \pm 19	144 \pm 9	80 \pm 1
t = 24h	59 \pm 15	60 \pm 17	134 \pm 12	82 \pm 15
t = 48h	60 \pm 13	56 \pm 16	126 \pm 9	75 \pm 8
t = 72h	59 \pm 11	54 \pm 17	124 \pm 9	72 \pm 8
t = 96h	56 \pm 6	51 \pm 20	124 \pm 10	82 \pm 32

* Limite de détection de l'appareil : 1 $\mu\text{g/L}$ (37 nM)

** Limite de quantification de l'appareil : 5 $\mu\text{g/L}$ (185 nM)

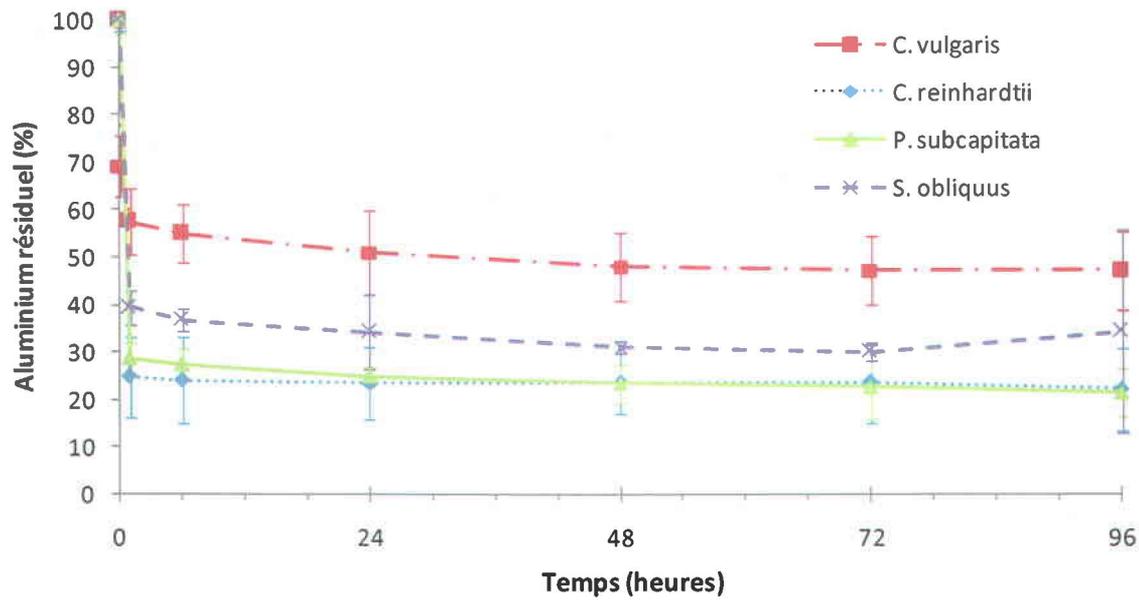


Figure 4.6 - Cinétique de la prise en charge de l'aluminium selon l'espèce algale (pH 7, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$).

Comme pour les mesures de fluorures adsorbés, une certaine concentration d'aluminium a été mesurée dans le filtrat résultant du rinçage à l'EDTA des contrôles sans algues (traitements C). Dans ce cas-ci par contre, la moyenne de ces valeurs ne pouvait être considérée comme bruit de fond. D'abord, contrairement aux fluorures, l'aluminium était pris en charge par les algues, ce qui a pour conséquence de diminuer la concentration d'aluminium en solution alors que les concentrations dans les témoins étaient stables. De plus, les exsudats relargués par les algues complexent également une partie de l'aluminium en solution ce qui diminue aussi la concentration en aluminium pouvant réagir avec les surfaces. Ainsi, le bruit de fond devait être moindre à la fin des quatre jours d'exposition. En somme, ces mécanismes entraînent une réduction de l'adsorption de l'aluminium dissous sur les filtres, ce qui réduit le bruit de fond dans les traitements avec algues. Nous avons tout de même tenté d'estimer un bruit de fond corrigé pour la diminution de la concentration en effectuant une règle de trois avec les concentrations en aluminium dissous et l'adsorption mesurée dans les contrôles sans algues par rapport à l'aluminium dissous dans les traitements avec algues. Par contre, en soustrayant ces valeurs aux mesures d'aluminium adsorbé, les bilans de masse devenaient incohérents. Nous avons donc décidé de conserver les valeurs d'aluminium adsorbé telles quelles, sans correction.

Suivant ces réflexions, la capacité d'enlèvement en valeurs absolues de chacune des espèces ont d'abord été comparées (Tableau 4.3; Figure 4.7). À l'exception de *C. vulgaris* qui montre une capacité d'enlèvement significativement plus faible (35 fg/cell), les trois autres espèces montrent des résultats similaires. Lorsque l'on s'en tient seulement à la portion d'aluminium adsorbé, c'est plutôt *S. obliquus* qui se démarque des autres espèces avec une adsorption significativement plus élevée (60 fg/cell). Les tableaux 4.4 et 4.5 compilent les résultats des analyses statistiques effectuées.

Tableau 4.3 - Enlèvement de l'aluminium en valeurs absolues (en femtogramme/cell., ou 10^{-15} g/cell., \pm écart type) selon l'espèce algale (pH 7, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$).

	<i>C. reinhardtii</i>	<i>P. subcapitata</i>	<i>C. vulgaris</i>	<i>S. obliquus</i>
Adsorption	24 \pm 5	27 \pm 7	23 \pm 5	60 \pm 17
Accumulation	59 \pm 16	56 \pm 32	11 \pm 4	22 \pm 4
Enlèvement total	83 \pm 14	83 \pm 31	35 \pm 8	83 \pm 20

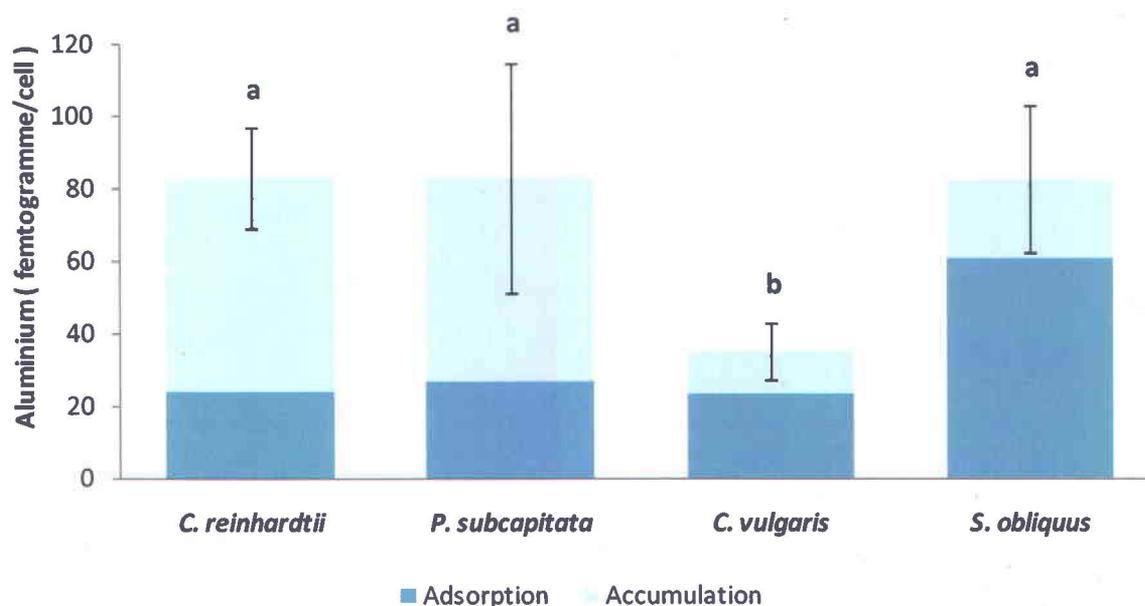


Figure 4.7 - Enlèvement de l'aluminium en valeurs absolues et proportion relative des fractions adsorbés et accumulés selon l'espèce algale (pH 7, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$). Des lettres différentes signifient qu'il y a une différence significative ($p < 0,05$) entre les valeurs de prise en charge totale.

Tableau 4.4 - Récapitulatif des analyses statistiques effectuées sur les valeurs absolues de prise en charge totale.

	<i>C. reinhardtii</i>	<i>P. subcapitata</i>	<i>C. vulgaris</i>	<i>S. obliquus</i>
<i>C. reinhardtii</i>				
<i>P. subcapitata</i>	p = 1,000			
<i>C. vulgaris</i>	p = 0,030	p = 0,029		
<i>S. obliquus</i>	p = 1,000	p = 1,000	p = 0,030	

Tableau 4.5 - Récapitulatif des analyses statistiques effectuées sur les valeurs absolues d'adsorption.

	<i>C. reinhardtii</i>	<i>P. subcapitata</i>	<i>C. vulgaris</i>	<i>S. obliquus</i>
<i>C. reinhardtii</i>				
<i>P. subcapitata</i>	p = 0,972			
<i>C. vulgaris</i>	p = 1,000	p = 0,966		
<i>S. obliquus</i>	p < 0,001	p < 0,001	p = 0,001	

Comme Rio Tinto Alcan s'intéresse à la proportion totale d'aluminium qui peut être enlevée des effluents, la capacité d'enlèvement de chacune des espèces a aussi été comparée sous forme de pourcentage (**Tableau 4.6; Figure 4.8**). Ainsi, *P. subcapitata* s'est avérée prendre en charge significativement plus d'aluminium que les trois autres espèces avec un enlèvement total de 41 %. De son côté, *C. vulgaris* demeure l'espèce qui enlève significativement la moins grande proportion d'aluminium (9 %) dans nos conditions expérimentales. De plus, *S. obliquus* montre encore une capacité d'adsorption assez élevée (13 %), qui cette fois n'est pas significativement différente de la proportion adsorbée par *P. subcapitata* (15 %). Les tableaux 4.7 et 4.8 compilent les résultats des analyses statistiques effectuées.

Tableau 4.6 - Enlèvement de l'aluminium en pourcentage (% ± écart type) selon l'espèce algale (pH 7, [Al_T] = 10,4 µM, [F_T] = 379 µM).

	<i>C. reinhardtii</i>	<i>P. subcapitata</i>	<i>C. vulgaris</i>	<i>S. obliquus</i>
Adsorption	7 ± 1	15 ± 7	7 ± 2	13 ± 5
Accumulation	17 ± 5	26 ± 7	2 ± 2	5 ± 1
Enlèvement total	25 ± 4	41 ± 5	9 ± 4	18 ± 6

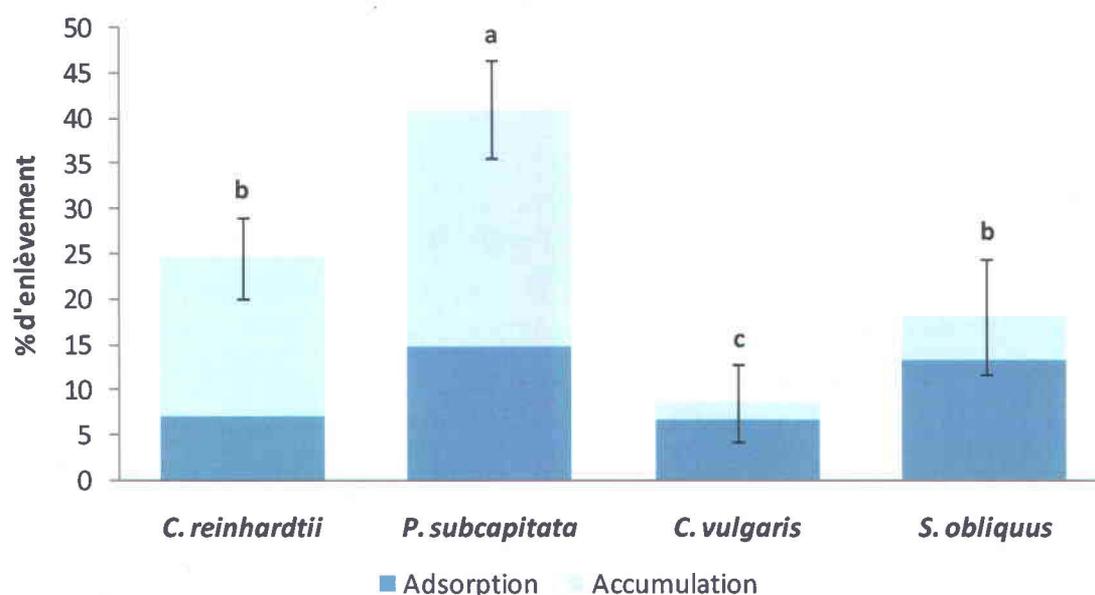


Figure 4.8 - Enlèvement de l'aluminium en pourcentage et proportion relative des fractions adsorbés et accumulés selon l'espèce algale (pH 7, [Al_T] = 10,4 µM, [F_T] = 379 µM). Des lettres différentes signifient qu'il y a une différence significative (p < 0,05) entre les valeurs de prise en charge totale.

Tableau 4.7 - Récapitulatif des analyses statistiques effectuées sur les pourcentages de prise en charge totale.

	<i>C. reinhardtii</i>	<i>P. subcapitata</i>	<i>C. vulgaris</i>	<i>S. obliquus</i>
<i>C. reinhardtii</i>				
<i>P. subcapitata</i>	p < 0,001			
<i>C. vulgaris</i>	p < 0,001	p < 0,001		
<i>S. obliquus</i>	p = 0,168	p < 0,001	p = 0,023	

Tableau 4.8 - Récapitulatif des analyses statistiques effectuées sur les pourcentages d'adsorption.

	<i>C. reinhardtii</i>	<i>P. subcapitata</i>	<i>C. vulgaris</i>	<i>S. obliquus</i>
<i>C. reinhardtii</i>				
<i>P. subcapitata</i>	p = 0,032			
<i>C. vulgaris</i>	p = 0,996	p = 0,020		
<i>S. obliquus</i>	p = 0,107	p = 0,931	p = 0,070	

4.1.4 Précipitation de l'aluminium

Contrairement à ce que les calculs théoriques prévoyaient, nous avons constaté qu'une partie de l'aluminium dans les milieux a précipité (**Figure 4.9**). La précipitation a pu être évaluée à la fin des expériences de prise en charge en prenant soin de filtrer à l'aide d'une seringue munie d'un filtre d'une porosité de 0,45 µm une aliquote de la solution préalablement filtrée à 2 µm dans une tulipe. Ainsi, les particules dont le diamètre se trouvait entre 0,45 µm et 2 µm étaient recueillies et cette portion pouvait être calculée. La précipitation est donc quelque peu sous-estimée puisqu'une filtration à 0,2 µm ou encore plus fine est généralement privilégiée afin de séparer les précipités d'une solution. De plus, les contrôles sans algues (traitement C) ont permis de démontrer qu'une portion de l'aluminium demeurait sur le filtre de 2 µm (**Annexe G**). Cet aluminium pouvait soit correspondre à un précipité qui restait pris sur le filtre ou encore à de l'aluminium dissous qui s'adsorbait au filtre. Dans les deux cas, il est très probable que cette portion ait contribué aux valeurs d'aluminium total que nous avons mesurées sur le filtre pour les traitements avec algues et conséquemment, aux valeurs d'aluminium adsorbé et accumulé. Par contre, puisque ce phénomène reste difficilement quantifiable pour les traitements avec algues et que les bilans de masse étaient cohérents, aucune correction n'a été apportée aux valeurs de prise en charge présentées dans ce mémoire. Finalement, bien que la précipitation soit très variable d'une expérience à l'autre, cette portion doit être considérée étant donné qu'elle pourrait être enlevée des effluents par différentes méthodes, telles que la filtration. Le tableau 4.9 compile les résultats des analyses statistiques effectuées avec les valeurs présentées à la figure 4.9.

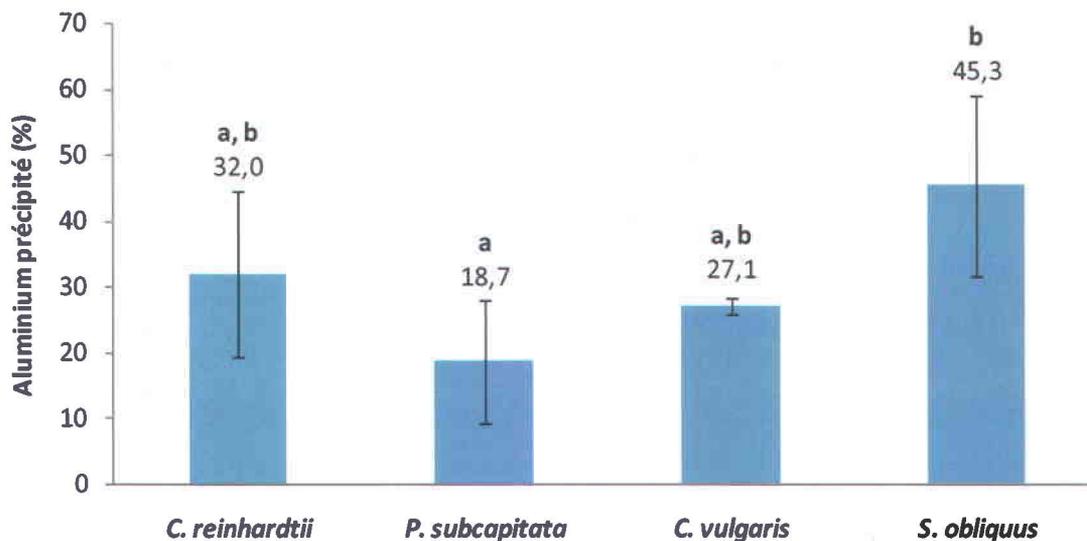


Figure 4.9 - Précipitation de l'aluminium dans les expériences de prise en charge avec chacune des espèces algales (pH 7, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$). Des lettres différentes signifient qu'il y a une différence significative ($p < 0,05$) entre les valeurs de précipitation.

Tableau 4.9 - Récapitulatif des analyses statistiques effectuées sur les pourcentages d'adsorption.

	<i>C. reinhardtii</i>	<i>P. subcapitata</i>	<i>C. vulgaris</i>	<i>S. obliquus</i>
<i>C. reinhardtii</i>				
<i>P. subcapitata</i>	p = 0,199			
<i>C. vulgaris</i>	p = 0,922	p = 0,708		
<i>S. obliquus</i>	p = 0,237	p = 0,005	p = 0,153	

4.2 Influence du pH sur la prise en charge

4.2.1 Influence du pH sur la croissance

D'abord, les résultats de croissance montrent que *P. subcapitata* a atteint un rendement cellulaire plus élevé aux alentours d'un pH neutre (pH 7,0 et 7,5) et un rendement plus

faible à pH 5,5 (Figure 4.10). Lorsque l'on considère les contrôles algaux, la différence est significative entre les rendements cellulaires obtenus à pH 5,5 et à pH 7,0 ($p = 0,019$), mais pas entre les rendements obtenus à pH 7,0 et à pH 7,5 ($p = 0,133$). Le phénomène est presque le même lorsque l'on considère les traitements avec aluminium. La différence est significative entre les rendements cellulaires obtenus à pH 5,5 et à pH 7,0 ($p = 0,006$) et, cette fois, elle l'est aussi, quoique faiblement, entre les rendements obtenus à pH 7,0 et à pH 7,5 ($p = 0,045$). Finalement, à pH 5,5, on observe une différence significative entre la densité cellulaire finale du contrôle algal et celle du traitement qui contient de l'aluminium ($p = 0,021$). Ce n'est pas le cas pour les expériences menées à pH 7,0 ($p = 0,669$) et à pH 7,5 ($p = 0,137$).

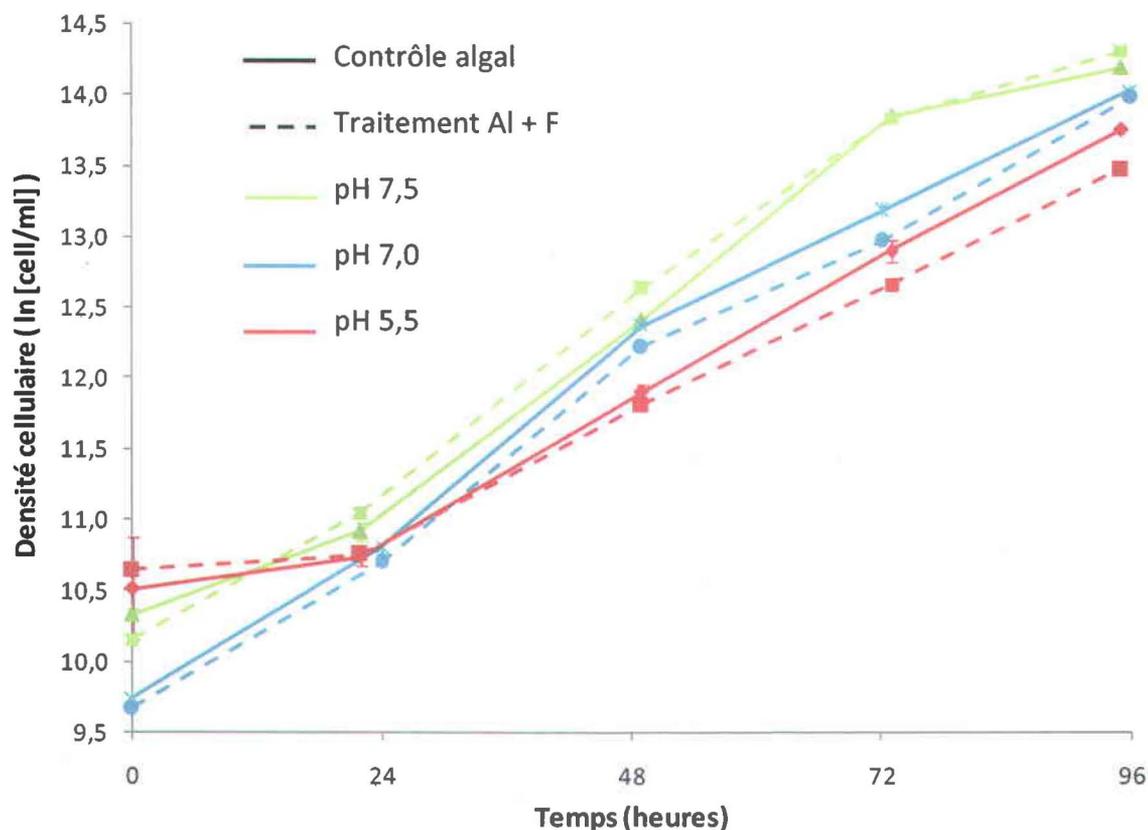


Figure 4.10 - Croissance de *Pseudokirchneriella subcapitata* en fonction du pH (20°C, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$).

4.2.2 Influence du pH sur la prise en charge des fluorures

Nous n'avons observé aucun enlèvement significatif de fluorures, et ce, pour tous les pH testés (Figure 4.11). Le pH n'a donc aucune influence sur la prise en charge des fluorures dans la gamme testée.

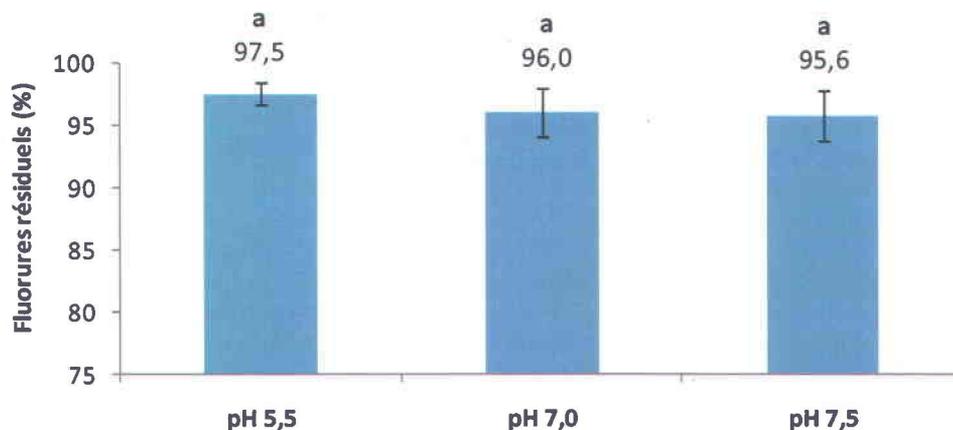


Figure 4.11 - Influence du pH sur le pourcentage de fluorures restant en solution à la fin des expériences de prise en charge (*P. subcapitata*, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$). Les lettres identiques signifient qu'il n'y a pas de différence significative ($p > 0,05$) entre les valeurs de fluorures résiduels.

4.2.3 Influence du pH sur la prise en charge de l'aluminium

Les résultats de cette expérience montrent que le pH a un effet notable sur la prise en charge de l'aluminium (Tableaux 4.10 et 4.13; Figures 4.12 et 4.13). D'abord, la prise en charge s'est avérée être significativement plus faible à pH 5,5. Ensuite, la prise en charge totale est restée semblable à pH 7,0 et 7,5, quoique le niveau d'adsorption soit significativement plus important à pH 7,5 qu'à pH 7,0. Ces traits sont valables autant en valeurs absolues qu'en pourcentage d'enlèvement. Les tableaux 4.11, 4.12, 4.14 et 4.15 compilent les résultats des analyses statistiques effectuées.

Tableau 4.10 - Enlèvement de l'aluminium en valeurs absolues (en femtogramme/cell., ou 10^{-15} g/cell., \pm écart type) en fonction du pH (*P. subcapitata*, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$).

	pH 5,5	pH 7,0	pH 7,5
Adsorption	14 \pm 2	27 \pm 6	43 \pm 5
Accumulation	1 \pm 1	56 \pm 17	34 \pm 5
Enlèvement total	15 \pm 2	83 \pm 13	77 \pm 1

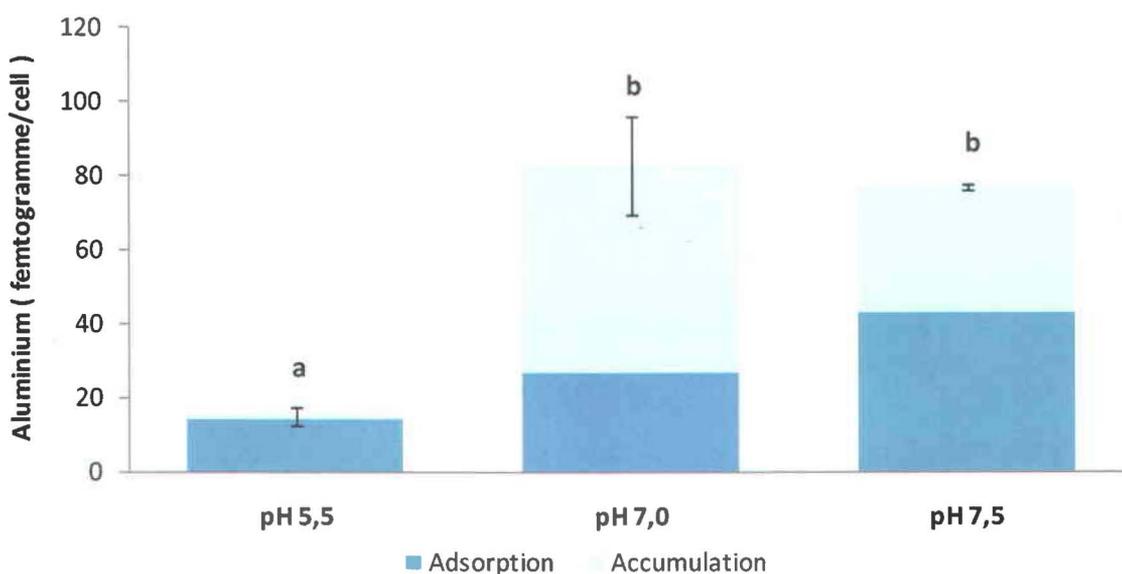


Figure 4.12 - Enlèvement de l'aluminium en valeurs absolues en fonction du pH (*P. subcapitata*, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$). Des lettres différentes signifient qu'il y a une différence significative ($p < 0,05$) entre les valeurs de prise en charge totale.

Tableau 4.11 - Récapitulatif des analyses statistiques effectuées sur les valeurs absolues de prise en charge totale selon le pH.

	pH 5,0	pH 7,0	pH 7,5
pH 5,0			
pH 7,0	$p < 0,001$		
pH 7,5	$p < 0,001$	$p = 0,627$	

Tableau 4.12 - Récapitulatif des analyses statistiques effectuées sur les valeurs absolues d'adsorption selon le pH.

	pH 5,0	pH 7,0	pH 7,5
pH 5,0			
pH 7,0	p = 0,037		
pH 7,5	p = 0,001	p = 0,014	

Tableau 4.13 - Enlèvement de l'aluminium en pourcentage (% ± écart type) en fonction du pH (*P. subcapitata*, [Al_T] = 10,4 µM, [F_T] = 379 µM).

	pH 5,5	pH 7,0	pH 7,5
Adsorption	3,9 ± 0,5	15 ± 7	28 ± 1
Accumulation	0,3 ± 0,4	26 ± 7	22 ± 5
Enlèvement total	4,2 ± 0,8	41 ± 5	50 ± 4

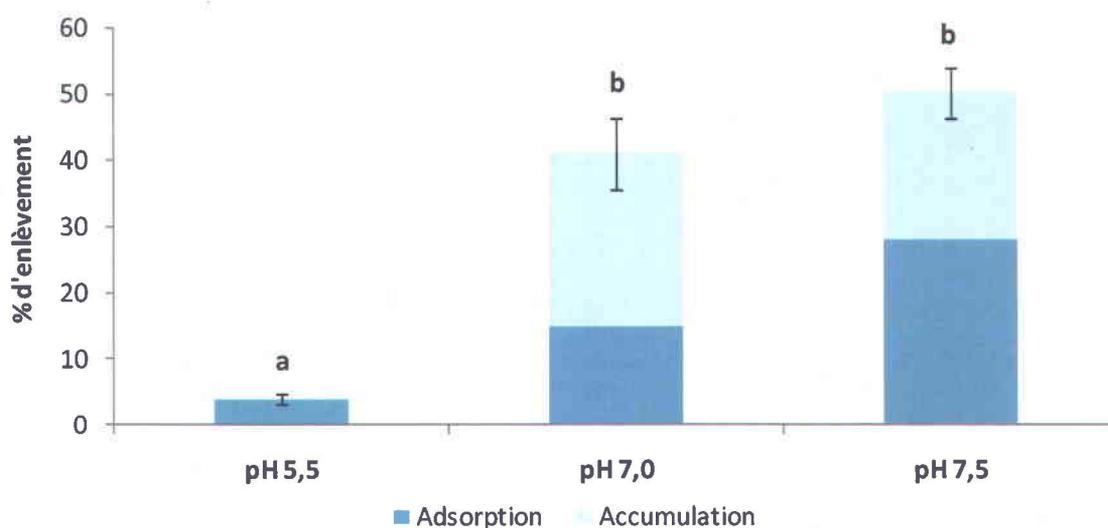


Figure 4.13 - Pourcentage d'enlèvement de l'aluminium en fonction du pH (*P. subcapitata*, [Al_T] = 10,4 µM, [F_T] = 379 µM). Des lettres différentes signifient qu'il y a une différence significative ($p < 0,05$) entre les valeurs de prise en charge totale.

Tableau 4.14 - Récapitulatif des analyses statistiques effectuées sur les pourcentages de prise en charge totale selon le pH.

	pH 5,0	pH 7,0	pH 7,5
pH 5,0			
pH 7,0	p < 0,001		
pH 7,5	p < 0,001	p = 0,053	

Tableau 4.15 - Récapitulatif des analyses statistiques effectuées sur les pourcentages d'adsorption selon le pH.

	pH 5,0	pH 7,0	pH 7,5
pH 5,0			
pH 7,0	p = 0,035		
pH 7,5	p = 0,001	p = 0,015	

4.2.4 Influence du pH sur la précipitation de l'aluminium

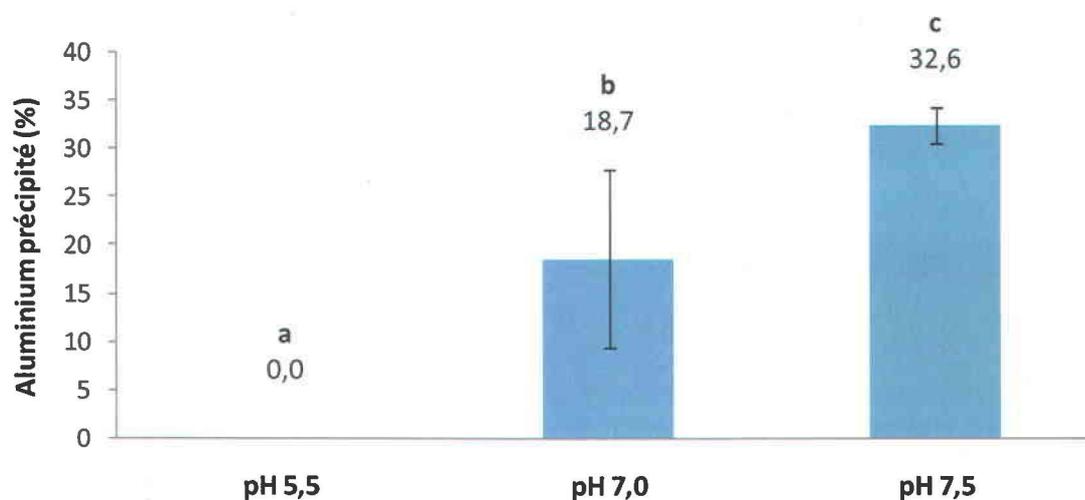


Figure 4.14 - Précipitation de l'aluminium en fonction du pH (*P. subcapitata*, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$). Des lettres différentes signifient qu'il y a des différences significatives ($p < 0,05$) entre les valeurs de précipitation.

De manière évidente, le pH a eu un effet sur la précipitation de l'aluminium (Figure 4.14). En fait, comme la solubilité de ce métal augmente avec l'abaissement du pH, la précipitation s'en voit logiquement affectée. Plus précisément, il n'y a eu aucune précipitation d'observée à pH 5,5 contrairement aux pH 7,0 et 7,5. Par ailleurs, il y a eu significativement plus de précipitation à pH 7,5 qu'à pH 7,0 ($p = 0,041$).

4.3 Potentiel accumulateur des algues mortes

4.3.1 Prise en charge des fluorures par les algues mortes

Comme pour les expériences avec les algues vivantes, les algues mortes ne montrent pas d'enlèvement significatif des fluorures (Figure 4.15).

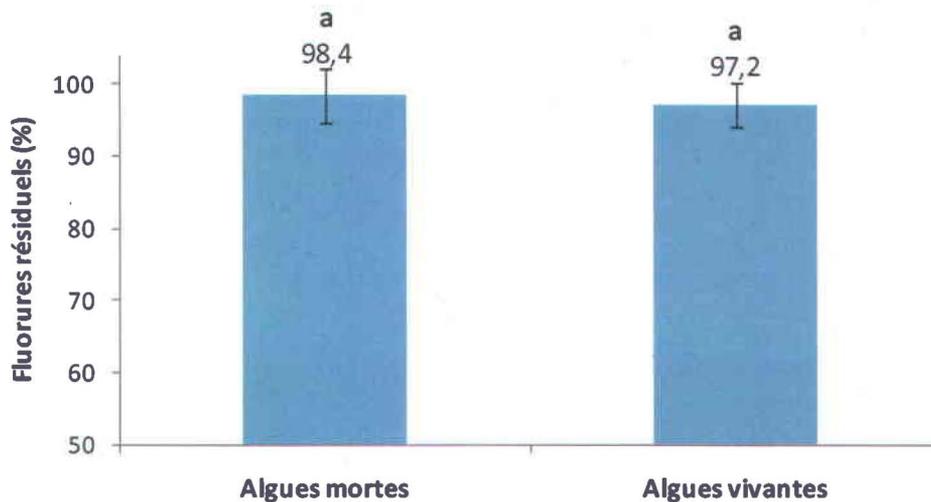


Figure 4.15 - Portion de fluorures restant en solution à la fin des expériences de prise en charge (*P. subcapitata*, pH 7, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$). Les lettres identiques signifient qu'il n'y a pas de différence significative ($p > 0,05$) entre les valeurs de fluorures résiduels.

4.3.2 Prise en charge de l'aluminium par les algues mortes

Les résultats présentés ici montrent assez clairement que les algues mortes ont une capacité d'enlèvement de l'aluminium significativement plus faible que les algues vivantes, et ce, autant en valeurs absolues ($p = 0,001$) qu'en pourcentages ($p < 0,001$) (Tableaux 4.16 et 4.17; Figures 4.16 et 4.17). Par contre, considérant qu'il n'y ait plus d'activité biologique chez les algues mortes permettant l'entrée d'aluminium à l'intérieur de la cellule et que le temps d'exposition était plus court que chez les algues vivantes, il devient plus logique de comparer entre elles seulement les portions d'aluminium adsorbé. Cette comparaison montre que le niveau d'adsorption reste encore significativement plus élevé chez les algues vivantes que chez les algues mortes que ce soit en valeurs absolues ($p = 0,007$) ou en pourcentages ($p = 0,046$).

La présence inattendue d'aluminium cellulaire chez les algues mortes malgré l'absence de processus biologique sera discutée dans la section 5.3.2.

Tableau 4.16 - Enlèvement de l'aluminium en valeurs absolues (en femtogramme/cell., ou 10^{-15} g/cell., \pm écart type) par les algues mortes et vivantes (*P. subcapitata*, pH 7, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$).

	Algues mortes	Algues vivantes
Adsorption	6 ± 1	27 ± 6
Accumulation	9 ± 4	56 ± 17
Enlèvement total	14 ± 2	83 ± 13

Tableau 4.17 - Enlèvement de l'aluminium en pourcentage ($\% \pm$ écart type) par les algues mortes et vivantes (*P. subcapitata*, pH 7, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$).

	Algues mortes	Algues vivantes
Adsorption	4 ± 1	15 ± 7
Accumulation	7 ± 3	26 ± 7
Enlèvement total	11 ± 2	41 ± 6

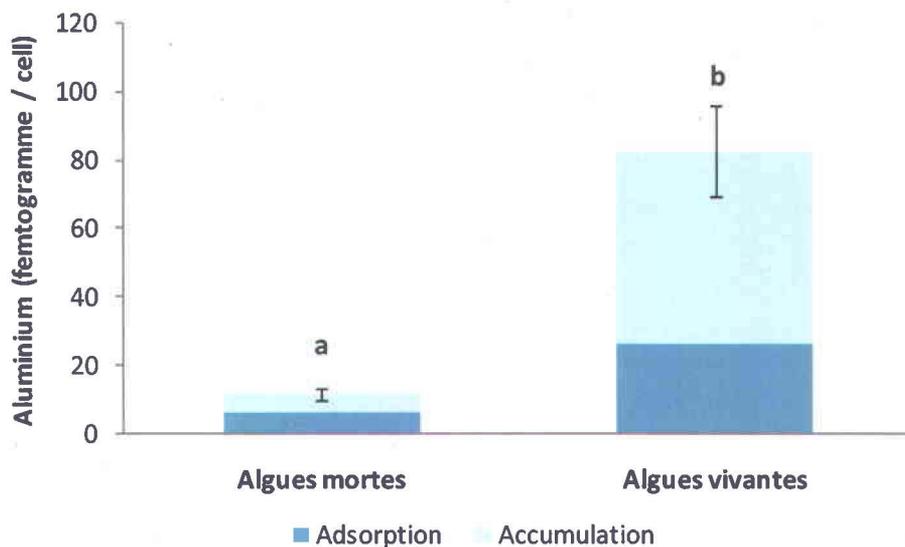


Figure 4.16 - Comparaison de la capacité d'enlèvement de l'aluminium en valeurs absolues par les algues mortes et les algues vivantes (*P. subcapitata*, pH 7, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$). Des lettres différentes signifient qu'il y a une différence significative ($p < 0,05$) entre les valeurs de prise en charge totale.

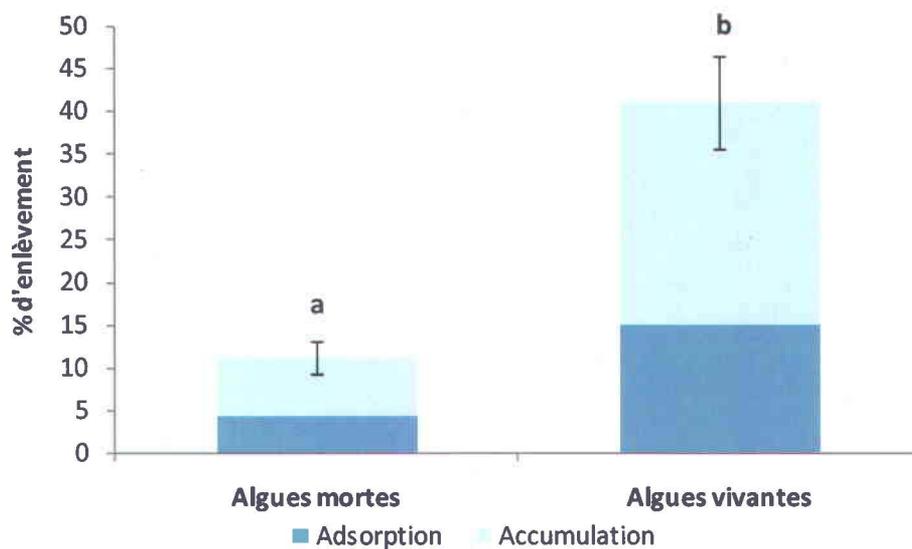


Figure 4.17 - Comparaison du pourcentage d'enlèvement de l'aluminium par les algues mortes et les algues vivantes (*P. subcapitata*, pH 7, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$). Des lettres différentes signifient qu'il y a une différence significative ($p < 0,05$) entre les valeurs de prise en charge totale.



5. DISCUSSION

5.1 Potentiel accumulateur des algues vertes

5.1.1 Croissance des algues

Parmi toutes les espèces étudiées, *C. vulgaris* est celle qui présente la meilleure vitesse de croissance (**Tableau 3.1**), mais elle est aussi la seule dont la croissance cellulaire ait été affectée par la présence d'aluminium (**Figure 4.3**), et ce, malgré le fait qu'elle présente des concentrations d'aluminium intracellulaires plus faibles que les autres espèces étudiées (**Tableau 4.3, Figure 4.7**). Ceci signifie que l'aluminium affecte les processus métaboliques de cette algue et qu'elle est, par conséquent, moins tolérante à ce métal que les autres espèces étudiées. Selon la littérature, les métabolismes qui se trouvent affectés par la présence d'aluminium sont principalement les processus enzymatiques qui impliquent une phosphorylation (Karp 1998). Des résultats similaires ont d'ailleurs déjà été observés avec une algue du genre *Chlorella* (Côté 2003). Dans cette étude effectuée à pH 5,5, la combinaison d'aluminium (1,6 μM) et de fluorures (5 μM) entraînait une réponse toxique au niveau de la croissance de *C. fusca*.

Les graphiques de croissance algale montrent aussi que *C. vulgaris* a été plus affectée par la présence d'aluminium durant la première expérience (**Figure 4.3a**) qu'elle ne l'a été durant la deuxième (**Figure 4.3b**). Comme cette variation n'apparaît pas au niveau des contrôles algaux, ceci laisse croire que la qualité des manipulations n'est pas à blâmer. Cette variation peut résulter du fait que, dans ces conditions, nous nous trouvons possiblement près d'un seuil de toxicité au-dessus duquel la croissance est fortement affectée. Aidé par la variabilité biologique, la réponse toxique peut donc varier d'une expérience à l'autre.

Dans le cas des autres espèces étudiées, aucune différence notable n'a été observée au niveau de la croissance entre les témoins et les traitements, puis entre les deux expériences (**Figures 4.1, 4.2 et 4.4**).

En somme, la croissance algale permet simplement de savoir si une espèce est capable de croître adéquatement dans le milieu d'exposition, le cas échéant, dans les effluents finaux d'aluminerie. Et ce n'est qu'un aspect qui se doit d'être vérifié avant de pouvoir étudier le potentiel de prise en charge.

5.1.2 Prise en charge des fluorures

D'emblée, nous anticipions que les fluorures seraient peu adsorbés sur la membrane cellulaire puisqu'ils étaient présents majoritairement sous la forme libre (F^-) (Figures 3.6 et 3.7), et que la surface algale porte une charge nette négative à pH 7. Ce sont plutôt les liaisons avec les espèces chargées positivement qui sont favorisées pour l'adsorption de F^- à la surface. Il n'est donc pas si surprenant de n'avoir mesuré aucune adsorption significative des fluorures lors des expériences de prise en charge.

Comme mentionné à la section 1.8, il a été suggéré que le fluoro-complexe AlF_4^- pourrait se lier au niveau de l'ATPase (Ali 2004; Husaini et al. 1996; Rai et al. 1998). Par contre, ce complexe ne présentait qu'une très faible concentration dans les traitements avec aluminium à pH 7, soit environ $0,38 \mu M$ selon nos calculs. En comparaison avec la concentration initiale de fluorures dans les traitements qui était de $379 \mu M$, la proportion relative de ce complexe reste faible, soit $0,1 \%$. Ainsi, la concentration de fluorures résultant de l'adsorption de l'ion AlF_4^- auraient été trop faibles pour être mesurée à l'aide de l'électrode sélective qui possède une limite de quantification de $2,63 \mu M$, et ce, malgré le phénomène de concentration des échantillons suivant le rinçage à l'EDTA. Finalement, même si d'autres fluoro-complexes d'aluminium présents à pH 7 s'étaient adsorbés à la membrane, soit $AlF_3(aq)$, $AlOHF_2(aq)$ et AlF_2^+ , ceux-ci présentaient également des concentrations négligeables qui avaient peu de chances de résulter en une adsorption mesurable (Annexe B).

Non seulement nous n'avons pas observé d'adsorption significative, mais l'accumulation des fluorures reste également négligeable. Notons qu'il a été suggéré que le transport des fluorures à travers la membrane résulte principalement de la diffusion non-ionique de la forme HF (Ali 2004). Selon la spéciation théorique des fluorures dans les traitements avec et sans aluminium à pH 7,0, ceux-ci se présentaient presque entièrement sous la forme libre et très peu sous la forme HF (Figures 3.6 et 3.7). Par contre, il faut comprendre que, même si cette forme était accumulée par les algues, celle-ci se régénère constamment en solution afin de préserver l'équilibre entre les espèces. Son abondance relative ne peut donc être considérée comme un facteur limitant. Ainsi, nous pouvons seulement affirmer que, si la forme HF peut effectivement diffuser à travers la membrane tel que suggéré plus haut, cette assimilation est trop faible pour être mesurée.

Finalement, l'absence de prise en charge des fluorures par les algues à la fois dans les traitements avec et sans aluminium laisse croire que la présence d'aluminium n'aide pas à la prise en charge des fluorures à pH 7 dans nos conditions expérimentales.

5.1.3 Prise en charge de l'aluminium

Les résultats de croissance cellulaire montrent que *C. vulgaris* est l'espèce qui s'est avérée être la moins tolérante à l'aluminium et, conjointement, c'est aussi cette espèce qui a présenté les plus faibles résultats de prise en charge d'aluminium. D'ailleurs, même si ce n'est pas toujours le cas, il est souvent présumé que les organismes les plus tolérants aux métaux démontreront une capacité de prise en charge plus importante et vice-versa (Volesky 1990). En fait, la tolérance à un métal peut résulter de l'habileté de l'organisme à accumuler de grandes concentrations de métal dans son cytoplasme intracellulaire sans causer de dommage ou encore à séquestrer l'aluminium intracellulaire dans certains organites de la cellule tels que les vacuoles et les vésicules de polyphosphate (Lütz-Meindl et Lütz 2006; Pettersson et al. 1985). L'adsorption du métal à la surface de la cellule empêche seulement temporairement le métal d'atteindre les structures intracellulaires plus sensibles. Dans le cas de *C. vulgaris*, la réponse toxique au niveau de la croissance cellulaire malgré la faible prise en charge d'aluminium laisse croire que cette algue n'avait pas de mécanismes de défense adéquats mis en place pour contrer la toxicité de l'aluminium.

La variation de la prise en charge de l'aluminium d'une espèce à l'autre dépend aussi du fait que chacune des différentes divisions et chacun des genres diffère dans la composition de leur paroi cellulaire (Volesky 1990). Si on considère le pourcentage d'aluminium pris en charge (**Tableau 4.6, Figure 4.8**), *P. subcapitata* semble être l'espèce la plus efficace pour l'enlèvement de l'aluminium avec un pourcentage d'enlèvement de 41 %. Par contre, si on considère que Rio Tinto Alcan préférera effectuer un traitement des effluents d'une courte durée pour des raisons logistiques et économiques, seulement la portion d'aluminium adsorbé devrait être considérée. Ainsi, une combinaison de *P. subcapitata* et *S. obliquus*, qui présentent des résultats d'adsorption similaires, pourrait être envisagée pour le traitement, tout en s'assurant d'abord que ces deux espèces soient capables de cohabiter dans le même milieu. D'ailleurs, *S. obliquus* est aussi l'espèce qui adsorbe le plus d'aluminium par cellule.

En fait, que ce soit en valeurs relatives ou en valeurs absolues, *S. obliquus* prend en charge l'aluminium majoritairement par adsorption (**Figures 4.7 et 4.8**). Des résultats

similaires ont déjà été observés avec une algue du genre *Scenedesmus*. Plus précisément, cette étude a démontré que jusqu'à 80 % de l'aluminium pris en charge par *S. obtusiusculus* se trouvait à la surface de la cellule (Greger et al. 1992). Les résultats de prise en charge coïncident également avec les conclusions de Harris et Ramelow (1990) qui affirment que le genre *Scenedesmus* aurait un potentiel de prise en charge de divers ions métalliques plus important que *Chlorella vulgaris*.

Malgré le fait que l'aluminium ne semble pas favoriser l'accumulation des fluorures, une étude menée par Rai et al. (1998) laisse croire que la présence de fluorures aiderait à la prise en charge de l'aluminium dans les milieux riches en phosphate. Dans ce projet, tout ce que nous pouvons affirmer c'est que la présence de fluorures augmente la biodisponibilité de l'aluminium en diminuant la précipitation. Et, par conséquent, la prise en charge s'en voit possiblement favorisée.

5.1.4 Précipitation de l'aluminium

Deux raisons pourraient expliquer la précipitation de l'aluminium dans les milieux d'exposition. Premièrement, comme mentionné à la section 1.1, c'est l'aquo-ion ($\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$) qui domine la solution à pH acide. Ensuite, à mesure que le pH augmente, la molécule subit une déprotonation qui mène à la formation des ions $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ et $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$. Lorsque le pH approche la neutralité, l'aluminium peut alors précipiter sous forme de gibbsite micro-cristalline ($\text{Al}(\text{OH})_3(\text{s})$) qui sera éventuellement dissoute sous forme de $\text{Al}(\text{OH})_4^-$ à pH basique. Il est évident que l'ajout de fluorures dans les milieux permet d'augmenter la solubilité de l'aluminium. Par contre, même avec l'ajout de fluorures dans nos milieux, nous approchons la zone de saturation à pH 7 (Figure 5.1).

Deuxièmement, il est recommandé de ne pas ajouter de phosphate dans les milieux d'exposition, puisque cet élément a une grande affinité pour l'aluminium et il peut entraîner la formation du précipité $\text{AlPO}_4(\text{s})$, aussi connu sous le nom de berlinite (Greger et Johansson 2004). Or, comme ce nutriment est essentiel au métabolisme des algues, il devient indispensable lors des expériences à long terme comme celles effectuées dans cette étude. Cette explication semble moins probable que la formation de gibbsite micro-cristalline. D'abord, la formation du précipité AlPO_4 aurait entraîné une déficience en phosphate dans les milieux ce qui aurait affecté la croissance cellulaire. Cependant, les résultats nous montrent que la croissance n'a pas été affectée par la présence d'aluminium. De plus, des simulations effectuées avec MINEQL+ nous ont indiqué que l'aluminium ne devrait pas précipiter avec le phosphate dans nos

conditions. En fait, il aurait fallu des concentrations d'aluminium au moins cent fois plus élevées pour approcher la limite de solubilité du AlPO_4 (s).

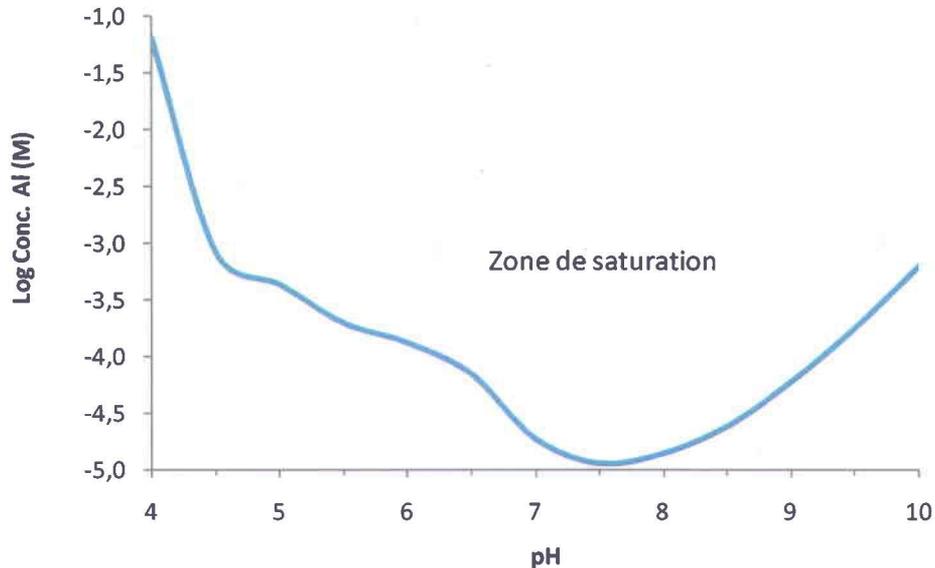


Figure 5.1 - Solubilité de l'aluminium (gibbsite micro-cristalline) en présence de fluorures ($[\text{F}_T] = 379 \mu\text{M}$) et en fonction du pH. La concentration d'aluminium dans les milieux d'exposition est de l'ordre de 10^{-5} M ($[\text{Al}_T] = 10,4 \mu\text{M}$).

Finalement, bien que la précipitation engendrée dans les milieux d'exposition réduise la biodisponibilité de l'aluminium et, par conséquent, la prise en charge, ce phénomène reste tout de même représentatif des effluents finaux d'alumineries où la précipitation est fréquente et pratiquement inévitable.

5.2 Influence du pH sur la prise en charge

5.2.1 Influence du pH sur la croissance

Des précautions avaient été prises afin que les algues ne soient pas affectées par un changement brusque de pH. En effet, trois générations successives de *P. subcapitata* avaient été cultivées à chacun des pH avant d'effectuer les expériences de prise en charge. Malgré tout, une diminution significative du rendement cellulaire a été observée

dans les traitements parallèlement avec l'abaissement du pH (Figure 4.10). En fait, bien que *P. subcapitata* tolère des pH aussi bas que 5,5, cette algue est connue pour avoir une meilleure croissance à pH neutre. Cette diminution du rendement cellulaire est donc possiblement d'ordre métabolique.

Contrairement aux pH 7,0 et 7,5, une différence significative a été observée à pH 5,5 entre les rendements cellulaires des contrôles algaux et ceux des traitements avec aluminium (Figure 4.10). Cette différence, quoique significative, reste faible et pourrait résulter d'une faible toxicité. D'abord, ceci peut être expliqué par le fait que, à pH acide, l'aluminium devient plus soluble et la concentration en ions libres (Al^{3+}) augmente (Figure 5.2). Le BLM stipule que la réponse toxique est proportionnelle à la concentration en ions libres en solution, mais comme cette concentration ne varie que très peu entre les pH 7,0 (2,35 pM) et 5,5 (8,80 pM), elle ne devrait pas entraîner une différence marquée entre les rendements cellulaires.

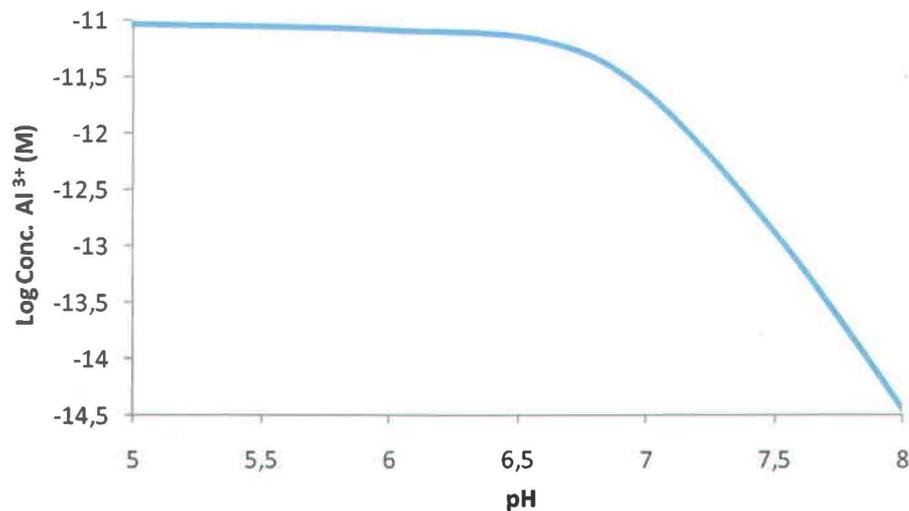


Figure 5.2 - Concentration en ions libres (Al^{3+}) en fonction du pH dans les traitements avec aluminium et fluorures ($[\text{Al}_T] = 10,4 \mu\text{M}$, $[\text{F}_T] = 379 \mu\text{M}$).

Comme mentionné plus haut, il a été suggéré que, dû à sa géométrie tétraédrique, le fluoro-complexe d'aluminium AlF_4^- pourrait être confondu avec l'ion phosphate (PO_4^{3-}) et ainsi entrer en compétition aux sites liaisons de l'ATPase (Ali 2004; Husaini et al. 1996; Rai et al. 1998). L'inhibition subséquente de l'ATPase empêcherait l'entrée d'ions qui sont vitaux à la croissance de l'algue. Plus précisément, une inhibition des pompes à

protons (H^+ -ATPase) ne permet pas de maintenir le gradient de concentration de protons à travers le plasma et la membrane thylacoïdale, ce qui entraîne une acidification du cytoplasme (Husaini et al. 1996). Ensuite, si les pompes à calcium (Ca^{2+} -ATPase) ne permettent plus l'extrusion du calcium, il y aura une augmentation de la concentration de calcium à l'intérieur de la cellule ce qui empêcherait la régulation intracellulaire de différents processus physiologiques et pourrait finalement entraîner la mort de l'algue (Husaini et al. 1996). En somme, ce complexe d'aluminium n'affecte pas la structure des enzymes ATPases, mais agit plutôt comme barrière fonctionnelle.

Dans cette étude, le complexe AlF_4^- était sensiblement plus concentré à pH 5,5 (1,22 μM) qu'aux pH 7,0 (0,38 μM) et 7,5 (0,02 μM) (Figure 5.3). Conjointement à la concentration, l'abondance relative de ce complexe augmente avec l'abaissement du pH. Ce complexe présente une abondance relative de 11,7 % à pH 5,5 contre 3,6 % à pH 7,0 et 0,2 % à pH 7,5 (Figure 3.5). Bien que la variation reste faible entre les pH, c'est peut-être tout de même suffisant pour suggérer qu'elle puisse induire une légère réponse toxique à pH 5,5.

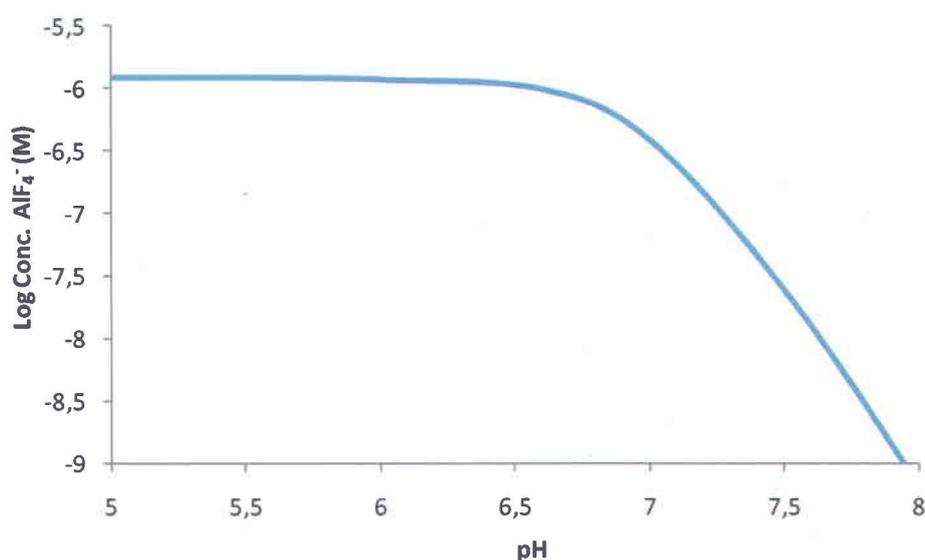


Figure 5.3 - Concentration en AlF_4^- en fonction du pH dans les traitements avec aluminium et fluorures ($[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$).

5.2.2 Influence du pH sur la prise en charge des fluorures

Selon Ali (2004), lorsque les algues sont exposées à l'aluminium et aux fluorures, la prise en charge de l'aluminium est favorisée à pH neutre (pH 7,3) tandis que la prise en charge

des fluorures est favorisée à pH acide (pH 4,5). En effet, à pH neutre, la membrane est chargée négativement, ce qui milite contre l'adsorption des fluorures (Mohan et al. 2007). À l'inverse, un pH plus acide favorise la protonation des groupements fonctionnels ce qui, en retour, favorise la liaison des espèces anioniques. Plus précisément, c'est lorsque le pH se situe en deçà du point isoélectrique ($\text{pH} < 3$) que la membrane cellulaire devient chargée positivement et que l'adsorption des espèces anioniques telles que les fluorures devient plus probable (Crist et al. 1981). Dans cette étude, aucune expérience n'a été menée à un pH inférieur à 5,5, ce qui ne permet pas de vérifier cette affirmation. Par contre, nos résultats démontrent bel et bien que la prise en charge des fluorures est négligeable entre pH 5,5 et 7,5.

Finalement, comme il n'y a pas eu de différence significative de prise en charge de fluorures entre les traitements avec et sans aluminium, ceci laisse croire une fois de plus que la présence d'aluminium ne favorise pas la prise en charge des fluorures à aucun des pH testés, du moins dans nos conditions expérimentales.

5.2.3 Influence du pH sur la prise en charge de l'aluminium

Pour revenir à l'affirmation de Ali (2004) présentée à la section précédente, lorsque les algues sont exposées à l'aluminium et aux fluorures, la prise en charge de l'aluminium est favorisée à pH neutre par rapport à un pH acide. Dans cette étude, nous pouvons affirmer que la prise en charge d'aluminium a bel et bien été favorisée à pH neutre avec un enlèvement total de 41 % à pH 7,0 et de 50 % à pH 7,5, en comparaison avec un enlèvement de 4,2 % à pH 5,5 (**Tableau 4.13**, **Figure 4.13**).

Un pH décroissant provoque une augmentation de la concentration à la fois d'aluminium dissous et de la proportion relative d'ions libres (Al^{3+}) (**Figure 5.2**). Cette augmentation de solubilité concorde d'ailleurs avec l'absence de précipitation à pH 5,5 (**Figure 4.14**). Selon le BLM, l'accumulation serait proportionnelle à la concentration en ions libres. Ainsi, l'accumulation aurait dû être plus importante à pH 5,5 qu'à pH 7,0 ou 7,5. Or, c'est plutôt le phénomène inverse qui s'est produit. En fait, un autre paramètre important doit être considéré, soit la compétition entre les protons et les ions Al^{3+} pour les sites de liaison sur la membrane. Comme mentionné à la section 1.5, l'acidification du milieu provoque deux effets opposés : une augmentation de la proportion en ions libres (Al^{3+}), puis une diminution de la disponibilité de sites de liaison sur la membrane suite à une protonation (Parent et Campbell 1994).

La différence de prise en charge d'un pH à l'autre pourrait aussi être expliquée par la nature des complexes présents en solution. En fait, on observe un effet de bascule des complexes présents avec le pH. Plus précisément, ce sont les fluoro-complexes d'aluminium qui dominent la distribution des espèces en solution à pH 5,5 tandis que les hydroxo-complexes dominent aux pH 7,0 et 7,5 (**Figure 3.5**). Ainsi, si des complexes étaient assimilés, on pourrait penser que les hydroxo-complexes peuvent être plus facilement assimilés que les fluoro-complexes. Par contre, une seule expérience ne permet pas d'avancer de telles conclusions. De plus, comme cette expérience était de longue durée (quatre jours), il faut considérer que les équilibres changent constamment en solution et que le rôle des exsudats sur la spéciation de l'aluminium demeure inconnu.

5.2.4 Influence du pH sur la précipitation de l'aluminium

Le graphique montrant la dynamique de saturation de l'aluminium en présence de fluorures (**Figure 5.1**) permet de mieux comprendre la précipitation de l'aluminium qui se produit à pH 7,0 et 7,5 (**Figure 4.14**). En effet, à de tels pH, nous nous trouvons à la limite de la zone de saturation, ce qui n'est pas le cas à pH 5,5. D'ailleurs, afin de s'approcher le moins possible du point de saturation, les fluorures étaient ajoutés aux milieux d'exposition avant l'aluminium, qui lui-même était ajouté avant le NaOH. Il a déjà été proposé que la cinétique de précipitation des hydroxydes d'aluminium est plutôt rapide lorsqu'un milieu alcalin est neutralisé (Roy et al. 2000). Il était donc moins risqué d'ajouter l'aluminium d'abord, la solution-mère étant acidifiée, et de poursuivre avec le NaOH jusqu'au pH désiré.

5.3 Potentiel accumulateur des algues mortes

5.3.1 Prise en charge des fluorures

Tout comme les algues vivantes, les algues mortes ne présentent pas un potentiel prometteur pour la prise en charge des fluorures, ce qui laisse croire que le procédé de dessiccation à l'étuve n'améliore pas la capacité d'adsorption de F^- des algues, du moins dans nos conditions. De plus, les algues ont été observées au microscope suivant l'étape de dessiccation et il a été constaté que la majorité des cellules était restée intacte. Ainsi,

les fluorures n'ont pu se lier à des sites fonctionnels qui auraient pu se trouver à l'intérieur de la cellule et qui auraient été disponibles seulement si la membrane avait été brisée.

Ensuite, comme pour les algues vivantes, l'adsorption des espèces anioniques telles que les fluorures par les algues mortes varie vraisemblablement avec le pH. Plus précisément, l'algue devrait adsorber plus de fluorures à pH acide lorsque la membrane est protonée qu'à pH neutre. Or, comme nos expériences étaient effectuées à pH 7,0 seulement afin de garder les conditions représentatives des effluents, nous n'avons pas vérifié ce point.

Il est aussi important de rappeler que, dans cette étude, les algues ne subissaient aucun traitement suivant le séchage à l'étuve. Ceci explique pourquoi les résultats obtenus diffèrent de ce qui est présenté dans la littérature. En effet, les études qui affirment que les algues mortes puissent adsorber les fluorures avaient toutes utilisées une biomasse traitée de manière à protoner la membrane cellulaire et, ainsi, faciliter l'adsorption des espèces anioniques (Bhatnagar et al. 2002; Mohan et al. 2007).

5.3.2 Prise en charge de l'aluminium

Les algues mortes ne se sont pas montrées très prometteuses non plus pour la prise en charge de l'aluminium. Malgré le fait que d'autres études aient obtenues des résultats inverses, plusieurs choses peuvent expliquer cette divergence. D'abord, la méthodologie présentée ici diffère quelque peu de ce qui est communément utilisé dans la littérature. Plus précisément, les algues ne sont pas toujours séchées dans une étuve. Elles sont parfois chauffées (Terry et Stone 2002), lyophilisées (Darnall et al. 1986), séchées à froid (Harris et Ramelow 1990), etc. De plus, dans le cas où les algues sont séchées, le matériel est généralement réduit en poudre à l'aide d'un mortier et ensuite tamisé afin d'obtenir une fine poudre uniforme (Bhatnagar et al. 2002; Harris et Ramelow 1990; Mohan et al. 2007). Dans cette étude, nous n'avons pas réduit la biomasse en poudre et, en plus, nous avons observé un phénomène de floculation des cellules algales (**Figure 5.4**). Ceci a pour conséquence de possiblement réduire la surface totale disponible pour l'adsorption. Et comme mentionnée à la section précédente, étant donné que la majorité des cellules était restée intacte, il y avait un accès limité aux sites de liaison potentiels se trouvant à l'intérieur des cellules. En somme, d'autres expériences pourraient être effectuées dans cette direction afin de développer une méthodologie simple et adéquate qui pourrait éventuellement donner de meilleurs résultats.

Toutefois, nos expériences laissent croire que, sans traitement subséquent, les algues mortes ne représentent pas une avenue de traitement très prometteuse. Il est également important de mentionner que, similairement aux expériences effectuées avec les algues vivantes, une portion de l'aluminium précipité est possiblement demeurée sur le filtre de 2 μm . Dans le cas présent, ceci voudrait dire que les mesures d'adsorption aient possiblement été surévaluées. De plus, ceci expliquerait aussi le fait que nous avons mesuré de l'aluminium cellulaire chez les algues mortes.



Figure 5.4 - Phénomène de floculation des cellules suite au processus de dessiccation.

Par ailleurs, il a été démontré que la capacité d'adsorption de l'aluminium par les algues mortes variait avec le pH (Darnall et al. 1986; Greene et al. 1986). Plus précisément, tout comme les algues vivantes, les algues mortes devraient adsorber plus d'aluminium à pH neutre qu'à pH acide. Or, bien que nos expériences aient été effectuées à pH 7,0 seulement, ces études antérieures nous confirment au moins que les conditions de pH utilisées étaient favorables pour la prise en charge de l'aluminium.



6. CONCLUSION

Au Québec, l'entreprise Rio Tinto Alcan opère quatre alumineries et une raffinerie de bauxite dans la région du Saguenay-Lac-Saint-Jean. Malgré les mesures d'atténuation mises en place par l'industrie, des concentrations non-négligeables d'aluminium et de fluorures se retrouvent encore dans les effluents finaux des usines. Les fluorures relargués par les usines peuvent se complexer avec l'aluminium dans les cours d'eau où le pH est acide, par exemple, dans les lacs du Bouclier canadien. Il est important d'évaluer les impacts de ses complexes sur les écosystèmes aquatiques et, dans l'optique d'une exploitation durable des ressources, de trouver des moyens de récupérer ces contaminants. Jusqu'à maintenant, plusieurs études ont démontré que les algues pouvaient être très efficaces dans l'enlèvement de métaux présents dans les effluents industriels. La prise en charge de l'aluminium et des fluorures est donc un aspect qui a été étudié dans ce projet, et ce, dans le but ultime de diminuer le plus possible les concentrations d'aluminium et de fluorures en solution. Plus précisément, nous avons examiné le potentiel de prise en charge de quatre espèces d'algues vertes, soit *Chlamydomonas reinhardtii*, *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Chlorella vulgaris* et *Scenedesmus obliquus*.

D'abord, nous avons tenu compte de la chimie de l'aluminium dans le milieu d'exposition afin d'étudier l'influence de la formation des fluoro-complexes d'aluminium sur la capacité d'adsorption et d'accumulation des algues. Nous avons également évalué l'influence du pH sur la prise en charge puis nous avons exploré le potentiel accumulateur des algues mortes.

Malgré les difficultés rencontrées et le comportement plutôt complexe de l'aluminium, nous avons tout de même obtenu des résultats concluants. Premièrement, certaines espèces d'algues vertes se sont montrées plus prometteuses que d'autres pour la prise en charge de l'aluminium. Plus précisément, dans nos conditions expérimentales (pH 7, $[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$), *P. subcapitata* est l'espèce la plus prometteuse pour la prise en charge de l'aluminium avec un enlèvement total de 41 %. Par ailleurs, *S. obliquus* a montré un potentiel d'adsorption de 13 % comparable à celui de *P. subcapitata* (15 %). L'une ou l'autre ou une combinaison de ces deux espèces pour un traitement éventuel de courte durée serait donc à considérer. À l'inverse, une faible réponse toxique a été observée chez *C. vulgaris* qui ne semble pas représenter une espèce favorable pour le traitement. En revanche, elle serait une espèce intéressante d'un point de vue écotoxicologique étant donné sa plus grande sensibilité.

Il était attendu que le pH joue un rôle important sur la prise en charge de l'aluminium. Dans nos conditions, un pH approchant la neutralité s'est avéré favorable pour la prise en charge de l'aluminium. En effet, la prise en charge de l'aluminium par *P. subcapitata* a été plus importante à pH 7,5 avec un enlèvement total de 50 % dans nos conditions expérimentales ($[Al_T] = 10,4 \mu M$, $[F_T] = 379 \mu M$).

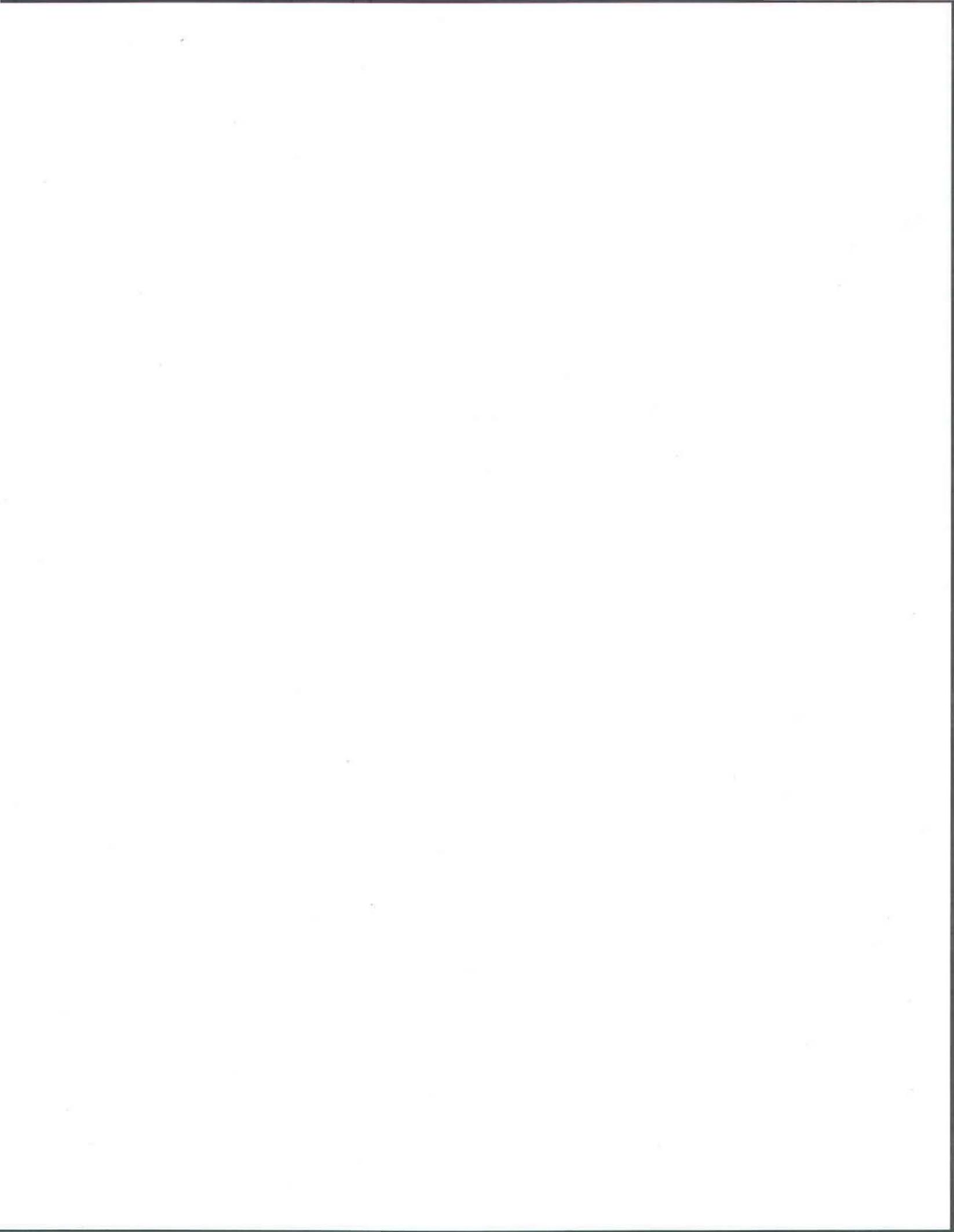
Dans le cas des expériences avec les algues mortes, la méthode utilisée indique que cette avenue représente peu d'intérêt. La prise en charge de l'aluminium par les algues mortes (11 %) a été de beaucoup inférieure à la prise en charge par les algues vivantes (41 %). D'ailleurs, il serait pertinent de mettre au point une méthode précise et adéquate pour les expériences avec les algues mortes afin d'obtenir une meilleure rétention de l'aluminium. Toutefois, nos expériences laissent croire que, sans traitement subséquent, les algues mortes ne représentent pas une avenue de traitement très prometteuse.

Dans le cas des fluorures, aucune expérience n'a donné de résultats prometteurs pour leur prise en charge. De plus, autant les algues vivantes que les algues mortes n'ont démontré de potentiel de prise en charge ou d'adsorption significatif des fluorures. La gamme de pH testée n'a pas permis de vérifier si un pH plus acide pouvait favoriser la prise en charge des fluorures. D'un autre côté, il est important de considérer que, d'un point de vue industriel, l'acidification du milieu entrainerait plusieurs problèmes. Ceci impliquerait que les effluents acidifiés soient par la suite neutralisés avant de pouvoir les évacuer dans le milieu récepteur, ce qui engendrerait des coûts supplémentaires. En somme, les algues vertes peuvent être utilisées pour réduire les concentrations de certains contaminants inorganiques dans les effluents d'alumineries. Par contre, cette étude démontre bien que l'efficacité d'un tel traitement biologique variera beaucoup selon l'espèce algale utilisée, les conditions d'exposition, ainsi que la nature du contaminant.

7. RECOMMANDATIONS

Cette étude s'inscrit dans le cadre d'un projet de recherche en laboratoire où toutes les conditions de départ étaient bien contrôlées. Par contre, la composition exacte en anions et cations des effluents peut être différente et être variable dans le temps. Ceci pourrait certainement influencer les valeurs de prise en charge (notamment s'il y a présence de matière organique pouvant complexer l'aluminium et ainsi réduire sa biodisponibilité). Parallèlement, une caractérisation des effluents permettrait aussi de s'assurer que le milieu est adéquat pour la croissance des algues. La température, l'aération, la transparence et le pH sont tous des paramètres qui peuvent influencer la croissance algale et par conséquent les résultats de prise en charge. Il serait donc intéressant d'étudier cette problématique dans un cadre plus réaliste de traitement des effluents d'alumineries. Plus précisément, une étude pourrait être réalisée à plus grande échelle en effectuant des expériences de prise en charge dans des bassins de rétention.

Finalement, comme les mécanismes de prise en charge sont peu connus pour l'aluminium, d'autres études pourraient être effectuées dans cette direction. Ceci permettrait aussi de mieux comprendre le rôle de la formation des fluoro-complexes sur la toxicité (ex. : analogie entre AlF_4^- et $\text{AlPO}_4(\text{aq})$) et la prise en charge. De plus, comme la plupart des études ont porté jusqu'à maintenant sur la toxicité de l'aluminium, plusieurs organismes restent à être étudiés pour leur potentiel de prise en charge. Les recherches pourraient également être orientées vers d'autres micro-organismes, tels que les cyanobactéries (Nichol et al. 1987).



8. BIBLIOGRAPHIE

- Ali, G. (2004). "Fluoride and aluminium tolerance in planktonic microalgae." *Fluoride*, 37(2), 88-95.
- Andrade, A. D., Rollemberg, M. C. E., et Nóbrega, J. A. (2005). "Proton and metal binding capacity of the green freshwater alga *Chaetophora elegans*." *Process Biochemistry*, 40(5), 1931-1936.
- Arica, M. Y., Tüzün, I., Yalçin, E., Ince, Ö., et Bayramoğlu, G. (2005). "Utilisation of native, heat and acid-treated microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* preparations for biosorption of Cr(VI) ions." *Process Biochemistry*, 40(7), 2351-2358.
- Bayramoğlu, G., Tüzün, I., Celik, G., Yilmaz, M., et Arica, M. Y. (2006). "Biosorption of mercury(II), cadmium(II) and lead(II) ions from aqueous system by microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* immobilized in alginate beads." *International Journal of Mineral Processing*, 81(1), 35-43.
- Bhatnagar, M., Bhatnagar, A., et Jha, S. (2002). "Interactive biosorption by microalgal biomass as a tool for fluoride removal." *Biotechnology Letters*, 24(13), 1079-1081.
- Boullemant, A. (2007). "Bioaccumulation du cadmium par des algues vertes unicellulaires : influence des ligands organiques, du pH et des substances humiques," Université du Québec, INRS - Eau, Terre et Environnement, Québec, Thèse de doctorat, 295 p.
- Boullemant, A., Lavoie, M., Fortin, C., et Campbell, P. G. C. (2009). "Uptake of hydrophobic metal complexes by three freshwater algae: Unexpected influence of pH." *Environmental Science and Technology*, 43(9), 3308-3314.
- Bourrelly. (1966). "Les algues d'eau douce: Algues vertes." Éditions N. Boubée & Cie, Paris, France, 569 p.
- Butler, G. C. (1978). "Principles of ecotoxicology." John Wiley & Sons, New York, NY, USA, pp. 323-324
- Camargo, J. A. (2003). "Fluoride toxicity to aquatic organisms: A review." *Chemosphere*, 50(3), 251-264.
- Campbell, P. G. C. (1995). "Interactions between trace metal and aquatic organisms: a critique of the free-ion activity model." Dans: Tessier A., et Turner, D.R., Metal speciation and bioavailability in aquatic systems. John Wiley & Sons, New York, NY, USA, pp. 45-102.
- Canter-Lund, H., et Lund, J. W. (1995). "Freshwater algae: Their microscopic world explored." Biopress Ltd., Bristol, England, 360 p.

- Çetinkaya Dönmez, G., Aksu, Z., Öztürk, A., et Kutsal, T. (1999). "A comparative study on heavy metal biosorption characteristics of some algae." *Process Biochemistry*, 34(9), 885-892.
- Côté, G. (2003). "Étude des effets de l'aluminium sur l'algue verte *Chlorella pyrenoidosa* dans des milieux d'exposition contenant des fluorures," Université du Québec, INRS - Eau, Terre et Environnement, Québec, Mémoire de maîtrise, 70 p.
- Crist, R. H., Oberholser, K., Schwartz, D., Marzoff, J., Ryder, D., et Crist, D. R. (1988). "Interactions of metals and protons with algae." *Environmental Science and Technology*, 22(7), 755-760.
- Crist, R. H., Oberholser, K., Shank, N., et Nguyen, M. (1981). "Nature of bonding between metallic ions and algal cell walls." *Environmental Science and Technology*, 15(10), 1212-1217.
- Crist, R. H., Robert Martin, J., Guptill, P. W., Eslinger, J. M., et Crist, D. R. (1990). "Interaction of metals and protons with algae. 2. Ion exchange in adsorption and metal displacement by protons." *Environmental Science and Technology*, 24(3), 337-342.
- Darnall, D. W., Greene, B., Henzl, M. T., Hosea, J. M., McPherson, R. A., Sneddon, J., et Alexander, M. D. (1986). "Selective recovery of gold and other metal ions from an algal biomass." *Environmental Science and Technology*, 20(2), 206-208.
- Driscoll, C. T., et Schecher, W. D. (1988). "Aluminium in the environment. Dans: Aluminium and its role in biology. Metal ions in biological systems. Vol. 24. édité par H. Sigel et A. Sigel.", Marcel Dekker Inc, New York, NY, USA, pp. 59-122.
- Driscoll, C. T., et Schecher, W. D. (1990). "The chemistry of aluminum in the environment." *Environment Geochemistry and Health*, 12(1-2), 28-49.
- Fayed, S. E., Abdel-Shafy, H. I., et Khalifa, N. M. (1983). "Accumulation of Cu, Zn, Cd, and Pb by *Scenedesmus obliquus* under nongrowth conditions." *Environment International*, 9(5), 409-413.
- Fortin, C. (2000). "Mécanismes de prise en charge et toxicité de l'argent chez une algue verte en relation avec la spéciation chimique," Université du Québec, INRS - Eau, Terre et Environnement, Québec, Thèse de doctorat, 159 p.
- Garnham, G. W., Codd, G. A., et Gadd, G. M. (1992). "Uptake of technetium by freshwater green microalgae." *Applied Microbiology and Biotechnology*, 37(5), 679-684.
- Giguère, A., et Campbell, P. G. C. (2004). "Toxicité de l'ion fluorure envers les organismes d'eau douce et effets de la dureté - revue et nouvelle analyse de données existantes." *Revue des sciences de l'eau*, 17(3), 373-393.
- Gillespie, R. J., Humphries, D. A., Baird, N. C., et Robinson, E. A. (1989). "Chemistry." Second edition, Allyn and Bacon, Boston, MA, USA.

- Greene, B., Hosea, M., McPherson, R., Henzl, M., Alexander, M. D., et Darnall, D. W. (1986). "Interaction of gold(I) and gold(III) complexes with algal biomass." *Environmental Science and Technology*, 20(6), 627-632.
- Greenwood, N. N., et Earnshaw, A. (1984). "Chemistry of the elements." Pergamon Press, Oxford, UK.
- Greger, M., et Johansson, M. (2004). "Aggregation effects due to aluminum adsorption to cell walls of the unicellular green alga *Scenedesmus obtusiusculus*." *Phycological Research*, 52(1), 53-58.
- Greger, M., Tillberg, J.-E., et Johansson, M. (1992). "Aluminium effects on *Scenedesmus obtusiusculus* with different phosphorus status. I. Mineral uptake." *Physiologia Plantarum*, 84(2), 193-201.
- Harris, P. O., et Ramelow, G. J. (1990). "Binding of metal ions by particulate biomass derived from *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus quadricauda*." *Environmental Science and Technology*, 24(2), 220-228.
- Horikoshi, T., Nakajima, A., et Sakaguchi, T. (1979). "Uptake of uranium by *Chlorella regularis*." *Agricultural and Biological Chemistry*, 43(3), 617-623.
- Hudson, R. J. M. (1998). "Which aqueous species control the rates of trace metal uptake by aquatic biota? Observations and predictions of non-equilibrium effects." *Science of the Total Environment*, 219(2-3), 95-115.
- Husaini, Y., Rai, L. C., et Mallick, N. (1996). "Impact of aluminium, fluoride and fluoroaluminate complex on ATPase activity of *Nostoc linckia* and *Chlorella vulgaris*." *BioMetals*, 9(3), 277-283.
- Jahan, K., Mosto, P., Mattson, C., Frey, E., et Derchak, L. (2004). "Metal uptake by algae." *Waste Management and the Environment II*, Witpress, UK, 696 p.
- Jones, K. C., et Bennett, B. G. (1986). "Exposure of man to environmental aluminum: an exposure commitment assessment." *Science of the Total Environment*, 52(1-2), 65-82.
- Kapoor, A., et Viraraghavan, T. (1998). "Biosorption of heavy metals on *Aspergillus niger*: effect of pretreatment." *Bioresource Technology*, 63(2), 109-113.
- Karp, G. (1998). "Biologie cellulaire et moléculaire: concepts et expériences." De Boeck Université, Paris - Bruxelles, France, 773 p.
- Komjarova, I., et Blust, R. (2009). "Application of a stable isotope technique to determine the simultaneous uptake of cadmium, copper, nickel, lead, and zinc by the water flea *Daphnia magna* from water and the green algae *Pseudokirchneriella subcapitata*." *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(8), 1739-1748.

- Kuyucak, N., et Volesky, B. (1988). "Biosorbents for recovery of metals from industrial solutions." *Biotechnology Letters*, 10(2), 137-142.
- Lütz-Meindl, U., et Lütz, C. (2006). "Analysis of element accumulation in cell wall attached and intracellular particles of snow algae by EELS and ESI." *Micron*, 37(5), 452-458.
- Lydersen, E., Salbu, B., Poleo, A. B. S., et Muniz, I. P. (1990). "The influences of temperature on aqueous aluminium chemistry." *Water, Air, and Soil Pollution*, 51(3-4), 203-215.
- Maeda, S., Nakashima, S., Takeshita, T., et Higashi, S. (1985). "Bioaccumulation of arsenic by freshwater algae and the application to the removal of inorganic arsenic from an aqueous phase. Part II. By *Chlorella vulgaris* isolated from arsenic-polluted environment." *Separation Science and Technology*, 20(2-3), 153-161.
- Mehta, S. K., et Gaur, J. P. (2005). "Use of algae for removing heavy metal ions from wastewater: progress and prospect." *Critical Reviews in Biotechnology*, 25(3), 113-152.
- Mohan, S. V., Ramanaiah, S. V., Rajkumar, B., et Sarma, P. N. (2007). "Biosorption of fluoride from aqueous phase onto algal *Spirogyra* IO1 and evaluation of adsorption kinetics." *Bioresource Technology*, 98(5), 1006-1011.
- Monteiro, C. M., Castro, P. M. L., et Malcata, F. X. (2009a). "Use of the microalga *Scenedesmus obliquus* to remove cadmium cations from aqueous solutions." *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(9), 1573-1578.
- Monteiro, C. M., Castro, P. M. L., et Xavier Malcata, F. (2009b). "Biosorption of zinc ions from aqueous solution by the microalga *Scenedesmus obliquus*." *Environmental Chemistry Letters*, Published online first.
- Morel, F. M. M. (1983). "Principles of Aquatic Chemistry." Wiley-Interscience, New York, NY, USA, 301 p.
- Morel, F. M. M., et Hering, J. G. (1993). "Principles and applications of aquatic chemistry." John Wiley & Sons Ltd., New York, NY, USA, pp. 398-405.
- Nakajima, A., Horikoshi, T., et Sakaguchi, T. (1982). "Recovery of uranium by immobilized microorganisms." *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 16(2-3), 88.
- Nichol, B. E., Budd, K., Palmer, G. R., et MacArthur, J. D. (1987). "The mechanisms of fluoride toxicity and fluoride resistance in *Synechococcus leopliensis* (cyanophyceae)." *Journal of Phycology*, 23(4), 535-541.
- Nichols, H. W. (1973). "Growth media - freshwater." Dans: Stein, J.R., Handbook of Phycological Methods - Culture Methods and Growth Measurements, Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 7-24.

- Omar, H. H. (2002). "Bioremoval of zinc ions by *Scenedesmus obliquus* and *Scenedesmus quadricauda* and its effect on growth and metabolism." *International Biodeterioration and Biodegradation*, 50(2), 95-100.
- Parent, L., et Campbell, P. G. C. (1994). "Aluminum bioavailability to the green alga *Chlorella pyrenoidosa* in acidified synthetic soft water." *Environmental Toxicology and Chemistry*, 13(4), 587-598.
- Pettersson, A., Kunst, L., Bergman, B., et Roomans, G. M. (1985). "Accumulation of aluminium by *Anabaena cylindrica* into polyphosphate granules and cell walls: an X-ray energy-dispersive microanalysis study." *Journal of General Microbiology*, 131(10), 2545-2548.
- Prescott, G. W. (1968). "The algae: A review." Houghton Mifflin Company, Boston, MA, USA, 436 p.
- Rai, L. C., Husaini, Y., et Mallick, N. (1998). "pH-altered interaction of aluminium and fluoride on nutrient uptake, photosynthesis and other variables of *Chlorella vulgaris*." *Aquatic Toxicology*, 42(1), 67-84.
- Roy, R. L., Campbell, P. G. C., Prémont, S., et Labrie, J. (2000). "Geochemistry and toxicity of aluminium in the Saguenay River, Quebec, Canada, in relation to discharges from an aluminium smelter." *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(10), 2457-2466.
- Schecher, W. D., et McAvoy, D. C. (2001). "A chemical equilibrium modeling system (version 4.5 for Windows)." Environmental Research Software, Hallowell, ME, USA.
- SERT. (1989). "Note technique sur l'acénaphthène, le 1,2-dichloroéthane, le 1,1-dichloroéthène et les fluorures." Direction des écosystèmes aquatiques, Ministère de l'Environnement du Québec, Québec.
- Smith, G. M. (1951). "Manual of phycology." The Ronald Press Company, New York, NY, USA, 373 p.
- Stumm, W., et Morgan, J. J. (1970). "Aquatic Chemistry." Interscience, New York, NY, USA, p.455.
- Stumm, W., et Morgan, J. J. (1996). "Aquatic Chemistry - Chemical equilibria and rates in natural waters." J. Wiley and Sons Ltd., New York, NY, USA, 1022 p.
- Taylor, S. R., et McLennan, S. M. (1985). "The continental crust: its composition and evolution." Blackwell, ed., Oxford, England, 312 p.
- Terry, P. A., et Stone, W. (2002). "Biosorption of cadmium and copper contaminated water by *Scenedesmus abundans*." *Chemosphere*, 47(4), 249-255.
- Tüzün, I., Bayramoğlu, G., Yalçın, E., Başaran, G., Çelik, G., et Arica, M. Y. (2005). "Equilibrium and kinetic studies on biosorption of Hg(II), Cd(II) and Pb(II) ions onto microalgae *Chlamydomonas reinhardtii*." *Journal of Environmental Management*, 77(2), 85-92.

- Twiss, M. R., Errécalde, O., Fortin, C., Campbell, P. G. C., Jumarie, C., Denizeau, F., Berkelaar, E., Hale, B., et Rees, K. V. (2001). "Coupling the use of computer chemical speciation models and culture techniques in laboratory investigations of trace metal toxicity." *Chemical Speciation and Bioavailability*, 13(1), 9-24.
- USEPA. (1988). "Ambient Water Quality Criteria for Aluminum - 1988." Criteria and Standards Division, Office of Water Regulations and Standards, U.S.EPA, Washington, DC, EPA 440/5-86-008, 47 p.
- USEPA. (2006). "National Recommended Water Quality Criteria." Office of Water, Office of Science and Technology, U.S.EPA, 24 p.
- Volesky, B. (1990). "Biosorption of heavy metals." CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 396 p.
- Wehr, J. D., et Sheath, R. G. (2003). "Freshwater algae of North America: Ecology and classification." Elsevier Science, San Diego, CA, USA, 918 p.
- Wright, D. A., et Welbourn, P. (2002). "Environmental toxicology." Cambridge University Press, Cambridge, UK, 630 p.
- Zhang, X., Luo, S., Yang, Q., Zhang, H., et Li, J. (1997). "Accumulation of uranium at low concentration by the green alga *Scenedesmus obliquus* 34." *Journal of Applied Phycology*, 9(1), 65-71.
- Zimnik, P. R., et Sneddon, J. (1988). "Binding and removal of aluminium ions in waters by an algal biomass." *Analytical Letters*, 21(8), 1383-1396.

9. ANNEXES

9.1 Annexe A : Composition ionique du Fleuve Saint-Laurent

Tableau 9.1 - Concentration (M) des cations et anions dans le Fleuve Saint-Laurent.

Ions	Concentration (M)
Cl ⁻	4,80 x 10 ⁻⁴
K ⁺	3,00 x 10 ⁻⁴
PO ₄ ³⁻	1,00 x 10 ⁻⁷
SO ₄ ²⁻	2,40 x 10 ⁻⁴
Mg ²⁺	2,60 x 10 ⁻⁴
Ca ²⁺	6,80 x 10 ⁻⁴
Na ⁺	4,30 x 10 ⁻⁴
Mn ²⁺	1,00 x 10 ⁻⁷

9.2 Annexe B : Simulations MINEQL+

Tableau 9.2 - Concentration (M) des espèces présentes en solution dans les traitements F.

pH	F ⁻	HF (aq)
4	$3,32 \times 10^{-4}$	$4,53 \times 10^{-5}$
4,5	$3,62 \times 10^{-4}$	$1,56 \times 10^{-5}$
5	$3,72 \times 10^{-4}$	$5,07 \times 10^{-6}$
5,5	$3,76 \times 10^{-4}$	$1,62 \times 10^{-6}$
6	$3,77 \times 10^{-4}$	$5,13 \times 10^{-7}$
6,5	$3,77 \times 10^{-4}$	$1,62 \times 10^{-7}$
7	$3,77 \times 10^{-4}$	$5,14 \times 10^{-8}$
7,5	$3,77 \times 10^{-4}$	$1,62 \times 10^{-8}$
8	$3,77 \times 10^{-4}$	$5,13 \times 10^{-9}$
8,5	$3,78 \times 10^{-4}$	$1,62 \times 10^{-9}$
9	$3,78 \times 10^{-4}$	$5,06 \times 10^{-10}$
9,5	$3,79 \times 10^{-4}$	$1,53 \times 10^{-10}$
10	$3,80 \times 10^{-4}$	$4,15 \times 10^{-11}$

Tableau 9.3 - Concentration (M) des espèces présentes en solution dans les traitements Al + F.

pH	F ⁻	HF (aq)	Al ³⁺	Al(OH) ₄ ⁻	AlF ₂ ⁺	AlF ₃ (aq)
4	3,06 x 10 ⁻⁴	4,17 x 10 ⁻⁵	1,29 x 10 ⁻¹¹	1,36 x 10 ⁻¹⁸	2,16 x 10 ⁻⁶	7,10 x 10 ⁻⁶
4,5	3,33 x 10 ⁻⁴	1,43 x 10 ⁻⁵	1,01 x 10 ⁻¹¹	1,06 x 10 ⁻¹⁶	2,00 x 10 ⁻⁶	7,15 x 10 ⁻⁶
5	3,43 x 10 ⁻⁴	4,67 x 10 ⁻⁶	9,20 x 10 ⁻¹²	9,71 x 10 ⁻¹⁵	1,94 x 10 ⁻⁶	7,13 x 10 ⁻⁶
5,5	3,46 x 10 ⁻⁴	1,49 x 10 ⁻⁶	8,80 x 10 ⁻¹²	9,29 x 10 ⁻¹³	1,89 x 10 ⁻⁶	7,02 x 10 ⁻⁶
6	3,47 x 10 ⁻⁴	4,73 x 10 ⁻⁷	8,26 x 10 ⁻¹²	8,71 x 10 ⁻¹¹	1,79 x 10 ⁻⁶	6,67 x 10 ⁻⁶
6,5	3,50 x 10 ⁻⁴	1,51 x 10 ⁻⁷	6,70 x 10 ⁻¹²	7,06 x 10 ⁻⁹	1,47 x 10 ⁻⁶	5,51 x 10 ⁻⁶
7	3,59 x 10 ⁻⁴	4,89 x 10 ⁻⁸	2,35 x 10 ⁻¹²	2,47 x 10 ⁻⁷	5,42 x 10 ⁻⁷	2,09 x 10 ⁻⁶
7,5	3,68 x 10 ⁻⁴	1,58 x 10 ⁻⁸	1,36 x 10 ⁻¹³	1,42 x 10 ⁻⁶	3,25 x 10 ⁻⁸	1,28 x 10 ⁻⁷
8	3,71 x 10 ⁻⁴	5,04 x 10 ⁻⁹	3,55 x 10 ⁻¹⁵	3,67 x 10 ⁻⁶	8,53 x 10 ⁻¹⁰	3,38 x 10 ⁻⁹
8,5	3,74 x 10 ⁻⁴	1,60 x 10 ⁻⁹	6,57 x 10 ⁻¹⁷	6,60 x 10 ⁻⁶	1,55 x 10 ⁻¹¹	6,15 x 10 ⁻¹¹
9	3,76 x 10 ⁻⁴	5,04 x 10 ⁻¹⁰	9,67 x 10 ⁻¹⁹	8,81 x 10 ⁻⁶	2,05 x 10 ⁻¹³	7,98 x 10 ⁻¹³
9,5	3,79 x 10 ⁻⁴	1,53 x 10 ⁻¹⁰	1,58 x 10 ⁻²⁰	9,86 x 10 ⁻⁶	2,11 x 10 ⁻¹⁵	7,52 x 10 ⁻¹⁵
10	3,8 x 10 ⁻⁴	4,14 x 10 ⁻¹¹	5,74 x 10 ⁻²²	1,02 x 10 ⁻⁵	1,61 x 10 ⁻¹⁷	4,22 x 10 ⁻¹⁷
pH	AlF ₄ ⁻	Al(OH) ₃ (aq)	Al(OH) ₂ ⁺	AlOHF ₂ (aq)	AlOHF ⁺	
4	1,09 x 10 ⁻⁶	2,01 x 10 ⁻¹⁴	3,02 x 10 ⁻¹²	8,14 x 10 ⁻⁹	5,42 x 10 ⁻¹⁰	
4,5	1,19 x 10 ⁻⁶	5,41 x 10 ⁻¹³	2,56 x 10 ⁻¹¹	2,38 x 10 ⁻⁸	1,46 x 10 ⁻⁹	
5	1,22 x 10 ⁻⁶	1,61 x 10 ⁻¹¹	2,41 x 10 ⁻¹⁰	7,29 x 10 ⁻⁸	4,34 x 10 ⁻⁹	
5,5	1,22 x 10 ⁻⁶	4,92 x 10 ⁻¹⁰	2,33 x 10 ⁻⁹	2,25 x 10 ⁻⁷	1,33 x 10 ⁻⁸	
6	1,16 x 10 ⁻⁶	1,47 x 10 ⁻⁸	2,20 x 10 ⁻⁸	6,73 x 10 ⁻⁷	3,95 x 10 ⁻⁸	
6,5	9,67 x 10 ⁻⁷	3,78 x 10 ⁻⁷	1,79 x 10 ⁻⁷	1,75 x 10 ⁻⁶	1,02 x 10 ⁻⁷	
7	3,77 x 10 ⁻⁷	4,30 x 10 ⁻⁶	6,44 x 10 ⁻⁷	2,04 x 10 ⁻⁶	1,16 x 10 ⁻⁷	
7,5	2,36 x 10 ⁻⁸	7,97 x 10 ⁻⁶	3,77 x 10 ⁻⁷	3,86 x 10 ⁻⁷	2,15 x 10 ⁻⁸	
8	6,28 x 10 ⁻¹⁰	6,57 x 10 ⁻⁶	9,81 x 10 ⁻⁸	3,20 x 10 ⁻⁸	1,77 x 10 ⁻⁹	
8,5	1,15 x 10 ⁻¹¹	3,76 x 10 ⁻⁶	1,77 x 10 ⁻⁸	1,83 x 10 ⁻⁹	1,01 x 10 ⁻¹⁰	
9	1,51 x 10 ⁻¹³	1,58 x 10 ⁻⁶	2,32 x 10 ⁻⁹	7,57 x 10 ⁻¹¹	4,25 x 10 ⁻¹²	
9,5	1,43 x 10 ⁻¹⁵	5,36 x 10 ⁻⁷	2,38 x 10 ⁻¹⁰	2,35 x 10 ⁻¹²	1,44 x 10 ⁻¹³	
10	8,02 x 10 ⁻¹⁸	1,51 x 10 ⁻⁷	1,81 x 10 ⁻¹¹	4,86 x 10 ⁻¹⁴	4,06 x 10 ⁻¹⁵	

9.4 Annexe C : Temps de contact avec l'EDTA

Ce test préliminaire a été effectué en suivant la méthodologie présentée pour les expériences de prise en charge, soit en exposant *C. reinhardtii* à l'aluminium et aux fluorures durant quatre jours. Dans ce cas-ci, un seul type de traitement (Al + F) était effectué (N=9). À la fin de la période d'exposition, 30 mL de chacun des milieux étaient prélevés pour être filtrés dans les tulipes. Trois de ces milieux subissaient un rinçage à l'EDTA d'une durée de 10 minutes, tandis que trois autres subissaient un rinçage de 30 minutes et les trois derniers, un rinçage de 60 minutes. Dans chacun des filtrats résultants, une aliquote de 2 mL était prélevée puis acidifiée à 4 % avant d'être dosée à l'ICP-AES. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure qui suit (**Figure 9.1**). Comme il n'y a pas de différence significative entre l'adsorption mesurée après 10 minutes et l'adsorption après 60 minutes ($p = 0,371$), la durée de 10 minutes pour le rinçage à l'EDTA a été jugée suffisante pour les expériences de prise en charge.

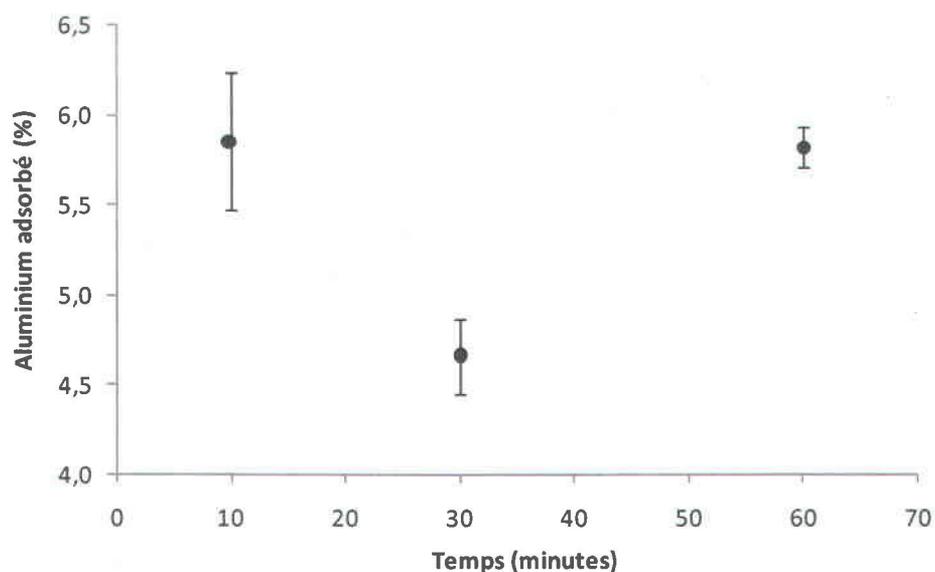


Figure 9.1 - Aluminium adsorbé en fonction du temps de rinçage à l'EDTA.

9.3 Annexe D : Interférence de l'aluminium sur les mesures de fluorures dissous

Ce test préliminaire a été effectué en utilisant une concentration de fluorures dissous fixée à 7,2 mg/L (379 μ M) que nous avons mesurée en présence de cinq concentrations différentes d'aluminium, soit 0, 54, 135, 189 et 270 μ g/L. Chacune de ces concentrations étaient effectuées en triplicata. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure qui suit (Figure 9.2).

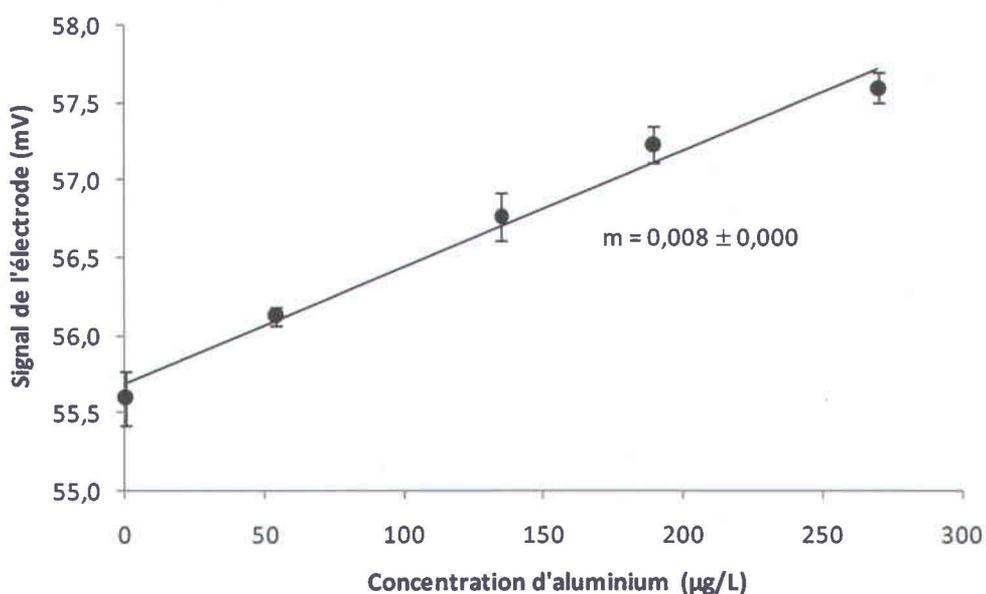


Figure 9.2 - Interférence de l'aluminium sur le signal de l'électrode sélective pour une concentration de fluorures fixée à 7,2 mg/L (379 μ M).

Les valeurs corrigées de fluorures dissous étaient obtenues comme suit :

$$\text{Signal de l'électrode en mV} - ([\text{Al}]_{\text{dissous}} * 0,008) = \text{Valeur du signal corrigé}$$

En général, cette correction provoquait une augmentation d'environ 0,5 mg/L aux mesures de fluorures dissous.

9.5 Annexe E : Adsorption d'aluminium sur les parois des contenants

Ce test préliminaire a été effectué à la suite d'une expérience de prise en charge complète de quatre jours avec l'algue *P. subcapitata*. Ce test comprenait un traitement Al + F et un traitement C sans algue, tous deux effectués en triplicata. À la fin de l'exposition, les Erlenmeyers étaient vidés de leur contenu en s'assurant d'assécher les parois au maximum. Les contenants étaient ensuite rincés avec 4 mL d'acide nitrique concentrée à 20 %. Finalement, 1 mL de cette solution était prélevé puis dilué dans 4 mL d'eau ultra-pure afin que les échantillons soient acidifiés à 4 % et prêts pour le dosage à l'ICP-AES. Les résultats obtenus sont compilés dans le tableau qui suit (Tableau 9.4). En somme, l'adsorption de l'aluminium sur les parois correspond en moyenne à 10,9 % de la concentration initiale en aluminium dissous. Il est à noter que cette portion d'aluminium n'est pas considérée dans les bilans de masse (Tableau 9.5).

Tableau 9.4 - Pourcentage d'aluminium adsorbé sur les parois des contenants.

Traitements	Al dissous t = 0 (ug)	Adsorption sur parois (ug)	Adsorption sur parois (%)	Adsorption moyenne (%)
Al + F (1)	194	31	15,9	
Al + F (2)	207	20	9,5	
Al + F (3)	199	19	9,4	
C (1)	244	16	6,6	10,9 ± 4,6
C (2)	189	33	17,2	
C (3)	204	14	6,8	

9.6 Annexe F : Bilans de masse pour l'aluminium

Tableau 9.5 - Bilans de masse (μg) de l'aluminium dans les traitements Al + F.

Expériences	Al dissous t = 0 j	Al dissous t = 4 j	Al adsorbé	Al cellulaire	Partie filtrable	Bilan de masse	Récupération (%)
<i>C. reinhardtii</i> (a)	256 ± 6	58 ± 8	19 ± 2	35 ± 10	109 ± 16	35 ± 18	87 ± 7
<i>C. reinhardtii</i> (b)	247 ± 6	53 ± 2	16 ± 4	52 ± 9	53 ± 10	72 ± 8	71 ± 4
<i>P. subcapitata</i> (a)	257 ± 6	35 ± 1	24 ± 5	74 ± 19	31 ± 8	93 ± 12	64 ± 6
<i>P. subcapitata</i> (b)	263 ± 6	77 ± 2	54 ± 13	63 ± 21	26 ± 10	44 ± 2	83,4 ± 0,3
<i>C. vulgaris</i> (a)	262 ± 3	124 ± 10	22 ± 2	11 ± 2	71 ± 4	35 ± 7	87 ± 2
<i>C. vulgaris</i> (b)	251 ± 2	251 ± 1	11,8 ± 0,3	0,2 ± 0,2	4 ± 9	-16 ± 9	106 ± 3
<i>S. obliquus</i> (a)	240 ± 2	62 ± 4	22 ± 3	9 ± 1	133 ± 7	14 ± 4	94 ± 2
<i>S. obliquus</i> (b)	239 ± 2	101 ± 37	42 ± 8	14 ± 1	74,4 ± 0,3	33 ± 6	86 ± 2

9.7 Annexe G : Fluorures et aluminium mesurés dans les traitements C

Tableau 9.6 - Masse (mg) de fluorures adsorbés et accumulés dans les traitements C.

Expériences	F dissous t = 0	F dissous t = 4j	F « adsorbés »	F « accumulés »
<i>C. reinhardtii</i> (a)	6,77 ± 0,07	6,49 ± 0,01	0,21 ± 0,01	< 0,05
<i>C. reinhardtii</i> (b)	7,31 ± 0,06	6,72 ± 0,05	0,21 ± 0,01	< 0,05
<i>P. subcapitata</i> (a)	7,13 ± 0,11	7,03 ± 0,06	0,16 ± 0,01	< 0,05
<i>P. subcapitata</i> (b)	7,23 ± 0,31	7,31 ± 0,03	0,193 ± 0,002	< 0,05
<i>C. vulgaris</i> (a)	7,08 ± 0,02	7,50 ± 0,06	0,22 ± 0,03	< 0,05
<i>C. vulgaris</i> (b)	7,23 ± 0,31	7,31 ± 0,03	0,23 ± 0,01	< 0,05
<i>S. obliquus</i> (a)	7,23 ± 0,06	8,04 ± 0,03	N/A	N/A
<i>S. obliquus</i> (b)	7,66 ± 0,07	7,50 ± 0,03	N/A	N/A

Tableau 9.7 - Masse (µg) d'aluminium adsorbé et accumulé dans les traitements C.

Expériences	Al dissous t = 0	Al dissous t = 4j	Al « adsorbé »	Al « accumulé »
<i>C. reinhardtii</i> (a)	253 ± 2	212 ± 3	23 ± 2	< 5
<i>C. reinhardtii</i> (b)	251 ± 3	41 ± 1	67 ± 16	9 ± 2
<i>P. subcapitata</i> (a)	262 ± 5	79 ± 5	118 ± 14	23 ± 5
<i>P. subcapitata</i> (b)	266 ± 10	68 ± 1	64 ± 6	16 ± 8
<i>C. vulgaris</i> (a)	265 ± 4	107 ± 3	26 ± 5	7 ± 1
<i>C. vulgaris</i> (b)	257 ± 8	256 ± 4	12,5 ± 0,4	< 5
<i>S. obliquus</i> (a)	235 ± 1	63 ± 2	21 ± 2	7 ± 1
<i>S. obliquus</i> (b)	238 ± 3	75 ± 5	68 ± 4	10 ± 9